



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA

DESARROLLO DE UN INYECTABLE DE SULFATO
DE GENTAMICINA Y S-ALILCISTEINA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

P R E S E N T A

SARA ROSARIO CRUZ MORALES



MEXICO, D. F.

2004



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

Jurado asignado:

Presidente Prof. María del Socorro Alpizar Ramos

Vocal Prof. Francisco García Olivares

Secretario Prof. Eduardo Jiménez Leyva

1er. Suplente Prof. Martín Rueda Espinosa

2do. Suplente Prof. Raúl Lugo Villegas

Sitio donde se desarrolló el tema:

Laboratorio de Tecnología Farmacéutica
Facultad de Química, UNAM



MARÍA DEL SOCORRO ALPIZAR RAMOS
Asesor del tema



SARA ROSARIO CRUZ MORALES
Sustentante

DEDICATORIA

A mi mamá por todo el apoyo, compañía, cariño y comprensión que siempre me ha brindado, gracias mami.

A mi papá y a mis hermanas por el apoyo durante la carrera.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, a la Virgen de Guadalupe y a SJT por haberme permitido lograr uno de mis más grandes sueños.

A la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, por haberme dado todos los conocimientos que he adquirido.

A la Maestra Socorro Alpizar por su valioso apoyo, amistad y consejos para lograr la realización de este trabajo.

Al Prof. Francisco García Olivares y Eduardo Jiménez Leyva por el tiempo dedicado a la revisión de este trabajo.

Al laboratorio 209 del Edificio B de la Facultad de Química, en especial al Dr. José Pedraza por el donativo de uno de los compuestos para la realización de este trabajo, la S-alilcisteína.

A los laboratoristas del Laboratorio de Tecnología Farmacéutica, en especial al Sr. Daniel Torres por su tiempo, paciencia y apoyo a la realización de este trabajo.

Al Departamento de Control Analítico y al Departamento de Farmacia por todas las facilidades otorgadas para la realización de este trabajo.

DESARROLLO DE UN INYECTABLE DE SULFATO DE GENTAMICINA Y S-ALILCISTEINA

CONTENIDO

	PÁGINA
1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	3
3. ANTECEDENTES	4
3.1 Gentamicina	4
3.1.1 Propiedades físicas y químicas	4
Preparación	5
Descripción	5
Referencia CAS	5
Solubilidad	5
Constante de acidez	6
Rotación óptica	6
Espectro de absorción de luz IR	6
3.1.2 Métodos de análisis	6
Identificación	6
Cuantificación	7
3.1.3 Farmacología	8
Indicaciones terapéuticas	8
Vías de administración y dosis	8
Farmacocinética	9
Farmacodinamia	9
Contraindicaciones y Precauciones	10
Interacciones	11
Reacciones Adversas	11
Alteraciones sobre las pruebas del laboratorio	12
Sobredosis y Tratamiento	13
3.1.4 Estabilidad	13
3.2 S-alilcisteína	14
3.2.1 Propiedades físicas y químicas:	14
Descripción	14
Síntesis	15
Solubilidad	15
Higroscopicidad	16
Punto de fusión	16
Rotación óptica	16
Constante de acidez	16
3.2.2 Métodos de análisis	17
Identificación	17
Cuantificación	17

3.2.3	Farmacología	18
	Evidencias in vivo e in vitro de las propiedades farmacológicas de la SAC	18
	Vías de administración y dosis	18
	Farmacocinética	19
	Farmacodinamia	19
	Efectos Adversos	20
3.2.4	Estabilidad	20
3.3	Formas Farmacéuticas Parenterales	21
3.3.1	Clasificación	21
3.3.2	Solución inyectable	22
3.3.3	Excipientes	23
3.4	Área aséptica	29
3.4.1	Calificación del área aséptica	31
3.5	Etapas del desarrollo de un medicamento	35
3.5.1	Preformulación	35
3.5.2	Formulación	36
3.5.3	Optimización	37
3.5.4	Estabilidad	37
3.5.5	Escalamiento	39
3.5.6	Transferencia de tecnología	39
3.5.7	Validación del proceso	40
4.	DESARROLLO EXPERIMENTAL	41
4.1	Estudios de Preformulación	41
4.1.1	Caracterización de los principios activos	41
4.1.2	Estabilidad y degradación de los principios activos	43
4.2	Estudios de Formulación	45
4.3	PNO "Fabricación de solución inyectable de Sulfato de Gentamicina y S-alilcisteína"	50
4.4	Diagrama del proceso de fabricación de la solución inyectable de Sulfato de Gentamicina y S-alilcisteína	57
4.5	Certificado analítico	58
4.6	PNO "Filtración aséptica"	59
4.7	PNO "Lavado y esterilizado de ampollitas"	62
4.8	PNO "Llenadora de líquidos COZZOLI"	65
5.	RESULTADOS	73
5.1	Estudios de Preformulación	73
5.2	Estudios de Formulación	75
6.	ANÁLISIS DE RESULTADOS Y CONCLUSIONES	82
6.1	Análisis de resultados	82
6.2	Conclusiones	83
6.3	Recomendaciones	84
7.	BIBLIOGRAFÍA	85

CAPITULO 1

Introducción

1. INTRODUCCIÓN.

El desarrollo de medicamentos antimicrobianos representa uno de los avances más importantes en la práctica terapéutica, ya que han contribuido a mejorar la calidad de vida de miles de personas.

La actual quimioterapia inicia en 1936 con el empleo de la Sulfanilamida, la época de oro de los antibióticos inicia con la producción de Penicilina en 1941 y desde entonces se han desarrollado una gran variedad de antibióticos.

Sin embargo, a pesar de los beneficios que representa el empleo de estos fármacos, su uso inadecuado ha generado la aparición de microorganismos resistentes, por lo que se ve la necesidad de continuar el desarrollo e investigación de nuevas generaciones de antibióticos.

Desde el aislamiento de la Estreptomicina por Waksman en 1944, los aminoglucósidos han llegado a ser uno de los grandes grupos de agentes usados en la quimioterapia para combatir infecciones bacterianas. Dentro de este grupo encontramos a la Gentamicina que se utiliza en varias formas farmacéuticas incluyendo inyectables y preparados tópicos (en forma de sulfato), el cual es efectivo contra microorganismos grampositivos y gramnegativos, además de ser efectivo contra cepas de microorganismos resistentes a Tetraciclina y Cloramfenicol.

A pesar de ser el aminoglucósido de primera elección por su bajo costo y su actividad, uno de sus efectos secundarios más importantes es su nefrotoxicidad, en particular, se ha estimado que un 30% de los pacientes que son tratados con gentamicina por más de 7 días presentan daño renal.

Aunque existen nuevos agentes y menos tóxicos como las cefalosporinas de tercera generación, los aminoglucósidos siguen siendo los agentes antibacterianos más utilizados; lo que se debe a su bajo costo, su rápida acción bactericida, su amplio espectro de actividad y a su estabilidad química. Así mismo, se conoce muy bien su farmacología, toxicidad y propiedades terapéuticas, por lo tanto, el valor de los aminoglucósidos en la práctica clínica aumentaría si se encontrara la manera de proteger al riñón de los efectos colaterales indeseables.

Estudios realizados en México y en el mundo han encontrado un compuesto derivado del ajo, la S- alilcisteína, el cual al administrarse simultáneamente con la Gentamicina reduce notablemente la nefrotoxicidad del aminoglucósido.

En el presente trabajo se desarrolló un inyectable de Sulfato de Gentamicina y S-alilcisteína, llevando a cabo estudios de preformulación y formulación para obtener una forma farmacéutica segura que permita a los pacientes tratados con el aminoglucósido evitar el daño renal.

CAPITULO 2

Objetivos

2. OBJETIVOS.

OBJETIVO GENERAL:

- ♣ Desarrollar una solución inyectable de Sulfato de Gentamicina y S-alilcisteína.

OBJETIVOS PARTICULARES:

- ♣ Caracterizar los principios activos en estudio.
- ♣ Desarrollar los estudios de preformulación que nos permitan determinar la compatibilidad física y química de los fármacos en estudio.
- ♣ Desarrollar los estudios de formulación para encontrar una formulación base de Sulfato de Gentamicina y S-alilcisteína en solución inyectable.
- ♣ Establecer los criterios de aceptación para la formulación desarrollada.

CAPITULO 3

Antecedentes

3. ANTECEDENTES.

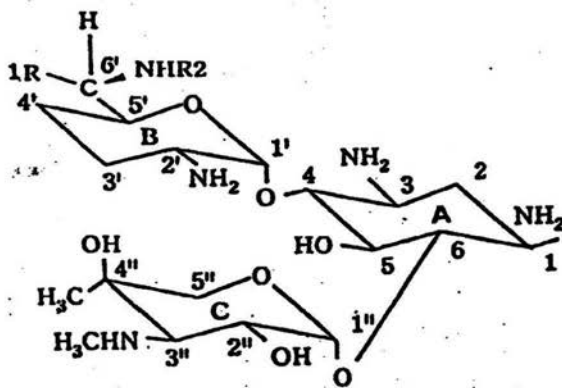
3.1 GENTAMICINA.

La Gentamicina fue estudiada y descrita originalmente por Weinstein y colaboradores en 1963, y un año después fue aislada, purificada y caracterizada por Rosselot y colaboradores, siendo autorizado su empleo hasta 1969 por la FDA. (1)

3.1.1 PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS:

La Gentamicina es un antibiótico que pertenece a los aminoglucósidos, los cuales consisten en dos o más aminoazúcares unidos por enlaces glucosídicos a un núcleo de hexosa que, por lo común está en una posición central. (2,3)

La Gentamicina es una mezcla de Gentamicina C₁ (40%), Gentamicina C₂ (40%) y Gentamicina C_{1A} (20%). La diferencia entre estos tres componentes reside en la presencia y en el número de grupos metilo, ligados al carbono 6'. En el C₁, tanto R1 como R2 son CH₃; en C₂ R1 es CH₃ y R2 es H y en C_{1A}, tanto R1 como R2 son H. (2,3,4)



PREPARACIÓN.

Se recupera de un caldo fermentado producido cuando se hacen crecer cultivos sumergidos de dos subespecies de *Micromonospora purpurea* en un medio de extracto de levadura-cerelesa. (4)

DESCRIPCIÓN.

El Sulfato de Gentamicina es un polvo de color blanco, inodoro y estable a la luz, al aire y al calor; y funde con descomposición entre los 220 u los 240 °C. (4)

REFERENCIA CAS: [1405-41-0]

SOLUBILIDAD.

El Sulfato de Gentamicina es libremente soluble en agua, ácido clorhídrico 0.1 N e hidróxido de sodio 0.1 N (> 1g/mL en cada solución). Es insoluble en alcohol y en la mayoría de los disolventes orgánicos. (2,4)

Tabla 1. Solubilidad del Sulfato de Gentamicina. (2)

Disolvente	Solubilidad a 28°C (mg/mL)
Etilenglicol	> 20
Formamida	>20
Propilenglicol	6.33
Cloroformo	0.68
Metanol	0.20
Dimetilsulfóxido	0.07
Isopropanol	0.05
Acetona	0.40
Disulfuro de carbono	0.03
Piridina	0.03
Etil acetato	0.03
Benceno	0.00
Tetracloruro de Carbono	0.00
Isooctano	0.00
Dietiléter	0.00

CONSTANTE DE ACIDEZ: $pka = 8.2$ (2)

ROTACIÓN ÓPTICA A 20°C: $+107^\circ$ a $+121^\circ$ (2)

ESPECTRO DE ABSORCIÓN DE LUZ INFRARROJO.

Las principales bandas de absorción del Sulfato de Gentamicina se localizan a: 3500-2500, 1620, 1525, 1150-1000, 610 cm^{-1} . (2)

3.1.2 MÉTODOS DE ANÁLISIS.

IDENTIFICACIÓN:

La Gentamicina es convenientemente identificada por cromatografía en capa fina ya que se logran separar sus tres componentes mayoritarios y es posible diferenciarla de otros antibióticos; el eluente que se utiliza con mejores resultados es la fracción inferior de la mezcla de cloroformo, metanol y una solución acuosa de hidróxido de amonio (20:13:10), como revelador se puede emplear ninhidrina o una cámara de yodo. También se ha utilizado la cromatografía en papel para la identificación de Gentamicina. (2)

Otra técnica utilizada es la espectroscopia en la región del infrarrojo usando tabletas de bromuro de potasio y comparando los espectros obtenidos, los cuales son muy similares entre los antibióticos aminoglucósidos. (2)

Dentro de las pruebas de identificación del Sulfato de Gentamicina se contemplan los ensayos de identificación de sulfatos, que se fundamentan en la formación de un precipitado de sulfato de bario, que se obtiene al reaccionar el sulfato con cloruro de bario y ácido clorhídrico en solución acuosa. (5,6,7)

CUANTIFICACIÓN:

Uno de los métodos más empleados para cuantificar Sulfato de Gentamicina es el método microbiológico de difusión en agar, del cual existen una gran cantidad de variantes, ya que se pueden emplear diferentes cepas de microorganismos sensibles al antibiótico (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus*, etc.). Este método se basa en la difusión del antibiótico desde un punto de aplicación, a través de una superficie de agar inoculado con el microorganismo de prueba. La difusión origina zonas de inhibición del microorganismo, cuyo tamaño (diámetro) está en relación con la concentración del antibiótico. Sin embargo, debido a la gran cantidad de variables que se tienen que controlar y el tiempo para obtener un resultado, se han desarrollado otros métodos de cuantificación. (2,5,6)

Se ha cuantificado Gentamicina utilizando la cromatografía en capa fina y posteriormente la densitometría directa. También se han desarrollado métodos de cuantificación por HPLC, el mayor obstáculo para el desarrollo de este tipo de técnicas, es que el Sulfato de Gentamicina no presenta absorción característica en la región ultravioleta, para ello se necesita una derivatización previa de la Gentamicina, la cual se ha logrado con 1-fluoro-2,4-dinitrobenzenceno u O-ftalaldehído. (2,5,6)

Otros métodos utilizados para la cuantificación de Gentamicina son los electroforéticos, fluoroinmunoensayos y radioinmunoensayos. (2)

3.1.3 FARMACOLOGÍA.

INDICACIONES.

La Gentamicina está indicada en el tratamiento de infecciones causadas por: *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus sp*, *Escherichia coli*, *Klebsiella sp*, *Enterobacter sp*, *Serratia sp*, *Citrobacter sp*, *Providencia sp*, *Staphylococcus sp*, *Neisseria gonorrhoeae*.

También se considera en el tratamiento de las siguientes infecciones: infecciones en el riñón y del aparato genitourinario, infecciones respiratorias, septicemia, infecciones de la piel, huesos o tejidos blandos, peritonitis o infecciones pélvicas, infecciones graves del SNC, infecciones gastrointestinales, infecciones oculares, heridas y quemaduras infectadas. (8)

VÍAS DE ADMINISTRACIÓN Y DOSIS.

La solución inyectable de Sulfato de Gentamicina puede administrarse por vía intramuscular o intravenosa. No deberá premezclarse con otros medicamentos, sino que debe administrarse por separado de acuerdo con la vía de administración recomendada y el esquema de dosificación. La duración del tratamiento para todos los pacientes, por lo general es de 7 a 10 días, sin embargo, en enfermedades con complicaciones puede requerirse un período más largo de terapia, en tales casos se recomienda vigilar la función renal, auditiva y vestibular, ya que es factible que la toxicidad pueda aparecer cuando el tratamiento se prolonga por más de 10 días.

Adultos:

Intramuscular o infusión intravenosa, 1 a 1.7 mg/kg de peso cada 8 horas durante 7 a 10 días. En infecciones muy graves se administran hasta 8 mg/kg de peso por día. En la inyección endovenosa, se debe añadir cada dosis a 50 o 200 mL de solución de cloruro de sodio a 0.09% o de glucosa a 5%, y administrarse

lentamente durante 30 a 120 minutos. No exceder de la concentración de 1 mg/mL de solución. En pacientes con insuficiencia renal hay que ajustar la dosis.⁽⁹⁾

Niños:

Intramuscular o infusión intravenosa. Hasta una semana de edad, 2.5 mg/kg de peso corporal, cada 12 a 24 h durante 7 a 10 días; mayores de un mes, 2.5 mg/kg de peso, cada 8 a 16 h durante 7 a 10 días. En casos de infusión intravenosa, ver lo indicado para adultos. ⁽⁹⁾

FARMACOCINÉTICA.

La Gentamicina es una molécula altamente polar, que no se absorbe en el tracto gastrointestinal, pero que se absorbe rápidamente después de una inyección subcutánea o intramuscular. Su vida media en el plasma sanguíneo es de 2 a 3 horas. Después de la administración parenteral, la Gentamicina se distribuye ampliamente, siendo débil su penetración intraocular y al líquido cefalorraquídeo. Su unión a proteínas plasmáticas es mínima y es capaz de cruzar la placenta. No se conocen metabolitos de la Gentamicina y se excreta principalmente en la orina por filtración glomerular, sin embargo, una pequeña parte (3-5%) se reabsorbe y se transporta al interior de la células del túbulo próximal. Pequeñas cantidades pueden excretarse por la bilis y la leche materna. En adultos, la vida media de eliminación es de 2 a 3 horas. En pacientes con daño renal grave, la vida media puede extenderse desde 24 hasta 60 horas. ⁽¹⁰⁾

FARMACODINAMIA.

La Gentamicina es bactericida; se une directamente a la subunidad ribosomal 30 S, inhibiendo por lo tanto la síntesis bacteriana de proteínas. El aminoglucósido se difunde por medio de canales acuosos formados por porinas, proteínas que se encuentran en la membrana externa de bacterias gramnegativas y de este modo

penetran en el espacio periplásmico. El transporte ulterior de aminoglucósido por la membrana citoplásmica (interna) depende del transporte de electrones, en parte por la necesidad de que haya un potencial de membrana (negativo interior) para impulsar el paso de dicho antibiótico al interior de la bacteria; esta fase de transporte ha sido llamada fase I que depende de energía. Es cineticolimitante y puede ser bloqueada por cationes divalentes como los de calcio y magnesio, hiperosmolaridad, disminución en pH y anaerobiosis. Los dos últimos factores reducen la capacidad de la bacteria para conservar la fuerza impulsora necesaria para el transporte (potencial de membrana). Después de penetrar por la membrana citoplásmica se liga a polisomas e interfiere en la síntesis proteínica al causar una lectura errónea y terminación prematura de la traducción de RNAm. Las proteínas aberrantes producidas pueden ser insertadas en la membrana bacteriana, con lo cual se altera su permeabilidad y se estimula el paso de más aminoglucósido. Esta fase del transporte de aminoglucósido, llamada fase II que depende de energía, no se conoce a fondo pero se ha sugerido que en alguna forma está vinculada con la perturbación de la estructura de la membrana citoplásmica quizá por proteínas aberrantes. Después hay un derrame o fuga de iones pequeños seguida por moléculas de mayor tamaño y, al final, por proteínas desde la bacteria antes de su muerte, inducida por el aminoglucósido. Esta alteración progresiva de la cubierta celular, así como otros procesos vitales, explican la acción letal de los aminoglucósidos. (1)

CONTRAINDICACIONES Y PRECAUCIONES.

La Gentamicina está contraindicada en pacientes con hipersensibilidad conocida al fármaco o cualquier otro aminoglucósido.

La Gentamicina se debe usar con precaución en pacientes con disminución de la función renal debido al potencial de una depuración del fármaco reducida; en aquellos con tinnitus, vértigo, o pérdida de la audición de alta frecuencia, quienes no son susceptibles a ototoxicidad; en personas con deshidratación por el aumento de riesgo de ototoxicidad y nefrotoxicidad, en pacientes con miastenia

grave, parkinsonismo, o hipocalcemia, porque puede agravar la debilidad muscular; en recién nacidos y otros lactantes; y en personas de edad avanzada por la disminución de la depuración renal. (10)

INTERACCIONES.

El uso simultáneo de los siguientes fármacos pueden aumentar el riesgo de nefrotoxicidad, ototoxicidad o neurotoxicidad: metoxiflurano, polimixina B, vancomicina, capreomicina, cisplatino, cefalosporinas, anfotericina B y otros aminoglicósidos; el riesgo de ototoxicidad también aumenta durante el uso con ácido etacrínico, furosemida, bumetanida, urea o manitol. El dimenhidrato y otros antieméticos y antivertiginosos pueden enmascarar la ototoxicidad inducida por la Gentamicina. (10)

El uso conjunto de penicilina resulta en efecto bactericida sinérgico contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia* y *Proteus mirabilis*; sin embargo los fármacos son incompatibles física y químicamente y se inactivan cuando se mezclan o administran juntos. (10)

La Gentamicina puede potenciar el bloqueo neuromuscular producido por anestésicos generales o bloqueadores neuromusculares como la succinilcolina y la tubocurarina. (10)

REACCIONES ADVERSAS.

Ototoxicidad.

Después de la administración del aminoglucósido puede haber disfunción vestibular y auditiva. La ototoxicidad es reversible en gran medida y es consecuencia de la destrucción progresiva de las neuronas sensitivas vestibulares o cocleares, que son muy sensibles a sufrir daño por la Gentamicina. (1)

Nefrotoxicidad.

Se sabe que 8 a 26% de individuos que reciben el aminoglucósido por más de varios días muestran un trastorno renal leve, que casi siempre es reversible. La toxicidad al parecer es resultado de la acumulación notable y de retención ávida del aminoglucósido en las células tubulares proximales. Histológicamente, el túbulo proximal es el sitio primario de daño por Gentamicina. Los signos clínicos característicos de la nefrotoxicidad inducida por la Gentamicina son: aumento de la urea en el plasma sanguíneo y la creatinina sérica como resultado de la disminución en la velocidad de filtración glomerular (GFR), también hay presencia de proteínas en la orina y elevación de las cifras de nitrógeno ureico y en muy contadas ocasiones aparecen hipopotasemia, hipocalcemia e hipofosfatemia. (1,11,12)

Otros efectos secundarios posiblemente relacionados con la Gentamicina, incluyen: depresión respiratoria, letargo, confusión, depresión, trastornos visuales, disminución del apetito, pérdida de peso, hipotensión e hipertensión, erupciones cutáneas, prurito, urticaria, ardor generalizado, edema laríngeo, reacciones anafilactoides, fiebre, cefalea, náusea, vómito, aumento de la salivación y estomatitis, púrpura, seudotumor cerebral, fibrosis pulmonar, alopecia, dolores articulares, hepatomegalia transitoria y esplenomegalia. (10)

ALTERACIONES EN LOS RESULTADOS DE PRUEBAS DE LABORATORIO.

Las anomalías de laboratorio posiblemente relacionadas con la Gentamicina incluyen: elevación de las transaminasas séricas (TGO, TGP), de la deshidrogenasa láctica (DHL) y de la bilirrubina; disminución del calcio, sodio y potasio; anemia, leucopenia, granulocitopenia, agranulocitosis transitoria, aumento y disminución del número de reticulocitos y trombocitopenia. (10)

SOBREDOSIS Y TRATAMIENTO.

Entre los signos clínicos de sobredosis están ototoxicidad, nefrotoxicidad y toxicidad neuromuscular. El fármaco puede eliminarse por hemodiálisis o diálisis peritoneal. El tratamiento con sales de calcio o anticolinesterasa invierte el bloqueo neuromuscular. (10)

3.1.4 ESTABILIDAD.

El Sulfato de Gentamicina es un polvo muy estable cuando se almacena en contenedores herméticamente cerrados a temperatura ambiente. Es estable por más de cinco años con respecto a su potencia, rotación específica y pH. (2)

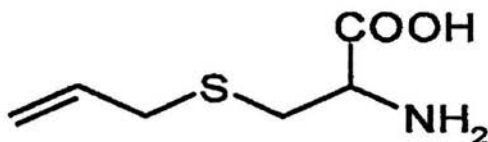
Estable a temperaturas de ebullición en soluciones amortiguadoras de pH 2-14 y es particularmente resistente al ataque por álcalis. Ha presentado una excelente estabilidad en varias formas farmacéuticas, en soluciones parenterales y ungüentos tópicos ha mostrado ser estable por más de cinco años bajo condiciones normales de almacenamiento (2-30°C). (2)

El Sulfato de Gentamicina en solución inyectable es estable a pH de 4.1 su actividad decrece lentamente al disminuir el pH siguiendo una cinética de primer orden. (2, 13,14, 15, 16)

3.2 S-ALILCISTEÍNA.

La S-alilcisteína (SAC) es uno de los principales compuestos que se encuentran en el extracto de ajo envejecido (6.1 +/- 2.7 mg/g de extracto seco), el cual se vende comúnmente en Estados Unidos, Japón y en algunas partes de Europa como suplemento alimenticio. Este extracto se manufactura de la siguiente manera: los dientes de ajo se remojan en una mezcla de extracción que contiene etanol 15-20%. Esta mezcla se envejece durante 18-20 meses a temperatura ambiente, después el extracto se separa y se concentra para su uso. Durante este proceso, el olor y los compuestos irritantes del ajo se transforman en compuestos más estables. (17,18)

La SAC es un aminoácido que contiene azufre y se ha reportado que posee actividad antioxidante, antineoplásica y antihepatopática. (19)



3.2.1 PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS:

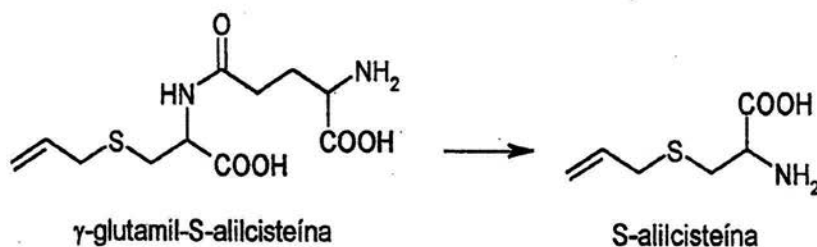
DESCRIPCIÓN.

Polvo blanco o ligeramente amarillo, cristalino con olor a ajo. (19)

SÍNTESIS.

La S-alilcisteína es sintetizada por la reacción de la L-cisteína con bromuro de alilo, para después ser purificada por recristalización de etanol-agua. (20)

También se puede formar por la hidrólisis del γ - glutamil-S-alilcisteína, el cual existe en el ajo crudo como precursor de la S-alilcisteína. (19)



SOLUBILIDAD.

En disolventes acuosos, la SAC, es fácilmente disuelta, pero es muy poco soluble o insoluble en solventes orgánicos, excepto en metanol. La solubilidad en soluciones básicas es más alta que en soluciones ácidas. (19)

Tabla 2. Solubilidad de SAC en varios disolventes y diferentes pH a 20°C. (19)

Disolvente	Volumen del disolvente (mL)
Agua	14.7
HCl al 10%	5.0
NaOH 0.1 N	11.0
Metanol	1053
Etanol	>10000
Acetonitrilo	>10000
Etil acetato	>10000
Buffer* pH 2.41	13.1
pH 3.45	14.2
pH 5.84	14.0
pH 8.29	13.4
pH 9.68	13.0
pH 10.47	12.5

* El buffer utilizado fue preparado con mezclas apropiadas de la solución A y B:

Solución A: ácido cítrico 0.05 M y ácido bórico 0.2 M

Solución B: Monofosfato de sodio 0.1 M

HIGROSCOPICIDAD. La SAC no tiene habilidad higroscópica. (19)

PUNTO DE FUSIÓN: 223.3-223.6 °C (19)

ROTACIÓN ÓPTICA A 20°C: +4.41 (19)

CONSTANTE DE ACIDEZ: pka= 2.2 (19)

3.2.2 MÉTODOS DE ANÁLISIS.

IDENTIFICACIÓN.

La SAC es identificada mediante cromatografía en capa fina, utilizando como eluente una mezcla de agua, solución de fosfato de sodio al 1% y acetonitrilo, (5:10:85) y usando como revelador una lámpara de luz UV. Otros métodos de identificación son por Infrarrojo, Resonancia Magnética Nuclear y Espectrofotometría de Masas. (19)

Dentro de las pruebas de identificación de la SAC se contempla la prueba para la identificación del grupo amino con la reacción con ninhidrina y la prueba para la identificación del azufre con la reacción con nitroprusiato de sodio. (19)

CUANTIFICACIÓN.

La SAC es cuantificada por HPLC, siendo detectada en UV a una longitud de onda de 254 nm. (17,19)

3.2.3 FARMACOLOGÍA.

EVIDENCIAS IN VIVO E IN VITRO DE LAS PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS DE LA SAC.

La SAC posee actividades antioxidantes, ya que in vivo se ha encontrado que reduce la formación del edema en el cerebro de la rata, por un mecanismo parecido a la inhibición de la lipoperoxidación y reduce el daño histológico en el corazón y en el hígado de los ratones tratados con doxorubicina, que es un fármaco utilizado para tratar el cáncer. In vitro, es capaz de atrapar O_2^- , H_2O_2 , y OH. También previene el daño inducido por H_2O_2 en las células y la lipoperoxidación además de inhibir la oxidación de lipoproteínas de bajo peso molecular. (20,21,22,23,24)

La SAC también regula la producción de óxido nítrico (NO) por la inhibición de la enzima óxido nítrico sintetasa en los macrófagos, por lo que al haber un incremento de NO en células endoteliales se contribuye a tener un efecto antiinflamatorio. (20)

VÍAS DE ADMINISTRACIÓN Y DOSIS.

La solución de S-alilcisteína puede administrarse por vía oral y vía parenteral. (19,25)

La LD₅₀ de la SAC para ratas hembras es de 9390 mg/kg y para ratas machos es de 8890 mg/kg por vía oral y por vía intraperitoneal, para ambos géneros, es >20 mM/kg. (19)

Se han realizado experimentos con animales de experimentación a los cuales se les ha administrado una dosis de Sulfato de Gentamicina (que por lo regular era de 70 mg) y diferentes dosis de SAC como: 25 mg, 37.5 mg, 75 mg, 100 mg y 125 mg, siendo esta última la dosis que previene totalmente el daño renal agudo provocado por el aminoglucósido. (20,21)

También se han realizado experimentos en los cuales se observa que no hay ningún efecto de la S-alilcisteína sobre la capacidad bactericida de la Gentamicina

al menos en condiciones in vitro, con lo cual la posibilidad de que este compuesto pueda ser empleado para disminuir el daño renal inducido por la Gentamicina se incrementaría. (20,21)

Se ha reportado que la S-alilcisteína es menos tóxico que otros compuestos del ajo y además sus efectos adversos se han presentado a dosis mayores de 500 mg. (19)

FARMACOCINÉTICA.

La SAC presenta alta biodisponibilidad, es fácilmente absorbido en el tracto gastrointestinal y puede ser detectado en el plasma, hígado y riñón después de la administración oral. La biodisponibilidad es de 98.2% en ratas, 103% en ratones y 87.2% en perros. Se distribuye principalmente en plasma, hígado y riñón. Su principal metabolito es la N-acetil-SAC. Se excreta principalmente por la orina, su tiempo de vida media administrada por vía oral es de más de 10 horas y su depuración es de más de 30 horas en el caso de humanos. En ratones administrados por vía oral, el tiempo de vida media de la SAC es de 0.77 h. En ratones y perros administrados por vía intravenosa el tiempo de vida media es de 0.43 y 10.2 h respectivamente. (19,25)

FARMACODINAMIA.

La farmacocinética, la patología y el patrón clínico del daño renal inducido por la Gentamicina se ha estudiado en el humano y en modelos animales; sin embargo, a pesar de que se conocen varios efectos bioquímicos de la Gentamicina, no está clara la secuencia de eventos de estas alteraciones ni se sabe cuál de ellos es responsable de las alteraciones glomerulares y tubulares características de la nefrotoxicidad por la Gentamicina. Uno de los mecanismos que se ha postulado es la participación de las Especies Reactivas de Oxígeno (ROS), por lo que las propiedades antioxidantes de la S-alilcisteína pueden tener un efecto terapéutico en el daño renal mediado por las ROS. (20, 21, 22, 26, 27, 28, 29,30)

EFFECTOS ADVERSOS.

El urobilinógeno en la orina es parte de un metabolito reabsorbido de bilirrubina generada por las bacterias intestinales. Los niveles de urobilinógeno en los análisis de orina sugieren que la SAC debe tener algún efecto en la flora intestinal a altas dosis.

El incremento de glucosa en el suero, colesterol total y proteína total fueron observados en los análisis bioquímicos de los animales de experimentación tratados a altas dosis.

También se ha observado que a altas dosis de SAC se induce atrofia del páncreas y una disminución en la secreción de insulina. (19)

3.2.4 ESTABILIDAD.

La S-alilcisteína es un compuesto estable que permanece inalterado hasta por dos años, sin embargo, las muestras almacenadas muestran un ligero cambio de color a amarillo, pero no hay transformación ni descomposición de los productos.

Bajo condiciones básicas se presenta una transformación y descomposición de los productos. Estos productos aparecen por el rompimiento del enlace C-S ya que se observa la existencia del alilmercaptano y alilsulfóxido. Sin embargo, hay evidencias de que no hay rompimiento del enlace C-S bajo condiciones ácidas, por lo que la SAC es absorbida sin ninguna descomposición por los cambios de pH en el tracto gastrointestinal. (19)

3.3 FORMAS FARMACÉUTICAS PARENTERALES.

Son soluciones, suspensiones o emulsiones estériles que, contienen uno o más fármacos, preparados por disolución o suspensión del principio activo y otros aditivos en agua para inyección o en un líquido no acuoso o en una mezcla de líquidos miscibles entre sí, envasados en recipientes adecuados, que se destinan para introducirse al organismo parenteralmente, por diferentes vías: subcutánea, intradérmica, intramuscular, intravenosa, intrarraquídea, epidural e intraarticular. (5)

3.3.1 CLASIFICACIÓN DE LAS FORMAS FARMACÉUTICAS PARENTERALES.

Por su volumen:

- * Pequeño volumen: De 1 a 10 mL.
- * Gran volumen: Mayor a 10 mL hasta litros.

Por su estado físico:

- * Soluciones listas para inyectar.
- * Productos solubles secos listos para combinar con el disolvente antes de usar.
- * Productos insolubles secos listos para combinar con el disolvente antes de usar.
- * Suspensiones listas para aplicar.
- * Emulsiones.

3.3.2 SOLUCIÓN INYECTABLE.

Es una forma farmacéutica líquida, transparente y homogénea, obtenida por disolución del o los principios activos y excipientes en un vehículo adecuado, que se utiliza para ser administrado por vía parenteral y que debe ser estéril, libre de partículas y de pirógenos.

Ventajas:

- ⇒ Se elimina el efecto de primer paso.
- ⇒ Tienen una acción rápida e inmediata.
- ⇒ Se puede administrar a cualquier tipo de paciente.
- ⇒ Puede ajustarse la dosis.

Desventajas:

- ⇒ Pueden llegar a provocar dolor en el sitio de aplicación.
- ⇒ Requiere de personal especializado.
- ⇒ No son socialmente aceptables.
- ⇒ Para ser administrados requieren de otros materiales.
- ⇒ Requerimientos de fabricación más estrictos.
- ⇒ Una vez aplicado el medicamento no se puede neutralizar en caso de una intoxicación.

3.3.3 EXCIPIENTES UTILIZADOS EN LA FABRICACIÓN DE SOLUCIONES

INYECTABLES. (31, 32, 33, 34, 35,36, 37,38)

VEHÍCULOS.

La mayoría de las formas farmacéuticas parenterales son líquidas, siendo por tanto el vehículo, el componente que se presenta en mayor proporción. Los vehículos son sustancias que permiten la solución o suspensión del principio activo, éstos deben cumplir con las siguientes características: no deben ser tóxicos, irritantes ni sensibilizantes; no deben tener acción farmacológica; no deben reaccionar, ni afectarse por ácidos o álcalis; no deben reaccionar con el principio activo y deben ser económicos y fáciles de adquirir.

Normalmente la absorción ocurre con suma rapidez y por completo cuando un fármaco se presenta en solución acuosa. Existen dos tipos de vehículos que son usados en la fabricación de parenterales: acuosos y no acuosos.

Acuosos.

El agua es el componente principal de las formas farmacéuticas líquidas acuosas en ellas se emplea como disolvente y vehículo. El agua es insípida, no posee cualidades irritantes y su falta de actividad farmacológica la torna ideal para tales fines.

Si bien es cierto que presenta una gran variedad de ventajas, asimismo puede ser fuente principal de contaminación microbiana, física y química. Para evitar lo anterior existen diversos mecanismos mediante los cuales podemos eliminar dicha contaminación.

El agua para fabricación de inyectables es la más ampliamente utilizada como disolvente para formas farmacéuticas parenterales. Este tipo de agua se obtiene por destilación o por ósmosis inversa, y debe contar con las siguientes características: estéril, libre de pirógenos, libre de metales pesados, debe tener una conductividad de 1.25 $\mu\text{S/cm}$ y un pH entre 5 y 7.

A menudo también se utilizan vehículos isotónicos a los cuales pueden agregarse un medicamento en el momento de la administración. Estos vehículos incluyen: inyección de cloruro de sodio, inyección de Ringer, inyección de dextrosa, inyección de dextrosa y cloruro de sodio e inyección de Ringer-lactato.

También se han utilizado vehículos miscibles en agua para modificar la solubilidad de ciertos fármacos y para disminuir su hidrólisis. Los solventes más importantes de este grupo son: alcohol etílico, polietilenglicol y propilenglicol.

No acuosos.

Estos vehículos se utilizan cuando se desea aumentar la solubilidad del fármaco, por lo general tienen una constante dieléctrica baja por lo que se evita la hidrólisis del principio activo. El grupo más importante de vehículos no acuosos está constituido por los aceites fijos. Los aceites comúnmente utilizados son los de maíz, semillas de algodón, maní y sésamo. Los esteroides, hormonas y vitaminas son incorporados en estos aceites. La USP contiene las especificaciones de este tipo de vehículos, los cuales deben ser de origen vegetal de modo que sean metabolizados, deben ser líquidos a temperatura ambiente y no deben tomarse rancios en poco tiempo.

Los aceites fijos deben de cumplir con las siguientes características: el índice de saponificación no debe ser menor de 185 ni mayor a 200, el índice de yodo no debe ser menor a 79 ni mayor a 128, también deben cumplir con las pruebas del material insaponificable, de ácidos grasos libres y de la parafina sólida a 10°C.

En el caso de mono y diglicéridos de ácidos grasos sintéticos deben tener un índice de yodo menor a 140 y cumplir con la prueba de la parafina sólida a 10°C.

Los aceites también se utilizan para disolver fármacos con solubilidad acuosa baja y proporcionar un mecanismo de liberación lento del fármaco. La deterioración de los aceites fijos, que conduce a la rancidez y a la producción de ácidos grasos libres, se debe evitar en los productos parenterales. También los aceites fijos o los ésteres de ácidos grasos no deben contener el aceite mineral o la parafina que el cuerpo no puede metabolizar.

AGENTES QUELANTES.

Los agentes quelantes son adicionados para complejar y por lo tanto, inactivar metales como cobre, hierro y zinc, que generalmente catalizan la degradación oxidativa de los fármacos. Algunas fuentes de contaminación de metales incluyen: impurezas de la materia prima; disolventes, tales como agua; tapones de goma o material de empaque primario y equipo empleado en el proceso de fabricación. Los agentes quelantes más utilizados son los derivados del EDTA. Estos agentes también pueden mejorar la eficacia de antioxidantes o conservadores. El ácido cítrico, el ácido tartárico y algunos aminoácidos pueden actuar como agentes quelantes.

ANTIOXIDANTES.

Muchos fármacos en solución son propensos a la oxidación, tales reacciones son mediadas por radicales libres, oxígeno molecular y frecuentemente involucra la adición de oxígeno y la eliminación de hidrógeno. La oxidación es catalizada por metales, hidrógeno e iones hidroxilo, por tal razón es necesaria la adición de sustancias que eviten la degradación oxidativa del fármaco.

El bisulfito de sodio al 0.1% es el que se usa con mayor frecuencia. También se ha observado que en algunos casos la sal sódica del EDTA mejora la actividad de los antioxidantes, aparentemente por quelar iones metálicos que de otro modo catalizarían la reacción de oxidación.

Otro medio utilizado para controlar la oxidación de un fármaco es purgar la solución inyectable con un gas inerte como nitrógeno.

CONSERVADORES.

Los agentes antimicrobianos deben ser adicionados a preparaciones indicadas como dosis múltiples, excepto cuando la preparación por sí misma tenga propiedades antimicrobianas suficientes. Para las presentaciones de dosis múltiples, el agente antimicrobiano es requerido como un bacteriostático para inhibir el desarrollo de microorganismos introducidos accidentalmente en el contenedor al tomar una dosis. Por tal motivo se deben tomar las precauciones necesarias tanto para su administración como para el almacenaje entre sucesivas aplicaciones.

Estos agentes pueden ser también utilizados en presentaciones de una dosis cuando el medicamento no es esterilizado en su etapa final de manufactura.

Los agentes antimicrobianos más utilizados son: las sales cuaternarias de amonio, alcoholes, ésteres y ácidos. Las sales cuaternarias de amonio son incompatibles con iones cargados negativamente y proteínas, éstos son a menudo utilizados en productos oftálmicos. Los alcoholes y ésteres son generalmente empleados en los productos parenterales.

Los agentes antimicrobianos se excluyen específicamente en los parenterales de gran volumen que se utilizan para proporcionar los líquidos, nutrientes, o electrólitos, tales como inyección de dextrosa y cloruro de sodio, inyección de dextrosa, inyección de Ringer, inyección del lactato de Ringer e inyección de cloruro de sodio.

REGULADORES DE PH.

Las soluciones reguladores de pH son adicionadas para mantener un determinado pH en los productos parenterales. Cambios en el pH pueden ocurrir durante el almacenamiento debido a las reacciones de degradación dentro del producto, interacciones con los componentes del material de empaque primario o por la absorción de gases o vapores. Los reguladores de pH más usados son citratos, acetatos, fosfatos y boratos.

TONICIDAD.

Es importante que las soluciones inyectables que sean administradas por vía intravenosa sean isotónicas, o cercanas a la isotonicidad. Esto es por los cambios en la presión osmótica y el resultado del intercambio de especies iónicas a través de las membranas celulares de los eritrocitos. Las soluciones no isotónicas, particularmente si se dan en cantidades mayores a 100 mL, pueden causar hemólisis o crenación de los eritrocitos (en el caso de soluciones hipotónicas o hipertónicas respectivamente). Por tales razones es importante adicionar agentes que aumenten la tonicidad del preparado farmacéutico. La dextrosa, el cloruro de sodio y el cloruro de potasio son comúnmente utilizados para lograr la isotonicidad en los productos parenterales.

ANESTÉSICOS.

Se utilizan en aquellos casos en que el fármaco genere dolor en el sitio de aplicación, los anestésicos locales más utilizados son el clorhidrato de procaína y la lidocaína.

Tabla 3. Aditivos comúnmente utilizados en los productos parenterales (36)

Sustancia	Concentración usual (%)
Agentes antimicrobianos:	
Cloruro de benzalconio	0.01
Alcohol bencílico	1-2
Metilparabeno	0.18
Propilparabeno	0.02
Butilparabeno	0.015
Antioxidantes:	
Ácido ascórbico	0.01
Ésteres del ácido ascórbico	0.015
Butilhidroxianisol (BHA)	0.02
Butilhidroxitolueno(BHT)	0.02
Cisteína	0.5
Monotioglicerol	0.5
Bisulfito de sodio	0.15
Metabisulfito de sodio	0.2
Tocoferol	0.5
Glutati6n	0.1
Agente Quelante	
Ácido Etilendiaminotetraacético	0.01-0.075
Reguladores de pH	
Ácido acético (pH 3.5-5.7)	1-2
Ácido cítrico (pH 2.5-6.0)	1-5
Ácido glutámico (pH 8.2-10.2)	1-2
Ácido fosf6rico (pH 6.0-8.2)	0.8-2
Agentes para ajustar la tonicidad	
Dextrosa	4-5.5
Cloruro de sodio	0.5-0.9
Sulfato de sodio	1-1.6
Tensoactivos	
Polioxietilen sorbitan monooleato	0.1-0.5
Sorbitan monooleato	0.05-0.5

3.4 AREA ASÉPTICA.

Para asegurar la calidad de los inyectables que se van a fabricar, es indispensable contar con un espacio físico especialmente diseñado para minimizar el riesgo de contaminación por partículas viables y no viables, manteniéndolas dentro de límites establecidos, conocido como área aséptica.

Esta área debe cumplir con los siguientes requisitos:

1. Construcción, es decir, contar con las dimensiones, localización, terminados, servicios y tuberías adecuados.
2. Operación, tomando en cuenta el flujo del personal, materiales, la sanitización del área, así como la evaluación de la misma.
3. Condiciones ambientales, las cuales deben de considerar en primer lugar el confort del trabajador y la protección del producto. Estas condiciones son las siguientes:
 - ⇒ Temperatura: 18-25 °C y Humedad Relativa: 30- 60%.
 - ⇒ El aire que entra al área debe entrar a una velocidad de 20 m/min, y una presión diferencial mínima de 1.5 mm de columna de agua.
 - ⇒ Debe haber mínimo 20 cambios de aire por hora.

El equipo utilizado para purificar el aire se conoce como Unidad Manejadora de Aire (UMA), la cual consta de una serie de filtros, prefiltros, reguladores de temperatura y humedad relativa y filtros terminales (HEPA).

Los elementos de la UMA son:

- Prefiltro: que pueden ser de lana, vidrio o tela, el cual retiene partículas grandes.
- Precipitador electrostático.
- Regulador de Temperatura y Humedad Relativa, el cual acondiciona el aire de acuerdo a especificaciones.
- Filtro HEPA 98% de eficiencia.

- Filtro HEPA 99.97% de eficiencia, instalado en el techo tanto del área aséptica, como de las campanas de flujo unidireccional.

El área aséptica, que es el espacio físico en el que se realiza el dosificado de inyectables se divide en:

- Área limpia: Fuera del área aséptica.
- Área aséptica: Lugar en donde se lleva a cabo el dosificado de productos estériles.
- Área aséptica crítica. Espacio bajo la campana de flujo unidireccional en donde se expone al ambiente el granel y el material de empaque primario. (ampolletas, frascos, tapones, etc.)

Tabla 4. Clasificación de las áreas. ⁽³⁹⁾

Clasificación	Partículas < 0.5 μ	Microorganismos
Clase 100 (Crítica)	3530 / m ³	No más de 1 UFC/ft ³
Clase 10,000 (Aséptica)	353,000 / m ³	Menos de 20 UFC/ft ³
Clase 100,000 (Área limpia)	3,530,000 / m ³	Menos de 100 UFC/ft ³

Para asegurarnos que la UMA proporciona aire de calidad consistente es necesario:

- * Establecer programas de monitoreo del aire y verificar si es consistente.
- * Evaluar el impacto del proceso sobre el ambiente: parámetros físicos y microbiológicos.
- * Calificación del área, es decir, verificar el diseño, materiales de construcción, dimensiones, etc.

3.4.1 CALIFICACIÓN DEL ÁREA ASÉPTICA.

La calificación del área aséptica tiene como objetivo el contar con evidencia documental que nos permita asegurar la calidad del ambiente bajo el cual se desarrolla el proceso de dosificado de parenterales.

Se lleva a cabo bajo dos condiciones: estáticas y dinámicas.

Bajo las condiciones estáticas se verifica si la UMA opera de acuerdo a las especificaciones establecidas. Estas condiciones se lleva a cabo considerando dos aspectos:

1. El área vacía.
2. El área y los equipos.

Bajo las condiciones dinámicas se verifica la operación de la UMA en presencia de personal y equipos.

Los parámetros a evaluar son los siguientes:

Parámetros físicos.

Presión. Esta se califica por medio de un manómetro, y se debe contar con una presión diferencial mínima de 1.5 mm de columna de H₂O.

Velocidad de flujo. Se califica con un tacómetro, la velocidad debe ser 20 m/min +/- 20%.

Humedad relativa. Se mide con un higrómetro y debe encontrarse entre 30 y 60%.

Temperatura. Se mide con un termómetro y debe estar entre 18 y 25°C.

Cambios de aire: Mínimo 20 veces / hora.

Conteo de partículas inertes: Se hace con un contador óptico denominado ROYCO en tres niveles generalmente.

1. Distancia entre 10 y 15 cm de los filtros HEPA 99.97%. De esta forma se verifica la integridad del mismo.
2. A la altura del equipo instalado, para determinar el efecto que se produce al entrar en contacto el aire con la superficie de las campanas.
3. Bajo la campana de flujo unidireccional a la altura del proceso.

Análisis microbiológico.

Cajas de sedimentación.

Se usan comúnmente cajas de TSA (Tripticasa Soya Agar) y DSA (Dextrosa Saboraud Agar). Se colocan en diferentes puntos de área aséptica crítica, como sobre la campana de flujo unidireccional, las mesas del área aséptica, incluso sobre la mesa de trabajo. Generalmente en el suelo no se colocan las cajas.

Monitoreo del personal.

La calificación del personal incluye la capacitación del personal, conocimientos de microbiología y el monitoreo microbiológico de las manos y el uniforme utilizado. Las manos se califican efectuando un lavado con un volumen conocido de agua estéril que se deja correr a través de la mano del operador que se está calificando y el agua cae en un matraz estéril; después se analizan estas muestras. Se utiliza un matraz para cada mano.

El uniforme se califica tomando muestras de las mangas y escafandras con un hisopo, el cual es analizado posteriormente.

Superficies.

Se usan hisopos y cajas de contacto.

Los hisopos pueden ser de dos tipos:

- Hisopo húmedo. El hisopo contenido en un tubo con una cantidad conocida de agua estéril se saca y se frota sobre las superficies de muestreo que son las de preparación de inyectables y mesas localizadas en el área, después se introduce nuevamente al tubo y se lleva al laboratorio para realizar su análisis.
- Hisopo seco. Se frota la superficie de muestreo con el hisopo seco y estéril, y se introduce a un tubo con cantidad conocida de agua para su posterior análisis.

Las cajas de contacto son cajas de 3 a 4 cm de diámetro con medio TSA, las cuales se utilizan para muestrear superficies, éstas se invierten a modo que la superficie sea tocada por el medio contenido y se incuban para su posterior análisis.

Microorganismos en el aire o suspendidos.

Puede usarse para ello el BIOTEST.

En condiciones de rutina el monitoreo de los parámetros físicos se debe llevar a cabo todo el tiempo que se esté trabajando y el conteo de partículas inertes se debe monitorear de 15 a 30 días.

El monitoreo microbiológico del personal, superficies y el conteo de microorganismos en el aire debe llevarse a cabo de 15 a 30 días. El monitoreo con las cajas de sedimentación se debe realizar por cada turno de llenado.

En condiciones de validación, los parámetros físicos se deben de monitorear durante todo el tiempo que se esté trabajando y el conteo de partículas inertes se debe monitorear mínimo 15 días consecutivos al menos por cada turno de llenado.

En cuanto al análisis microbiológico, las cajas de sedimentación, el análisis de las superficies y el conteo de los microorganismos en el aire se deben monitorear al menos 15 días por cada turno de llenado. El análisis del personal se debe monitorear al menos con cinco muestras de cada individuo.

3.5 ETAPAS DEL DESARROLLO FARMACÉUTICO. (40)

- I. Preformulación
- II. Formulación
- III. Optimización
- IV. Estabilidad
- V. Escalamiento y/o transferencia de tecnología
- VI. Validación del proceso

3.5.1 PREFORMULACIÓN.

Esta etapa se define como la etapa en la cual se realizan sobre el fármaco una serie de estudios, sólo o acompañado por los excipientes, cuyo objetivo es aportar elementos suficientes para obtener un medicamento estable, biodisponible, aceptable por el paciente y el médico y que pueda ser fabricado por medio de un proceso industrializable.

A nivel internacional, los estudios de preformulación se realizan con fármacos nuevos, sin embargo en nuestro país generalmente se aplica a fármacos conocidos, cuya innovación puede ser la combinación de fármacos, modificación de la vía de administración, forma farmacéutica o dosis.

Dentro de la preformulación se contemplan los siguientes puntos que dependen en parte de la forma farmacéutica que se desea desarrollar:

- ⇒ Revisión bibliográfica.
- ⇒ Caracterización del principio activo: descripción, solubilidad, pureza, punto de fusión, condiciones de almacenaje, datos de análisis para su identificación y cuantificación.

- ⇒ Datos biofarmacéuticos del principio activo: velocidad de disolución, coeficientes de distribución, modelos de absorción in vitro, farmacología, elaboración del régimen de administración, metabolismo del principio activo.
- ⇒ Compatibilidad del principio activo con excipientes.
- ⇒ Estabilidad física, química cuantitativa, microbiológica, toxicológica, a la oxidación, higroscopicidad y determinación de pH de mayor estabilidad.
- ⇒ Métodos de análisis.

Los estudios de preformulación deben proporcionar información que cubra básicamente los siguientes aspectos:

- Estabilidad: Parámetro que permiten inferir el comportamiento químico, físico y microbiológico del principio activo sólo o en combinación con excipientes.
- Proceso: Características que permiten diseñar y definir un proceso a nivel del laboratorio e industrial, potencialmente validable.
- Desempeño biológico: Parámetros que sean un indicativo del comportamiento del fármaco en el organismo.
- Aceptación por el paciente y el médico. Aspectos que hacen el medicamento atractivo para su consumo.
- Identificación y pureza. Parámetros que indican la calidad de la materia prima para ser empleada en la fabricación de medicamentos.

3.5.2 FORMULACIÓN.

Con la información generada a partir de los estudios de preformulación se inician las actividades para desarrollar la forma farmacéutica especificada. Los estudios de formulación se enfocan en los siguientes puntos:

- a) Fórmula cuantitativa, que involucra la selección de excipientes, la proporción y características de éstos.

- b) Establecimiento de especificaciones de materias primas, especificaciones preliminares de producto a granel y producto terminado.
- c) Diseño de proceso de fabricación y establecimiento de controles en proceso.
- d) Definición de las variables críticas sobre las cuales puede realizarse la optimización.
- e) Selección del material de empaque basado tanto en las necesidades de protección del producto a factores ambientales a los que puede estar expuesto como en aspectos de compatibilidad, estéticos y de mercadeo.

3.5.3 OPTIMIZACIÓN.

El objetivo de esta etapa es mejorar las características críticas del producto. Para lo cual es indispensable identificar aquellas variables críticas que son susceptibles de optimizarse, así como fijar el intervalo de valores que dicha variable puede tomar. Los aspectos que en general son susceptibles de validar comprenden:

- a) Propiedades organolépticas.
- b) Costos.
- c) Tiempo requerido para cada operación del proceso de fabricación.
- d) Rendimientos parciales y final.

3.5.4 ESTABILIDAD.

Los estudios de estabilidad en esta etapa persiguen distintos fines a los realizados en etapas previas. Durante la preformulación y formulación los estudios de estabilidad son de carácter preliminar y generalmente son estudios bajo condiciones aceleradas, que por un lado permiten contar con un resultado más rápido y disminuyen el riesgo de que el producto terminado muestre algún efecto de inestabilidad bajo las condiciones a largo plazo.

Esta etapa tiene el propósito de determinar la estabilidad en un producto con fines de registro ante la entidad reguladora. Se trata de la evaluación de la fórmula final para contar con evidencia de cómo las características físicas, químicas, fisicoquímicas y microbiológicas del medicamento varían con el tiempo bajo la influencia de factores como temperatura, humedad y luz.

Los estudios se llevan a cabo de acuerdo a un protocolo preestablecido que cumpla con la legislación aplicable; estos estudios permiten establecer las condiciones de almacenamiento en que el medicamento conserva sus propiedades originales así como el período de caducidad.

Para el registro de un producto terminado se realizan pruebas de estabilidad acelerada con el fin de determinar en menor tiempo, la fecha tentativa de caducidad del producto.

Los estudios a largo plazo permiten confirmar la fecha de caducidad e incluso permiten sustentar una extensión de hasta 5 años de la misma. La extensión y condiciones de almacenamiento deberán cubrir el almacenamiento, transporte y uso de producto así como el término completo del tiempo de caducidad tentativo para confirmarlo.

Tabla 5. Medicamentos con fármacos nuevos. (43)

Tipo de estudio	Almacenamiento	Mínimo	Análisis
Estabilidad Acelerada	40°C +/- 2°C y 75% +/- 5% HR	6 meses	0, 3 y 6 meses
Estabilidad Intermedia	30°C +/- 2°C y 60% +/- 5% HR	12 meses	0, 3, 6 y 12 meses
Estabilidad a Largo Plazo	25°C +/- 2°C y 60% +/- 5% HR	12 meses	0, 3, 6, 9 y 12 meses

Tabla 6. Medicamentos con fármacos conocidos. (43)

Tipo de estudio	Almacenamiento	Mínimo	Análisis
Estabilidad Acelerada	40°C +/- 2°C y 75% +/- 5% HR	3 meses	0, 1 y 3 meses
Estabilidad a Largo Plazo	25°C +/- 2°C y 60% +/- 5% HR	12 meses	0, 3, 6, 9 y 12 meses

Un estudio de estabilidad de un medicamento parenteral de pequeño volumen, debe incluir las siguientes pruebas:

Apariencia, color, pH, ensayo, contenido de antioxidantes y conservadores, esterilidad (inicial y final) y pirógenos. (43)

3.5.5 ESCALAMIENTO.

Es el cambio en el tamaño del lote; generalmente hay primero un incremento del lote a nivel laboratorio a lote piloto, el cual se recomienda que sea al menos el 10% del lote comercial.

El objetivo de esta etapa es industrializar el proceso desarrollado en el laboratorio y cuando se requiera, adaptar equipos, condiciones, controles, etc., que sean necesarios para fabricar el producto desarrollado a la escala comercial proyectada.

3.5.6 TRANSFERENCIA DE TECNOLOGÍA.

Es el proceso de comunicar el conocimiento que generó el área de desarrollo a las áreas productivas. En este caso tanto el laboratorio de desarrollo analítico como el farmacéutico funcionan como emisores y deben ser capaces de generar un mensaje estructurado y comunicarlo de manera clara y concisa a los receptores (producción y control de calidad) para lograr que el producto se fabrique exitosamente. Puede darse a la par del escalamiento, ya sea a lote piloto y/o a lote comercial.

El éxito en la transferencia depende de la efectividad con que se planeen y detallen las acciones a tomar, las áreas involucradas, las necesidades de capacitación o preparación del personal involucrado y sus responsabilidades; se prepare y distribuya la documentación completa que comprenda especificaciones de materias primas y requerimientos de equipos, procesos detallados de fabricación y acondicionamiento del producto, parámetros para la validación del proceso, procedimientos de muestreo y análisis para el control de calidad; determinación de límites apropiados, entre otros aspectos.

Además las indicaciones dadas en un plan de acción general deben ser claras, concisas y de acuerdo a las dimensiones en el tamaño de lote y al equipo disponible previamente calificado.

3.5.7 VALIDACIÓN DEL PROCESO.

En esta etapa se genera la evidencia documentada de que el proceso se comporta de manera consistente y da como resultado un producto con las especificaciones de calidad preestablecidas. Es en esta etapa donde concluye el desarrollo de un producto, ya que una vez que se establece que el proceso está bajo control, se está validando también del diseño del producto.

La validación de procesos involucra aspectos que no necesariamente están ligados al desarrollo del producto, como son los sistemas críticos, personal, equipos y áreas.

CAPITULO 4

Desarrollo Experimental

4. DESARROLLO EXPERIMENTAL.

4.1 ESTUDIOS DE PREFORMULACIÓN.

4.1.1 Caracterización de los principios activos.

SULFATO DE GENTAMICINA.

- 1) Descripción del principio activo.

Observaciones visuales de la materia prima.

- 2) Solubilidad.

Se pesaron 40 mg y 80 mg en frascos viales transparentes de Sulfato de Gentamicina y se disolvieron en 1 mL de agua.

- 3) Ensayos de identidad.

Cromatografía en Capa Fina.

Preparación de la fase móvil: Se colocaron en un embudo de separación los volúmenes adecuados de cloroformo, metanol e hidróxido de amonio en una relación (20:13:10), se agitó vigorosamente durante tres veces y se dejó separar las fases para después utilizar la fracción inferior como fase móvil.

Preparación de la muestra y del estándar: Se prepararon soluciones a una concentración de 2 mg/mL del estándar y de la materia prima.

Revelador: Cámara con vapores de yodo.

Procedimiento: Se aplicaron 20 µL de cada solución en carriles separados en una placa de sílica gel. Se desarrolló el cromatograma, se dejó secar y finalmente se reveló. Las tres manchas principales obtenidas en el cromatograma con la preparación de la muestra deben corresponder a las manchas principales obtenidas con el estándar.

- 4) pH.

3.5-5.5 determinado en una solución de 40 mg/mL

- 5) Rotación específica.

Calcular con referencia a la sustancia seca, determinar en una solución que contenga 10 mg/mL.

6) Pérdida por secado.

No más de 18%, secar por tres horas a 110°C

7) Contenido de gentamicinas.

$C_1 = 25.0\% - 50.0\%$

$C_2 = 25.0\% - 55.0\%$

$C_{1A} = 10.0\% - 35.0\%$

8) Valoración.

Por el método de difusión en agar. Contiene no menos de 590 µg/mg de gentamicina, calculado con referencia a la sustancia seca.

S-ALILCISTEÍNA.

1) Descripción del principio activo.

Observaciones visuales de la materia prima.

2) Solubilidad.

Se pesaron 1 mg y 2 mg en frascos viales transparentes de S-alilcisteína y se disolvieron en 1 mL de agua.

3) Ensayos de identidad.

Cromatografía en Capa Fina.

Preparación de la fase móvil: Se utilizó la misma fase móvil que para el caso del Sulfato de Gentamicina.

Preparación de la muestra y del estándar: Se prepararon soluciones a una concentración de 2 mg/mL del estándar y de la materia prima.

Revelador: Cámara con vapores de yodo.

Procedimiento: Se aplicaron 20 µL de cada solución en carriles separados en una placa de sílica gel. Se desarrolló el cromatograma, se dejó secar y finalmente se reveló. La mancha principal obtenida en el cromatograma con la preparación de la muestra debe corresponder a la mancha principal obtenida con el estándar.

4) pH.

5.0-7.0 determinado en una solución de 1 mg/mL.

5) Rotación óptica.

Determinar en una alícuota de 50 mL de una solución de 10 g de SAC disuelta en HCl 6N.

6) Pérdida por secado.

No más de 0.1%.

7) Valoración.

Por el método de HPLC. Contiene no más de 98.5% y 101.5% de S-alilcisteína.

4.1.2. Estabilidad y degradación de los principios activos.

Para monitorear estos estudios se utilizó la cromatografía en capa fina, para obtener una separación adecuada de los diferentes componentes de degradación del Sulfato de Gentamicina y S-alilcisteína.

Estabilidad

SULFATO DE GENTAMICINA.

Se pesaron 40 mg y 80 mg (por duplicado) de Sulfato de Gentamicina en frascos viales transparentes, se disolvieron en 2 mL de agua y se sometieron a las siguientes condiciones:

- Luz
- En ausencia de luz

S-ALILCISTEÍNA.

Se pesaron 1 mg y 2 mg de SAC en frascos viales transparentes y se disolvieron en 1 mL de agua, sometiéndose a las condiciones anteriores.

Estos estudios se monitorearon cada tercer día, los primeros siete días, y posteriormente cada semana durante 2 meses.

Se evaluaron los siguientes aspectos:

Cambios físicos: Color de la solución, pH y ausencia de partículas insolubles.

Cambios químicos: Por medio de la cromatografía en capa fina desarrollada, se monitoreó la integridad cromatográfica.

Degradación.

Se pesaron 1 mg de Sulfato de Gentamicina y 1 mg SAC en frascos viales transparentes y se les adicionó 1 mL de la solución correspondiente, manteniéndose a temperatura ambiente durante 24 horas.

Condiciones:

- HCl 2N
- NaOH 2N
- H₂O₂ al 30%

Una vez transcurrido el tiempo se evaluaron los siguientes aspectos:

Cambios físicos: Color de la solución y ausencia de partículas insolubles.

Cambios químicos: Por medio de la cromatografía en capa fina se observó si había degradación química.

4.2 ESTUDIOS DE FORMULACIÓN.

Tomando en consideración los resultados obtenidos en la etapa anterior, se planteó la siguiente formulación base:

Componente

Sulfato de Gentamicina	70 mg
S-alilcisteína	125 mg
EDTA	0.1 mg
Solución reguladora de fosfatos pH = 5	0.02 mL
Agua para fabricación de inyectables c.b.p.	1 mL

Las dosis del Sulfato de Gentamicina y SAC fueron tomadas de los experimentos en los cuales ya se observaba el efecto protector de la S-alilcisteína a la nefrotoxicidad producida por la Gentamicina.

Cabe mencionar que las cantidades anteriores eran las que originalmente se iban a utilizar, pero debido a que en la síntesis de la SAC no se obtenía una suficiente cantidad del compuesto, se decidió utilizar la mitad de ellas, haciendo esta modificación de manera proporcional para cada componente de la formulación.

Es decir que la formulación que se preparó fue la siguiente:

Tabla 7. Formulación base

Componente	p/ 1 mL	p/10 mL
Sulfato de Gentamicina	35 mg	350 mg
S-alilcisteína	62.5 mg	625 mg
EDTA	0.05 mg	0.5 mg
Solución reguladora de fosfatos pH = 5	0.01 mL	0.1 mL
Agua para fabricación de inyectables c.b.p.	1mL	10 mL

Se evaluaron los siguientes aspectos:

- ✓ Características físicas de la solución obtenida (color, olor, presencia de partículas extrañas).
- ✓ Solubilidad de los diferentes aditivos al incorporarlos a la solución.
- ✓ pH de la solución.

Después se dosificó de forma manual en ampolletas de vidrio de 1 mL color ámbar, se sellaron y se sometieron a la prueba de ciclado térmico durante una semana.

La prueba de ciclado térmico consiste en exponer la solución obtenida a condiciones de 40°C por 24 horas y posteriormente cambiarlas a 5°C por 24 horas, repitiendo este ciclo durante el período que se desee evaluar.

Durante el ciclado térmico se monitoreo el aspecto físico de la solución y la presencia de partículas extrañas o partículas insolubles.

Al final del ciclado térmico se observó la apariencia de la solución y se midió el pH. También se evaluó la estabilidad química mediante la cromatografía en capa fina desarrollada en la etapa de preformulación.

También se probaron las siguientes fórmulas:

Tabla 8. Formulación 1

Componente	p/ 1 mL	p/10 mL
Sulfato de Gentamicina	35 mg	350 mg
EDTA	0.05 mg	0.5 mg
Solución reguladora de fosfatos pH= 5	0.01 mL	0.1 mL
Agua para fabricación de inyectables c.b.p.	1 mL	10 mL

Tabla 9. Formulación 2

Componente	p/ 1 mL	p/10 mL
S-alilcisteína	62.5 mg	625 mg
EDTA	0.05 mg	0.5 mg
Solución reguladora de fosfatos pH= 5	0.01 mL	0.1 mL
Agua para fabricación de inyectables c.b.p.	1 mL	10 mL

Tabla 10. Formulación 3

Componente	p/ 1 mL	p/10 mL
Sulfato de Gentamicina	35 mg	350 mg
S-alilcisteína	62.5 mg	625 mg
EDTA	0.05 mg	0.5 mg
Solución reguladora de fosfatos pH= 5	0.01 mL	0.1 mL
Agua para fabricación de inyectables c.b.p.	1 mL	10 mL

Tabla 11. Formulación 4

Componente	p/ 1 mL	p/10 mL
Sulfato de Gentamicina	35 mg	350 mg
EDTA	0.05 mg	0.5 mg
Solución reguladora de citratos pH= 5	0.0125 mL	0.125 mL
Agua para fabricación de inyectables c.b.p.	1 mL	10 mL

Tabla 12. Formulación 5

Componente	p/ 1 mL	p/10 mL
S-alilcisteína	62.5 mg	625 mg
EDTA	0.05 mg	0.5 mg
Solución reguladora de citratos pH= 5	0.0125 mL	0.125 mL
Agua para fabricación de inyectables c.b.p.	1 mL	10 mL

Tabla 13. Formulación 6

Componente	p/ 1 mL	p/10 mL
Sulfato de Gentamicina	35 mg	350 mg
S-alilcisteína	62.5 mg	625 mg
EDTA	0.05 mg	0.5 mg
Solución reguladora de citratos pH= 5	0.0125 mL	0.125 mL
Agua para fabricación de inyectables c.b.p.	1 mL	10 mL

Cada una de las seis formulaciones se sometió al procedimiento anterior.

Cabe mencionar que el agua utilizada para la fabricación de las formulaciones fue agua destilada previamente hervida, enfriada y finalmente filtrada, a fin de disminuir la presencia de partículas extrañas.

Las soluciones reguladoras utilizadas se prepararon conforme a la FEUM 7ª edición de la siguiente manera:

Solución Reguladora de Fosfatos pH= 5

Colocar 25 mL de solución 0.2 M de fosfato monopotásico en un matraz volumétrico de 100 mL, adicionar el volumen que necesario de solución de NaOH 0.2 M para obtener el pH deseado.

Solución Reguladora de Citratos 1.5 M pH = 5

Disolver 11.18 g de citrato trisódico en suficiente agua para obtener 50 mL y ajustar el pH con HCl 0.2 M.

Con los resultados obtenidos se eligió la formulación que presentara mejores resultados para establecer el PNO de fabricación base de la solución inyectable de Sulfato de Gentamicina y S-alilcisteína.



TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA

Solución inyectable de Sulfato de Gentamicina y S-alilcisteína			PNO: Fabricación
			PNO: TFII-E001 En vigor: Marzo, 2004
Escrita por: Sara Cruz	Revisada por: M. S. Alpizar Ramos	Aprobada por: M. en C. Juan Manuel Rodríguez	Substituye a: Nuevo
			Próxima revisión: Marzo, 2005

Pág. 1 de 7

Equipo: _____

Lote No. _____

Integrantes: _____

Fecha de inicio: _____

Fecha de término: _____

1. Tamaño estándar de lote: 100 ampolletas.

2. Descripción: Ampolleta de vidrio color ámbar, que contiene un líquido de color amarillo claro, con olor a ajo.

3. Seguridad:

El personal involucrado en la manufactura de inyectables, deberá portar bata blanca, limpia, en buen estado y cerrada, además de cofia, cubrebocas y guantes de cirujano. No deberá portar ningún tipo de maquillaje o joyería. Al ingresar al área aséptica, el personal debe portar uniforme y guantes de cirujano estériles para llevar a cabo el proceso de fabricación.

Durante la operación de los equipos deberá observar cuidadosamente las instrucciones de seguridad de los mismos y las indicaciones del profesor que actúe como supervisor.

4. Formulación:

Componente	Clave	No. de Lote	Análisis	p/a 1.0 mL	p/100mL	Pesado por	Verificado por	Fecha
Sulfato de Gentamicina				35 mg				
S-allicisteína				62.5 mg				
EDTA				0.05 mg				
Solución reguladora de fosfatos pH= 5				0.01 mL				
Agua para Fab. Inyectables				1.0 mL				
Ampolleta de vidrio color ámbar estéril				1				

5. Equipo:

Matraz aforado de 100 mL estéril

Vasos de precipitados de 250 mL estériles (2)

Espátula de Cr- Ni

Autoclave vertical

Balanza Analítica

Tanque de nitrógeno de alta pureza con filtro pall de 0.2 micras estéril

Llenadora de ampolletas 022021

Selladora de ampolletas Prexa

Mangueras de taygon estériles

Tanque de oxígeno, previamente sanitizado

Pinzas de disección estériles

Porta membrana Millipore de 10 cm de radio estéril

Tanque de presión de 5.0 L

Matraces Erlenmeyer de 250 mL estéril (2)

Aspersor con isopropanol al 70%

Horno

Probeta estéril de 10 mL

6. Procedimiento:

6.1 Surtido y pesado de materias primas.

	<u>Realizó</u>	<u>Verificó</u>
a) Verificar el orden y limpieza de la central de pesadas.	_____	_____
b) Verificar la limpieza del material empleado en el pesado de materias primas.	_____	_____
c) Verificar la identificación de las materias primas surtidas.	_____	_____
d) Verificar que las materias primas surtidas estén aprobadas.	_____	_____
e) Pesar e identificar las materias primas.	_____	_____
f) Verificar el pesado de las materias primas.	_____	_____
g) Trasladar las materias primas pesadas al cubículo de proceso asignado.	_____	_____
h) Registrar en la bitácora de la balanza empleada la información requerida.	_____	_____
i) Verificar el orden y la limpieza de la central de pesadas.	_____	_____

6.2 Fabricación del granel.

a) Verificar el orden y la limpieza del cubículo asignado.	_____	_____
b) Identificar el cubículo asignado.	_____	_____
c) Sanitizar la mesa de trabajo, rociando con el aspersor de isopropanol y limpiando con una tela adsorbente.	_____	_____

	<u>Realizó</u>	<u>Verificó</u>
d) En un matraz aforado de 100 mL colocar el 30% de agua para fabricación de inyectables y añadir la solución reguladora de fosfatos pH =5. (Ref. PNO: 01.- Preparación de la solución reguladora de fosfatos pH= 5)	_____	_____
e) Adicionar el Sulfato de Gentamicina y disolver.	_____	_____
f) Adicionar otro 30% de agua para fabricación de inyectables y agregar la S-alilcisteina y disolver.	_____	_____
g) Al final, agregar el EDTA, disolver y verificar el pH de la solución.	_____	_____
h) Aforar al volumen final con agua para fabricación de inyectables.	_____	_____
i) Filtrar la solución a granel en condiciones asépticas. (Ref. PNO: 02.- Filtración aséptica)	_____	_____
j) Recibir el granel filtrado en un matraz estéril.	_____	_____
k) Finalizada la filtración conservar el granel en el matraz herméticamente cerrado.	_____	_____
l) Trasladar el matraz al área aséptica.	_____	_____

Conciliación parcial:

Volumen teórico: _____ mL (1)

Volumen obtenido: _____ mL (2)

% de rendimiento: $2/1 \times 100 = \underline{\hspace{2cm}} / \underline{\hspace{2cm}} \times 100 = \underline{\hspace{2cm}}$

Observaciones: _____

	<u>Realizó</u>	<u>Verificó</u>
6.3 <u>Preparación de material de empaque primario.</u>		
a) Lavar y esterilizar las ampollitas a utilizar. Ref. PNO: 03.- Lavado y esterilizado de ampollitas.	_____	_____
6.4 <u>Dosificado (llenado).</u>		
a) Verificar el orden y limpieza del área de dosificado de inyectables.	_____	_____
b) Verificar la identificación del área de dosificado de inyectables.	_____	_____
c) Ajustar la dosificadora de inyectables. Ref. PNO: 04.- Operación llenadora de soluciones inyectables.	_____	_____
d) Ajustar la selladora de inyectables. Ref. PNO: 05.- Operación selladora de ampollitas.	_____	_____
e) Verificar el volumen inicial de llenado.	_____	_____
f) Proceder al llenado y sellado del lote.	_____	_____
g) Al finalizar el proceso de llenado, desmontar las piezas móviles de la llenadora y selladora. Ref. PNO: 06.- Limpieza y sanitización de llenadora de S. I. Ref. PNO: 07.- Limpieza y sanitización de selladora de amps.	_____	_____
h) Limpiar y sanitizar el área aséptica. Ref. PNO: 08.- Limpieza y sanitización del área aséptica.	_____	_____
i) Realizar la prueba de hermeticidad al 100% de las ampollitas obtenidas.	_____	_____
j) Realizar la inspección óptica al 100% de las ampollitas obtenidas.	_____	_____

k) Evaluar la calidad al producto fabricado. _____
 (descripción, volumen de vaciado, dimensiones,
 pH, hermeticidad, inspección óptica, esterilidad,
 pirógenos, contenido de Sulfato de Gentamicina y
 S-allicisteína).

l) Dictamen de Control de Calidad: _____

Conciliación parcial:

Ampolletas teóricas: _____ (1)

Ampolletas obtenidas: _____ (2)

% de rendimiento: $2/1 \times 100 = \frac{\quad}{\quad} / \frac{\quad}{\quad} \times 100 = \quad$

6.5 Acondicionamiento

Material/ Granel	Clave	Lote No.	P/ pieza	Realizó	Fecha	Supervisó	Fecha

	<u>Realizó</u>	<u>Verificó</u>
a) Verificar el orden y limpieza del cubículo asignado.	_____	_____
b) Verificar la identidad de los materiales surtidos.	_____	_____
c) Identificar el cubículo asignado.	_____	_____
d) Acondicionar el producto.	_____	_____

Conciliación acondicionamiento.

Ampolletas teóricas acondicionadas : _____ (1)

Ampolletas reales acondicionadas: _____ (2)

% de rendimiento : $2/1 \times 100 = \frac{\quad}{\quad} / \frac{\quad}{\quad} \times 100 = \quad$ CONCILIACIÓN FINAL:

Ampolletas teóricas: _____ (1)

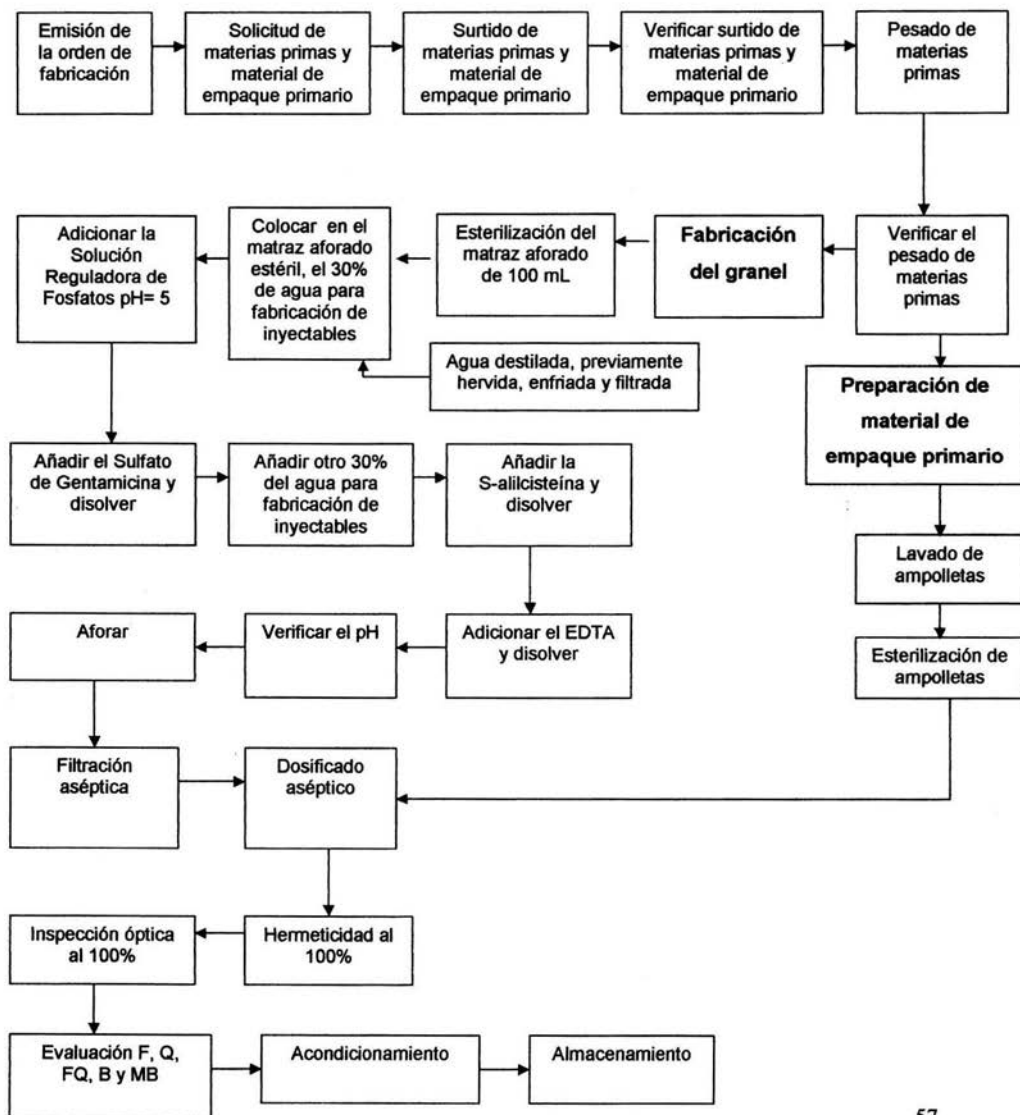
Ampolletas defectuosas: _____ (2)

Merma de Control de Calidad: _____ ampolletas

% RENDIMIENTO FINAL: $2/1 \times 100 = \quad$

Observaciones: _____

DIAGRAMA DEL PROCESO DE FABRICACIÓN DE LA SOLUCIÓN INYECTABLE DE SULFATO DE GENTAMICINA Y S-ALILCISTEÍNA



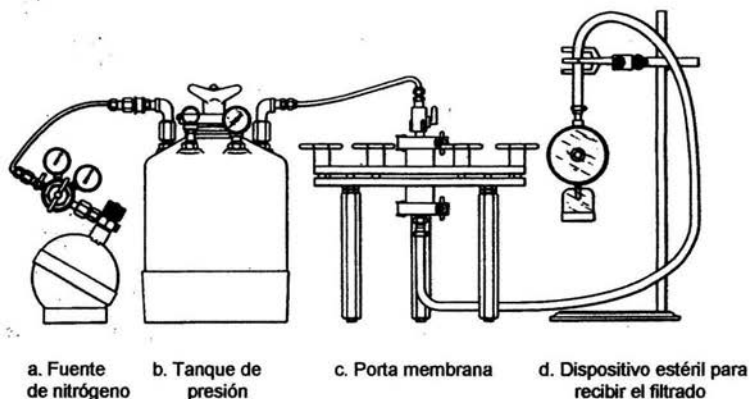


Ampolleta de 1.0 mL de Solución Inyectable de Sulfato de Gentamicina y S-alilcisteína			CERTIFICADO ANALÍTICO	
			PNO: CC-001	En vigor: Marzo, 2004
Escrita por:	Revisada por :	Aprobada por:	Sustituye a: Nuevo	
Sara Cruz	M. S. Alpizar R.	M. en C. Juan Manuel Rodríguez	Próxima revisión : Marzo, 2005	Página <u>1</u> de <u>1</u>
Equipo: _____			Lote No. _____	
Nombre del producto: _____			Presentación: _____	
Fecha de análisis: _____			Fecha de reanálisis: _____	
Parámetro	Especificación	Resultados	Analista	Referencia
Descripción	Líquido de color amarillento, libre de partículas y con olor característico.			Tecnología Farmacéutica Fac. Química, UNAM
Volumen promedio de vaciado	No menos de 1 mL			Tecnología Farmacéutica Fac. Química, UNAM
pH	5.0 - 7.0			FEUM 7ª Edición
Hermeticidad	100%			Tecnología Farmacéutica Fac. Química, UNAM
Inspección óptica	Libre de partículas insolubles			Tecnología Farmacéutica Fac. Química, UNAM
Esterilidad	Cumple con los requisitos			FEUM 7ª Edición MGA 0381
Pirógenos	Cumple con los requisitos			FEUM 7ª Edición MGA 0711
Contenido de Gentamicinas	Gentamicina C ₁ = 25.0%-50.0% Gentamicina C ₂ = 20.0%- 50.0% Gentamicina C _{1A} = 15.0%-40.0%			FEUM 7ª Edición
Valoración de Gentamicina	Contiene no menos del 90.0% y no más del 125.0% de la cantidad de principio activo indicado en el marbete			FEUM 7ª Edición
Valoración de S-alilcisteína	Contiene no menos del 98.5% y no más del 101.5% de la cantidad de principio activo indicado en el marbete			Kodera, et al. Physical, Chemical and Biological Properties of SAC
Dictamen: _____			Fecha: _____	
Observaciones: _____				
Vo. Bo. Gerencia de Control de Calidad: _____				

Procedimiento Normalizado de Operación del Equipo de Filtración Aséptica			Lab. Tecnología Farmacéutica
			PNO: TF – 02
			Pág. 1 de 3
Escrita por: Sara Cruz	Revisada por: M. S. Alpizar R.	Aprobada por: M. en C. Juan Manuel Rodríguez	En vigor: Marzo, 2004
			Substituye a : Nueva
<p>1. <u>Objetivos:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Dar a conocer el procedimiento de operación del equipo de filtración aséptica. ✓ Dar a conocer el procedimiento de limpieza del equipo de filtración aséptica. <p>2. <u>Alcance:</u></p> <p>Todos los maestros, estudiantes, investigadores, tesisistas y laboratoristas.</p> <p>3. <u>Políticas:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Es responsabilidad del personal que opera el equipo de filtración aséptica el seguir cuidadosamente este procedimiento. ✓ Es responsabilidad del supervisor del área que verifique el cumplimiento de lo establecido en este procedimiento. <p>4. <u>Seguridad:</u></p> <p>Todo el personal involucrado deberá portar uniforme y guantes de cirujano estériles. No debe portar ningún tipo de maquillaje o joyería.</p> <p>5. <u>Equipo:</u></p> <p>Tanque de presión de 5.0 L</p> <p>Mangueras de taygon estériles</p> <p>Tanque de nitrógeno de alta pureza con filtro pall de 0.2 micras estéril</p> <p>Porta membrana Millipore de 10 cm de radio estéril</p> <p>Membranas Millipore de 0.22 micras estériles</p> <p>Matraces Erlenmeyer de 250 mL estériles (2)</p> <p>Pinzas de disección estériles</p>			

Procedimiento Normalizado de Operación del Equipo			Lab. Tecnología Farmacéutica	
Filtración Aséptica			PNO: TF – 02	Pág. 2 de 3
Escrita por: Sara Cruz	Revisada por: M. S. Alpizar R.	Aprobada por: M. en C. Juan Manuel Rodríguez	En vigor: Marzo, 2004	
			Substituye a: Nueva	

5.1 Diagrama del equipo:



6. Procedimiento:

6.1 *Procedimiento de limpieza del equipo de filtración aséptica.*

a) Verificar la limpieza de las partes que componen el equipo de filtración aséptica, de lo contrario proceder como sigue:

1. Limpieza del tanque de presión:

- ✓ Lavar con un detergente líquido y una esponja suave.
- ✓ Enjuagar cuantas veces sea necesario.
- ✓ Secar con una tela adsorbente.

2. Limpieza del porta membrana:

- ✓ Desarmar el porta membrana y lavar cada uno de sus componentes con detergente líquido y una esponja suave.
- ✓ Secar cada una de las partes con aire seco y armarlo.

Procedimiento Normalizado de Operación del Equipo de Filtración Aséptica			Lab. Tecnología Farmacéutica	
			PNO: TF – 02	Pág. <u>3</u> de <u>3</u>
Escrita por: Sara Cruz	Revisada por: M. S. Alpizar R.	Aprobada por: M. en C. Juan Manuel Rodríguez	En vigor: Marzo, 2004	
			Substituye a : Nueva	

3. Lavar las mangueras con detergente líquido y enjuagar cuantas veces sea necesario. Desinfectar.

4. Lavar el recipiente en donde se recibirá la solución filtrada con detergente líquido, secar y autoclavar.

b) Desmontar el porta membrana y colocar una membrana con ayuda de unas pinzas de disección estériles; después proceder a armarla.

c) El tanque de presión se compone de una entrada del aire, un manómetro, una válvula para eliminar la presión y una salida del líquido a filtrar.

1. Conectar el tanque de presión al tanque de nitrógeno por medio de una manguera.

2. Conectar el tanque de presión al porta membrana Millipore.

3. Conectar la salida del porta membrana al recipiente utilizado para recibir la solución filtrada.

6.2 Procedimiento de operación del equipo de filtración aséptica.

a) Verificar que el equipo quede bien conectado, para evitar las fugas.

b) Para verificar que el filtro se encuentre en condiciones adecuadas, es necesario realizar la prueba de la burbuja. (Ref. PNO: 09.- Prueba de la burbuja)

c) Vaciar el líquido a filtrar dentro del tanque de presión y asegurarse de que quede bien cerrado.

d) Abrir la llave del tanque de nitrógeno y supervisar el aumento de la presión en el manómetro.

e) Verificar que el líquido se comience a filtrar.

f) Una vez terminado el filtrado, cerrar la llave del tanque de nitrógeno, abrir la válvula de la salida de la presión del tanque y verificar que la presión haya quedado en cero.

g) Proceder a repetir la prueba de la burbuja para verificar la integridad del filtro. (Ref. PNO: 09.- Prueba de la burbuja)

h) Desarmar y limpiar cada una de las partes del equipo.

Procedimiento Normalizado de Operación para el Lavado y Esterilizado de ampollitas			Lab. Tecnología Farmacéutica	
			PNO: TF – 03	Pág. 1 de 3
Escrita por: Sara Cruz	Revisada por: M. S. Alpizar R.	Aprobada por: M. en C. Juan Manuel Rodríguez	En vigor: Marzo, 2004	
			Substituye a : Nueva	

1. Objetivo:

- ✓ Dar a conocer el procedimiento para el lavado, secado y esterilizado de ampollitas.
- ✓ Dar a conocer el procedimiento de limpieza y operación del autoclave.

2. Alcance:

Todos los maestros, estudiantes, investigadores, tesis y laboratoristas.

3. Políticas:

- ✓ Es responsabilidad del personal que lleva a cabo la limpieza y esterilizado de ampollitas el seguir cuidadosamente este procedimiento.
- ✓ Es responsabilidad del supervisor del área que verifique el cumplimiento de lo establecido en este procedimiento.

4. Seguridad:

Todo el personal involucrado deberá portar bata blanca en buen estado cerrada, además de cofia, cubrebocas y guantes de cirujano. No debe portar ningún tipo de maquillaje o joyería. Al ingresar al área aséptica, el personal debe portar uniforme y guantes de cirujano estériles.

5. Equipo:

Ampollitas del volumen requerido
 Agua destilada
 Jeringas limpias de un volumen mayor al volumen de las ampollitas
 Vasos de precipitados de 250 mL (2)
 Autoclave vertical Metron
 Horno de secado

Procedimiento Normalizado de Operación para el Lavado y Esterilizado de ampollitas			Lab. Tecnología Farmacéutica	
			PNO: TF – 03	Pág. 2 de 3
Escrita por: Sara Cruz	Revisada por: M. S. Alpizar R.	Aprobada por: M. en C. Juan Manuel Rodríguez	En vigor: Marzo, 2004	
			Substituye a : Nueva	

6. Procedimiento.

6.1 *Procedimiento del lavado y secado de ampollitas:*

- a) Tomar con la jeringa el volumen adecuado de agua destilada para el lavado de las ampollitas.
- b) Lavar cada una de las ampollitas, invirtiéndolas y enjuagándolas varias veces.
- c) Colocarlas en una charola del horno de secado y taparlas con papel aluminio.
- d) Calentar el horno a 65- 70°C.
- e) Introducir la charola con las ampollitas ya lavadas.
- f) Dejar secar las ampollitas de 4 a 5 horas.
- g) Una vez secas, proceder a esterilizarlas.

6.2 *Procedimiento para la esterilización de ampollitas:*

Procedimiento de limpieza del autoclave.

- a. Verificar la limpieza de la autoclave, de lo contrario seguir el siguiente procedimiento:
 1. Verificar que la clavija esté desconectada.
 2. Abrir la válvula de desagüe para eliminar el agua que haya quedado dentro del autoclave.
 3. Abrir la autoclave y sacar la canastilla y la rejilla que cubre las resistencias, lavar por separado con detergente líquido y una esponja suave, secarlas.
 4. Lavar la autoclave con detergente líquido y una esponja suave y enjuagarlas cuantas veces sea necesario para que esto no influya en el proceso de esterilizado.
 5. Una vez enjuagada, secar con una tela adsorbente y colocar la rejilla y la canastilla.

Procedimiento Estándar de Operación para el Lavado y Esterilizado de ampolletas			Lab. Tecnología Farmacéutica	
			PNO: TF – 03	Pág. 3 de 3
Escrita por: Sara Cruz	Revisada por: M. S. Alpizar R.	Aprobada por: M. en C. Juan Manuel Rodríguez	En vigor: Marzo, 2004	
			Substituye a : Nueva	

Procedimiento de operación del autoclave.

1. Hacer paquetes de papel aluminio con las ampolletas ya secas.
2. Identificar cada paquete con los siguientes datos: fecha, condiciones, método de esterilización y persona que realiza la esterilización.
3. Asegurarse que la válvula de escape del autoclave se encuentre cerrada, así mismo la válvula de descarga debe marcar el nivel indicado que es de tres litros con el propósito de cubrir la resistencia con agua destilada, verificando que no haya fugas en las conexiones.
4. Introducir la canastilla en la cámara con la carga que se va a esterilizar.
5. Cerrar la tapa y apretar las mariposas una por una en forma cruzada.
6. Colocar la perilla del interruptor en posición de "alto" para obtener el menor tiempo posible en el proceso.
7. Dejar abierta la válvula de seguridad, poniendo el interruptor en posición que indique "medio" o "bajo" dependiendo del ciclo de esterilización seleccionado.
8. Es importante que se desplace el aire contenido dentro de la cámara por medio de vapor proveniente del calentamiento del agua, ya que de lo contrario se pueden formar áreas de enfriamiento que pueden impedir que se lleve a cabo una buena esterilización.
9. Una vez eliminado el aire (aproximadamente 3 minutos) se procede a cerrar la válvula de escape.
10. El ciclo de esterilización comienza en el momento en que le termómetro marca 121°C y una presión de 15 lb.
11. El ciclo finaliza una vez que transcurren 20 minutos.
12. Para abrir el autoclave se debe colocar el interruptor en posición de apagado posteriormente se debe abrir la válvula de escape para evacuar el vapor contenido dentro de la cámara y evitar ser quemados por el mismo.
13. Dejar enfriar las mariposas de la tapa (aproximadamente 5 minutos) abrir el autoclave de la misma manera que cuando se cerró, es decir, moviendo las mariposas en forma cruzada.

Procedimiento Normalizado de Operación de la			Lab. Tecnología Farmacéutica	
Llenadora de Líquidos COZZOLI			PNO: TF-04	Pág. 1 de 8
Escrita por:	Revisada por:	Aprobada por:	En vigor: Marzo, 2004	
Sara Cruz	M. S. Alpizar R.	M. en C. Juan Manuel Rodríguez	Substituye a : Noviembre, 1993	
<p>1. <u>Objetivos:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Dar a conocer el procedimiento de operación de la Llenadora de Líquidos COZZOLI. ✓ Dar a conocer el procedimiento de limpieza y ajuste de la Llenadora de Líquidos COZZOLI. <p>2. <u>Alcance:</u></p> <p>Todos los maestros, estudiantes, investigadores, tesistas y laboratoristas.</p> <p>3. <u>Políticas:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Es responsabilidad del personal asignado a la operación del equipo cumplir con lo que indica este procedimiento. ✓ Es responsabilidad del supervisor del área verificar el cumplimiento de lo establecido en este procedimiento. <p>4. <u>Seguridad:</u></p> <p>Al ingresar al área aséptica, el personal involucrado deberá portar uniforme y guantes de cirujano estériles. No deberá portar ningún tipo de maquillaje o joyería.</p> <p>5. <u>Equipo:</u></p> <p>Dosificadora de líquidos: COZZOLI MACHINE Co. Tipo/ Modelo: F400X Voltaje: 115 V Frecuencia: 50/60 Hz Serie: F400X -1195</p>				

Procedimiento Normalizado de Operación de la			Lab. Tecnología Farmacéutica	
Llenadora de Líquidos COZZOLI			PNO: TF-04	Pág. <u>2</u> de <u>8</u>
Escrita por:	Revisada por:	Aprobada por:	En vigor: Marzo, 2004	
Sara Cruz	M. S. Alpizar R.	M. en C. Juan Manuel Rodríguez	Substituye a : Noviembre, 1993	

Inventario: 332111

Dimensiones: 71/2 "X 171/8" "X 131/4" (190 x 435 x 337 mm)

Peso: 12 kg

Equipo número: 086

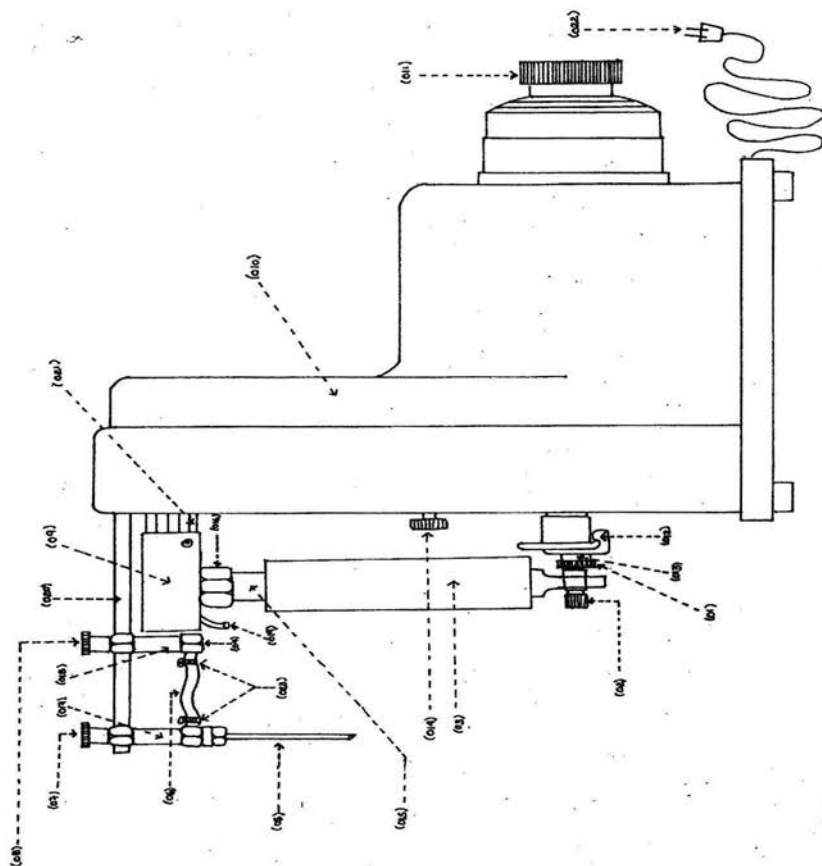
Hecho en: Flainfield, New Jersey, USA.

5.1 *Partes que componen el equipo:*

- | | |
|---------------------------------|-----------------------------------|
| (01) Tornillo de ajuste | (13) Yugo |
| (02) Tornillo de ajuste | (14) Tornillo eliminador de goteo |
| (03) Jeringa | (15) Embolo |
| (04) Tornillo de ajuste | (16) Tornillo de la jeringa |
| (05) Aguja de llenado | (17) Aguja |
| (06) Manguera | (18) Aguja |
| (07) Tornillo de la aguja (017) | (19) Tubo flexible de la válvula |
| (08) Tornillo de la aguja (018) | (20) Soporte |
| (09) Válvula | (21) Eje del soporte |
| (10) Cuerpo o soporte | (22) Clavija |
| (11) Botón de velocidad | (23) Abrazaderas |
| (12) Soporte de ajuste | |

Procedimiento Normalizado de Operación de la Llenadora de Líquidos COZZOLI			Lab. Tecnología Farmacéutica	
			PNO: TF-04	Pág. 3 de 8
Escrita por: Sara Cruz	Revisada por: M. S. Alpizar R.	Aprobada por: M. en C. Juan Manuel Rodríguez	En vigor: Marzo, 2004	
			Substituye a : Noviembre, 1993	

5.2 Diagrama del equipo:



Procedimiento Normalizado de Operación de la Llenadora de Líquidos COZZOLI			Lab. Tecnología Farmacéutica	
			PNO: TF-04	Pág. 4 de 8
Escrita por: Sara Cruz	Revisada por: M. S. Alpizar R.	Aprobada por: M. en C. Juan Manuel Rodríguez	En vigor: Marzo, 2004	
			Substituye a: Noviembre, 1993	

6. Procedimiento.

a) Verificar que la máquina se encuentre en una superficie nivelada.

6.1 *Procedimiento de limpieza de la Llenadora de Líquidos COZZOLI.*

a) Verificar la limpieza del equipo, en caso contrario realizar lo siguiente:

1. Desconectar la clavija del suministro de energía eléctrica.

2. Utilizar una tela de poliéster para limpiar con cuidado la superficie del equipo y el área de trabajo.

3. Para llevar a cabo la desinfección del equipo se debe seguir el siguiente procedimiento:

→ Desarmar la dosificadora, desatornillando a (07), (08), (04) y (20) y retirando las abrazaderas (23).

→ Desmontar la aguja, manguera, válvula, soporte, jeringa y émbolo. Para quitar la válvula (09), desatornillar (16) y después la jeringa (03), en segundo lugar quitar el adaptador de las agujas (17) y (18) desatornillando a (07) y (08) respectivamente, y desconectando el tubo flexible de la válvula (19) y removiendo entonces el soporte (20) de ésta. En este momento, la válvula se encuentra sujeta del eje del soporte (21) y con un movimiento hacia arriba se quita el pistón del perno actuador. Para armar se procede en sentido inverso.

→ Lavar las siguientes partes con agua jabonosa caliente, las veces necesarias: jeringa y émbolo, válvula y pistón, aguja y mangueras, soporte de la válvula, abrazaderas y tornillos.

→ Secar las partes mencionadas anteriormente con aire filtrado.

4. Para llevar a cabo la esterilización, realizar el siguiente procedimiento:

→ Formar paquetes de los accesorios, con papel aluminio.

→ Rotular dichos paquetes para evitar riesgos de equivocación y para que sean fácil de identificarse (concepto, fecha, condiciones, método de esterilización, persona que realiza

Procedimiento Normalizado de Operación de la Llenadora de Líquidos COZZOLI			Lab. Tecnología Farmacéutica
			PN0: TF-04
			Pág. 5 de 8
Escrita por: Sara Cruz	Revisada por: M. S. Alpizar R.	Aprobada por: M. en C. Juan Manuel Rodríguez	En vigor: Marzo, 2004
			Substituye a: Noviembre, 1993

la esterilización). Normalmente éstos accesorios se esterilizan en autoclave a 121°C +/- 45 min.

→ Inmediatamente después de la esterilización, introduzca los accesorios de la dosificadora al área aséptica.

5. Proceder a armar la dosificadora:

→ Desempacar la jeringa (03) y el émbolo (15). Acoplarlos. (NOTA 1)

→ Desempacar la válvula (09) y acoplarla.

→ Ensamblar la jeringa y en la parte inferior sujetándola al soporte de ajuste (12) atornillando a (02) y (13) respectivamente.

→ Desempacar las mangueras. Adaptar la más pequeña a la parte superior de la aguja (05). Sujetar con las abrazaderas (23).

→ Acoplar la manguera (19) desde el depósito de alimentación hasta la entrada de la válvula.

→ Asegurar de que todo quede bien ensamblado y atornillado.

→ Limpiar los cordones de las clavijas, no humedecer las clavijas ya que puede ocasionar un corto circuito al momento de conectarse a la toma de corriente.

6.2 Procedimiento de ajuste de la Llenadora de Líquidos COZZOLI.

1. Ajustar el brazo el sector (12) en la posición superior (accionándolo con el motor).

2. Aflojar el tornillo (02), mover el yugo (13) a lo largo del brazo de sector hasta que llegue al extremo izquierdo haciendo que coincidan con las líneas de graduación deseadas, hasta entonces volver a fijar el tornillo (02).

Las graduaciones del brazo de sector (12) están marcadas del 0 al 10 para poder ajustar convenientemente al volumen que se desea. Cada unidad representa el 10% de la capacidad de la jeringa (03).

Procedimiento Normalizado de Operación de la Llenadora de Líquidos COZZOLI			Lab. Tecnología Farmacéutica	
			PNO: TF-04	Pág. 6 de 8
Escrita por: Sara Cruz	Revisada por: M. S. Alpizar R.	Aprobada por: M. en C. Juan Manuel Rodríguez	En vigor: Marzo, 2004	
			Substituye a: Noviembre, 1993	

→ Eliminador de gota. De notarse una gota al final de la aguja de llenado (05), después de haberse completado el proceso de dosificación, esto indica que la válvula (09) no se encuentra trabajando apropiadamente.

Para eliminar la gota, girar el tornillo de ajuste (14) lentamente contra el sentido de las manecillas del reloj, hasta que no aparezca ninguna gota en los dosificados subsecuentes.

Un ajuste óptimo para el tornillo eliminador de goteo (14) es el mínimo necesario para evitar la formación de una gota.

De girarse en exceso se succionará demasiado, haciendo que entre aire a través de la aguja de llenado (05), esto afectará también la precisión de llenado de líquido.

3. Para variar la velocidad de dosificación, girar el botón (11) que se encuentra en la parte trasera de la máquina.

La escala del botón está graduada y marcada con las letras A, B, C, etc.

La letra A, es cuando esté registrada con el índice y es la menor velocidad; y la letra W, será la velocidad más alta.

La velocidad del motor dará entre 500 hasta 3,000 llenados por hora, dependiendo del ajuste que se halla dado en el botón (11), se ajustará la velocidad dependiendo ésta de la habilidad del operador. Generalmente entre más pequeña sea la cantidad dosificada, más rápidamente se puede trabajar con la máquina.

Si se requiere de una velocidad alta se recomienda emplear la aguja de diámetro, para eliminar la presión excesiva y evitar que el líquido se salpique.

Procedimiento Normalizado de Operación de la Llenadora de Líquidos COZZOLI			Lab. Tecnología Farmacéutica	
			PNO: TF-04	Pág. 7 de 8
Escrita por: Sara Cruz	Revisada por: M. S. Alpizar R.	Aprobada por: M. en C. Juan Manuel Rodríguez	En vigor: Marzo, 2004	
			Substituye a: Noviembre, 1993	

6.3 Procedimiento de operación de la Llenadora de Líquidos COZZOLI.

1. Conectar el pedal que realiza la operación de llenado semiautomático a la llenadora y a su vez conectarse a la toma de corriente.
2. Girar el botón de velocidad (11) hasta indicar la letra A, que es la mínima velocidad de funcionamiento y de esta manera se está en condiciones de realizar el llenado de ampollitas o frascos.
3. Proceder a inyectar a través de la aguja (05) un mínimo de 5 veces, dentro de una probeta estéril, el líquido que ha de utilizar. (NOTA 2)
4. Deseche la porción líquida de la probeta.
5. Regular la velocidad.
6. Como siguiente paso proceder a calibrar el volumen de inyección de la dosificadora.
 - Inyectar a través de la aguja un mínimo de 5 veces, dentro de una probeta estéril, girar el botón (11) de control de velocidad a conveniencia.
 - Calcular el volumen de dosificación promedio (volumen total entre cinco).
 - Según el volumen promedio, se pueden presentar dos casos:
 - * Si el volumen promedio de inyección es igual al requerido, pase al punto 7.
 - * Si el volumen promedio de inyección es mayor al requerido, desatornillar a (13) y mover el yugo a lo largo del brazo de sector hasta lograr el volumen requerido, atornillar nuevamente para cada posición que se utilice. (Para este caso deslizar hacia la escala menor).
7. Una vez calibrado el equipo, proceder a efectuar el llenado de los contenedores, ampollitas o frascos, según sea el caso.
8. Al momento de llenar los contenedores evitar que la aguja roce las paredes del mismo y procurar que la altura de la aguja al contenedor sea aproximadamente de 5 mm tomando como base el fondo del recipiente.

Procedimiento Normalizado de Operación de la			Lab. Tecnología Farmacéutica	
Llenadora de Líquidos COZZOLI			PNO: TF-04	Pág. 8 de 8
Escrita por:	Revisada por:	Aprobada por:	En vigor: Marzo, 2004	
Sara Cruz	M. S. Alpizar R.	M. en C. Juan Manuel Rodríguez	Substituye a: Noviembre, 1993	

9. Repetir la operación de limpieza y desinfección al final de cada jornada de trabajo o al terminar con el lote de producción.
10. Cualquier anomalía reportar al supervisor o asesor.

NOTA 1 Desempacar a cada paso los accesorios, que necesite y de la misma forma deposite los materiales de deshecho dentro del bote de basura.

NOTA 2 Asegurarse que la manguera quede sumergida dentro del líquido que se está utilizando para el dosificado.

CAPITULO 5

Resultados

5. RESULTADOS.

5.1 Estudios de Preformulación.

Tabla 14 : Caracterización del Sulfato de Gentamicina.

Determinación	Especificación	Resultado
Descripción	Polvo amorfo de color blanco o ligeramente pardusco, inodoro e higroscópico	Cumple
Solubilidad	Soluble en agua	Cumple
Ensayo de identidad	Identidad Cromatográfica	Cumple
pH	3.5 – 5.5	5

Tabla 15: Caracterización de la S-alilcisteína.

Determinación	Especificación	Resultado
Descripción	Polvo cristalino de color blanco o ligeramente amarillo con olor a ajo	Cumple
Solubilidad	Soluble en agua	Cumple
Ensayo de identidad	Identidad cromatográfica	Cumple
pH	5.0 – 7.0	5

ESTABILIDAD.

Durante el tiempo que se monitorearon los frascos de ambos principios activos no se observaron cambios físicos, es decir, la apariencia y el pH de ambas soluciones se mantuvo (el valor de pH durante todo el estudio de estabilidad fue de 5 para ambos principios activos); ni químicos, ya que no hubo presencia de partículas insolubles, ni variación en la identidad cromatográfica.

DEGRADACIÓN.

Para el caso del Sulfato de Gentamicina no se observaron cambios físicos en las soluciones de las diferentes condiciones, ni presencia de partículas insolubles, pero si se detectaron cambios en cromatoplasmas de las soluciones con HCl 2 N y NaOH 2N. En cuanto a la solución en condiciones oxidativas no hubo cambios en las cromatoplasmas realizadas.

Para el caso de la S-alilcisteína tampoco se detectaron cambios físicos en las soluciones, ni cambios químicos, es decir, no hubo variaciones en la identidad cromatográfica.

5.2 Estudios de Formulación.

RESULTADOS DEL CICLADO TÉRMICO DE LA FORMULACIÓN BASE.

Apariencia: Líquido de color amarillento, con algunas partículas extrañas (pelusas) y con olor a ajo.

pH de la solución antes de dosificar en ampolletas : 5

Tabla 16. Observaciones durante el ciclado térmico

Día	Temperatura	Observaciones
21/01/04	40°C	Ausencia de partículas insolubles y presencia de partículas extrañas
22/01/04	5°C	Ausencia de partículas insolubles y presencia de partículas extrañas
23/01/04	40°C	Ausencia de partículas insolubles y presencia de partículas extrañas
26/01/04	5°C	Ausencia de partículas insolubles y presencia de partículas extrañas
27/01/04	40°C	Ausencia de partículas insolubles y presencia de partículas extrañas

pH de la solución después del ciclado térmico : 8

En la cromatografía realizada se observaron las tres manchas correspondientes a la gentamicina y la mancha correspondiente a la S- alilcisteína sin ninguna alteración, pero debido a la presencia de partículas extrañas, esta solución fue filtrada posteriormente.

RESULTADOS DEL CICLADO TÉRMICO DE LAS SEIS FORMULACIONES REALIZADAS.

Formulación 1.

Apariencia: Líquido transparente, incoloro, sin olor, libre de partículas extrañas.

pH de la solución antes de dosificar: 5.12

Tabla 17. Observaciones durante el ciclado térmico de la formulación 1

Día	Temperatura	Observaciones
10/02/04	40°C	Ausencia de partículas insolubles
11/02/04	5°C	Ausencia de partículas insolubles
12/02/04	40°C	Ausencia de partículas insolubles
13/02/04	5°C	Ausencia de partículas insolubles
16/02/04	40°C	Ausencia de partículas insolubles

pH de la solución después del ciclado térmico: 4.84

Formulación 2.

Apariencia: Líquido de color amarillento con olor a ajo y libre de partículas extrañas.

pH de la solución antes de dosificar: 6.32

Tabla 18. Observaciones durante el ciclado térmico de la formulación 2

Día	Temperatura	Observaciones
10/02/04	40°C	Ausencia de partículas insolubles
11/02/04	5°C	Ausencia de partículas insolubles
12/02/04	40°C	Ausencia de partículas insolubles
13/02/04	5°C	Ausencia de partículas insolubles
16/02/04	40°C	Ausencia de partículas insolubles

pH de la solución después del ciclado térmico: 6.21

Formulación 3.

Apariencia: Líquido de color amarillento, con olor a ajo y presencia de partículas negras.

pH de la solución antes de dosificar: 5.94

Tabla 19. Observaciones durante el ciclado térmico de la formulación 3

Día	Temperatura	Observaciones
10/02/04	40°C	Ausencia de partículas insolubles y presencia de partículas negras
11/02/04	5°C	Ausencia de partículas insolubles y presencia de partículas negras
12/02/04	40°C	Ausencia de partículas insolubles y presencia de partículas negras
13/02/04	5°C	Ausencia de partículas insolubles y presencia de partículas negras
16/02/04	40°C	Ausencia de partículas insolubles y presencia de partículas negras

pH de la solución después del ciclado térmico: 5.66

Formulación 4.

Apariencia: Líquido transparente, incoloro, sin olor y con presencia de partículas negras.

pH de la solución antes de dosificar: 5.60

Tabla 20. Observaciones durante el ciclado térmico de la formulación 4

Día	Temperatura	Observaciones
10/02/04	40°C	Ausencia de partículas insolubles y presencia de partículas negras
11/02/04	5°C	Ausencia de partículas insolubles y presencia de partículas negras
12/02/04	40°C	Ausencia de partículas insolubles y presencia de partículas negras
13/02/04	5°C	Ausencia de partículas insolubles y presencia de partículas negras
16/02/04	40°C	Ausencia de partículas insolubles y presencia de partículas negras

pH de la solución después del ciclado térmico: 5.32

Formulación 5.

Apariencia: Líquido de color amarillento, con olor a ajo y libre de partículas extrañas.

pH de la solución antes de dosificar: 6.34

Tabla 21. Observaciones durante el ciclado térmico de la formulación 5

Día	Temperatura	Observaciones
10/02/04	40°C	Ausencia de partículas insolubles
11/02/04	5°C	Ausencia de partículas insolubles
12/02/04	40°C	Ausencia de partículas insolubles
13/02/04	5°C	Ausencia de partículas insolubles
16/02/04	40°C	Ausencia de partículas insolubles

pH de la solución después del ciclado térmico: 6.11

Formulación 6.

Apariencia: Líquido de color amarillento, con olor a ajo y presencia de partículas negras.

pH de la solución antes de dosificar: 5.93

Tabla 22. Observaciones durante el ciclado térmico de la formulación 6

Día	Temperatura	Observaciones
10/02/04	40°C	Ausencia de partículas insolubles y presencia de partículas negras
11/02/04	5°C	Ausencia de partículas insolubles y presencia de partículas negras
12/02/04	40°C	Ausencia de partículas insolubles y presencia de partículas negras
13/02/04	5°C	Ausencia de partículas insolubles y presencia de partículas negras
16/02/04	40°C	Ausencia de partículas insolubles y presencia de partículas negras

pH de la solución después del ciclado térmico: 5.66

En la cromatografía realizada con cada formulación se observaron las mismas manchas que en la primera formulación base.

En todos los casos no se presentaron las partículas que se habían obtenido en la primera formulación base.

En la siguiente tabla se presenta un resumen de los resultados obtenidos:

Tabla 23. Parámetros evaluados a las formulaciones probadas

Formulación	Apariencia	pH ₁	pH ₂	Cromatografía
Base	Líquido amarillento, con presencia de partículas extrañas y olor a ajo.	5	8	Cumple
1	Líquido transparente, incoloro, sin olor, libre de partículas extrañas.	5.12	4.84	Cumple
2	Líquido de color amarillento con olor a ajo y libre de partículas extrañas.	6.32	6.21	Cumple
3	Líquido de color amarillento con olor a ajo y presencia de partículas negras.	5.94	5.66	Cumple
4	Líquido transparente, incoloro, sin olor y con presencia de partículas negras.	5.60	5.32	Cumple
5	Líquido de color amarillento, con olor a ajo y libre de partículas extrañas.	6.34	6.11	Cumple
6	Líquido de color amarillento, con olor a ajo y presencia de partículas negras.	5.93	5.66	Cumple

pH₁ = pH antes del ciclado térmico.

pH₂ = pH después del ciclado térmico.

CAPITULO 6

Análisis de resultados y

Conclusiones

6. ANÁLISIS DE RESULTADOS Y CONCLUSIONES.

6.1 Análisis de resultados.

En la caracterización de los dos principios activos se obtuvieron resultados satisfactorios en cada una de las determinaciones establecidas.

Bajo las condiciones en las que se realizaron los estudios de preformulación, los resultados obtenidos nos indican que tanto el Sulfato de Gentamicina como la S-alilicisteína son estables a temperatura ambiente, ya que no presentaron cambios físicos ni químicos. En cuanto a los resultados de los estudios de degradación, podemos decir que en el caso del Sulfato de Gentamicina no se presentaron cambios físicos, pero sí químicos ya que hubo variaciones en las cromatoplasmas realizadas para la condición ácida y básica, lo cual nos hace pensar en una sensibilidad a la hidrólisis ácida y básica; y en caso de la condición de oxidación no se observaron diferencias en las cromatoplasmas, lo cual nos indica que no hay susceptibilidad de la molécula a la oxidación, al menos bajo las condiciones de estudio.

La SAC no presentó cambios físicos ni químicos, lo cual nos indica que la SAC no sufre degradación bajo las condiciones ácidas, básicas y de oxidación a las que fue sometida.

La primera formulación que se probó nos dio buenos resultados en cuanto a que no hubo alteraciones en las manchas de las cromatoplasmas obtenidas, pero debido a la presencia de partículas extrañas y al aumento del pH, se decidió realizar las seis formulaciones ya presentadas, para así ver el comportamiento de los principios activos por separado y en una misma formulación con las dos soluciones reguladoras probadas: la de fosfatos y la de citratos.

Para elegir la mejor formulación se establecieron los criterios de selección, los cuales fueron: la estabilidad química (integridad cromatográfica) y la estabilidad física al ser sometidas a un estudio de ciclado térmico, así como la variación de pH antes y después de este estudio. Con los resultados obtenidos, vimos que las diferencias de pH mostradas en las seis formulaciones fueron muy parecidas, así

como las manchas que presentaron en las cromatoplacas. Por lo tanto, la decisión final se basó en la estabilidad física de las soluciones obtenidas, siendo éstas las formulaciones que contenían la solución reguladora de fosfatos, es decir, las formulaciones 1, 2 y 3. Por tal motivo, el Procedimiento Normalizado de Operación está diseñado con la formulación 3, la cual contiene los dos principios activos en estudio.

Es importante mencionar que las partículas negras observadas en algunas de las formulaciones probadas se debieron a que el llenado de las ampollitas no se realizó de una forma correcta, ya que hubo residuos del líquido a dosificar en las paredes, lo cual al momento de sellarlas, provocó que el líquido se carbonizara y fuera fuente de las partículas negras que se registraron en la solución.

Las partículas que se presentaron en la primera formulación base no se lograron aislar satisfactoriamente por lo que no pudieron ser identificadas.

6.2 Conclusiones.

Se desarrolló una solución inyectable de Sulfato de Gentamicina y S-alilcisteína, partiendo de la caracterización de los principios activos en estudio y realizando la etapa de preformulación correspondiente para determinar la compatibilidad física y química de dichos fármacos.

Posteriormente se inició la etapa de formulación para encontrar una formulación base de Sulfato de Gentamicina y S-alilcisteína en solución inyectable y así establecer los criterios de aceptación para la formulación desarrollada.

6.3 Recomendaciones.

En este trabajo se llegó hasta la etapa de formulación del desarrollo de un medicamento, por lo que para continuar con dichas etapas es necesario optimizar la formulación propuesta para después fabricar los tres lotes necesarios para llevar a cabo los estudios de estabilidad acelerada. (43)

Tabla 24. Condiciones que se deben seguir para medicamentos contenidos en ampollitas de vidrio selladas. (43)

Tipo de estudio	Almacenamiento	Mínimo	Análisis
Estabilidad Acelerada	40°C +/- 2°C y 75% +/- 5% HR	6 meses	0, 3 y 6 meses
Estabilidad Intermedia	30°C +/- 2°C y 60% +/- 5% HR	12 meses	0, 3, 6 y 12 meses
Estabilidad a Largo Plazo	25°C +/- 2°C y 60% +/- 5% HR	12 meses	0, 3, 6, 9 y 12 meses

Un estudio de estabilidad de un medicamento parenteral de pequeño volumen, debe incluir las siguientes pruebas:

Apariencia, color, pH, ensayo, contenido de antioxidantes y conservadores, esterilidad (inicial y final) y pirógenos. (43)

CAPITULO 7

Bibliografía

7. BIBLIOGRAFÍA.

1. Goodman & Gilman. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. Novena edición. Volumen II. Mc Graw Hill Interamericana. México, D. F. 1996. PP: 1173-1188.
2. Florey, Klaus. *Analytical Profiles of Drug Substances*. Vol. 9. Academic Press. USA, 1980. PP: 295-340.
3. *The Merck Index*. Twelfth edition. USA, 1996. PP: 4401.
4. Remington. *Farmacía*. Editorial Médica Panamericana. Tomo 2. Madrid, 1998. PP: 1982-1983, 2337-2393.
5. *Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos*. Séptima edición. Tomo I y II. SSA. México, D. F. 2000. PP: 793-794, 1025-1028, 1339-1342.
6. USP 24 NF 19. USA, 2000. PP: 764-770.
7. Clark. *Isolation and Identification of Drugs*. The Pharmaceutical Press. London. 1969.
8. <http://www.pharmaportal.com.ar>
9. Rodríguez. *Vademecum Académico de Medicamentos*. Mc Graw Hill. México, D.F. 1999. PP: 426-428.
10. Mc Van. *Índice de Medicamentos*. El Manual Moderno. México, D. F. 1995. PP: 738-740.

11. Ali, B.H. Gentamicin Nephrotoxicity in Humans and Animals: Some Recent Research. *Gen Pharmacol.* 26: 1477-1487; 1995.
12. Laurent, G., Kishore, B. K., Tulkens, P. M. Aminoglycoside-induced renal phospholipidosis and nephrotoxicity. *Biochem. Pharmacol.* 40:2383-2392; 1990.
13. Trissel, Lawrence. *Handbook on injectable drugs*. 10 edition. American Society of Health Supplement Pharmacists. USA, 1998. PP: 559-573.
14. Triessel's. *Stability of Compounded Formulations*. American Pharmaceutical Association. USA, 1996. PP: 123-125.
15. Yoshioka, Sumic and Stella, Valentin. *Stability of drug and dosage forms*. Klower Academic Publishers. USA, 2000. PP: 3-33.
16. Carstensen J. *Drug Stability: Principles and Practices*. Vol. 68. Marcel Dekker. USA, 1995. PP: 410-417.
17. Imai, J., Ide, N., Nagae, S., Moriguchi, T., Matsuura, H., Itakura, Y. Antioxidant and radical scavenging effects of aged garlic extract and its constituents. *Planta Med.* 60: 417-420; 1994.
18. Borek C. Antioxidant Health Effects of Aged Garlic Extract. *J. Nutr.* 131: 1010S-1015S; 2001.
19. Koderu Y., Suzuki A., Imada O., Kasuga S., Sumioka I., Kanezawa A., Taru N., Fujikama M., Nagae S., Masamoto K., Maeshige K., Ono K. Physical, chemical and biological properties of s-allylcysteine, an aminoacid derived from garlic. *J. Agric. Food Chem.* 50(3): 622-632; 2002.

20. Maldonado P. D., Barrera D., Rivero I., Mata R., Medina-Campos O. N., Hernández – Pando R., Pedraza-Chaverri J. Antioxidant s-allylcysteine prevents gentamicin-induced oxidative stress and renal damage. *Free Radic. Biol. Med.* 35(3):317-324; 2003.
21. Maldonado P. D., Barrera D., Medina-Campos O. N., Hernández – Pando R., Ibarra Rubio M. E., Pedraza-Chaverri J. Aged garlic extract attenuates gentamicin induced renal damage and oxidative stress in rats. *Life Sci.* 73(20):2543-2556; 2003.
22. Pedraza-Chaverri J., Maldonado P., Medina-Campos O. N., Olivares-Corichi I. M., Granados-Silvestre M. A., Hernández-Pando R., Ibarra-Rubio M. E. Garlic ameliorates gentamicin nephrotoxicity: relation to antioxidant enzymes. *Free Radic. Biol. Med.* 29(7):602-611; 2000.
23. Ide, N., Lau, H. S. S-allylcysteine attenuates oxidative stress in endothelial cells. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 25(5): 619-624; 1999.
24. Ide, N., Nelson, A. B., Lau, B. H. Aged garlic extract and its constituents inhibit Cu²⁺-induced oxidative modification of low density lipoprotein. *Planta Med.* 63: 263-264; 1997.
25. Nagae, S., Ushijima, N., Hatono, S., Imai, J., Kasuga, S., Matsuura H., Itakura, Y., Higashi, Y., Pharmacokinetics of the Garlic Compound. *Planta Med.* 60: 214-217; 1994.
26. Nakajima, T., Hishida, A., Kato, A. Mechanisms for protective effects of free radical scavengers on gentamicin-mediated nephropathy in rats. *Am. J. Physiol.* 266: F425-F431; 1994.

27. Sha S.H., Schacht J. Formation of reactive oxygen species following bioactivation of gentamicin. *Free Radic. Biol. Med.* 26:341-347; 1998.
28. Walker, P.D., Shah, S.V. Gentamicin enhanced production of hydrogen peroxide by renal cortical mitochondria. *Am. J. Physiol.* 253: C495-C499; 1987.
29. Ali, B. H., Bashir, A. K. Effect of superoxide dismutase treatment on gentamicin nephrotoxicity in rats. *Gen Pharmacol.* 27: 349-353; 1996.
30. Mazzon, E., Britti, D., De Sarro, A., Caputi, A. P., Cuzzocrea, S. Effect of N-acetylcysteine on gentamicin-mediated nephropathy in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 424: 75-83; 2001.
31. Craig, Charles. *Modern Pharmacology with clinical applications*. Fifth edition. Little Brown. USA, 1997. PP: 573-591.
32. *Handbook of Pharmaceuticals Excipients*. American Pharmaceutical Association. USA, 1986.
33. Weiner, Kotkuskie. *Excipient Toxicity and Safety*. Vol.103. Marcel Dekker. USA, 2000. PP: 207-229.
34. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. Second Edition. Vol. 2. Marcel Dekker. USA, 2002. PP: 1164-1185.
35. Banker, Gilbert. *Modern Pharmaceutics*. Third Edition. Vol. 72. Marcel Dekker. USA, 1996. PP: 449-459, 473.
36. Kenneth E. A. *Pharmaceutical Dosage Forms, Parenteral Medications*. Marcel Dekker. Vol. 1, 2 y 3. New York, 1993.

37. Lachman, L. *The theory and practice of industrial pharmacy*. Third edition. Lea & Febiger. USA, 1986. PP: 639-676.
38. Herman, J. *Farmacotecnia teórica y práctica*. 1ª Edición. Tomo VI. Cía. Editorial Continental. México, 1981. PP: 1857-1929.
39. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SSA1-1993. *Buenas prácticas de fabricación para establecimientos de la industria química farmacéutica dedicados a la fabricación de medicamentos*.
40. Apuntes sobre "Los estudios de preformulación para el desarrollo de formas farmacéuticas sólidas". PP: 4-10.
41. Hawley. *Diccionario de Química y de Productos Químicos*. Ediciones Omega. Barcelona, 1993. PP: 505.
42. *Mosby's Drug Consult*. USA, 2000. PP: 1293-1297.
43. Proyecto de modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-073-SSA1-1993. *Estabilidad de Medicamentos*.