

Influencia del tratamiento de los tapones de bromobutilo en la humedad residual del inyectable liofilizado omeprazol 40 mg

Influence of bromobutyl freeze drying closures treatment on the moisture content of the lyophilized injectable omeprazole 40 mg

Yanet Beltrán Moisés^a, Marylin Pérez Calixto^a, Germán Águila Pérez^a, Mirna Fernández Cervera^{d,*}, Alejandro GarcíaVarona^a

^a Unidad Empresarial de Base (UEB) aica productiva (Planta de Bulbos), Empresa Laboratorios AICA+. Ave 23 e/268 y 270. La Lisa. La Habana, Cuba. yanetb@aica.cu.

^{d,*} Instituto de Farmacia y Alimentos (IFAL), Departamento de Farmacia. Universidad de La Habana. Calle 222 No. 2317 e/ 23 y 21. La Lisa. La Habana, Cuba. mirnafc@ifal.uh.cu

Recibido: 29 de marzo de 2020;

Aceptado: 8 de julio de 2020;

RESUMEN

La estabilidad de un producto liofilizado es muy sensible al efecto de la humedad residual, por tal razón es importante controlarla en cada fase del proceso de liofilización, así como en la preparación del material de envase a utilizar. El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la influencia del tratamiento que reciben los tapones de bromobutilo en el contenido de humedad residual del inyectable liofilizado de omeprazol 40 mg. *Materiales y Métodos:* se muestrearon tres lotes de tapones de bromobutilo de 20 mm los cuales se esterilizaron por calor húmedo y se secaron. Se estimó el contenido de humedad de tres lotes industriales de omeprazol empleando tapones estériles y secos, durante doce meses, mediante la técnica de Karl Fischer, así como la valoración del inyectable por un método cromatográfico. Se demostró que el peso de los tapones esterilizados aumentó, como consecuencia de la absorción de humedad asociado a la esterilización. El secado de los tapones disminuyó el contenido de humedad inicial. Los lotes industriales del inyectable liofilizado de omeprazol, empleando tapones de bromobutilo estériles y secos, mantuvieron el contenido de humedad en el límite establecido, durante doce meses, así como la valoración, sin riesgos para la calidad del producto terminado.

Palabras claves: tapones de bromobutilo; contenido de humedad; inyectable liofilizado; omeprazol.

ABSTRACT

The stability of a lyophilized product is very sensitive to the effect of residual humidity, for that reason it is important not only to control it in every stage of the process of lyophilization, but also the preparation of the packaging material to use. The objective of the present work was to evaluate the influence of the treatment received by bromobutyl freeze drying closures on the residual moisture content of the lyophilized injectable omeprazole 40 mg. The three bromobutyl freeze-dried closures batches of 20 mm were tested, sterilized by moist heat and dried. The moisture content of three industrial batches of omeprazole was estimated using sterile and dried closures, for twelve months, by Karl Fischer technique, as well as the assay of the injectable by a chromatographic method. It were successfully demonstrated that the closure's weight increased, as a result from the humidity absorption associated to the sterilization process. The drying process of the closures decreased the initial moisture content. The industrial batches of the freeze-dried injectable omeprazole, by using sterile and dry bromobutyl closures, kept the moisture content within the established limit, for twelve months, as well as the assay, without risks for the quality of the final product.

Keywords: bromobutyl freeze drying closures; moisture content; lyophilized injection; omeprazole.

INTRODUCCION

La estabilidad de un producto liofilizado, muchas veces, se ve afectada por el alto contenido de humedad. El control de la humedad residual está dirigida a una atención cuidadosa de la

fase de secado secundario del proceso de liofilización, para asegurar que la humedad residual, después del mismo, esté en un nivel aceptable (Vila Jato, 2005; Carstensen, 2015).

La humedad en el producto liofilizado disminuye su estabilidad al causar el colapso en el tiempo, al producirse las migraciones desde el tapón, existiendo una relación entre el contenido de humedad residual y la estabilidad de los productos, mientras más seco mejor es el producto (Pikal, 2015). Para productos liofilizados y muy higroscópicos, la humedad absorbida puede ser liberada del tapón y transferida al producto durante el almacenamiento, es por esto que el secado de los tapones es un proceso esencial con vistas a eliminar la humedad excesiva en los mismos (Águila, 2015).

Para mantener una baja humedad, se usan como sellaje de los bulbos tapones de goma de bromobutilo y/o butilo, los cuales son relativamente impermeables a la transmisión de los vapores de agua. Sin embargo, los tapones, contienen una cantidad medible de agua que podrían transferir al producto liofilizado (Pikal & Shah, 2011).

Los tapones para liofilizar están diseñados de forma tal que mantienen su estabilidad durante la etapa de transferencia y sublimación en el secado por congelación (USP 41, 2018). El tapón ha de garantizar un cerrado hermético, ser fácil de atravesar con la aguja, ser resistente a las temperaturas de esterilización con la condición de no ceder restos de goma, componentes solubles, volátiles o pirógenos (Corral, 2013).

Los tapones de bromobutilo se encuentran normados y sujetos a una serie de rigurosas especificaciones, lo cual es razonable si se tiene en cuenta que estos tapones se encuentran en contacto directo con el medicamento, es decir, son materiales de envase.

Los envases y cierres se someterán a tratamientos que garanticen la esterilidad del material utilizado para envasar la preparación parenteral. Este tratamiento consiste en la esterilización del material con vapor. El proceso de esterilización incrementa el contenido de humedad de los mismos y con el transcurso del tiempo el agua absorbida por el tapón puede ser liberada del mismo, y transferida al producto liofilizado, incrementado su contenido de humedad hasta alcanzar un valor de equilibrio durante su almacenamiento (Pikal & Roy, 1989).

La tendencia en el mundo es el uso de tapones radio-estériles en productos liofilizados, ya que disminuye la migración de la humedad adquirida por el tapón hacia el producto, debido a que el método de esterilización empleado es por radiación gamma, el cual no aporta humedad. El empleo de estos tapones evitaría los procesos de preparación, esterilización y secado de los tapones. Sin embargo, hasta el presente, los tapones radio-estériles no están disponibles en el país.

La Unidad Empresarial de Base (UEB) aica productiva, perteneciente a la Empresa Laboratorios AICA+, recibe los tapones de bromobutilo listos para usar en bolsas de 3000 unidades o más, las cuales se despachan al área productiva en cantidades superiores a la demanda de producción, generándose, debido a que las bolsas no se pueden abrir, excedentes que no se utilizan y retornan al almacén como devoluciones.

Estos excedentes son almacenados y acumulados hasta alcanzar cifras suficientes para un proceso de llenado completo, sin la utilización de algún otro tapón contenido en bolsas intactas. La cantidad de tapones almacenados se esterilizan. La preparación de los tapones para su esterilización se realiza en el área clase A, entorno C, según los procedimientos establecidos para esta actividad (Regulación 16-2012. Anexo No. 04 Buenas Prácticas para la Fabricación de Productos Estériles. CECMED, 2012). Los tapones llegan al área en bolsas de nylon selladas las que se introducen en bolsas de papel mixto, se identifican y se someten al proceso de esterilización.

Los tapones que no son utilizados en el proceso, se recuperan. Las bolsas se sellan y se introducen nuevamente en bolsas de papel mixto, se identifican y se vuelven a esterilizar por calor húmedo, hasta dos ciclos solamente.

El proceso de esterilización incrementa el contenido de humedad del tapón de goma, por lo que, para productos liofilizados y muy higroscópicos, como es el caso del omeprazol, la humedad absorbida durante este proceso podría ser liberada del tapón y transferida al producto durante su almacenamiento.

Tomando en consideración lo antes expuesto, en este trabajo se estudiará la influencia del tratamiento que reciben los tapones utilizados en el proceso de liofilización del inyectable omeprazol 40 mg, en el contenido de humedad residual del producto terminado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materias primas y reactivos químicos

Inyectable liofilizado de omeprazol 40 mg (Lotes O47001, O47002 y O47003) fabricados industrialmente en la Unidad Empresarial de Base (UEB) aica productiva (Planta de Bulbos), perteneciente a la Empresa Laboratorios AICA+. Karl Fischer reactivo (P.A) (Riedel de Hæn, Alemania), tetraborato de sodio decahidratado (P.A) (Merck, Alemania), metanol (Merck, Alemania). El patrón de referencia del omeprazol sódico fue suministrado por la USP (Farmacopea de los Estados Unidos, por sus siglas en inglés). El resto de los reactivos y soluciones fueron de calidad analítica (Merck, Alemania).

Esterilización de los tapones

Se tomó una muestra de 75 tapones de goma de bromobutilo para liofilizar (20 mm) grises, (Datwyler, Italia), divididos en tres lotes de 25 tapones cada uno (T47001, T47002, T47003). Cada tapón se identificó con un número, se pesaron y se anotó el valor obtenido (P_{ac}). La esterilización se realizó en autoclave (DE LAMA, Italia) a 121 °C, durante 20 minutos. Concluido el proceso de esterilización se colocaron en una desecadora con sílica gel, durante media hora para que se enfriaran. Los tapones estériles se pesaron (balanza Sartorius, Alemania) y se anotó el peso de cada uno (P_0).

Para el procesamiento estadístico de los resultados se empleó el programa Minitab, versión 16.0 (EE.UU.). Se calculó la desviación estándar (DS) y se empleó el valor de probabilidad (p), para comprobar si existían diferencias significativas entre los pesos obtenidos, antes y después de esterilizar.

Secado de los tapones

Los tapones estériles se secaron 2 h en horno (Shirana-H562A, Italia) a 80 °C. Posteriormente los tapones se colocaron en la desecadora hasta su enfriamiento y se pesaron (P_1). A continuación, se colocaron nuevamente en el horno durante 1 h a igual temperatura; a partir de este momento se repitió el procedimiento hasta que el peso fuera constante, anotándose siempre el valor de cada pesada (P_2 , P_3 , P_4). Una vez secos los tapones se colocaron en bolsas dobles de polietileno transparente estéril, siendo utilizados en la producción de los lotes de omeprazol.

Determinación de la masa de agua en los tapones

Con vistas a determinar la cantidad de agua eliminada tras el proceso de secado se calculó la masa de agua en cada tapón por diferencia de peso. Se realizó la comparación estadística, entre el contenido o masa de agua adquirida por los tapones a través de la esterilización y el contenido de agua eliminado con el proceso de secado.

Contenido de humedad residual del inyectable liofilizado de omeprazol 40 mg

La determinación del contenido de humedad residual de las muestras seleccionadas se realizó empleando el equipo Karl Fischer (METTLER TOLEDO V20, España), según el procedimiento descrito (USP 41, 2018). Para ello las muestras se pesaron individualmente. Con ayuda de una jeringa se tomaron 3,0 mL del disolvente (Aquametric) (Panreac, España) realizando la determinación de agua. Se calculó el promedio de la humedad residual del disolvente (Hrd) a partir de los valores de tres réplicas. A continuación, se determinó la humedad residual de la muestra para cada bulbo independiente (Hrm). A cada bulbo de muestra se le inyectó un volumen de 3,0 mL. Se mezcló para lograr la mayor disolución posible, extrayendo con una jeringa toda la muestra contenida en el bulbo y adicionando al equipo. Posteriormente, se lavaron los viales con agua destilada, con ayuda del frasco lavador, quedando perfectamente limpios. Fueron secados a 120 °C por 2 h en estufa. Se colocaron en la desecadora hasta que alcanzaron la temperatura ambiente. Se aceptaron valores de humedad residual menores del 4 % (Astra Zeneca AB. Dossier del fabricante. Omeprazol, inyectable liofilizado, 2003; Pérez *et al*, 2016).

Simultáneamente se utilizó un lote (O.E 0701) del producto omeprazol 40 mg en el que se utilizaron tapones de bromobutilo que no transitaban por el proceso de secado, al cual se le realizó un seguimiento en las condiciones de almacenamiento establecidas.

A todas las muestras les fue determinado el contenido de humedad residual, al momento de producido el lote, a los tres, seis, nueve y doce meses, respectivamente. Los resultados obtenidos fueron comparados con los valores de humedad residual de los lotes industriales anteriormente mencionados, en los que se utilizaron tapones de bromobutilo sometidos al proceso de secado.

Valoración del inyectable liofilizado de omeprazol 40 mg

La concentración del omeprazol sódico fue determinada a los lotes O47001, O47002 y O47003, a través de un método cromatográfico en fase reversa con detección UV-visible, cuyas condiciones fueron: columna Lichrosorb RP-8 (5 µm) (100 mm x 4,6 mm ID) (KNAUER, Alemania), volúmenes de 725,0 mL de solución reguladora de pH (5,2 mL de solución de dihidrógeno fosfato de sodio 1 M (solución A) y 63,0 mL de fosfato de sodio 0,5 M, solución B) y 275,0 mL de acetonitrilo como fase móvil, y velocidad de flujo de 1,5 mL/min. La longitud de onda empleada fue 280 nm inyectándose 20 µL. El procedimiento fue realizado en un cromatógrafo de líquidos de alta resolución (KNAUER, Alemania). El contenido de un vial de omeprazol sódico debe estar entre 38 – 42 mg, equivalente a 95,0 – 105,0 % (AstraZeneca AB. Dossier del fabricante. Omeprazol, inyectable liofilizado, 2003; Pérez *et al*, 2016).

Durante los 12 meses de duración del estudio las muestras del inyectable fueron almacenadas protegidas de la luz, a temperatura ambiente (30°C) (AstraZeneca AB. Dossier del fabricante. Omeprazol, inyectable liofilizado, 2003; Pérez *et al*, 2016).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Según lo planteado por el fabricante, el peso promedio de los tapones debe estar entre 2-3 g, por lo que los valores obtenidos (Tabla 1) se encuentran dentro de los límites establecidos y cumplen adecuadamente con las características requeridas. Analizando el peso promedio de los tapones antes de esterilizar y luego de esterilizados, existe como promedio un incremento en el peso de aproximadamente 0,0036g. Los valores de las probabilidades demuestran que no existen diferencias estadísticamente significativas, para un nivel de confianza del 95%, en los pesos obtenidos en los tres lotes en estudio. Los valores de $p \geq 0,05$; en todos los casos, demuestran la baja variabilidad y dispersión en las determinaciones de los tres lotes ensayados (Fig. 1), demostrando la reproducibilidad en los pesos de los tapones sometidos al proceso de esterilización.

Al comparar los pesos de los tapones esterilizados con los pesos iniciales de los tapones (sin esterilizar), se demuestra que no existen diferencias significativas debido a que los valores de $p \geq 0,05$; en ambos casos (Fig. 2).

Este aumento de peso está asociado a que los tapones absorben agua durante el proceso de esterilización, por estas razones se consideró necesario un proceso de secado para eliminar el agua absorbida durante el proceso de esterilización. Los resultados obtenidos se corresponden con los obtenidos en un estudio similar, pero utilizando tapones de bromobutilo para el proceso de liofilización del producto Heberprot -P (Sierra, 2011).

Los resultados obtenidos tras el proceso de secado de los tapones se muestran en la Tabla 2. Durante las dos primeras horas de secado se produjo la mayor eliminación del contenido de agua de los mismos. De manera general, a este tiempo de secado, se produce la eliminación de aproximadamente 0,006g de agua en los tapones. No obstante, se consideró que este tiempo de secado no era suficiente para eliminar toda el agua contenida en los tapones por lo que el secado se extendió tres horas más. Entre la segunda y tercera horas, se eliminó como promedio 0,0014g de agua en el lote T47001, 0,0016g en el lote T47002 y 0,0022g en el lote T47003. Durante la tercera y cuarta hora prácticamente ya no hubo eliminación de agua, o la disminución fue muy poca. Como se puede apreciar, efectivamente existe una masa de agua como resultado del proceso de esterilización, que aún secos los tapones, podría influir en el contenido de humedad residual de los productos terminados que empleen dichos tapones.

En la Tabla 3 se aprecia que con el proceso de secado de los tapones de bromobutilo fue eliminada mayor cantidad de agua que la absorbida en el proceso de esterilización. Si solo se esterilizan los tapones y no se secan, el contenido de humedad residual en los mismos sería mayor, que cuando son secados luego de esterilizar. Se demuestra la necesidad de someter los tapones de bromobutilo a procesos de esterilización y secado, antes de emplearlos en el envasado de los productos a liofilizar.

Comparando estadísticamente los valores promedio de masa de agua adquirida y eliminada, se puede observar que teniendo en cuenta los valores de probabilidad obtenidos ($p \geq 0,5$), no existen diferencias significativas entre los valores obtenidos (Fig. 3).

Los porcentajes de humedad residual, transcurridos doce meses, se muestran en la Tabla 4. Como se evidencia, en los lotes O47001, O47002 y O47003, los valores de humedad residual presentan como promedio un incremento de 0,51%, a los tres meses, debido a la migración de humedad del tapón hacia el producto y así también ocurre a los seis meses, cuando se produce un incremento de 0,33%.

Sin embargo, a los nueve meses de producidos los lotes, prácticamente los valores de humedad residual permanecen estables, pues solo se logra un incremento como promedio de

0,06%. En este punto presumiblemente se alcanza un equilibrio en el contenido de humedad entre el tapón y el producto, por lo que no debe producirse un aumento significativo de la humedad residual. Igual comportamiento se aprecia a los 12 meses de iniciado el estudio.

En el caso del lote de estudio O.E 0701, donde los tapones de bromobutilo utilizados no fueron sometidos al proceso de secado, se detectó un incremento de la humedad residual de 0,71% en los primeros tres meses, 0,40% al cabo de los seis meses, los nueve meses y a los doce meses de almacenamiento el aumento de la humedad residual fue de 0,2%; teniendo valores superiores a los obtenidos para los lotes O47001, O47002 y O47003. Pero, en ninguno de los casos, los valores de humedad superan el límite establecido para el producto (4,00%) (AstraZeneca AB. Dossier del fabricante. Omeprazol, inyectable liofilizado, 2003).

Según los resultados mostrados, puede afirmarse que, bajo las condiciones ensayadas, al no secar los tapones de bromobutilo aumentó la humedad residual del inyectable en el tiempo lo que pudiera comprometer su estabilidad. En los lotes cuyos tapones fueron secados, se notó un ligero incremento en el contenido de humedad del producto.

De igual forma, los resultados de la valoración (Tabla 4) durante los doce meses, se mantuvieron según los criterios de aceptación establecidos (AstraZeneca AB. Dossier del fabricante. Omeprazol, inyectable liofilizado, 2003).

La necesidad de recuperar los excedentes de tapones obliga a la entidad tratarlos previamente a su empleo en el proceso de llenado y liofilización del inyectable. El tratamiento realizado a los tapones de goma de bromobutilo, bajo las condiciones estudiadas, no afectó el porcentaje de humedad, ni la valoración, del inyectable liofilizado de omeprazol 40 mg.

Tabla 1. Peso de los tapones antes y después de esterilizar.

Lote	Peso (g)/DS	
	Sin esterilizar	Esterilizados
T47001	2,3774/0,0075	2,3809/0,0075
T47002	2,3742/0,0076	2,3778/0,0076
T47003	2,3729/0,0096	2,3767/0,0095

DS: desviación estándar

Tabla 2. Peso de los tapones estériles y secos en diferentes tiempos.

Tiempo (h)	Peso (g)/DS		
	Lote T47001	Lote T47002	Lote T47003
P ₀	2,3809/0,0075	2,3778/0,0076	2,3767/0,0095
P ₁	2,3746/0,0077	2,3717/0,0077	2,3711/0,0094
P ₂	2,3732/0,0075	2,3701/0,0076	2,3689/0,0095
P ₃	2,3721/0,0075	2,3685/0,0075	2,3678/0,0095
P ₄	2,3721/0,0075	2,3684/0,0076	2,3677/0,0093
Contenido de agua (g)	0,0089	0,0089	0,0090

(P₀, P₁, P₂, P₃, P₄): peso de los tapones según el momento de determinación.

DS: desviación estándar.

Tabla 3. Valor promedio de masa de agua adquirida en la esterilización y eliminada en el secado.

Lote	Peso de tapón sin esterilizar (g)	Peso de tapón estéril (g)	Masa de agua adquirida (g)	Peso de tapón estéril y seco (g)	Masa de agua eliminada (g)
T47001	2,3774	2,3809	0,0036	2,3721	0,0053
T47002	2,3742	2,3778	0,0037	2,3684	0,0058
T47003	2,3729	2,3767	0,0038	2,3677	0,0052

Tabla 4. Humedad residual y valoración del inyectable liofilizado omeprazol

Lote	Humedad residual (%)				
	Inicial	3 meses	6 meses	9 meses	12 meses
O.E0701	1,23	1,94	2,34	2,54	2,66
O47001	0,70	1,20	1,30	1,36	1,35
O47002	0,90	1,42	1,50	1,57	1,57
O47003	0,67	1,18	1,27	1,33	1,30
Valoración (%)					
O47001	102,08	101,88	101,98	101,92	102,00
O47002	102,70	102,56	102,61	102,69	101,95
O47003	100,23	99,93	100,30	100,54	100,00

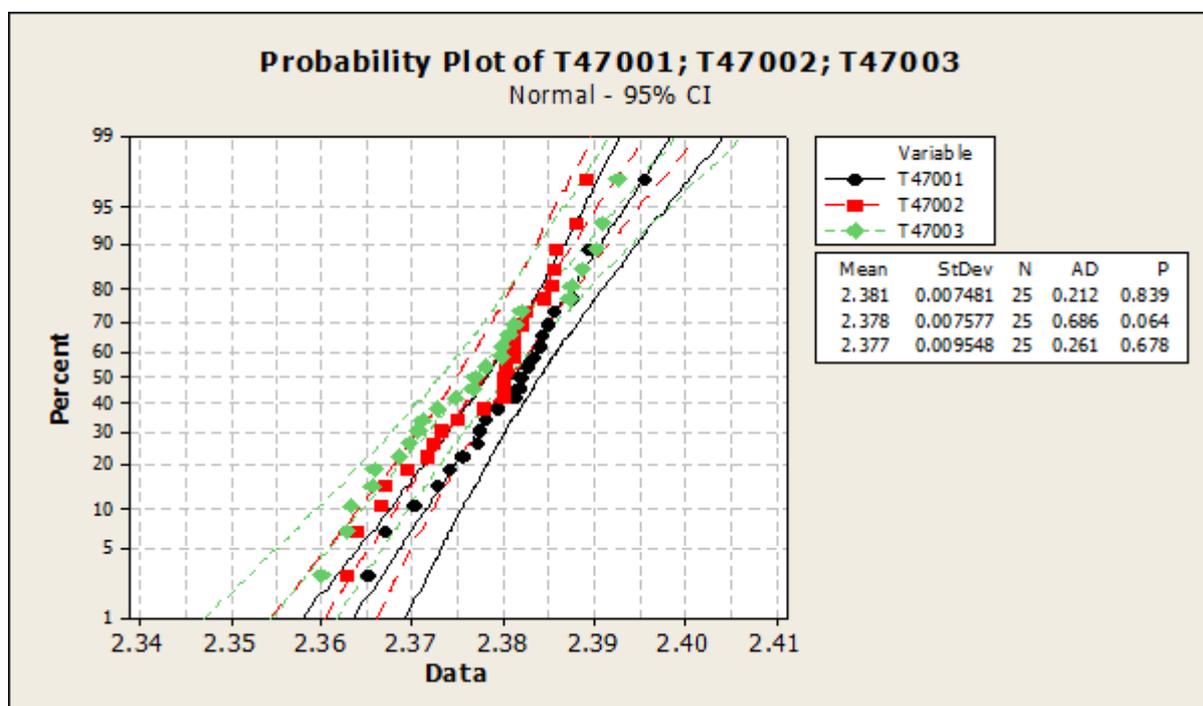


Fig. 1. Análisis estadístico de los pesos de los tapones después del ciclo de esterilización.

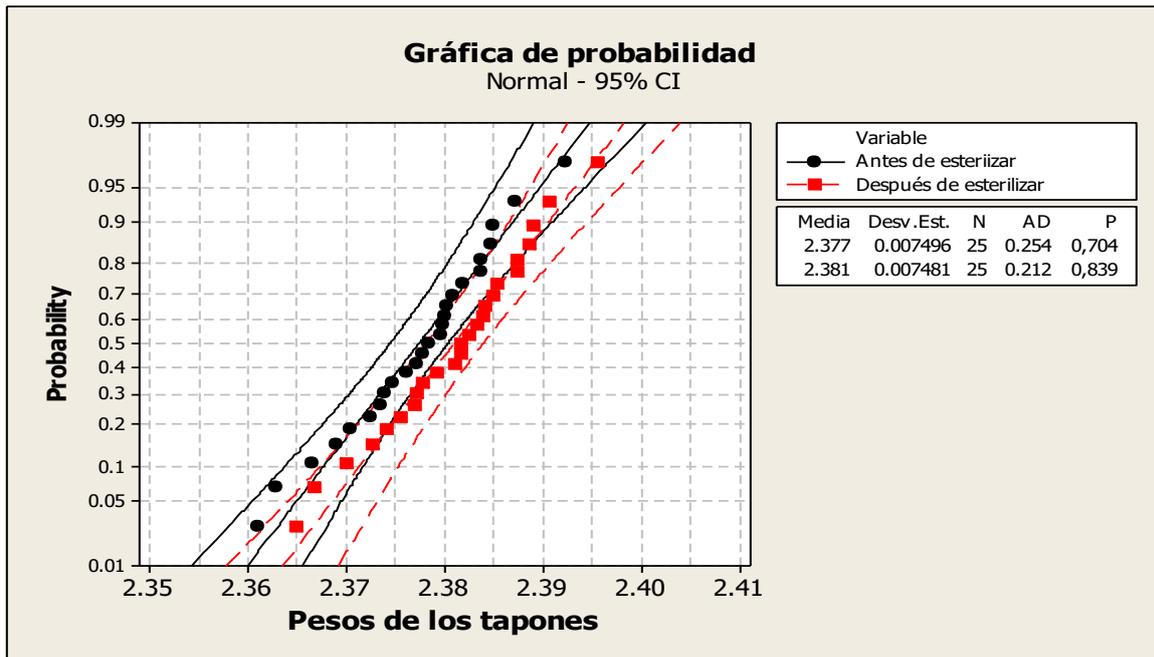


Fig. 2. Análisis estadístico de los pesos de los tapones antes y después del ciclo de esterilización.

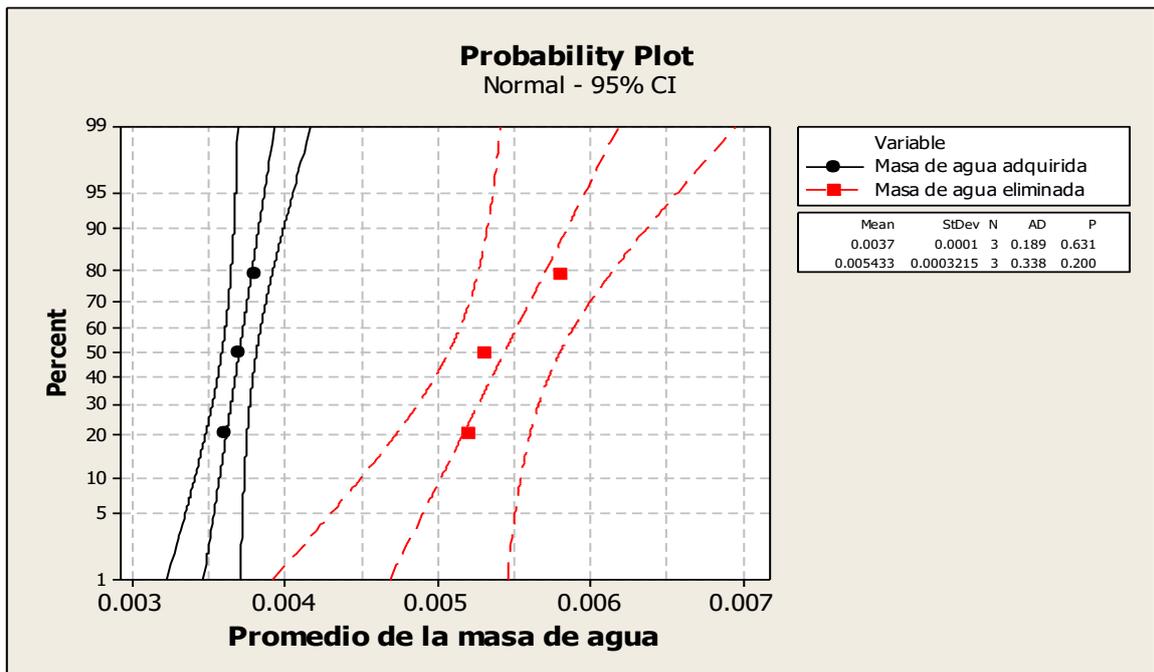


Fig. 3. Análisis estadístico de las masas de agua adquirida y eliminada en los tapones estériles y secos.

CONCLUSIONES

La esterilización y secado de los tapones de bromobutilo, como tratamiento previo antes del llenado y liofilizado, no afectó la calidad del producto terminado. Los lotes industriales del inyectable liofilizado de omeprazol 40 mg, empleando tapones estériles y secos, mantuvieron el contenido de humedad en el límite establecido, durante doce meses, así como la valoración, por lo que es posible lograr contenidos de humedad inferiores a los límites establecidos, sin riesgos para la calidad del producto terminado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Águila, G. (2015, Julio). Nuevo ciclo de liofilización para la ureasa, componente del juego de diagnosticadores salicurea-test [Tesis en opción al título de Licenciatura en Ciencias Farmacéuticas]. Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de La Habana, La Habana.
- AstraZeneca AB. Dossier del fabricante. Omeprazol, inyectable liofilizado (40 mg). Suecia, 2003.
- Carstensen, J. (2015). Drug Stability: Principles and Practices. Revista biomédica, 3, pp. 594.
- Corral, J. (2013, Julio). Guía para la formulación magistral de medicamentos estériles en la oficina de farmacia. Revisión y actualización del estado de la técnica en preparados oftálmicos [Tesis en opción al grado de Doctor en Ciencias Farmacéuticas]. Universidad Complutense, Madrid.
- Farmacopea de los Estados Unidos de América (USP 41). Formulario. [Monograph on CD ROM]. 2018; Vol. I No. 2: 12, 220, 172, 390.
- Pérez Borrego, M.; López Delgado, E.; Fernández Cervera, M.; Cabrera Artola, L.; Acosta Estrada, M.; Tusell Martínez, Y. (2016). Homogeneidad del secado de los inyectables liofilizados ácido zoledrónico y omeprazol. Rev Mex Cienc Farm, 47(4), pp. 79-85.
- Pikal, J.; Roy, L. (1989). Formulation and stability of freeze of freeze dried proteins: effect of moisture and oxygen on stability of freeze dried formulations of human growth hormone. Dev Biol. Stand, 44(2), pp. 14-17.
- Pikal, J. [Ed.]. (2015), Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, New York: Marcel Dekker.
- Pikal, M.; Shah, S. (2011). Mass and heat transfer in vial freeze - drying of pharmaceuticals: Role of the vial. Journal of Pharm. Sciences, 73(9), pp. 13-15.
- Regulación 16-2012. Anexo No. 04 Buenas Prácticas para la Fabricación de Productos Estériles. Centro Estatal para el Control de la Calidad de los Medicamentos, Equipos y Dispositivos Médicos (CECMED). Ministerio de Salud Pública. Cuba, 2012.
- Sierra, L. (2011, Julio). Desarrollo y optimización de un nuevo ciclo de liofilización para el Heberprot P [Tesis en opción al Título de Ingeniero Químico]. Ciudad Universitaria José Antonio Echevarría, La Habana.
- Vila, J. (2005), Tecnología Farmacéutica, España, Editores: José Luis Vila Jato. José Luis Lastres García. Volumen III.