

Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos

FORMULACIÓN Y ESTUDIO DE ESTABILIDAD DE ACETILCOLINA 20 mg, LIOFILIZADO PARA SOLUCIÓN OFTÁLMICA

Dinorah Granda Cortada¹ y Arturo Serrano Pérez²

RESUMEN

Se desarrolló la formulación y la tecnología de fabricación de acetilcolina 20 mg, liofilizado para solución oftálmica, producción nacional, con el objetivo de sustituir importación del producto comercial. Se presentó el estudio de estabilidad del producto, realizado por el método acelerado y corroborado por el estudio de vida de estante, según el método de análisis reportado en la USP XXIII. Se demostró que el medicamento tiene la calidad farmacéutica requerida para este tipo de preparaciones estériles y cumple con todas las especificaciones de calidad de la USP XXIII. Se obtuvo una fecha de vencimiento por el método acelerado de 3 años a temperatura ambiente, lo cual fue comprobado en el estudio de vida de estante.

Descriptores DeCS: ACETILCOLINA; QUIMICA FARMACEUTICA; ESTABILIDAD DE MEDICAMENTOS; LIOFILIZACION; VENCIMIENTO DE LOS MEDICAMENTOS; CALIDAD DE LOS MEDICAMENTOS; SOLUCIONES OFTALMICAS.

La acetilcolina es un transmisor químico que presenta un amplio rango de acciones en el organismo; sus acciones muscarínicas fundamentales son la actividad depresora del sistema cardiovascular y la actividad vasodilatadora en áreas vasculares periféricas. Estimula el nervio vago y el sistema nervioso parasimpático. Entre sus acciones nicotínicas más relevantes se encuentran la actividad estimulante del músculo esquelético, los ganglios autónomos y la médula adrenal.^{1,2}

Los fármacos de esta clase no deben administrarse por vía intravenosa o intramuscular porque se pierde la selectividad y aumenta la incidencia de efectos adversos y tóxicos.^{3,4} En la actualidad la acetilcolina sólo se emplea en la aplicación ocular local de ciertas intervenciones quirúrgicas del segmento anterior del ojo, para producir miosis instantánea y de una duración aproximada de 10 a 15 min, sin ocurrencia significativa de efectos tóxicos.⁴ Desde el punto de vista químico, el cloruro de acetilcolina es un polvo

¹ Licenciada en Ciencias Farmacéuticas. Aspirante a Investigadora.

² Licenciado en Química. Aspirante a Investigador.

blanco muy delicuescente y en solución acuosa se descompone fácilmente por el calor, los ácidos y los álcalis;^{5,6} de acuerdo con estas características, la forma farmacéutica más idónea para este fármaco es el producto liofilizado.

El presente trabajo tiene como objetivos fundamentales el desarrollo de la formulación de acetilcolina 20 mg, liofilizado para solución oftálmica de producción nacional, que reúna los requisitos de calidad exigidos para esta forma farmacéutica, y el estudio de estabilidad por el método acelerado, mediante la técnica analítica reportada en la USP XXIII, para obtener un pronóstico de la fecha de vencimiento del medicamento, corroborada mediante los estudios de vida de estante.

MÉTODOS

Se elaboraron 3 lotes de acetilcolina cloruro 20 mg, liofilizado para solución oftálmica, identificados como E-068, E-122 y E-123, para lo cual se utilizaron las materias primas acetylcholine chloride (lote 874332, Alemania) y manitol (Merck, Alemania) de acuerdo con el esquema tecnológico abreviado siguiente:

- Disolver la acetilcolina y el manitol en una cantidad adecuada de agua estéril para inyección.
- Ajustar el pH.
- Enrasar con agua para inyección y homogeneizar. Corroborar el pH.
- Filtrar por membrana esterilizante de 0,2 µm.
- Dosificar 2 mL de la solución filtrada en bulbos y colocar los tapones.
- Liofilizar con los parámetros de liofilización previamente establecidos.

La producción se realizó en un área limpia convencional, en la cual se tomaron todas las medidas de asepsia y desinfección necesarias.^{7,8} La liofilización se efectuó en una liofilizadora Edwards, modelo L-40 (Reino Unido). La membrana filtrante empleada fue Sartorius, acetato de celulosa 0,22 µm. Se usó un pHmetro Metrohm AG (Suiza), calibrado con tampones de pH 4,0 y 7,0 de la misma firma.

Se emplearon bulbos de vidrio transparente de calidad hidrolítica II con capacidad adecuada, tapones de espiga de goma para liofilizar y sellos de aluminio anodizados. La dosificación de los bulbos se realizó en un flujo laminar horizontal GELAIRE (Italia), clase 100. Los análisis de control de la calidad del producto terminado se efectuaron según la monografía del producto terminado de la USP XXIII.⁹ La determinación del contenido de manitol se realizó por la Farmacopea Mexicana.¹⁰

En el estudio de estabilidad se confeccionó un diseño analítico y un programa de muestreo periódico para evaluar las muestras colocadas a diferentes condiciones de temperatura: 40, 50, 60 y 70 °C en hornos Memmert y a temperatura ambiente, según el método de envejecimiento acelerado. El método analítico empleado para la valoración del principio activo fue reportado en la USP XXIII,⁹ el cual demostró ser específico para cuantificar el fármaco en presencia de sus productos de degradación.

Se empleó un cromatógrafo líquido de alta resolución, un sistema de par iónico y detección por índice de refracción KNAUER (Alemania); se utilizó una sustancia de referencia (SR) para realizar los cálculos por el método del estándar externo. Inicialmente se valoró la concentración del principio activo. Todos los análisis se hicieron por triplicado. El procesamiento de los datos y los cálculos se realizaron por el método y la ecuación de Arrhenius para la predicción de la fecha de vencimiento mediante métodos cinéticos con la ayuda del programa ARRHEN.¹¹⁻¹³

Se efectuó la comprobación de la vida útil del medicamento durante un período de 4 años posteriores a la fecha de fabricación para los lotes analizados, así como las características organolépticas del producto terminado, de la solución reconstituida y la acidez.

RESULTADOS

Desde el punto de vista organoléptico se obtuvo para los 3 lotes un producto

liofilizado blanco, uniformemente dispuesto en el fondo del bulbo, el cual se reconstituyó con 2 mL de agua para inyección, ocurriendo la disolución inmediata del sólido y formando una solución clara, transparente, libre de partículas sin disolver. Los 3 lotes analizados cumplieron con los requisitos de calidad de la USP XXIII: identificación, contenido de agua, acidez, valoración de acetilcolina, uniformidad de contenido y contenido de manitol, así como en lo referente a la esterilidad y la apirogenicidad. Los límites especificados en la Farmacopea para la valoración del principio activo son del 90 al 115 %.

En la tabla 1 se muestran los resultados de las determinaciones realizadas a las diferentes temperaturas evaluadas en función del tiempo. El orden de la reacción se determinó por el método de la vida

media, ya que por el método gráfico el programa no sugirió alternativas. Por el método de la vida media se tomó como 0 el orden de la reacción. Se obtuvo un gráfico de la ecuación de Arrhenius $\log K$ vs. $1/T$, con un coeficiente de correlación de 0,9703 y una energía de activación = 24,0 kcal/mol. La ecuación de la recta obtenida fue $\log K = 15,5462 - 5,244 \times 1/T$. Los resultados obtenidos se representan en las figuras 1 y 2. Al extrapolar los resultados a temperatura ambiente (25 °C) se obtuvo una predicción de 3,1 años de vida útil. En la tabla 2 se muestran los resultados de la vida de estante, los cuales corroboran el estudio acelerado. No se observaron cambios en las características organolépticas del liofilizado y de la solución reconstituida en el tiempo estudiado.

TABLA 1. Concentración de acetilcolina en función del tiempo a 40, 50, 60 y 70 °C para el lote E-068

	Temperatura (° C)							
	40		50		60		70	
	Conc. (%)	Tiempo (d)	Conc. (%)	Tiempo (d)	Conc. (%)	Tiempo (d)	Conc. (%)	Tiempo (d)
	101,2	0	101,2	0	101,2	0	101,2	0
	100,4	2	99,8	2	102,0	2	94,5	2
	101,5	6	98,4	21	88,5	12	76,3	12
	99,0	21	96,6	32	68,1	32	55,1	32
	99,3	40	90,5	40	62,3	40	48,8	40

TABLA 2. Resultados de la valoración del principio activo y la acidez en el tiempo. Vida de estante

Ensayo	Inicial		Tiempo 1 año		4 años	
	Acidez (mL de NaOH)	Valoración (%)	Acidez (mL de NaOH)	Valoración (%)	Acidez (mL de NaOH)	Valoración (%)
E-068	0,43	101,20	0,46	98,58	-	-
E-122	0,35	100,73	0,38	99,12	0,40	100,2
E-123	0,36	100,65	0,34	100,0	0,39	102,2

Límites de la acidez: no más de 0,5 mL de NaOH 0,01 N.

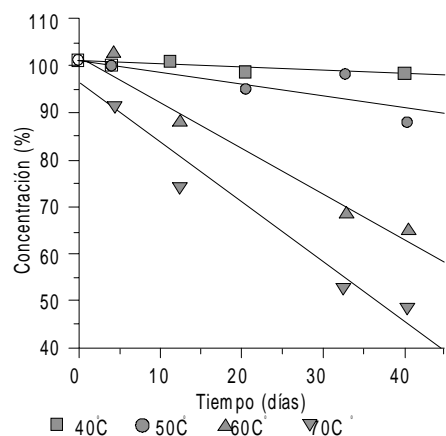


FIG 1. Concentración vs. tiempo a 40, 50, 60 y 70 °C para el lote E-068.

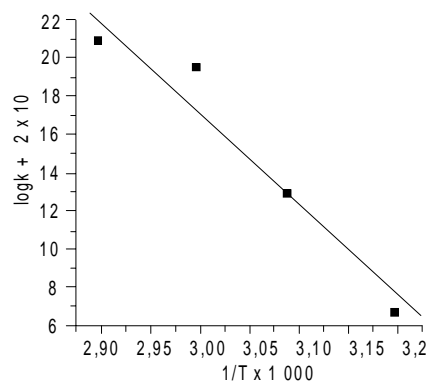


FIG 2. Ecuación de Arrhenius. Acetilcolina cloruro 20 mg, lote E-068.

DISCUSIÓN

Los resultados que se muestran en la tabla 1 demuestran que el método acelerado es idóneo para la predicción de la fecha de vencimiento del producto. Los valores de concentración de acetilcolina (%) no cumplen los límites especificados por la

USP XXIII al cabo de los 40 d para las temperaturas de 50, 60 y 70 °C; durante este tiempo se produce una degradación apreciable del medicamento por efecto de la temperatura. En la figura 1 se presentan las isotermas obtenidas en función de la temperatura para el ensayo E-068 y como puede apreciarse, los valores obtenidos se ajustan a la linealidad y demuestran que el orden de la reacción ha sido seleccionado adecuadamente.

En la tabla 2 se puede observar que el contenido de acetilcolina (%) se mantiene dentro de los límites establecidos por la USP XXIII (90-110 %), incluso a los 4 años posteriores a la fecha de fabricación del inyectable. La acidez obtenida en los ensayos evaluados durante el estudio de vida de estante se mantiene dentro de los límites (no más de 0,5 mL de NaOH 0,01 N), lo cual indica que el producto de degradación ácido es inferior al 10 %.

Por la corta vida media del principio activo en solución y el hecho de que para la aplicación ocular se indica desechar la solución no empleada, no se estudió la estabilidad del fármaco en solución, sino la observación de las características organolépticas y la acidez.

En conclusión, la tecnología de fabricación y la formulación de acetilcolina 20 mg, liofilizado para solución oftálmica, permite obtener un medicamento que cumple con todos los requisitos de calidad farmacéutica según la USP XXIII. El inyectable obtenido tiene buena estabilidad, 3 años a temperatura ambiente, la cual ha sido corroborada mediante el estudio por vida de estante. Todo lo anterior garantiza la exitosa sustitución del similar comercial de importación.

SUMMARY

The formulation and manufacturing technology of acetylcholine 20 mg, lyophilized for ophthalmic solution, of national production, was developed aimed at substituting the import of the commercial product. The product's stability study conducted by the accelerated method

and corroborated by the shelf life study was presented according to the method of analysis reported in the USP XXIII. It was demonstrated that the drug has the pharmaceutical quality required for this type of sterile preparations and that it fulfils all the quality specifications of the USP XXIII. An expiration date was obtained by the accelerated method of 3 years at ambient temperature, which was proved in the shelf life study.

Subject headings: ACETYLCHOLINE; CHEMISTRY, PHARMACEUTICAL; DRUG STABILITY; FREEZE DRYING; DRUG EXPIRATION; DRUG QUALITY; OPHTHALMIC SOLUTIONS.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Goodman GA, Goodman SL, Gilman A. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 6 ed. Buenos Aires: Ed. Médica Panamericana; 1980:107,255-6.
2. Martindale W. The extra pharmacopoeia. 29 ed. London: The Pharmaceutical Press; 1989:1328-9.
3. Litter M. Farmacología experimental y clínica. 7 ed. Buenos Aires: el Ateneo; 1986:524-30.
4. McEvoy GK, ed. American Hospital Formulary Service. Drug Information. Am Soc Hosp Pharm 1986;1371-2.
5. Index Merck. 11 ed. Rahway: Merck; 1989:14.
6. Remington's Pharmaceutical Practice. 18 ed. Easton: Mack Publishing; 1990:890-2.
7. NESP 1752-062:88. Medicamentos. Cristalería y utensilios empleados en la preparación, lavado, esterilización y traslado al área de elaboración.
8. Norma Ramal. 131:83. Medicamentos. Áreas asépticas. Limpieza y desinfección.
9. United States Pharmacopoeial Convention. 23 ed. Rockville: United States Pharmacopoeia; 1995:26.
10. Farmacopea Mexicana. 5 ed. Secretaría de Salud de los Estados Unidos Mexicanos, 1988:965-7.
11. Camacho SMA, Torres SAI, Sanz SMP, Álvarez GS. Estudio comparativo de diversos métodos para el cálculo de la estabilidad de medicamentos. Ciencia e Industria Farmacéutica 1989;8:17-22.
12. Vadas EB. Stability of pharmaceutical products. En: Remington's Pharmaceutical Sciences. 18 ed. Easton: Mack Publishing; 1990:1504-10.
13. Valdés JR, Leonard V, Hernández N, Méndez M. ARRHEN Sistema para el estudio acelerado de estabilidad. Versión 2.0. 1993. (Programa Computadorizado).

Recibido: 29 de noviembre de 1998. Aprobado: 12 de enero de 1998.

Lic. *Dinorah Granda Cortada*. Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos. 19 de Mayo No. 13 esquina a Amézaga, municipio Plaza de la Revolución, Ciudad de La Habana, Cuba.