

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE FARMACIA
DEPARTAMENTO DE FARMACIA Y TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA



TESIS DOCTORAL

Sistemas de liberación controlada de Meropenem

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Gonzalo Fernández Govantes

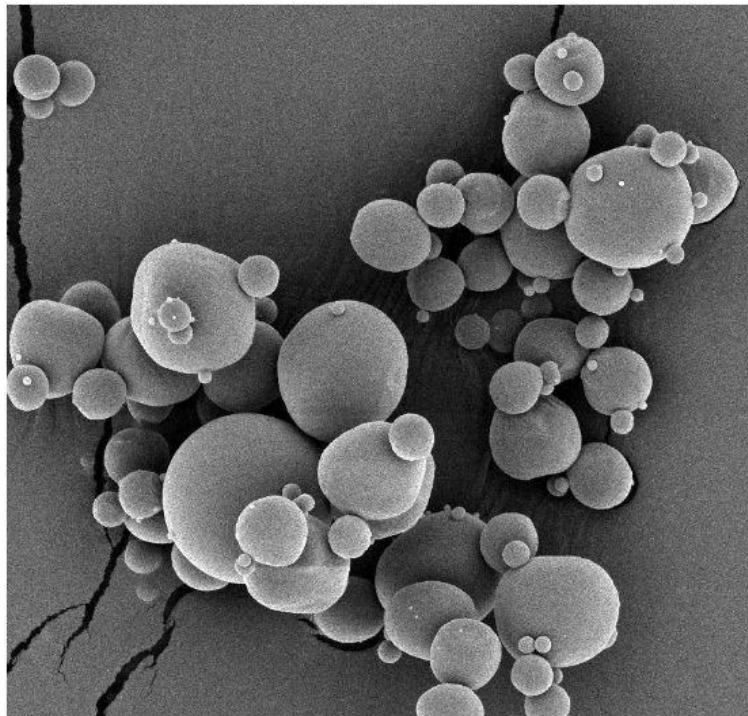
Directores

Juan José Torrado Durán
Santiago Torrado Durán

Madrid, 2015

TESIS DOCTORAL
FARMACIA

**SISTEMAS DE LIBERACIÓN CONTROLADA
DE MEROPENEM**



GONZALO FERNÁNDEZ GOVANTES

2009 - 2015

DEPARTAMENTO DE FARMACIA Y TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA
FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

DIRECTORES:

PROF. DR. JUAN JOSÉ TORRADO DURÁN
PROF. DR. SANTIAGO TORRADO DURÁN



Esta Tesis Doctoral está especialmente dedicada a mis abuelos, Angelines y Jesús, que me han servido de inspiración y motivación para seguir adelante durante el presente estudio. Me he visto reflejado en ellos en cada paso académico y profesional que he dado hasta el momento.

Jesús Govantes Betes y M^ª de los Ángeles Esteso Marcos-Pelayo se conocieron durante su etapa de estudiantes en la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid. Angelines y Jesús se licenciaron en Farmacia en 1949, obteniendo ambos Premio Extraordinario. Tres años más tarde, Jesús se doctoró en Farmacia en la Cátedra de Química Analítica e Inorgánica, obteniendo también el Premio Extraordinario. Desde entonces, dedicaron más de siete décadas de sus vidas al servicio de la salud, con una exitosa trayectoria profesional, dirigiendo la empresa familiar Laboratorios Normon S.A..

También quiero dedicar mi trabajo a María, a mis padres, hermanas, familiares y amigos; que siempre me han apoyado en todo momento.

No me puedo olvidar de mis tutores, Juan y Santiago, que sin ellos no habría sido posible finalizar el presente trabajo.

Gracias a todos.

ÍNDICE

Tabla de contenido

ÍNDICE.....	1
PRÓLOGO	5
1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVO	9
1.1. INTRODUCCIÓN	11
1.2. OBJETIVO Y FASES	19
2. DESARROLLO TEÓRICO.....	21
2.1. MEROPENEM.....	23
2.2. ÁCIDO POLILÁCTICO-CO-GLICÓLICO (PLGA).....	44
2.3. MICROPARTÍCULAS	54
2.4. INFECCIONES NOSOCOMIALES.....	60
3. MÉTODO ANALÍTICO: DESARROLLO Y VALIDACIÓN.....	69
3.1. INTRODUCCIÓN	71
3.2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	72
3.3. RESULTADOS	80
3.4. DISCUSIÓN.....	98
3.5. CONCLUSIÓN	101
4. ESTUDIO DE ESTABILIDAD	103
4.1. INTRODUCCIÓN	105
4.2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	106
4.3. RESULTADOS	110
4.4. DISCUSIÓN.....	117
4.5. CONCLUSIÓN	118
5. SISTEMAS DE LIBERACIÓN CONTROLADA DE MEROPENEM.....	119
5.1. INTRODUCCIÓN	121
5.2. COMPATIBILIDAD MEROPENEM-PLGA	122
5.3. MICROESFERAS: ATOMIZACIÓN.....	124
5.4. MICROESFERAS: CARACTERIZACIÓN	135
5.5. MINICOMPRESIONADOS IMPLANTABLES: COMPRESIÓN.....	154
5.6. MINICOMPRESIONADOS IMPLANTABLES: CARACTERIZACIÓN.....	158
5.7. SUSPENSIÓN INYECTABLE: FORMULACIÓN.....	181
5.8. SUSPENSIÓN INYECTABLE: CARACTERIZACIÓN.....	211
5.9. CONCLUSIÓN	232

6.	ENSAYOS EN ANIMALES	233
6.1.	INTRODUCCIÓN	235
6.2.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	236
6.3.	RESULTADOS	241
6.4.	DISCUSIÓN.....	260
6.5.	CONCLUSIÓN	268
7.	ENSAYOS EN HUMANOS.....	269
7.1.	INTRODUCCIÓN	271
7.2.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	272
7.3.	RESULTADOS	276
7.4.	DISCUSIÓN.....	284
7.5.	CONCLUSIÓN	289
8.	FABRICACIÓN INDUSTRIAL.....	291
8.1.	INTRODUCCIÓN	293
8.2.	COMPONENTES Y PRESENTACIÓN	294
8.3.	FORMULACIÓN.....	298
8.4.	GENERALIDADES DE LA FABRICACIÓN DE MEROPENEM	300
8.5.	PROCESO DE FABRICACIÓN: MATERIAS PRIMAS	302
8.6.	FABRICACIÓN DE JERINGAS PRECARGADAS.....	305
8.7.	FABRICACIÓN DE VIALES LIOFILIZADOS CON MICROESFERAS DE PLGA Y MEROPENEM.....	312
8.8.	ACONDICIONAMIENTO FINAL	324
8.9.	PLANTA INDUSTRIAL: PLANOS, CLASIFICACIÓN, PRESIONES Y FLUJOS.....	328
9.	CONCLUSIONES	339
10.	CONTROLLED RELEASE SYSTEMS OF MEROPENEM	343
11.	AGRADECIMIENTOS.....	351
12.	BIBLIOGRAFÍA.....	355

PRÓLOGO

PRÓLOGO

Al doctorando y directores nos ha parecido oportuno comenzar este trabajo explicando algunas de sus características. Aunque la mayor parte de los experimentos se han realizado en el departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica de la Universidad Complutense de Madrid, hay partes importantes que se han realizado en otros centros, por ejemplo en el laboratorio farmacéutico Normon S.A., donde desde hace ya casi cuatro años trabaja el doctorando, el animalario de la Universidad de Alcalá de Henares y la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) del hospital San Carlos de Madrid. A todos ellos les agradecemos su ayuda.

La elección del meropenem como principio activo se realizó por varias razones. En primer lugar es un antibiótico moderno de uso restringido a nivel hospitalario del cual no existe mucha información disponible, que tiene problemas de estabilidad y que por su corta semivida obliga a su administración por perfusión continua. Lógicamente la preparación de formulaciones de liberación controlada debiera de mejorar sus características farmacocinéticas y su utilización. Por un lado, Normon S.A. nos facilitó materia prima y por otro la UCI del hospital San Carlos estaba muy interesada en tener más información sobre la farmacocinética de este nuevo medicamento en sus pacientes. Especialmente era interesante en clínica conocer el efecto de la duración del tiempo de perfusión en las concentraciones del fármaco en los enfermos. De esta forma se podía mejorar la eficacia de este antibiótico.

El estudio farmacocinético de diferentes formas de administración del meropenem es un aspecto clave de este trabajo, y para poder llevarlo a cabo se realizaron experimentos en conejos. Debido a problemas de saturación de trabajo en el animalario de la Universidad Complutense, decidimos hacer estos experimentos en el animalario de la Universidad de Alcalá de Henares, a quien también agradecemos su ayuda.

Por último, en esta tesis está muy presente el enfoque industrial ya que no acaba el trabajo con una propuesta de formulación, sino que se prolonga a la realización de un proyecto de desarrollo industrial. El doctorando, durante estos años ha realizado el Máster Oficial en Farmacia y Tecnología Farmacéutica, el Máster en Farmacia Industrial y Galénica y ha trabajado en dos compañías farmacéuticas: Roche y Normon S.A., donde continua en la actualidad. Lógicamente esta experiencia se refleja en este trabajo con la inclusión de un capítulo de fabricación industrial.

1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVO

1.1. INTRODUCCIÓN

❖ **Sistemas de liberación modificada**

Las formas farmacéuticas de liberación modificada son aquellas diseñadas de tal manera que se modifica la velocidad o el lugar de liberación del principio activo respecto a las formas farmacéuticas de liberación inmediata del mismo principio activo.

Las formas de liberación modificada se clasifican en:

- **Formas de liberación retardada:** El principio activo es liberado en un momento distinto al de la administración, pero no se prolonga el efecto terapéutico (no hay cambios en ningún otro parámetro terapéutico). Ej.: comprimidos con recubrimiento entérico.
- **Formas de liberación controlada:** El principio activo se libera de forma controlada, ya sea modificando la velocidad de liberación o el lugar de liberación.
 - Control de la velocidad de liberación:
 - **Formas farmacéuticas de acción sostenida:** El principio activo se libera a una velocidad constante con el objetivo de conseguir disminuir las fluctuaciones de los niveles plasmáticos. Ej: Sistemas tipo Oros.
 - **Formas farmacéuticas de acción prolongada:** El principio activo se libera inicialmente en proporción suficiente para producir su efecto, y después se libera de forma lenta a una velocidad no necesariamente constante, manteniendo la concentración eficaz durante más tiempo que con las formas de liberación inmediata. Ej: Microesferas poliméricas.
 - Control del lugar de la liberación (Vectorización): Liberación selectiva de principios activos a nivel de órganos, tejidos o células sobre los que han de ejercer su acción. Ej: Modificando la vía de administración, utilizando transportadores...

Las formas de liberación modificada tienen, entre otras, las siguientes ventajas:

- Reducción de la frecuencia de administración para mejorar el cumplimiento terapéutico. Las formas de liberación modificada permiten que los medicamentos con una duración de acción corta puedan ser administrados con menor frecuencia. Está generalmente aceptado que, para la mayoría de los pacientes, reducir el número de dosis/día mejora la adherencia al tratamiento, sobre todo en el caso de pautas de tres o más tomas diarias.
- Reducción de las fluctuaciones en las concentraciones plasmáticas. La reducción de picos plasmáticos elevados puede minimizar los efectos adversos. También se evitarían los niveles plasmáticos subterapéuticos al final del intervalo posológico con la consiguiente pérdida de eficacia.
- Control del sitio de liberación del fármaco, ya que actúa en el lugar donde se le requiere.

Fármacos que presentan ventajas al ser formulados como formas de liberación modificada:

- Fármacos con estrecho margen terapéutico, para mantener las concentraciones plasmáticas dentro de los límites de efectividad y toxicidad.
- Fármacos que se liberan rápidamente, si se formulan como una forma de liberación modificada se pueden reducir los picos plasmáticos elevados que se han asociado a efectos adversos.
- Fármacos de corta duración de acción que precisan varias tomas diarias.
- Fármacos que se degradan en determinadas circunstancias y que con la forma de liberación modificada se impide la degradación.
- Fármacos para determinadas patologías en las que el grado de cumplimiento es bajo.

El objetivo principal de la liberación modificada es simple: conseguir la cantidad correcta del agente activo, en el momento adecuado y en el lugar preciso.

❖ Meropenem

El meropenem es un antibiótico carbapenémico que se caracteriza por su amplio espectro de acción. En la actualidad el meropenem se utiliza a nivel hospitalario, para infecciones graves. Su uso no se generaliza seguramente por miedo a que aparezcan resistencias frente a este antibiótico β -lactámico.

Se administra por vía intravenosa, mediante perfusiones cortas de 15-30 minutos. Se administran dosis de 500 mg o 1000 mg.

Su eliminación por el organismo es muy rápida, con un tiempo de vida media inferior a 1 hora.

Por estas características, sería beneficioso obtener:

- Sistemas de liberación prolongada: sistemas que permitan liberar meropenem a lo largo del tiempo, con el fin de reducir el número de administraciones y mantener los niveles sanguíneos más constantes en el tiempo.
- Sistemas vectorizados: sistemas que permitan liberar el meropenem en el lugar donde se requiere su acción. Estos sistemas pueden tener gran interés para prevenir infecciones nosocomiales en intervenciones quirúrgicas. Estos sistemas que actúan directamente en el lugar de acción seguramente requieran dosis menores.

Estos sistemas pueden ser beneficiosos tanto para los tratamientos de infecciones, como para la profilaxis de las mismas.

❖ Tratamientos parenterales de infecciones

La administración parenteral de liberación inmediata puede llegar a ser inefectiva en el tratamiento de algunas infecciones por varios motivos:

- En primer lugar, las administraciones con liberación inmediata suelen caracterizarse por tener la concentración del principio activo en plasma durante menos tiempo por encima de concentraciones mínimas que inhiban el crecimiento bacteriano; con respecto a una administración prolongada. Esto es más acusado en fármacos con eliminación rápida del organismo.
- En segundo lugar, hay lugares del organismo en donde la penetración local es insuficiente, debido a la poca vascularización. Se requieren dosis muy elevadas para llegar a todos los lugares del organismo con concentraciones por encima de las concentraciones mínimas inhibitorias de los microorganismos.

Desde este punto de vista, una terapia de liberación controlada podría presentar muchas ventajas con respecto a la liberación normal. Sistemas de liberación prolongada y/o vectorizada evitarían dosis múltiples, proporcionando liberación de antibiótico durante días. La inclusión de fármacos en sistemas de liberación controlada es una forma eficaz de reducir algunos problemas frecuentemente ocasionados durante tratamientos farmacológicos, como una posología incómoda, ineficacia o reacciones adversas frecuentes (*Sánchez Brunete, J.A. et al., 2005*).

❖ Profilaxis de infecciones

La profilaxis con antibióticos se usa solamente cuando se ha documentado que tiene beneficios superiores a los riesgos. Una indicación aceptada comprende aquellas profilaxis para ciertas intervenciones quirúrgicas.

Cuando sea apropiada la quimioprofilaxis, hay que comenzar a administrar antibióticos por vía intravenosa una hora antes de la intervención. A menudo resulta más eficiente administrar el tratamiento en el momento de llamar al paciente al quirófano o con la administración de la anestesia. En muchos casos, la profilaxis con una sola dosis preoperatoria es suficiente. El régimen seleccionado depende de los agentes patógenos predominantes, el patrón de resistencia en el servicio quirúrgico, el tipo de intervención quirúrgica, la semivida de eliminación del antibiótico en el suero y el costo de los medicamentos.

En ocasiones, es necesario administrar antibióticos después de la operación quirúrgica, para prevenir una posible infección bacteriana. Esto sucede en operaciones en las que existe mayor riesgo de infección. Para ello, es necesario que el paciente se quede ingresado hasta finalizar su tratamiento ya que, por norma general, la administración del antibiótico suele ser intravenosa. Este tratamiento supone un gasto bastante elevado, así como una incomodidad para el paciente. Por otra parte, hay tratamientos intravenosos que pueden resultar inefectivos en algunos tipos de infecciones, debido a su baja biodisponibilidad local (infecciones óseas).

Una profilaxis quirúrgica local puede resultar beneficiosa en muchos aspectos. En primer lugar, asegura que el fármaco tenga una biodisponibilidad total en el lugar donde puede generarse la infección. Adicionalmente, se reduce la dosis a administrar, pues no se buscan concentraciones sanguíneas sistémicas, sino locales.

A lo largo de las últimas décadas se han desarrollado multitud de sistemas de liberación controlada de antibióticos, como los implantes de polimetilmetacrilato (PMMA) con antibióticos, incluyendo meropenem (*Salomon, A.W., et al, 2010*). El problema de este tipo de implantes es que no son biodegradables, por ello era necesario realizar una segunda operación para retirarlos (*Popham, G.J., et al., 1991; Duncan, C.P., et al., 1994; Lemons, J.E., 1996*). Además, en esta segunda operación, la cavidad que dejaba al retirarse el PMMA requería reconstrucción. Una liberación controlada y local de antibiótico desde sistemas microparticulares usando polímeros biodegradables podría presentar una gran ventaja frente a los otros sistemas. Por este motivo, se han realizado diversos estudios, como es el caso de microesferas de PLGA 75:25 y vancomicina (*Baleani, M., et al, 2008*); o implantes de pellets de ácido poli-D, L-láctico y ciprofloxacino (*Koort, J.K. et al, 2008; Ramchandani, M. et al, 1998*)...

Las infecciones contraídas durante intervenciones quirúrgicas forman parte de las infecciones nosocomiales.

❖ Infecciones nosocomiales

Una infección nosocomial es una infección contraída en un hospital o centro de atención sanitaria por un paciente que había sido internado por una razón distinta de esa infección. Es aquella infección que se presenta en un paciente internado en un hospital o en otro establecimiento de atención de salud, en quien la infección no se había manifestado ni estaba en período de incubación en el momento de su llegada. Comprende las infecciones contraídas en el hospital. También se incluyen las infecciones ocupacionales del personal del establecimiento.

A pesar del progreso alcanzado en la atención hospitalaria y de salud pública, siguen manifestándose infecciones en pacientes hospitalizados, que también pueden afectar al personal de los hospitales. Las infecciones nosocomiales ocurren en todo el mundo y afectan tanto a los países desarrollados como a los países del Tercer Mundo.

Una encuesta de prevalencia realizada por la OMS en 55 hospitales de 14 países representativos de 4 Regiones de la OMS (Europa, Mediterráneo Oriental, Asia Sudoriental y Pacífico Occidental) mostró que un promedio de 8,7% de los pacientes hospitalizados presentaba infecciones nosocomiales. En este estudio de la OMS se ha demostrado también que la máxima prevalencia de infecciones nosocomiales ocurre en unidades de cuidados intensivos y en pabellones quirúrgicos y ortopédicos de atención de enfermedades agudas. (OMS, 2003).

Los gastos económicos son enormes. Una estancia prolongada de los pacientes infectados es el mayor factor contribuyente al costo.

Los factores más importantes de las enfermedades nosocomiales son el agente microbiano (bacterias comensales, bacterias patógenas, virus, hongos y parásitos), la vulnerabilidad del paciente, factores ambientales y las resistencias bacterianas. Las infecciones nosocomiales más comunes son las urinarias, lugares de intervenciones quirúrgicas, neumonía y bacteriemia.

Uno de los grupos de infecciones nosocomiales más frecuentes es aquel relacionado con las operaciones quirúrgicas. Un paciente que vaya a ser sometido a una operación puede infectarse a través de su propia flora o de microorganismos presentes en el medio que le rodea. Las infecciones pueden producirse por diferentes microorganismos, pero la gran mayoría son infecciones bacterianas.

❖ **Sistemas de liberación controlada de meropenem**

La administración de sistemas de liberación controlada (liberación prolongada y liberación vectorizada) de meropenem se podría justificar tanto para tratamientos de infecciones como para profilaxis de las mismas. En el caso de profilaxis, sobre todo tendría especial interés en profilaxis quirúrgicas

- Tratamientos:

Los tratamientos de infecciones con meropenem se realizan mediante administraciones de meropenem intravenosas, con perfusiones cortas de 15-30 minutos. Aunque en la ficha técnica de meropenem se establece este tiempo de perfusión, ya existen estudios en los que se recomiendan perfusiones más prolongadas de meropenem (*Lee, L.S., et al, 2010; Thalhammer, F., et al, 1999; Langgartner, J., et al, 2008; Roberts, J.A., et al, 2009*).

La principal ventaja de las perfusiones más prolongadas de meropenem se traduce en un aumento del tiempo de concentración de meropenem por encima de concentraciones mínimas inhibitorias de los microorganismos.

- Profilaxis quirúrgica local:

Su uso a nivel de profilaxis no se ha puesto todavía en práctica, aunque hay varios estudios publicados en revistas científicas que demuestran que utilizándolo con este fin presenta un beneficio potencial. Estos artículos nos revelan que el meropenem es efectivo para prevenir infecciones pancreáticas (*Fausto Catena, L. et al, 2009; Fritz, S. et al, 2008*), o incluso en pacientes con neutropenia durante trasplantes de células madre (*Nucci, M. et al, 2004; Pérez Simón, J.A. et al, 2004*). Los posibles beneficios de una profilaxis quirúrgica local con meropenem se resumen a continuación:

- **Salud:** al administrar este antibiótico de amplio espectro las posibilidades de que el paciente se infecte como consecuencia de la intervención quirúrgica son menores. Hay trabajos que estiman que las infecciones en el lugar de la cirugía son del 13,0-15,0%. El meropenem es efectivo frente a casi todas las bacterias causantes de enfermedades nosocomiales.
- **Comodidad:** el paciente no tiene que permanecer tanto tiempo ingresado y no requiere una vía para que se le administre el antibiótico. Un estudio realizado por

la OMS mostró que el aumento general del período de hospitalización de los pacientes con infecciones de heridas quirúrgicas fue de 8,2 días y alrededor de 10,0 días una general y 19,8 una ortopédica (OMS, 2003).

- **Económico:** se evita una estancia prolongada del paciente. Por otro lado, también se evita una posible infección nosocomial del paciente, lo que supondría administrarle antibióticos vía intravenosa y una estancia aún más duradera. Una estancia prolongada aumenta, no sólo los costes directos para los pacientes o para el Sistema Nacional de Salud, sino también los indirectos por causa del trabajo perdido. El mayor uso de medicamentos, la necesidad de aislamiento y el uso de más estudios de laboratorio y otros con fines de diagnóstico también elevan los costes (Coella, R. et al, 1993).
- **Resistencias:** se evita un posible tratamiento posterior a causa de la infección quirúrgica, por lo que se reduciría el empleo de meropenem en esas circunstancias. Además la dosis empleada en la administración local de meropenem sería menor que la utilizada vía sistémica, ya que al ser un tratamiento local se necesita menos cantidad de antibiótico. De esta manera el consumo final de meropenem podría llegar a ser menor utilizándolo de manera profiláctica que terapéutica.
- **Avance científico:** a medida que evoluciona la ciencia, y con ello la aparición de nuevos antibióticos más efectivos, la elección de los tratamientos va cambiando. De esta manera, antibióticos que en un primer momento estaban reservados para tratamientos más graves, hoy en día tienen un uso más amplio. Lo mismo puede suceder con el meropenem, seguramente llegará un momento que su uso sea más generalizado, ya que habrá otros antibióticos de nuevas generaciones que lo sustituyan en infecciones más graves. Debido al aumento de β -lactamasas específicas frente a antibióticos como ceftriaxona, ceftazidima y otros betalactámicos, los antibióticos de amplio espectro como meropenem o cefalosporinas de cuarta generación están llamados a tener mayor uso (Jones, R.N., 2000).

1.2. OBJETIVO Y FASES

El presente estudio se basa en demostrar que la liberación controlada de meropenem puede ser beneficiosa para prevenir y tratar infecciones, con un especial enfoque en:

- Tratamiento de infecciones: mejora de las propiedades farmacocinéticas aumentando el tiempo de perfusión de meropenem.
- Profilaxis de infecciones nosocomiales: sistemas de administración local biodegradables en operaciones quirúrgicas.

Para ello, se han realizado diversos estudios, distribuidos en las siguientes etapas:

- Desarrollo Teórico: estudio teórico del principio activo, excipientes, procesos...
- Métodos analíticos: puesta a punto de los métodos analíticos y validación de los mismos.
- Estabilidad: estudios de estabilidad del principio activo a diferentes temperaturas y en diferentes medios.
- Sistemas de liberación controlada de meropenem: estudio para la fabricación y análisis de nuevas formas de liberación controlada de este principio activo. Los estudios se han enfocado en dos formulaciones diferentes:
 - Minicomprimidos implantables
 - Suspensión inyectable
- Ensayos en animales: comparación de diversas formas farmacéuticas, tanto las aprobadas en el mercado, como las desarrolladas durante el estudio.
- Ensayos en humanos: comparación de diferentes velocidades de administración de la forma farmacéutica existente en el mercado.
- Fabricación industrial: estudio teórico sobre la fabricación industrial.

El principal objetivo del estudio es demostrar que la liberación controlada de meropenem puede ser más beneficiosa que la liberación inmediata, y que este beneficio puede aprovecharse en diversas situaciones clínicas como las intervenciones quirúrgicas.

Para ello se han estudiado diferentes formulaciones, posologías y vías de administración.

- Formulaciones: comparación de las formulaciones comercializadas de administración intravenosa tipo bolus con respecto a formulaciones desarrolladas para liberación controlada. En el mercado solo existen formulaciones de meropenem de liberación

inmediata, por lo que se han buscado alternativas (minicomprimidos implantables, suspensiones inyectables) que puedan favorecer una liberación controlada.

- Vías de administración: comparación entre la vía de administración que clínicamente se está utilizando (vía intravenosa) con otras alternativas como la vía intramuscular.
- Posologías: comparación entre diferentes velocidades de administración de las presentaciones comercializadas para administración intravenosa. Una misma formulación administrada a diferentes velocidades puede tener diferentes comportamientos, sobre todo puede influir en el tiempo durante el cual la concentración de principio activo en sangre esté por encima de concentraciones mínimas inhibitorias de microorganismos.

Una de las indicaciones de los sistemas de liberación controlada de meropenem podría ser la prevención de infecciones nosocomiales causadas durante operaciones quirúrgicas. Estas infecciones son muy comunes en pacientes que son operados y son causantes de estancias hospitalarias prolongadas, pues los pacientes deben permanecer en el hospital hasta finalizar el tratamiento antibiótico.

2. DESARROLLO TEÓRICO

2.1. MEROPENEM

A. ANTIBIÓTICOS

Un antibiótico es una sustancia química producida por un ser vivo, derivado semisintético de ella o sintética, que a bajas concentraciones mata (por su acción bactericida) o impide el crecimiento (por su acción bacteriostática) de ciertas clases de microorganismos sensibles, y que por su efecto, se utiliza en medicina humana, animal u horticultura para tratar una infección provocada por dichos gérmenes. Normalmente un antibiótico es un agente inofensivo para el huésped, aunque ocasionalmente puede producirse una reacción adversa al medicamento o puede afectar a la flora bacteriana normal del organismo. Se espera que la toxicidad de los antibióticos sea superior para los organismos invasores que para los animales o los seres humanos que los hospedan (selectividad).

❖ Mecanismos de acción

Existen muchas familias de antibióticos, presentando diversos mecanismos de acción:

- Pared celular: bloquean la síntesis, exportación, organización o formación de la pared celular (Ejemplo: meropenem).
- Membrana celular: lesiona directa o indirectamente la integridad de la membrana celular de las bacterias y de ciertos hongos (Ejemplo: polimixinas)
- ADN: bloquean la síntesis del ADN, ARN, ribosomas, ácidos nucleicos o las enzimas que participan en la síntesis de las proteínas, resultando en proteínas defectuosas (Ejemplo: sulfamidas).
- Ribosomas: algunos antibióticos actúan por inhibición de los ribosomas bacterianos, que son los órganos celulares responsables de la síntesis de proteínas y que son distintos en composición de los ribosomas en mamíferos (Ejemplos: aminoglucósidos, tetraciclinas).

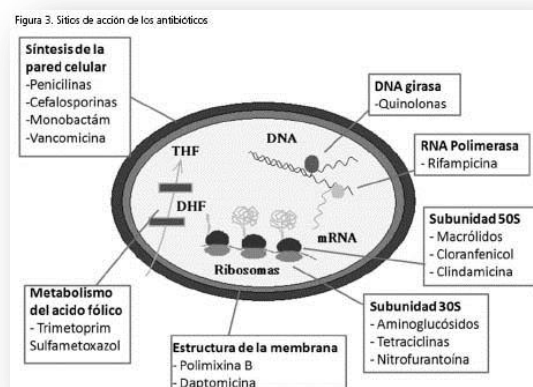


Fig. 2.1. Sitios de acción de los antibióticos.

❖ **Clasificación**

- Aminoglucósidos (amikacina, gentamicina, neomicina, estreptomina...)
- Carbacefemos (loracarbef...)
- **Carbapenemos** (ertapenem, doripenem, imipenem/cilastatina, **meropenem**...)
 - Mecanismo: Previene la división celular bacteriana inhibiendo la síntesis de la pared celular.
 - Usos: Bactericida para las Gram positivas y Gram negativas, por lo que se usa para cobertura de amplio espectro de manera empírica.
- Cefalosporinas (ceftriaxona, cefuroxima...)
- Glicopéptidos (vancomicina, teicoplanina...)
- Macrólidos (azitromicina, claritromicina, eritromicina...)
- Monobactámicos (aztreonam...)
- Penicilinas (amoxicilina, ampicilina, penicilina, oxacilina...)
- Polipéptidos (bacitracina, colistina, polimixina B...)
- Quinolonas (ciprofloxacino, levofloxacino, norfloxacino...)
- Sulfonamidas (sulfametoxazol, sulfasalazina...)
- Tetraciclinas (doxiciclina, oxitetraciclina...)
- Cloranfenicol
- Rifampicina
- ...

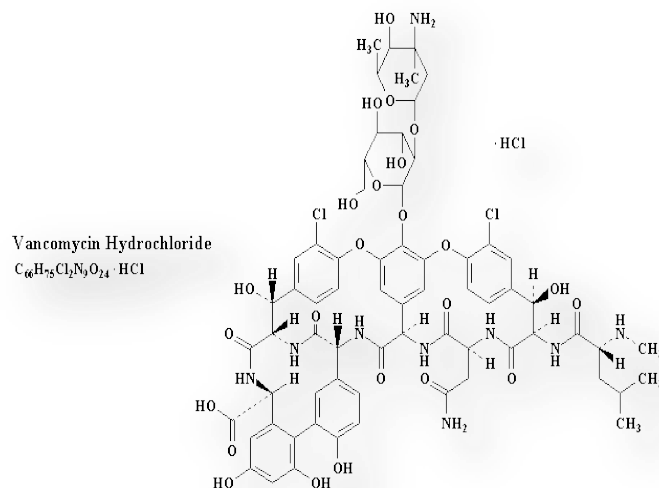


Fig. 2.2. Vancomicina.

B. ANTIBIÓTICOS CARBAPENÉMICOS

El meropenem es un antibiótico que pertenece a la familia de los carbapenemos. Los carbapenemos son una clase de fármacos antimicrobianos parenterales que se consideran del grupo de los β -lactámicos, pero que difieren de las penicilinas en su composición química: un átomo de carbono ha sido sustituido por un átomo de sulfuro y existe una adición de un doble enlace en el anillo pentagonal del núcleo de la penicilina. Estos son derivados de la tienamicina, un producto natural de un hongo que reside en el suelo llamado *Streptomyces cattleya*.

Como el resto de β -lactámicos, los carbapenemos actúan inhibiendo la síntesis de la pared celular bacteriana, ya que se unen e inactivan a las "Penicillin Binding Proteins (PBPs)".

Los carbapenemos son estables a la mayoría de las betalactamasas, incluyendo las AmpC y las betalactamasas de amplio espectro. Las resistencias a carbapenemos aparecen cuando las bacterias desarrollan cambios estructurales en sus PBPs, cuando adquieren metalo-proteasas capaces de degradar rápidamente al antibiótico, o cuando cambian la permeabilidad de sus membranas.

Los carbapenemos poseen el espectro de acción frente a bacterias más amplio de todos los antibióticos betalactámicos, que incluye bacterias Gram positivas, Gram negativas, aerobias y anaerobias. El inconveniente es que este grupo carece de actividad frente a *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus meticilin resistente* y *Stenotrophomonas maltophilia*.

Su administración es únicamente por vía intravenosa, dado que su administración por vía oral conduce a su degradación (salvo tebipenem). No obstante, hay estudios sobre su administración intramuscular (Romanelli, G. et al 1995), intraperitoneal (Van Ende, C., et al, 2010), u oral en forma de proforma (Tanaka, S., et al, 2011). Se utilizan comúnmente en los hospitales para tratar infecciones severas.

El primer carbapenem en descubrirse fue la tienamicina, que es un compuesto natural e inestable, sintetizado por *Streptomyces cattleya*. Su inestabilidad hizo que se investigasen nuevas alternativas y se desarrolló el imipenem. El problema de este antibiótico es que se degrada *in vivo* por la dihidropeptidasa renal (DHP-I), por lo que hay que administrarlo con su inhibidor cilastatina. A continuación salió al mercado el meropenem, que difería del anterior en que era estable a la DHP-I, por lo que se podía administrar solo.

Estudios microbiológicos han demostrado que el imipenem es ligeramente más activo frente a bacterias Gram positivas y menos activo frente a las Gram negativas, comparado con el

meropenem. Ambos antibióticos han sido utilizados para tratar gran variedad de infecciones complicadas, así como aquellas adquiridas en el ámbito hospitalario (nosocomiales).

El imipenem y el meropenem tienen un tiempo de vida media muy corto, por lo que resulta necesario administrarlos varias veces al día. El ertapenem se desarrolló con el fin de aumentar la vida media de este tipo de antibióticos, de tal manera que sólo es necesario administrarlo una vez al día. El ertapenem está indicado para el tratamiento de infecciones complicadas que no estén relacionadas con patógenos intrahospitalarios.

Doripenem es uno de los miembros más recientes de este grupo y ya se encuentra comercializado. Su espectro de acción es similar al del meropenem e imipenem, solo que posee mayor actividad *in vitro* frente a *P. aeruginosa*.

También podemos mencionar el panipenem y biapenem, que solamente están comercializados en Asia. El tebipenem es otro carbapenémico que está en fase II de ensayos clínicos en Japón.

PRINCIPIO ACTIVO	CARACTERÍSTICAS	AÑO LANZAMIENTO/ STATUS ACTUAL
Tienamicina	Natural, inestable, sintetizado por <i>Streptomyces cattleya</i>	No comercializado
Imipenem	Inestable a la DHP-I, se administra con cilastatina	1984
Meropenem	Estable frente a DHP-I, se administra solo	1995
Ertapenem	Mayor tiempo de vida media	2002
Doripenem	Más activo frente a <i>P. aeruginosa</i>	2008
Tebipenem	Vía oral	Fase II de ensayos clínicos (Japón)
Panipenem	Inestable a la DHP-I, se administra con betampron	Comercializado en Asia
Biapenem	Más estable a DHP-I que el imipenem	Comercializado en Asia
Faropenem	Sal sódica, administración oral	Comercializado en Asia

Tabla 2.1. Clasificación de antibióticos carbapenémicos según sus características y año de lanzamiento.

La mayoría de la información sobre el estado actual de los carbapenemos se ha obtenido de la publicación Bassetti, M. et al, 2009.

❖ Características químicas

Los carbapenemos son antibióticos β -lactámicos que difieren de las penicilinas (penamos) en que presentan un átomo de carbono en lugar de un azufre en posición C1 y una insaturación entre los carbonos C2 y C3 del anillo pentagonal.

Su amplio espectro de acción está asociado a su resistencia intrínseca a casi todas las betalactamasas. Esta estabilidad enzimática se debe a que en la posición C6 hay un grupo trans- α -1-hidroxietil, a diferencia de las penicilinas y cefalosporinas, que presentan sustituyentes en posición cis.

Los carbapenemos antiguos, como el imipenem y el panipenem, están sujetos a la degradación por la dihidropeptidasa 1 (DHP-I), enzima presente en los túbulos renales, y por ello requieren su coadministración con cilastatina (inhibidor de DHP-I) o betamprón (impide la llegada a los túbulos renales). El meropenem, ertapenem, biapenem y doripenem son estables a DHP-I porque presentan un grupo β -metil en posición C1.

Meropenem difiere del imipenem por la presencia de un grupo pirrolidinil en C2. Esto supone una mayor actividad del meropenem frente a las bacterias Gram negativas como *P. aeruginosa*. El ertapenem presenta un ácido benzoico en posición C2, lo que incrementa su peso molecular, lipofilia, y se ioniza negativamente a pH fisiológico. Estos cambios favorecen una mayor unión a proteínas plasmáticas y un tiempo de vida media mayor, pero también produce un paso más lento a través de las membranas bacterianas, por lo que su espectro es menor. El doripenem contiene un grupo sulfamoilaminoetil-pirrolidinil en la cadena de la posición C2, que mejora su actividad frente a bacterias Gram negativas no fermentables. El tebipenem es el único carbapenem oral, que tiene un grupo 1-(1,3-tiazolin-2-il)azetidín-3-tio en posición C2, siendo muy estable a la DHP-1, y mediante una esterasa intestinal se convierte en su metabolito activo que se absorbe a circulación.

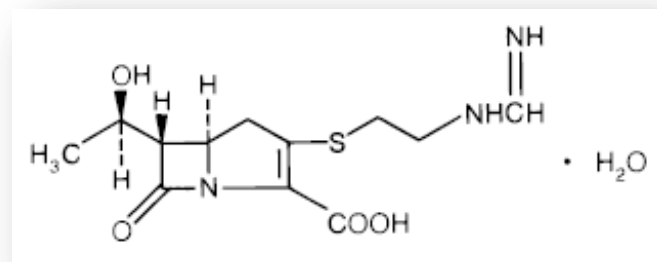


Fig. 2.3. Imipenem.

C. MEROPENEM

❖ Propiedades físico-químicas

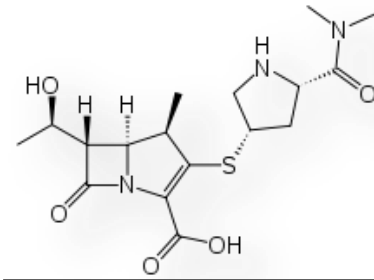


Fig. 2.4. Meropenem

- Fórmula química: $C_{17}H_{25}N_3O_5S$
- Nombre: Ácido (-)-(4R, 5S, 6S)-3-[[[(3S, 5S)-5-(dimetil-carbamoil)-3-pirrolidinil] tio]-6-[(1R)-1-hidroxietil]-4-metil-7-oxo-1-azabicyclo [3, 2,0] hept-2-eno-2-carboxílico.
- Peso molecular: 383,464 g/mol.
- Trihidrato: se comercializa hidratado por tres moléculas de agua, de forma que aumenta su estabilidad (1,14 gramos de meropenem trihidrato = 1 gramo de meropenem).
- β – lactámico semisintético del grupo de los carbapenemos.
- Pka: 2,9 y 7,4.
- K octanol/agua: $< 10^{-3}$ (pH = 3,0-9,0) (log K = -2,4).
- Polvo cristalino blanco – amarillento.
- Solubilidad: se ve aumentada gracias al Na_2CO_3 .
 - Bastante soluble en agua.
 - Muy poco soluble en alcohol.
 - Prácticamente insoluble en acetona y éter.
 - Soluble en dimetilformamida y en una solución al 5% de fosfato de potasio monobásico.
- pH (solución acuosa al 1,0%): 4,0 – 6,0.
- Se debe conservar a una temperatura no superior a 30,0°C.
- Estable a la DHP-I porque presenta un grupo β -metil en posición C1.
- Meropenem difiere del imipenem por la presencia de un grupo pirrolidinil en C2. Esto supone una mayor actividad del meropenem frente a las bacterias Gram negativas como *Pseudomonas aeruginosa*.
- Estabilidad
 - Poco estable en disolución.
 - Degradación a temperaturas elevadas y soluciones alcalinas (Méndez, A. et al, 2008).

❖ **Mecanismo de acción y espectro**

- Acción bactericida.
- Facilidad de penetración en la célula bacteriana.
- Afinidad por las “Penicillin Binding Proteins (PBPs)”.
- Estable a las β -lactamasas.
- Efecto post-antibiótico frente a bacterias Gram positivas y negativas.
- Acción sinérgica con otros antibióticos (vancomicina (*Kobayashi, K. et al, 2006; Kobayashi, Y. et al, 2005*), rifampicina, ciprofloxacino...)
- Amplio espectro de acción:
 - Aerobias Gram positivas.
 - Aerobias Gram negativas.
 - Anaerobias.

CATEGORÍA	DIÁMETRO DEL HALO DE INHIBICIÓN (mm)	PUNTO DE CORTE DE CMI (mg/l)
Sensible	≥ 14	≤ 4
Intermedia	12 – 13	8
Resistente	≤ 11	≥ 16

Tabla 2.2. Clasificación de la sensibilidad de microorganismos frente a meropenem.

El espectro antibacteriano *in vitro* de meropenem incluye a la mayoría de las cepas bacterianas clínicamente significativas Gram positivas, Gram negativas, aerobias y anaerobias. En esta ocasión, hemos tomado como referencia para realizar la siguiente tabla la publicación de *Zhanel, G.G., et al, 2007*.

Bacteria mg/l	Imipenem		Meropenem		Ertapenem		Doripenem	
	MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC ₅₀	MIC ₉₀
Bacterias Gram Positivo								
<i>Staphylococcus aureus</i> (MS)	≤ 0,5	≤ 0,5	0,12	0,12	0,12	0,25	0,06	0,06
<i>S. aureus</i> (MR)	32	32	16	32	8	32	16	16
<i>S. epidermidis</i>	0,016	0,016	0,12	0,12	0,25	0,25	0,03	0,06
<i>Streptococcus pyogenes</i>	≤ 0,008	≤ 0,008	≤ 0,008	≤ 0,008	≤ 0,008	≤ 0,008	≤ 0,008	≤ 0,008
<i>S. agalactiae</i>	0,016	0,016	0,03	0,06	0,03	0,06	0,016	0,016
<i>S. pneumoniae</i> (PS)	≤ 0,008	≤ 0,008	≤ 0,008	≤ 0,008	0,015	0,015	≤ 0,008	≤ 0,008
<i>S. pneumoniae</i> (PI)	0,06	0,12	0,12	0,5	0,25	1	0,12	0,25
<i>S. pneumoniae</i> (PR)	0,5	1	0,5	1	1	2	0,5	1
<i>Enterococcus faecalis</i>	1	4	8	16	8	16	4	8
<i>E. faecium</i>	> 8	> 8	> 16	> 16	> 16	> 16	> 16	> 16
<i>Listeria monocitogenes</i>	0,03	0,12	0,12	0,12	0,25	0,5	-	-
Bacterias Gram Negativo								
<i>Acinetobacter spp.</i>	0,25	0,25	0,25	1	4	> 8	0,25	1
<i>Citrobacter freundii</i>	1	1	≤ 0,015	0,03	≤ 0,015	≤ 0,015	0,03	0,03
<i>Enterobacter aerogenes</i>	2	2	0,03	0,06	≤ 0,015	0,06	0,06	0,12
<i>E. cloacae</i>	0,5	2	0,03	0,06	≤ 0,015	0,06	0,03	0,06
<i>Escherichia coli</i>	≤ 0,5	≤ 0,5	0,016	0,03	≤ 0,06	≤ 0,06	0,03	0,03
<i>E. coli</i> (ESBL)	≤ 0,5	≤ 0,5	0,03	0,06	≤ 0,06	0,25	0,03	0,06
<i>Haemophilus influenzae</i>	1	4	0,063	0,25	0,06	0,12	0,12	0,5

<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0,25	1	0,03	0,03	≤ 0,06	≤ 0,06	0,03	0,06
<i>K. pneumoniae</i> (ESBL)	0,5	1	0,03	0,12	≤ 0,06	0,5	0,06	0,12
<i>K. oxytoca</i>	0,25	0,5	0,03	0,03	≤ 0,015	≤ 0,015	0,03	0,06
<i>Moraxella catarrhalis</i>	0,06	0,12	≤ 0,008	≤ 0,008	0,008	0,008	0,016	0,03
<i>Morganella morganii</i>	4	4	0,06	0,12	≤ 0,015	0,03	0,25	0,5
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	-	0,016	-	-	0,008	0,03	-	-
<i>Proteus mirabilis</i>	1	2	0,06	0,06	≤ 0,06	≤ 0,06	0,12	0,25
<i>P. vulgaris</i>	2	4	0,125	0,12	0,16	0,25	0,25	0,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	> 8	0,5	16	> 8	> 8	0,5	8
<i>Salmonella spp.</i>	≤ 0,5	≤ 0,5	0,03	0,03	≤ 0,06	≤ 0,06	0,06	0,06
<i>Serratia marcescens</i>	1	2	0,06	0,06	0,03	0,12	0,12	0,25
<i>Shigella spp.</i>	≤ 0,5	≤ 0,5	0,03	0,03	≤ 0,06	≤ 0,06	0,03	0,06
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	> 8	> 8	> 16	> 16	> 8	> 8	> 16	> 16
Bacterias anaerobias								
<i>Bacteroides fragilis</i>	0,25	0,5	0,12	0,5	0,25	0,5	0,5	1
<i>B. fragilis</i> group	0,25	0,5	0,12	0,5	0,25	1	0,5	1
<i>Clostridium difficile</i>	2	4	2	4	4	4	1	2
<i>C. perfringens</i>	0,016	0,12	≤ 0,06	≤ 0,06	0,06	0,06	-	-
<i>Fusobacterium spp.</i>	0,12	1	0,03	0,12	0,03	1	0,03	-
<i>Lactobacillus spp.</i>	0,12	8	0,25	> 16	2	> 16	-	-
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	0,03	0,06	0,03	0,12	0,06	0,12	-	-
<i>Prevotella spp.</i>	0,03	0,5	0,12	0,25	0,25	4	0,12	0,25

Tabla 2.3. Concentraciones mínimas inhibitorias de bacterias Gram positivo, Gram negativo y anaerobias frente a meropenem, imipenem, doripenem y ertapenem. Datos recogidos de Zhanel, G.G. et al, 2007.

❖ Resistencias

Los carbapenemos muchas veces son conocidos por su actividad frente a bacterias Gram negativas, que son resistentes a otros antibióticos β -lactámicos (cefalosporinas de tercera generación...), y debido a su estabilidad frente a casi todas las β -lactamasas (AmpC β -lactamasas, β -lactamasas de amplio espectro (ESBL)...).

Microorganismo	Causa
<i>Enterococcus faecium</i>	Baja afinidad por sus PBP2a
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Metallo- β -proteasas específicas
<i>Staphylococcus aureus</i> meticilin resistente (SARM)	Baja afinidad a sus PBP2a
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (algunas cepas)	Modificación de membrana, eliminación activa

Tabla 2.4. Bacterias resistentes a Meropenem y causa de la resistencia.

- Posibles combinaciones que eviten resistencias:
 - Vancomicina: activa frente a SARM y *Enterococcus faecium*.
 - Tigeciclina: activa frente a SARM, *E. faecium* y *S. maltophilia*.
 - Linezolid: no activo frente a Gram negativos.

Una alternativa al meropenem es la **vancomicina**, ya que es activa frente a *Staphylococcus aureus* meticilin-resistentes, mientras que los β -lactámicos no son del todo efectivos, debido a las resistencias. El problema es que las Enterobacterias suelen ser resistentes a la vancomicina. Por este motivo, también se podrían emplear sistemas que combinaran meropenem y vancomicina, cubriendo todo el espectro. Hay estudios que demuestran una actividad sinérgica entre la vancomicina y el meropenem, de tal manera que se podrían implantar dos tipos de sistemas (Kobayashi, K. et al, 2006; Kobayashi, Y. et al, 2005).

❖ Datos farmacológicos

Los datos han sido recopilados, en su mayoría, de la ficha técnica Meronem® I.V. (500, 1000 mg) de AstraZeneca.

a) Indicaciones terapéuticas

Está indicado en adultos y niños para el tratamiento de las siguientes infecciones uni o polimicrobianas causadas por bacterias sensibles a meropenem:

- Neumonías graves.
- Infecciones del tracto urinario.
- Infecciones intra-abdominales.
- Infecciones ginecológicas.
- Infecciones de la piel y tejidos blandos.
- Meningitis.
- Septicemia.
- Tratamiento empírico de probables infecciones bacterianas en pacientes con neutropenia febril, en monoterapia o en asociación con agentes antivirales o antifúngicos.

Es eficaz en el tratamiento de infecciones polimicrobianas, sólo o en combinación con otros agentes antimicrobianos.

Se ha empleado de forma efectiva en pacientes con fibrosis quística e infecciones crónicas del tracto respiratorio inferior, tanto en monoterapia como en combinación con otros agentes antibacterianos.

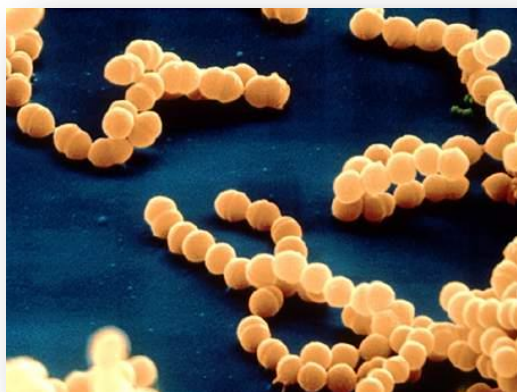


Fig. 2.5. Imagen de bacterias meningocócicas.

b) Reacciones adversas

Meropenem es generalmente bien tolerado. Las reacciones adversas raramente provocan la interrupción del tratamiento. Las reacciones adversas graves son infrecuentes. La mayoría de las siguientes reacciones adversas se comunicaron en menos del 1,0% de los pacientes tratados:

FRECUENCIA	SISTEMA ORGÁNICO	REACCIONES ADVERSAS
Frecuentes ($\geq 1/100$ a $< 1/10$)	Trastornos de la sangre y sistema linfático	Trombocitemia
	Trastornos gastrointestinales	Náuseas, vómitos, diarrea
	Trastornos hepatobiliares	Aumento de los niveles séricos de transaminasas, bilirrubina, fosfatasa alcalina y deshidrogenasa láctica
	Trastornos generales y alteraciones en el lugar de administración	Inflamación, tromboflebitis, dolor
Poco frecuentes ($\geq 1/1000$ a $< 1/100$)	Trastornos de la sangre y sistema linfático	Eosinofilia, trombocitopenia
	Trastornos del sistema nervioso	Cefalea, parestesias
	Trastornos de la piel y tejido subcutáneo	Erupción, urticaria, prurito
Raras ($\geq 1/10000$ a $< 1/1000$)	Trastornos de la sangre y sistema linfático	Leucopenia, neutropenia, agranulocitosis
	Trastornos del sistema nervioso	Convulsiones (sin relación causal)
	Trastornos generales y alteraciones en el lugar de administración	Candidiasis oral y vaginal
Muy raras ($< 1/10000$)	Trastornos de la sangre y sistema linfático	Anemia hemolítica
	Trastornos del sistema inmunológico	Angioedema, manifestaciones de anafilaxia
	Trastornos gastrointestinales	Colitis pseudomembranosa
	Trastornos de la piel y tejido subcutáneo	Eritema multiforme, Síndrome de Stevens-Johnson, necrólisis epidérmica tóxica

Tabla 2.5. Reacciones adversas descritas del meropenem según su ficha técnica.

c) Contraindicaciones

Está contraindicado en pacientes que hayan presentado hipersensibilidad a este fármaco.

d) Posología I.V.Adultos

La posología y la duración de la terapia se establecerán según el tipo, gravedad de la infección y estado del paciente.

La dosis diaria recomendada es la siguiente:

- Tratamiento de infecciones del tracto urinario, infecciones ginecológicas e infecciones de la piel y tejidos blandos: 500 mg I.V. cada 8,0 horas.
- Tratamiento de neumonías graves, infecciones intra-abdominales, probables infecciones en pacientes neutropénicos y septicemia: 1 g I.V. cada 8 horas.
- Meningitis y fibrosis quística: 2 g cada 8,0 horas.

Adultos con alteración renal

En pacientes con aclaramiento de creatinina inferior a 51 ml/min, la dosis debe ser reducida tal y como se indica a continuación:

Aclaramiento de creatinina (ml/min)	Dosis (basada en una unidad de dosis de 500mg, 1g, 2g)	Frecuencia
26 – 50	1 unidad de dosis	Cada 12,0 horas
10 – 25	Mitad de una unidad de dosis	Cada 12,0 horas
< 10	Mitad de una unidad de dosis	Cada 24,0 horas

Tabla 2.6. Dosis indicada de meropenem según el aclaramiento renal de creatinina.

Meropenem se elimina por hemodiálisis; por tanto, si fuera necesario un tratamiento continuado se recomienda que la unidad de dosis (basada en el tipo y gravedad de la infección) se administre al finalizar el proceso de hemodiálisis para restaurar las concentraciones plasmáticas terapéuticamente eficaces.

Adultos con insuficiencia hepática

No es necesario el ajuste de dosis en pacientes con insuficiencia hepática.

Geriatría

No se requiere ajuste de dosis en ancianos con función renal normal o con valores de aclaramiento de creatinina superiores a 50 ml/min.

Pediatría

Para niños mayores de 3 meses y hasta 12 años de edad, se recomienda una dosis I.V. de 10 – 20 mg/kg cada 8,0 horas, dependiendo del tipo y gravedad de la infección, susceptibilidad del (de los) patógeno/s y el estado del paciente. En niños con un peso superior a 50 kg se debe utilizar dosis de adultos.

En meningitis y fibrosis quística, la dosis recomendada es 40 mg/kg cada 8,0 horas.

En pacientes con neutropenia febril se recomienda una dosis de 20 mg/kg cada 8,0 horas.

No hay experiencia en niños con insuficiencia renal.

e) Embarazo y lactancia

Embarazo

No se ha establecido la seguridad del meropenem durante el embarazo en humanos, aunque los estudios en animales no han mostrado un efecto adverso sobre el feto en desarrollo. No debe administrarse durante el embarazo a menos que el posible beneficio justifique el riesgo potencial para el feto.

Lactancia

Meropenem se detecta a concentraciones muy bajas en leche materna en animales. No debe ser administrado durante la lactancia, a menos que el posible beneficio justifique el riesgo potencial para el niño.

f) Interacciones

- Meropenem + Ácido valproico: meropenem puede reducir los niveles séricos de ácido valproico, por lo que pueden aparecer convulsiones en los pacientes que toman ambos fármacos (Mori, H. et al, 2007).
- Meropenem + Probenecid: probenecid compite con meropenem en la secreción tubular activa y, por tanto, inhibe la excreción renal de éste, con el consiguiente aumento de la vida media de eliminación y concentración plasmática del meropenem. Dado que la potencia y duración de acción del meropenem administrado sin probenecid, son adecuadas, no se recomienda la administración combinada de ambos fármacos
- Meropenem + Contrastes yodados: los contrastes yodados administrados intratecalmente pueden producir ataques epilépticos. Estos ataques pueden verse aumentados si se administra el contraste junto con un fármaco que disminuya el umbral epiléptico, como meropenem, inhibidores de la recaptación de serotonina (IRSS), ATC...
- Meropenem + Fosfatos de sodio: el riesgo de ataques epilépticos inducidos por fármacos que contienen fosfato sódico (utilizados contra el estreñimiento) puede verse incrementado por fármacos que disminuyen el umbral de los ataques, como meropenem, IRSS...
- Meropenem + Tramadol: el riesgo de ataques epilépticos puede verse aumentado durante la coadministración de tramadol con cualquier sustancia que reduzca el umbral de las convulsiones, como el meropenem, IRSS, IMAO, opioides, ATC...

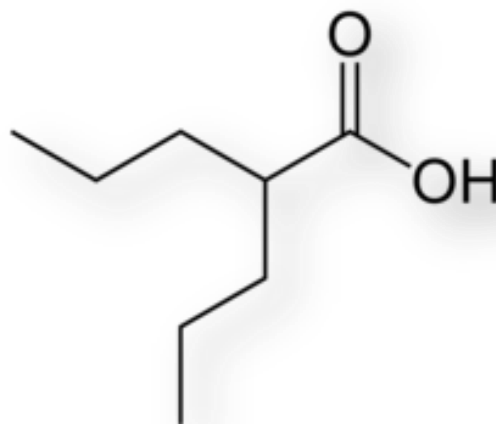


Fig. 2.6. Ácido Valproico: principio activo antiparkinsoniano que interacciona con meropenem.

❖ **Propiedades farmacocinéticas****Absorción**

- Administración intravenosa (en bolus, infusión): es la única comercializada.
- Administración intramuscular: en investigación, biodisponibilidad del 97,0% (*Romanelli, G. et al 1995*).
- Administración oral: meropenem no se absorbe vía oral.

Distribución

- Unión a Proteínas Plasmáticas: aproximadamente del 2,0%.
- Volumen de distribución: 0,25 l/kg (predomina la distribución extracelular).
- Tejidos: penetra de forma adecuada en la mayoría de los fluidos y tejidos corporales; incluyendo el líquido cefalorraquídeo de pacientes con meningitis bacteriana.

Metabolismo y Eliminación

- Eliminación renal: 70,0% inalterado, 30,0% en forma de metabolito.
- Tiempo de vida media: 1,0 hora (normalmente debe administrarse tres veces al día).
- No se metaboliza por la dihidropeptidasa por lo que no necesita administrarse con cilastatina.

Principio activo	Dosis IV (g)	C _{max} (mg/l)	AUC (mgxh/l)	t _{1/2} (h)	Vd (l/kg)	Unión a Proteínas (%)	Excreción inalterada (%)	Intervalo de administración
Imipenem	0,5	21 – 58	42,2	1,0	0,23 – 0,31	20,0	60,0 – 70,0	3 – 4 veces/día
	1,0	41 – 83	186,0	1,0	0,23 – 0,31	20,0	60,0 – 70,0	3 – 4 veces/día
Meropenem	0,5	23,0	27,2 – 32,4	1,0	0,23 – 0,35	2,0	70,0	3 – 4 veces/día
	1,0	49,0	66,9 – 77,5	1,0	0,23 – 0,35	2,0	70,0	3 – 4 veces/día
Ertapenem	1,0	155,0	572,1	3,8	8,20	92,0 – 95,0	44,0	1 vez/día
Doripenem	0,5	23,0	36,0	0,9	0,24	9,0	75,0	3 – 4 veces/día
Panipenem	0,5	23,0	39,4	1,2	0,32	5,0	29,0	2 veces/día
Biapenem	0,3	17,0	29,2	1,0	0,25	-	63,0	3 veces/día

Tabla 2.7. Farmacocinética de imipenem, meropenem, ertapenem, doripenem, panipenem y biapenem.

❖ Farmacotecnia

La forma farmacéutica comercializada es polvo estéril de color blanco para la solución inyectable. En España, existen las siguientes **presentaciones** de meropenem:

- Meropenem I.V. 500 mg de polvo para solución inyectable: contiene 570 mg de meropenem trihidrato, equivalente a 500 mg de meropenem anhidro.
- Meropenem I.V. 1000 mg de polvo para solución inyectable: contiene 1140 mg de meropenem trihidrato, equivalente a 1000 mg de meropenem anhidro.

El **excipiente** empleado en las presentaciones comercializadas es:

- Carbonato sódico: se presenta unido a esta base para facilitar su solubilidad. Contiene un total de 208 mg de carbonato sódico por cada gramo de meropenem anhidro.

Las formulaciones de meropenem presentan las siguientes **incompatibilidades**:

- Son compatibles con gran cantidad de soluciones para perfusión, que se mostrarán más adelante.
- No debe ser mezclado ni incorporado a soluciones que contengan otros fármacos.

Reconstitución:

- Para administrar meropenem por inyección en bolus, debe reconstituirse con agua estéril para inyección (10 ml por cada 500 mg) proporcionándose una concentración aproximada de 50 mg/ml. La solución es clara o amarillo pálido. Agitar la solución reconstituida antes de administrar.
- Para administrar meropenem por infusión intravenosa, los viales pueden ser reconstituidos con un fluido compatible para la infusión (se muestran a continuación) y diluir adicionalmente con dicho fluido compatible para infusión.

Soluciones en las que se reconstituye:

- Viales reconstituidos con agua para inyección para inyección en bolus.
- Bolsas de infusión (1,00 – 20,00 mg/ml) preparadas con:
 - o NaCl 0,9%.
 - o Glucosa 5,0% y 10,0%.
 - o Glucosa 5,0% y NaCl 0,9%.
 - o Glucosa 5,0% y NaCl 0,2%.
 - o Glucosa 5,0% y KCl 0,15%.
 - o Glucosa 5,0% y bicarbonato sódico 0,02%.
 - o Glucosa 5,0% en lactato de Ringer
 - o Glucosa 5,0% y NaCl 0,18%
 - o Glucosa 5,0% en Normosol-M.
 - o Glucosa 2,5% y NaCl 0,45%.
 - o Manitol 2,5% y 10,0%.
 - o Inyección de Ringer.
 - o Inyección de lactato de Ringer.
 - o Inyección de bicarbonato sódico 5,0%.
 - o Dextrano 70 6% en NaCl 0,9%.
 - o Dextrano 70 6% en NaCl 5,0%.

Administración: se administra por inyección intravenosa en bolus durante aproximadamente 5,0 minutos o por infusión intravenosa durante aproximadamente 15,0 a 30,0 minutos.

Envase: viales de 20 ml (500 mg de meropenem) o 30 ml (1000 mg de meropenem) de vidrio Tipo I, cerrado con un tapón de goma de halobutilo de color gris y sellado con una cápsula de aluminio.

Estabilidad:

- Periodo de validez: 4 años.
- El polvo seco no debe conservarse a una temperatura superior a 30,0°C.
- Si el polvo está reconstituido el tiempo de estabilidad disminuye. A una temperatura de 15,0 – 25,0°C la estabilidad oscila entre 2,0 y 10,0 horas (dependiendo del medio de reconstitución) y a una temperatura de 4,0°C la estabilidad oscila entre 8,0 y 48,0 horas (dependiendo del medio de reconstitución).

❖ Mercado de meropenem (IMS)

PAIS	Unidades 2011 (x1000)	Unidades 2012 (x1000)	Unidades 2013 (x1000)	Euros 2011 (x1000)	Euros 2012 (x1000)	Euros 2013 (x1000)
MEROPENEM TOTAL	54.842	62.807	72.783	866.065	877.170	854.736
China	13.564	14.695	16.583	124.596	144.546	162.620
Japón	1.197	1.274	1.315	125.747	129.136	99.420
Estados Unidos	494	704	618	88.015	92.680	71.437
Reino Unido	317	342	361	46.255	54.494	57.010
Italia	3.480	3.916	4.492	54.882	50.246	51.977
India	2.559	3.819	4.869	35.960	43.382	44.561
Alemania	5.093	6.022	7.156	35.984	36.297	41.674
Tailandia	706	891	1.323	26.607	32.374	38.370
Rusia	482	659	813	32.387	35.311	31.159
Indonesia	977	1.150	1.348	22.676	28.320	27.215
España	1.860	1.690	2.274	41.139	21.453	23.911
Hospira	0	663	1.205	0	5.856	10.741
Vial 1g	0	600	1.117	0	5.523	10.275
Vial 500mg	0	63	88	0	333	466
Astrazeneca	1.758	758	500	39.702	11.799	6.752
Vial 1g	1.564	670	450	37.044	11.018	6.402
Vial 500mg	195	87	49	2.657	780	350
Fresenius Kabi	0	0	390	0	0	4.032
Vial 1g	0	0	354	0	0	3.842
Vial 500mg	0	0	35	0	0	190
Sandoz	102	269	139	1.437	3.798	1.971
Vial 1g	100	265	138	1.425	3.770	1.966
Vial 500mg	1	4	1	12	27	5
Kern Pharma	0	0	34	0	0	313
Vial 1g	0	0	34	0	0	313
Combino Pharm	0	0	7	0	0	101
Vial 1g	0	0	7	0	0	101
Corea del Sur	2.634	2.982	2.935	24.293	22.933	20.859
Filipinas	469	526	606	13.882	17.071	18.873
Austria	43	45	66	11.775	11.398	17.299
Vietnam	147	312	615	5.544	10.633	15.541
Sudáfrica	739	787	808	19.992	18.028	13.356
Canada	761	724	807	22.249	17.293	12.624
Turquía	1.523	1.645	2.402	10.852	9.599	11.905
Taiwan	646	724	873	8.815	9.399	11.105
Bélgica	581	587	601	10.138	7.443	6.623
Francia	96	174	226	4.943	5.646	6.396
Polonia	43	44	50	8.159	6.560	5.356
Suiza	16	16	16	5.429	5.594	5.323
Irlanda	14	17	21	4.059	4.272	4.477
Arabia Saudí	17	20	22	2.858	3.881	4.354
Pakistan	212	349	495	1.824	3.120	3.971
Australia	13.290	13.947	16.814	16.588	5.082	3.949
Venezuela	44	66	113	1.715	3.082	3.805
Finlandia	26	26	31	6.365	1.644	3.537
Malasia	50	46	27	5.349	4.877	3.104

Portugal	600	642	627	4.607	4.151	2.897
Rep. Checa	23	23	19	5.354	3.530	2.725
Suecia	35	38	39	7.505	5.475	2.716
Hong Kong	20	29	31	2.423	3.025	2.534
Hungría	9	11	13	2.268	2.134	2.109
Singapur	16	20	21	3.725	3.584	2.018
Croacia	13	14	15	1.996	1.899	1.922
Rumania	18	37	54	3.236	2.504	1.849
Emiratos Árabes	33	44	57	927	1.367	1.663
Méjico	37	39	41	1.447	1.652	1.642
Puerto Rico	4	8	9	1.586	2.195	1.459
Bangladesh	66	95	136	506	695	1.096
Noruega	16	18	19	1.790	1.087	968
América central	22	8	11	872	827	938
Uruguay	37	70	67	663	1.044	844
Bulgaria	53	53	61	1.310	1.092	768
Egipto	51	56	76	594	677	762
Nueva Zelanda	1.658	3.332	2.715	2.070	910	722
Ecuador	2	4	5	319	377	544
Eslovaquia	9	11	12	797	422	439
Sri Lanka	11	10	17	381	324	410
Grecia	2	3	3	292	283	290
Argentina	6	9	14	144	219	269
Holanda	1	1	1	183	294	266
Lituania	3	17	31	94	127	228
Líbano	1	1	1	127	143	199
Kuwait	0	0	1	70	113	171
Brasil	1	1	1	324	190	163
Rep. Dominicana	10	6	4	342	183	140
Eslovenia	4	4	1	966	783	86
África francesa	0	1	2	0	12	40
Peru	0	1	2	18	19	22
Colombia	1	0	0	41	22	16
Chile	0	0	0	3	8	6
Letonia	0	0	0	0	0	3
Luxemburgo	0	0	0	6	3	2
Jordania	0	0	0	3	7	0

Tabla 2.8. Mercado mundial de meropenem en unidades y valores entre 2011 y 2013, según IMS.

En los últimos años se han vendido entre 54,8 millones (2011) y 72,8 millones (2013) de unidades de meropenem en el mundo. Cada año se ha incrementado entre un 12,0% y un 13,0% el número de unidades vendidas con respecto al año anterior.

En valores, se han generado anualmente (entre 2011 y 2013) más de 850 millones de euros. Este valor ha permanecido bastante estable entre 2011 y 2013, aunque cada año se haya aumentado el número de unidades vendidas. Esto quiere decir que el precio de cada unidad de meropenem ha ido bajando anualmente, desde 15,8 € en 2011 hasta 11,7 € en 2013.

En 2011, Astrazéneca tenía el 24,6% de cuota de mercado, que ha caído hasta el 6,7% en el año 2013. Entre 2011 y 2013 Hospira ha crecido desde el 0,5% al 4,1% de cuota de mercado, y Fresenius-Kabi del 0,8% al 4,7%.

El país donde más unidades de meropenem se venden es China, un 22,0-24,0% de las ventas en el mundo son en este país. Australia presenta valores similares de unidades vendidas, incluso en 2013, se han vendido más en el país de Oceanía que en el país asiático. Les siguen en el ranking Alemania, India, Italia, Corea del Sur, Nueva Zelanda, Turquía y España.

Existen grandes diferencias de precio por unidad entre los diferentes países. Entre 2011 y 2013, Suiza ha tenido un precio medio por unidad de unos 340 €; mientras que Australia y Nueva Zelanda han tenido un precio medio por unidad inferior a 1 €.

Las presentaciones más comunes son vial polvo de 1.000 mg y vial polvo de 500 mg. No obstante, hay países con presentaciones diferentes de 250 mg o 2.000 mg.

En España se han vendido entre 1,8 millones (2011) y 2,2 millones (2013) de unidades de meropenem. En 2012 disminuyeron las unidades vendidas en un 10,0% con respecto al año anterior, sin embargo en 2013 se incrementaron en un 25,0%.

En valores, han ido disminuyendo en los últimos años, se vendieron unidades por un valor de unos 41 millones de euros en 2011 y no llegaron a 24 millones de euros en 2013. El precio medio por unidad también ha disminuido, desde 22,1 € en 2011 a 10,5 € en 2013.

En 2011 Astrazeneca tenía una cuota de mercado del 94,5%, que ha disminuido hasta el 22,0% en 2013. En cambio Hospira ha crecido en esos años desde el 0,0% al 53,0% de cuota de mercado.

En España solo existen dos presentaciones, de 1.000 mg y de 500 mg. La presentación de 1.000 mg supone aproximadamente un 90% del mercado en unidades y un 95,0% del mercado en valores. El precio medio de la presentación de 1.000 mg ha descendido desde 23,1 € en 2011 a 10,9 € en 2013, mientras que el precio medio de la presentación de 500 mg ha descendido desde 13,6 € en 2011 a 5,8 € en 2013.

En líneas generales, el meropenem presenta un mercado creciente en unidades y decreciente en valores, por disminución del precio por unidad.

2.2. ÁCIDO POLILÁCTICO-CO-GLICÓLICO (PLGA)

A. POLÍMEROS

Para poder comprender el mecanismo de funcionamiento del PLGA, primero hay que hacer una breve introducción al concepto de polímero:

❖ **Definiciones**

Se definen como macromoléculas formadas por unidades constitucionales que se repiten de una manera más o menos ordenada.

Los copolímeros son polímeros constituidos por dos o más unidades repetitivas de monómeros.

El proceso químico por el cual ciertas moléculas de pequeño tamaño (monómeros) pueden reaccionar entre sí para dar una molécula de gran tamaño (macromolécula) con una constitución más o menos repetitiva (polímero), se conoce con el nombre de polimerización. La molécula de polímero se genera por reacción entre dos grupos funcionales que son reactivamente complementarios. Estas dos funciones pueden encontrarse en una misma molécula o en dos moléculas distintas.

❖ **Clasificación**

Esta clasificación nos permite ubicar al PLGA en el amplio grupo que constituyen los polímeros:

a) **Según su origen**

- Polímeros naturales: Son los que se pueden presentar en la naturaleza (reino vegetal y animal). Ejemplos: celulosa, caucho natural, resinas...
- Polímeros semisintéticos: Son los obtenidos por la transformación química de los polímeros naturales, sin que se destruya de modo apreciable su naturaleza macromolecular. Ejemplo: el ácido poliláctico-co-glicólico obtenido a partir de ácidos láctico y glicólico.
- Polímeros sintéticos: Son los que se obtienen por vía puramente sintética a partir de sustancias de bajo peso molecular. Ejemplo: nylon.

b) Según la estructura molecular

- Polímeros lineales: La molécula está constituida por una cadena de la que sólo cuelgan los grupos laterales, los cuales ya estaban presentes en el monómero. Ejemplo: ácido poliláctico-co-glicólico.
- Polímeros ramificados: Existen cadenas más o menos largas, en mayor o menor frecuencia, que emergen de manera aleatoria de la cadena principal. La constitución química de la rama es idéntica a la de la cadena principal.
- Polímeros peine: Constituyen un caso intermedio entre polímeros lineales y ramificados. Contienen ramas de similar longitud, dispuestas con alta frecuencia y regularidad a lo largo de la cadena principal. Por lo general cuelga una rama de cada unidad constitucional repetitiva. La constitución química de la rama es por lo general diferente a la de la cadena principal. En los polímeros estrella, las diferentes ramas irradian desde un origen común.
- Polímeros entrecruzados: Son polímeros ramificados en los que las ramas entrelazan las cadenas unas con otras, de manera que todo el conjunto puede concebirse como una sola macromolécula de tamaño limitado. Los polímeros escalera son unos polímeros entrecruzados constituidos por una sucesión regular de ciclos. Los polímeros semiescalera son un caso particular en el que las unidades cíclicas alternan con segmentos lineales.

c) Según las reacciones de formación

- Polímeros de adición: Son polímeros cuyas macromoléculas se han formado por unión de moléculas monómeras no saturadas. Ej.: ácido poliláctico-co-glicólico.
- Polímeros de condensación: Son polímeros cuyo enlace entre las macromoléculas son multifuncionales, con separación de algún producto de bajo peso molecular. Ej.: nylon, las proteínas.
- Polímeros poliaductos: Son aquellos cuyo enlace entre las macromoléculas son multifuncionales, sin separación de moléculas sencillas. Ej.: poliuretanos y resinas.

d) Según sus propiedades físicas

- Termoestables: Son polímeros que no se pueden fundir a través de un proceso de calentamiento simple, puesto que su masa es tan dura que necesita temperaturas muy elevadas para presentar algún tipo de destrucción.
- Elastómeros: Son polímeros que aunque pueden ser deformados, una vez que desaparece el agente que causó la pérdida de su forma pueden retornar a ella.
- Termoplásticos: Este es un tipo de polímeros que tienen facilidad para ser fundidos, y por lo tanto pueden ser moldeados. Si tienen una estructura regular y organizada, pertenecen a la subdivisión de los cristalinos, pero si su estructura es desorganizada e irregular, se consideran amorfos. Ejemplo: ácido poliláctico-co-glicólico.

e) Según su degradación

- Biodegradables: ácido poliláctico-co-glicólico.
- No biodegradables: polimetilmetacrilato.

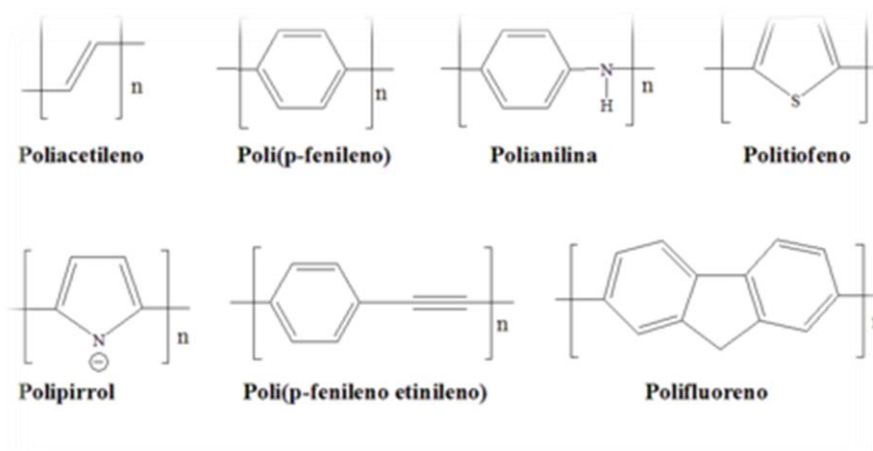


Fig. 2.7. Estructura química de algunos monómeros.

B. ÁCIDO POLILÁCTICO-CO-GLICÓLICO

Con el nombre de PLGA nos referimos a una amplia variedad de polímeros semisintéticos que contienen unidades de:

- Ácido láctico (ácido α -hidroxipropiónico).
- Ácido glicólico (ácido α -hidroxiacético).

Los distintos tipos de PLGA difieren en:

- La proporción de cada uno de los ácidos.
- El peso molecular del polímero.
- La viscosidad.
- Otras características: hidrofilia,...

El uso de estos polímeros se debe a sus propiedades:

- Biocompatibles: capacidad de un material para comportarse con una respuesta apropiada en una aplicación específica.
- Biodegradables: capacidad de degradarse en el cuerpo humano, por lo que desaparece la necesidad de retirarlos.

Las aplicaciones de estos polímeros son principalmente:

- Implantes ortopédicos.
- Suturas.
- Sistemas de liberación controlada.
- Productos cardiovasculares.
- Estructuras para la regeneración de tejidos.

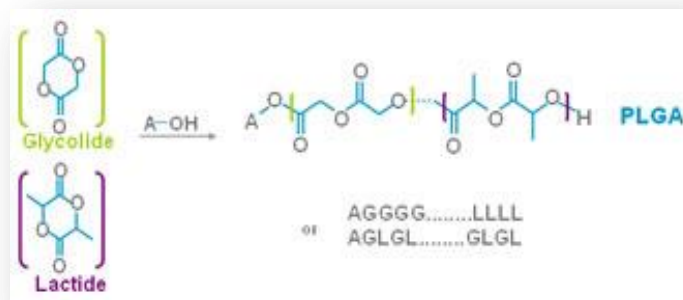


Fig. 2.8. Proceso de síntesis del PLGA a partir de sus monómeros.

C. BIODEGRADACIÓN

La principal propiedad que permite que los polímeros puedan competir con otros materiales como el vidrio y los metales es su resistencia química, física y mecánica. Por este motivo las investigaciones en este campo han ido creciendo, y se han utilizado materiales poliméricos en multitud de aplicaciones médicas. El principal problema es que estos polímeros se acumulaban en el cuerpo humano y había que retirarlos, por lo que se empezaron a diseñar polímeros biodegradables. Esta degradación puede ser por efecto de la temperatura (degradación térmica), debido al contacto con el agua (degradación hidrolítica), o por efectos medioambientales como la luz solar (fotodegradación) o los microorganismos (biodegradación).

Los polímeros y copolímeros de ácido láctico y glicólico se degradan por una simple hidrólisis. Cuando están expuestos al medio acuoso, como puede suceder en fluidos corporales o tejidos, el agua es absorbida y reacciona con los grupos éster que unen los monómeros. Por cada éster hidrolizado se forma un grupo carboxílico y un grupo hidroxilo.

Los enlaces éster son hidrolizados aleatoriamente a lo largo de la cadena del polímero, por lo que inicialmente se forman muy pocos fragmentos solubles en agua. Entonces largas cadenas de polímero pasan a formar cortas cadenas de polímero. En este inicio de degradación, la disminución del peso molecular de las cadenas produce un incremento de la hidrofilia, pero hay pocos cambios en las propiedades físicas del polímero.

A medida que se va degradando más, la reducción del peso molecular acaba favoreciendo un cambio en las propiedades físicas del polímero, así como la aparición de fragmentos solubles en medio acuoso. Estos fragmentos solubles difunden lejos del polímero y son hidrolizados a ácido láctico y glicólico, que finalmente van a las rutas metabólicas del cuerpo humano.

El grado de hidrólisis depende de factores como el tamaño del implante polimérico, hidrofilia, la proporción de monómeros, el grado de cristalinidad, el pH y la temperatura del medio que rodea al implante... En general, el tiempo de degradación será menor para aquellos polímeros con bajo peso molecular, gran hidrofilia, amorfos, con alta proporción en ácido glicólico...

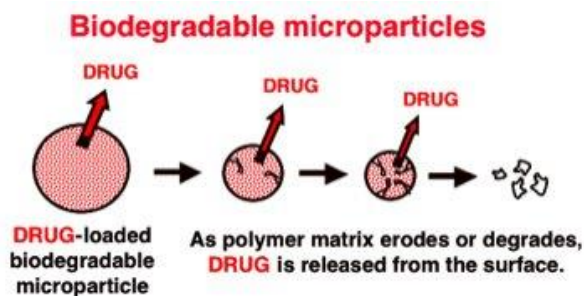


Fig. 2.9. Biodegradación de micropartículas para liberar principios activos.

D. PESO MOLECULAR

Los polímeros sintéticos como PLGA son mezclas de moléculas de diferentes pesos moleculares, formados por la combinación de diferentes cantidades de monómeros en cada una de las cadenas. La longitud de las cadenas es controlada durante el proceso de polimerización por adición de moderadores. Por eso, una muestra de polímero no puede ser caracterizada por un simple peso molecular, sino que tiene que hacerse una distribución del peso molecular.

La viscosidad inherente (I.V.) se calcula mediante un método viscosimétrico y sirve para medir el tamaño molecular. Está basado en el tiempo que tarda un flujo de solución de polímero en pasar por un capilar estrecho, comparado con el tiempo que tarda la solución sin polímero en pasar. Las unidades son dl/g. Es un método muy reproducible entre laboratorios.

La cromatografía de exclusión (Gel Permeation Chromatography) es un método cromatográfico que sirve para medir el tamaño molecular. El tamaño molecular puede ser expresado en MW (Molecular Weight), obtenido a partir de la calibración con un polímero estándar como poliestireno. Es un método poco reproducible entre laboratorios.

Se pueden establecer correlaciones entre I.V. y MW.

E. TEMPERATURA DE TRANSICIÓN VÍTREA

La temperatura de transición vítrea (Tg) es la temperatura a la que se produce una pseudotransición termodinámica en materiales vítreos como los vidrios, polímeros y otros materiales inorgánicos.

Conocida como Tg, es el punto en el que un plástico se vuelve semilíquido. Por encima de ésta, el material está fundido y antes de ella presenta rigidez, semejante al vidrio. Se entiende que es un punto intermedio de temperatura entre el estado fundido y el estado rígido del material. A temperaturas por encima de la Tg, los enlaces secundarios de las moléculas son mucho más débiles que el movimiento térmico de las mismas, por ello el polímero se vuelve ahulado y adquiere cierta elasticidad y capacidad de deformación plástica sin fractura. Este comportamiento es específico de polímeros termoplásticos y no ocurre en polímeros termoestables.

Todos los polímeros termoplásticos presentan una Tg, ya sean estos amorfos o semicristalinos. Los polímeros amorfos, al calentarse, presentan solamente una transición, la Tg. Los polímeros semicristalinos presentan dos, la Tg y la temperatura de fusión de los cristales Tm.

F. AMORFOS VS CRISTALINOS

Los sólidos se pueden clasificar, atendiendo al arreglo interno de sus partículas, en dos grupos:

- **Amorfos:** sus átomos no tienen orden de largo alcance y sus propiedades físicas son isotrópicas y no tienen un punto de fusión definido.
- **Cristalinos:** Los iones, átomos o moléculas que lo componen tienen un orden de largo alcance y forman una red cristalina. Sus propiedades físicas son anisotrópicas y tienen un punto de fusión.

Realmente no existe ningún sólido que sea 100% cristalino, así como ninguno que sea totalmente amorfo; siempre hay una mezcla. No obstante, algunos sólidos presentan una proporción mucho mayor de una de las dos estructuras, por ello les denominamos amorfos o cristalinos.

Cuando hablamos de polímeros, se suele emplear el término **tacticidad**. La tacticidad se refiere al arreglo estequiométrico en centros quirales de la macromolécula. En la estereoquímica de moléculas no poliméricas, el enlace de moléculas en centros quirales no cambia significativamente las propiedades físicas de la molécula. Sin embargo, en los polímeros, la forma en la que se unen estos átomos (tacticidad) produce cambios físicos tan importantes que pueden considerarse las diferencias en tacticidades como polímeros completamente diferentes. Principalmente influye en propiedades como: rigidez, cristalinidad, flexibilidad, desorden. De esta manera, podemos diferenciar tres tipos de tacticidades:

- **Atáctico:** en los polímeros atácticos, los sustituyentes se encuentran distribuidos de manera aleatoria a lo largo de la cadena de la macromolécula. Los polímeros formados por reacciones de radicales libres generan normalmente productos atácticos, son amorfos debido a que la formación de un cristal requiere orden.
- **Isotácticos:** los sustituyentes de la cadena principal están enlazados a un carbono quiral en la misma posición, está constituido por lo tanto 100% de compuestos meso. Esta característica favorece la organización de las cadenas en hélices que es la condición principal para formar cristales.
- **Sindiotáctico:** los polímeros sindiotácticos poseen también un orden constante en los sustituyentes, sin embargo, estos se encuentran enlazados de forma alternante en el carbono quiral de la cadena principal del polímero.

Los polímeros que son más amorfos, van a tener diferentes propiedades físico – químicas que los polímeros que son más cristalinos:

- Degradación: los polímeros amorfos se van a degradar antes que los cristalinos. El hecho de tener una estructura más compacta y ordenada (sólidos cristalinos) hace que sea más difícil su ruptura, ya que hay mayor presencia de enlaces y fuerzas intermoleculares.
- Solubilidad: un sólido amorfo se disuelve con mayor velocidad que el mismo sólido pero con estructura cristalina. La razón por la que esto sucede es la misma, ya que el medio de disolución tiene que romper más enlaces intermoleculares en un cristal que en un sólido amorfo.
- Temperatura de fusión: los sólidos amorfos no tienen una temperatura de fusión definida, sino un intervalo, mientras que los sólidos cristalinos si la tienen.

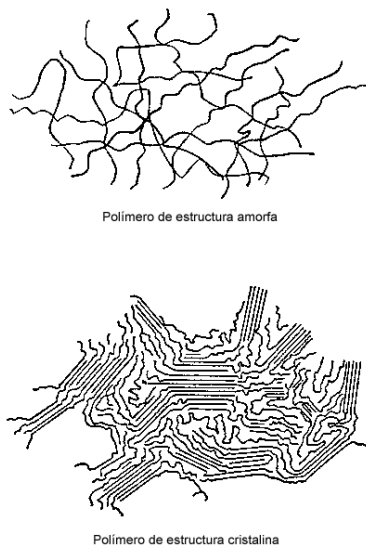


Fig. 2.10. Polímero de estructura amorfa y polímero de estructura cristalina.

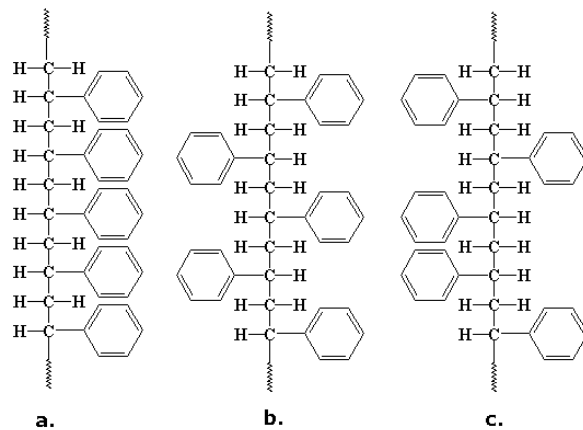


Fig. 2.11. Ejemplos de estructuras químicas de polímero isotáctico (a), sindiotáctico (b) y atáctico (c).

G. HIDROFÍLICO VS HIDROFÓBICO

- **Hidrofílico:** proviene de la palabra griega *hydros* (agua) y *philia* (amistad); es el comportamiento de toda molécula que tiene afinidad por el agua. En una disolución o coloide, las partículas hidrófilas tienden a acercarse y mantener contacto con el agua. Las moléculas hidrófilas son a su vez lipófilas, es decir, no tienen afinidad por los lípidos o grasas y no se mezclan con ellas.
- **Hidrofóbico:** El término hidrofobia proviene del griego, donde se combinan las palabras *hydrós* (agua), y *fobos* (horror). En el contexto fisicoquímico, el término se aplica a aquellas sustancias que son repelidas por el agua o que no se pueden mezclar con ella. Estas sustancias serán a su vez lipofílicas, por lo que tienen afinidad por los lípidos o grasas.

Existen polímeros comercializados de PLGA que son más hidrofílicos que otros. Los hidrofílicos tendrán una mayor velocidad de degradación y disolución en un medio acuoso como el cuerpo humano.

Los PLGA hidrofílicos se relacionan directamente con aquellos que tienen un grupo carboxílico al final de la cadena, mientras que los PLGA hidrofóbicos son aquellos que tienen un grupo éster (alquilo) al final de la cadena.

NOMBRE COMERCIAL	COMPOSICIÓN	I.V. (dl/g)	T _g (°C)	T _m	GRUPO FINAL
RESOMER RG 504	Poli(D,L-láctico-co-glicólico) 50:50	0,45-0,60	46-50	Amorfo	Éster de alquilo
RESOMER RG 504 H *	Poli(D,L-láctico-co-glicólico) 50:50	0,45-0,60	46-50	Amorfo	Ácido carboxílico libre

Tabla 2.9. Ejemplos de PLGA comerciales en función de su hidrofilia/hidrofobia.

- H: se refiere a que es la forma hidrofílica. Como podemos observar ambos polímeros son iguales, solo varían en el grupo final de la cadena. Esto hace que uno sea más hidrofílico que otro, y por tanto el Resomer RG 504 H se va a degradar antes que el Resomer RG 504.

H. GRUPO FINAL

El ácido poliláctico-co-glicólico puede presentar dos tipos de grupos en sus extremos:

- Ácido carboxílico libre
- Éster (alquilo)

Esta diferencia sirve para controlar la velocidad de degradación. El medio de disolución va a tener un acceso más fácil a los polímeros que tengan el ácido carboxílico libre, mientras que el grupo alquilo unido al éster va a suponer un impedimento estérico.

Además, los polímeros con ácido carboxílico libre, son más hidrofílicos que los polímeros con un éster al final de la cadena. Por ello los polímeros con un éster en el grupo final van a tardar más tiempo en degradarse.

A continuación podemos ver un ejemplo de dos polímeros que están en el mercado. Observamos que el que tiene un éster en el final de la cadena tarda un mes más en degradarse:

NOMBRE COMERCIAL	COMPOSICIÓN	I.V. (dl/g)	MW (kg/mol)	GRUPO FINAL	TIEMPO DE DEGRADACIÓN (meses)
PURASORB PDLG 7502 ^a	Poli(D,L-láctico-co-glicólico) 75:25	0,20	17,00	Ácido carboxílico	2 - 3
PURASORB PDLG 7502	Poli(D,L-láctico-co-glicólico) 75:25	0,20	17,00	Éster	3 - 4

Tabla 2.10. Ejemplos de PLGA comerciales en función de su grupo final, relacionándolo con el tiempo de degradación.

2.3. MICROPARTÍCULAS

A. MICROPARTÍCULAS Y NANOPARTÍCULAS

Las micro y nanopartículas son sistemas de transporte de medicamentos que fueron diseñados para cumplir los siguientes objetivos:

- Elevada especificidad y actividad en el lugar de acción.
- Mínimos efectos adversos.
- Liberación controlada: preparaciones que modifican la velocidad o sitio de liberación del principio activo para lograr objetivos terapéuticos específicos que no se logran con las formas convencionales (*Valero, J. et al, 1993*).
- Vectorización de fármacos.

❖ **Vectorización de fármacos**

La vectorización de fármacos se define como el diseño de sistemas que modifican la distribución del fármaco en el organismo, con el objetivo de que una proporción mayor de dicho principio activo alcance el lugar donde debe ejercer su acción terapéutica. Estos sistemas permiten que una misma dosis de fármaco tenga mayor actividad farmacológica y menos efectos adversos.

Hay dos tipos de vectorización, en función de la manera en la que se consigue la modificación de la distribución del fármaco:

- Vectorización activa: la vectorización se consigue gracias a una molécula presente en el sistema, que va a ser responsable del direccionamiento, ya que reconoce a una estructura del tejido o célula con la cual se quiere que interaccione el principio activo. Ejemplo: asociación del fármaco con anticuerpos monoclonales, que serán capaces de unirse a los antígenos correspondientes.
- Vectorización pasiva: es la que se debe al tamaño o a las características superficiales del sistema administrado, sin que éste incluya moléculas responsables directas del direccionamiento. Ejemplo: implantación de sistemas que contengan microesferas sobre la herida quirúrgica.

❖ Clasificación

Existen diversos tipos de partículas empleadas para la administración de medicamentos. Se pueden clasificar según su tamaño:

- Micropartículas y nanopartículas: sistemas sólidos coloidales, en los que el principio activo se puede encontrar disuelto, atrapado, encapsulado o adsorbido en el seno de una matriz. Se diferencian en el tamaño:
 - Micropartículas: tienen orden de micrómetros (1-250 μm), se dividen en microcápsulas y microesferas.
 - Nanopartículas: tienen orden de nanómetros (10-999 nm), se dividen en nanocápsulas y nanoesferas (Valero, J. et al, 1993; Aftabrouchard, C. et al, 1992).

Y según su estructura:

- Microcápsulas y nanocápsulas: partículas o sistemas poliméricos de tipo reservorio, formados por una cápsula o pared de polímero que contiene un volumen interno, que puede ser lipídico o no, donde se encuentra el fármaco. Tienen perfectamente definido núcleo y pared (Valero, J. et al, 1993; Aftabrouchard, C. et al, 1992; Mantovani, M.).
- Microesferas y nanoesferas: partículas compactas de polímeros, en las que el fármaco se encuentra disperso o solubilizado en el interior de una matriz polimérica (sistema polimérico matricial), en los que no es posible diferenciar núcleo y pared (Aftabrouchard, C. et al, 1992; Mantovani, M.; Ré M.I., 2000). Tienen una estructura monolítica.

Se pueden emplear diversos procesos para la preparación de las micropartículas y nanopartículas, que se estudiarán en el siguiente apartado.

Se deben tener presentes una serie de consideraciones farmacéuticas en el desarrollo de estos sistemas de liberación controlada: tipo de material, ruta de preparación, tamaño de las partículas, cantidad de fármaco incorporado, carga, fármaco liberado (*in vivo* e *in vitro*), estabilidad del fármaco, estabilidad del sistema de liberación, efecto del almacenamiento, propiedades de la superficie, presentación, antigenicidad, biofase y toxicidad del sistema de liberación, fármaco y biocinética del sistema de liberación (López, C. et al, 2003).

❖ Biomateriales

Con este concepto nos referimos a todos los materiales introducidos en los tejidos corporales con propósitos terapéuticos específicos, de diagnóstico, o con propósitos preventivos. Estos materiales deben ser:

- Biocompatibles: no deben causar ninguna respuesta adversa significativa del medio fisiológico que dañe al biomaterial. También se define como la capacidad de un material para comportarse con una respuesta apropiada en una aplicación específica
- Biodegradables: pueden ser transformados y eliminados por el organismo.

La liberación del principio activo va a depender de la velocidad de degradación del polímero.

- La degradación heterogénea ocurre en la superficie del material que está en contacto con el medio fisiológico. En este caso, la velocidad de degradación es constante y el material no degradado mantiene su integridad química durante el proceso. Lógicamente, aquellos materiales que poseen alta relación superficie/volumen se degradarán más rápido que sus equivalentes con una relación menor.
- La degradación homogénea supone un deterioro aleatorio en toda la masa de la matriz polimérica. Mientras el peso molecular del polímero decrece de forma continua, el material puede mantener su forma original y retener una masa hasta que el polímero ha experimentado una considerable degradación (> 90%), y alcanza un peso molecular crítico, en ese momento, comienza la solubilización y pérdida de masa.

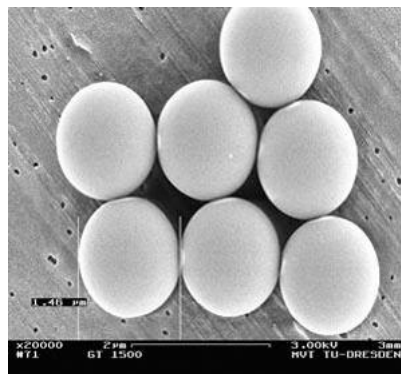


Fig. 2.12. Micropartículas de PLGA.

❖ Propiedades fisicoquímicas

Las propiedades fisicoquímicas que se deben controlar a la hora de elaborar este tipo de sistemas:

- Tamaño de partícula: la vía de administración, la velocidad de liberación deseada, los componentes del sistema... determinarán el tamaño requerido para las micropartículas. El tamaño final dependerá, entre otras cosas, del método de obtención.
- Área superficial/porosidad: estas propiedades van a ser determinantes para la liberación del principio activo. Las micropartículas porosas son esenciales para la liberación de sustancias de elevado peso molecular que no pueden difundir desde una matriz no porosa; también son útiles para liberar sustancias que presentan elevada afinidad hacia el polímero y que no se liberan a menos que la matriz se degrade. La degradación del polímero puede ser controlada alterando la porosidad de la matriz, y de este modo también se controla la liberación del fármaco.
- Contenido de fármaco/liberación del fármaco: estas dos variables dependen de la dosis que se trate de alcanzar y la velocidad de dosificación del fármaco en cada tratamiento particular. Los medicamentos de baja potencia deben proporcionarse en dosis elevadas, de modo que las micropartículas deben estar muy cargadas de fármaco. El contenido de fármaco también depende de la cantidad del mismo que es capaz de aceptar la ruta de administración para la que ha sido diseñado.
- Tiempos de degradación: el tiempo requerido para degradar las micropartículas completamente viene gobernado por la ruta de administración y la frecuencia de la dosis. Por ejemplo, en las rutas de inhalación generalmente empleadas para terapias críticas se requiere una rápida biodegradación para evitar acumulaciones en el sistema, así como en la administración intravenosa, mientras que la liberación subcutánea o intramuscular pueden tolerar cierta acumulación de partículas con degradaciones más lentas.

B. TÉCNICAS DE FABRICACIÓN DE MICROPARTÍCULAS

Entre las técnicas de fabricación de micro y nanopartículas destacan:

- Coacervación o separación de fases: el fármaco se incorpora sobre una disolución de material de recubrimiento en la cual no es soluble, formándose una suspensión. A continuación se provoca una disminución de la solubilidad del material transportador, con cambios de temperatura o cambios en la composición del medio. El material de recubrimiento precipita, depositándose alrededor de las partículas de principio activo suspendidas (núcleos de cristalización). A veces se endurece la cubierta modificando la temperatura o adicionando agentes reticulantes. Finalmente, las partículas formadas (microcápsulas o nanocápsulas) se separan por centrifugación o filtración.
- Emulsión y extracción o evaporación de la fase interna: se prepara una emulsión cuya fase interna es un disolvente orgánico donde están dispersos el fármaco y el material transportador. La fase externa puede ser acuosa u oleosa y generalmente hay tensioactivos estabilizadores. A continuación, el disolvente orgánico de la fase interna se evapora o se extrae con reactivos, de tal manera que se forman unas partículas que se aíslan (por filtración o centrifugación), se lavan y se secan.
- Triple emulsión: Hay muchas variantes muy utilizadas del proceso anterior, como el sistema de triple emulsión (agua/aceite/agua). Se forma esta triple emulsión con el fármaco contenido en la fase acuosa interna, el polímero en un disolvente orgánico en la fase oleosa, y una fase acuosa externa. El disolvente es eliminado a baja presión (y normalmente a baja temperatura) para aumentar la viscosidad de la fase interna, seguida del aislamiento de las microesferas. Este proceso suele dar lugar a matrices relativamente no porosas.
- Entrecruzamiento: se elabora una emulsión en cuya fase interna se localizan el fármaco y el material transportador. Después se provoca la polimerización o cambio de estructura de este último, cambiando la temperatura o añadiendo algún agente químico. Las microesferas o nanoesferas resultantes se separan, lavan y secan.

- **Polimerización interfacial**: se disuelven dos monómeros diferentes en dos medios inmiscibles entre sí, formando una emulsión. En la interfaz los monómeros reaccionan y se forman las partículas (microcápsulas), que se aíslan, lavan y secan.
- **Atomización**: el fármaco se disuelve o se suspende en una dispersión de un material de recubrimiento capaz de polimerizarse o de cambiar de estructura por efecto del calor. Esta mezcla se rompe en gotículas pequeñas que se someten a una temperatura a la cual el solvente se evapora y el material de recubrimiento se polimeriza o cambia de estructura, dando lugar a una red en la que el fármaco queda atrapado o adsorbido (microesferas). Si partimos de una emulsión, donde el fármaco está en la fase interna y el polímero en la externa, podemos obtener microcápsulas.
- **Atomización – congelación**: al material de recubrimiento fundido se le adiciona el fármaco y la masa fundida resultante se emite como gotículas en un medio frío logrado con una corriente de aire o un gas frío, ante lo cual el transportador se solidifica, formando partículas. Normalmente se utilizan materiales con bajos puntos de fusión, como ceras y grasas. Una variante es la incorporación de la mezcla a un medio líquido frío seguido de intensa agitación.
- **Liofilización**: se prepara una emulsión con fase externa orgánica (con el polímero) e interna acuosa (con el fármaco). A continuación se produce una congelación y sublimación.
- **Recubrimiento en lecho fluido**: el fármaco, suspendido en forma de polvo por acción de una corriente de aire, se rocía con una solución del material de recubrimiento. Después de secarse, se obtienen sistemas de tipo cápsula.
- **Gelificación iónica**: una solución de un polisacárido (alginato) se hace reaccionar con un ión (calcio) de carga opuesta, en presencia del fármaco. El polisacárido y el ión reaccionan dando lugar a una cubierta. Las partículas resultantes pueden ser posteriormente endurecidas, separadas, lavadas y secadas.

2.4. INFECCIONES NOSOCOMIALES

A. INFECCIONES NOSOCOMIALES

Una infección nosocomial es una infección contraída en un hospital o centro de atención sanitaria por un paciente que había sido internado por una razón distinta de esa infección. Es aquella infección que se presenta en un paciente internado en un hospital o en otro establecimiento de atención de salud, en quien la infección no se había manifestado ni estaba en período de incubación en el momento de su llegada. Comprende las infecciones contraídas en el hospital. También se incluyen las infecciones ocupacionales del personal del establecimiento.

B. FACTORES

❖ El agente microbiano

Durante la hospitalización, el paciente está expuesto a multitud de agentes microbianos. Entre estos agentes podemos encontrar virus, bacterias, hongos y parásitos.

El agente microbiano puede provenir de diferentes lugares:

- Infección cruzada: el agente proviene de otra persona del hospital.
- Infección endógena: la infección la produce la propia flora.
- Infección ambiental: microorganismos presentes en objetos inanimados o del medio ambiente (agua, aire...).

La posibilidad de contraer la infección depende de las características de los microorganismos, la resistencia a los antimicrobianos, la virulencia intrínseca, la cantidad de material infeccioso (inóculo)...

❖ Vulnerabilidad de los pacientes

El estado del paciente es un factor fundamental, sobre todo a nivel de sistema inmunológico. Los factores que influyen en la posibilidad de contraer una infección son:

- **Edad:** En las épocas extremas de la vida (la infancia y la vejez), suele disminuir la resistencia a la infección.
- **Sistema inmunitario:** Los pacientes con enfermedad crónica, como tumores malignos, leucemia, diabetes mellitus, insuficiencia renal o síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) tienen una mayor vulnerabilidad a las infecciones por agentes patógenos oportunistas. Estos últimos son infecciones por microorganismos normalmente inocuos, por ejemplo, que forman parte de la flora bacteriana normal del ser humano, pero pueden llegar a ser patógenos cuando se ven comprometidas las defensas inmunitarias del organismo. Los agentes inmunodepresores o la irradiación pueden reducir la resistencia a la infección. Las lesiones de la piel o de las membranas mucosas se producen sin pasar por los mecanismos naturales de defensa.
- **Estado nutricional:** La malnutrición presenta un riesgo, pues se ve relacionada con el sistema inmune.
- **Procedimientos diagnósticos y terapéuticos:** las biopsias, exámenes endoscópicos, cateterización, intubación/respiración mecánica y procedimientos quirúrgicos y de succión aumentan el riesgo de infección. Ciertos objetos o sustancias contaminados pueden introducirse directamente a los tejidos o a los sitios normalmente estériles, como las vías urinarias y las vías respiratorias inferiores.

❖ Factores ambientales

Los hospitales y centros de atención primaria presentan un entorno en donde se congregan las personas infectadas y las más vulnerables a padecer una infección. Los pacientes hospitalizados que tienen infección o son portadores de microorganismos patógenos son focos potenciales de infección para los demás pacientes y para el personal sanitario. Las condiciones de hacinamiento dentro del hospital, el traslado frecuente de pacientes de una unidad a otra y la concentración de pacientes más vulnerables en pabellones (recién nacidos, pacientes quemados, cuidados intensivos...) contribuyen a la manifestación de infecciones nosocomiales. Por otra parte, se siguen diagnosticando infecciones bacterianas provenientes del medio ambiente (agua, aire, comida), además de infecciones víricas y parasitarias.

❖ Resistencia bacteriana

Las resistencias bacterianas se podrían incluir dentro de los factores dependientes del agente microbiano pero, debido a su creciente importancia, se menciona por separado. En el mundo hospitalario es muy frecuente la administración de antimicrobianos, ya que muchos de los pacientes padecen infecciones o requieren profilaxis. El uso generalizado de antimicrobianos es el principal factor determinante de resistencia.

A través de mecanismos de selección e intercambio de elementos de resistencia genéticos, las bacterias han sido capaces de dar cepas resistentes a los antibióticos. A medida que se intensifica el uso de un agente antimicrobiano, a la larga surgirán bacterias resistentes a ese producto, que pueden propagarse en el establecimiento de atención de salud. Hoy en día, muchas cepas de neumococos, estafilococos, enterococos y bacilos de la tuberculosis son resistentes a la mayor parte o la totalidad de los antimicrobianos que alguna vez fueron eficaces para combatirlas.

C. INFECCIONES NOSOCOMIALES MÁS FRECUENTES

❖ Infección urinaria

- Incidencia: Es la infección nosocomial más común (80%).
- Etiología: *E. coli* (80%), *Proteus*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus epidermidis*...
- Causas: Normalmente se producen como consecuencia de una infección de la flora del tracto gastrointestinal (*E.coli*...), aunque también puede deberse a la infección utilizar catéteres, sondas... (*S. aureus*, *S. epidermidis*).

❖ Lugar de intervención quirúrgica

- Incidencia entre 0,5 y 15%, según el tipo de operación.
- Etiología: bacterias endógenas (flora bacteriana), exógenas o microorganismos presentes en la sangre de transfusión.
- Causa: intervención quirúrgica, depende si es una operación limpia, limpia-contaminada, contaminada o sucia.

❖ Neumonía

- Elevada incidencia.
- Neumonía Aguda Intrahospitalaria Clásica:
 - Muy frecuente en enfermos hospitalizados en cuidados intensivos con intubación o con respiradores.
 - Se produce por aspiración de la flora orofaríngea. En los hospitales se suelen dar antiácidos, entonces los microorganismos del tubo digestivo pueden ascender hasta la boca, de forma que al aspirar pueden entrar al tracto respiratorio inferior.
 - Etiología: Bacilos Gram negativos (Enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter*), anaerobios estrictos, *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*.
- Neumonía en inmunodeprimidos:
 - Virus: Citomegalovirus.
 - Hongos: *Pneumocystis carinii*, *Cryptococcus*, *Aspergillus*.
 - Bacterias: *Nocardia*, *Rhodococcus*.
- *Legionella pneumophila*: adquisición por vía aérea, al aspirar aerosoles de agua contaminada.

❖ Bacteriemia/Fungemia

- Incidencia: 5% de las infecciones nosocomiales.
- Microorganismos: la flora cutánea suele ser la responsable de la infección. Destacan *Staphylococcus coagulasa negativo* y *Candida spp.*
- Causas: sitio de entrada a la piel de dispositivos intravasculares o en la vía subcutánea de un catéter (infección del túnel). Los microorganismos colonizadores del catéter dentro del vaso pueden producir bacteriemia sin infección externa visible.

❖ Otras

- Infecciones de la piel y tejidos blandos: las heridas abiertas y quemaduras facilitan una colonización bacteriana que puede acabar en septicemia.
- Gastroenteritis: muy común en niños, destacan el rotavirus y *Clostridium difficile*.
- Sinusitis, conjuntivitis.
- Endometritis y otras infecciones tras el parto.

D. MICROORGANISMOS

❖ Bacterias

- Bacterias comensales (flora bacteriana): algunas bacterias comensales pueden causar infección si el paciente está inmunodeprimido o si éstos microorganismos se desplazan a otros lugares del cuerpo. Destacan:
 - *Staphylococcus* cutáneos coagulasa negativos: infección a través de catéteres intravasculares.
 - *Escherichia coli*: pertenecen a la flora intestinal, pero causan infecciones urinarias.
- Bacterias patógenas: tienen mayor virulencia y causan infecciones independientemente del estado del paciente.
 - Clostridium: Anaerobio Gram positivo, produce gangrena.
 - *Staphylococcus aureus*: Bacterias Gram positivas que colonizan la piel y mucosas, causan infecciones pulmonares, óseas, cardíacas, sanguíneas. Algunas son resistentes a antibióticos.
 - Streptococcus β -hemolíticos: Bacterias Gram positivas, también responsables de multitud de infecciones.
 - Enterobacterias (*Escherichia coli*, Proteus, Klebsiella, Enterobacter, *Serratia marcescens*): son capaces de colonizar varios sitios cuando las defensas están comprometidas, pudiendo causar infecciones graves. Algunas son resistentes a antibióticos (ej.: vancomicina).
 - Pseudomonas: Bacterias Gram negativas, pueden encontrarse en el agua y zonas húmedas. Pueden colonizar el aparato digestivo.
 - Legionella: Responsable de neumonías, la infección es a través de aerosoles que contienen agua contaminada (aire acondicionado...).

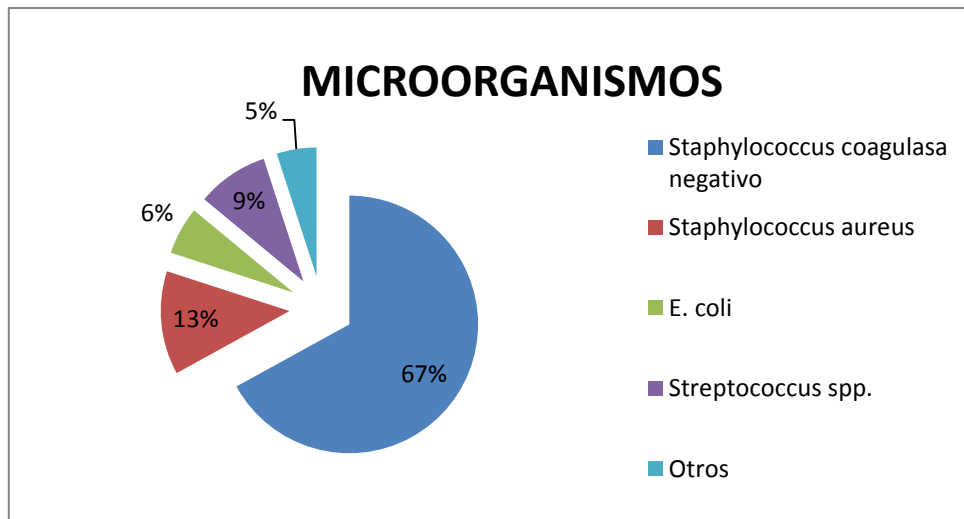


Fig. 2.13. Especies bacterianas más comunes en infecciones nosocomiales.

La siguiente tabla nos muestra la sensibilidad de las bacterias frente al meropenem. Podemos comprobar que el meropenem sería efectivo frente a casi todas las bacterias representadas en el gráfico anterior. Estos datos han sido recopilados entre 1999 y 2008 en más de 100 hospitales y centros de salud del mundo (Rhomberg, P.R. et al, 1999-2008).

MICROORGANISMO	MIC (µg/ml)	MIC (µg/ml) 90%	MIC (µg/ml) Rango	SUSCEPTIBILIDAD (%)	RESISTENCIA (%)
Citrobacter spp.	0,03	0,06	≤0,015 - 4	100,0	0,0
Enterobacter spp.	0,03	0,12	≤0,015 - 32	96,7	2,3
E. coli	≤0,015	0,03	≤0,015 - 16	98,6	0,8
Klebsiella spp.	0,03	0,06	≤0,015 - >32	94,2	4,3
<i>P. mirabilis</i>	0,06	0,06	0,03 - 0,12	100,0	0,0
Serratia spp.	0,06	0,06	≤0,015 - >32	97,2	2,1
Enterobacteriaceae	0,03	0,06	≤0,015 - >32	97,3	2,0
<i>P. aeruginosa</i>	0,5	8	0,03 - >32	85,4	7,5
Acinetobacter spp	8	>32	0,06 - >32	45,7	47,2
S. aureus	0,12	0,12	0,03 - 0,25	100,0	0,0
S. coagulasa negativo	0,12	0,25	0,03 - 0,5	100,0	0,0
S. pneumoniae	≤0,015	1	≤0,015 - 2	80,0	14,4
S. β-hemolíticos	≤0,015	0,06	≤0,015 - 0,12	100,0	ND
S. grupo viridans	0,06	0,5	≤0,015 - 4	90,0	ND

Tabla 2.11. Sensibilidad de algunas bacterias nosocomiales frente a meropenem.

❖ Virus

- Hepatitis B: transfusiones, diálisis, inyecciones, endoscopias.
- Hepatitis C: transfusiones, diálisis, inyecciones, endoscopias.
- VIH: transfusiones, diálisis, inyecciones, endoscopias.
- Virus Sincitial Respiratorio: produce neumonía.
- Rotavirus: gastroenteritis, sobre todo en niños.
- Herpes simple
- Influenza: Virus de la gripe, producen infección respiratoria.

❖ Hongos

Hay muchos hongos que actúan como microorganismos oportunistas y causan infecciones durante el tratamiento prolongado con antibióticos y en pacientes con inmunodeficiencia.

Destacan:

- *Candida albicans*
- *Aspergillus* spp.
- *Cryptococcus neoformans*
- *Cryptosporidium*

❖ Parásitos

- *Giardia lamblia*: se transmiten con facilidad entre adultos o niños
- *Sarcoptes scabiei* (arador de la sarna) es un ectoparásito que ha causado brotes en repetidas ocasiones en los establecimientos de atención de salud.

E. INFECCIONES EN OPERACIONES QUIRÚRGICAS

Como hemos podido observar, uno de los grupos de infecciones nosocomiales más frecuentes es aquel relacionado con las operaciones quirúrgicas. Un paciente que vaya a ser sometido a una operación puede infectarse a través de su propia flora o de microorganismos presentes en el medio que le rodea. Las infecciones pueden producirse por diferentes microorganismos, pero la gran mayoría son infecciones bacterianas.

La infección va a depender de multitud de factores:

- Técnica quirúrgica.
- El grado de contaminación endógena de la herida durante la intervención (limpia, limpia-contaminada, contaminada, sucia).
- Limpieza del ambiente del quirófano.
- Ropa del personal.
- Limitación de la estadía preoperatoria en el hospital.
- Ducha preoperatoria y preparación de la piel local del paciente.
- Óptima profilaxis con antibióticos.
- Práctica aséptica en el quirófano.
- Vigilancia de la herida quirúrgica.

3. MÉTODO ANALÍTICO: DESARROLLO Y VALIDACIÓN

3.1. INTRODUCCIÓN

La primera fase del estudio consiste en desarrollar un método analítico para el ensayo de valoración de meropenem.

Es imprescindible validar los métodos de análisis, ya que es la manera de asegurarnos que los resultados que vamos a obtener son fiables. El método fue validado según las pautas de las guías del *International Conference of Harmonisation (ICH Q2 (R1): Validación de métodos analíticos)*.

Al ser un ensayo de valoración de un analito se requiere evaluar la exactitud, precisión (repetibilidad y precisión intermedia), especificidad, linealidad y rango. También se han calculado los límites de detección y cuantificación.

El método analítico fue desarrollado acorde a las indicaciones de la *Farmacopea Europea 8.0.* y a la *USP 38 (United States Pharmacopoeia 38)*.

3.2. MATERIALES Y MÉTODOS

A) MATERIALES

Para la validación del método analítico se han empleado los siguientes materiales:

- Meropenem: fabricante ACS Dobfar Lote 33077109019. El control de calidad de la materia prima se realizó en los Laboratorios Normon S.A., donde se pudo determinar una pureza del 84,1%.
- Fase móvil: 75,0% de tampón fosfato, 15,0% de acetonitrilo y 10,0% de metanol. Para elaborar el tampón fosfato se deben diluir 15 ml de solución de hidróxido de tetrabutilamonio al 25,0% (18,75 ml si está al 20,0%) con 750 ml de agua. A continuación se debe ajustar el pH a 7,5 con ácido ortofosfórico al 10,0%. La fase móvil debe filtrarse al vacío antes de hacerla pasar por el HPLC, para ello se utilizan filtros de 0,45 μm de PVDF Waters Corporation 47 mm.
- Fase de lavado: 75,0% de agua, 25,0% de metanol.
- Agua desionizada MiliQ®

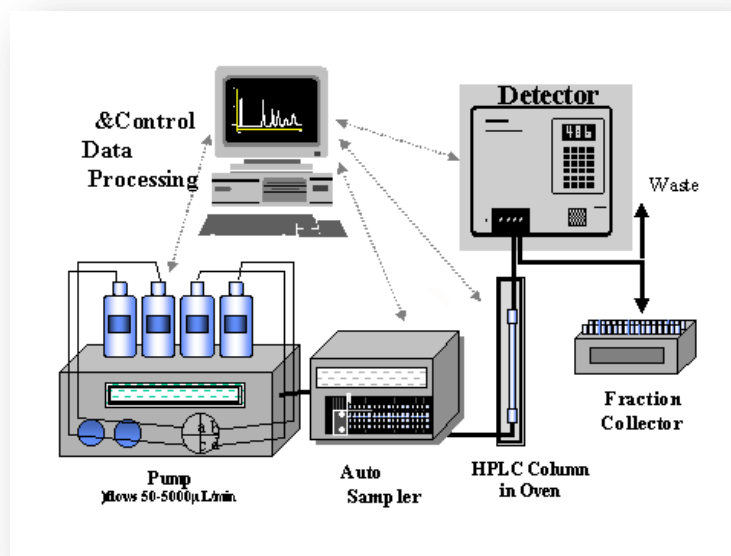


Fig. 3.1. Esquema de componentes de un equipo HPLC.

LABORATORIOS NORMON, S.A.
DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD

**CERTIFICADO DE ANALISIS
MATERIAS PRIMAS**

PRODUCTO: MEZCLA MEROPENEM-CARBONATO SODIO

FABRICANTE: ACS DOBFAR

LOTE: 33077109019

<u>PARAMETROS</u>	<u>ESPECIFICACIONES</u>	<u>RESULTADOS</u>
. DESCRIPCION	Polvo de color blanco o amarillo claro.	Conforme
. SOLUBILIDAD	Soluble en agua.	Conforme
. IDENTIFICACION	Positiva para meropenem trihidrato: *Espectro IR coincide con patrón. HPLC: tr problema ≈ tr referencia.	Positiva
. pH	Entre 7,3 y 8,3.	8,0
. HUMEDAD (p.p.d.)	Entre 9% y 12%.	10,2%
* CONTENIDO DE SODIO	Entre 6,2% y 7,6%, sobre producto tal cual.	6,5 %
* ASPECTO SOLUCIÓN	Solución limpia y prácticamente exenta de partículas visibles. Solución no más intensamente coloreada que solución G ₁ .	Conforme G ₁
. IMPUREZAS	Meropenem open-ring: No más del 0,8% Impureza TRR ≈ 1,9: No más del 0,6% *Cualquier impureza desconocida: No más del 0,1% *Impurezas totales: No más del 2%	0,1% < L.C. < L.C. 0,1%
* VALORACION	Entre 78,0% y 86,0%, sobre producto seco.	84,1 %
. ENDOTOXINAS	No más de 0,125 UE/mg.	< 0,125 UE/mg
. ESTERILIDAD	Test F. Eur. 6 ^a ed.	Pasa test
* PARTÍCULAS SUBVISIBLES	≥ 10 μm: 3.000 partículas/g. ≥ 25 μm: 300 partículas/g.	Conforme

OBSERVACIONES: CUMPLE USP 31.
* Especificaciones internas.

FECHA: 11-09-2009

JEFE DE CONTROL DE CALIDAD
DEPARTAMENTO DE CONTROL



Fig. 3.2. Certificado de análisis de la materia prima de meropenem utilizada durante todo el estudio, realizado por Normon S.A..

B) INSTRUMENTACIÓN Y CONDICIONES ANALÍTICAS

El método analítico de valoración de meropenem se ha desarrollado en un cromatógrafo modular Jasco en el laboratorio del departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica según las indicaciones de la *Farmacopea Europea 8.0.* y a la *USP 38 (United States Pharmacopoeia 38)*.

El **equipo HPLC** utilizado consta de los siguientes módulos:

- Estabilizador de tensión Salicru®.
- Desgasificador: DG-2080-53 3-line Degasser (Jasco®, Japón).
- Unidad de gradiente ternaria: LG-2080-02 Ternary Gradient Unit (Jasco®, Japón). En este caso, trabajamos de forma isocrática, con una sola fase móvil.
- Bomba: PU-1580 Intelligent HPLC Pump (Jasco®, Japón).
- Inyector automático: A5-2050 plus Sampler (Jasco®, Japón).
- Detector: UV-1575 Intelligent UV/VIS Detector (Jasco®, Japón).
- Ordenador, interfase y programa de integración de datos modelo Borwin 1,5 (JMBS Developments®, Francia).
- Columna XBridge® C18 (5 µm) de 250 mm de longitud y 4,6 mm de diámetro.

Las **condiciones cromatográficas** de este método analítico fueron las siguientes:

- Longitud de onda de análisis: 300 nm.
- Fase estacionaria: Columna XBridge® C18 (5 µm) de 250 mm de longitud y 4,6 mm de diámetro.
- Volumen de inyección: Capilar de 100 µl de inyección.
- Flujo: 1,0 ml/min.
- Presión: 14,8 – 15,0 MPa.
- Temperatura de la columna: 25,0°C.
- Tiempo de análisis: 9,0 min.
- Disolvente: Agua ultrapura.
- Fase móvil: 75,0% de tampón fosfato, 15,0% de acetonitrilo y 10,0% de metanol.

C) MÉTODOS

❖ **Especificidad**

La especificidad es la capacidad del método para evaluar inequívocamente el analito en presencia de otros componentes que se supone que pueden estar presentes, como impurezas, productos de degradación... y que pueden interferir.

Disolvente (Agua desionizada)

Para comprobar la ausencia de interferencias con el disolvente utilizado en la preparación de las soluciones de meropenem (agua), se efectuaron inyecciones de 100 μ l del mismo y se analizaron por HPLC. Además se inyectaron 100 μ l de soluciones de meropenem carbonato trihidrato desde 0,10 μ g/ml hasta 50,00 μ g/ml, que se usaron de patrón.

Meropenem open-ring

Es importante evaluar la especificidad cuando pueden coexistir moléculas parecidas estructuralmente. El producto de degradación más importante del meropenem es el meropenem open-ring, que surge por la apertura del anillo lactámico. Para evaluar si este producto de degradación interfería en el método de análisis se realizó la siguiente prueba:

- Se preparó una solución de 100,00 μ g/ml de meropenem carbonato trihidrato el 16 de septiembre de 2009.
- El 5 de octubre de 2009 se hizo una dilución a 10,00 μ g/ml y se analizó con el HPLC. En este periodo de tiempo cabía esperar que se hubiese formado producto de degradación.

La prueba se realizó de esta manera ya que no se disponía de producto de degradación patrón.

❖ Linealidad

La linealidad de un procedimiento analítico se define como la capacidad para obtener resultados directamente proporcionales a la concentración del analito en la muestra. Se debe evaluar esta relación lineal a lo largo del rango.

Para calcular la linealidad del método HPLC para el análisis de meropenem realizamos el siguiente ensayo:

- Se prepararon tres disoluciones madre de 100,00 µg/ml de meropenem carbonato trihidrato (81,40 µg/ml de meropenem), utilizando agua como disolvente.
- Con cada disolución se hicieron disoluciones seriadas de 0,10; 0,50; 1,00; 2,00; 5,00; 10,00; 20,00; 30,00; 40,00 y 50,00 µg/ml (meropenem carbonato trihidrato), utilizando agua como disolvente.
- A continuación se calculó la concentración de meropenem libre, teniendo en cuenta que la riqueza en meropenem era del 84,1%.
- Se analizaron las muestras por HPLC y se obtuvieron las áreas de los picos.
- Se determinó la ecuación de la recta para cada dilución seriada (x3), que relacionaba el área del pico con la concentración de las muestras, así como la correlación entre ambas variables.
- Se obtuvieron valores medios que englobaban las tres ecuaciones y se obtuvo una ecuación de la recta media.
- Los resultados fueron analizados calculando la línea de regresión por el método de los mínimos cuadrados. Se calcularon el coeficiente de correlación, la pendiente, la ordenada en el origen y el análisis de la varianza.

Linealidad a bajas concentraciones

Tras comprobar que el método tenía poca exactitud a concentraciones bajas si utilizábamos como recta patrón aquella con un rango amplio de concentraciones, decidimos hacer una validación de una recta con concentraciones comprendidas entre 0,10 y 1,00 µg/ml de meropenem carbonato trihidrato.

- Se prepararon tres disoluciones madre de 1,00 µg/ml, y con cada una de ellas se realizaron disoluciones seriadas de 0,10; 0,20; 0,30; 0,40; 0,50; 0,60; 0,80 y 1,00 µg/ml de meropenem carbonato trihidrato.
- El tratamiento de datos fue el mismo que en el caso anterior.

❖ Exactitud

Se puede definir la exactitud de un método analítico como la capacidad de un método para medir un valor cercano al valor de la magnitud real.

Para comprobar la exactitud del método de valoración de meropenem trihidrato por HPLC, se realizó lo siguiente:

- Se prepararon tres disoluciones madre de 100,00 µg/ml de meropenem carbonato trihidrato.
- De cada disolución madre se realizaron diluciones seriadas para obtener las siguientes concentraciones teóricas de meropenem carbonato trihidrato:
 - 0,10 µg/ml
 - 2,00 µg/ml
 - 10,00 µg/ml
 - 30,00 µg/ml
 - 50,00 µg/ml
- A continuación se analizaron las 15 disoluciones preparadas, mediante HPLC.
- Se determinó el porcentaje de la sustancia recuperada y el error cometido en la determinación.
- Para poder contrastar los resultados se realizó una recta patrón ese mismo día, cuya ecuación fue: $\text{ÁREA} = 154,17 \times \text{Concentración} - 5,52$ ($r = 0,9999$)

Exactitud a bajas concentraciones

Como la exactitud a concentraciones bajas no fue conforme, se realizó el mismo ensayo utilizando como recta patrón una recta calculada para concentraciones bajas:

- Se prepararon tres disoluciones madre de 100,00 µg/ml de meropenem carbonato trihidrato.
- De cada disolución madre se realizaron diluciones seriadas para obtener las siguientes concentraciones teóricas de meropenem carbonato trihidrato:
 - 0,10 µg/ml
 - 0,50 µg/ml
 - 1,00 µg/ml
- A continuación se analizaron las 15 disoluciones preparadas, mediante HPLC.
- Se determinó el porcentaje de la sustancia recuperada y el error cometido en la determinación.
- Para poder contrastar los resultados se realizó una recta patrón para concentraciones bajas, cuya ecuación fue:

$$\text{ÁREA} = 160,35 \times \text{Concentración} + 0,26 \quad (r = 0,9998).$$

❖ Precisión

La precisión se refiere a la dispersión del conjunto de valores obtenidos de mediciones repetidas de una magnitud. Estudia la repetibilidad y la precisión intermedia.

Repetibilidad

Para comprobar la repetibilidad del método HPLC, se preparó de la misma manera y 6 veces la solución de 10,00 µg/ml de meropenem carbonato trihidrato (8,41 µg/ml de meropenem). Se realizaron inyecciones de 100 µl de cada una de las 6 soluciones preparadas, se registraron los cromatogramas y se midió la respuesta de los picos. Se determinó la desviación estándar y el coeficiente de variabilidad.

Repetibilidad a bajas concentraciones

Para poder valorar si el método presentaba repetibilidad a concentraciones bajas, se realizó un análisis en el que se prepararon 6 muestras de 0,50 µg/ml de meropenem carbonato trihidrato (0,42 µg/ml de meropenem). Éstas se analizaron con el HPLC.

Precisión intermedia

Se comprobó la precisión intermedia de la disolución de 10,00 µg/ml de meropenem carbonato trihidrato (8,41 µg/ml de meropenem). Para ello se realizaron dos análisis de 6 muestras diferentes en distintos días y por distintos analistas.

- El día 22 de septiembre se prepararon 6 soluciones de 10,00 µg/ml de meropenem carbonato trihidrato (8,41 µg/ml de meropenem) por el analista 1.
- El día 5 de octubre de 2009 se prepararon 6 soluciones de 10,00 µg/ml de meropenem carbonato trihidrato (8,41 µg/ml de meropenem) por el analista 2.

❖ Rango

El rango de un método analítico es el intervalo entre la concentración superior y la inferior del analito en la muestra, en donde ha podido ser demostrada la linealidad, precisión y exactitud del método.

El rango ha sido determinado a partir de los ensayos de linealidad, precisión y exactitud; tanto a bajas como a altas concentraciones.

❖ Sensibilidad

Los límites de detección y cuantificación se han determinado a partir del ruido apreciado en los cromatogramas, que fueron ampliados considerablemente para poder calcularlo. Los cromatogramas empleados correspondían a concentraciones de 0,10 µg/ml de meropenem carbonato trihidrato (0,08 µg/ml) de meropenem.

3.3. RESULTADOS

❖ Especificidad

Se realizaron estudios de especificidad del meropenem frente al disolvente y al meropenem open-ring.

Disolvente (Agua ultrapura)

Tras inyectar agua ultrapura se observó que no existía ninguna variación en la línea base del cromatograma.

Meropenem Open-ring

En el cromatograma se diferenciaron perfectamente dos picos:

- Meropenem Open-ring: 3,9 min
- Meropenem: 6,8 min

Se puede observar que ambos picos están perfectamente separados en el cromatograma y que no interfieren entre ellos:

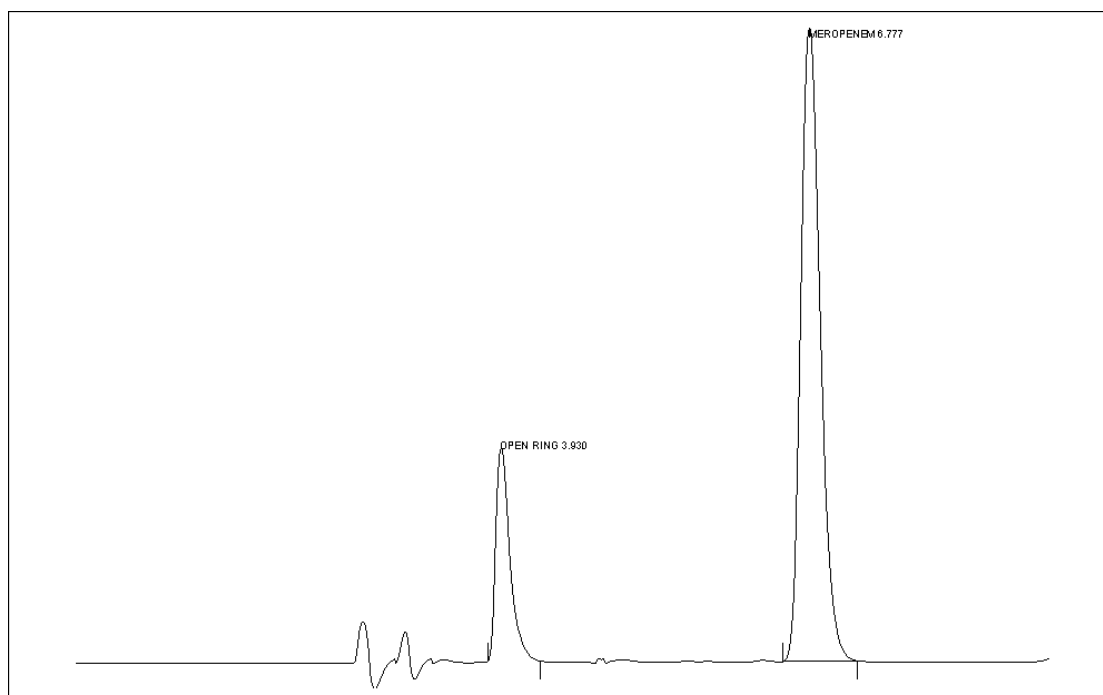


Fig. 3.3. Cromatograma obtenido en el estudio de especificidad entre meropenem y meropenem open ring.

❖ Linealidad

Disolución 1

CONC. MEROPENEM CARBONATO TRIHIDRATO ($\mu\text{g/ml}$)	CONC. MEROPENEM ($\mu\text{g/ml}$)	ÁREA ($\text{mV}\times\text{S}$)
0,10	0,08	17,54
0,50	0,42	70,25
1,00	0,84	129,61
2,00	1,68	250,19
5,00	4,21	679,75
10,00	8,41	1318,04
20,00	16,82	2635,04
30,00	25,23	3972,51
40,00	33,64	5293,24
50,00	42,05	6593,29

Tabla 3.1. Área obtenida tras analizar las muestras para el estudio de linealidad (Disolución 1).

Ecuación de la recta: $\text{Área} = 157,01 * \text{Concentración} + 1,70$ ($r = 1,0000$)

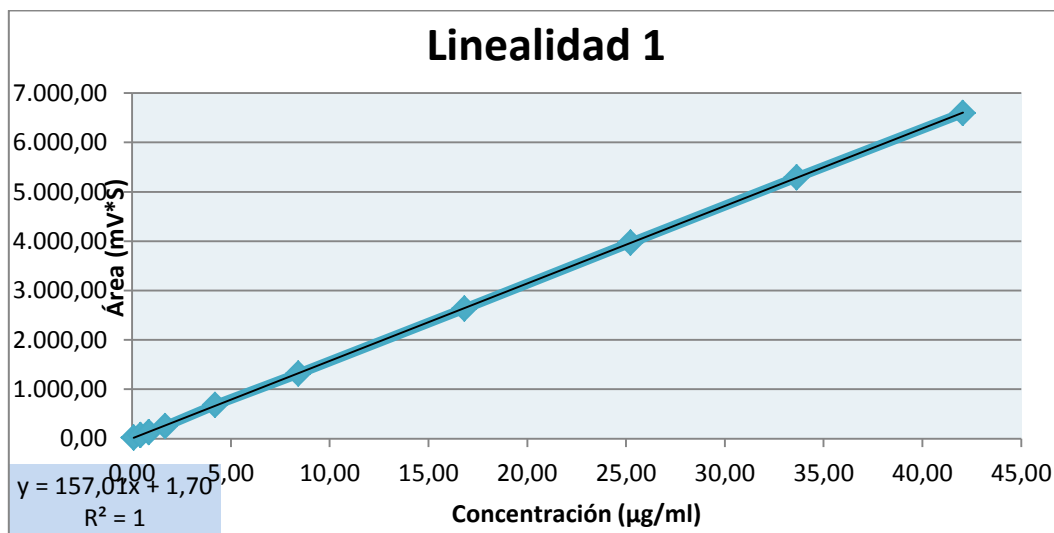


Fig. 3.4. Gráfica representando la linealidad de la disolución 1.

Disolución 2

CONC. MEROPENEM CARBONATO TRIHIDRATO ($\mu\text{g/ml}$)	CONC. MEROPENEM ($\mu\text{g/ml}$)	ÁREA (mV*s)
0,10	0,08	17,71
0,50	0,42	67,61
1,00	0,84	127,33
2,00	1,68	274,52
5,00	4,21	658,72
10,00	8,41	1305,34
20,00	16,82	2628,09
30,00	25,23	3907,35
40,00	33,64	5273,75
50,00	42,05	6653,20

Tabla 3.2. Área obtenida tras analizar las muestras para el estudio de linealidad (Disolución 2).

Ecuación de la recta: $\text{Área} = 157,27 * \text{Concentración} - 6,36$ ($r = 0,9999$)

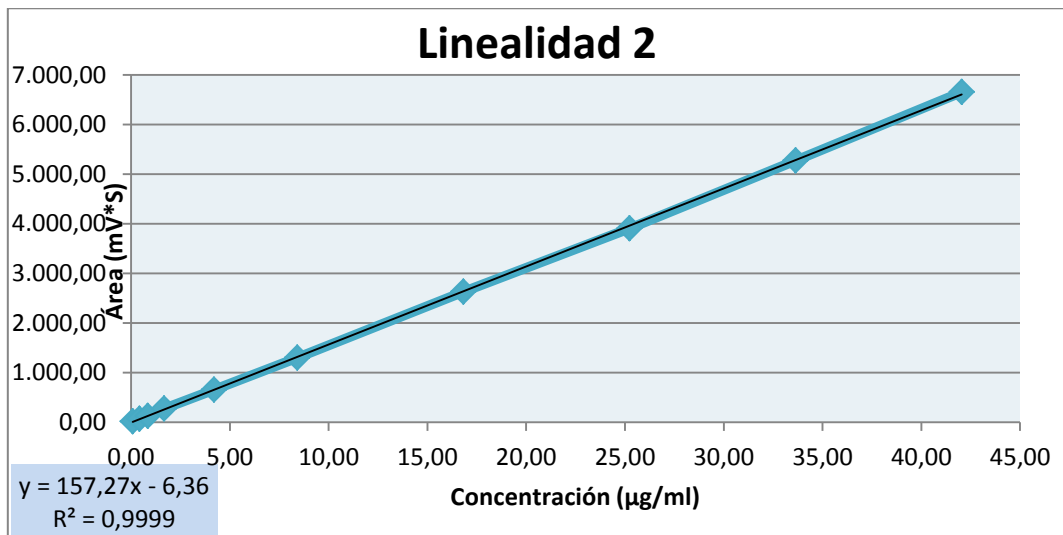


Fig. 3.5. Gráfica representando la linealidad de la disolución 2.

Disolución 3

CONC. MEROPENEM CARBONATO TRIHIDRATO ($\mu\text{g/ml}$)	CONC. MEROPENEM ($\mu\text{g/ml}$)	ÁREA (mVxS)
0,10	0,08	14,55
0,50	0,42	61,72
1,00	0,84	126,11
2,00	1,68	264,09
5,00	4,21	665,32
10,00	8,41	1314,53
20,00	16,82	2603,40
30,00	25,23	3904,65
40,00	33,64	5251,43
50,00	42,05	6635,38

Tabla 3.3. Área obtenida tras analizar las muestras para el estudio de linealidad (Disolución 3).

Ecuación de la recta: $\text{Área} = 156,83 * \text{Concentración} - 7,77$ ($r = 0,9999$)

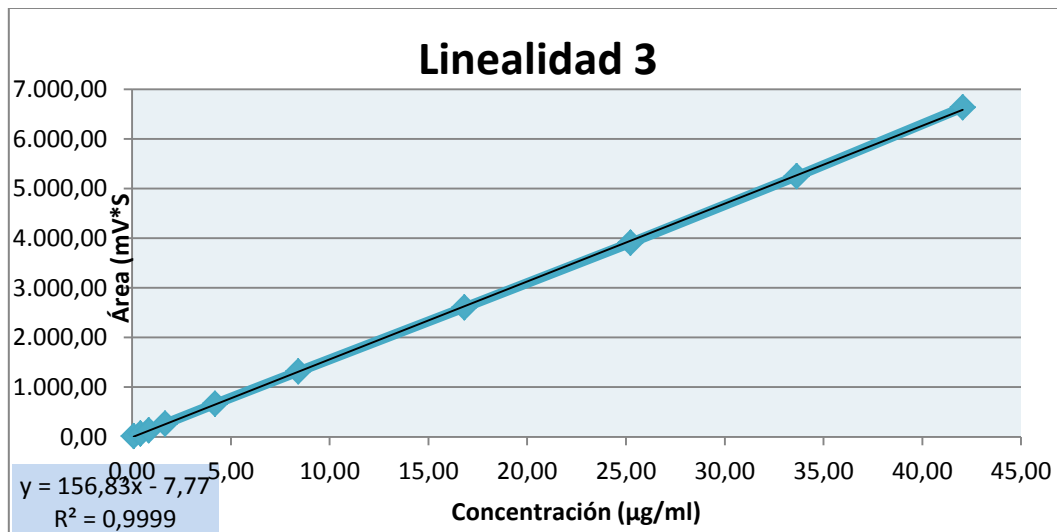


Fig. 3.6. Gráfica representando la linealidad de la disolución 3.

Linealidad media

CONC. MEROPENEM CARBONATO TRIHIDRATO ($\mu\text{g/ml}$)	CONC. MEROPENEM ($\mu\text{g/ml}$)	ÁREA MEDIA (mVxS)
0,10	0,08	16,60
0,50	0,42	66,53
1,00	0,84	127,68
2,00	1,68	262,93
5,00	4,21	667,93
10,00	8,41	1312,64
20,00	16,82	2622,18
30,00	25,23	3928,17
40,00	33,64	5272,81
50,00	42,05	6627,29

Tabla 3.4. Área media de las tres disoluciones.

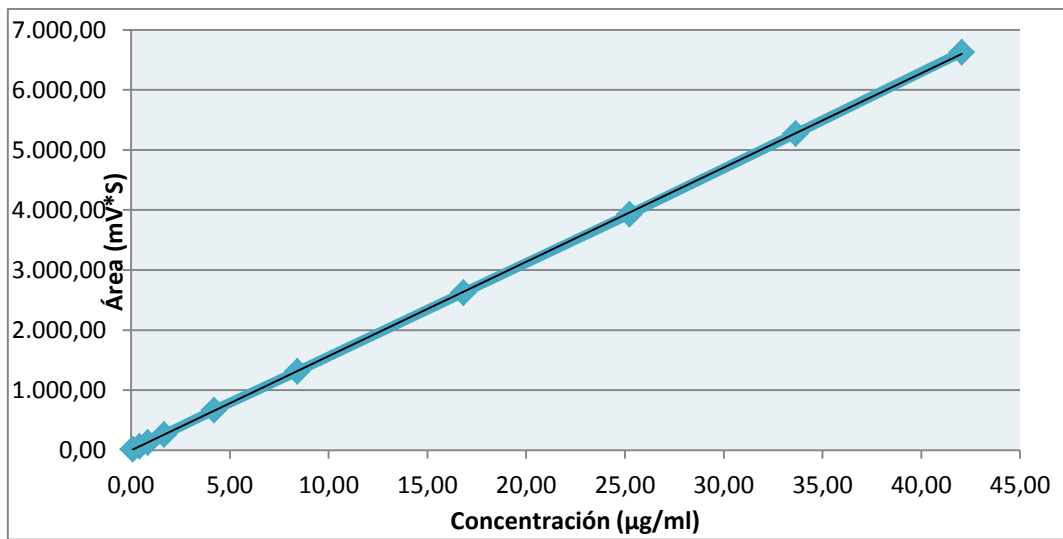


Fig. 3.7. Linealidad media de las tres disoluciones.

Ecuación de la recta: $\text{Área} = 157,04 * \text{Concentración} - 4,14$ ($r = 0,9999$)

A partir de los datos obtenidos se han calculado los parámetros estadísticos mediante el programa informático Statgraphics Plus, y se ha ajustado la ecuación mediante un análisis de regresión por el método de mínimos cuadrados. Se han calculado la ecuación de la recta, el coeficiente de correlación y un análisis de la varianza.

Se ha obtenido una relación lineal entre las variables de concentración de meropenem (x) y área del pico (y). La ecuación obtenida es $y = 157,04x - 4,14$ y el coeficiente de correlación es de 0,9999.

Análisis de la regresión					
Parámetro	Estimación	Error estándar	Estadístico T	P-Valor	
Ordenada	-4,14	5,42	-0,76	0,45	
Pendiente	157,04	0,27	573,15	0,00	

Análisis de la varianza					
Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Cociente-F	P-Valor
Modelo	1,58E8	1	1,58E8	328505,46	0,00
Residuo	13446,40	28	480,23		
Total (Corr)	1,58E8	29			

Tabla 3.5. Análisis de la varianza ANOVA para el estudio de linealidad.

- Coeficiente de Correlación = 0,9999
- R-cuadrado = 99,99 porcentaje
- R-cuadrado (ajustado para g.l.) = 99,99 porcentaje
- Error estándar de est. = 21,91
- Error absoluto medio = 14,19

La salida muestra los resultados del ajuste al modelo lineal para describir la relación entre la concentración y el área. La ecuación del modelo ajustado es $\text{Área} = -4,14 + 157,04 \cdot \text{Concentración}$.

Dado que el p-valor en la tabla ANOVA es inferior a 0,01; existe relación estadísticamente significativa entre ambas variables para un nivel de confianza del 99%.

El estadístico R-cuadrado indica que el modelo explica un 99,99% de la variabilidad en Área. El coeficiente de correlación es igual a 0,9999, indicando una relación relativamente fuerte entre las variables. El error estándar de la estimación muestra la desviación típica de los residuos que es 21,91. El error absoluto medio (MAE) de 14,19 es el valor medio de los residuos.

Linealidad a bajas concentracionesDisolución

CONC. MEROPENEM CARBONATO TRIHIDRATO (µg/ml)	CONC. MEROPENEM (µg/ml)	ÁREA (mV*s)
0,10	0,08	13,39
0,20	0,17	24,84
0,30	0,25	40,34
0,40	0,34	51,28
0,50	0,42	66,47
0,60	0,51	79,72
0,80	0,67	106,37
1,00	0,84	135,04

Tabla 3.6. Área obtenida tras analizar las muestras para el estudio de linealidad a bajas concentraciones (Disolución 1).

Ecuación de la recta: $\text{Área} = 161,05 * \text{Concentración} - 1,35$ ($r = 0,9994$)

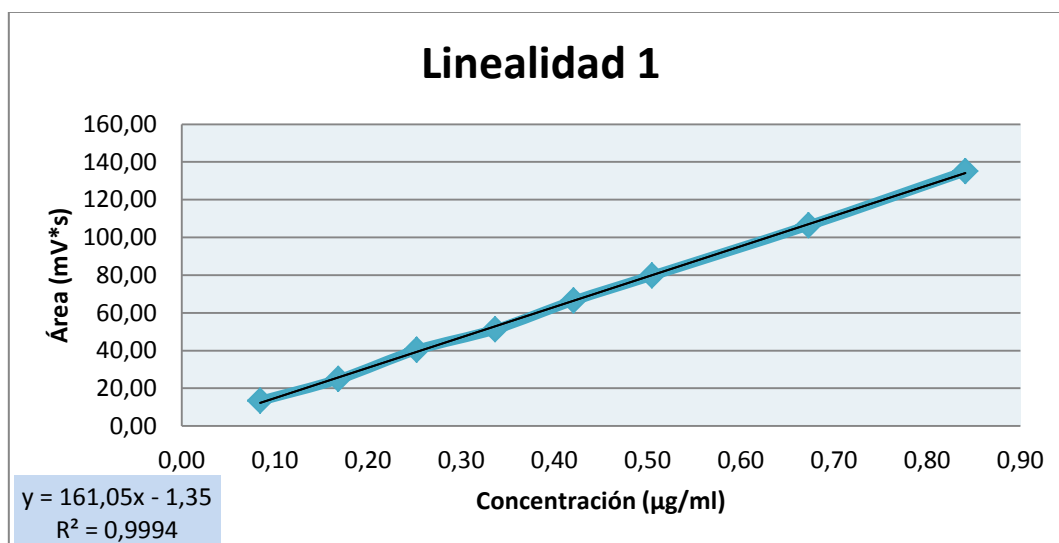


Fig. 3.8. Gráfica representando la linealidad de la disolución 1.

Disolución 2

CONC. MEROPENEM CARBONATO TRIHIDRATO ($\mu\text{g/ml}$)	CONC. MEROPENEM ($\mu\text{g/ml}$)	ÁREA (mV*s)
0,10	0,08	14,96
0,20	0,17	26,41
0,30	0,25	39,14
0,40	0,34	52,67
0,50	0,42	64,41
0,60	0,51	79,16
0,80	0,67	102,15
1,00	0,84	128,16

Tabla 3.7. Resultados obtenidos tras analizar las muestras para el estudio de linealidad a bajas concentraciones (Disolución 2).

Ecuación de la recta: $\text{Área} = 150,25 * \text{Concentración} + 1,78$ ($r = 0,9996$)

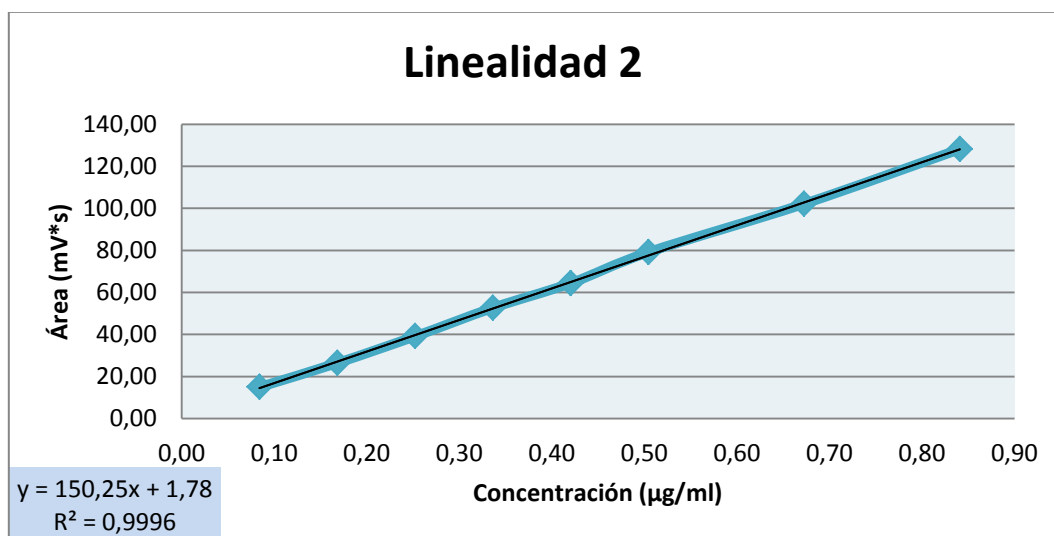


Fig. 3.9. Gráfica representando la linealidad de la disolución 2.

Disolución 3

CONC. MEROPENEM CARBONATO TRIHIDRATO ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	CONC. MEROPENEM ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	ÁREA ($\text{mV}\times\text{s}$)
0,10	0,08	14,53
0,20	0,17	25,71
0,30	0,25	38,53
0,40	0,34	51,64
0,50	0,42	63,84
0,60	0,51	77,23
0,80	0,67	102,37
1,00	0,84	130,15

Tabla 3.8. Resultados obtenidos tras analizar las muestras para el estudio de linealidad a bajas concentraciones (Disolución 3).

Ecuación de la recta: $\text{Área} = 152,89 * \text{Concentración} + 0,32$ ($r = 0,9995$)

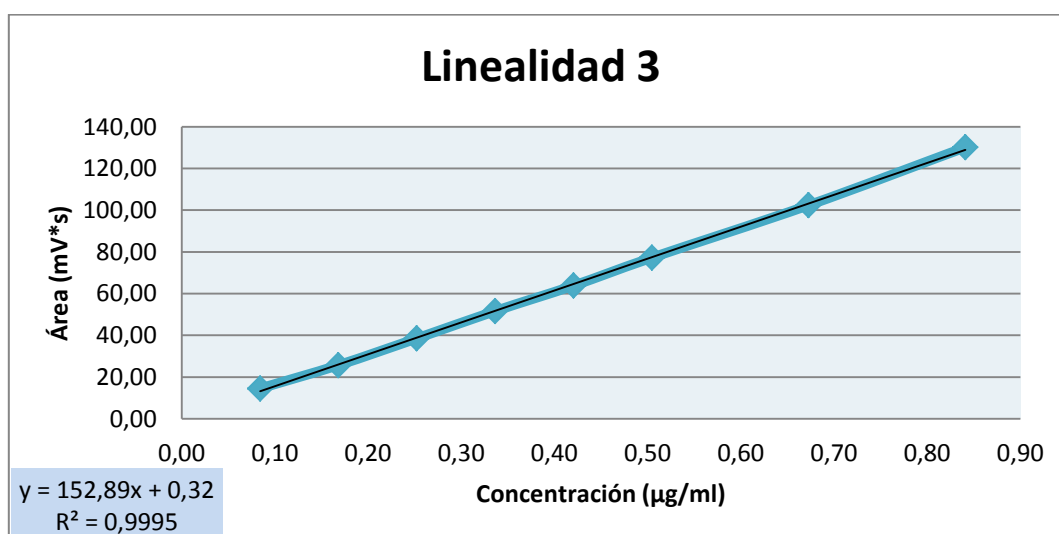


Fig. 3.10. Gráfica representando la linealidad de la disolución 3.

Linealidad media

CONC. MEROPENEM CARBONATO TRIHIDRATO ($\mu\text{g/ml}$)	CONC. MEROPENEM ($\mu\text{g/ml}$)	ÁREA MEDIA ($\text{mV}\times\text{S}$)
0,10	0,08	14,29
0,20	0,17	25,65
0,30	0,25	39,34
0,40	0,34	51,86
0,50	0,42	64,91
0,60	0,51	78,71
0,80	0,67	103,63
1,00	0,84	131,12

Tabla 3.9. Área media de las tres disoluciones.

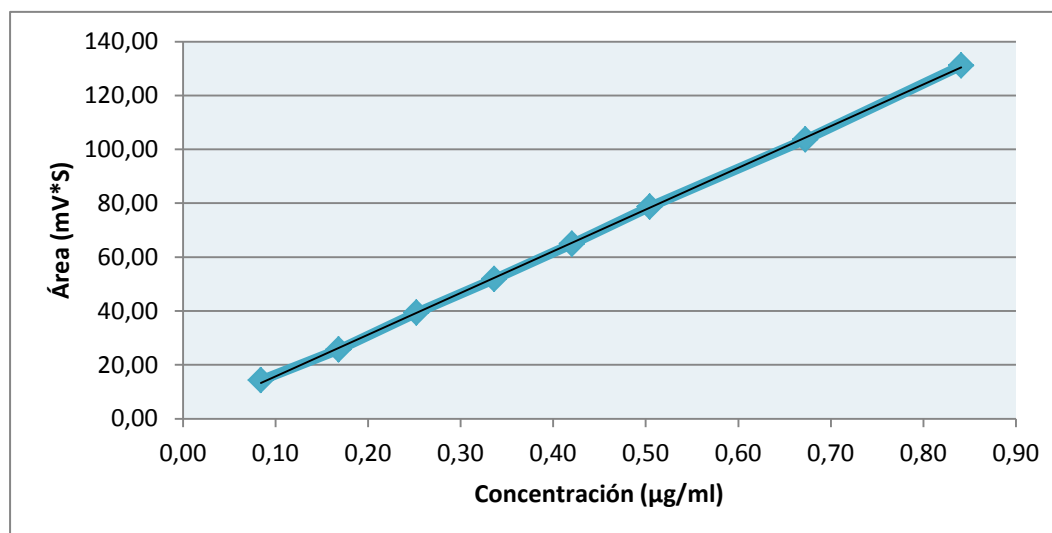


Fig. 3.11. Linealidad media a bajas concentraciones de las tres disoluciones.

*Ecuación de la recta: $\text{Área} = 154,67 * \text{Concentración} + 0,25$ ($r = 0,9991$)*

A partir de los datos obtenidos se han calculado los parámetros estadísticos mediante el programa informático Statgraphics Plus, y se ha ajustado la ecuación mediante un análisis de regresión por el método de mínimos cuadrados. Se han calculado la ecuación de la recta, el coeficiente de correlación y un análisis de la varianza.

Se ha obtenido una clara relación lineal entre las variables de concentraciones bajas de meropenem (x) y área del pico (y). La ecuación obtenida es $y = 154,67x + 0,25$ y el coeficiente de correlación es de 0,9991.

Análisis de la regresión					
Parámetro	Estimación	Error estándar	Estadístico T	P-Valor	
Ordenada	0,28	0,66	0,43	0,67	
Pendiente	154,65	1,38	111,83	0,00	

Análisis de la varianza					
Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Cociente-F	P-Valor
Modelo	32956,90	1	32956,90	12505,17	0,00
Residuo	57,98	22	2,64		
Total (Corr)	33014,80	23			

Tabla 3.10. Análisis de la varianza ANOVA para el estudio de linealidad a bajas concentraciones.

- Coeficiente de Correlación = 0,9991
- R-cuadrado = 99,82 porcentaje
- R-cuadrado (ajustado para g.l.) = 99,82 porcentaje
- Error estándar de est. = 1,62
- Error absoluto medio = 1,22

La salida muestra los resultados del ajuste al modelo lineal para describir la relación entre Área y Concentración. La ecuación del modelo ajustado es $\text{Área} = 0,28 + 154,65 \cdot \text{Concentración}$.

Dado que el p-valor en la tabla ANOVA es inferior a 0.01, existe relación estadísticamente significativa entre Área y Concentración para un nivel de confianza del 99%.

El estadístico R-cuadrado indica que el modelo explica un 99,82% de la variabilidad en Área. El coeficiente de correlación es igual a 0,9991, indicando una relación relativamente fuerte entre las variables. El error estándar de la estimación muestra la desviación típica de los residuos que es 1,62. El error absoluto medio (MAE) de 1,22 es el valor medio de los residuos.

❖ Exactitud

MUESTRA	CONC. MEROPENEM CARBONATO TRIHIDRATO ($\mu\text{g/ml}$)	CONC. MEROPENEM ($\mu\text{g/ml}$)	ÁREA (Mv*S)	ÁREA TEÓRICA (Mv*S)	% RECUPERACIÓN	% ERROR
A	0,10	0,08	14,67	7,44	197,1	97,1
B	0,10	0,08	14,89	7,44	200,1	100,1
C	0,10	0,08	14,17	7,44	190,5	90,5
A	2,00	1,68	255,72	253,79	100,8	0,8
B	2,00	1,68	251,81	253,79	99,2	-0,8
C	2,00	1,68	252,99	253,79	99,7	-0,3
A	10,00	8,41	1264,66	1291,05	98,0	-2,0
B	10,00	8,41	1326,68	1291,05	102,8	2,8
C	10,00	8,41	1326,86	1291,05	102,8	2,8
A	30,00	25,23	3810,48	3884,19	98,1	-1,9
B	30,00	25,23	3836,38	3884,19	98,8	-1,2
C	30,00	25,23	3849,15	3884,19	99,1	-0,9
A	50,00	42,05	6501,00	6477,33	100,4	0,4
B	50,00	42,05	6559,07	6477,33	101,3	3
C	50,00	42,05	6550,38	6477,33	101,1	1,1

Tabla 3.11. Resultados obtenidos en el ensayo de exactitud, mostrando el porcentaje de recuperación y el porcentaje de error.

Como podemos observar, el método es bastante exacto a concentraciones altas (superiores o iguales a 2,00 $\mu\text{g/ml}$ de meropenem carbonato trihidrato), pero la exactitud se pierde a concentraciones bajas. Por ello se decidió determinar la linealidad, exactitud y precisión para concentraciones bajas.

Si hacemos un análisis estadístico de los datos obtenidos, sin tener en cuenta las muestras de 0,10 $\mu\text{g/ml}$ analizadas y comparadas con la recta patrón de concentraciones altas, obtenemos los siguientes resultados:

- Media (Recuperación) = 100,2%
- SD (Recuperación) = 1,6%
- Límites de confianza 95,0% (Recuperación) =
 - Media: 100,2 +/- 1,0 [99,1;101,2]
 - SD = [1,2;2,8]

Exactitud a bajas concentraciones

MUESTRA	CONC. MEROPENEM CARBONATO TRIHIDRATO ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	CONC. MEROPENEM ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	ÁREA (Mv*S)	ÁREA TEÓRICA (Mv*S)	% RECUPERACIÓN	% ERROR
A	0,10	0,08	14,31	14,69	97,4	-2,6
B	0,10	0,08	14,87	14,69	101,2	1,2
C	0,10	0,08	13,99	14,69	95,2	-4,8
A	0,50	0,42	65,43	67,22	97,3	-2,7
B	0,50	0,42	65,19	67,22	97,0	-3,0
C	0,50	0,42	65,87	67,22	98,0	-2,0
A	1,00	0,84	134,25	132,87	101,0	1,0
B	1,00	0,84	131,91	132,87	99,3	-0,7
C	1,00	0,84	134,81	132,87	101,5	1,5

Tabla 3.12. Resultados obtenidos en el ensayo de exactitud a bajas concentraciones, mostrando el porcentaje de recuperación y el porcentaje de error.

Si hacemos un análisis estadístico de los datos, obtenemos los siguientes resultados:

- Media (Recuperación) = 98,7%
- SD (Recuperación) = 2,2%
- Límites de confianza 95,0% (Recuperación) =
 - Media: 98,7 +/- 1,7 [97,0;100,4]
 - SD = [1,5;4,2]

❖ Precisión

Repetibilidad

MUESTRA	CONC. MEROPENEM ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	ÁREA ($\text{mV}\cdot\text{s}$)
1	8,41	1388,47
2	8,41	1418,78
3	8,41	1417,20
4	8,41	1417,63
5	8,41	1420,56
6	8,41	1420,40

Media	1413,82
Std. Dev.	12,50
% RSD	0,9

Tabla 3.13. Resultados obtenidos en el estudio de repetibilidad.

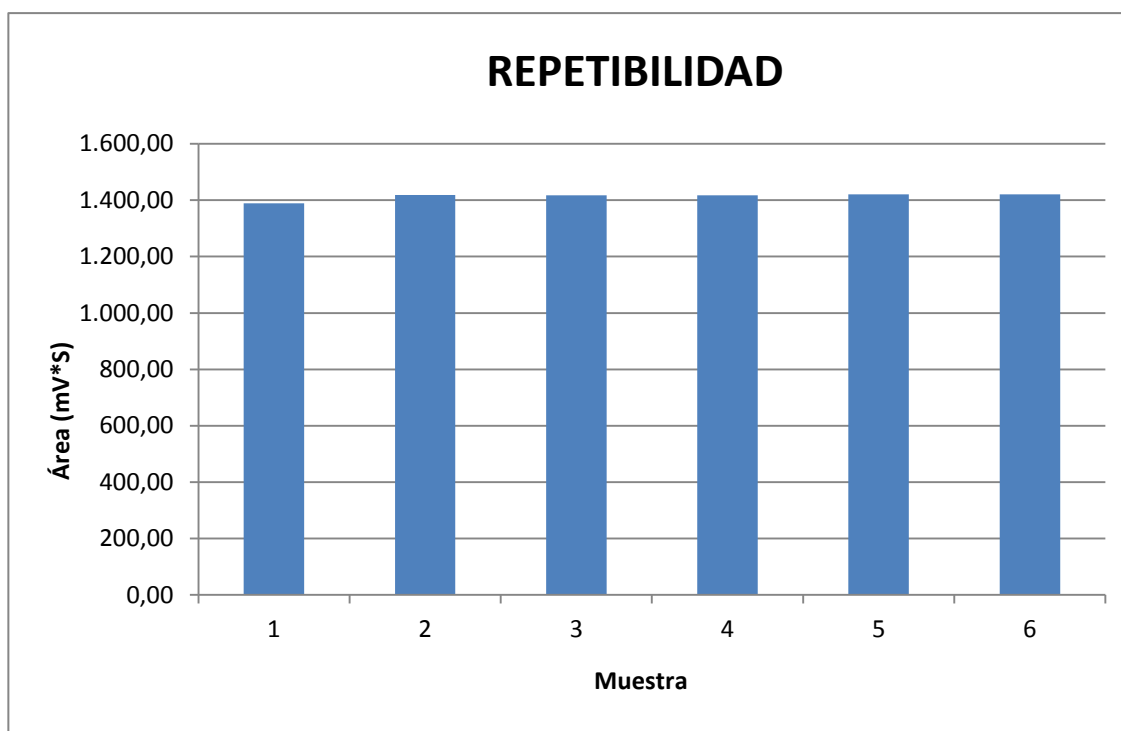


Fig. 3.12. Gráfica obtenida en el estudio de repetibilidad.

Repetibilidad a bajas concentraciones

MUESTRA	CONC. MEROPENEM ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	ÁREA (mv^*s)
1	0,42	65,46
2	0,42	65,27
3	0,42	65,83
4	0,42	66,69
5	0,42	65,16
6	0,42	63,89

Media	65,38
Std. Dev.	0,92
%RSD	1,4

Tabla 3.14. Resultados obtenidos en el estudio de repetibilidad a bajas concentraciones.

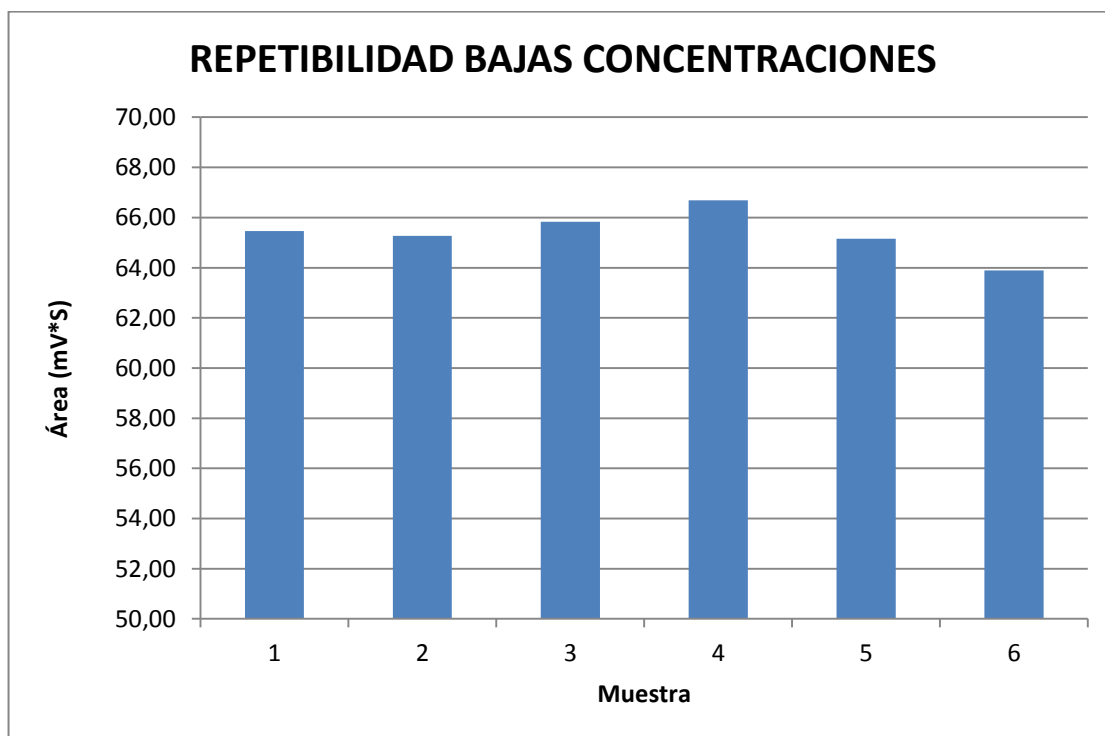


Fig. 3.13. Gráfica obtenida en el estudio de repetibilidad a bajas concentraciones.

Precisión intermedia

El analista 1 en el día 1 obtuvo los siguientes resultados:

MUESTRA	CONC. MEROPENEM ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	ÁREA (mv^*s)
1	8,41	1388,47
2	8,41	1418,78
3	8,41	1417,20
4	8,41	1417,63
5	8,41	1420,56
6	8,41	1420,40

Media	1413,82
Std. Dev.	12,50
%RSD	0,9

Tabla 3.15. Resultados obtenidos en el estudio de precisión intermedia por el analista 1 en el día 1.

El analista 2 en el día 2 obtuvo los siguientes resultados:

MUESTRA	CONC. MEROPENEM ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	ÁREA (mv^*s)
1	8,41	1389,15
2	8,41	1362,85
3	8,41	1383,61
4	8,41	1392,79
5	8,41	1393,48
6	8,41	1402,47

Media	1387,39
Std. Dev.	13,52
%RSD	1,0

Tabla 3.16. Resultados obtenidos en el estudio de precisión intermedia por el analista 2 en el día 2.

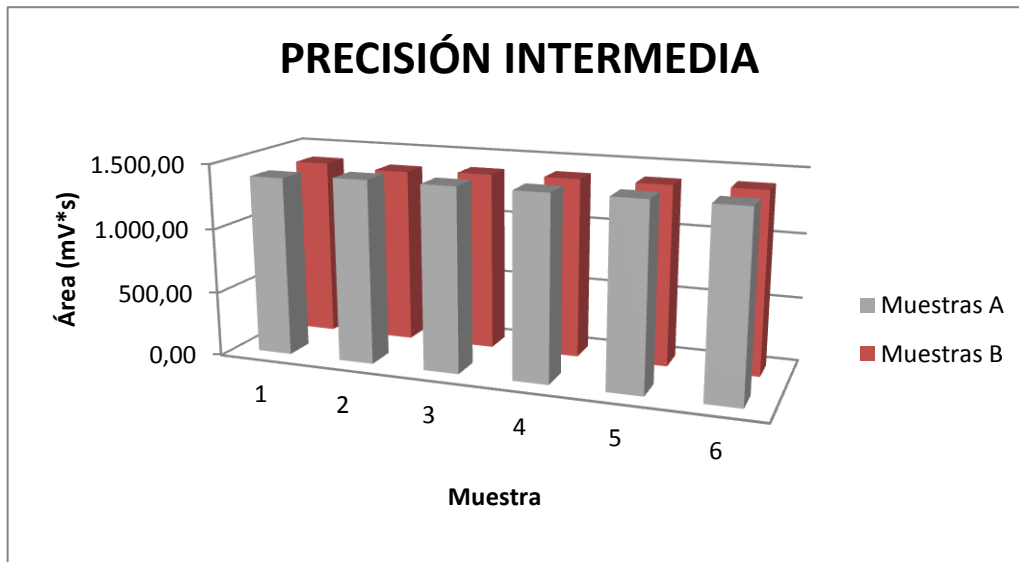


Fig. 3.14. Grafica comparativa obtenida en el estudio de precisión intermedia, comparando ambos analistas y días.

A partir de todos estos datos se realizó la siguiente comparación:

- Promedio de resultados = 1400,61 mV*s
- Desviación estándar = 18,56 mV*s
- RSD% = 1,3%

❖ Rango

Dado que se han tenido que validar el método para el cálculo de concentraciones bajas y concentraciones altas, se han establecido dos rangos, en los que se aplicará una ecuación de la recta diferente para cada uno:

- Rango de concentraciones altas: 1,00 – 50,00 µg/ml.

$$\text{Área} = 157,04 * \text{Concentración} - 4,14$$

- Rango de concentraciones bajas: 0,10 – 1,00 µg/ml.

$$\text{Área} = 154,67 * \text{Concentración} + 0,25$$

❖ **Sensibilidad**Límite de detección

$$L.D. = \frac{3 * \left(\frac{RIQUEZA}{100}\right) * RUIDO * CONCENTRACIÓN}{ALTURA}$$
$$L.D. = \frac{3 * 0,841 * 0,1 \text{ cm} * 0,1 \mu\text{g/ml}}{6,9 \text{ cm}} = 0,00731 \mu\text{g/ml}$$

Límite de cuantificación

$$L.C. = \frac{10 * \left(\frac{RIQUEZA}{100}\right) * RUIDO * CONCENTRACIÓN}{ALTURA}$$
$$L.C. = \frac{10 * 0,841 * 0,1 \text{ cm} * 0,1 \mu\text{g/ml}}{6,9 \text{ cm}} = 0,02437 \mu\text{g/ml}$$

Como en todos los análisis realizados, el valor de concentración más bajo analizado ha sido 0,10 $\mu\text{g/ml}$ de meropenem carbonato trihidrato (0,08 $\mu\text{g/ml}$), será nuestro límite de cuantificación práctico.

L.C. = 0,10 $\mu\text{g/ml}$ (0,08 $\mu\text{g/ml}$)

3.4. DISCUSIÓN

❖ Especificidad

Los resultados de especificidad demuestran que el principio activo meropenem no presenta interferencias ni con su producto de degradación (meropenem open ring) ni con el medio de disolución (agua).

Al analizar agua se observa que la línea base no sufre variaciones con respecto a la propia fase móvil. En la zona del cromatograma correspondiente al tiempo de retención del meropenem no se aprecia ningún cambio. Por tanto, el meropenem mantiene su especificidad con respecto al medio de disolución.

Al analizar meropenem degradado se observa que el meropenem y el meropenem open ring están separados y diferenciados en el cromatograma, apareciendo a tiempos de retención diferentes. Por tanto, el meropenem también mantiene su especificidad con respecto a su principal producto de degradación.

❖ Linealidad

Los resultados del estudio de linealidad del método analítico también demuestran que el método es lineal.

Se tuvieron que hacer dos correlaciones entre concentración y área de los picos; una para concentraciones bajas (0,10 - 1,00 µg/ml) y otra para concentraciones altas (1,00 - 50,00 µg/ml). Se tuvo que realizar de esta manera debido a que no existía exactitud a bajas concentraciones cuando se utilizaba una misma recta de regresión para todos los valores de concentración.

En el análisis de la varianza ANOVA, tanto para altas como para bajas concentraciones, quedó demostrado que existe una relación estadísticamente significativa entre las variables Área y Concentración con un nivel de confianza muy elevado. En ambos casos, existe una relación relativamente fuerte entre las variables.

❖ Exactitud

Los resultados del estudio de exactitud del método analítico también demuestran que el método es exacto.

En primer lugar se hizo un estudio de exactitud para todo el rango de concentraciones, desde 0,10 µg/ml hasta 50,00 µg/ml. Los resultados demostraron que el método era exacto para concentraciones mayores a 1,00 µg/ml, ya que el porcentaje de error obtenido era bajo.

En cambio, este porcentaje de error era muy elevado para concentraciones inferiores a 1,00 µg/ml. Por ello, hubo que realizar una segunda recta de regresión para concentraciones bajas, desde 0,10 µg/ml hasta 1,00 µg/ml, y demostrar la linealidad, precisión y exactitud de la misma. Los resultados demostraron que el método era exacto cuando utilizábamos esta segunda correlación para bajas concentraciones.

De esta manera, quedó demostrado que el método podía ser exacto para todo el rango de concentraciones. En función de la concentración habría que utilizar una correlación u otra.

❖ Precisión

Los resultados del estudio de precisión del método analítico también demuestran que el método es preciso.

En primer lugar, con los resultados del repetibilidad demostraron, con un RSD < 1,5%, que existe repetibilidad del método analítico. Este estudio se demostró tanto a altas como a bajas concentraciones.

En segundo lugar, los resultados de precisión intermedia demostraron, con también un RSD < 1,5%; que existe precisión intermedia. Se pudo demostrar con analistas diferentes y días diferentes.

❖ Rango

El rango de trabajo del presente método analítico queda definido de la siguiente manera:

- Rango de concentraciones altas: 1,00 – 50,00 µg/ml.

$$\text{Área} = 157,04 * \text{Concentración} - 4,14$$

- Rango de concentraciones bajas: 0,10 – 1,00 µg/ml.

$$\text{Área} = 154,67 * \text{Concentración} + 0,25$$

❖ Sensibilidad

El límite de detección del método analítico es de 0,00731 µg/ml.

El límite de cuantificación teórico del método analítico es de 0,024437 µg/ml. Durante el desarrollo del método analítico la concentración mínima que se ha podido analizar es de 0,08 µg/ml.

3.5. CONCLUSIÓN

El método analítico para la valoración del meropenem mediante HPLC es adecuado, ya que los resultados de la validación han sido positivos. Es el método descrito en la *Farmacopea Europea 8.0.* y *USP 38*, por lo que tiene aceptación a nivel comunitario.

Las conclusiones obtenidas son las siguientes:

- El método analítico es específico, cuando se compara con su disolvente y producto de degradación.
- El método analítico es lineal.
- El método analítico es exacto.
- El método analítico es preciso, habiendo estudiado tanto la repetitividad como la precisión intermedia.
- El método analítico permite establecer un rango de análisis.
- El método analítico permite establecer un límite de detección y límite de cuantificación; es decir, la sensibilidad del método.

Con los resultados obtenidos se puede dar por validado el método analítico, según lo establecido en la normativa *ICH Q2 (R1): Validación de métodos analíticos.*

4. ESTUDIO DE ESTABILIDAD

4.1. INTRODUCCIÓN

El objetivo del ensayo de estabilidad fue estudiar la estabilidad del meropenem en diferentes medios de disolución y a diferentes temperaturas. Una vez obtenidos los datos, los contrastamos con los de la ficha técnica del meropenem, de tal manera que se pudiera demostrar si coincidían o no.

En la ficha técnica de meropenem se indica el tiempo que puede permanecer estable el principio activo reconstituido (soluciones 1,00 – 20,00 µg/ml):

Medio reconstitución	Temperatura ambiente (horas)	Nevera (horas)
Agua para inyección	8,0	48,0
NaCl 0,9%	8,0	48,0
Glucosa 5,0%	3,0	14,0
Glucosa 10,0%	2,0	8,0
Glucosa 5%+NaHCO ₃ 0,02%	2,0	8,0
NaCl 0,9%+Glucosa 5,0%	3,0	14,0
Glucosa 5%+NaCl 0,025%	3,0	14,0
Glucosa 5%+KCl 0,15%	3,0	14,0
Manitol 2,5%	3,0	14,0
Manitol 10,0%	3,0	14,0

Tabla 4.1. Tiempos en los que permanece estable el meropenem reconstituido en diferentes medios.

Para poder administrar meropenem, la *Farmacopea Europea 8.0.* establece que la valoración debe estar dentro del 95,0 – 105,0% del valor declarado (criterio general), mientras que la *USP 38 (United States Pharmacopoeia 38)* tiene un criterio específico del 90,0 – 120,0% del valor declarado; siempre y cuando se cumplan las impurezas y productos de degradación.

4.2. MATERIALES Y MÉTODOS

A) MEDIOS DE DISOLUCIÓN

❖ Agua estéril

La ficha técnica dice que el periodo de estabilidad del meropenem en agua estéril es 8,0 horas a 15,0 – 25,0°C, y 48,0 horas a 4,0°C. El agua estéril es un medio de reconstitución empleado en hospitales, sobre todo cuando se administra en bolus. En nuestro caso utilizamos Agua desionizada (Agua MiliQ®).

❖ NaCl 0,9%

La ficha técnica advierte que el meropenem en NaCl 0,9% tiene una estabilidad de 8,0 horas a 15,0 – 25,0°C y 48,0 horas a 4,0°C. El NaCl al 0,9% es isosmótico con la sangre humana, por ello se administra por vía intravenosa.

❖ Glucosa 5,0%

La estabilidad del meropenem en glucosa 5,0%, según la ficha técnica del Meronem®, es de 3,0 horas a 15,0 – 25,0°C y 14,0 horas a 4,0°C. La glucosa al 5,0% es isosmótica con respecto a la sangre humana.

❖ Glucosa 10,0%

La glucosa al 10,0% es el medio que provoca más inestabilidad al meropenem, según la ficha técnica. Su estabilidad es de 2,0 horas a 15,0 – 25,0°C y 8,0 horas a 4,0°C.

❖ PBS

El PBS es un medio que simula al plasma humano, pero la ficha técnica del Meronem® no hace referencia a dicho medio.

B) TEMPERATURAS**❖ Congelador**

El congelador donde se almacenaron las muestras estaba a una temperatura de $-18,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$. La ficha técnica del meropenem advierte que las disoluciones de meropenem no deben congelarse. En publicaciones como *Keel et al, 2010* demuestran que el principio activo no se ve afectado después de congelaciones a $-80,0^{\circ}\text{C}$. En principio, es a la temperatura donde mayor estabilidad cabe esperar.

❖ Nevera

La temperatura de la nevera fue de $4,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$.

❖ Temperatura ambiente

La temperatura ambiente del Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica oscila entre $15,0$ y $25,0^{\circ}\text{C}$. El valor medio durante el estudio fue de $22,0^{\circ}\text{C}$.

❖ Estufa

Para poder simular la temperatura corporal, introducimos las muestras en una estufa a $37,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$. Al ser la temperatura más alta, teóricamente es donde el meropenem va a presentar la degradación más rápida.

C) MUESTRAS Y TIEMPOS DE MUESTREO

- Se prepararon 500 ml de cada medio de disolución: Agua desionizada, NaCl, Glucosa 5,0%, Glucosa 10,0%, PBS.
- Se disolvieron 50 mg de meropenem carbonato trihidrato en cada uno, de tal manera que la concentración final fuera de 84,10 $\mu\text{g/ml}$ de meropenem.
- A continuación se rellenaron recipientes de vidrio con 50 ml de disolución, para después poder llevarlos a sus correspondientes temperaturas. Las disoluciones finales fueron:

1. Agua – Congelador
2. Agua – Nevera
3. Agua – Temperatura ambiente
4. Agua – Estufa
5. NaCl – Congelador
6. NaCl – Nevera
7. NaCl – Temperatura ambiente
8. NaCl – Estufa
9. Glucosa 5,0% - Congelador
10. Glucosa 5,0% - Nevera
11. Glucosa 5,0% - Temperatura ambiente
12. Glucosa 5,0% - Estufa
13. Glucosa 10,0% - Congelador
14. Glucosa 10,0% - Nevera
15. Glucosa 10,0% - Temperatura ambiente
16. Glucosa 10,0% - Estufa
17. PBS – Congelador
18. PBS – Nevera
19. PBS – Temperatura ambiente
20. PBS – Estufa

TIEMPOS DE MUESTREO

- T1: 0,0 h
- T2: 2,0 h
- T3: 5,0 h
- T4: 10,0 h
- T5: 14,0 h
- T6: 25,0 h
- T7: 48,0 h (2 días)
- T8: 72,0 h (3 días)
- T9: 144,0 h (6 días)

Fig. 4.1. Tiempos de muestreo en el ensayo de estabilidad.

D) MÉTODO

- Para cada disolución se analizaron tres muestras para determinar la concentración de meropenem a tiempo cero.
- Se calculó el valor medio de las tres muestras y se estableció como 100,0% de meropenem inicial.
- Se obtuvieron las muestras en los tiempos indicados anteriormente. El volumen de las muestras era de 2 ml y no se realizaba reposición. Este volumen se pasaba por un filtro de 0,45 μm .
- Valoración de meropenem por HPLC para cada muestra.
- Cálculo de la concentración y del porcentaje remanente.

4.3. RESULTADOS

❖ Estabilidad según el medio de disolución

Agua

MEROPENEM									
TIEMPO (h)	MUESTRA	TR (min)	ÁREA (mV*s)	%	TIEMPO (h)	MUESTRA	TR (min)	ÁREA (mV*s)	%
0,0	1	6,7	12385,27	-	25,0	CONG	6,4	11819,89	96,1
0,0	2	6,7	12285,61	-	25,0	NEV	6,4	11780,47	95,8
0,0	3	6,7	12223,98	-	25,0	AMB	6,4	11557,60	94,0
0,0	Media	-	12298,28	100,0	25,0	EST	6,5	10158,17	82,6
2,0	CONG	6,6	12367,80	100,6	48,0	CONG	6,5	11464,22	93,2
2,0	NEV	6,6	12152,37	98,8	48,0	NEV	6,5	11921,49	96,9
2,0	AMB	6,7	12255,35	99,7	48,0	AMB	6,5	11403,68	92,7
2,0	EST	6,6	12237,78	99,5	48,0	EST	6,5	8334,83	67,8
5,0	CONG	6,5	12175,17	99,0	72,0	CONG	6,5	11313,68	92,0
5,0	NEV	6,5	11957,83	97,2	72,0	NEV	6,4	11988,39	97,5
5,0	AMB	6,5	11866,20	96,5	72,0	AMB	6,5	10958,61	89,1
5,0	EST	6,5	11573,60	94,1	72,0	EST	6,5	6739,13	54,8
10,0	CONG	6,5	12191,96	99,1	144,0	CONG	6,4	10989,95	89,4
10,0	NEV	6,4	11935,70	97,1	144,0	NEV	6,4	11840,14	96,3
10,0	AMB	6,5	11851,92	96,4	144,0	AMB	6,4	9836,05	80,0
10,0	EST	6,5	11522,44	93,7	144,0	EST	6,4	3618,01	29,4
14,0	CONG	6,5	11911,09	96,9	360,0	CONG	6,9	10269,65	83,5
14,0	NEV	6,5	11814,91	96,1	360,0	NEV	6,9	10766,31	87,5
14,0	AMB	6,5	11859,71	96,4	360,0	AMB	6,9	6587,89	53,6
14,0	EST	6,5	11257,00	91,5	360,0	EST	6,9	639,38	5,2

Tabla 4.2. Resultados del estudio de estabilidad en agua.

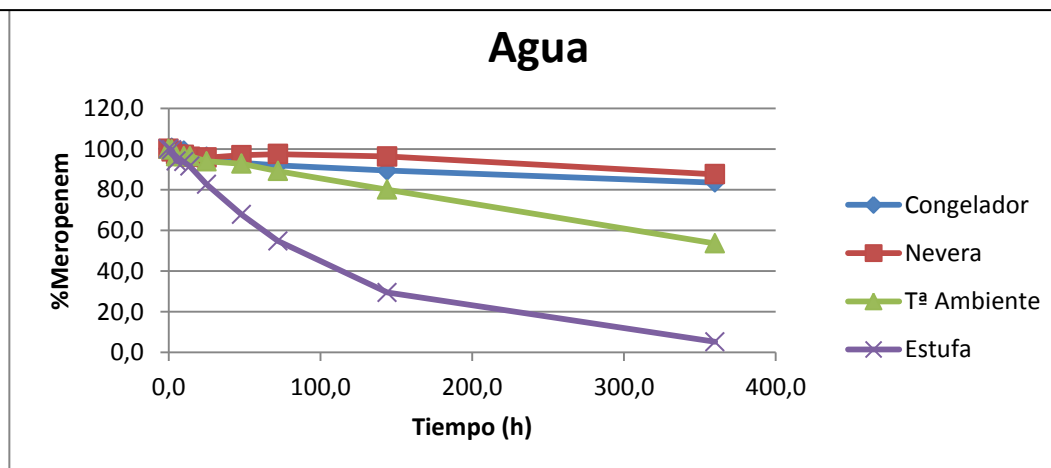


Fig. 4.2. Gráfico del estudio de estabilidad en agua.

NaCl 0,9%

PMEROPENEM									
TIEMPO (h)	MUESTRA	TR (min)	ÁREA (mV*s)	%	TIEMPO (h)	MUESTRA	TR (min)	ÁREA (mV*s)	%
0,0	1	6,4	10672,01	-	25,0	CONG	6,2	9694,53	89,0
0,0	2	6,4	10855,25	-	25,0	NEV	6,2	10166,99	93,4
0,0	3	6,4	11135,54	-	25,0	AMB	6,2	9941,97	91,3
0,0	Media	-	10887,60	100,0	25,0	EST	6,3	8996,05	82,6
2,0	CONG	6,3	11510,64	105,7	48,0	CONG	6,3	9880,28	90,8
2,0	NEV	6,3	11478,92	105,4	48,0	NEV	6,3	9899,58	90,9
2,0	AMB	6,3	10873,94	99,9	48,0	AMB	6,3	9824,43	90,2
2,0	EST	6,3	10704,09	98,3	48,0	EST	6,3	7625,75	70,0
5,0	CONG	6,2	10655,77	97,9	72,0	CONG	6,3	9798,75	90,0
5,0	NEV	6,2	11008,77	101,1	72,0	NEV	6,3	9726,52	89,3
5,0	AMB	6,2	10954,94	100,6	72,0	AMB	6,3	9472,87	87,0
5,0	EST	6,2	10408,58	95,6	72,0	EST	6,3	6070,69	55,8
10,0	CONG	6,3	10643,38	97,8	144,0	CONG	6,1	9947,37	91,4
10,0	NEV	6,3	10643,62	97,8	144,0	NEV	6,1	9811,34	90,1
10,0	AMB	6,3	10670,09	98,0	144,0	AMB	6,1	9067,47	83,3
10,0	EST	6,3	9827,07	90,3	144,0	EST	6,2	3221,41	29,6
14,0	CONG	6,3	10874,19	99,9	360,0	CONG	6,3	8991,74	82,6
14,0	NEV	6,2	10487,85	96,3	360,0	NEV	6,3	8496,90	78,0
14,0	AMB	6,2	10690,24	98,2	360,0	AMB	6,3	6369,59	58,5
14,0	EST	6,2	10344,62	95,0	360,0	EST	6,3	537,35	4,9

Tabla 4.3. Resultados del estudio de estabilidad en NaCl.

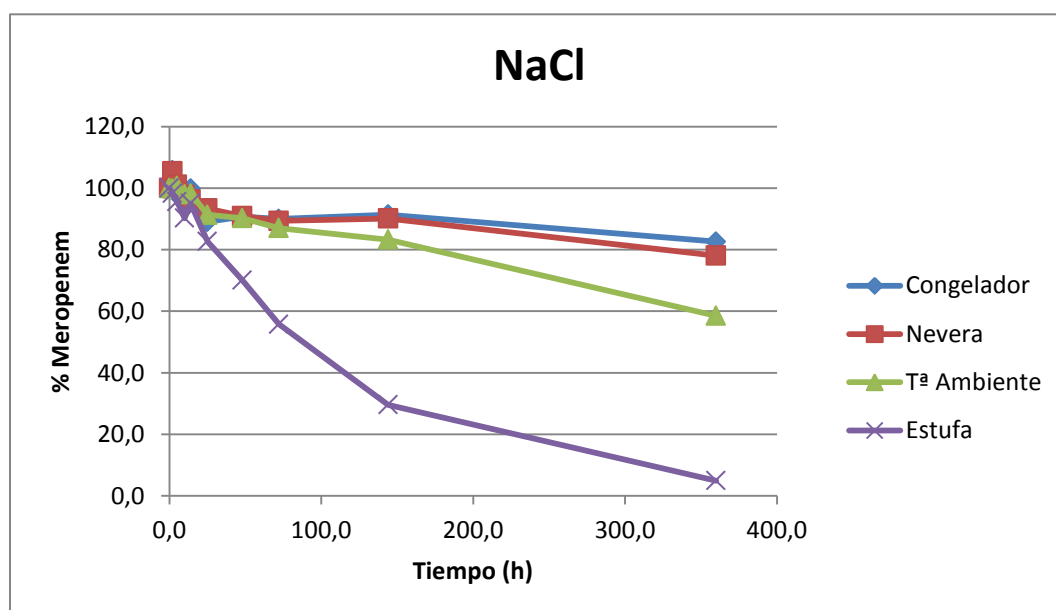


Fig. 4.3. Gráfico del estudio de estabilidad en NaCl.

Glucosa 5,0%

MEROPENEM									
TIEMPO (h)	MUESTRA	TR (min)	ÁREA (mV*s)	%	TIEMPO (h)	MUESTRA	TR (min)	ÁREA (mV*s)	%
0,0	1	6,7	12376,65	-	25,0	CONG	-	-	-
0,0	2	6,7	12342,23	-	25,0	NEV	6,5	10959,19	88,7
0,0	3	6,7	12358,79	-	25,0	AMB	6,5	9302,19	75,3
0,0	Media	-	12359,22	100,0	25,0	EST	6,5	5649,22	45,7
2,0	CONG	6,5	11992,00	97,0	48,0	CONG	6,5	10741,44	86,9
2,0	NEV	6,5	11739,31	95,0	48,0	NEV	6,5	10260,10	83,0
2,0	AMB	6,5	11863,03	96,0	48,0	AMB	6,5	7533,06	61,0
2,0	EST	6,5	11330,58	91,7	48,0	EST	6,5	3046,39	24,7
5,0	CONG	6,5	11728,47	94,9	72,0	CONG	6,4	10394,06	84,1
5,0	NEV	6,5	11270,15	91,2	72,0	NEV	6,5	9474,61	76,7
5,0	AMB	6,5	11236,58	90,9	72,0	AMB	6,5	6249,28	50,6
5,0	EST	6,5	10460,90	84,6	72,0	EST	6,5	1768,73	14,3
10,0	CONG	6,5	11454,18	92,7	144,0	CONG	6,4	10220,14	82,7
10,0	NEV	6,5	11218,54	90,8	144,0	NEV	6,4	7825,73	63,3
10,0	AMB	6,5	10774,11	87,2	144,0	AMB	6,4	4727,37	38,3
10,0	EST	6,5	8768,48	71,0	144,0	EST	6,4	396,16	3,2
14,0	CONG	6,4	11411,78	92,3	360,0	CONG	6,9	10153,00	82,2
14,0	NEV	6,4	11050,73	89,4	360,0	NEV	6,9	5660,39	45,8
14,0	AMB	6,5	10325,26	83,5	360,0	AMB	6,9	2750,50	22,3
14,0	EST	6,4	8055,07	65,2	360,0	EST	-	0,00	0,0

Tabla 4.4. Resultados del estudio de estabilidad en glucosa 5%.

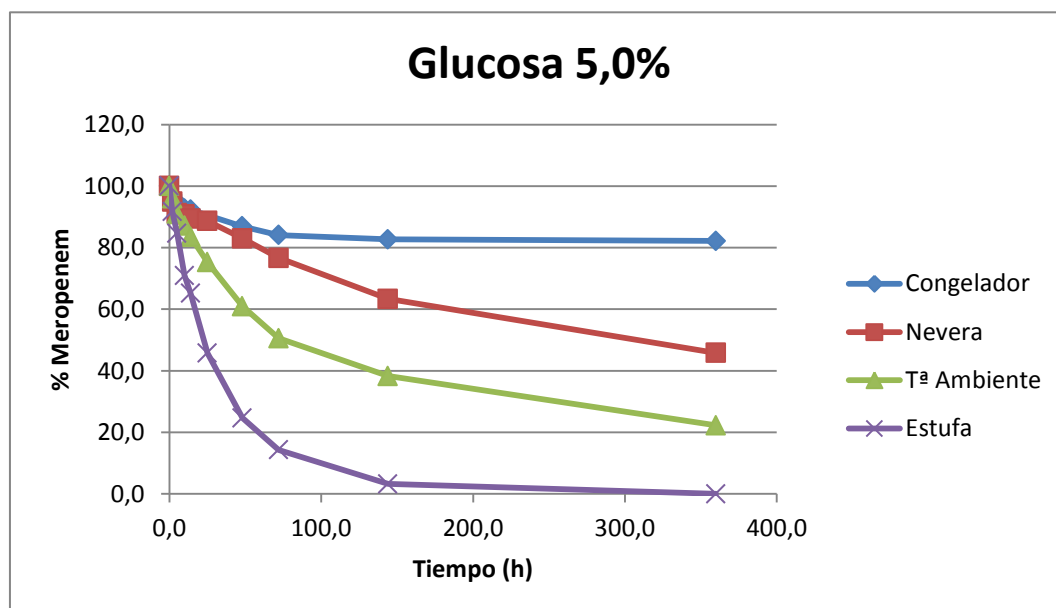


Fig. 4.4. Gráfico del estudio de estabilidad en glucosa 5%.

Glucosa 10,0%

PICO MEROPENEM									
TIEMPO (h)	MUESTRA	TR (min)	ÁREA (mV*s)	%	TIEMPO (h)	MUESTRA	TR (min)	ÁREA (mV*s)	%
0,0	1	6,7	12195,35	-	25,0	CONG	-	-	-
0,0	2	6,7	12185,04	-	25,0	NEV	6,5	10191,85	83,7
0,0	3	6,7	12163,58	-	25,0	AMB	6,5	7653,09	62,8
0,0	Media	-	12181,33	100,0	25,0	EST	6,5	3511,29	28,8
2,0	CONG	6,5	11990,49	98,4	48,0	CONG	6,5	10558,79	86,7
2,0	NEV	6,5	11783,44	96,7	48,0	NEV	6,5	9121,54	74,9
2,0	AMB	6,5	11217,92	92,1	48,0	AMB	6,5	5291,42	43,4
2,0	EST	6,5	11131,93	91,4	48,0	EST	6,4	1442,10	11,8
5,0	CONG	6,5	11364,96	93,3	72,0	CONG	6,5	10377,43	85,2
5,0	NEV	6,5	11133,28	91,4	72,0	NEV	6,5	7960,90	65,4
5,0	AMB	6,5	10076,50	82,7	72,0	AMB	6,5	3960,03	32,5
5,0	EST	6,5	9960,90	81,8	72,0	EST	6,4	613,28	5,0
10,0	CONG	6,5	11216,29	92,1	144,0	CONG	6,4	10084,19	82,8
10,0	NEV	6,5	10749,55	88,3	144,0	NEV	6,4	5801,01	47,6
10,0	AMB	6,5	9313,92	76,5	144,0	AMB	6,4	2502,47	20,5
10,0	EST	6,5	7556,72	62,0	144,0	EST	6,4	69,62	0,6
14,0	CONG	6,4	11172,24	91,7	360,0	CONG	6,9	10368,12	85,1
14,0	NEV	6,4	10533,80	86,5	360,0	NEV	6,8	3902,79	32,0
14,0	AMB	6,4	9482,91	77,9	360,0	AMB	6,9	1285,52	10,6
14,0	EST	6,4	5942,24	48,8	360,0	EST	-	0,00	0,0

Tabla 4.5. Resultados del estudio de estabilidad en glucosa 10%.

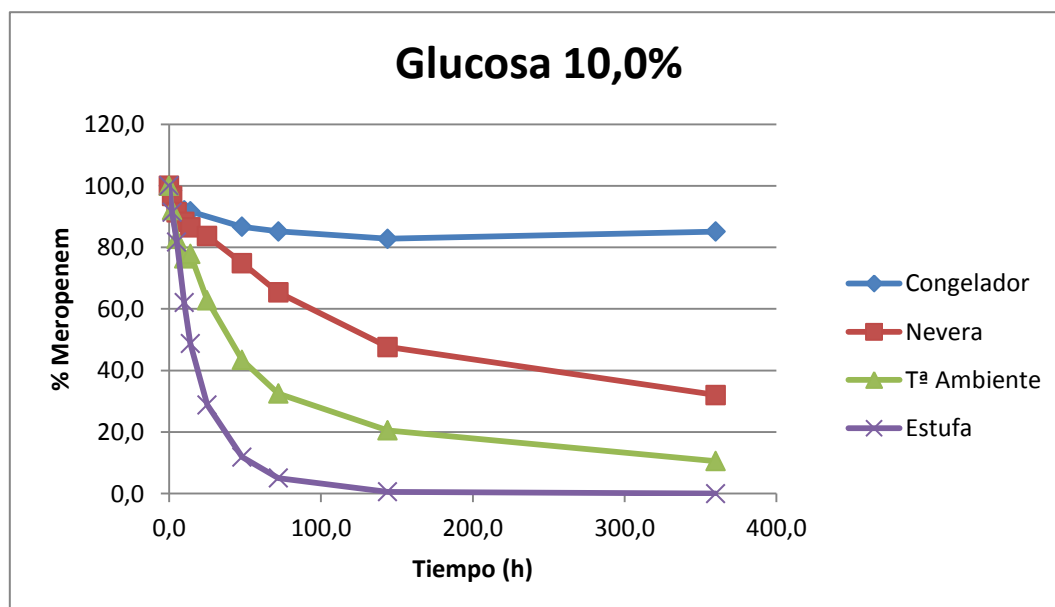


Fig. 4.5. Gráfico del estudio de estabilidad en glucosa 10%.

❖ PBS

MEROPENEM									
TIEMPO (h)	MUESTRA	TR (min)	ÁREA (mV*s)	%	TIEMPO (h)	MUESTRA	TR (min)	ÁREA (mV*s)	%
0,0	1	6,4	12193,81	-	25,0	CONG	-	-	-
0,0	2	6,4	12470,10	-	25,0	NEV	6,1	11715,75	94,4
0,0	3	6,4	12585,52	-	25,0	AMB	6,1	11656,06	93,9
0,0	Media	-	12416,48	100,0	25,0	EST	6,1	9353,05	75,3
2,0	CONG	6,2	12310,14	99,1	48,0	CONG	6,1	12012,49	96,8
2,0	NEV	6,1	12286,35	99,0	48,0	NEV	6,1	11838,31	95,3
2,0	AMB	6,1	12174,59	98,1	48,0	AMB	6,1	10882,65	87,7
2,0	EST	6,1	11951,44	96,3	48,0	EST	6,1	6658,08	53,6
5,0	CONG	6,1	12247,84	98,6	72,0	CONG	6,1	11888,97	95,8
5,0	NEV	6,1	11930,90	96,1	72,0	NEV	6,1	11771,22	94,8
5,0	AMB	6,1	11533,62	92,9	72,0	AMB	6,1	10589,32	85,3
5,0	EST	6,1	11312,12	91,1	72,0	EST	6,1	5017,11	40,4
10,0	CONG	6,2	12258,31	98,7	144,0	CONG	6,0	11509,62	92,7
10,0	NEV	6,1	11824,17	95,2	144,0	NEV	6,0	11313,39	91,1
10,0	AMB	6,1	11164,08	89,9	144,0	AMB	6,1	9014,64	72,6
10,0	EST	6,1	11120,95	89,6	144,0	EST	6,0	1837,88	14,8
14,0	CONG	6,1	12284,90	98,9	360,0	CONG	6,2	9888,35	79,6
14,0	NEV	6,1	11900,77	95,9	360,0	NEV	6,2	9026,34	72,7
14,0	AMB	6,1	10806,82	87,0	360,0	AMB	6,2	5754,10	46,3
14,0	EST	6,1	9742,70	78,5	360,0	EST	6,2	98,66	0,8

Tabla 4.6. Resultados del estudio de estabilidad en PBS.

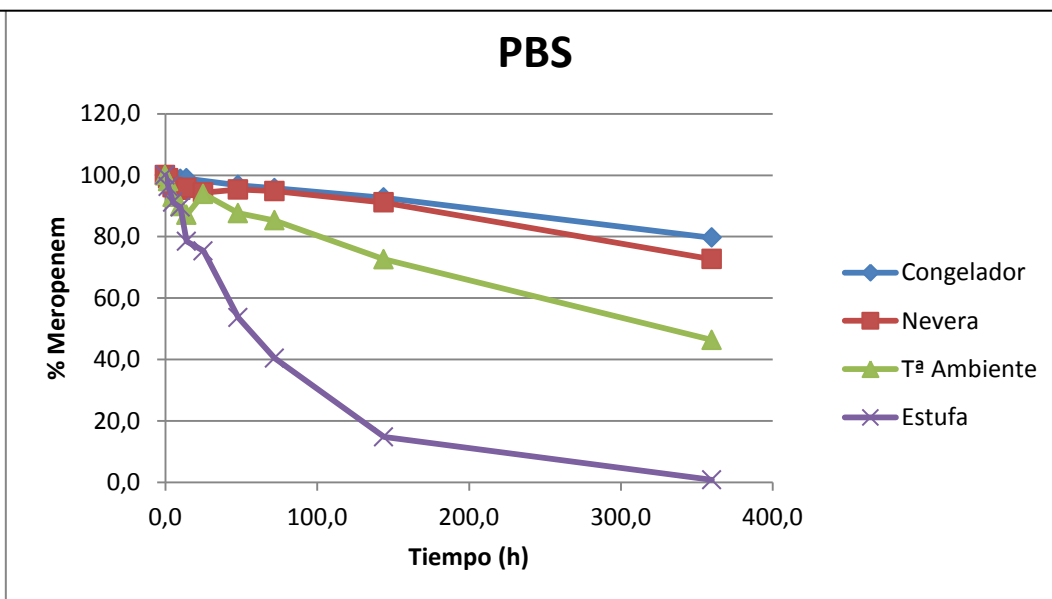


Fig. 4.6. Gráfico del estudio de estabilidad en PBS.

❖ Estabilidad según la temperatura

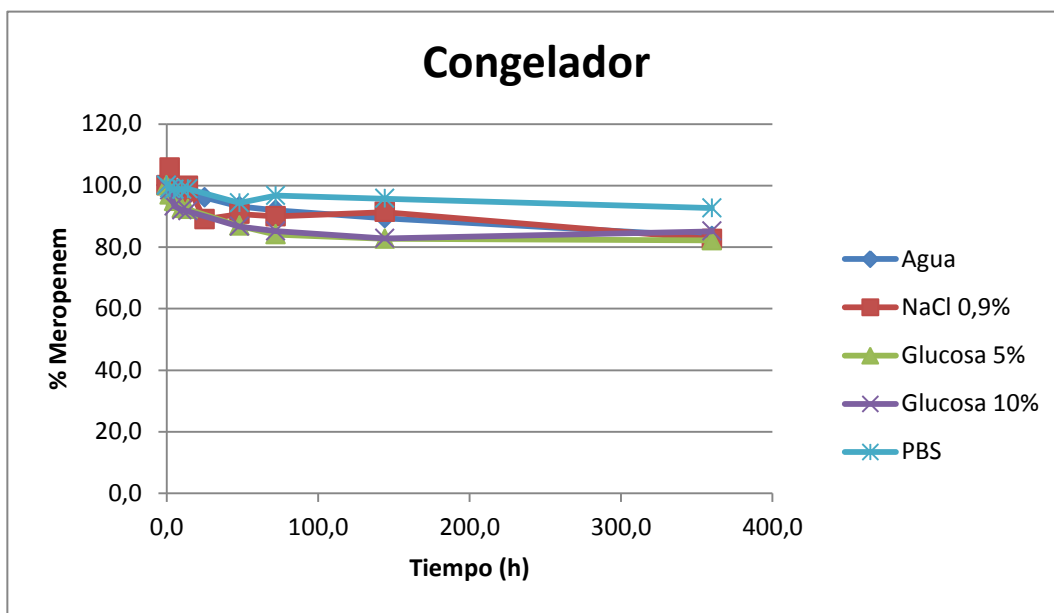


Fig. 4.7. Gráfico del estudio de estabilidad en congelador.

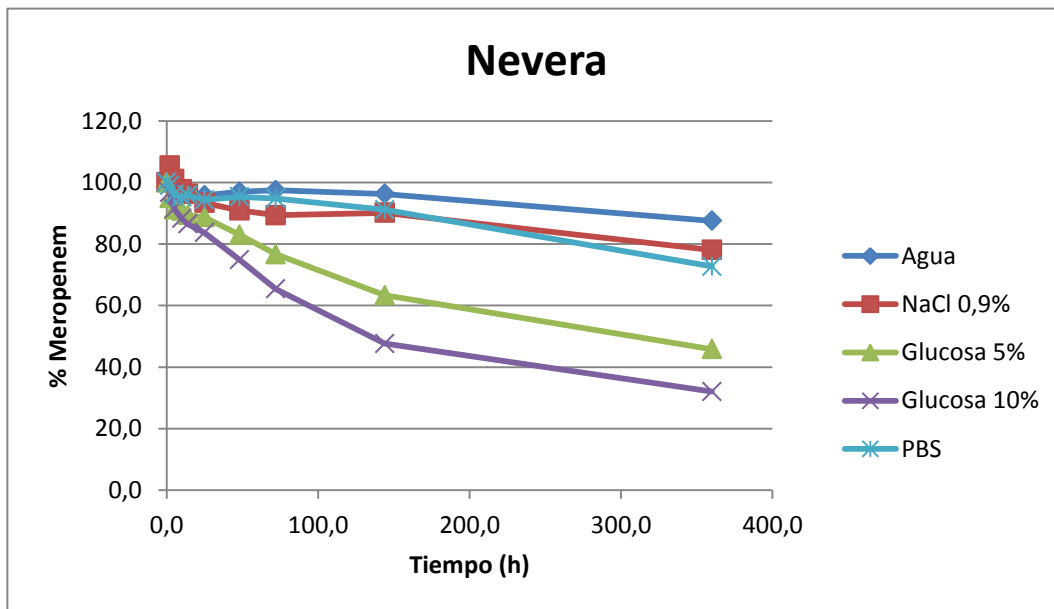


Fig. 4.8. Gráfico del estudio de estabilidad en nevera.

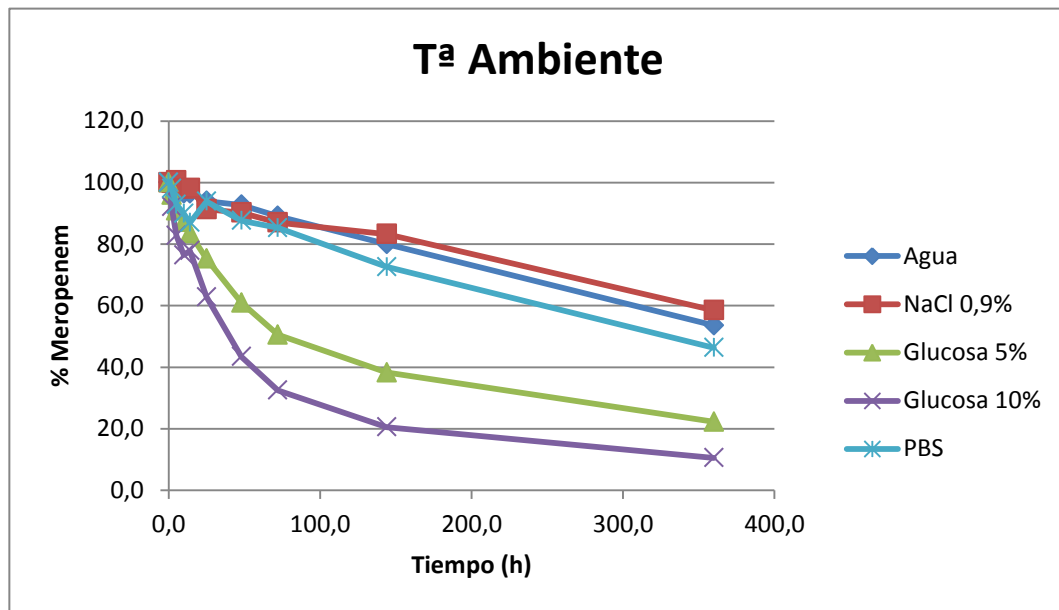


Fig. 4.9. Gráfico del estudio de estabilidad a temperatura ambiente.

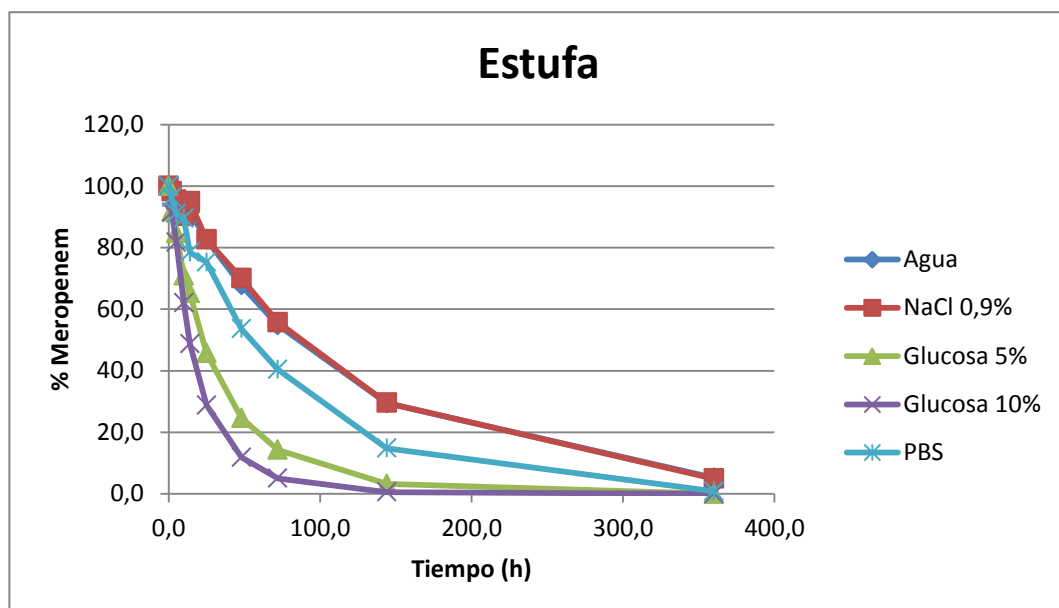


Fig. 4.10. Gráfico del estudio de estabilidad en estufa.

4.4. DISCUSIÓN

Los datos de estabilidad en uso de la ficha técnica del meropenem se asemejan bastante con los resultados obtenidos en este estudio de estabilidad.

En las gráficas podemos verificar que los factores que causan su degradación son:

Temperatura de almacenamiento

A menor temperatura, la degradación es más lenta. Por ello la temperatura a la que se presenta mayor estabilidad es la del congelador, y la que temperatura a la que se presenta mayor degradación es la proporcionada por la estufa. Se demuestra esta situación para todos los medios de disolución.

Medio de reconstitución

Los medios más estables son el agua, NaCl 0,9% y PBS. Por el contrario, los medios glucosados proporcionan una gran inestabilidad al meropenem disuelto. Probablemente esto se deba a que la glucosa proporciona cierta acidez al medio, lo que facilita la degradación de nuestro principio activo. Además, a mayor proporción de glucosa, mayor degradación del principio activo.

La estabilidad del meropenem es mucho menor cuando se encuentra disuelto, que cuando se encuentra sin reconstituir, sea cual sea el medio.

4.5. CONCLUSIÓN

El estudio de estabilidad nos permite obtener las siguientes conclusiones

- El meropenem es una molécula bastante inestable. La ruta de degradación postulada por las diferentes publicaciones, explica que el anillo β -lactámico del meropenem se hidroliza en medio acuoso cuando su átomo de Nitrógeno –altamente reactivo- tiene un ataque nucleofílico que provoca la apertura de la estructura cíclica, y por tanto, la pérdida de su actividad (*Elragehy et al, 2008*).
- La temperatura influye en la estabilidad, a mayor temperatura, mayor velocidad de degradación. En la publicación de *Mendez, A.S.L., et al, 2006*; también se demuestra que la temperatura influye en la degradación del meropenem, según una cinética de orden uno. Incluso recomiendan almacenar el meropenem en condiciones especiales para protegerlo de altas temperaturas, aunque hay estudios que demuestran que son estables a temperatura ambiente durante su periodo de validez (*Cielecka-Piontek, J., et al, 2008*).
- El medio de disolución influye en la estabilidad. Según la composición del medio la estabilidad es diferente. Cuando el meropenem se encuentra disuelto, en cualquiera de los medios, la estabilidad es menor que cuando se encuentra en estado sólido, hay varios estudios que analizan la influencia de la humedad en el meropenem (*Cielecka-Piontek, J., et al, 2008*).
- Emplear PBS (simula condiciones sanguíneas) no es un factor crítico para estudiar la estabilidad, en cambio, la temperatura de 37,0°C, si va a influir notablemente en la estabilidad del meropenem liberado.

Existen estudios como el de *Berthoin et al, 2010*; que aseguran que la estabilidad depende también de la concentración, proponen que a mayor concentración, mayor degradación, seguramente porque influyen en la acidez del medio.

5. SISTEMAS DE LIBERACIÓN CONTROLADA DE MEROPENEM

5.1. INTRODUCCIÓN

Este capítulo de la investigación se basa en obtener formas farmacéuticas que permitan la liberación controlada de meropenem. Es fundamental obtener una forma farmacéutica que sea fácil de fabricar, analizar y administrar.

Para poder obtener formas farmacéuticas de liberación prolongada, se ha empleado como excipiente el ácido poliláctico-co-glicólico. El objetivo ha sido obtener microesferas de meropenem, desde donde el principio activo pueda ser liberado al medio de forma prolongada. A continuación se han tratado de incorporar estas microesferas en diversas formas farmacéuticas (minicomprimidos implantables y suspensiones intramusculares) que puedan ser fácilmente fabricadas, analizadas y administradas.

En primer lugar se ha realizado un estudio de compatibilidad entre el meropenem y el excipiente que se utilizará para provocar la liberación controlada (PLGA), mediante DSC (calorimetría diferencial de barrido), con el fin de garantizar que no existen interacciones físicas cuando ambos compuestos se presentan juntos.

A continuación, se ha desarrollado el proceso de fabricación de microesferas de PLGA y meropenem, mediante el proceso de atomización. Las microesferas obtenidas fueron caracterizadas y analizadas.

Una vez obtenidas las microesferas, se buscó la forma farmacéutica más adecuada para su administración. Para ello se probaron dos alternativas, minicomprimidos de microesferas y suspensión de microesferas, ambas para una administración local, en la propia herida quirúrgica. Tanto los comprimidos como las suspensiones fueron caracterizados y analizados.

5.2. COMPATIBILIDAD MEROPENEM-PLGA

MATERIALES Y MÉTODOS

A) MATERIALES

Muestras:

Muestra	Peso (mg)
Meropenem polvo	5,0
PLGA 504 sin atomizar	4,4
PLGA 504 atomizado	5,3
Mezcla de Meropenem/PLGA 504 atomizado (50:50)	4,1
Comprimidos triturados de Meropenem/PLGA 504 atomizado (66:33)	4,5

Tabla 5.1. Mezclas analizadas en el ensayo de Calorimetría Diferencial del Barrido (DSC).

B) MÉTODOS

Para comprobar que no existen interacciones entre el meropenem y el PLGA se realizó un ensayo de Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC).

El equipo empleado fue:

- DSC 820 Mettler Toledo®, del Departamento de Físico Química II de la Facultad de Farmacia de la UCM.

Condiciones del ensayo:

- Rango de temperaturas: 20,0°C – 180,0°C
- Velocidad: 10,0 °C/min
- Gas empleado: Nitrógeno

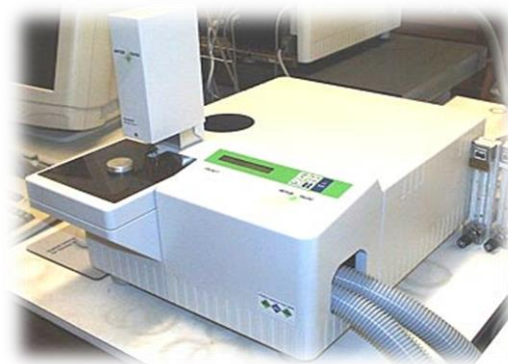


Fig. 5.1. Equipo de Calorimetría Diferencial del Barrido (DSC).

RESULTADOS

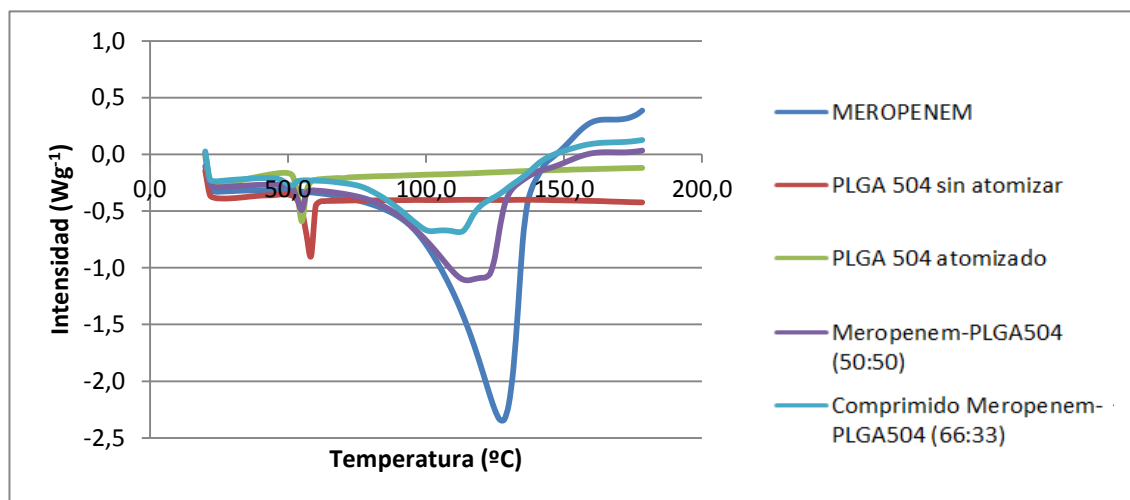


Fig. 5.2. Gráfica obtenida en el equipo de Calorimetría Diferencial del Barrido (DSC).

DISCUSIÓN

A partir de los datos obtenidos por Calorimetría Diferencial de Barrido podemos observar:

- El meropenem presenta un punto de fusión a 127,2 $^{\circ}C$. Este punto de fusión no es muy definido, ya que este pico presenta una anchura considerable.
- El PLGA presenta una temperatura de transición vítrea a 57,7 $^{\circ}C$. A esta temperatura el PLGA pasa de estado cristalino a estado amorfo.
- El PLGA atomizado presenta una temperatura de transición vítrea a 54,7 $^{\circ}C$. Este descenso en la temperatura puede deberse a que en el proceso de atomización se haya modificado la cristalinidad. No obstante, este descenso no es muy acusado.
- La mezcla pulverulenta de PLGA 504:meropenem (50:50) presenta dos picos, uno a 54,4 $^{\circ}C$ y otro a 115,5 $^{\circ}C$. El primer pico representa la temperatura de transición vítrea del PLGA, que no varía con respecto al PLGA atomizado solo. El punto de fusión del meropenem presenta un descenso, que seguramente se deba a un cambio en las propiedades cristalinas del meropenem en presencia de PLGA fundido.
- El comprimido de PLGA 504:meropenem (66:33) también presenta dos picos, uno a 51,1 $^{\circ}C$ y otro a 112,4 $^{\circ}C$. Son temperaturas similares a la mezcla pulverulenta, aunque existe un ligero descenso. Este descenso puede deberse a que existe una unión más íntima entre el antibiótico y el polímero.

5.3. MICROESFERAS: ATOMIZACIÓN

INTRODUCCIÓN

La atomización es uno de los métodos empleados para la elaboración de microesferas. No existen estudios sobre la elaboración de este tipo de sistemas con meropenem, por lo que se ha elegido este procedimiento, que es un método barato, sencillo y rápido.

A) EQUIPO ATOMIZADOR

Un atomizador consta de las siguientes partes:

- ❖ **Muestras:** disoluciones, suspensiones, emulsiones.

- ❖ **Bomba peristáltica:** Conduce la muestra desde su recipiente hasta la pistola o disco atomizador. La conducción se realiza a través de gomas de silicona.

- ❖ **Dispositivo de formación de gotículas:** puede ser de distintos tipos:
 - Tipo pistola o “nozzle”: una corriente de aire a presión va rompiendo el líquido en gotas, que el sistema de bombeo fuerza a pasar a través de un orificio de pequeño tamaño. Para que el aire llegue a presión se necesita un equipo compresor. A menor diámetro del orificio, menor tamaño de partícula.
 - Tipo disco: un disco gira a gran velocidad, rompiendo el líquido en gotas pequeñas. A mayor velocidad del disco, menor tamaño de gota.

- ❖ **Cámara de evaporación:** tanto la pistola como el disco, pulverizan el líquido dentro de una cámara de evaporación, formando gotículas. La temperatura está regulada y debe ser superior a la temperatura de evaporación de los solventes o dispersantes. La evaporación se produce de forma muy rápida y sobre las gotículas líquidas, de tal forma que el contenido precipita en forma de micropartículas. Se produce la evaporación del líquido contenido en las gotículas y el cambio de estructura o polimerización del material transportador (si existe) por efecto de la temperatura.

❖ **Ciclón separador:**

- Las partículas atomizadas pasan de la cámara de evaporación a un ciclón, que es un cilindro vertical de fondo cónico. Separa partículas sólidas pequeñas de los gases. La mezcla de gas y partículas sólidas entra tangencialmente por la parte superior. La morfología del ciclón genera un movimiento giratorio, y este movimiento impulsa a las partículas hacia la pared de forma radial.
- El aire fluye hacia abajo en una espiral o vórtice adyacente a la pared. Cuando el aire se aproxima al fondo cónico, vuelve a subir en una pequeña espiral en el centro del cono y del cilindro.

❖ **Vaso colector:** Las partículas son arrastradas hacia la pared y caen al fondo, saliendo por la parte inferior del cono, donde hay un vaso colector acoplado.

❖ **Vaso separador:** en la parte inferior de la cámara de evaporación. Separa partículas grandes de partículas pequeñas. Si la fuerza de la gravedad es mayor a la de aspiración, las partículas caen a este vaso.

❖ **Sistema calefactor:** calienta la cámara de evaporación.

❖ **Sistema de aspiración:** Conectado al final del sistema, tras el ciclón separador. Recolecta los gases evaporados en el proceso y produce cierto vacío. Permite que las partículas de tamaño adecuado pasen de la cámara de evaporación al ciclón separador.



Fig. 5.3. Equipo Atomizador de laboratorio
Buchi Mini Spray Dryer B-191.

B) PARÁMETROS

Los parámetros críticos del proceso de atomización son:

- ❖ **Temperatura de entrada (Te):** se establece en función de la temperatura de evaporación de los solventes.

- ❖ **Temperatura de salida (Ts):** representa cómo se está produciendo el proceso (enfriamiento por evaporación). La temperatura de salida (*outlet temperature*) no se programa por receta, sino que surge de la combinación del resto de factores.

- ❖ **Diferencia de Temperaturas (ΔT):**
 - $\uparrow \Delta T$ (a = Te) \rightarrow \uparrow Humedad residual y \uparrow Rendimiento

- ❖ **Presión del aire** de la pistola atomizadora.
 - \uparrow Presión \rightarrow \downarrow Tamaño de partícula

- ❖ **Aspiración del aire:**
 - Productos con bajo peso específico y de pequeño tamaño requieren baja aspiración.
 - Turbulencias en la salida de la pistola se pueden evitar aumentando la aspiración.

- ❖ **Velocidad de bombeo:**
 - A \uparrow velocidad \rightarrow $\uparrow \Delta T$
 - A \downarrow velocidad (a = Te y aspiración) \rightarrow \downarrow Humedad residual, \downarrow Tamaño de gota y \downarrow Rendimiento

C) APLICACIONES

La atomización es un proceso que se puede emplear para obtener distintos tipos de productos:

- ❖ Polvos muy finos, con tamaño de partícula pequeño y superficie específica elevada. Por ejemplo, para mejorar la reología para su posterior compresión.
- ❖ Micropartículas:
 - Microesferas: en el medio líquido se dispersan el fármaco y el material de recubrimiento. Este material forma una red a elevadas temperaturas (por alteración de su estructura o polimerización), de tal manera que en la cámara de evaporación forma una matriz en la que queda atrapado o adsorbido el fármaco.
 - Microcápsulas: el medio líquido es una emulsión, donde la fase externa es oleosa y contiene el polímero; y la fase interna es acuosa y contiene el fármaco. Al atomizar se forman las microcápsulas.
- ❖ Aplicaciones no farmacéuticas.

D) VENTAJAS E INCONVENIENTES

❖ **Ventajas**

- Es un proceso de un solo paso, ya que el producto final se obtiene directamente a partir de la mezcla inicial. Por eso es un procedimiento sencillo y rápido.
- Baja distribución de tamaños.
- Alto grado de desecación.
- Fácilmente transferible a escala industrial.
- Alto rendimiento.
- Permite fabricar mucho producto en poco tiempo.
- Proceso económico.
- Permite trabajar con medios acuosos, oleosos y orgánicos.
- Fácilmente reproducible, ya que el control de los parámetros de atomización es sencillo.
- Posibilidad de usar sustancias termolábiles, ya que su paso por la cámara de evaporación dura pocos segundos. Además la evaporación produce un enfriamiento de la superficie de la partícula (enfriamiento adiabático).

❖ Inconvenientes

- El atomizador es un equipo caro.
- Los sistemas con pistola o “nozzle” pueden obstruirse.
- Las microesferas resultantes pueden ser más porosas que las obtenidas mediante otros procesos, por lo que la liberación controlada puede verse afectada.
- Posible estrés de los componentes al pasar por el “nozzle”.
- Normalmente disolventes orgánicos.
- Limpieza tediosa.
- El rendimiento nunca es del 100%.
- Discontinuo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los estudios realizados en este trabajo han sido realizados con un atomizador **Buchi® Mini Spray Dryer B-191** (Flawil, Suiza), que presenta un dispositivo tipo pistola cuya boquilla tiene un orificio de 0,7 mm.

A) MATERIALES

Los materiales empleados fueron:

- Meropenem (mismo lote empleado en la validación del método analítico y estudios de estabilidad)
- PLGA
 - PLGA Resomer® RG 503
 - PLGA Resomer® RG 504
 - PLGA Resomer® RG 504H
 - Purasorb 5004 PDLG
- Lactosa
- Polietilenglicol 4000
- Diclorometano

B) MÉTODOS

Durante el presente estudio se realizaron los siguientes ensayos:

- **Disoluciones de lactosa:**
Primera aproximación con el equipo (entrenamiento). Se decidió probar con un excipiente barato como la lactosa. El disolvente utilizado fue el agua. Se disolvieron 2,0 g de lactosa en 100 ml de agua desionizada y posteriormente se atomizaron. Este ensayo se realizó tres veces.
- **Elección del disolvente para PLGA**
Comparar las características, punto de fusión y toxicidad de varios disolventes. El PLGA no se disuelve en agua, por lo que se tuvo que buscar un disolvente orgánico.
- **Atomización de PLGA:**
Comparación en el proceso de atomización cuando se usan diferentes tipos de PLGA. En este caso se utilizaron 2,0 g de PLGA en 100 ml de diclorometano. Los PLGA utilizados fueron:
 - PLGA Resomer® RG 503
 - PLGA Resomer® RG 504
 - PLGA Resomer® RG 504H
 - Purasorb 5004 PDLG
- **Atomización de PLGA con plastificante**
Ver el comportamiento cuando se añade un plastificante como Polietilenglicol 4000. Este tipo de excipientes pueden ayudar en otros procesos como la compresión. Se disolvieron 2,0 g de PLGA y 0,5 g de PEG4000 en 100 ml de diclorometano y posteriormente se atomizaron.
- **Atomización de PLGA y meropenem fase I**
Se disolvieron 1,5 g de PLGA (Resomer® RG 504) y suspendieron 0,5 g de meropenem en 100 ml de diclorometano. Posteriormente se realizó una atomización.
- **Atomización de PLGA y meropenem fase II**
Se fabricaron tres lotes de microesferas de PLGA (Resomer® RG 504) y meropenem, con el fin de optimizar los parámetros de proceso y poder validar el proceso de

producción. Se aumentó el tamaño de lote con respecto a la fase I y se aumentó la proporción de los componentes con respecto al diclorometano, para intentar reducir el consumo del mismo.

Se disolvieron 7,5 g de PLGA (Resomer® RG 504) y suspendieron 2,5 g de meropenem en 250 ml de diclorometano. Posteriormente se realizó una atomización.



Fig. 5.4. Imagen de la boquilla tipo pistola del atomizador.

RESULTADOS

A) DISOLUCIONES DE LACTOSA

Los rendimientos obtenidos fueron del 7,2%, 25,5% y 41,3%.

Para mejorarlo, hubo que aumentar la temperatura inicial de 115,0°C a 150,0°C y aumentar el flujo del 2,0% al 5,0%.

B) ELECCIÓN DEL DISOLVENTE DE PLGA

Se realizó una comparación de disolventes orgánicos según la siguiente tabla.

Disolvente	Características	Punto de ebullición	DL ₅₀ en ratas v.o.
Acetona	Muy inflamable Irritante Miscible con agua, etanol.	56,5°C	10,7 ml/kg
Diclorometano	No inflamable ni explosivo Irritante Soluble en 1:50 agua, etanol, éter	39,8°C	1,6 ml/kg
Ácido acético glacial	Inflamable Irritante (piel) Miscible con agua, etanol	53,0 – 54,0°C	4,3 g/kg
Formiato de etilo	Inflamable Irritante Soluble en 1:10 agua, etanol, éter	77,0°C	11,3 ml/kg
Acetato de etilo	Inflamable Irritante	77,1°C	5,6 g/kg

Tabla 5.1. Características disolventes orgánicos.

C) ATOMIZACIÓN DE PLGA

También se encontraron variaciones en los rendimientos a medida que se fue optimizando el proceso. Al principio el rendimiento era aproximadamente del 30,0%, aunque al final se consiguió obtener hasta un 70,0%. Para ello se tuvieron que ir variando los parámetros, que finalmente fueron los siguientes:

- Temperatura de entrada: $55,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$.
- Temperatura de salida: $42,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$.
- Aspiración: 100,0%.
- Velocidad de bombeo: 5,0% (3 ml/min)
- Flujo del aire comprimido: 750 NI/h.

No existen diferencias al atomizar los diferentes tipos de PLGA (503, 504, 504H, Purasorb 5004 PDLG).

D) ATOMIZACIÓN DE PLGA Y PLASTIFICANTE

Tras atomizar PLGA con un plastificante (Polietilenglicol 4000) se formaron unas fibras en la cámara de evaporación y unas micropartículas muy aglutinadas en el ciclón separador. No se pudo recoger adecuadamente el producto final.

E) ATOMIZACIÓN DE PLGA Y MEROPENEM FASE I

Se atomizaron 100 ml de diclorometano con 1,5 g de PLGA (Resomer[®] RG 504 disuelto) y 0,5 g de meropenem (disperso). A nivel de proceso los resultados fueron muy similares a los obtenidos con PLGA solo.

- Temperatura de entrada: $55,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$.
- Temperatura de salida: $42,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$.
- Aspiración: 100,0%.
- Velocidad de bombeo: 5,0% (3 ml/min)
- Flujo del aire comprimido: 750 NI/h.

El rendimiento obtenido en el proceso de atomización fue de 73,4%.

F) ATOMIZACIÓN DE PLGA Y MEROPENEM FASE II

Una vez realizada la primera prueba con PLGA y meropenem, se fabricaron 3 lotes para optimizar parámetros y validar el proceso.

Se aumentó el tamaño de lote con respecto al caso anterior y se aumentó la proporción de componentes con respecto al diclorometano. A nivel de proceso, estos cambios no tuvieron ningún impacto.

Los rendimientos de los tres lotes fueron 66,5%, 74,1% y 87,0%.

Los parámetros empleados fueron:

- Temperatura de entrada: $55,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$.
- Temperatura de salida: $42,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$.
- Aspiración: 100,0%.
- Velocidad de bombeo: 20,0% (12 ml/min)
- Flujo del aire comprimido: 750 NI/h.

Se cambió la velocidad de bombeo del 5,0% al 20,0% ya que las conducciones de silicona eran más largas y la bomba necesitaba más fuerza para impulsar. Por tanto, las dimensiones de las conducciones son importantes a la hora de validar el método y conviene utilizar siempre las mismas.

No se consiguió una perfecta distribución de las micropartículas en el equipo atomizador. En teoría, estas deben caer al vaso de recolección, situado debajo del ciclón separador. En nuestro caso, la mayoría del contenido quedaba adherido a las paredes del ciclón separador, por lo que se tuvo que recolectar cuidadosamente. Tras hablar con el fabricante del equipo, nos comentó que probablemente se debiera a cargas electrostáticas.

También se observó que la cantidad de humedad contenida en el atomizador antes de atomizar es un parámetro crítico. Si no se había secado adecuadamente el interior del equipo la atomización no se llevaba a cabo correctamente, sino que el disolvente de la muestra condensaba en las paredes de la cámara de evaporación.

DISCUSIÓN

A) DISOLUCIONES DE LACTOSA

Al principio los rendimientos fueron muy bajos debido a que los parámetros no estaban bien definidos, el rendimiento fue aumentando conforme se fueron ajustando.

El agua requiere altas temperaturas para evaporarse, en comparación con otros disolventes orgánicos, por lo que no es el disolvente más adecuado para este proceso.

B) ELECCIÓN DEL DISOLVENTE DE PLGA

El principal factor a la hora de elegir el disolvente orgánico fue la seguridad en el proceso de fabricación. Se escogió diclorometano, ya que no es ni inflamable ni explosivo.

C) ATOMIZACIÓN DE PLGA

El rendimiento también fue mejorando a medida que se fueron optimizando los parámetros.

No se encontraron diferencias significativas al atomizar los diferentes tipos de PLGA (503, 504, 504H, Purasorb 5004 PDLG). No parece un factor que afecte a las condiciones y rendimiento del proceso.

D) ATOMIZACIÓN DE PLGA Y PLASTIFICANTE

Los resultados no fueron positivos, pues se formaron unas fibras en la cámara de evaporación y micropartículas aglutinadas.

E) ATOMIZACIÓN DE PLGA Y MEROPENEM

Se realizaron pruebas preliminares y posteriormente tres lotes de validación.

El proceso resultó ser robusto y el rendimiento adecuado.

Los parámetros del proceso quedaron establecidos y el proceso de atomización validado.

5.4. MICROESFERAS: CARACTERIZACIÓN

MATERIALES Y MÉTODOS

ASPECTO

A) MATERIALES

Las muestras empleadas fueron las siguientes:

- Microesferas del lote de validación 1 (7,5 g de PLGA (Resomer® RG 504) y 2,5 g de meropenem en 250 ml de diclorometano).
- Microesferas del lote de validación 2 (7,5 g de PLGA (Resomer® RG 504) y 2,5 g de meropenem en 250 ml de diclorometano).
- Microesferas del lote de validación 3 (7,5 g de PLGA (Resomer® RG 504) y 2,5 g de meropenem en 250 ml de diclorometano).

B) MÉTODOS

El aspecto se estudió a través de la técnica de Microscopía Electrónica de Barrido, en el Centro de Microscopía Electrónica de la UCM. Para ello se empleó:

- Metalizadora Emitech® K550X: recubre de oro las partículas, de tal manera que las hace conductoras.
- Microscopio Electrónico de Barrido FEG: *Field Emission Scanning Electron Microscope* JEOL® JSM-6335F.

El estudio se realizó sobre las muestras anteriormente mencionadas, que fueron introducidas en el Microscopio Electrónico.

Se empleó un potencial eléctrico de 5,0 kV, vacío y una distancia de trabajo (WD) de 38,9 mm.

Las fotografías se tomaron a 500 y 2000 aumentos.

TAMAÑO Y DISTRIBUCIÓN DE PARTÍCULAS

A) MATERIALES

Las muestras empleadas fueron:

- Microesferas de PLGA Resomer® RG 504 con meropenem (lotes de validación)

B) MÉTODOS

Se realizó el estudio con la técnica de Difracción Láser, utilizando dos equipos diferentes:

- Vía húmeda: Microtrac® S3500 (Facultad de Farmacia, UCM). Se utilizó agua como dispersante y un tensioactivo (Triton®) que ayudase a disminuir la tensión superficial, y por tanto separar las partículas unidas.
- Vía seca: Malvern® Mastersizer Scirocco 2000 (Laboratorios Normon S.A.). Se realizaron varios estudios con diferentes presiones y vibraciones. La optimización de estos parámetros se realiza para poder separar adecuadamente las partículas que puedan estar aglomeradas:
 - Presión 0,5 bar, vibración 40,0%.
 - Presión 0,5 bar, vibración 50,0%.
 - Presión 1 bar, vibración 80,0%.
 - Presión 0,75 bar, vibración 60,0%.



Fig. 5.5. Equipo de medición del tamaño de partícula Malvern® Mastersizer 2000.

DICLOROMETANO RESIDUAL

En el proceso de atomización se utiliza diclorometano para disolver el PLGA. El diclorometano es un disolvente orgánico que puede llegar a ser tóxico si supera una concentración umbral. Por ello, las micropartículas no pueden sobrepasar los límites establecidos.

Existe una guía I.C.H., denominada *ICH Q3C (R5): Impurezas: Guía de Disolventes Residuales*, en la que podemos encontrar los valores umbrales de los diferentes disolventes. En el caso del diclorometano, no se acepta que los productos tengan más de 600 ppm.

A) MATERIALES

El estudio se realizó bajo dos condiciones diferentes:

- Muestras de microesferas de PLGA-meropenem de los tres lotes de validación que fueron atomizadas e inmediatamente introducidas en un envase.
- Muestras de microesferas de PLGA-meropenem de los tres lotes de validación que fueron atomizadas y se dejaron 24 horas aireando, antes de introducirlas en su envase correspondiente.

En cada ensayo se emplearon las siguientes muestras:

- 4 disolvente: N, N-Dimetilformamida 1 ml (limpia la columna).
- 1 muestra problema sin airear (mezcla de los tres lotes): 0,1 g de muestra/1 ml N, N-DMF (extrae diclorometano).
- 1 muestra problema aireada (mezcla de los tres lotes): 0,1 g de muestra/1 ml N, N-DMF (extrae diclorometano).
- 2 referencias: 60,0 µg/ml de diclorometano en N,N-DMF.

B) MÉTODOS

La técnica por excelencia para determinar los disolventes residuales es la cromatografía de gases. En este caso utilizamos, en Normon S.A., el siguiente equipo:

- Muestras: 61888 Network Headspace Sampler, Agilent Technologies®.
- Horno: 6890N Network GC System, Agilent Technologies®.
- Detector FID.

Las condiciones cromatográficas fueron:

- Matriz: N, N-Dimetilformamida.
- Punto de ebullición de la matriz: 150,0°C.
- Temperatura de las muestras: 60,0°C.
- Temperatura de la válvula: 70,0°C.
- Temperatura de la línea de transferencia: 80,0°C.
- Gas portador: N₂.
- Ciclo CG: 40,0 minutos.
- Extracciones por vial: 1.

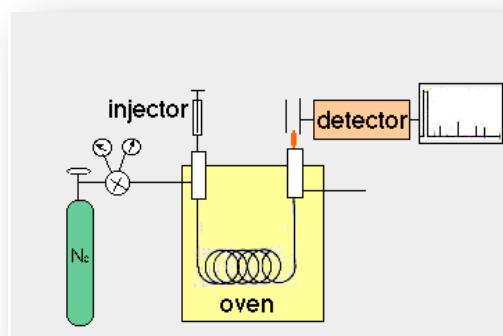


Fig. 5.6. Cromatografo de gases: a la izquierda una imagen de un cromatógrafo de gases y a la derecha un diagrama de los componentes del mismo.

MEROPENEM LIBRE Y ENCAPSULADO

Para saber la proporción de meropenem libre y meropenem encapsulado en las microesferas se realizó el presente ensayo.

Para realizar ensayos se obtuvo una recta patrón, obteniéndose: $y = 148,90x + 7,24$.

A) MEROPENEM LIBRE

Puesto que el meropenem libre es soluble en agua se disolvieron 50 mg de microesferas de cada lote de validación en 100 ml de agua.

Se cogieron muestras de cada disolución y se analizaron en el HPLC, según el método analítico validado.

B) COEFICIENTE DE REPARTO

Puesto que para el ensayo posterior de meropenem encapsulado era necesario tener el dato del coeficiente de reparto de meropenem en agua y diclorometano, se realizó el siguiente ensayo:

Se hizo una mezcla inmiscible entre 100 ml de diclorometano y 100 ml de agua. Se adicionaron 10 mg de meropenem y se realizó una agitación.

A continuación se analizaron ambas fases en el HPLC según el método validado para meropenem.

C) MEROPENEM ENCAPSULADO

Introducción de 50 mg de microesferas en 100 ml de diclorometano. El diclorometano rompe las microesferas ya que disuelve el PLGA, de tal forma que todo el meropenem queda libre, en forma de suspensión.

A continuación se incorporaron 100 ml de agua y se realizó una agitación. Se forman dos fases, pero debido al coeficiente de reparto el meropenem entre ambos disolventes, se queda en la fase acuosa ya que con el agua extraemos el meropenem.

Esto se realizó para cada lote de validación.

A continuación se analizaron las muestras en el HPLC según el método validado para meropenem.

RESULTADOS

ASPECTO

El aspecto se analizó mediante Microscopía Electrónica de Barrido:

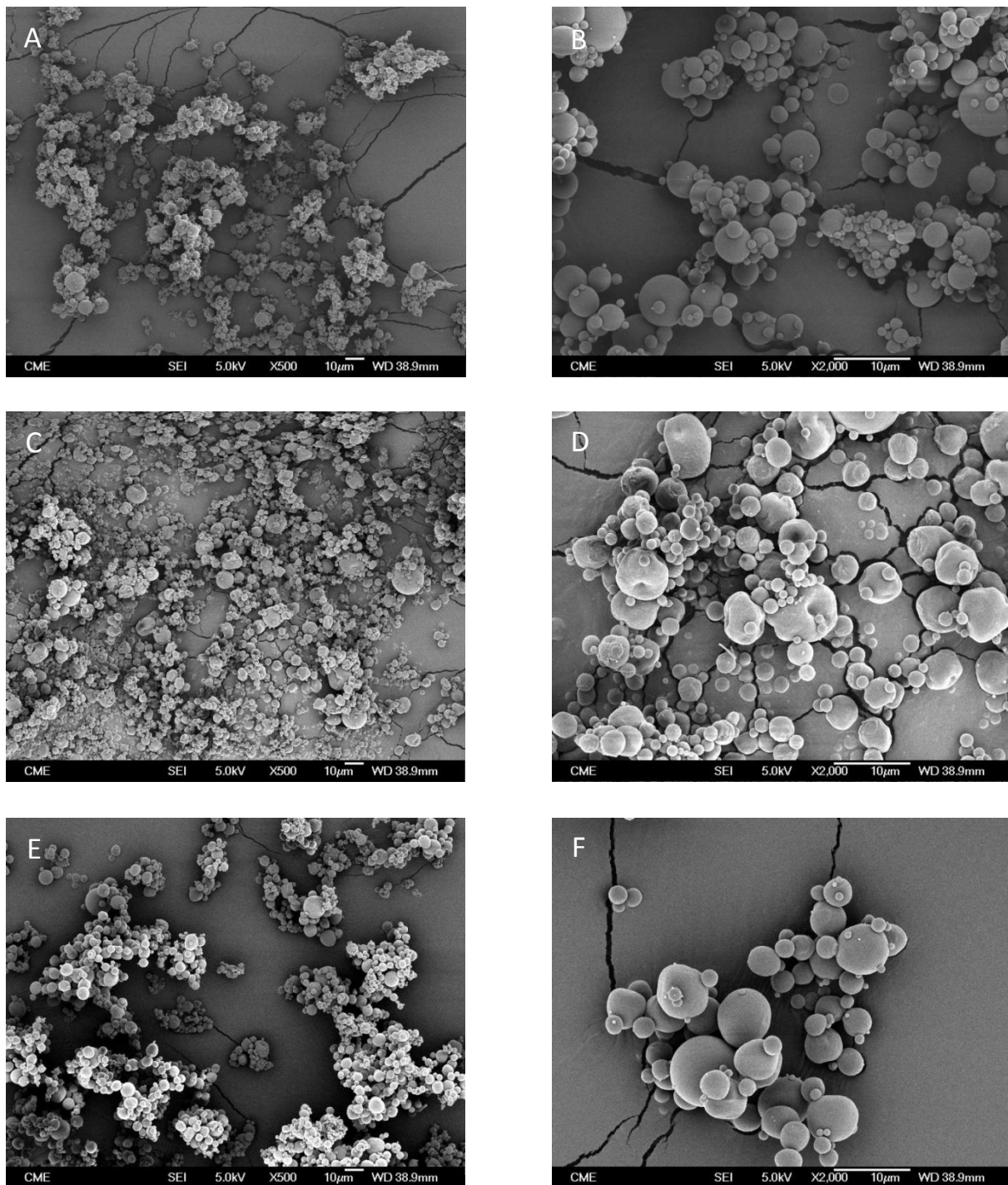


Fig. 5.7.: Micropartículas de PLGA-meropenem atomizado por Microscopía Electrónica de Barrido. A) Lote validación 1 (X500), B) Lote validación 1 (X2000), C) Lote validación 2 (X500), D) Lote validación 2 (X2000), E) Lote validación 3 (X500), F) Lote validación 3 (X2000).

Podemos observar que las partículas son:

- Esféricas
- Pequeño tamaño ($< 10 \mu\text{m}$)
- Superficie lisa
- Existen aglomeraciones de partículas.
- Algunas se presentan como 'deshinchadas'.



Fig. 5.8. Imagen de un Microscopio Electrónico de Barrido.

TAMAÑO Y DISTRIBUCIÓN DE PARTÍCULAS

Se realizó un estudio del tamaño de partícula mediante Difracción Láser:

A) VÍA HÚMEDA

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

- Diámetro medio en volumen: 173,40 μm -188,00 μm
- Anchura de la distribución-Span (90,0%-10,0%)/50,0%: 1,29 μm - 1,55 μm .

B) VÍA SECA

Se obtuvieron los siguientes resultados:

- Presión 0,5 bar y vibración 40,0%
 - Diámetro medio en volumen: 14,11 μm .
 - Distribución Bimodal
 - Anchura de la distribución-Span (90,0%-10,0%)/50,0%: 2,88 μm .
- Presión 0,5 bar y vibración 50,0%
 - Diámetro medio en volumen: 16,60 μm .
 - Distribución Bimodal
 - Anchura de la distribución-Span (90,0%-10,0%)/50,0%: 3,05 μm .
- Presión 1 bar y vibración 80,0%
 - Diámetro medio en volumen: 7,43 μm .
 - Distribución normal con sesgo a la izquierda.
 - Anchura de la distribución-Span (90,0%-10,0%)/50,0%: 2,59 μm .
- Presión 0,5 bar y vibración 60,0%
 - Diámetro medio en volumen: 10,88 μm .
 - Distribución Normal.
 - Anchura de la distribución-Span (90,0%-10,0%)/50,0%: 2,90 μm .

Tras determinar que las últimas condiciones de presión a 0,5 bar y vibración al 60,0% eran las más óptimas, se analizaron los tres lotes, obteniendo los siguientes resultados:

LOTE	Distribución	Diámetro medio		Área específica (m ² /g)	D (0,1) μm	D (0,5) μm	D (0,9) μm
		en volumen (μm)	Span				
1	Normal	11,21	2,92	1,60	2,43	7,85	25,13
2	Normal	10,98	2,98	1,65	2,14	7,59	24,73
3	Normal	10,45	2,80	1,66	2,07	7,50	24,29

Tabla 5.2. Resultados obtenidos en el equipo Malvern® Mastersizer 2000 al determinar el tamaño de partícula por vía seca a 0,5 bar de presión y 60% de vibración de microsferas de meropenem y PLGA.



MASTERSIZER



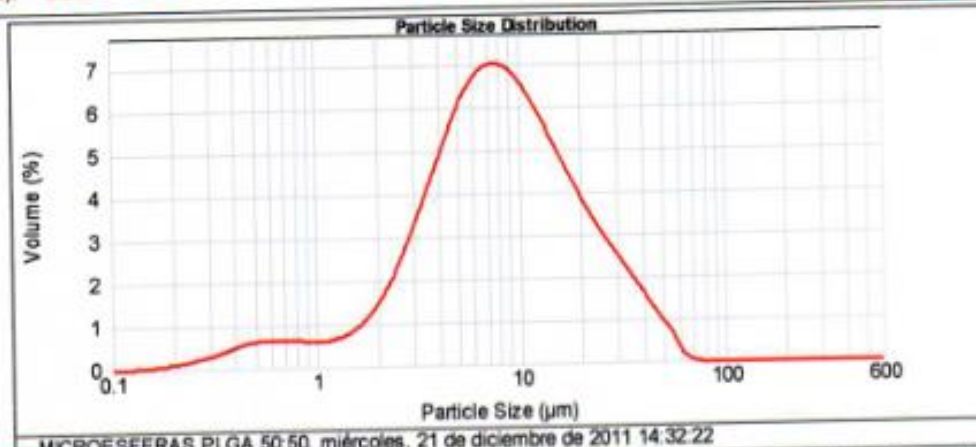
Result Analysis Report

Sample Name: MICROESFERAS PLGA 50:50
SOP Name: PLGA
Measured: miércoles, 21 de diciembre de 2011 14:32:22
Sample source:
Sample bulk lot ref: 9-12-2011
Measured by: MASTERSIZER2000
Analyzed: miércoles, 21 de diciembre de 2011 14:32:23
Result Source: Measurement
Feed Rate: 60 %
Disperser Pressure: 0... bar

Particle Name: PLGA
Accessory Name: Sirocco 2000
Analysis model: General purpose (fine)
Sensitivity: Normal
Particle Rf: 1.520
Absorption: 0.1
Size range: 0.020 to 2000.000 um
Obscuration: 4.71 %
Dispersant Name: 1.000
Dispersant Rf: 1.000
Weighted Residual: 0.475 %
Result Emulation: Off

Concentration: 0.0006 %Vol
Span: 2.917
Uniformity: 0.889
Result units: Volume
Specific Surface Area: 1.6 m²/g
Surface Weighted Mean D[3,2]: 3.742 um
Vol. Weighted Mean D[4,3]: 11.205 um

d(0.1): 2.243 um **d(0.5):** 7.845 um **d(0.9):** 25.125 um



Size (µm)	Volume (%)	Size (µm)	Volume (%)	Size (µm)	Volume (%)	Size (µm)	Volume (%)	Size (µm)	Volume (%)
0.00	0.00	0.140	0.02	1.00	0.46	7.094	5.26	50.236	0.80
0.02	0.00	0.169	0.04	1.125	0.47	7.902	5.23	55.366	0.27
0.05	0.00	0.176	0.04	1.262	0.47	8.804	5.07	61.246	0.07
0.08	0.00	0.200	0.08	1.416	0.52	10.024	5.07	70.963	0.00
0.00	0.00	0.224	0.12	1.588	0.62	11.247	4.80	79.621	0.00
0.00	0.00	0.252	0.16	1.780	0.87	12.819	4.17	88.337	0.00
0.00	0.00	0.283	0.16	2.000	1.20	14.158	3.81	100.237	0.00
0.00	0.00	0.317	0.20	2.244	1.57	15.867	3.44	112.468	0.00
0.00	0.00	0.356	0.26	2.518	1.98	17.825	3.08	126.191	0.00
0.00	0.00	0.399	0.33	2.825	2.45	20.000	2.76	141.588	0.00
0.00	0.00	0.446	0.39	3.170	2.89	22.440	2.45	158.896	0.00
0.00	0.00	0.497	0.44	3.557	3.39	25.179	2.16	178.230	0.00
0.00	0.00	0.554	0.47	3.988	3.96	28.251	1.80	200.000	0.00
0.00	0.00	0.617	0.49	4.477	4.58	31.686	1.63	224.404	0.00
0.00	0.00	0.686	0.49	5.024	4.73	35.506	1.37	251.785	0.00
0.10	0.00	0.760	0.48	5.637	5.09	39.625	1.11	282.508	0.00
0.11	0.00	0.840	0.45	6.325	5.21	44.174	0.84	316.970	0.00
0.126	0.01	1.002	0.45	7.090	5.21	50.236	0.84	355.676	0.00

MALVERN Instruments (UK)
 Malvern, UK
 Tel: +44(0)1684-892450 Fax: +44(0)1684-892799

Mastersizer 2000 Ver. 5.21
 Serial Number: MAL101873

File name: PRUEBA
 Record Number: 3
 21 de 2011 14:32:11

Fig. 5.9. Informe de distribución del tamaño de partícula del lote 1.



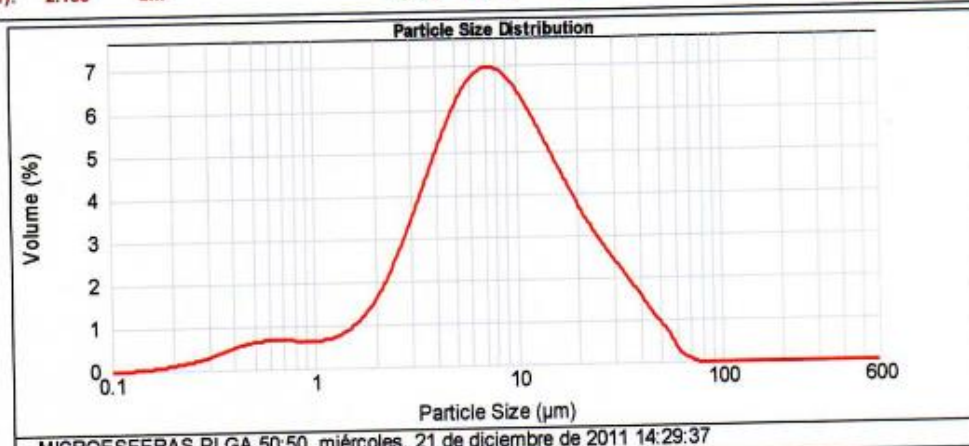
Result Analysis Report

Sample Name: MICROESFERAS PLGA 50:50
SOP Name: PLGA
Measured: miércoles, 21 de diciembre de 2011 14:29:37
Sample source:
Sample bulk lot ref: 9-12-2011
Measured by: MASTERSIZER2000
Analysed: miércoles, 21 de diciembre de 2011 14:29:38
Result Source: Measurement
Feed Rate: 60 %
Disperser Pressure: 0... bar

Particle Name: PLGA
Accessory Name: Scirocco 2000
Analysis model: General purpose (fine)
Sensitivity: Normal
Particle RI: 1.520
Absorption: 0.1
Size range: 0.020 to 2000.000 um
Obscuration: 4.12 %
Dispersant Name:
Dispersant RI: 1.000
Weighted Residual: 0.461 %
Result Emulation: Off

Concentration: 0.0005 %Vol
Span: 2.975
Uniformity: 0.909
Result units: Volume
Specific Surface Area: 1.65 m²/g
Surface Weighted Mean D[3,2]: 3.645 um
Vol. Weighted Mean D[4,3]: 10.977 um

d(0.1): 2.138 um **d(0.5):** 7.594 um **d(0.9):** 24.729 um



Size (µm)	Volume In %	Size (µm)	Volume In %	Size (µm)	Volume In %	Size (µm)	Volume In %	Size (µm)	Volume In %	Size (µm)	Volume In %
0.020	0.00	0.142	0.02	1.002	0.46	7.096	5.24	50.236	0.60	355.656	0.00
0.022	0.00	0.159	0.04	1.125	0.51	7.962	5.16	56.368	0.29	399.052	0.00
0.025	0.00	0.178	0.06	1.262	0.56	8.894	4.98	63.246	0.10	447.744	0.00
0.028	0.00	0.200	0.09	1.418	0.66	10.024	4.71	70.963	0.00	502.377	0.00
0.032	0.00	0.224	0.12	1.589	0.84	11.247	4.39	79.621	0.00	563.677	0.00
0.036	0.00	0.252	0.16	1.783	1.06	12.619	4.04	89.337	0.00	632.468	0.00
0.040	0.00	0.283	0.21	2.000	1.34	14.159	3.67	100.237	0.00	709.627	0.00
0.045	0.00	0.317	0.27	2.244	1.69	15.897	3.31	112.466	0.00	798.214	0.00
0.050	0.00	0.356	0.34	2.518	2.09	17.825	2.96	126.191	0.00	893.357	0.00
0.056	0.00	0.399	0.40	2.825	2.54	20.000	2.64	141.589	0.00	1002.374	0.00
0.063	0.00	0.448	0.45	3.170	3.02	22.440	2.34	158.866	0.00	1124.663	0.00
0.071	0.00	0.502	0.48	3.557	3.51	25.179	2.07	178.250	0.00	1261.915	0.00
0.080	0.00	0.564	0.48	3.991	3.99	28.251	1.82	200.000	0.00	1415.862	0.00
0.089	0.00	0.632	0.50	4.477	4.43	31.698	1.57	224.404	0.00	1588.696	0.00
0.100	0.00	0.710	0.49	5.024	4.79	35.596	1.32	251.785	0.00	1782.502	0.00
0.112	0.00	0.796	0.48	5.637	5.05	44.774	1.07	282.508	0.00	2000.000	0.00
0.126	0.01	0.883	0.48	6.325	5.21	50.236	0.62	316.979	0.00		
0.142	0.01	1.002	0.48	7.096				355.656	0.00		

Malvern Instruments Ltd.3;
 Malvern, UK
 Tel : +[44](0) 1684-892456 Fax +[44](0) 1684-892789

Mastersizer 2000 Ver. 5.31
 Serial Number : MAL101873

File name: PRUEBA
 Record Number: 2
 21 dic 2011 14:33:01

Fig. 5.9. Informe de distribución del tamaño de partícula del lote 2.

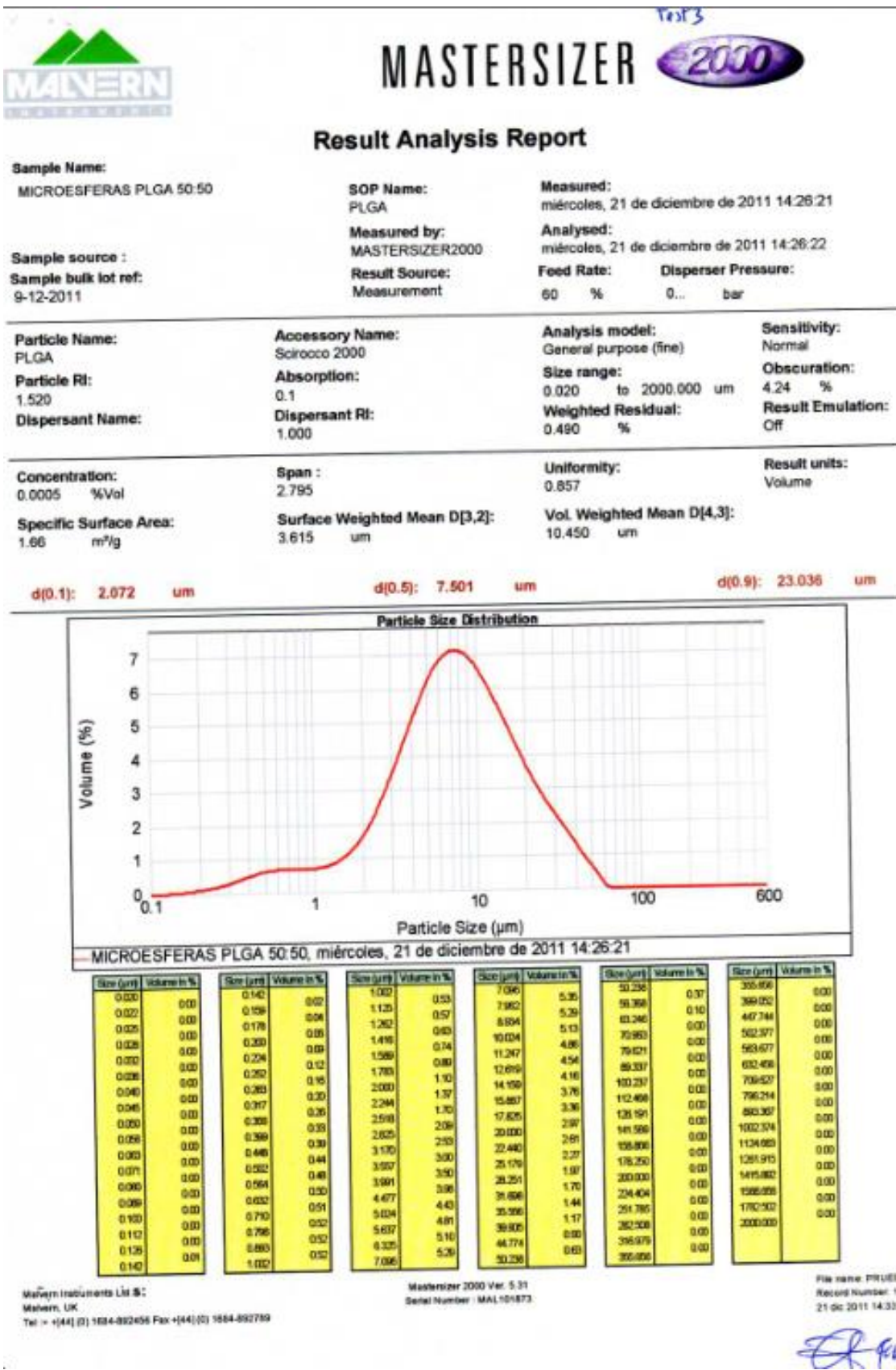


Fig. 5.9. Informe de distribución del tamaño de partícula del lote 3.

DICLOROMETANO RESIDUAL

El diclorometano fue analizado por cromatografía de gases, y el objetivo era obtener una concentración menor a la marcada por ICH (600 ppm).

Las muestras de los lotes de validación que fueron envasadas nada más ser atomizadas, obtuvieron una concentración de diclorometano de 1557 ppm.

En cambio, las muestras de los lotes de validación que fueron expuestas durante 24,0 horas tras su atomización, tenía una concentración de diclorometano de 160 ppm.

Lote	Diclorometano residual (ppm)	Cumple ICH (< 600 ppm)
Sin aireación	1557	No
Con aireación	160	Si

Tabla 5.3. Resultados de diclorometano residual tras analizarlos por cromatografía de gases.

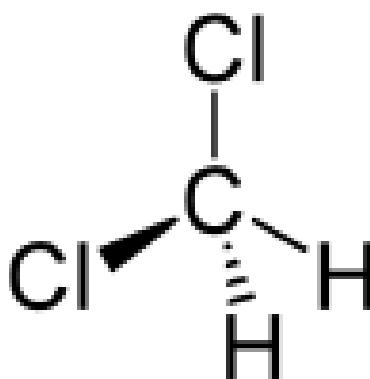
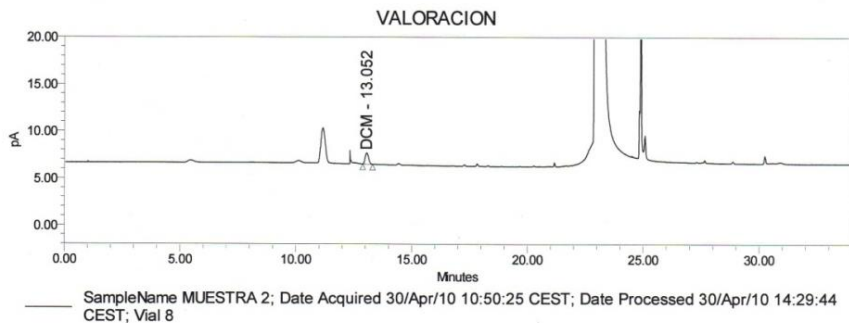
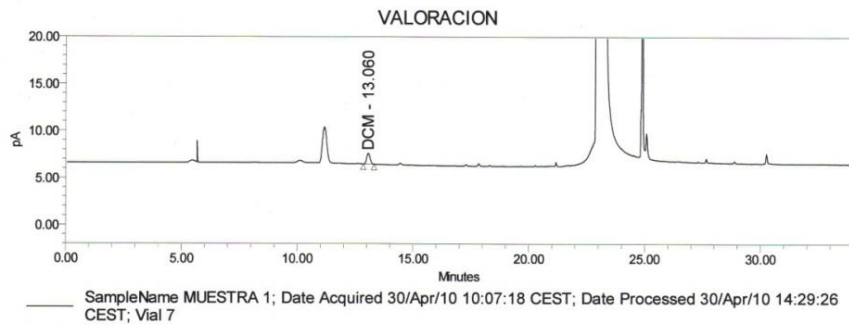


Fig. 5.10. Estructura química del diclorometano.

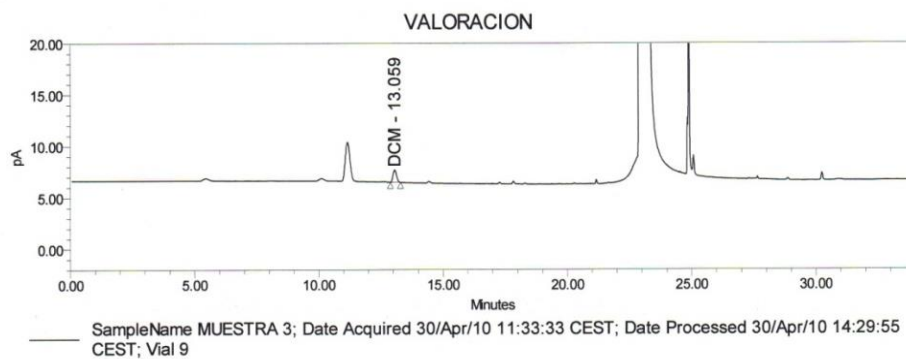
LABORATORIOS NORMON S.A

CONJUNTO DE MUESTRAS: PRUEBAS DCM_PLGA_300410
 NOMBRE MUESTRA: MUESTRA 1
 TIEMPO DE CROMATOGRAMA: 40.00 Minutes
 VIAL: 7, 8, 9
 SYSTEM NAME: GC_2

METODO DE ADQUISICION: DCM_GC2
 FECHA DE ADQUISICION: 30/Apr/10 10:07:18 CEST.
 METODO DE PROCESO DCM
 FECHA DE PROCESO: 30/Apr/10 14:29:26 CEST, 30/Apr/1
 COLUMNA :ZB-624 60M*0.25*1.40Um
 LOTE COLUMNA : 150588
 ANALISTA: INSM



LABORATORIOS NORMON S.A



VALORACION									
	Muestra	Vial	Nombre	RT	Area	Altura	Valoracion	Unidades	Result Id
1	MUESTRA 1	7	DCM	13.060	12.03	1	15.702	ug/ml	1174
2	MUESTRA 2	8	DCM	13.052	12.30	1	16.058	ug/ml	1175
3	MUESTRA 3	9	DCM	13.059	12.36	1	16.144	ug/ml	1173
	Mean				12.23		15.968		
	Std. Dev.				0.2		0.2		
	% RSD				1.5		1.5		

$$15.96 = 16 \text{ ug/ml} \times 10 = 160 \text{ ppm}$$

Fig. 5.11. Informe del cromatógrafo de gases en el análisis de microesferas de meropenem y PLGA que han sido aireadas tras su atomización.

MEROPENEM LIBRE Y ENCAPSULADO

A) MEROPENEM LIBRE

Tras analizar las muestras se obtuvieron los siguientes resultados

Muestra	Área (mVxS)	Concentración (µg/ml)*
Lote 1	6043,58	40,50
Lote 2	6185,42	41,50
Lote 3	6059,23	40,60

* Recta patrón: $y = 148,90x + 7,24$

Tabla 5.4. Resultados obtenidos de meropenem libre en 50 mg de muestra de microesferas sobre 100 ml de agua.

En 100 ml tenemos 4060 µg, 4150 µg, 4060 µg de meropenem, respectivamente.

Estos datos equivalen a 4,05 mg, 4,15 mg y 4,06 mg de meropenem, respectivamente.

Estos valores se corresponden con 8,1%; 8,3% y 8,1% del peso de la muestra de microesferas de PLGA-meropenem (50 mg), respectivamente.

Resultado medio: 8,2% peso microesferas

B) COEFICIENTE DE REPARTO

En el análisis de HPLC obtuvimos los siguientes resultados:

Muestra	Área (mVxS)	Concentración (µg/ml)*
Agua	14533,60	97,55
Diclorometano	-	-

* Recta patrón: $y = 148,90x + 7,242$

Tabla 5.5. Meropenem repartido entre agua y diclorometano para calcular el coeficiente de reparto.

Resultado: Coeficiente reparto meropenem (agua/diclorometano): 97,6%

Puesto que no apareció nada de meropenem en la muestra de diclorometano, se asume que todo el meropenem se encontraba en la fase acuosa.

C) **MEROPENEM ENCAPSULADO****Lote 1**

Muestra	Área (mVxS)	Concentración (µg/ml)*
1	20.926,09	140,50
2	20.950,92	140,70
3	20.944,19	140,60

* Recta patrón: $y = 148,90x + 7,24$

Tabla 5.6. Meropenem total en 50 mg de microesferas tras romperlas con diclorometano y disolverlo en 100 ml de agua (lote 1).

Concentración media de meropenem total = 140,60 µg/ml

[Meropenem encapsulado] = Merop. total – Meropenem libre = 140,60 – 20,40 = 120,20 µg/ml

120,20 µg/ml x 100 ml = 12.020,00 µg (12,02 mg)

12,02 mg equivalen al 24,0% del peso de la muestra (50 mg)

Meropenem Encapsulado/no encapsulado = 24,0% / 8,1% = 2,97 veces

Lote 2

Muestra	Área (mVxS)	Concentración (µg/ml)*
1	20.218,04	135,70
2	20.268,09	136,10
3	20.296,23	136,30

* Recta patrón: $y = 148,90x + 7,24$

Tabla 5.7. Meropenem total en 50 mg de microesferas tras romperlas con diclorometano y disolverlo en 100 ml de agua (lote 2).

Concentración media de meropenem total = 136,00 µg/ml

[Meropenem encapsulado] = Merop total – Meropenem libre = 136,00 – 21,30 = 114,70 µg/ml

114,70 µg/ml x 100 ml = 11.47 µg (11,47 mg)

11,47 mg equivalen al 22,9% del peso de la muestra (50 mg)

Meropenem Encapsulado/no encapsulado = 22,9% / 8,3% = 2,76 veces

Lote 3

Muestra	Área (mVxS)	Concentración (µg/ml)*
1	20.348,38	136,60
2	20.275,49	136,10
3	20.231,85	135,80

* Recta patrón: $y = 148,90x + 7,24$

Tabla 5.8. Meropenem total en 50 mg de microesferas tras romperlas con diclorometano y disolverlo en 100 ml de agua (lote 3).

Concentración media de meropenem total = 136,20 µg/ml

[Meropenem encapsulado] = Merop total – Meropenem libre = 136,20 – 20,50 = 115,70 µg/ml

115,70 µg/ml x 100 ml = 11.57 µg (11,57 mg)

11,57 mg equivalen al 23,1% del peso de la muestra (50 mg)

Meropenem Encapsulado/no encapsulado = 23,1% / 8,1% = 2,85 veces

DISCUSIÓN

ASPECTO

El aspecto de las microesferas nos permite predecir cual será su comportamiento:

- Esféricas: esta propiedad va a favorecer un mejor comportamiento reológico.
- Pequeño tamaño (< 10 μm): El tamaño de las micropartículas está directamente relacionado con la superficie específica y por tanto ligado a la velocidad de degradación de las mismas.
- Superficie lisa: relacionado con el comportamiento reológico.
- Aglomeraciones: hay una proporción pequeña de micropartículas que se presentan aglomeradas, por lo que puede afectar en la distribución del tamaño de partícula.
- ‘Deshinchadas’: seguramente correspondan a microesferas vacías (blancas), sin fármaco en el interior.

TAMAÑO Y DISTRIBUCIÓN DE PARTÍCULAS

- Vía húmeda: Se pudo comprobar que la vía húmeda no era adecuada para calcular el tamaño de partícula del PLGA atomizado, ya que se aglomeraban mucho las partículas entre sí.
- Vía seca: Al contrario que por vía húmeda, por vía seca no se formaban aglomerados, y los pocos que aparecían se podían separar ajustando la presión y la vibración.
 - Presión 0,5 bar y vibración 40,0%: En la gráfica de distribución de tamaños se observa un pequeño pico entre 100 y 500 μm , que posiblemente se correspondiera con partículas aglomeradas.
 - Presión 0,5 bar y vibración 50,0%: En la gráfica de distribución de tamaños se observa un pequeño pico entre 100 y 500 μm , que posiblemente se correspondiera con partículas aglomeradas.
 - Presión 1 bar y vibración 80,0%: En la gráfica de distribución de tamaños se observa que el pico entre 100 y 500 μm había desaparecido, pero se había formado un sesgo hacia la izquierda de la distribución, de partículas más pequeñas. Esto nos hizo suponer que habíamos forzado demasiado las condiciones y que algunas partículas se habían roto.
 - Presión 0,5 bar y vibración 60,0%: con estas condiciones la distribución era normal, ya no existían micropartículas aglomeradas ni rotas.

DICLOROMETANO RESIDUAL

Existe mucha diferencia de diclorometano residual entre aquellas microesferas que no se han aireado frente a las que sí lo han hecho. Esto se debe a que este disolvente orgánico es muy volátil.

Esto nos indica que los lotes de microesferas de PLGA y meropenem no deben de ser envasados inmediatamente, sino que deberán airearse para que el diclorometano se evapore.

MEROPENEM LIBRE Y ENCAPSULADO

Tras analizar los datos obtenemos los siguientes resultados:

- Resultado medio: **23,4% del peso total es meropenem encapsulado**
- Resultado medio: **31,6% del peso total es meropenem total**
- Resultado medio: **2,86 veces más meropenem encapsulado que no encapsulado.**

El proceso de atomización es capaz de formar microesferas con meropenem en su interior. La mayor parte del meropenem está encapsulado, frente a un porcentaje menor que queda libre.

5.5. MINICOMPRESIONADOS IMPLANTABLES:

COMPRESIÓN

MATERIALES Y MÉTODOS

A) MATERIALES

- Avicel® PH-102 (celulosa microcristalina): es un excipiente de compresión directa, que se empleó para comprobar el comportamiento de la máquina de comprimir.
- PLGA Resomer® RG 503 sin atomizar y atomizado.
- PLGA Resomer® RG 504 sin atomizar y atomizado.
- PLGA Resomer® RG 504H sin atomizar y atomizado.
- Purasorb 5004 PDLG sin atomizar y atomizado.
- Meropenem.

Se emplearon diferentes combinaciones (90:10, 66:33, 50:50) de los excipientes y meropenem.

B) MÉTODOS

Se utilizó una máquina de comprimir excéntrica Korsch-Erweka (Alemania) AR4000 en modo manual.

Los punzones empleados fueron de 2 mm y de 7 mm de diámetro. Se utilizaron diferentes fuerzas de compresión (regula la resistencia a la fractura de los comprimidos) y capacidades de la matriz (regula la masa total del comprimido).

Se trataron de elaborar los siguientes comprimidos:

- Comprimidos de celulosa microcristalina, para verificar que se podía llevar a cabo la compresión con los punzones de 2 mm y 7 mm.
- Comprimidos de PLGA Resomer RG 503, Resomer RG 504, Resomer RG 504H, Purasorb 5004 PDLG; todos sin atomizar, sin meropenem.
- Comprimidos de PLGA Resomer RG 503, Resomer RG 504, Resomer RG 504H, Purasorb 5004 PDLG; todos sin atomizar, con meropenem externo.
- Comprimidos compuestos únicamente por meropenem.

- Comprimidos con PLGA Resomer RG 503, Resomer RG 504, Resomer RG 504H, Purasorb 5004 PDLG, todos atomizados, sin meropenem, y a diferentes proporciones. Se fue estudiando la compresibilidad de las diferentes combinaciones.
- Comprimidos con PLGA Resomer RG 503, Resomer RG 504, Resomer RG 504H, Purasorb 5004 PDLG, todos atomizados, con meropenem externo, y a diferentes proporciones. Se fue estudiando la compresibilidad de las diferentes combinaciones.
- Comprimidos con PLGA Resomer RG 504 atomizados con meropenem en el interior de las microesferas, y a diferentes proporciones. Se fue estudiando la compresibilidad de las diferentes combinaciones.

El ajuste del peso final de los comprimidos se realizó regulando el volumen de la matriz. En este caso, este parámetro se regula según la penetración del punzón inferior. Se trataron de hacer comprimidos de 95 mg, ajustando la penetración a 5,5 mm.



Fig. 5.12. Máquina de comprimir excéntrica.

RESULTADOS

Se realizaron varios estudios cuyos resultados se citan a continuación:

- Compresión celulosa microcristalina: La compresión de celulosa cristalina, tanto con punzones de 2 mm como de 7 mm de diámetro, se realizaba correctamente.
- Compresión PLGA sin atomizar: la fluidez de este producto era bastante mala para llenar las matrices, por lo que no se podían obtener comprimidos correctamente, para todos los tipos de PLGA.
- Compresión PLGA sin atomizar con meropenem: El resultado fue negativo, la fluidez no había mejorado.
- Compresión meropenem: se obtenían comprimidos demasiado frágiles, que se deshacían nada más salir de la matriz. La fluidez fue correcta.
- Compresión de PLGA atomizado sin meropenem externo: problemas de fluidez.
- Compresión de PLGA atomizado con meropenem externo: en la compresión de PLGA con bajas proporciones de meropenem (10,0%), existían problemas de fluidez. Cuando se hicieron mezclas de PLGA atomizado con mayores proporciones de meropenem (25,0%, 33,0% y 50,0% de meropenem) se lograba realizar correctamente el proceso de compresión, sin problemas de fluidez ni compresibilidad.
- Compresión de microesferas de PLGA y meropenem interno: Los resultados fueron peores a los obtenidos de mezclar microesferas de PLGA vacías con un 10% de meropenem externo, dando muchos problemas de fluidez.

Durante los primeros ensayos hubo problemas a la hora de utilizar los punzones de 2 mm de diámetro, ya que se rompían fácilmente y no se obtenían comprimidos con un peso homogéneo. Por ello, a partir de los ensayos de compresión de PLGA atomizado, sólo se utilizaron los punzones de 7 mm de diámetro.

El peso se ajustó regulando la penetración del punzón inferior, se obtuvieron comprimidos de alrededor de 95 mg de peso (punzón 7 mm).

Se emplearon varias fuerzas de compresión. En este caso, este parámetro se regula según la penetración del punzón superior. Los comprimidos con mejor aspecto y más uniformes se obtenían cuando se utilizaba una penetración de 8 mm.

DISCUSIÓN

- Compresión celulosa microcristalina: Al ser un excipiente de compresión directa era de suponer que su compresión iba a ser correcta, no obstante hubo que comprobarlo porque no es común utilizar punzones de 2 mm de diámetro.
- Compresión PLGA sin atomizar: Este producto se presenta en forma de fibras, cuyas características de fluidez no son nada adecuadas para comprimir.
- Compresión PLGA sin atomizar y meropenem: la mezcla no mejoraba la fluidez, por lo que no se podían comprimir adecuadamente.
- Compresión meropenem: no presenta tantos problemas de fluidez pero su compresibilidad no es adecuada y por ello los comprimidos se deshacían al sacarlos de las matrices.
- Compresión de PLGA atomizado sin meropenem externo: el PLGA solo sigue dando muchos problemas de fluidez, aunque sea atomizado.
- Compresión de PLGA atomizado con meropenem externo: esta mezcla si mejoró la fluidez, debido a que el PLGA ya no se presentaba en forma de fibras, sino de microesferas. La fluidez mejoraba cuando la proporción de meropenem era mayor.
- Compresión de microesferas de PLGA y meropenem interno: al estar la mayoría del meropenem en el interior de las microesferas y no haber prácticamente meropenem externo, la fluidez volvía a ser mala, como cuando se comprimió PLGA atomizado solo o con bajas proporciones de meropenem externo.

Los comprimidos de microesferas de PLGA y meropenem externo fueron caracterizados. No se caracterizaron los comprimidos de microesferas de PLGA y meropenem interno, puesto que su proceso de fabricación fue muy dificultoso y no se pudo obtener nada lo suficientemente robusto como para caracterizar.

5.6. MINICOMPRESOS IMPLANTABLES:

CARACTERIZACIÓN

MATERIALES Y MÉTODOS

ASPECTO

A) MATERIALES

Aspecto visual

- Comprimidos de 7 mm de diámetro.
- Comprimidos de diferentes proporciones de microesferas PLGA RG504:meropenem externo (90:10, 66:33, 50:50).

Microscopio electrónico

- Comprimidos de microesferas de PLGA 504:meropenem externo (50:50), de 7 mm de diámetro.

B) MÉTODOS

Se llevó a cabo el análisis del aspecto mediante dos métodos:

Aspecto visual

Se evaluaron diferentes características:

- Color
- Forma
- Dimensiones

Aspecto al microscopio electrónico

El aspecto se estudió a través de la técnica de Microscopía Electrónica de Barrido, en el Centro de Microscopía Electrónica de la UCM. Para ello se empleó:

- Metalizadora Emitech® K550X: recubre de oro las partículas, de tal manera que las hace conductoras.

- Microscopio Electrónico de Barrido FEG: Field Emission Scanning Electron Microscope JEOL® JSM-6335F.

Se estudiaron las siguientes características:

- Aspecto de la superficie de los comprimidos.
- Aspecto de un corte de los comprimidos.

UNIFORMIDAD DE PESO

A) MATERIALES

El test se realizó con los siguientes comprimidos:

- Microesferas PLGA RG503:meropenem externo (50:50, 66:33 y 90:10).
- Microesferas PLGA RG504:meropenem externo (50:50, 66:33 y 90:10).

B) MÉTODOS

Para determinar la uniformidad de peso se utilizó una balanza de precisión.

Se tomó como referencia la monografía de la *Farmacopea Europea 8.0* para evaluar la uniformidad de peso. Se cogen 20 comprimidos y se calcula la masa media y como máximo 2 se pueden desviar del límite establecido y ninguno más del doble del límite:

Peso	Desviación	Doble desviación
< 80 mg	10,0%	20,0%
80 – 250 mg	7,5%	15,0%
> 250 mg	5,0%	10,0%

Tabla 5.8. Uniformidad de Peso según normativa de *Farmacopea Europea 8.0*.

FRIABILIDAD

Este ensayo tiene como objetivo la determinación, en condiciones definidas, de la friabilidad de los comprimidos, es decir, el fenómeno por el cual la superficie de los comprimidos se ve dañada y/o presenta señales de abrasión o de ruptura bajo el efecto de choques mecánicos o del roce.

A) MATERIALES

Los comprimidos empleados se limpiaron con un pincel antes y después de introducirlos en el friabilómetro. Se emplearon diferentes tipos de comprimidos:

- Microesferas PLGA 503/Meropenem externo (50:50) x 3.
- Microesferas PLGA 503/Meropenem externo (66:33) x 3.
- Microesferas PLGA 503/Meropenem externo (90:10) x 3.
- Microesferas PLGA 504/Meropenem externo (50:50) x 3.
- Microesferas PLGA 504/Meropenem externo (66:33) x 3.
- Microesferas PLGA 504/Meropenem externo (90:10) x 3.

B) MÉTODOS

Para ello se ha utilizado un Friabilómetro Pharma Test® D-6452.

El dispositivo giraba a 25 rpm durante 4,0 minutos, por lo que realizó un total de 100 revoluciones.

La *Farmacopea Europea 8.0* marca el ensayo de friabilidad como obligatorio para caracterizar los comprimidos. El límite máximo especificado es del 1,0%.

RESISTENCIA A LA FRACTURA

A) MATERIALES

Se emplearon diferentes comprimidos que contenían 50,0% de microesferas de PLGA Resomer® RG 504 y 50,0% de meropenem externo.

Se emplearon diferentes penetraciones del punzón superior para obtener comprimidos con diferente resistencia a la fractura: 7 mm, 8 mm y 9 mm. La penetración del punzón inferior fue, en todos los casos, de 5,5 mm.

B) MÉTODOS

El durómetro empleado fue Pharma Test® PTB 311.

En primer lugar se seleccionaron 12 comprimidos obtenidos bajo una penetración del punzón superior de 8 mm y se determinó el diámetro, la anchura y su resistencia a la fractura. A continuación se calculó la resistencia a la fractura media y su desviación estándar.

En segundo lugar se sometieron a la misma prueba 3 comprimidos obtenidos bajo una penetración del punzón superior de 7 mm, 3 comprimidos obtenidos bajo una penetración del punzón superior de 8 mm y 3 comprimidos obtenidos bajo una penetración del punzón superior de 9 mm. De esta manera se puede comparar la resistencia a la fractura de comprimidos obtenidos bajo diferentes fuerzas de compresión.

POROSIDAD

A) MATERIALES

En primer lugar se calibró el porosímetro con paracetamol en polvo, de masa y densidad conocida. La masa fue de 0,100 g y la densidad de 1,293 g/l; por lo que su volumen teórico tendría que ser de 0,077 l.

Una vez que el picnómetro estaba calibrado se determinó la porosidad de los siguientes comprimidos:

- Microesferas PLGA 504: Meropenem externo (90:10, 66:33 y 50:50)

Los comprimidos se obtuvieron utilizando una penetración del punzón superior de 8 mm y una penetración del punzón inferior de 5,5 mm.

B) MÉTODOS

Para determinar la porosidad se utilizó el picnómetro de Helio Micromeritics® Multivolume Pycnometer 1305. En cada medida se utilizaron 6 comprimidos, que se introdujeron en una celda de 5 cm³.

El picnómetro fue calibrado previamente con paracetamol de densidad conocida. En esta calibración se establecieron el volumen de expansión (V_{exp}) y el volumen de la celda (V_{celda}):

- V_{exp}: 5,4503 cm³
- V_{celda}: 7,3882 cm³

El picnómetro de He calcula el volumen real (V_m) de los comprimidos, por lo que se puede obtener la densidad real (d_r) si se conoce su masa. A su vez, el volumen aparente se calculó geoméricamente, ya que los comprimidos tenían forma cilíndrica ($V = \pi r^2 h$), por lo que sabiendo su masa se puede determinar la densidad aparente (d_{ap}). La porosidad (ϵ) es la relación existente entre ambas densidades:

$$\epsilon = 1 - d_{ap}/d_r$$

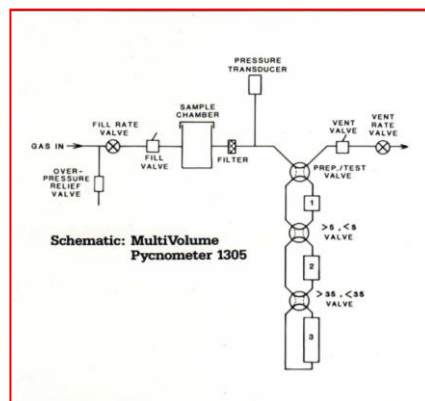


Fig. 5.13. Picnómetro de Helio.

DIFRACCIÓN DE RAYOS X

A) MATERIALES

- Meropenem en polvo.
- Microesferas PLGA Resomer® RG 504
- Comprimidos de microesferas de PLGA 504:meropenem externo (50:50, 66:33, 90:10) atomizado

B) MÉTODOS

Se utilizó el equipo Philips X'Pert MPD (CAI, Difracción de Rayos X (DRX), UCM).

Se analizaron las siguientes muestras: meropenem en polvo, PLGA atomizado, comprimidos de microesferas de PLGA:meropenem externo con proporciones 50:50, 66:33 y 90:10. Los que contenían 50,0% de meropenem se les hicieron incidencias con rasante 2° y 4° .

Para su posterior estudio en DRX, se realizó un ensayo de liberación de comprimidos de microesferas de PLGA 504:meropenem externo (50:50). El ensayo de liberación se desarrolló en medio PBS, sin agitación, en una estufa a $37,0^\circ\text{C}$ y en condiciones alejadas de saturación (*SINK*). Se muestrearon comprimidos a las 2,0 horas y a las 8,0 horas. La cantidad liberada de meropenem se analizó por HPLC. Los comprimidos se liofilizaron para poder eliminar toda la humedad, ya que interfiere en las técnicas de DRX.

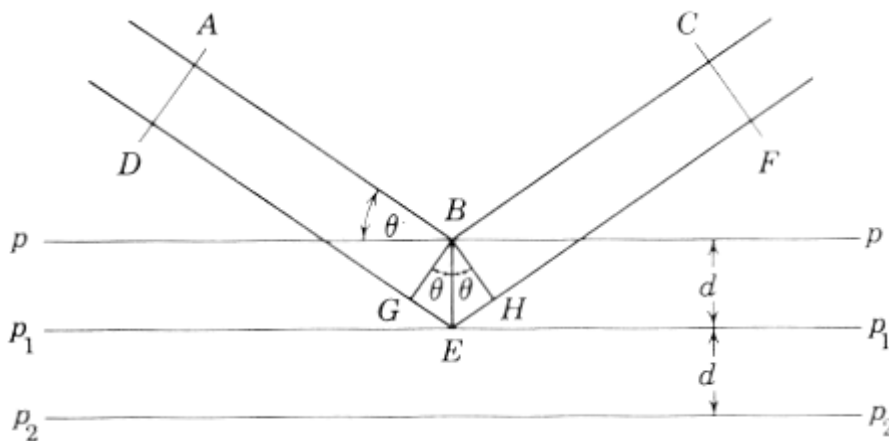


Fig. 5.14. Difracción de Rayos X.

ENSAYO DE LIBERACIÓN *IN VITRO*

El ensayo de liberación *in vitro* debe ser representativo de lo que suceda *in vivo*.

A) MATERIALES

- Medio PBS pH 7,4. El medio PBS simula las condiciones electrolíticas y de pH del plasma humano. Por cada 1000 ml de agua añadimos: 8 g de NaCl; 0,2 g de KCl; 1,44 g de Na₂HPO₄ y 0,24 g de KH₂PO₄.
- Envases tipo frasco de vidrio borosilicatado.
- Comprimidos de 7 mm de diámetro con diferentes proporciones de meropenem externo y microsferas de PLGA (Resomer® RG 503 y 504).
- Meropenem en polvo, para preparar las disoluciones patrón de estabilidad.

Nº	Comprimido
1	Meropenem 10,0% - PLGA 503 90,0%
2	Meropenem 10,0% - PLGA 503 90,0%
3	Meropenem 10,0% - PLGA 503 90,0%
4	Meropenem 33,0% - PLGA 503 66,0%
5	Meropenem 33,0% - PLGA 503 66,0%
6	Meropenem 33,0% - PLGA 503 66,0%
7	Meropenem 50,0% - PLGA 503 50,0%
8	Meropenem 50,0% - PLGA 503 50,0%
9	Meropenem 50,0% - PLGA 503 50,0%
10	Meropenem 10,0% - PLGA 504 90,0%
11	Meropenem 10,0% - PLGA 504 90,0%
12	Meropenem 10,0% - PLGA 504 90,0%
13	Meropenem 33,0% - PLGA 504 66,0%
14	Meropenem 33,0% - PLGA 504 66,0%
15	Meropenem 33,0% - PLGA 504 66,0%
16	Meropenem 50,0% - PLGA 504 50,0%
17	Meropenem 50,0% - PLGA 504 50,0%
18	Meropenem 50% - PLGA 504 50,0%
19	Disol. meropenem 100 µg/ml
20	Disol. meropenem 100 µg/ml
21	Disol. meropenem 100 µg/ml

Tabla 5.9. Muestras empleadas en el ensayo de liberación de comprimidos.

B) MÉTODOS

El estudio de liberación del meropenem se realizó de la siguiente manera:

- Se introdujeron 100 ml de medio PBS en 21 frascos de vidrio borosilicatado.
- En 18 frascos se introdujeron comprimidos; y en los otros 3 frascos se prepararon disoluciones de 100,00 µg/ml de meropenem en PBS, para tener un patrón de la estabilidad del antibiótico disuelto en este medio.
- Sin agitación (no se realizó agitación ya que se considera que un implante no se encuentra en esas condiciones).
- Temperatura: $37,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$ (estufa).
- En todos los casos existían condiciones alejadas de saturación SINK (< 20,0% Cs).
- Se tomaron muestras de 1 ml a diferentes tiempos, con reposición del volumen extraído en cada una. Estas muestras se diluyeron en una proporción 1:10 en matraces aforados. A continuación se agitaron y filtraron por un filtro de 0,45 µm, para poder analizarlas posteriormente en el HPLC.
- Los tiempos de muestreo escogidos fueron: 2,0; 8,0; 24,0; 48,0; 72,0; 96,0 y 168,0 horas.

Una vez que teníamos el área de los picos por HPLC, se calculó la concentración correspondiente, con la siguiente recta patrón obtenida previamente:

$$\text{Área} = 161,31 * \text{Concentración} - 2,26$$

A la concentración obtenida se le tuvieron que aplicar los factores de la dilución, de la degradación y de las reposiciones de líquido realizadas. A continuación se calculó la masa de meropenem liberado. Teniendo en cuenta que la masa media de un comprimido es de 95 mg, se puede saber la masa de meropenem en cada uno:

- 9,50 mg en los que hay un 10,0% de meropenem.
- 31,35 mg en los que hay un 33,0% de meropenem.
- 47,50 mg en los que hay un 50,0% de meropenem.

Con estos datos y la masa de meropenem liberado, se pudo calcular el porcentaje correspondiente.

RESULTADOS

ASPECTO

Aspecto visual

- Color: todos los comprimidos presentan un color blanquecino.
- Forma: biconvexa
- Dimensiones: los comprimidos de 2 mm de diámetro tenían una altura de 0,90 mm aproximadamente, mientras que los comprimidos de 7 mm tenían una altura de 1,92 mm \pm 0,05 mm.
- Irregularidades: los comprimidos de 2 mm de diámetro no presentaban siempre las mismas dimensiones.

Microscopio electrónico

- Superficie

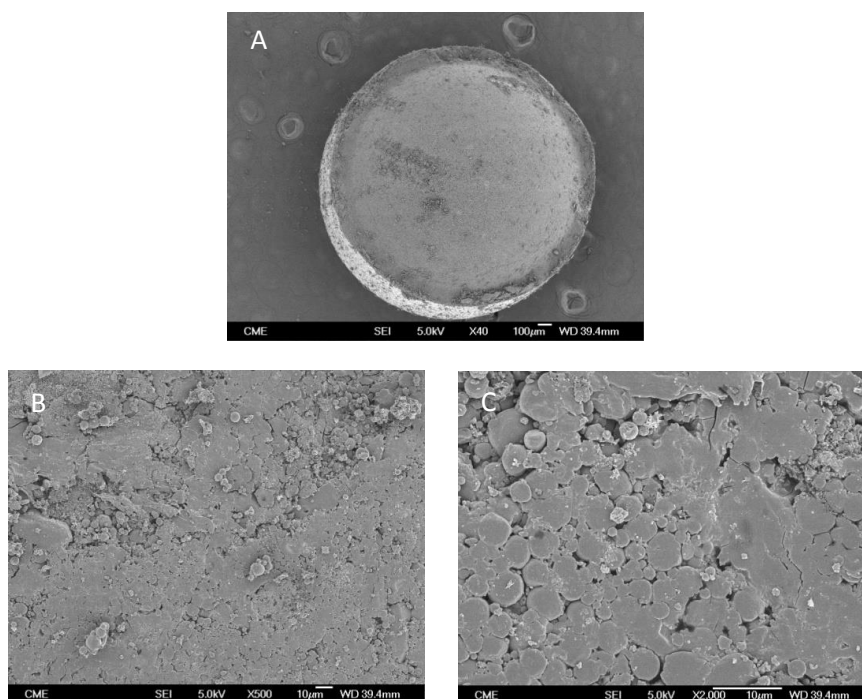


Fig. 5.15: Superficie de comprimidos de PLGA 504 atomizado y meropenem externo (50:50) por Microscopía Electrónica de Barrido.

A) X40, B) X500, C) X 2000.

- Sección del comprimido

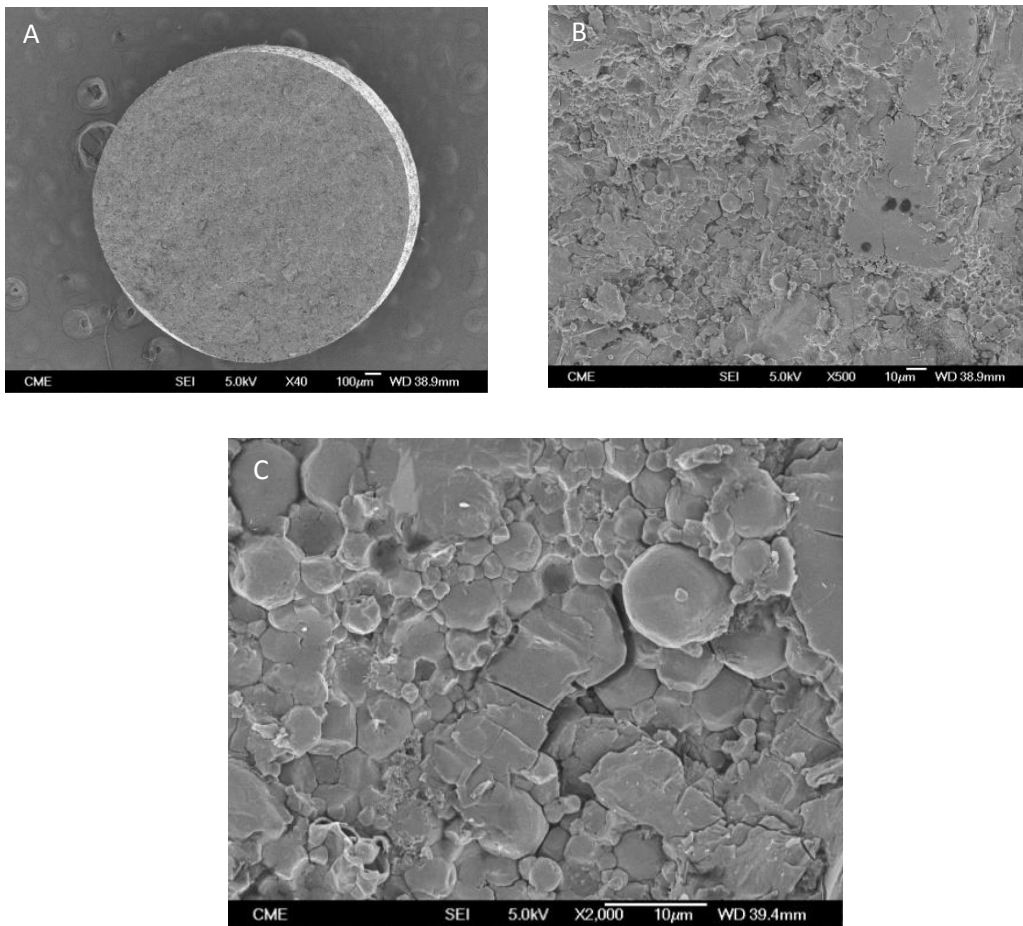


Fig. 5.16: Imágenes de la sección de comprimidos de PLGA 504 atomizado y meropenem externo (50:50) por Microscopía Electrónica de Barrido.

A) X40, B) X500, C) X 2000.

UNIFORMIDAD DE PESO

Comprimidos de 2 mm de diámetro

Sin uniformidad de peso

Comprimidos de 7 mm de diámetro

Comprimido	RG 503 50: Mero 50	RG 503 66: Mero 33	RG 503 90: Mero 10	RG 504 50: Mero 50	RG 504 66: Mero 33	RG 5034 90: Mero 10
1	91,4	95,1	95,2	95,9	96,2	99,2
2	95,8	94,3	100,0	94,5	96,2	99,1
3	94,2	92,0	97,4	95,6	95,7	86,7
4	95,1	94,5	87,0	93,6	94,8	89,2
5	96,2	95,0	75,5	97,0	96,2	88,4
6	95,3	93,9	91,4	94,8	94,9	101,5
7	94,8	95,5	101,3	95,2	95,3	75,3
8	95,0	94,3	77,9	94,3	96	74,9
9	94,9	94,8	84,3	95,3	94,3	88,9
10	94,6	94,9	87,2	95,7	94,7	89,7
11	96,0	95,2	77,9	95,0	94,6	87,3
12	95,4	95,4	95,0	95,1	95,1	91,1
13	95,3	96,0	97,3	96,1	95,3	94,3
14	95,6	95,1	74,4	94,3	94,3	95,6
15	94,8	95,1	88,7	95,1	93,9	86,4
16	94,8	94,9	86,5	95,6	94,9	89,3
17	95,0	94,8	84,3	95,4	95,0	94,8
18	96,1	94,9	92,1	95,1	95,0	77,9
19	94,9	95,0	94,3	94,9	95,1	79,8
20	94,7	95,2	91,1	94,9	94,8	86,3
Media	95,0	94,8	88,9	95,2	95,1	88,8
Lím. Sup. (7,5%)	102,1	101,9	95,6	102,3	102,3	95,4
Lím. Inf. (7,5%)	87,9	87,7	82,3	88,0	88,0	82,1
Desv. Est.	1,0	0,8	8,1	0,7	0,7	7,6
Cumple	SI	SI	NO	SI	SI	NO

Tabla 5.10. Peso (mg) de diferentes comprimidos de Meropenem y PLGA de 7 mm de diámetro.

FRIABILIDAD

A continuación se muestran los resultados obtenidos en el ensayo de friabilidad:

Número Muestra	Nombre Muestra	Peso inicial (mg)	Peso final (mg)	Friabilidad (%)
1	RG503:Mero (50:50)	96,3	96,2	0,1
2	RG503:Mero (50:50)	95,5	95,5	0,0
3	RG503:Mero (66:33)	92,1	92,1	0,0
4	RG503:Mero (66:33)	94,3	94,3	0,0
5	RG503:Mero (90:10)	87,6	87,5	0,1
6	RG503:Mero (90:10)	94,6	94,5	0,1
7	RG504:Mero (50:50)	94,4	94,4	0,0
8	RG504:Mero (50:50)	93,1	93,1	0,0
9	RG504:Mero (66:33)	94,7	94,7	0,0
10	RG504:Mero (66:33)	96,4	96,3	0,1
11	RG504:Mero (90:10)	89,0	89,0	0,0
12	RG504:Mero (90:10)	86,3	86,3	0,0
FRIABILIDAD = 0,035 ± 0,052%				

Tabla 5.11. Friabilidad de diferentes comprimidos de Meropenem y PLGA de 7 mm de diámetro.

RESISTENCIA A LA FRACTURA

Comprimidos con penetración del punzón superior de 8 mm

Comprimido	Anchura (mm)	Diámetro (mm)	Resistencia a la fractura (N)
1	1,82	6,94	90,30
2	1,93	6,97	72,50
3	1,98	6,94	72,20
4	1,94	6,96	91,00
5	1,88	6,94	82,30
6	1,85	6,94	70,90
7	1,94	6,98	106,50
8	1,91	6,98	88,30
9	1,92	6,96	112,20
10	1,96	6,96	94,00
11	1,91	6,97	97,40
12	1,94	6,97	77,90
Promedio	1,92	6,96	87,96
Desv. Est.	0,05	0,02	13,43

Tabla 5.12. Resistencia a la fractura de diferentes comprimidos de Meropenem y PLGA RG504 (50:50); de 7 mm de diámetro, con una penetración del punzón superior de 8 mm.

Comparación de comprimidos con diferente penetración del punzón superior

Comprimido	Penetración punzón superior (mm)	Anchura (mm)	Diámetro (mm)	Resistencia a la fractura (N)	Promedio (N)
1	7	2,54	6,83	4,00	5,59
2	7	2,42	6,77	6,74	
3	7	2,49	6,92	6,03	
1	8	1,92	6,99	84,00	86,97
2	8	1,88	7,01	87,70	
3	8	1,90	6,97	89,20	
1	9	1,76	6,98	72,20	92,13
2	9	1,91	6,99	105,50	
3	9	1,96	6,99	98,70	

Tabla 5.13. Resistencia a la fractura de diferentes comprimidos de Meropenem y PLGA RG504 (50:50); de 7 mm de diámetro, con diferentes penetraciones del punzón superior.

POROSIDAD

A continuación se muestra una tabla con los resultados del ensayo de porosidad realizado en el picnómetro de helio.

En primer lugar se calculó el volumen aparente y su densidad aparente correspondiente mediante cálculos geométricos.

A continuación se calculó el volumen real y su densidad real mediante el picnómetro.

Comprimidos (x6)	Peso (mg)	Diámetro (mm)	Altura (mm)	V _{aparente} (mm ³)	d _{aparente} (g/cm ³)	P ₁ (psi)	P ₂ (psi)	V _{real} (mm ³)	d _{real} (g/cm ³)	Porosidad (%)
PLGA 504: Meropenem (50:50)	95,58	7,02	1,96	75,76	1,2617	19,497	10,985	35,44	1,6181	22,0
PLGA 504: Meropenem (66:33)	95,75	7,02	1,97	76,05	1,2563	19,427	10,946	35,43	1,6183	22,4
PLGA 504: Meropenem (90:10)	92,93	7,01	1,92	88,81	1,2559	19,429	10,979	30,67	1,5153	17,1

Tabla 5.14. Porosidad de diferentes comprimidos de meropenem y PLGA RG504 (90:10, 66:33 y 50:50); de 7 mm de diámetro.

DIFRACCIÓN DE RAYOS X

La figura 5.17 muestra los difractogramas de meropenem en polvo, comprimidos de microesferas de PLGA:Meropenem externo (50:50, 66:33, 90:10) y PLGA atomizado.

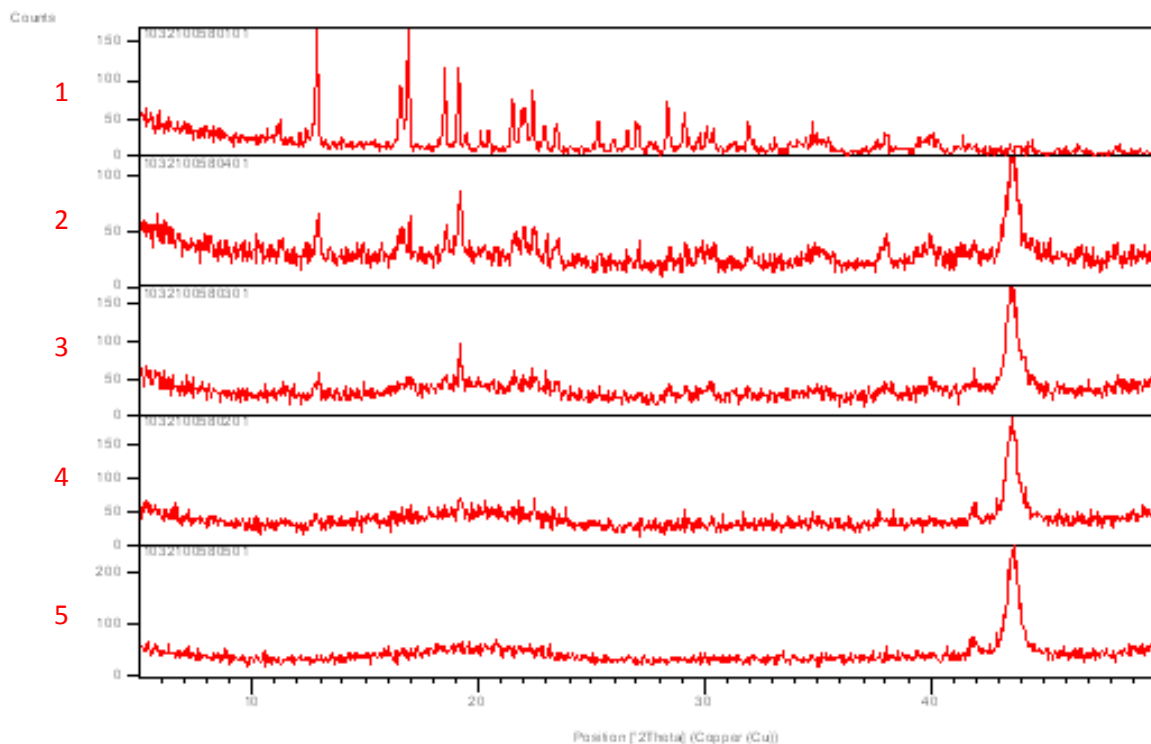


Fig. 5.17. Estudios de Difracción de Rayos X con comprimidos de meropenem y PLGA 504.

1. Meropenem en polvo.
2. PLGA 50 / Meropenem 50.
3. PLGA 66 / Meropenem 33.
4. PLGA 90 / Meropenem 10.
5. PLGA atomizado

En la figura 5.18 se muestra el difractograma con incidencia rasante a 2° y 4°

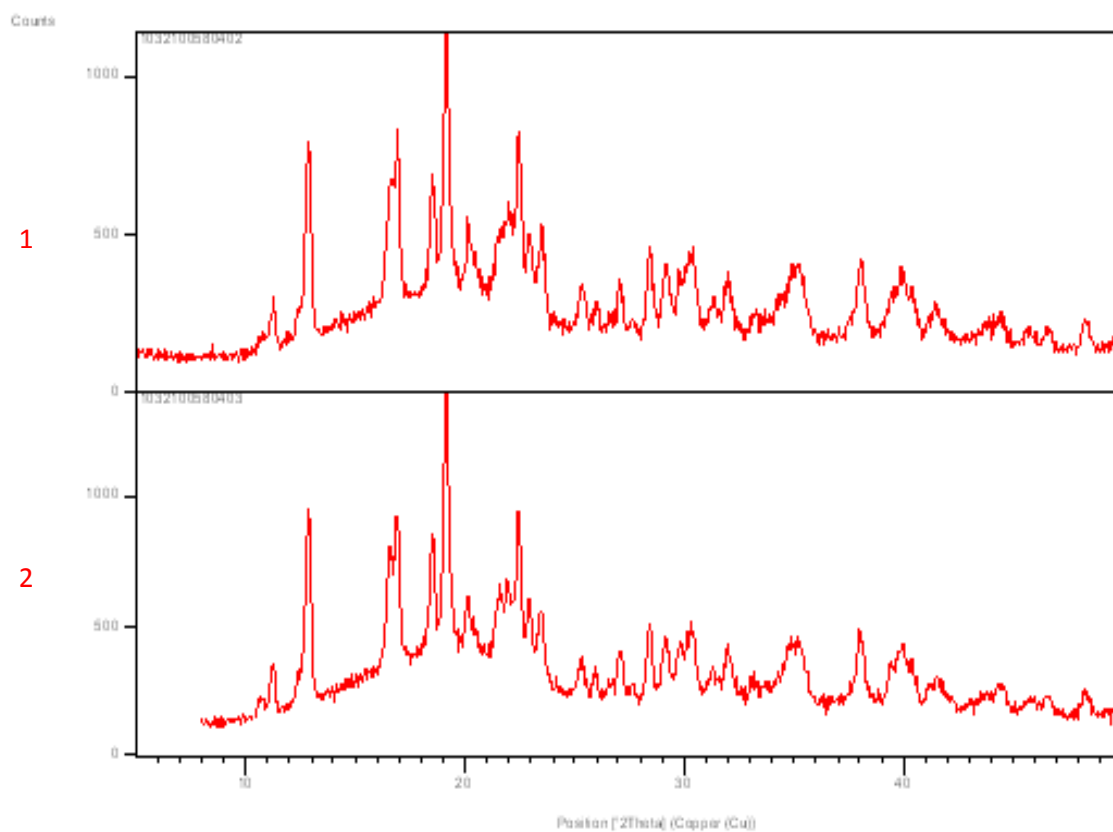


Fig. 5.18. Estudios de Difracción de Rayos X con comprimidos de meropenem y PLGA 504.

1. PLGA 50 / Meropenem 50 (Rasante 2).
2. PLGA 50 / Meropenem 50 (Rasante 4).

Por otra parte, en la figura 5.19 se muestran los difractogramas de comprimidos de microesferas de PLGA:Meropenem externo 50:50 a distintos tiempos del ensayo de liberación (0,0; 2,0 y 8,0 horas), tras ser liofilizados (para eliminar agua residual).

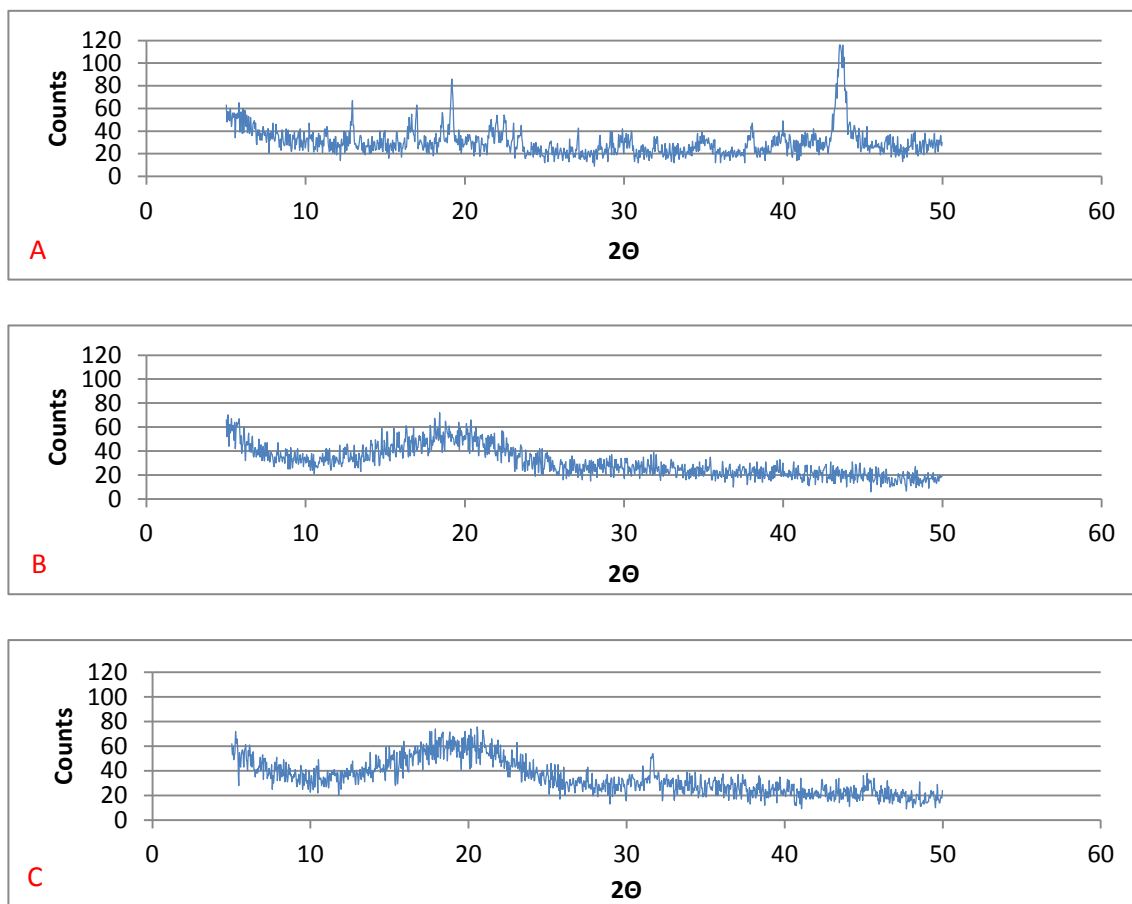


Fig. 5.19. Estudios de Difracción de Rayos X con comprimidos sometidos al ensayo de liberación de meropenem y PLGA 504 (50:50).

- A. PLGA 50 / Meropenem 50 (tiempo 0,0 horas).
- B. PLGA 50 / Meropenem 50 (tiempo 2,0 horas).
- C. PLGA 50 / Meropenem 50 (tiempo 8,0 horas).

Tras analizar por HPLC el medio en el que se habían disuelto los comprimidos, se obtuvo un 20% de meropenem disuelto a las 2 horas y un 80% de meropenem disuelto a las 8 horas (cantidades que ya no estaban presentes en los comprimidos analizados, pues se habían liberado).

ENSAYO DE LIBERACIÓN *IN VITRO*

TIEMPO (h)	% Meropenem liberado						% Meropenem sin degradar
	PLGA 503 90:10	PLGA 503 66:33	PLGA 503 50:50	PLGA 504 90:10	PLGA 504 66:33	PLGA 504 50:50	
2,0	19,7	27,8	18,6	25,3	24,0	22,8	100,0
8,0	53,7	66,3	74,4	65,8	74,8	81,2	100,0
24,0	69,6	77,0	78,8	84,1	85,7	80,4	88,1
48,0	70,9	81,6	80,0	83,8	85,8	83,7	68,2
72,0	70,7	83,3	81,8	83,7	88,3	85,3	51,1
96,0	69,1	83,4	82,6	83,2	89,2	87,7	39,6
168,0	75,7	88,0	85,0	87,8	89,8	85,8	16,0

Tabla 5.15. Resultados del ensayo de liberación de comprimidos de meropenem y PLGA RG503 y RG504 a diferentes proporciones.

En la tabla 5.15. se muestra el porcentaje de meropenem liberado de las distintas formulaciones a diferentes tiempos. Además, en la última columna, podemos observar la degradación media del meropenem en las disoluciones patrón.

A continuación, la figura 5.20, representando una gráfica con los valores de la tabla 5.15.

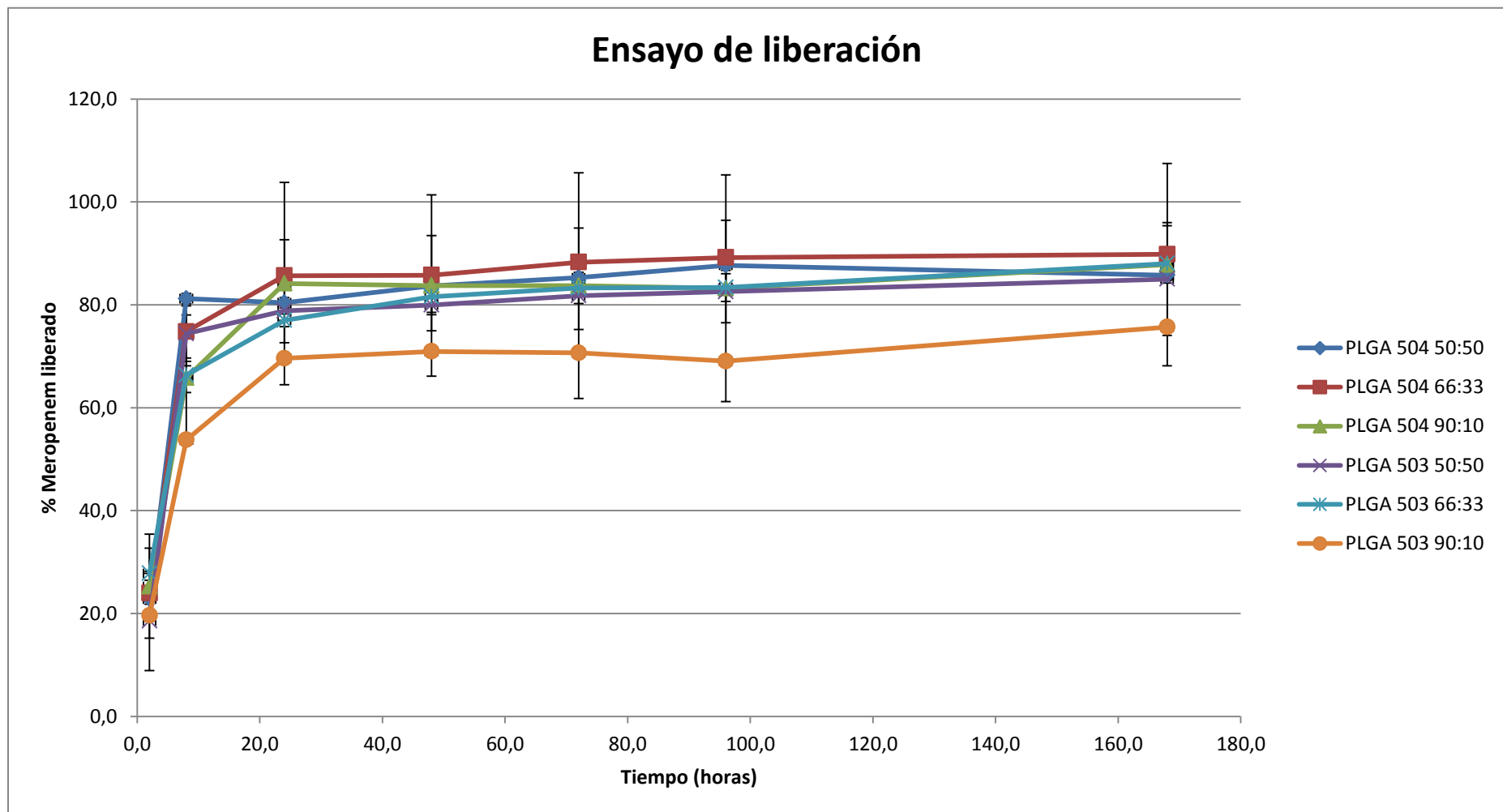


Fig. 5.20. Perfiles de liberación de los comprimidos de PLGA y meropenem. ◆ PLGA 504:Meropenem (50:50), ■ PLGA 504:Meropenem (66:33), ▲ PLGA 504:Meropenem (90:10), X PLGA 503:Meropenem (50:50), ✖ PLGA 503:Meropenem (66.33), ● PLGA 503:Meropenem (90:10).

DISCUSIÓN

ASPECTO

Visual

Comprimidos de aspecto normal, blancos y biconvexos. Los comprimidos de 2 mm de diámetro no presentaban siempre las mismas dimensiones, ya que la matriz no se llenaba adecuadamente.

Microscopio Electrónico

En la figura 5.15. podemos observar la superficie de los comprimidos. Se puede apreciar que la porosidad no es muy pronunciada. Por otra parte, se distinguen las microesferas compactadas, intercaladas con cristales de meropenem.

En las imágenes tomadas de la sección de comprimidos mediante microscopía electrónica (Fig. 5.16) se puede apreciar el corte de un comprimido compuesto por el polímero atomizado y por el antibiótico. En dichas fotografías se pueden observar las microesferas inmersas en los cristales de meropenem. Muchas de las microesferas se conservan íntegras, por lo que el proceso de compresión no ha llegado a romperlas. La porosidad no es muy acusada.

UNIFORMIDAD DE PESO

Comprimidos de 2 mm de diámetro

No existía uniformidad de peso ya que las matrices de la máquina de comprimir no se llenaban correctamente, por lo que no se continuó el estudio con estos comprimidos.

Comprimidos de 7 mm de diámetro

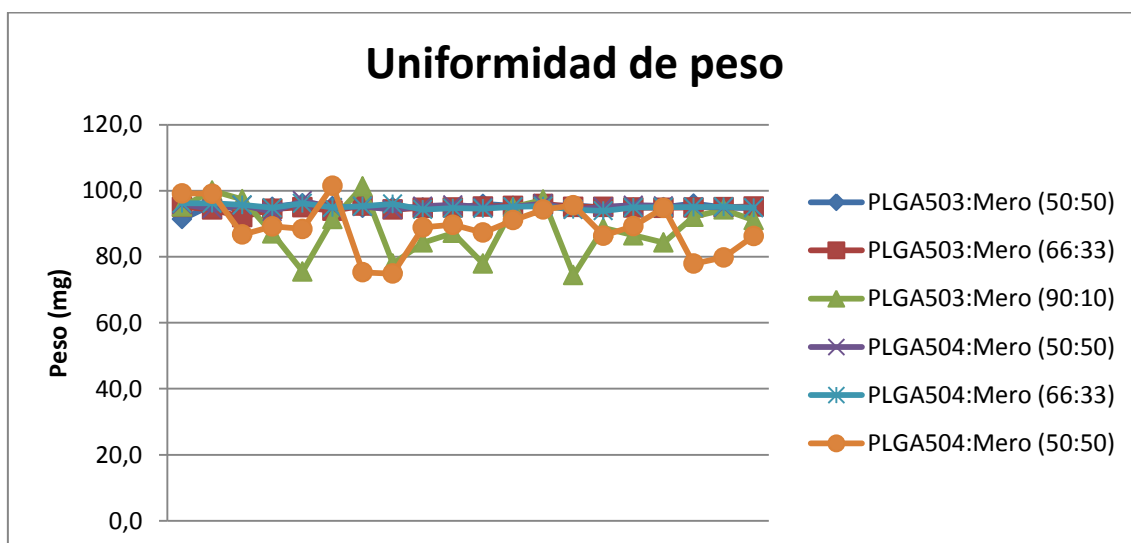


Fig. 5.21. Uniformidad de peso de los comprimidos de PLGA y meropenem.

◆ PLGA 503:Meropenem (50:50), ■ PLGA 503:Meropenem (66:33), ▲ PLGA 503:Meropenem (90:10),
 ✕ PLGA 504:Meropenem (50:50), ✕ PLGA 504:Meropenem (66.33), ● PLGA 504:Meropenem (90:10).

Se puede observar que los comprimidos con proporción 90,0% de microesferas de PLGA y 10,0% de meropenem externo no cumplen el ensayo de uniformidad de peso. La principal razón fue que la mezcla presentaba mala fluidez y no llenaba correctamente la matriz. Las otras proporciones si cumplen el ensayo.

FRIABILIDAD

La friabilidad de nuestros comprimidos es muy baja, menor a la especificada en la *Farmacopea Europea 8.0* (1,0%). Por ello, podemos decir que cumple este ensayo.

RESISTENCIA A LA FRACTURA

La resistencia a la fractura media de comprimidos con penetración del punzón superior de 8 mm fue de $87,96 \pm 13,43$ N.

La resistencia a la fractura de aquellos comprimidos bajo una penetración del punzón superior de 7 mm es mucho menor que la de aquellos con 8 mm y 9 mm. No existen muchas diferencias entre las resistencias a la fractura de estos dos últimos grupos.

POROSIDAD

La porosidad media fue del 20,5% ($\pm 3,0\%$). La densidad del meropenem es mayor que la del PLGA, por lo que la densidad de los comprimidos es mayor cuando las concentraciones de meropenem son más altas. No obstante, resultan todas muy parecidas.

La porosidad será un factor muy importante a la hora de la liberación del meropenem desde los comprimidos. A mayor porosidad, más rápida será la liberación. Otro factor que se podría estudiar y que influiría notablemente en la liberación es la tortuosidad de los poros, ya que a mayor tortuosidad la liberación será más lenta.

DIFRACCIÓN DE RAYOS X

Los resultados demuestran que el meropenem es cristalino, y sus picos de difracción disminuyen cuanto mayor es la proporción de PLGA en los comprimidos.

La figura 5.18 nos permite observar la presencia de meropenem en la superficie de los comprimidos.

Los resultados representados en la figura 5.19 demuestran que existe un descenso en la cristalinidad a medida que aumenta el tiempo de liberación. Los análisis de HPLC confirman estos resultados, al obtener porcentajes de liberación cercanos al 20,0% y al 80,0% a las 2,0 horas y a las 8,0 horas, respectivamente. A las 8,0 horas aparece un nuevo pico que podría corresponderse con el ácido láctico, producto de degradación del PLGA.

ENSAYO DE LIBERACIÓN *IN VITRO*

Los estudios muestran que la liberación no es controlada, ya que existe un claro efecto de liberación rápida (Burst) durante las primeras 24,0 horas. Este efecto hace que se libere aproximadamente el 80,0% del principio activo durante el primer día. Cabe destacar que este ensayo se hizo con meropenem externo, pues no se pudieron obtener comprimidos con meropenem en el interior de las microesferas, lo que seguramente favorecería una liberación más controlada en el tiempo.

No existen diferencias significativas ($P > 0.9$) entre los polímeros PLGA Resomer® RG 503 y PLGA Resomer® RG 504.

Tampoco existen diferencias significativas si comparamos los comprimidos de diferentes proporciones de meropenem/PLGA.

La liberación en los comprimidos de PLGA 503:meropenem (90:10) parece ser algo distinta a la del resto. Seguramente se deba a que en esta proporción no existe uniformidad de masa y el contenido en principio activo probablemente fuera menor.

5.7. SUSPENSIÓN INYECTABLE: FORMULACIÓN

Puesto que el proceso de fabricación de comprimidos resultó ser muy dificultoso, se decidió buscar una alternativa. La suspensión inyectable de microesferas de meropenem fue la forma farmacéutica seleccionada.

Al igual que los comprimidos, las suspensiones también pueden administrarse en las heridas quirúrgicas, puesto que tienen cierto grado de viscosidad y pueden permanecer en el lugar de la administración. Incluso pueden administrarse por vía intramuscular después de la operación.

Las microesferas pueden liberar meropenem desde el lugar donde se administre, al igual que lo pueden hacer desde un comprimido.

INTRODUCCIÓN: ADMIN. INTRAMUSCULAR

A) DEFINICIÓN: ADMINISTRACIÓN PARENTERAL

Los preparados para administración parenteral son formulaciones estériles destinadas a ser inyectadas o implantadas en el cuerpo humano, atravesando las barreras de la piel. A continuación se enumeran cinco de las más representativas:

- **Preparaciones inyectables:** Son preparaciones del principio activo disuelto (solución), emulsionado (emulsión) o disperso (dispersión) en agua o en un líquido no acuoso.
- **Preparaciones para diluir previamente a la administración parenteral:** Soluciones concentradas y estériles destinadas a ser inyectadas o administradas por perfusión tras ser diluidas en un líquido apropiado antes de su administración.
- **Preparaciones inyectables para perfusión:** Son preparaciones destinadas a una administración más lenta a lo largo del tiempo, con volúmenes mayores.
- **Polvo para preparaciones inyectables extemporáneas:** Sustancias sólidas estériles, dosificadas y acondicionadas en recipientes definidos que, rápidamente tras agitación, en presencia de un volumen prescrito de líquido estéril apropiado, dan lugar a soluciones prácticamente límpidas, exentas de partículas, o bien a suspensiones uniformes.
- **Implantes o pellets:** Pequeños comprimidos estériles de forma y tamaño adecuados que garantizan la liberación del principio activo a lo largo de un tiempo prolongado.

También podemos clasificarlas según su naturaleza:

- **Solución:** Si el principio activo es soluble no hay ningún problema. Si no lo es hay que añadir codisolventes. Es importante el proceso de filtrado final ya que la solución ha de ser límpida, no pueden aparecer partículas en el inyectable. Tienen la ventaja de que se pueden administrar en cualquier vía parenteral.
- **Suspensión:** Es muy importante el diámetro del sólido, que ha de ser lo más pequeño y homogéneo posible. El vehículo puede ser hidrófilo o lipófilo. Son siempre preparados de pequeño volumen. Solo se pueden administrar por vía subcutánea, intramuscular e intraarticular. Se elaboran cuando el principio activo es insoluble y no podemos diseñar un sistema de liberación modificada. Los coadyuvantes pueden ser como los de las suspensiones, además podemos usar agentes viscosizantes, estabilizantes, antimicrobianos, reguladores de pH...
- **Emulsión:** Se emplean muy poco, han de ser muy estables para que no haya separación de fases.

B) TIPOS

Las tres vías principales para administración de preparaciones inyectables son la intravenosa (IV), la subcutánea (SC) y la intramuscular (IM). Otras vías parenterales de uso menos frecuente son la intradérmica, la intraaracnoidea o intratecal, epidural, intraósea, intraarticular, intraarterial, intracardiaca, etc.

Por vía parenteral (generalmente intramuscular, intraarticular o subcutánea) es posible la liberación retardada o prolongada de los principios activos a partir del punto de inyección. Esto se puede conseguir utilizando distintos recursos técnicos. Uno de ellos consiste en sustituir una solución acuosa por una oleosa, en el caso de que el principio activo sea liposoluble. El método más clásico consiste en inyectar derivados poco hidrosolubles del principio activo, en forma de suspensiones amorfas o cristalinas (ej.: preparaciones retard de insulina). A veces, el principio activo puede también adsorberse sobre un soporte inerte desde el que será liberado, o bien fijarse en forma de micropartícula, o incorporarse en liposomas para vectorizar algunos fármacos e, incluso ser tratado químicamente (profármaco) a fin de modificar sus propiedades fisicoquímicas. La utilización de implantes o pellets colocados asépticamente bajo la piel, garantiza un efecto aún más duradero que las formas anteriores, aunque es todavía una técnica poco frecuente.

Por vía IV (sueros, viales y ampollas) no pueden administrarse preparados oleosos (posibilidad de embolia grasa) ni aquellos que contengan componentes capaces de precipitar algún componente sanguíneo o hemolizar los hematíes. La vía SC (viales y comprimidos hipodérmicos) no puede utilizarse para sustancias irritantes (puede producir necrosis del tejido). La vía IM admite el ser utilizada para sustancias irritantes. Los preparados para administración intratecal deben estar exentos de neurotoxicidad, tanto “*per se*” como por el pH de la forma farmacéutica.

- ❖ **Vía Intravenosa:** Proporciona un efecto rápido del fármaco y una dosificación precisa, sin problemas de biodisponibilidad (BD = 100%). Puede presentar, no obstante, graves inconvenientes, como la aparición de tromboflebitis (por productos irritantes, inyección demasiado rápida o precipitación en la disolución), así como problemas de incompatibilidades entre dos principios activos administrados conjuntamente en la misma vía.
- ❖ **Vía Intraarterial:** Utilizada en el tratamiento quimioterápico de determinados cánceres; permite obtener una máxima concentración del fármaco en la zona tumoral, con unos mínimos efectos sistémicos.
- ❖ **Vía Intramuscular:** Se utiliza para fármacos no absorbibles por vía oral o ante la imposibilidad de administración del fármaco al paciente por otra vía. Numerosos factores van a influir en la biodisponibilidad del fármaco por vía IM (vascularización de la zona de inyección, grado de ionización y liposolubilidad del fármaco, volumen de inyección...). Esta vía es muy utilizada para la administración de preparados de absorción lenta y prolongada (preparados “depot”) como los de penicilina G procaína o risperidona.

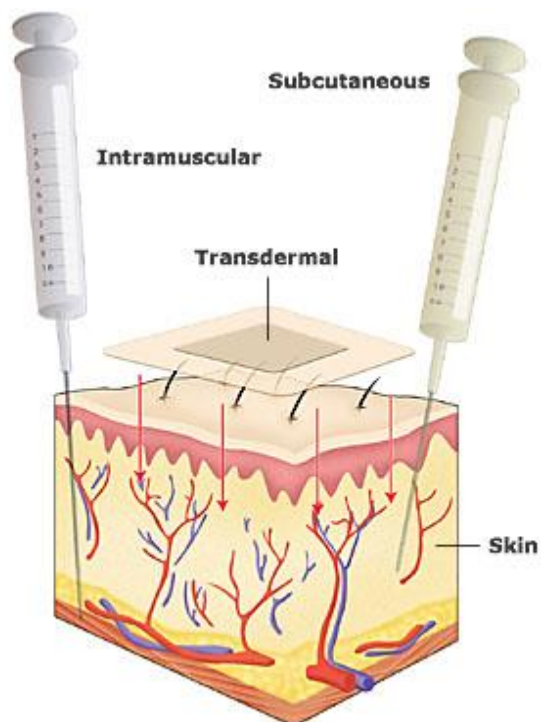


Fig. 5.21. Sección de la piel, representando una administración intramuscular, subcutánea y transdermal.

- **Vía Subcutánea:** De características similares a la anterior pero al ser una zona menos vascularizada, la velocidad de absorción es mucho menor. Sin embargo, dicha velocidad puede ser incrementada por distintos medios (ej.: añadiendo hialuronidasa o dando un masaje), o también disminuida (ej.: utilizando un vasoconstrictor como la adrenalina junto a un anestésico local). Esta vía es muy utilizada para la administración de insulina.

C) INCONVENIENTES

- Material y equipos muy específicos.
- Personal manipulador competente.
- Efectos dolorosos.
- Riesgos infección.

D) VENTAJAS

- Efecto inmediato o instantáneo (casos de urgencia).
- Evita destrucción o inactivación del principio activo en las mucosas.
- Cuando fármaco no se absorbe por mucosas.
- Cuando fármaco presenta efecto de primer paso importante.
- Minimizar efectos secundarios sobre el tracto gastrointestinal.
- Si la vía oral está imposibilitada por vómitos u obstrucción.
- Asegura una absorción íntegra de dosis.
- Conseguir acción terapéutica localizada.
- Obtener niveles plasmáticos predeterminados constantes en el tiempo períodos prolongados.
- Controlar algún parámetro farmacocinético.

E) REQUISITOS

❖ Limpidez

Es un requisito que solo se exige para los inyectables de tipo solución. Se define como la ausencia de partículas en suspensión.

Las partículas pueden tener diversa naturaleza u origen, pueden provenir de las materias primas, envases, de las etapas de llenado o de la conservación y manipulación antes de ser administrados. Es frecuente encontrar partículas de vidrio del envase. Puede haber residuos de carbonización que aparecen al cerrar las ampollas. Partículas de polvo y partículas procedentes de tapones y de los sistemas de llenado. También pueden aparecer microorganismos, aunque es muy raro. Debido a la interacción entre componentes de la fórmula pueden aparecer precipitados.

La importancia de este requisito depende de la vía de administración, número de partículas y volumen de inyectable. No tiene la misma trascendencia la existencia de partículas en un preparado intramuscular como en uno intravenoso. Las partículas en los inyectables pueden producir trombos, granulomas (en el pulmón) y lesiones en la pared de vasos si la partícula tiene aristas.

La limpidez se evalúa mediante control óptico o visual del aspecto externo del preparado, los cambios de color también pueden indicar alteraciones en el preparado. Para aumentar la limpidez los preparados se someten a filtración clarificante en su elaboración, aunque a veces son estas membranas filtrantes las que desprenden partículas al inyectable. Siempre quedarán partículas porque por debajo de un tamaño no las podemos detectar. Hay varios ensayos para detectar la presencia de partículas. Para cada preparado hay que evaluar la presencia de partículas por control visual. Para detectar las partículas subvisibles hay dos métodos: uno basado en el bloqueo de la luz, que detecta el tamaño y número de partículas, para esto se usa un contador Coulter; y por microscopía, filtramos las soluciones y se observa el filtro, este análisis es más cualitativo que cuantitativo, ya que permite identificar las partículas y conocer así su procedencia.

❖ Neutralidad

Es muy importante controlar el pH de los preparados parenterales ya que condiciona la tolerancia del organismo al preparado, la estabilidad y a veces la actividad del preparado. Se tiende a que el pH del preparado sea similar al fisiológico para que sea mejor tolerado. El pH fisiológico es el de mayor tolerancia, mientras que el pH galénico es el de máxima estabilidad, y ambos valores no siempre coinciden.

El pH fisiológico oscila entre 7,35 y 7,40. Los niveles extremos de pH no son bien tolerados por el organismo y pueden producir reacciones adversas, dolor, inflamaciones e incluso necrosis de tejidos. El organismo tolera menos los ácidos que las bases ya que los ácidos pueden hacer precipitar las proteínas. Los efectos más importantes se dan sobre todo en las vías intramuscular y cutánea, ya que tienen más dificultad para tamponar.

Hay que intentar que el pH fisiológico, galénico y farmacológico sean similares, pero el pH fisiológico y el galénico suelen ser distintos por lo que hemos de valorar si necesitamos la máxima estabilidad o la máxima tolerancia. En las formulaciones se añaden sustancias tampón para mejorar la tolerancia. Si se administra un preparado no tamponado la sangre tiene sistemas tampón que toleran pH entre 4,0 y 10,0; si el pH es más extremo el inyectable será doloroso. Si el inyectable contiene un tampón y su pH no es fisiológico será peor tolerado por el organismo, ya que al administrarlo la sangre intentará modificar el pH del preparado pero le será difícil ya que este tiene añadido un tampón y se tardará más tiempo en llevar el pH a valores fisiológicos, lo que producirá más dolor. Si la estabilidad del preparado requiere pH no fisiológico se prefiere no incorporar soluciones tampón sino ajustar con ácidos o bases. Si el pH de máxima estabilidad no es fisiológico y es de margen estrecho si se incorpora una solución reguladora pero de bajo poder tamponante y a baja concentración y si esto no fuera posible habría que preparar de forma separada el principio activo y el vehículo. Si el pH de máxima estabilidad es estrecho pero próximo al valor fisiológico se recomienda añadir una solución reguladora. Para preparados de gran volumen no se recomienda añadir tampones.

Soluciones reguladoras más utilizadas:

- Mezclas de fosfatos monosódico y disódico: tamponan entre 5,4-8,0, poder máximo a pH 6,8.
- Mezclas ácido cítrico / citrato trisódico (pH 3,0-6,0).
- Mezclas ácido acético / acetato sódico (pH 3,6-5,6).
- Mezclas NaHCO_3 / Na_2CO_3 (pH 9,2-10,7).

Los valores de pH han de controlarse durante todos los procesos, sobre todo en aquellas etapas de la fabricación donde se pueda modificar el pH. Otro control de pH es la determinación del poder tamponante, que es la cantidad de ácido o base que hay que incorporar para que vire un indicador.

❖ **Isotonía**

Hay que intentar que la preparación presente la misma tonicidad que la sangre y fluidos titulares. Este requisito es muy importante para los preparados de gran volumen.

Hay que diferenciar entre los conceptos de isotónico e isoosmótico:

- Isoosmótico: es un concepto fisicoquímico, indica que la presión osmótica es igual en dos fluidos. El que una preparación sea isotónica no implica que sea isoosmótica.
- Isotónico: es un concepto fisiológico, se determina cuando se ponen en contacto el preparado y la sangre y se observa lo que le ocurre a los glóbulos rojos. Si los glóbulos rojos no se modifican la preparación es isotónica; si disminuyen de tamaño y se arrugan (plasmólisis), la solución es hipertónica; si aumentan de tamaño y se hinchan, la solución es hipotónica y puede provocar hemólisis. Una solución isotónica es la de NaCl 0,9% m/v.

La tonicidad tiene más o menos trascendencia en función de la vía. Los efectos por vía intramuscular o subcutánea no suelen ser muy graves. Por vía intravenosa tampoco es grave si se administra lentamente, pero surgen problemas si el preparado es de gran volumen. La sangre tiene una osmolaridad de 0,28 osmoles/Kg.

Todas las disoluciones isotónicas son isoosmóticas, pero no siempre al contrario. Hay que ajustar la isotonía al valor de la sangre, para ello utilizamos isotonizantes. A veces se ajustan a la vez pH y tonicidad.

También hay que realizar controles para evaluar la tonicidad, para ello se pone en contacto el preparado con la sangre. Hay dos métodos:

- Método hemolítico: se ponen en contacto la sangre y el preparado, se centrifuga y se observa la coloración del sobrenadante para ver el grado de hemólisis, así determinamos si la disolución es hipotónica.
- Método del hematocrito: tras el contacto con el preparado se mira el tamaño de los glóbulos rojos, si han aumentado de tamaño la solución es hipotónica y si han disminuido es hipertónica.

❖ Esterilidad

Hay que trabajar en condiciones adecuadas para que el producto sea estéril. Normalmente la esterilización se hace cuando el preparado ya está acondicionado en su envase definitivo, es una esterilización terminal. Pero hay preparados en que no se puede hacer esterilización terminal y por tanto se debe elaborar el preparado de forma aséptica, esterilizando de forma aislada cada componente del preparado y trabajando en ambiente estéril. Hay que controlar las condiciones de trabajo durante todo el proceso de fabricación e impedir el crecimiento de microorganismos, disminuir al mínimo posible la carga microbiana inicial de todos los materiales y dispositivos, validar cada proceso de esterilización que se realice.

Para esterilizar los preparados parenterales utilizamos calor seco o húmedo, radiaciones ionizantes, gases (peróxido de hidrógeno) y filtración esterilizante. En la práctica se esterilizan por calor húmedo, pero si el preparado es termolábil se requiere el trabajar en ambiente estéril o realizar filtración (0,22 micrómetros) o radiación gamma.

El ensayo de esterilidad se describe en la RFE dentro del capítulo de ensayos biológicos. Establece que debe hacerse en condiciones asépticas, trabajando en campanas de flujo laminar de clase A. Se utilizan dos medios de cultivo, para bacterias aerobias y anaerobias, hongos y levaduras. Hay que comprobar si hay crecimiento microbiano y para ello incubamos los preparados en los medios de cultivo. Para realizar el ensayo hay dos técnicas: inoculación y filtración.

❖ Ausencia de pirógenos

Pirógeno es toda sustancia que puede producir fiebre. Hay pirógenos endógenos y exógenos. Los pirógenos son hidrosolubles, por lo que es fácil que atraviesen membranas filtrantes. Suelen ser termorresistentes y se necesitan condiciones muy drásticas de temperatura para eliminarlos, y pocos materiales los soportarían. No son volátiles, por lo que se pueden eliminar por destilación. No resisten la acción de oxidantes fuertes como hipocloritos y agua oxigenada. Son sensibles a radiaciones gamma. Se hidrolizan con ácidos y bases fuertes. A pH=2 se ionizan y es fácil eliminarlos con filtros ionizados. Se adsorben sobre partículas sólidas finamente divididas debido a la alta superficie específica de estas partículas, como por ejemplo el carbón activo, caolín y bentonitas. Los pirógenos pueden provenir de los vehículos empleados, de las materias primas y de los materiales de elaboración y acondicionamiento.

Hay métodos que inactivan al pirógeno y otros que lo eliminan:

- Inactivación: calor seco a más de 250,0°C, calor húmedo en condiciones especiales, reacciones químicas, radiaciones ionizantes.
- Eliminación: por lavado, con agua exenta de pirógenos, por destilación, osmosis inversa, ultrafiltración...

Ensayos de pirógenos. Descritos en la RFE, son el ensayo de pirógenos con conejos y el de endotoxinas bacteriana (método LAL o ensayo de lisado de amebocitos).



Fig. 5.22. Amebocitos, empleados para el método LAL de detección de endotoxinas bacterianas.

F) COMPOSICIÓN

El contenido son los principios activos, vehículo y coadyuvantes o sustancias auxiliares. El continente es el envase, que puede ser de muchos materiales.

❖ **Vehículo**

El vehículo es el soporte de la sustancia medicamentosa, sirve para llevar el principio activo hasta su lugar de administración, suele ser el componente mayoritario. Los requisitos generales son inocuidad, atoxicidad, inerte químicamente, compatibilidad con el principio activo, posibilidad de esterilización, gran pureza química, pH fisiológico (neutralidad), no deben producir quistes ni abscesos, no muy viscosos ya deben mantenerse constantes a distintas temperaturas, fluidez, solubilidad y miscibilidad.

El vehículo más universal es el agua, buen disolvente de sustancias polares. Pero también hay vehículos para sustancias apolares o que permitan liberación modificada.

Los vehículos se clasifican en:

- Agua para preparaciones inyectables: Es perfectamente compatible con nuestro organismo.
- Vehículos hidrófilos: Agua para preparados inyectables, solución acuosa de electrolitos, solución azucarada y vehículos hidrosolubles no acuosos.
- Vehículos lipófilos: Aceites, ésteres de ácidos grasos, triglicéridos semisintéticos. Se usan cuando los principios activos son casi insolubles en vehículos hidrosolubles. Sirven para inyectables oleosos tipo solución o suspensión. Las suspensiones oleosas son del tipo de liberación controlada, produciendo un efecto más prolongado.

❖ Coadyuvantes

Su incorporación responde a la necesidad de obtener una forma farmacéutica más segura, estable y eficaz. Por tanto cualquier coadyuvante que se incorpore tiene un finalidad muy clara y justificada.

Hay cinco grupos de coadyuvantes según la funcionalidad en la formulación:

- Se usan para la correcta formulación, preparación galénica y mantenimiento del sistema físico-químico: solubilizantes, viscosizantes (aumenta la estabilidad de suspensiones y sirven para elaborar formas de liberación prolongada), agentes tensioactivos –ATA- (como solubilizantes y para formar emulsiones) y crioprotectores (mantienen estables los polvos liofilizados).
- Se usan para mantener la solubilidad química: antioxidantes, antihidrolíticos y soluciones reguladoras de pH, ácidos y bases.
- Se usan para garantizar la conservación antimicrobiana: conservantes antimicrobianos.
- Se usan para mejorar la compatibilidad fisiológica y la aceptabilidad por el paciente: isotonizantes y soluciones reguladoras de pH, ácidos y bases.
- Se usan para asegurar la eficacia del producto: vasoconstrictores (evitan que el fármaco difunda y así se logra efecto más localizado), agentes de difusión (actúan al contrario que los vasoconstrictores) y viscosizantes.

MATERIALES Y MÉTODOS

A) MATERIALES

Para elaborar la suspensión se han empleado los siguientes componentes: principio activo, excipiente polimérico que permite la liberación prolongada, vehículo, viscosizante, tensioactivo, isotonzante y reguladores de PH.

Todos los componentes empleados están aprobados para su administración parenteral.

La mayoría de la información sobre los excipientes ha sido recogida del libro *Handbook of Pharmaceutical Excipients*.

1. ÁCIDO POLILÁCTICO-CO-GLICÓLICO (PLGA)

El PLGA es un polímero perteneciente al grupo de los poliésteres alifáticos. Son copolímeros de moléculas de ácido láctico y ácido glicólico. Podemos clasificarlo como un polímero semisintético, lineal, de adición, termoplástico y biodegradable (ver apartado 2.2.).

Es un material biocompatible, bioabsorbible y biodegradable; por lo que se usa como sistema de liberación controlada de fármacos en formulaciones inyectables o implantables.

Las propiedades más importantes se resumen en la siguiente tabla:

Propiedad	Valores
Proporción (Ácido láctico:Ácido glicólico)	100:0
	85:15
	75:25
	65:35
	50:50
	0:100
Viscosidad inherente	0,16 – 1,70 dl/g
Temperatura de transición vítrea	38,0 – 60,0°C
Amorfo vs cristalino	Generalmente amorfo
Grupo final	Ácido carboxílico
	Éster
Solubilidad	Generalmente disolventes orgánicos

Tabla 5.16. Propiedades físico-químicas del PLGA.

- La proporción de ácido láctico y ácido glicólico puede variar.
- El peso molecular depende de la longitud de la cadena y se puede calcular mediante la viscosidad inherente o por cromatografía de exclusión.
- Los polímeros termoplásticos son materiales que presentan una pseudotransición termodinámica a una temperatura de transición vítrea (T_g).
- Normalmente son sustancias amorfas sin estructura interna definida.
- Si el grupo final es un éster será más hidrófobo, mientras que si es un ácido carboxílico será más hidrofílico.

Todos estos factores influyen en la velocidad de degradación. Se puede decir que la degradación es más lenta cuando existe mayor proporción de ácido láctico, mayor peso molecular, grupo final éster, cristalinos...

En nuestro caso utilizaremos PLGA Resomer RG504, que posee las siguientes propiedades:

- Proporción: 50,0% de ácido láctico y 50,0% de ácido glicólico.
- Viscosidad inherente: 0,40 – 0,60 dl/g.
- Punto de fusión: amorfo.
- Temperatura de transición vítrea: 46,0 – 50,0°C.
- Grupo final: éster de alquilo
- Color: blanco.
- Solubilidad: diclorometano, tetrahidrofurano, acetato de etilo, triclorometano, cloroformo, dimetilformamida, hexafluoroisopropanol y acetona...
- Biodegradación: aproximadamente en 1 – 2 meses.

Son polímeros muy seguros ya que al degradarse generan ácido láctico y ácido glicólico, que se incorporan a las rutas metabólicas del organismo como el ciclo de Krebs. El mayor problema que puede aparecer es el enquistamiento de los implantes. Son productos autorizados para su uso como excipientes orales y parenterales.

2. POLISORBATO 20

El polisorbato 20 es un compuesto sintético producido a partir de óxido de etileno conjuntamente con el sorbitol, que se unen a ácidos grasos. El producto resultante es una mezcla de moléculas de diversos tamaños, más que un único compuesto puro.

Es un agente dispersante, emulsificante, surfactante no iónico, solubilizante, agente suspensor y humectante. Los polisorbatos que contienen 20 unidades de óxido de etileno son surfactantes no iónicos e hidrofílicos, que se usan ampliamente como emulsificantes O/A y como agentes humectantes en suspensiones orales y parenterales.

Uso	Concentración (%)
Emulsificante	1,0 – 15,0%
Solubilizante	1,0 – 15,0%
Humectante	1,0 – 3,0%

Tabla 5.17. Usos del Polisorbato 20 según su proporción.

A continuación podemos ver algunas propiedades del polisorbato 20:

Propiedad	Valor normal
Color y forma a 25°C	Líquido oleoso amarillo
HLB	16,7
Viscosidad	400 mPas
Solubilidad	
Etanol	Soluble
Aceite mineral	Insoluble
Aceite vegetal	Insoluble
Agua	Soluble
Tensión superficial	34,7 mN/m
Índice de acidez	2,0%
Índice de hidroxilos	96 - 108
Índice de saponificación	40 - 50
Humedad	3,0%

Composición (RFE)	< 1,0%
Ácido caproico	< 10,0%
Ácido caprílico	< 10,0%
Ácido cáprico	40,0 – 60,0%
Ácido láurico	14,0 – 25,0%
Ácido mirístico	7,0 – 15,0%
Ácido palmítico	< 7,0%
Ácido esteárico	< 11,0%
Ácido oleico	< 3,0%

Tabla 5.18. Propiedades físico-químicas del Polisorbato 20.

Los polisorbatos son estables en disoluciones con electrolitos, ácidas débiles y básicas débiles. Cuando las disoluciones son ácidas o básicas fuertes se produce mayor saponificación. Los ésteres del ácido oleico son sensibles a la oxidación. Los polisorbatos son higroscópicos. Se deben almacenar en contenedores cerrados y opacos.

Los polisorbatos son seguros, aunque se han reportado casos de hipersensibilidad.

El polisorbato 20 está autorizado por la FDA y EMA para su administración oral, I.V., I.M., tópica, rectal y vaginal.

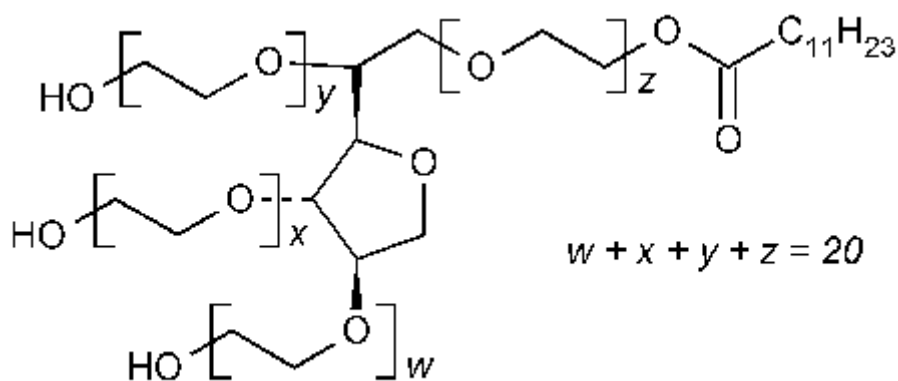


Fig. 5.23. Estructura química del Polisorbato 20.

3. CARBOXIMETILCELULOSA SÓDICA (CMCNa)

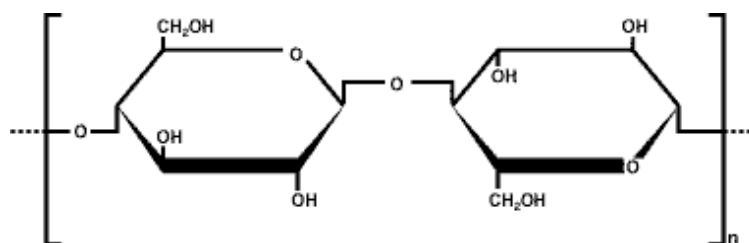


Fig. 5.24. Estructura química la Carboximetilcelulosa Sódica.

Es un derivado semisintético de la celulosa. La celulosa se trata con NaOH y a continuación con monocloroacetato sódico.

La carboximetilcelulosa sódica tiene multitud de aplicaciones, como agente de recubrimiento, agente estabilizante, suspensor, disgregante, aglutinante, viscosizante y absorbente de agua. En este caso se utiliza por sus propiedades viscosizantes, que a la vez van a favorecer una liberación prolongada a lo largo del tiempo.

Uso	Concentración (%)
Viscosizante	0,3 – 1,0%
Gelificante	3,0 – 6,0%
Inyecciones	0,1 – 0,8%
Soluciones orales	0,1 – 1,0%
Aglutinante	1,0 – 6,0%

Tabla 5.19. Usos de la Carboximetilcelulosa sódica según su proporción.

A continuación podemos ver algunas propiedades de la CMCNa:

Propiedad	Valor normal
Densidad	0,52 – 0,78 g/cm ³
Punto de fusión	252,0°C (Carbonización)
Viscosidad (1,0% en agua)	
Viscosidad baja	10 – 15 mPas
Viscosidad media	1500 – 2500 mPas
Viscosidad alta	8000 – 12000 mPas
Tensión superficial	34,7 mN/m
Solubilidad	
Acetona	Insoluble
Etanol 95,0%	Insoluble
Éter	Insoluble
Agua	Soluble
Humedad	< 10,0%

Tabla 5.20. Propiedades físico-químicas de la Carboximetilcelulosa sódica.

La CMCNa es generalmente estable, aunque sea un material muy higroscópico. Es estable en disoluciones acuosas con pH comprendido entre 2,0 y 10,0; valores más ácidos producen precipitación y más básicos producen un descenso de la viscosidad, la estabilidad es máxima entre 7,0 y 9,0. Las disoluciones acuosas pueden ser esterilizadas por calor o radiación gamma, no obstante puede provocar un descenso de la viscosidad hasta del 25,0%.

Este derivado de la celulosa es seguro. Esta aprobado su uso para vía oral, tópica y parenteral.

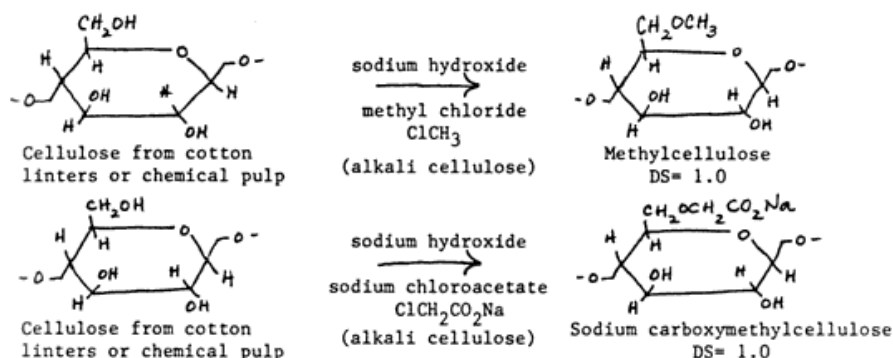


Fig. 5.25. Ruta de síntesis química de la Carboximetilcelulosa Sódica.

4. HIDROGENOFOSFATO DISÓDICO DIHIDRATO

Compuesto cuya fórmula es $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ y con peso molecular de 177,98 Daltons.

Es empleado como agente regulador del pH.

Las propiedades más significativas son las siguientes:

Propiedad	Valor normal
Aspecto	Cristales blancos
pH (1,0% en agua)	9,1
Constantes de ionización (25,0°C)	
Pka1	2,2
Pka2	7,2
Pka3	12,4
Osmolaridad	2,2% en agua es isoosmótica con suero
Solubilidad	
Agua	Soluble
Etanol	Insoluble

Tabla 5.21. Propiedades físico-químicas del hidrógenofosfato disódico dihidrato.

Los cristales son estables, siempre que se mantengan en envases cerrados. Las soluciones acuosas también son estables y pueden ser esterilizadas con autoclave.

Es un excipiente muy seguro, ampliamente usado en formulaciones orales, tópicas y parenterales. No obstante, por vía parenteral se debe tener cuidado de no causar una hiperfosfatemia.

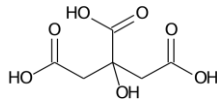
5. **ÁCIDO CÍTRICO ANHIDRO**

Fig. 5.26. Estructura química del ácido cítrico anhidro.

Sustancia cuya fórmula empírica es $C_6H_8O_7$ con un peso molecular de 192,12 Daltons.

El ácido cítrico es un agente acidificante, antioxidante, regulador del pH, quelante, saborizante y conservante. Su principal uso es el de regulador del pH en disoluciones acuosas.

Uso	Concentración (%)
Buffer	0,1 – 2,0%
Saborizante	0,3 – 2,0%
Antioxidante/quelante	0,3 – 2,0%

Tabla 5.22. Usos del ácido cítrico anhidro según su proporción.

Propiedad	Valor normal
pH (1,0% en agua)	2,2
Constantes de ionización (25,0°C)	
Pka1	3,1
Pka2	4,8
Pka3	6,4
Higroscopicidad (25,0°C)	Pasa fácilmente a monohidrato a HR > 50,0%
Solubilidad	
Agua	Soluble
Etanol	Soluble
Éter	Parcialmente soluble
Punto de fusión	153,0°C

Tabla 5.23. Propiedades físico-químicas del ácido cítrico anhidro.

Presenta elevada higroscopicidad, es deliquescente en ambientes húmedos. Las soluciones acuosas diluidas pueden llegar a fermentar.

Es un producto muy seguro, debido a que se presenta en el propio organismo, mayoritariamente en los huesos. Está aprobado su uso para administración oral, parenteral (I.V., I.M.), oftálmica, tópica, vaginal...

6. CLORURO SÓDICO

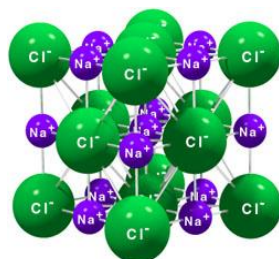


Fig. 5.27. Estructura química del cloruro sódico.

Excipiente muy empleado tanto en formulaciones líquidas como formulaciones sólidas, parenterales y no parenterales. En este caso se usa como isotonzante.

Uso	Concentración (%)
Isotonzante	0,9%
Diluyente (cápsulas)	10,0 – 80,0%
Excipiente compresión directa (comprimidos)	10,0 – 80,0%
Floculante (suspensiones)	< 1,0%
Lubrificante	5,0 – 20,0%

Tabla 5.24. Usos del NaCl según su proporción.

Las propiedades más relevantes del NaCl son:

Propiedad	Valor normal
Aspecto	Polvo cristalino blanco
Cristales	Cúbicos centrados en las caras
pH (solución saturada)	6,7 – 7,3
Higroscopicidad	Higroscópico a HR > 75,0%
Punto de fusión	804,0°C
Osmolaridad	A 0,9% en agua es isoosmótico con suero
Solubilidad (20,0°C)	
Etanol	Moderadamente soluble
Glicerina	Soluble
Agua	Muy soluble
Constante dieléctrica (a 1 MHz)	5,9

Tabla 5.25. Propiedades físico-químicas del NaCl.

El material sólido es estable, aunque debe almacenarse en un contenedor cerrado. Las disoluciones presentan estabilidad, aunque si se encuentran en recipientes de cristal puede existir intercambio iónico. Las soluciones pueden esterilizarse por autoclavado o filtración.

El NaCl es la sal más importante del cuerpo humano, por lo que no presenta ningún peligro como excipiente, salvo pacientes con ciertas enfermedades (insuficiencia renal...). Las autoridades regulatorias permiten su uso en formulaciones orales, parenterales, tópicas, nasales, oftálmicas, rectales, óticas e inhalatorias.

7. HIDRÓXIDO SÓDICO

Su fórmula empírica es NaOH, con un peso molecular de 40 Daltons.

Se emplea por sus propiedades alcalinizantes o como agente Buffer (regulador del pH) en disoluciones parenterales y no parenterales.

Propiedad	Valor normal
Alcalinidad (pH)	
0,1% en agua (w/v)	12
0,5% en agua (w/v)	13
5,0% en agua (w/v)	14
Punto de fusión	318,0°C
Solubilidad (20,0°C)	
Éter	Insoluble
Etanol	Soluble
Glicerina	Soluble
Agua	Muy soluble

Tabla 5.26. Propiedades físico-químicas del NaOH.

Se debe almacenar en un contenedor no metálico. Es higroscópico, volviéndose líquido cuando absorbe agua, aunque seguidamente capta dióxido de carbono, formándose un precipitado de carbonato sódico.

A bajas concentraciones es seguro, volviéndose corrosivo cuando aumenta su proporción. Se permite hacer formulaciones con NaOH para administrarlas por vía oral, parenteral, oftálmica, rectal, vaginal, inhalatoria...

8. AGUA PARA INYECCIÓN

El agua es empleada como vehículo y diluyente en las inyecciones parenterales, por lo que debe cumplir unos requisitos especiales. El agua para inyección se obtiene tras filtrar, desionizar y destilar el agua. La destilación es un requisito de la *Farmacopea Europea 8.0* y *USP 38* como paso final para obtener agua para inyección; es un método mediante el cual se evapora el agua y luego se vuelve a condensar. De esta manera se obtiene agua estéril.

Las principales propiedades del agua son:

Propiedad	Valor normal
Temperatura de ebullición	100,0°C
Temperatura de fusión	0,0°C
Constante dieléctrica (D^{25})	78,24
Constante de ionización (25,0°C)	$1,008 \times 10^{-14}$
Índice de refracción (n_{20}^D)	1,333
Solubilidad	Miscible con líquidos polares
Densidad	1,00 g/cm ³
Viscosidad (25,0°C)	0,89 mPas
Presión de vapor (25,0°C)	3,17 kPas
Tensión superficial (25,0°C)	71,97 mN/m

Tabla 5.27. Propiedades físico-químicas del Agua WFI.

El agua es estable en todos sus estados físicos. No obstante, el agua destinada para la administración parenteral debe almacenarse en unas condiciones que no permitan una contaminación orgánica (aumento del carbón orgánico) ni inorgánica (aumento de la conductividad). El sistema debe proteger también frente a la entrada física de partículas y microorganismos.

El agua para inyección debe conservarse en:

- Agua estéril para inyección: contenedores de cristal tipo I o II, en volúmenes menores a 1000 ml, preferiblemente monodosis.
- Agua para inyección a granel (en *bulk*): almacenar en condiciones diseñadas para prevenir la contaminación.

El agua para inyección debe presentar las siguientes propiedades para poder ser liberada y utilizada para preparar formulaciones inyectables o procesos de limpieza que exijan WFI:

CONTROLES	USP 38	F. Eur. 8
Apariencia	Líquido límpido e incoloro.	Líquido límpido e incoloro.
Carbono Orgánico Total	No más de 0.5 mg/L (500 ppb)	No más de 0.5 mg/L (500 ppb)
Conductividad	No más de 1.1 $\mu\text{S} \times \text{cm}^{-1}$ (20,0°C)	No más de 1,1 $\mu\text{S} \times \text{cm}^{-1}$ (20,0°C)
Nitratos	NA	No más de 0,2 ppm
Carga microbiana	No más de 10 ufc/100 ml	No más de 10 ufc/100 ml
Endotoxinas bacterianas	Menos de 0,25 IU/ml	Menos de 0,25 IU/ml

Tabla 5.28. Propiedades exigidas para la liberación del Agua WFI según *Farmacopea Europea 8.0* y *USP 38*.



Fig. 5.28. Equipo de destilación multietapa.

Tras la evaluación y elección de los excipientes, se desarrollaron las siguientes fórmulas:

- **Fórmula 1**

Componente	Cantidad (g)	Función
Microesferas de PLGA Resomer® RG 504 y meropenem	50,000	API
CMCNa	1,500	Viscosizante
Polisorbato 20	1,250	Tensioactivo
NaCl	1,125	Isotonizante
Ácido cítrico anhidro	0,500	Regulador pH
Na ₂ HPO ₄	0,125	Regulador pH
NaOH	0,100	Regulador pH
Agua desionizada	csp 0,15 litros	Disolvente/dispersante

Tabla 5.29. Formulación Intramuscular 1.

- **Fórmula 2**

Componente	Cantidad (g)	Función
Microesferas de PLGA Resomer® RG 504 y meropenem	50,000	API
CMCNa	1,500	Viscosizante
Polisorbato 20	1,250	Tensioactivo
NaCl	1,125	Isotonizante
Ácido cítrico anhidro	0,500	Regulador pH
Na ₂ HPO ₄	0,125	Regulador pH
NaOH	0,100	Regulador pH
Agua desionizada	csp 0,2 litros	Disolvente/dispersante

Tabla 5.30. Formulación Intramuscular 2.

- **Fórmula 3**

Componente	Cantidad (g)	Función
Microesferas de PLGA Resomer® RG 504 y meropenem	50,000	API
CMCNa	1,500	Viscosizante
Polisorbato 20	1,250	Tensioactivo
NaCl	1,125	Isotonizante
Ácido cítrico anhidro	0,500	Regulador pH
Na ₂ HPO ₄	0,125	Regulador pH
NaOH	0,500	Regulador pH
Agua desionizada	csp 0,2 litros	Disolvente/dispersante

Tabla 5.31. Formulación Intramuscular 3.

- **Fórmula 4**

Componente	Cantidad (g)	Función
Microesferas de PLGA Resomer® RG 504 y meropenem	50,000	API
CMCNa	1,500	Viscosizante
Polisorbato 20	1,250	Tensioactivo
NaCl	1,125	Isotonizante
Ácido cítrico anhidro	0,500	Regulador pH
Na ₂ HPO ₄	0,125	Regulador pH
NaOH	0,250	Regulador pH
Agua desionizada	csp 0,2 litros	Disolvente/dispersante

Tabla 5.32. Formulación Intramuscular 4.

- **Fórmula 5**

Componente	Cantidad (g)	Función
Microesferas de PLGA Resomer® RG 504 y meropenem	50,000	API
CMCNa	2,500	Viscosizante
Polisorbato 20	1,250	Tensioactivo
NaCl	1,125	Isotonizante
Ácido cítrico anhidro	0,300	Regulador pH
Na ₂ HPO ₄	0,125	Regulador pH
NaOH	0,180	Regulador pH
Agua desionizada	csp 0,2 litros	Disolvente/dispersante

Tabla 5.33. Formulación Intramuscular 5.

- **Fórmula 6**

Componente	Cantidad (g)	Función
Microesferas de PLGA Resomer® RG 504 y meropenem	200,000	API
CMCNa	10,000	Viscosizante
Polisorbato 20	5,000	Tensioactivo
NaCl	4,500	Isotonizante
Ácido cítrico anhidro	1,200	Regulador pH
Na ₂ HPO ₄	0,500	Regulador pH
NaOH	0,720	Regulador pH
Agua desionizada	csp 0,75 litros	Disolvente/dispersante

Tabla 5.34. Formulación Intramuscular 6.

B) MÉTODOS

Puesto que se trata de una administración parenteral, lo más importante a tener en cuenta es la esterilidad de la fórmula.

La formulación se realizó de la siguiente manera:

Fórmula A

- La fórmula se preparó en un recipiente de vidrio de 1 litro.
- En primer lugar se incorporó el 80,0% del agua desionizada.
- A continuación se añadieron el NaCl, NaOH, Na₂HPO₄ y ácido cítrico anhidro. Se agitó hasta completa disolución.
- Después se incorporó el polisorbato 20 y CMCNa. Se agitó durante 1,0 hora a 37,0°C con un agitador magnético para asegurarse la adecuada dispersión del viscosizante.
- Finalmente se enrasó con agua hasta el 100,0% del volumen previsto para la fórmula.

Esterilización

- Por otra parte se esterilizó otro recipiente de vidrio de 1 litro en la estufa, a 121,0°C durante 30,0 minutos, asegurando una reducción microbiológica de al menos 6 Log.
- También se metieron en la estufa las jeringas para su posterior acondicionamiento.
- Se realizó un trasvase con una bomba peristáltica de la Fórmula A desde el recipiente de 1 litro en el que se encontraba hasta el recipiente estéril.
- Durante el trasvase, la fórmula pasó a través de un filtro de 0,22 µm.

Incorporación del API

- Las microesferas no pueden pasar a través del filtro esterilizante, ya que tienen un tamaño de 10 µm aproximadamente, mientras que el poro del filtro es de 0,22 µm.
- En este ensayo no se pudo realizar una esterilización de las mismas, pero la mejor opción a nivel industrial sería una esterilización por irradiación gamma. En este estudio se asume la esterilidad de las mismas ya que las microesferas tienen un elevado contenido en antibióticos, que en cierta medida inhibe el crecimiento microbiológico; pero a nivel industrial no sería válido y habría que buscar algún método de esterilización como la irradiación gamma.
- Una vez incorporado el API, se agitó la fórmula hasta obtener una adecuada dispersión de las microesferas.

Acondicionamiento

- Se dosificaron jeringas de 1,8 ml de la formulación de microesferas de meropenem y PLGA. Para poder asegurar el volumen extraíble de 1,8 ml, se sobredosificaron a 1,9 ml.
- Puesto que la fórmula contenía 200 g de microesferas en 750 ml, la concentración de microesferas era de 0,27 g/ml (266,67 mg/ml). Puesto que la proporción de meropenem en las microesferas era del 31,6%, la concentración de meropenem era de 84,19 mg/ml. Por tanto, en una jeringa de 1,8 ml se acondicionaban fórmulas con 150 mg meropenem/jeringa.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos en el proceso de fabricación de las suspensiones fueron los siguientes:

- Fórmula 1: resultó ser demasiado viscosa, muy difícil de dispersar el viscosizante.
- Fórmula 2: se aumentó la cantidad de agua para reducir la viscosidad. Aun así seguía siendo bastante viscosa. El pH de la fórmula final fue de 5,4, demasiado ácido para una administración parenteral.
- Fórmula 3: se aumentó la cantidad de NaOH para ajustar el pH. La fórmula resultó ser demasiado básica: pH 12,0.
- Fórmula 4: se ajustó el pH reduciendo la cantidad de NaOH. El pH final fue de 7,6; adecuado para administración parenteral.
- Fórmula 5: se aumentó la cantidad de CMCNa a para aumentar ligeramente la viscosidad. También se modificaron las cantidades de ácido cítrico anhidro y NaOH para reajustar el pH, ya que al variar la cantidad de viscosizante afectaba al pH. Se obtuvo una fórmula con una viscosidad adecuada, con una buena dispersión del principio activo, y con un pH adecuado para administración parenteral (7,6).
- Fórmula 6: se aumentó el tamaño de lote a 750 ml, con pH (7,6) y viscosidad adecuados.
- Controles de calidad: se realizaron según el apartado siguiente.

DISCUSIÓN

Tras la elaboración de diferentes formulaciones, finalmente se obtuvo una cuya viscosidad y pH eran adecuados para su administración. El resto de análisis de control de calidad fueron desarrollados en el apartado siguiente.

Se ha podido comprobar que elaborar este tipo de formulaciones es complejo, sobre todo por la exigencia de obtener un producto estéril. El escalado a nivel industrial de la formulación resultante también será complicado, pues se requerirá tener un proceso muy especializado.

A pesar de la complejidad, es un proceso robusto y viable y con la tecnología adecuada se podría industrializar, a diferencia de los comprimidos para implantación, que no fue posible fabricarlos de forma robusta ni a nivel de desarrollo galénico.

5.8. SUSPENSIÓN INYECTABLE: CARACTERIZACIÓN

MATERIALES Y MÉTODOS

ASPECTO

A) MATERIALES

5 jeringas con fórmula 6 de suspensión de microsferas de PLGA y meropenem.

B) MÉTODOS

Método Visual: color, distribución de partículas...

DISTRIBUCIÓN TAMAÑO DE PARTÍCULA

A) MATERIALES

Este test se realizó en el apartado 5.4. (caracterización de microsferas).

B) MÉTODOS

Este test se realizó en el apartado 5.4. (caracterización de microsferas).

Este test se realizó sobre las micropartículas, no sobre la suspensión.

PH

A) MATERIALES

Este test se realizó en el apartado 5.7. (formulación de la suspensión inyectable).

B) MÉTODOS

Este test se realizó en el apartado 5.7. (formulación de la suspensión inyectable).

VOLUMEN EXTRAÍBLE

A) MATERIALES

Para calcular la densidad de la fórmula se emplearon los siguientes materiales:

- 100 ml de fórmula 6 de suspensión de microesferas de PLGA y meropenem.
- Probeta graduada de 100 ml.

Para calcular el volumen extraíble se emplearon los siguientes materiales:

- 5 jeringas con fórmula 6 de suspensión de microesferas de PLGA y meropenem.
- Vaso de precipitados seco.
- Balanza de precisión.

B) MÉTODOS

En primer lugar se debe calcular la densidad, para ello se pesaron 100 ml de fórmula 6. Para obtener 100 ml se empleó una probeta graduada.

En segundo lugar se realizó el ensayo de determinación del volumen extraíble. Tal y como establece la *Farmacopea Europea 8.0*, se emplearon los propios mecanismos de la jeringa para descargar el contenido. Se debe descargar en un vaso tarado seco sobre una balanza de precisión, empujando el pistón lenta y regularmente. No se debe descargar el volumen que ocupa la aguja.

Para obtener el volumen se debe dividir la masa (g) por la densidad (g/ml).

La *Farmacopea Europea 8.0* establece que el volumen medido para cada uno de los envases no debe ser menor que el nominal, por ello se sobredosifican las agujas.

UNIFORMIDAD DE CONTENIDO

A) MATERIALES

Para realizar el ensayo se emplearon los siguientes materiales:

- 10 jeringas con fórmula 6 de suspensión de microesferas de PLGA y meropenem

B) MÉTODOS

Para determinar la uniformidad de contenido se aplicó el método analítico validado para meropenem según el capítulo 3. Para poder analizar los resultados, en primer lugar se obtuvo una recta patrón con la siguiente ecuación:

$$\text{Área} = 153,31 * \text{Concentración} - 4,64$$

Se tomó como referencia la monografía de la *Farmacopea Europea 8.0* para evaluar la uniformidad de contenido. Se cogen 10 jeringas y se calcula el contenido medio. No puede existir ningún valor fuera del 75,0-125,0%. Se acepta si un valor sale del 85,0-115,0%, siempre y cuando se tomen 20 jeringas más y del total de 30 unidades solo se salga un valor.

Se descargó el contenido de cada jeringa en 100 ml de diclorometano. El diclorometano rompe las microesferas ya que disuelve el PLGA, de tal forma que todo el meropenem queda libre.

A continuación añadimos 100 ml de agua desionizada y realizamos una agitación. Se forman dos fases, pero debido al coeficiente de reparto entre ambos disolventes, el meropenem se queda en la fase acuosa ya que con el agua extraemos el meropenem.

A continuación se cogió una muestra de 1 ml de la fase acuosa y se realizó una dilución a 100 ml agua desionizada.

Estas disoluciones se analizaron en el HPLC según el método validado del capítulo 3.

PARTÍCULAS VISIBLES

A) MATERIALES

Para realizar el ensayo se emplearon los siguientes materiales:

- 10 jeringas con fórmula 6 de suspensión de microesferas de PLGA y meropenem

B) MÉTODOS

El test de partículas visibles se realizó según lo descrito en la *Farmacopea Europea 8.0*.

Este ensayo se realizó en las cabinas de revisión de partículas visibles de Laboratorios Normon S.A. Constan de una cabina con dos fondos, uno blanco y uno negro. Presentan una luz de una luminosidad entre 2000 y 3750 lux.

Las jeringas se deben agitar y observar al menos 5 segundos sobre cada fondo.

No se deben observar partículas diferentes a las propias de la suspensión.

VALORACIÓN

A) MATERIALES

Para realizar el ensayo se emplearon los siguientes materiales:

- 10 jeringas con fórmula 6 de suspensión de microesferas de PLGA y meropenem (de cada jeringa se deben extraer teóricamente 250 mg de meropenem)
- 3 disoluciones patrón de 25,00 µg/ml de meropenem en agua desionizada.

B) MÉTODOS

Para realizar el ensayo de valoración se aplicó el método analítico validado para meropenem según el capítulo 3 y los criterios de aceptación de la *Farmacopea Europea 8.0.* y *USP 38.* Para poder analizar los resultados, en primer lugar se obtuvo una recta patrón con la siguiente ecuación:

$$\text{Área} = 153,31 * \text{Concentración} - 4,64$$

Se prepararon tres disoluciones patrón de meropenem de 25,00 µg/ml, disolviendo 25 mg de meropenem en 1000 ml de agua desionizada. Estas disoluciones se analizaron por HPLC según el método validado del capítulo 3.

Por otra parte se descargó el contenido de una jeringa en 100 ml de diclorometano. El diclorometano rompe las microesferas ya que disuelve el PLGA, de tal forma que todo el meropenem queda libre.

A continuación introducimos 100 ml de agua desionizada y realizamos una agitación. Se forman dos fases, pero debido al coeficiente de reparto entre ambos disolventes, el meropenem se queda en la fase acuosa ya que con el agua extraemos el meropenem.

A continuación se cogió una muestra de 1 ml de la fase acuosa (en teoría con una concentración de 2,50 mg/ml) y se realizó una dilución a 100 ml agua desionizada, para obtener una concentración teórica de 25,00 µg/ml de meropenem.

Estas disoluciones se analizaron en el HPLC según el método validado del capítulo 3.

EFICACIA ANTIMICROBIANA

A) MATERIALES

No aplica

B) MÉTODOS

No se utilizó agente conservante, en la formulación es el propio antibiótico el que impide el crecimiento microbiano.

ESTERILIDAD

A) MATERIALES

- 4 jeringas con fórmula 6 (suspensión de microesferas de PLGA y meropenem).
- Reactivos: Solución A: agua peptonada 0,1%
- Medios de cultivo: tioglicolato (FTM) y caldo de caseína-soja (TSB).
- Material estéril: pinzas, tijeras, cuchillo, jeringas, agujas y guantes de nitrilo.

B) MÉTODOS

El test de esterilidad se realizó en el Departamento de Microbiología de Laboratorios Normon S.A., siguiendo el procedimiento interno ESTERI/00, que cumple los requisitos de *Farmacopea Europea 8.0.* y *USP 38.*

El ensayo se realiza en condiciones asépticas, en cabina de flujo laminar grado A, situada en una sala limpia de grado B (Sala MC-4).

Equipos: bomba Steritest Equinox (Millipore®)

El test de esterilidad para Meropenem validado por Normon presenta los siguientes parámetros:

Producto	n	ST	MODO AUTO	Disolución		Filtración		Lavados			Neutralizante (µl)	
				S	Método	V	T	S	V	Nº	Pen	Lac
Meropenem	20	M1/M2+M6 SI/S2+S4	P1-10L	A	10 jeringas/ 100 ml	150	3	A	75	5	NA	NA

Tabla 5.35. Parámetros empleados para la realización del test de esterilidad de la formulación 6 de meropenem.



Fig. 5.29. Equipo Steritest Equinox (Millipore®).

Incubación: incubar durante al menos 14 días a las siguientes temperaturas:

- TSB: 20,0-25,0°C
- FTM: 30,0-35,0°C

Para dar el ensayo como conforme, no debe existir crecimiento microbiano en ninguna placa incubada.

ENDOTOXINAS BACTERIANAS

Determinación si la concentración de endotoxinas de un producto sobrepasa el límite especificado.

A) MATERIALES

- 4 jeringas con fórmula 6 (suspensión de microesferas de PLGA y meropenem).
- Estándares: vial de control estándar de endotoxina liofilizado (CSE): Endotoxin (*E. coli* 0113:H10), Associates of CAPE CODE Inc.
- Reactivos:
 - Agua apirógena 'LAL Reagent Water' (LRW) Associates of CAPE CODE Inc.
 - Frasco de Pyrosol® (LAL Reconstitution Buffer): para reconstituir el vial de lisado (reactive LAL).
 - Vial de lisado de amebocitos Limulus (LAL): Pyrotell® con sensibilidad (λ) de 0,13 UE/ml o con sensibilidad (λ) de 0,03 UE/ml
 - Glucashield® (Buffer inhibidor de β .glucanos) para inhibir la posible presencia de β 1-3-D-Glucanos que potencia la reacción de LAL.
- Micropipetas Eppendorf 500-2500 μ l, Eppendorf 20-200 μ l, Gilson 10-100 μ l, Gilson 2-20 μ l, Multipette stream Eppendorf.
- Puntas de pipeta estériles y libres de pirógenos.
- Tubos de dilución de cristal libres de pirógenos Pyrotube®
- Tubos de reacción LAL: Reagent Tubes Gel-Clott
- Gradillas para los tubos de ensayo
- Parafilm
- Guantes de vinilo estériles.

B) MÉTODOS

El test de esterilidad se realizó en el Departamento de Microbiología de Laboratorios Normon, siguiendo el procedimiento interno ENDOBACT/00.

El test de determinación de endotoxinas bacterianas se lleva a cabo mediante el método gel clot (coagulación) según lo descrito en la *Farmacopea Europea 8.0* y *USP 38*.

Las bacterias Gram negativas producen la coagulación de la sangre del cangrejo herradura (*Limulus polyphemus*). La coagulación comienza cuando el lipopolisacárido o endotoxina,

presente en la pared celular de células bacterianas, entra en contacto con las enzimas contenidas en los amebocitos (células sanguíneas) del *Limulus*. Esto inicia una cascada de activación enzimática que lleva al desdoblamiento del coagulógeno (proteína de la coagulación) en productos insolubles que se unen mediante interacción iónica para producir la matriz del gel.

La prueba LAL se realiza agregando a la muestra a analizar (50 µl de muestra + 50 µl de agua) en un tubo de 100 µl del reactivo LAL, que es un extracto acuoso de amebocitos del *Limulus*, e incubando el tubo a 37,0°C ± 1,0°C durante 1,0 hora ± 2,0 minutos. Tras la incubación el tubo se invierte 180° y se observa si se ha producido la formación de un coágulo que debe permanecer intacto en el fondo del tubo para que la reacción se considere positiva. También se incluyen en el test controles positivos y negativos.

Se trata de un test límite cuyo objetivo es determinar si la muestra alcanza un valor límite de endotoxina.

El ensayo debe realizarse en condiciones de máxima asepsia con el fin de minimizar la contaminación microbiana.

Antes de llevarlo a cabo es necesario verificar que todos los materiales utilizados que entren en contacto directo con la muestra o los reactivos sean apirógenos.

Los equipos empleados fueron:

- Baño seco: Grant; Identificación (ID): 1-MC-BS-02
- Agitador de viales: Heidolf MultiReax; ID: 1-MC-AGIVIAL-01
- pHmetro: Mettler Toledo; ID: 1-MC-PH-09
- Balanza: Mettler Toledo; ID: 1-MC-BAL-22
- Reloj cronometro: Oregón Scientific

Para dar el ensayo como conforme, no debe haber endotoxinas en ninguna ensayo.

ENSAYO DE LIBERACIÓN *IN VITRO*

El ensayo de liberación *in vitro* debe ser representativo de lo que suceda *in vivo*. Por ello, las características de este estudio fueron las siguientes:

A) MATERIALES

- Medio PBS pH 7,4. El medio PBS simula las condiciones electrolíticas y de pH del plasma humano. Por cada 1000 ml de agua añadimos:
 - 8 g de NaCl
 - 0,2 g de KCl
 - 1,44 g de Na₂HPO₄
 - 0,24 g de KH₂PO₄
- Envases tipo frasco de vidrio tipo I borosilicatado. Aseguran que no exista interacción entre la disolución y el material de acondicionamiento.
- Formulación 6 (tabla 5.34.) de suspensión de microsferas de meropenem y PLGA Resomer® RG 504. El ensayo de liberación se realizó con 6 jeringas de 1,8 ml.
- Formulaciones patrón de meropenem en agua de 150,00 µg/ml.

Nº	Formulación
J1	Formulación 6
J2	Formulación 6
J3	Formulación 6
J4	Formulación 6
J5	Formulación 6
J6	Formulación 6
J7	Meropenem Patrón
J8	Meropenem Patrón

Tabla 5.36. Formulaciones empleadas para realizar el ensayo de liberación *in vitro*.

B) MÉTODOS

El estudio de liberación del meropenem se realizó de la siguiente manera:

- Se introdujeron 100 ml de medio PBS en 9 frascos de vidrio borosilicatado.
- En 6 frascos se inyectaron las diferentes jeringas de formulación 6; mientras que en 3 frascos se prepararon disoluciones de 150,00 µg/ml de meropenem en PBS, para tener un patrón de la estabilidad del antibiótico disuelto en este medio.
- Sin agitación (no se realizó agitación ya que se considera que una inyección de una suspensión no se encuentra en esas condiciones).
- Temperatura: $37,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$ (estufa).
- En todos los casos existían condiciones alejadas de saturación *SINK* (< 20,0% Cs).
- Se tomaron muestras de 1 ml a diferentes tiempos, con reposición del volumen extraído en cada una. Estas muestras se diluyeron en una proporción 1:10 en matraces aforados. A continuación se agitaron y filtraron por un filtro de 0,45 µm, para poder analizarlas posteriormente en el HPLC.
- Los tiempos de muestreo escogidos fueron: 2,0; 4,0; 8,0; 24,0; 48,0; 72,0; 96,0 y 168,0 horas.

Una vez que teníamos el área de los picos por HPLC, se calculó la concentración correspondiente, con la recta patrón obtenida:

$$\text{Área} = 153,31 * \text{Concentración} - 4,64$$

A las concentraciones obtenidas se le tuvieron que aplicar los factores de dilución, de degradación y de las reposiciones de líquido realizadas. A continuación se calculó la masa de meropenem liberado. Cada formulación tiene teóricamente 150 mg de meropenem.

Con estos datos y la masa de meropenem liberado, se pudo calcular el porcentaje correspondiente.

RESULTADOS

ASPECTO

Las jeringas tenían un líquido en su interior con las siguientes características:

- Color amarillento
- Presencia de partículas en suspensión
- Aspecto viscoso

DISTRIBUCIÓN TAMAÑO DE PARTÍCULA

Las partículas presentaban la siguiente distribución:

- Diámetro medio en volumen: 10,88 μm
- Distribución Normal
- Anchura de la distribución-Span (90,0%-10,0%)/50,0%: 2,90 μm

Los tres lotes de microesferas que se analizaron tuvieron los siguientes resultados:

LOTE	Distribución	Diámetro medio		Área específica (m^2/g)	D (0,1) μm	D (0,5) μm	D (0,9) μm
		en volumen (μm)	Span				
1	Normal	11,21	2,92	1,60	2,43	7,85	25,13
2	Normal	10,98	2,98	1,65	2,14	7,59	24,73
3	Normal	10,45	2,80	1,66	2,07	7,50	24,29

Tabla 5.37. Resultados obtenidos en el equipo Malvern® Mastersizer 2000 al determinar el tamaño de partícula por vía seca a 0,5 bar de presión y 60% de vibración de microesferas de meropenem y PLGA.

PH

El pH obtenido de la fórmula 6 fue 7,6.

VOLUMEN EXTRAÍBLE

- **CÁLCULO DE LA DENSIDAD**

100 ml de la fórmula 6 (suspensión de microesferas de PLGA y meropenem) pesaban 128,7 g

Por tanto, se obtuvo la siguiente densidad de la fórmula 6:

$$d = \frac{m}{v} = \frac{128,7 \text{ g}}{100 \text{ ml}} = 1,29 \text{ g/ml}$$

- **CÁLCULO DEL VOLUMEN EXTRAIBLE**

Los resultados obtenidos tras pesar el volumen de las jeringas y luego calcular el volumen fueron los siguientes:

JERINGA	PESO (G)	DENSIDAD (G/ML)	VOLUMEN (ML)
1	2,35	1,29	1,82
2	2,38	1,29	1,84
3	2,36	1,29	1,83
4	2,36	1,29	1,83
5	2,34	1,29	1,81

Tabla 5.38. Volumen extraíble de diferentes jeringas con formulación 6 de microesferas de meropenem.

UNIFORMIDAD DE CONTENIDO

Los resultados obtenidos tras realizar el ensayo de uniformidad de contenido fueron los siguientes:

Jeringa	Área (Mv*S)	Concentración (µg/ml)	Conc. Media (µg/ml)	Desviación (%)
1	3766,81	24,60	25,00	98,3
2	3874,13	25,30		101,1
3	3843,46	25,10		100,3
4	3966,11	25,90		103,5
5	3766,81	24,60		98,3
6	3705,48	24,20		96,7
7	3950,78	25,80		103,1
8	3858,79	25,20		100,7
9	3843,46	25,10		100,3
10	3736,15	24,40		97,5

Tabla 5.39. Resultados obtenidos para el test de uniformidad de contenido de diferentes jeringas con formulación 6 de microesferas de meropenem.

Todos los resultados se encuentran dentro de los límites de uniformidad de contenido: 85,0 – 115,0%

PARTÍCULAS VISIBLES

En ninguna jeringa se observaron partículas visibles diferentes a las propias microesferas de la suspensión.

VALORACIÓN

Los resultados obtenidos tras realizar el ensayo de valoración fueron los siguientes:

Muestras	Área (Mv*S)	Concentración (µg/ml)	Desviación (%)
Patrón 1	3804,22	24,84	99,4
Patrón 2	3814,49	24,91	99,6
Patrón 3	3833,19	25,03	100,1
Jeringa 1	3735,99	24,40	97,6
Jeringa 2	3753,01	24,51	98,0
Jeringa 3	3849,14	25,14	100,5
Jeringa 4	3862,17	25,22	100,9
Jeringa 5	3718,82	24,29	97,1
Jeringa 6	3760,06	24,56	98,2
Jeringa 7	3831,51	25,02	100,1
Jeringa 8	3834,57	25,04	100,2
Jeringa 9	3754,70	24,52	98,1
Jeringa 10	3763,13	24,58	98,3

Tabla 5.40. Resultados obtenidos para la valoración de diferentes jeringas con formulación 6 de microesferas de meropenem.

Ningún resultado está fuera del 95,0 – 105,0% con respecto al valor declarado, por lo que cumple los límites establecidos en la *Farmacopea Europea 8.0.* y *USP 38.*

EFICACIA ANTIMICROBIANA

No se utilizó agente conservante, en la formulación es el propio antibiótico el que impide el crecimiento microbiano, por lo que no aplica este ensayo.

ESTERILIDAD

No hubo crecimiento microbiano en ninguna de las placas incubadas con microesferas de meropenem.

ENDOTOXINAS BACTERIANAS

Ningún ensayo de endotoxinas de suspensión de microesferas de meropenem dió positivo.

ENSAYO DE LIBERACIÓN *IN VITRO*

Los resultados obtenidos del ensayo de liberación *in vitro* de la formulación de meropenem en microesferas de PLGA fueron los siguientes:

TIEMPO	% Meropenem liberado						% Meropenem sin degradar
	1	2	3	4	5	6	
2	15,5	17,9	19,2	15,4	13,6	14,4	97,4
4	27,9	24,7	31,6	23,7	27,5	29,5	91,0
8	41,2	43,4	46,2	39,3	43,7	42,9	89,3
24	65,8	61,3	68,0	63,9	65,4	62,5	75,9
48	89,3	88,3	90,1	86,3	89,0	85,2	53,3
72	94,4	92,6	93,1	91,8	91,7	92,2	40,3
96	95,1	96,1	96,1	93,4	94,2	94,7	25,8
168	95,7	96,7	97,5	94,9	96,3	97,4	14,5

Tabla 5.41. Resultados obtenidos para el ensayo de liberación *in vitro* de diferentes jeringas con formulación 6 de microesferas de PLGA y meropenem.

En la tabla 5.41. se muestra el porcentaje de meropenem liberado de las distintas formulaciones a diferentes tiempos. Además, en la última columna, podemos observar la degradación media del meropenem en las disoluciones patrón.

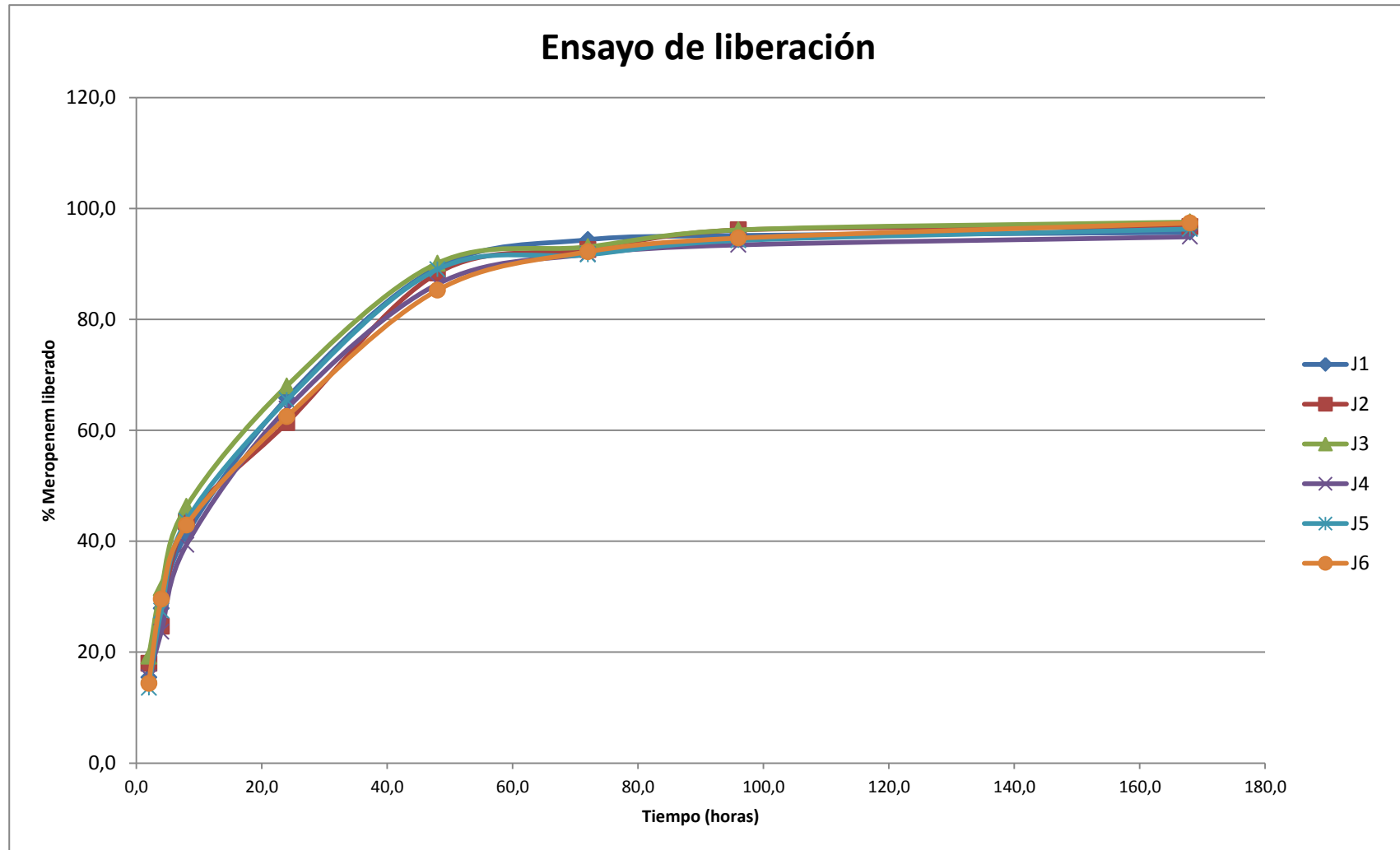


Fig. 30. Perfiles de liberación de las suspensiones de microsferas de PLGA y meropenem.

DISCUSIÓN

ASPECTO

Puesto que se trata de una suspensión no se exige cumplir el criterio de limpidez, que si es necesario para formulaciones parenterales tipo solución.

En este caso se aprecian partículas en suspensión, que se corresponden a las micropartículas de PLGA y meropenem.

También se aprecia una cierta viscosidad de la suspensión, lo que va a facilitar una liberación más prolongada que una disolución.

DISTRIBUCIÓN TAMAÑO DE PARTÍCULA

El tamaño de las partículas presenta una distribución normal, con un diámetro medio en volumen (10,88 μm) bastante pequeño.

Una distribución normal del tamaño de las partículas con una anchura de la distribución baja nos indica que todas las partículas tienen un tamaño similar. Este dato demuestra que el proceso de fabricación (atomización) es robusto, pues siempre se obtienen partículas similares. Además, una homogeneidad en el tamaño de partícula supone un comportamiento similar a la hora de la liberación del principio activo de todas las partículas.

Un tamaño de partícula pequeño es favorable para administraciones parenterales de cualquier tipo. A menor tamaño de partícula, menores serán los efectos nocivos, puesto que partículas más grandes pueden ocasionar problemas, sobre todo si pasan al torrente sanguíneo, donde pueden ocasionar trombos.

PH

El pH obtenido (7,6) es adecuado para su administración parenteral. Es un pH muy similar al sanguíneo, por lo que no existirían efectos nocivos debidos a pHs extremos, por lo que se cumple el criterio de neutralidad de la suspensión.

VOLUMEN EXTRAÍBLE

El ensayo de volumen extraíble ha cumplido satisfactoriamente. De todas las jeringas analizadas se ha podido extraer el volumen declarado de 1,8 ml. Para ello, hubo que sobredosificar las jeringas a 1,9 ml.

UNIFORMIDAD DE CONTENIDO

En el ensayo de uniformidad de contenido, la máxima desviación con respecto al contenido medio fue del 3,3%, por lo que el ensayo cumple satisfactoriamente.

La uniformidad de contenido nos demuestra que durante el proceso de fabricación hubo una robustez a la hora de preparación de la fórmula y dosificación en las jeringas.

PARTÍCULAS VISIBLES

El ensayo de partículas visibles es difícil de realizar para suspensiones, pues se trata de buscar partículas en la suspensión diferentes a las propias de la formulación.

En este caso no se encontraron partículas diferentes a las microesferas de meropenem y PLGA, por lo que el test fue aprobado.

VALORACIÓN

Todas las jeringas analizadas cumplen el ensayo de valoración descrito en la monografía general de la *Farmacopea Europea 8.0.* y la monografía de meropenem de la *USP 38.*

Ningún resultado está fuera del 95,0 – 105,0% del valor declarado. El valor porcentual que más se distancia del nominal es de 2,9%.

EFICACIA ANTIMICROBIANA

No se utilizó agente conservante, en la formulación es el propio antibiótico el que impide el crecimiento microbiano, por lo que no aplica este ensayo.

ESTERILIDAD

Pese a no haber podido fabricar los lotes en unas condiciones totalmente estériles, se han obtenido jeringas estériles con microesferas de meropenem. Aunque el proceso de fabricación no fuera totalmente aséptico, si se tomaron todas las precauciones posibles para poder obtener resultados satisfactorios (uso de guantes, mascarilla, gafas, autoclavado del material de vidrio, filtración esterilizante de la suspensión...).

El principio activo de la formulación es un antibiótico de amplio espectro, lo cual ayuda a evitar el crecimiento microbiano.

ENDOTOXINAS BACTERIANAS

Los resultados obtenidos en el ensayo de entoxinas bacterianas también fueron conformes, pese a no haber podido realizar despirogenizaciones. La esterilidad de la formula, conseguida según lo demostrado con el ensayo anterior, ayuda a que no se formen endotoxinas.

ENSAYO DE LIBERACIÓN *IN VITRO*

Los estudios muestran que existe un efecto "*Burst*" durante las primeras horas. Este efecto hace que se libere aproximadamente el 60,0% del principio activo durante el primer día. El efecto *Burst* es menor que el causado en la liberación de meropenem en comprimidos (80,0%), lo cual puede suponer una ventaja las suspensiones frente a los comprimidos a la hora de desarrollar formulaciones de liberación controlada.

Durante las primeras 72,0 horas si existe una clara liberación de meropenem de forma continuada y controlada. En este momento se alcanza entre 90,0 y 95,0% de la liberación del principio activo.

5.9. CONCLUSIÓN

Tras realizar los ensayos para la obtención de la forma farmacéutica de liberación controlada de meropenem, se obtienen las siguientes conclusiones:

- El meropenem y el PLGA son compatibles, no existe ninguna interacción que no permita utilizarlos en la misma fórmula.
- La atomización es un proceso sencillo, robusto, validable y económico para la obtención de microesferas de meropenem.
- Las microesferas obtenidas mediante atomización pueden caracterizarse mediante diversos ensayos (aspecto, disolventes residuales, tamaño de partícula...). Esta caracterización es fundamental para utilizar las microesferas dentro de otras formas farmacéuticas.
- El proceso de compresión de microesferas de PLGA y meropenem no ha resultado ser robusto, puesto que son materiales difíciles de comprimir, y más aún cuando los comprimidos son tan pequeños.
- En la caracterización de comprimidos se ha comprobado mediante ensayos analíticos la dificultad y la poca robustez del proceso de compresión. No se obtienen comprimidos uniformes y la liberación de meropenem no es adecuada para el uso que se le quiere dar.
- El proceso de obtención de suspensiones inyectables de microesferas de meropenem y PLGA es viable y los excipientes empleados son adecuados para el uso parenteral. La administración intramuscular puede favorecer el efecto de liberación controlada.
- Tras caracterizar las suspensiones de microesferas de meropenem, se obtienen mejores resultados analíticos que aquellos obtenidos para los comprimidos, lo que indirectamente refleja la robustez en la fabricación de las suspensiones. La liberación del principio activo se realiza de forma más controlada cuando se realiza desde una suspensión que cuando se realiza desde un comprimido.
- Para el efecto deseado en el presente estudio se demuestra que interesa más formular suspensiones que comprimidos, no solo por los resultados, sino también por la propia técnica de fabricación.

6. ENSAYOS EN ANIMALES

6.1. INTRODUCCIÓN

La siguiente etapa del estudio se enfocó en realizar ensayos en animales. Se realizaron estudios farmacocinéticos tras administrar una dosis conocida de meropenem por distintas vías y formas de administración:

- Vía intravenosa, perfusión de 0,5 horas (Formulación A).
- Vía intravenosa, perfusión de 3,0 horas (Formulación B).
- Vía intramuscular, disolución de meropenem (Formulación C).
- Vía intramuscular, suspensión de meropenem (Formulación D).
- Vía intramuscular, suspensión de microesferas de meropenem (Formulación E).

Se pretende demostrar que la administración de la misma dosis intravenosa, durante perfusiones de 3,0 horas (frente a 0,5 horas), y la administración intramuscular de microesferas de liberación controlada (frente al resto de formulaciones), nos permitirán obtener unas administraciones mejores propiedades farmacocinéticas.

El objetivo es demostrar que los sistemas de liberación controlada permiten obtener mayores AUC para el meropenem, aumentando el tiempo de permanencia de este antibiótico por encima de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de distintos microorganismos.

En la revisión bibliográfica no se ha encontrado estudios farmacocinéticos completos en sistemas de administración controlada de meropenem, aunque si que existen tratamientos en la práctica clínica de forma empírica con perfusiones IV a diferentes velocidades (*Lee, L.S., et al, 2010; Thalhammer, F., et al, 1999; Langgartner, J., et al, 2008; Roberts, J.A., et al, 2009*).

El estudio con animales fue desarrollado en el Animalario de la Universidad de Alcalá de Henares. La preparación de las muestras se realizó en el Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Alcalá de Henares. El análisis de las muestras se realizó en el Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid.

Puesto que se trata de un estudio con seres vivos, tuvo que ser aprobado por el Comité de Ética e Investigación de la Universidad de Alcalá. Todos los estudios se realizaron con todas las precauciones necesarias para evitar el sufrimiento de los animales, tanto en la administración de las dosis como en la recogida de muestras.

6.2. MATERIALES Y MÉTODOS

A) MATERIALES

Para realizar este estudio se emplearon los siguientes animales/materiales:

- **Conejos New Zealand:** 7 ejemplares de 3 kg. Conejos blancos y ojos rojos.
- **Dispositivos de administración:**
 - Perfusión intravenosa de 0,5 horas: Perfusor 30 ml/0,5 h
 - Perfusión intravenosa de 3,0 horas: Perfusor 30 ml/3 h
 - Intramusculares: Jeringa con aguja gruesa
- **Tratamientos:**
 - Perfusión intravenosa de 0,5 h (A): Meronem[®] 500 mg (Lote 11302A)
 - Perfusión intravenosa de 3,0 h (B): Meronem[®] 500 mg (Lote 11302A)
 - Solución Intramuscular de meropenem (C): Meronem[®] 500 mg (Lote 11302A) disuelto en NaCl 0,9% (Lote 12C3033U).
 - Suspensión intramuscular de meropenem (D): Meronem[®] 500 mg (Lote 11302A) en el medio suspensor
 - Suspensión intramuscular de microesferas de meropenem (E): Microesferas de PLGA Resomer[®] RG 504 y meropenem suspendidas en medio suspensor (ver tabla 5.34.).
 - Todos: Ketamina y Xilacina para mantenerlos calmados.
- **Dosis de administración:**
 - 50,00 mg/kg (cada conejo pesaba unos 3 kg, por lo que se administraron 150 mg).
- **Volumen de administración**
 - Perfusión intravenosa de 0,5 h (A): administración de 30 ml (5,00 mg/ml) en 0,5 h: 150 mg/conejo.
 - Perfusión intravenosa de 3,0 h (B): administración de 30 ml (5,00 mg/ml) en 3,0 h: 150 mg/conejo.
 - Solución Intramuscular de meropenem (C): administración de 6 ml: 150 mg/conejo
 - Suspensión intramuscular de meropenem (D): administración de 6 ml: 150 mg/conejo
 - Suspensión intramuscular de microesferas de meropenem (E): 150 mg/conejo

B) MÉTODOS

• Preparación de fórmulas

- Perfusión intravenosa de 0,5 h (A): se retiraron 55 ml de una bolsa de NaCl 0,9%, que contenía un total de 100 ml. De esos 55 ml se emplearon 10 ml para reconstituir 500 mg de Meropenem. De los 10 ml de reconstitución, se tomaron 5 ml y se inyectaron en la bolsa de NaCl 0,9% en la que restaban 45 ml, sumando un total de 50 ml. La concentración de meropenem resultó 250,00 mg/50 ml (5,00 mg/ml).
- Perfusión intravenosa de 3,0 horas (B): igual que la preparación intravenosa de perfusión de 0,5 horas.
- Solución Intramuscular de meropenem (C): disolución de 500 mg de meropenem en 20 ml de NaCl 0,9%.
- Suspensión intramuscular de meropenem (D): se disolvieron 500 mg de meropenem en 20 ml de medio disolvente. El medio disolvente fue exactamente el mismo al empleado en la formulación 6 (tabla 5.34.), salvo que en vez de dispersar microesferas, se disolvió meropenem directamente. La concentración resultante fue de 500 mg/20 ml (25,00 mg/ml).
- Suspensión intramuscular de microesferas de meropenem (E): se preparó según lo descrito en el apartado 5.7. de formulación de la suspensión (tabla 5.34.), en jeringas de 1,8 ml.

• Distribución de las administraciones:

Conejo	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4
Conejo 1	B	C	E	A
Conejo 2	A	D	B	-
Conejo 3	B	E	A	-
Conejo 4	A	B	D	E
Conejo 5	E	B	A	D
Conejo 6	D	A	B	E
Conejo 7	C	A	E	B

Tabla 6.1. Distribución de las administraciones en conejos a lo largo de 4 semanas.

A: Perfusión intravenosa de 0,5 h
 B: Perfusión intravenosa de 3,0 horas
 C: Solución intramuscular
 D: Suspensión Intramuscular de meropenem
 E: Suspensión Intramuscular de microesferas de meropenem

- **Tiempo de lavado:** a cada conejo solo se le realizaba una administración semanal para asegurar un tiempo de lavado correcto. El tiempo de vida medio del meropenem es muy bajo (<1,0 hora), por lo que una semana se consideró más que suficiente.

- **Muestras:** las muestras se tomaron por vía intravenosa de la oreja de los conejos. Los tiempos de muestreo fueron los siguientes:
 - Perfusión intravenosa de 0,5 h (A): 0,0 h; 0,5 h; 1,0 h; 3,0 h; 4,0 h; 6,0 h y 8,0 h.
 - Perfusión intravenosa de 3,0 h (B): 0,0 h; 0,5 h; 1,0 h; 3,0 h; 4,0 h; 6,0 h y 8,0 h.
 - Solución intramuscular (C): 0,0 h; 2,0 h; 4,0 h; 8,0 h; 24,0 h y 48,0 h.
 - Suspensión intramuscular de meropenem (D): 0,0 h; 2,0 h; 4,0 h; 8,0 h; 24,0 h y 48,0 h.
 - Suspensión intramuscular de microesferas de meropenem (E): 0,0 h; 2,0 h; 4,0 h; 8,0 h; 24,0 h y 48,0 h.

- **Tratamiento de las muestras:**
 - Centrifugación de las muestras sanguíneas a 4000 rpm durante 5,0 min, para la separación del plasma.
 - Incorporación de 750 µl de plasma + 2250 µl de agua desionizada en un tubo de plástico.
 - Los tubos de plástico se centrifugaron a 6000 rpm durante 8,0 min.
 - Separación del sobrenadante.

- **Conservación de las muestras**
 - Antes del tratamiento previamente descrito, las muestras se conservaron entre 0,0 y 48,0 horas (dependiendo de la muestra) en nevera a 4,0 +/- 2,0°C. Este periodo de conservación se realizaba para acumular suficientes muestras para realizar el tratamiento de las mismas.
 - Después del tratamiento previamente descrito, las muestras pasaron entre 24,0 y 72,0 horas (dependiendo de la muestra) en congelador a -18,0°C +/- 2,0°C. Este periodo de conservación se realizaba para acumular suficientes muestras para realizar el análisis de las mismas.

- **Análisis de las muestras:** según método validado en el capítulo 3.

- **Tratamiento de los resultados:** Para calcular la concentración real a partir de la concentración obtenida en el análisis se aplicaron los siguientes factores:

- La recta patrón empleada fue: $\text{Área} = 157,04 * \text{Concentración} - 4,14$
- x4: Dilución realizada en el tratamiento de muestra (750 μl de plasma + 2250 μl de agua desionizada).
- x factor de estabilidad: según el estudio de estabilidad realizado previamente en medio PBS (Capítulo 4, ver tabla 4.6.), se consideraron las siguientes ecuaciones:

$$\text{Nevera: \%Meropenem} = -0,0668 \times (\text{Tiempo (h)}) + 97,985$$

$$\text{Congelador: \%Meropenem} = -0,0542 \times (\text{Tiempo (h)}) + 99,533$$

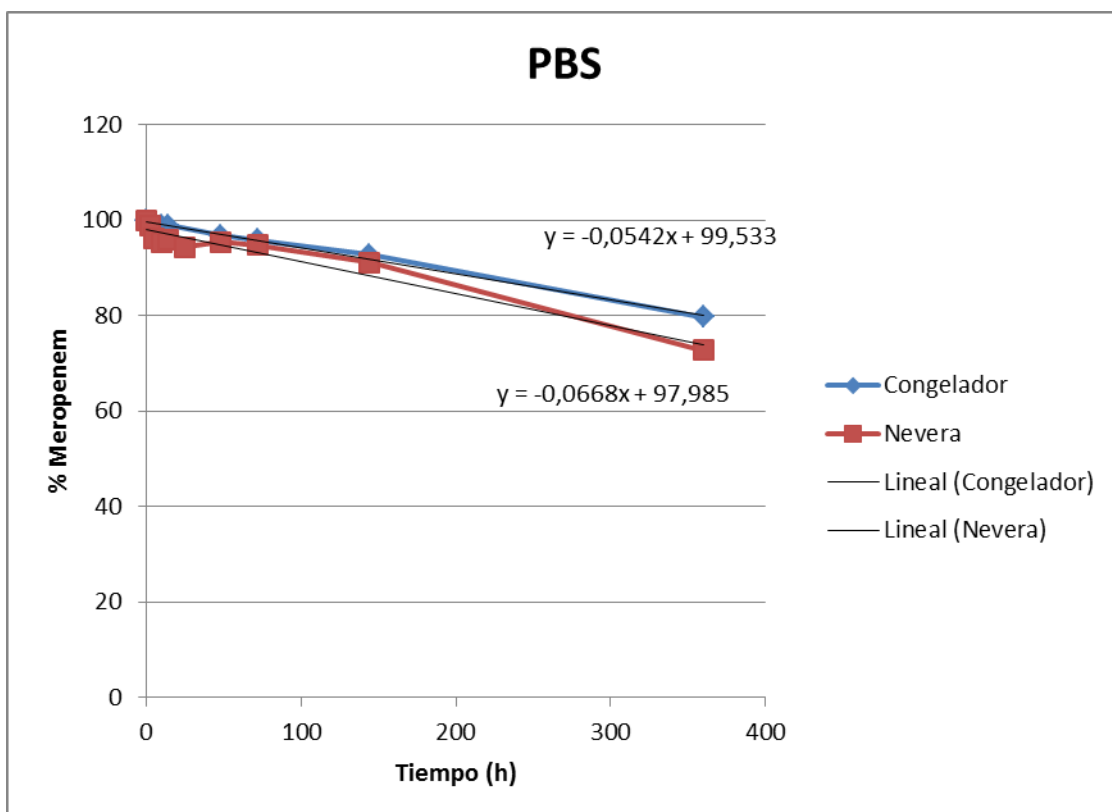


Fig. 6.1. Gráfico del estudio de estabilidad en PBS.

Nevera	
Tiempo (h)	% Meropenem Sin degradar
0,0 h	100,0%
24,0 h	96,4%
48,0 h	94,8%
Congelador	
Tiempo (h)	% Meropenem Sin degradar
0,0 h	100,0%
24,0 h	98,2%
48,0 h	96,9%
72,0 h	95,6%

Tabla 6.2.: Estabilidad del meropenem disuelto en PBS en nevera y congelador según los estudios de estabilidad realizados en el capítulo 4.

La degradación de la fase de congelación se aplica sobre la cantidad remanente de meropenem tras la fase de nevera, por lo que se multiplica el factor de nevera por el de congelador.

- **Análisis de los resultados:** con los datos obtenidos se realizó un análisis farmacocinético para obtener la siguiente información:
 - Concentración de meropenem a lo largo del tiempo
 - Área bajo la curva entre cero e infinito (AUC)
 - Concentración máxima (C_{max})
 - Tiempo de semivida plasmática (t_{1/2})
 - Se supone una cinética de eliminación de orden uno

La comparación de los resultados obtenidos sirve para poder establecer conclusiones sobre las diferentes administraciones de meropenem.

6.3. RESULTADOS

Una vez analizadas las muestras se obtuvieron los siguientes resultados.

PERFUSIÓN INTRAVENOSA DE 0,5 HORAS

Perfusión intravenosa de 0,5 horas				
CONEJO 2 SEMANA 1				
Tiempo (h)	Área (mVxS)	Concentración (µg/ml)	Concentración real (µg/ml)	AUC (µg h/ml)
0,0	0,00	0,00	0,00	12,41
0,5	591,92	3,77	16,47	
1,0	116,63	0,77	3,34	
3,0	0,00	0,00	0,00	
4,0	0,00	0,00	0,00	
6,0	0,00	0,00	0,00	
8,0	0,00	0,00	0,00	

Muestras → Nevera: 24,0 horas; Congelador: 72,0 horas

Tabla 6.3.: Concentración y AUC tras la administración de meropenem por vía intravenosa mediante perfusión de 0,5 horas en el conejo 2 durante la semana 1.

Perfusión intravenosa de 0,5 horas				
CONEJO 4 SEMANA 1				
Tiempo (h)	Área (mVxS)	Concentración (µg/ml)	Concentración real (µg/ml)	AUC (µg h/ml)
0,0	0,00	0,00	0,00	14,24
0,5	774,49	4,96	21,52	
1,0	96,78	0,64	2,79	
3,0	0,00	0,00	0,00	
4,0	0,00	0,00	0,00	
6,0	0,00	0,00	0,00	
8,0	0,00	0,00	0,00	

Muestras → Nevera: 24,0 horas; Congelador: 72,0 horas

Tabla 6.4.: Concentración y AUC tras la administración de meropenem por vía intravenosa mediante perfusión de 0,5 horas en el conejo 4 durante la semana 1.

Perfusión intravenosa de 0,5 horas				
CONEJO 6 SEMANA 2				
Tiempo (h)	Área (mVxS)	Concentración (µg/ml)	Concentración real (µg/ml)	AUC (µg h/ml)
0,0	0,00	0,00	0,00	14,79
0,5	789,06	5,05	21,34	
1,0	118,46	0,78	3,30	
3,0	0,00	0,00	0,00	
4,0	0,00	0,00	0,00	
6,0	Fallecimiento	Fallecimiento	Fallecimiento	
8,0	-	-	-	

Muestras → Nevera: 24,0 horas; Congelador: 24,0 horas

Tabla 6.5.: Concentración y AUC tras la administración de meropenem por vía intravenosa mediante perfusión de 0,5 horas en el conejo 6 durante la semana 2.

Perfusión intravenosa de 0,5 horas				
CONEJO 7 SEMANA 2				
Tiempo (h)	Área (mVxS)	Concentración (µg/ml)	Concentración real (µg/ml)	AUC (µg h/ml)
0,0	0,00	0,00	0,00	13,61
0,5	756,49	4,84	20,46	
1,0	96,43	0,64	2,71	
3,0	0,00	0,00	0,00	
4,0	0,00	0,00	0,00	
6,0	0,00	0,00	0,00	
8,0	Fallecimiento	Fallecimiento	Fallecimiento	

Muestras → Nevera: 24,0 horas; Congelador: 24,0 horas

Tabla 6.6.: Concentración y AUC tras la administración de meropenem por vía intravenosa mediante perfusión de 0,5 horas en el conejo 7 durante la semana 2.

Perfusión intravenosa de 0,5 horas				
CONEJO 3 SEMANA 3				
Tiempo (h)	Área (mVxS)	Concentración (µg/ml)	Concentración real (µg/ml)	AUC (µg h/ml)
0,0	0,00	0,00	0,00	12,53
0,5	586,70	3,76	16,38	
1,0	121,14	0,80	3,47	
3,0	0,00	0,00	0,00	
4,0	0,00	0,00	0,00	
6,0	0,00	0,00	0,00	
8,0	0,00	0,00	0,00	

Muestras → Nevera: 48,0 horas; Congelador: 48,0 horas

Tabla 6.7.: Concentración y AUC tras la administración de meropenem por vía intravenosa mediante perfusión de 0,5 horas en el conejo 3 durante la semana 3.

Perfusión intravenosa de 0,5 horas				
CONEJO 5 SEMANA 3				
Tiempo (h)	Área (mVxS)	Concentración (µg/ml)	Concentración real (µg/ml)	AUC (µg h/ml)
0,0	0,00	0,00	0,00	12,22
0,5	636,88	4,08	17,54	
1,0	96,67	0,64	2,76	
3,0	0,00	0,00	0,00	
4,0	0,00	0,00	0,00	
6,0	0,00	0,00	0,00	
8,0	0,00	0,00	0,00	

Muestras → Nevera: 48,0 horas; Congelador: 24,0 horas

Tabla 6.8.: Concentración y AUC tras la administración de meropenem por vía intravenosa mediante perfusión de 0,5 horas en el conejo 5 durante la semana 3.

Perfusión intravenosa de 0,5 horas				
CONEJO 1 SEMANA 4				
Tiempo (h)	Área (mVxS)	Concentración (µg/ml)	Concentración real (µg/ml)	AUC (µg h/ml)
0,0	0,00	0,00	0,00	7,20
0,5	470,56	3,02	12,99	
1,0	16,43	0,13	0,56	
3,0	0,00	0,00	0,00	
4,0	0,00	0,00	0,00	
6,0	0,00	0,00	0,00	
8,0	0,00	0,00	0,00	

Muestras → Nevera: 48,0 horas; Congelador: 24,0 horas

Tabla 6.9.: Concentración y AUC tras la administración de meropenem por vía intravenosa mediante perfusión de 0,5 horas en el conejo 1 durante la semana 4.

A continuación se muestran los resultados farmacocinéticos obtenidos tras la administración intravenosa de meropenem mediante perfusión de 0,5 horas en 7 conejos:

Conejo	2	4	6	7	3	5	1	Media	Desv. Std.
Ke (h⁻¹)	-3,19	-4,09	-3,73	-4,05	-3,10	-3,70	-6,28	-4,02	1,07
t_{1/2} (h)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,0
AUC (µg h/ml)	12,41	14,25	14,79	13,61	12,53	12,22	7,20	12,43	2,51
Cmax (µg/ml)	16,47	21,52	21,34	20,46	16,38	17,54	12,99	18,10	3,16
Tmax (h)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,0

Tabla 6.10.: Datos farmacocinéticos obtenidos tras la administración de meropenem mediante perfusión intravenosa de 0,5 horas.

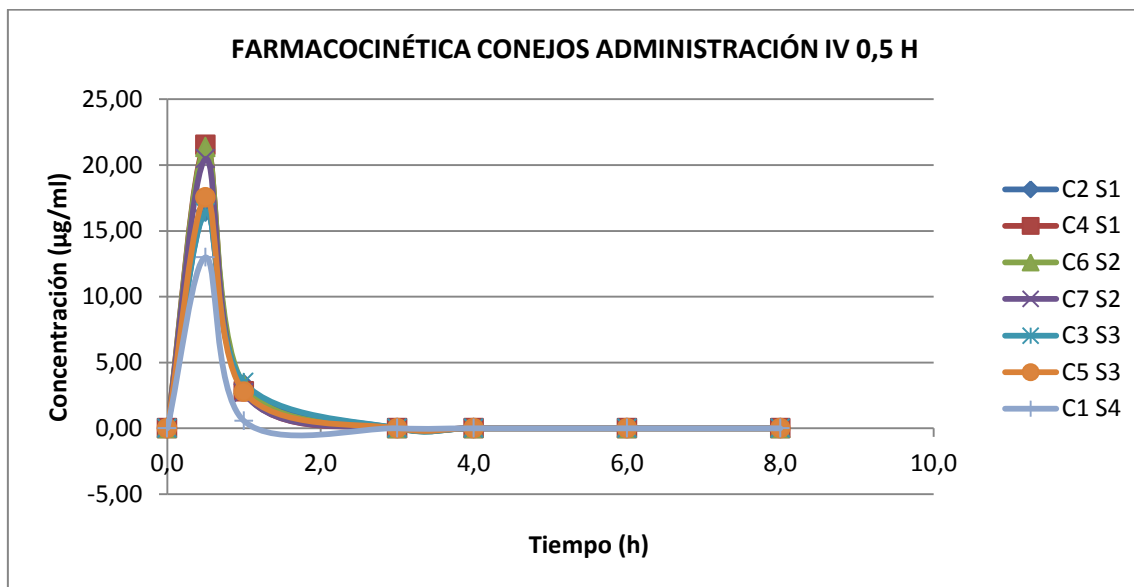


Fig. 6.2.: Gráfico de la concentración de meropenem a lo largo del tiempo tras la administración intravenosa en perfusión de 0,5 horas.

Area Bajo la Curva (AUC) +/- desviación estándar promedio = 12,43 +/- 2,51 (µg/ml)*h

Concentración máxima (Cmax) +/- desviación estándar promedio = 18,10 +/- 3,16 µg/ml

Tiempo de vida media (t_{1/2}) +/- desviación estándar promedio = 0,2 +/- 0,0 h*

*Para la determinación de la semivida plasmática media se ha asumido una cinética de orden uno.

PERFUSIÓN INTRAVENOSA DE 3,0 HORAS

Perfusión intravenosa de 3,0 horas				
CONEJO 1 SEMANA 1				
Tiempo (h)	Área (mVxS)	Concentración (µg/ml)	Concentración real (µg/ml)	AUC (µg h/ml)
0,0	0,00	0,00	0,00	23,18
0,5	116,35	0,77	3,33	
1,0	218,88	1,42	6,16	
3,0	289,63	1,87	8,12	
4,0	35,32	0,25	1,09	
6,0	0,00	0,00	0,00	
8,0	0,00	0,00	0,00	

Muestras → Nevera: 24,0 horas; Congelador: 72,0 horas

Tabla 6.11.: Concentración y AUC tras la administración de meropenem por vía intravenosa mediante perfusión de 3,0 horas en el conejo 1 durante la semana 1.

Perfusión intravenosa de 3,0 horas				
CONEJO 3 SEMANA 1				
Tiempo (h)	Área (mVxS)	Concentración (µg/ml)	Concentración real (µg/ml)	AUC (µg h/ml)
0,0	0,00	0,00	0,00	22,32
0,5	103,37	0,69	2,97	
1,0	207,38	1,35	5,85	
3,0	286,70	1,85	8,04	
4,0	31,31	0,23	0,98	
6,0	0,00	0,00	0,00	
8,0	0,00	0,00	0,00	

Muestras → Nevera: 24,0 horas; Congelador: 72,0 horas

Tabla 6.12.: Concentración y AUC tras la administración de meropenem por vía intravenosa mediante perfusión de 3,0 horas en el conejo 3 durante la semana 1.

Perfusión intravenosa de 3,0 horas				
CONEJO 4 SEMANA 2				
Tiempo (h)	Área (mVxS)	Concentración (µg/ml)	Concentración real (µg/ml)	AUC (µg h/ml)
0,0	0,00	0,00	0,00	21,04
0,5	108,89	0,72	3,04	
1,0	209,89	1,36	5,76	
3,0	278,41	1,80	7,60	
4,0	18,70	0,15	0,62	
6,0	0,00	0,00	0,00	
8,0	0,00	0,00	0,00	

Muestras → Nevera: 24,0 horas; Congelador: 24,0 horas

Tabla 6.13.: Concentración y AUC tras la administración de meropenem por vía intravenosa mediante perfusión de 3,0 horas en el conejo 4 durante la semana 2.

Perfusión intravenosa de 3,0 horas				
CONEJO 5 SEMANA 2				
Tiempo (h)	Área (mVxS)	Concentración (µg/ml)	Concentración real (µg/ml)	AUC (µg h/ml)
0,0	0,00	0,00	0,00	22,01
0,5	109,52	0,72	3,06	
1,0	218,26	1,42	5,98	
3,0	290,06	1,87	7,92	
4,0	23,82	0,18	0,75	
6,0	0,00	0,00	0,00	
8,0	0,00	0,00	0,00	

Muestras → Nevera: 24,0 horas; Congelador: 24,0 horas

Tabla 6.14.: Concentración y AUC tras la administración de meropenem por vía intravenosa mediante perfusión de 3,0 horas en el conejo 5 durante la semana 2.

Perfusión intravenosa de 3,0 horas				
CONEJO 2 SEMANA 3				
Tiempo (h)	Área (mVxS)	Concentración (µg/ml)	Concentración real (µg/ml)	AUC (µg h/ml)
0,0	0,00	0,00	0,00	N/A
0,5	96,99	0,64	2,77	
1,0	213,19	1,38	5,95	
3,0	Fallecimiento	Fallecimiento	Fallecimiento	
4,0	-	-	-	
6,0	-	-	-	
8,0	-	-	-	

Muestras → Nevera: 48,0 horas; Congelador: 24,0 horas

Tabla 6.15.: Concentración y AUC tras la administración de meropenem por vía intravenosa mediante perfusión de 3,0 horas en el conejo 2 durante la semana 3.

Perfusión intravenosa de 3,0 horas				
CONEJO 6 SEMANA 3				
Tiempo (h)	Área (mVxS)	Concentración (µg/ml)	Concentración real (µg/ml)	AUC (µg h/ml)
0,0	0,00	0,00	0,00	21,63
0,5	115,63	0,76	3,28	
1,0	208,98	1,36	5,83	
3,0	278,19	1,80	7,72	
4,0	22,97	0,17	0,74	
6,0	0,00	0,00	0,00	
8,0	0,00	0,00	0,00	

Muestras → Nevera: 48,0 horas; Congelador: 24,0 horas

Tabla 6.16.: Concentración y AUC tras la administración de meropenem por vía intravenosa mediante perfusión de 3,0 horas en el conejo 6 durante la semana 3.

Perfusión intravenosa de 3,0 horas				
CONEJO 7 SEMANA 4				
Tiempo (h)	Área (mVxS)	Concentración (µg/ml)	Concentración real (µg/ml)	AUC (µg h/ml)
0,0	0,00	0,00	0,00	22,37
0,5	122,89	0,81	3,48	
1,0	215,69	1,40	6,01	
3,0	283,15	1,83	7,86	
4,0	28,22	0,21	0,89	
6,0	0,00	0,00	0,00	
8,0	0,00	0,00	0,00	

Muestras → Nevera: 48,0 horas; Congelador: 24,0 horas

Tabla 6.17.: Concentración y AUC tras la administración de meropenem por vía intravenosa mediante perfusión de 3,0 horas en el conejo 7 durante la semana 4.

A continuación se muestran los resultados farmacocinéticos obtenidos tras la administración intravenosa de meropenem mediante perfusión de 3,0 horas en 7 conejos:

Conejo	1	3	4	5	2*	6	7	Media	Desv. Std.
Ke (h⁻¹)	-2,01	-2,10	-2,51	-2,35	-	-2,34	-2,18	-2,25	0,19
t_{1/2} (h)	0,3	0,3	0,3	0,3	-	0,3	0,3	0,3	0,0
AUC (µg h/ml)	23,18	22,32	21,04	22,01	-	21,63	22,37	22,09	0,73
Cmax (µg/ml)	8,12	8,04	7,60	7,92	-	7,72	7,86	7,88	0,19
Tmax (h)	3,0	3,0	3,0	3,0	-	3,0	3,0	3,0	0,0

Tabla 6.18.: Datos farmacocinéticos obtenidos tras la administración de meropenem mediante perfusión intravenosa de 3,0 horas.

*Los datos del conejo 2 no se han considerado para calcular datos medios, debido a su fallecimiento.

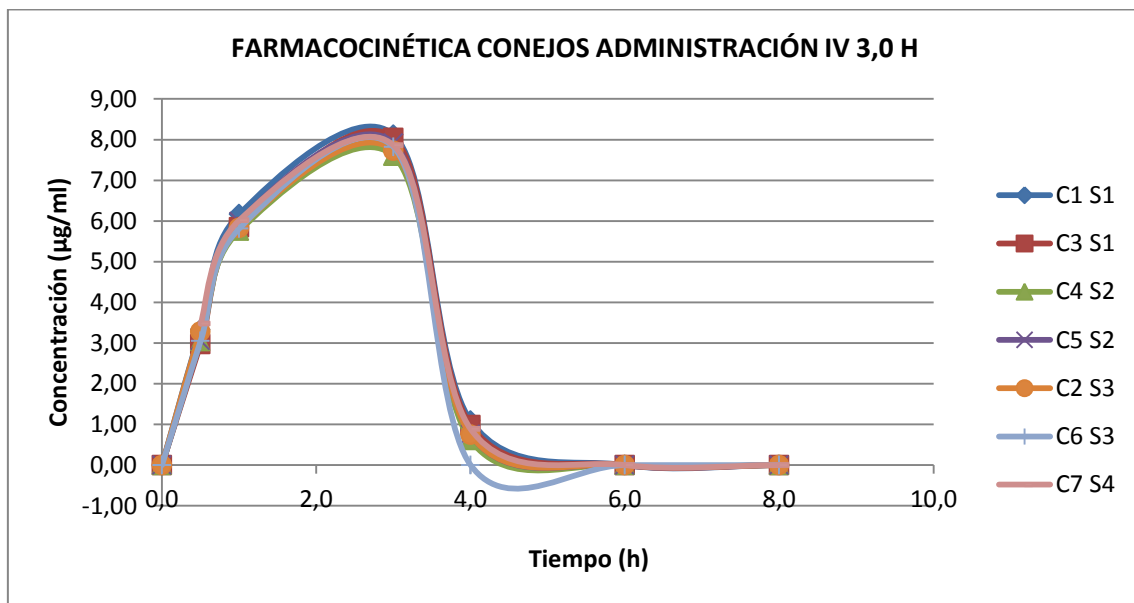


Fig. 6.3.: Gráfico de la concentración de meropenem a lo largo del tiempo tras la administración intravenosa en perfusión de 3,0 horas.

Area Bajo la Curva (AUC) +/- desviación estándar promedio = 22,09 +/- 0,73 (µg/ml)*h

Concentración máxima (Cmax) +/- desviación estándar promedio = 7,88 +/- 0,19 µg/ml

Tiempo de vida media (t_{1/2}) +/- desviación estándar promedio = 0,3 +/- 0,0 h*

*Para la determinación de la semivida plasmática media se ha asumido una cinética de orden uno.

SOLUCIÓN INTRAMUSCULAR DE MEROPENEM

Solución intramuscular				
CONEJO 7 SEMANA 1				
Tiempo (h)	Área (mVxS)	Concentración (µg/ml)	Concentración real (µg/ml)	AUC (µg h/ml)
0,0	0,00	0,00	0,00	22,66
2,0	298,64	1,93	8,07	
4,0	77,60	0,52	2,18	
8,0	0,00	0,00	0,00	
24,0	0,00	0,00	0,00	
48,0	0,00	0,00	0,00	

Muestras → Nevera: 0,0 horas; Congelador: 72,0 horas

Tabla 6.19.: Concentración y AUC tras la administración intramuscular de una disolución de meropenem en el conejo 7 durante la semana 1.

Solución intramuscular				
CONEJO 1 SEMANA 2				
Tiempo (h)	Área (mVxS)	Concentración (µg/ml)	Concentración real (µg/ml)	AUC (µg h/ml)
0,0	0,00	0,00	0,00	24,73
2,0	309,69	2,0	8,70	
4,0	83,89	0,56	2,44	
8,0	0,00	0,00	0,00	
24,0	0,00	0,00	0,00	
48,0	0,00	0,00	0,00	

Muestras → Nevera: 48,0 horas; Congelador: 48,0 horas

Tabla 6.20.: Concentración y AUC tras la administración intramuscular de una disolución de meropenem en el conejo 1 durante la semana 2.

A continuación se muestran los resultados farmacocinéticos obtenidos tras la administración intramuscular de una disolución de meropenem en dos conejos:

Conejo	7	1	Media	Desv. Std.
Ke (h⁻¹)	-0,66	-0,64	-0,65	0,01
t_{1/2} (h)	1,0	1,0	1,0	0,0
AUC (µg h/ml)	22,66	24,73	23,69	1,46
Cmax (µg/ml)	8,07	8,70	8,38	0,45
Tmax (h)	2,0	2,0	2,0	0,0

Tabla 6.21.: Datos farmacocinéticos obtenidos tras la administración intramuscular de una disolución de meropenem.

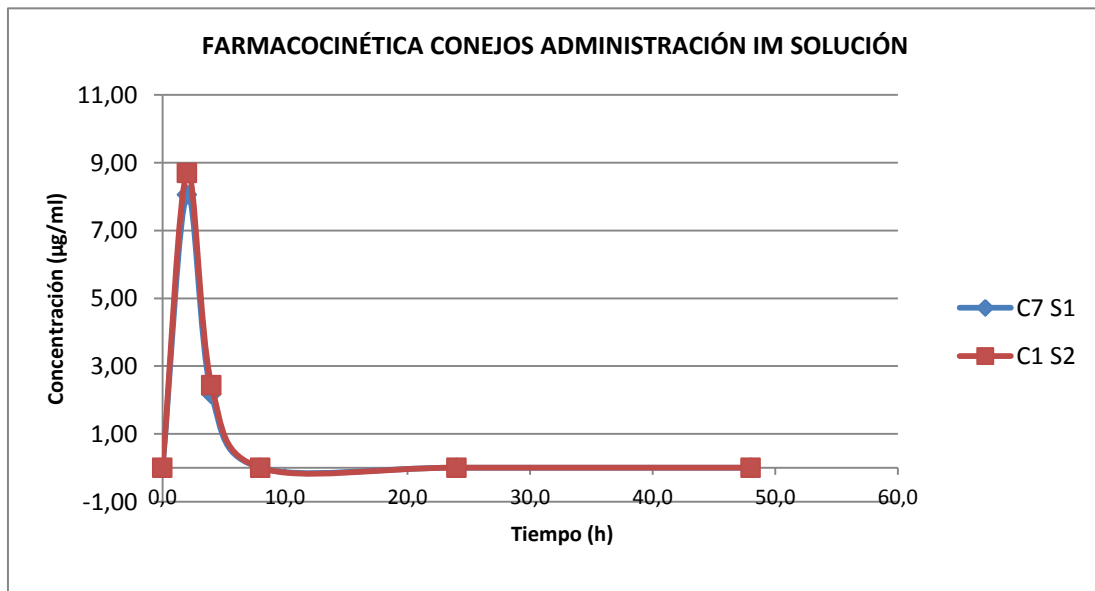


Fig. 6.4.: Gráfico de la concentración de meropenem a lo largo del tiempo tras la administración intramuscular de una disolución de meropenem.

Area Bajo la Curva (AUC) +/- desviación estándar promedio = 23,69 +/- 1,46 (µg/ml)*h

Concentración máxima (Cmax) +/- desviación estándar promedio = 8,38 +/- 0,45 µg/ml

Tiempo de vida media (t_{1/2}) +/- desviación estándar promedio = 1,0 +/- 0,0 h*

*Para la determinación de la semivida plasmática media se ha asumido una cinética de orden uno.

INTRAMUSCULAR SUSPENSIÓN DE MEROPENEM

Suspensión intramuscular				
CONEJO 6 SEMANA 1				
Tiempo (h)	Área (mVxS)	Concentración (µg/ml)	Concentración real (µg/ml)	AUC (µg h/ml)
0,0	0,00	0,00	0,00	28,53
2,0	235,99	1,53	6,40	
4,0	132,52	0,87	3,64	
8,0	13,96	0,12	0,48	
24,0	0,00	0,00	0,00	
48,0	0,00	0,00	0,00	

Muestras → Nevera: 0,0 horas; Congelador: 72,0 horas

Tabla 6.22.: Concentración y AUC tras la administración de una suspensión intramuscular de meropenem en el conejo 6 durante la semana 1.

Suspensión intramuscular				
CONEJO 2 SEMANA 2				
Tiempo (h)	Área (mVxS)	Concentración (µg/ml)	Concentración real (µg/ml)	AUC (µg h/ml)
0,0	0,00	0,00	0,00	31,94
2,0	244,69	1,59	6,90	
4,0	138,41	0,91	3,95	
8,0	18,53	0,14	0,63	
24,0	0,00	0,00	0,00	
48,0	0,00	0,00	0,00	

Muestras → Nevera: 48,0 horas; Congelador: 48,0 horas

Tabla 6.23.: Concentración y AUC tras la administración de una suspensión intramuscular de meropenem en el conejo 2 durante la semana 2.

Suspensión intramuscular				
CONEJO 4 SEMANA 3				
Tiempo (h)	Área (mVxS)	Concentración (µg/ml)	Concentración real (µg/ml)	AUC (µg h/ml)
0,0	0,00	0,00	0,00	31,63
2,0	235,67	1,53	6,65	
4,0	149,67	0,98	4,26	
8,0	15,84	0,13	0,55	
24,0	0,00	0,00	0,00	
48,0	0,00	0,00	0,00	

Muestras → Nevera: 48,0 horas; Congelador: 48,0 horas

Tabla 6.24.: Concentración y AUC tras la administración de una suspensión intramuscular de meropenem en el conejo 4 durante la semana 3.

Suspensión intramuscular				
CONEJO 5 SEMANA 4				
Tiempo (h)	Área (mVxS)	Concentración (µg/ml)	Concentración real (µg/ml)	AUC (µg h/ml)
0,0	0,00	0,00	0,00	32,41
2,0	251,93	1,63	7,10	
4,0	137,49	0,90	3,93	
8,0	19,06	0,15	0,64	
24,0	0,00	0,00	0,00	
48,0	0,00	0,00	0,00	

Muestras → Nevera: 48,0 horas; Congelador: 48,0 horas

Tabla 6.25.: Concentración y AUC tras la administración de una suspensión intramuscular de meropenem en el conejo 5 durante la semana 4.

A continuación se muestran los resultados farmacocinéticos obtenidos tras la administración intramuscular de una suspensión de meropenem en cuatro conejos:

Conejo	6	2	4	5	Media	Desv. Std.
Ke (h⁻¹)	-0,44	-0,46	-0,43	-0,41	-0,43	0,02
t_{1/2} (h)	1,5	1,39	1,49	1,57	1,48	0,08
AUC (µg h/ml)	28,53	31,94	31,63	32,41	31,13	1,76
Cmax (µg/ml)	6,40	6,90	6,65	7,10	6,76	0,31
Tmax (h)	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	0,0

Tabla 6.26.: Datos farmacocinéticos obtenidos tras la administración de una suspensión intramuscular de meropenem.

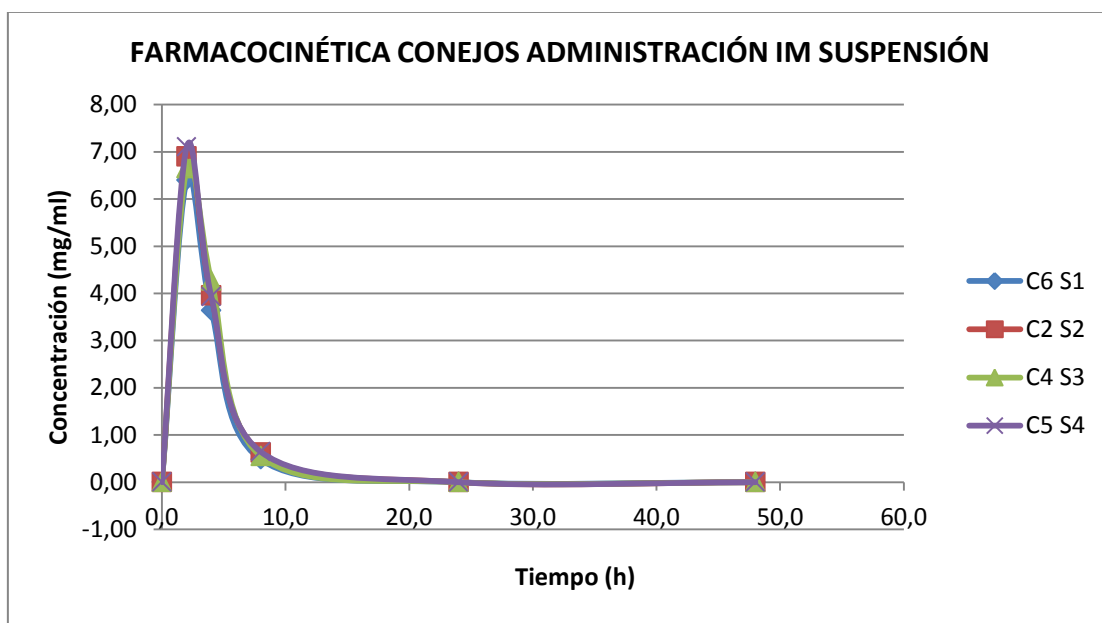


Fig. 6.5.: Gráfico de la concentración de meropenem a lo largo del tiempo tras la administración intramuscular de una suspensión de meropenem.

Area Bajo la Curva (AUC) +/- desviación estándar promedio = 31,13 +/- 1,76 (µg/ml)*h

Concentración máxima (Cmax) +/- desviación estándar promedio = 6,76 +/- 0,31 µg/ml

Tiempo de vida media (t_{1/2}) +/- desviación estándar promedio = 1,5 +/- 0,1 h*

*Para la determinación de la semivida plasmática media se ha asumido una cinética de orden uno.

SUSPENSIÓN INTRAMUSCULAR DE MICROESFERAS DE MEROPENEM

Suspensión intramuscular de microesferas				
CONEJO 5 SEMANA 1				
Tiempo (h)	Área (mVxS)	Concentración (µg/ml)	Concentración real (µg/ml)	AUC (µg h/ml)
0,0	0,00	0,00	0,00	37,37
2,0	156,25	1,02	4,27	
4,0	78,31	0,53	2,20	
8,0	55,19	0,38	1,58	
24,0	7,95	0,08	0,32	
48,0	0,00	0,00	0,00	

Muestras → Nevera: 0,0 horas; Congelador: 72,0 horas

Tabla 6.27.: Concentración y AUC tras la administración de una suspensión intramuscular de microesferas de meropenem en el conejo 5 durante la semana 1.

Suspensión intramuscular de microesferas				
CONEJO 3 SEMANA 2				
Tiempo (h)	Área (mVxS)	Concentración (µg/ml)	Concentración real (µg/ml)	AUC (µg h/ml)
0,0	0,00	0,00	0,00	46,37
2,0	194,69	1,27	5,51	
4,0	88,41	0,59	2,57	
8,0	61,53	0,42	1,82	
24,0	12,87	0,11	0,47	
48,0	0,00	0,00	0,00	

Muestras → Nevera: 48,0 horas; Congelador: 48,0 horas

Tabla 6.28.: Concentración y AUC tras la administración de una suspensión intramuscular de microesferas de meropenem en el conejo 3 durante la semana 2.

Suspensión intramuscular de microesferas				
CONEJO 1 SEMANA 3				
Tiempo (h)	Área (mVxS)	Concentración (µg/ml)	Concentración real (µg/ml)	AUC (µg h/ml)
0,0	0,00	0,00	0,00	40,89
2,0	171,91	1,12	4,88	
4,0	82,32	0,55	2,40	
8,0	51,56	0,36	1,54	
24,0	11,20	0,10	0,43	
48,0	0,00	0,00	0,00	

Muestras → Nevera: 48,0 horas; Congelador: 48,0 horas

Tabla 6.29.: Concentración y AUC tras la administración de una suspensión intramuscular de microesferas de meropenem en el conejo 1 durante la semana 3.

Suspensión intramuscular de microesferas				
CONEJO 7 SEMANA 3				
Tiempo (h)	Área (mVxS)	Concentración (µg/ml)	Concentración real (µg/ml)	AUC (µg h/ml)
0,0	0,00	0,00	0,00	42,70
2,0	171,91	1,12	4,88	
4,0	88,91	0,59	2,58	
8,0	52,89	0,36	1,58	
24,0	12,84	0,11	0,47	
48,0	0,00	0,00	0,00	

Muestras → Nevera: 48,0 horas; Congelador: 48,0 horas

Tabla 6.30.: Concentración y AUC tras la administración de una suspensión intramuscular de microesferas de meropenem en el conejo 7 durante la semana 3.

Suspensión intramuscular de microesferas				
CONEJO 6 SEMANA 4				
Tiempo (h)	Área (mVxS)	Concentración (µg/ml)	Concentración real (µg/ml)	AUC (µg h/ml)
0,0	0,00	0,00	0,00	50,50
2,0	205,34	1,33	5,81	
4,0	89,21	0,59	2,59	
8,0	68,93	0,47	2,03	
24,0	15,44	0,13	0,54	
48,0	0,00	0,00	0,00	

Muestras → Nevera: 48,0 horas; Congelador: 48,0 horas

Tabla 6.31.: Concentración y AUC tras la administración de una suspensión intramuscular de microesferas de meropenem en el conejo 6 durante la semana 4.

Suspensión intramuscular de microesferas				
CONEJO 4 SEMANA 4				
Tiempo (h)	Área (mVxS)	Concentración (µg/ml)	Concentración real (µg/ml)	AUC (µg h/ml)
0,0	0,00	0,00	0,00	39,47
2,0	169,84	1,11	4,82	
4,0	83,37	0,56	2,43	
8,0	48,62	0,34	1,46	
24,0	9,92	0,09	0,40	
48,0	0,00	0,00	0,00	

Muestras → Nevera: 48,0 horas; Congelador: 48,0 horas

Tabla 6.32.: Concentración y AUC tras la administración de una suspensión intramuscular de microesferas de meropenem en el conejo 4 durante la semana 4.

A continuación se muestran los resultados farmacocinéticos obtenidos tras la administración intramuscular de una suspensión intramuscular de microesferas de meropenem en dos conejos:

Conejo	5	3	1	7	6	4	Media	Desv. Std.
Ke (h⁻¹)	-0,11	-0,10	-0,10	-0,10	-0,10	-0,10	-0,10	0,01
t_{1/2} (h)	5,9	6,4	6,4	6,7	6,7	6,2	6,4	0,3
AUC (µg h/ml)	37,37	46,37	40,89	42,73	50,50	39,47	42,89	4,82
Cmax (µg/ml)	4,27	5,51	4,88	4,88	5,81	4,82	5,03	0,88
Tmax (h)	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	0,0

Tabla 6.33.: Datos farmacocinéticos obtenidos tras la administración de la una suspensión intramuscular de microesferas meropenem.

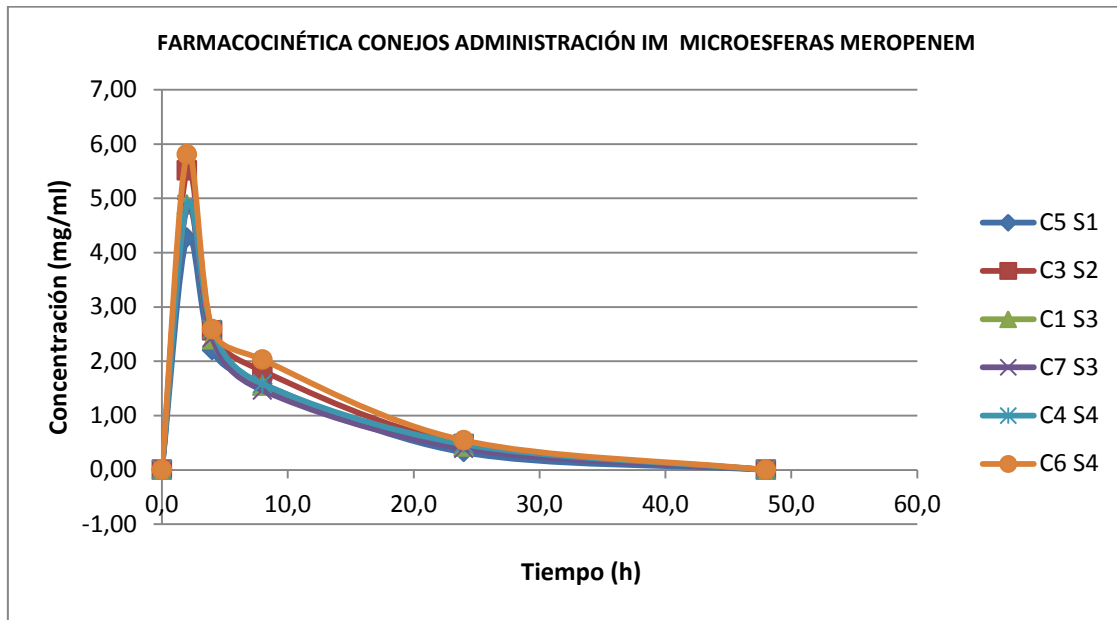


Fig. 6.6.: Gráfico de la concentración de meropenem a lo largo del tiempo tras la administración intramuscular de una suspensión de microesferas de meropenem.

Area Bajo la Curva (AUC) +/- desviación estándar promedio = 42,89 +/- 4,82 (µg/ml)*h

Concentración máxima (Cmax) +/- desviación estándar promedio = 5,03 +/- 0,88 µg/ml

Tiempo de vida media (t_{1/2}) +/- desviación estándar promedio = 6,4 +/- 0,3 h*

*Para la determinación de la semivida plasmática media se ha asumido una cinética de orden uno.

6.4. DISCUSIÓN

La biodisponibilidad de las distintas formulaciones y vías de administración se estudia mediante los parámetros AUC, C_{max} y t_{max} obtenidos tras las diferentes administraciones. Mediante un estudio estadístico (ANOVA, Excel Microsoft Office 2010) de los resultados se estudia si las diferencias observadas son o no significativas y qué posible relación existe entre los parámetros evaluados.

La tabla 6.34 muestra los resultados medios de biodisponibilidad absoluta (AUC) y el aumento de biodisponibilidad obtenido tomando como referencia la administración intravenosa por perfusión durante 0,5 horas. Es importante recordar que la dosis total administrada en todos los casos es de 50 mg/kg. Las diferencias en AUC mostradas en la figura 6,7 son lógicamente proporcionales a la biodisponibilidad mostrada en la tabla 6.34.

ADMINISTRACIÓN	AUC ($\mu\text{g h/ml}$)		BIOD. (%)
	PROMEDIO	DESVEST	
Intravenosa 0,5 h	12,43	2,51	100,0 (ref)
Intravenosa 3,0 h	22,09	0,73	177,7
Solución intramuscular	23,69	1,46	190,6
Suspensión intramuscular	31,13	1,76	250,5
Suspensión intramuscular microesferas	42,89	4,82	345,1

Tabla 6.34.: AUC promedio, desviación estándar y aumento de biodisponibilidad en comparación con la administración iv durante 30 minutos para cada tipo de administración.

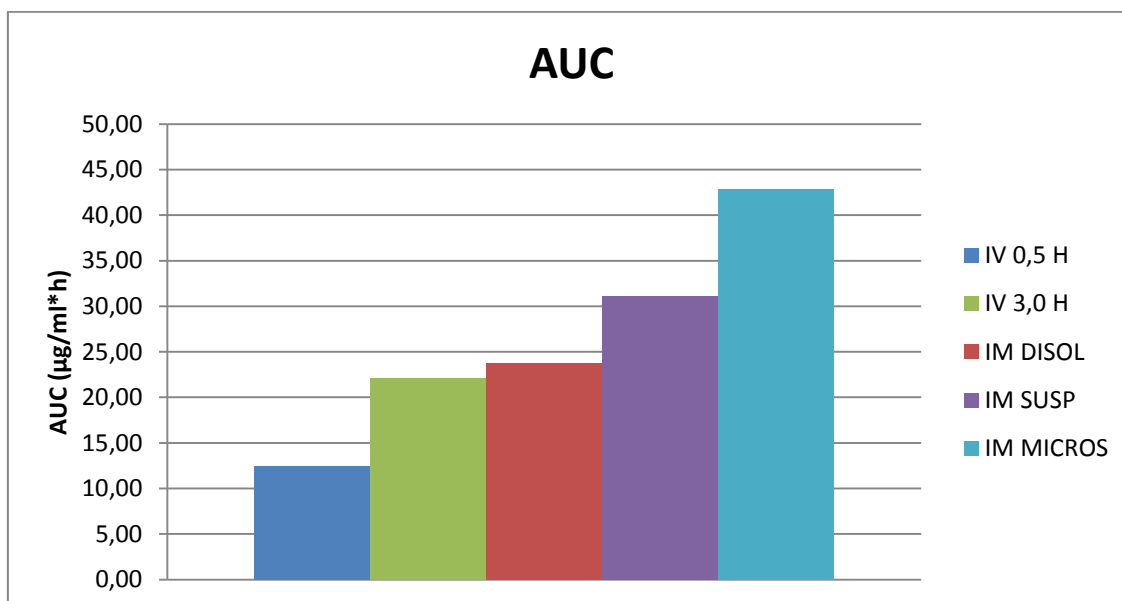


Fig. 6.7.: AUC promedio para cada tipo de administración.

Los resultados del estudio de ANOVA para AUC se muestran en la tabla 6.35. Se concluye el estudio estadístico observando que hay diferencias estadísticamente muy significativas de AUC ($P < 0.01$) según el tipo de administración.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	3208,25	4	802,06	95,5	9,8 x E-13	2,87
Dentro de grupos	168,03	20	8,40	-	-	-
Total	3376,26	24	-	-	-	-

Tabla 6.35.: Resultados del estudio estadístico ANOVA para los valores de AUC obtenidos con las cinco administraciones estudiadas.

Por los resultados obtenidos hay grandes diferencias dependiendo de la duración de la administración por perfusión (0,5 y 3,0 horas), vía de administración (I.V. o I.M.) y velocidad de liberación (I.M. solución, I.M. suspensión o I.M. microesferas).

La mayor AUC se consigue con la administración intramuscular de suspensión de microesferas de meropenem. Es la administración que libera meropenem de forma más controlada en el tiempo.

Se obtiene un AUC mayor cuando se administran suspensiones intramusculares que cuando se administran soluciones intramusculares.

Resulta un AUC mayor cuando se administra por vía intramuscular frente a vía intravenosa. En el caso de la solución intramuscular el AUC es muy parecido a la solución intravenosa durante 3,0 horas.

Se obtiene un AUC mayor en una administración intravenosa de 3,0 horas frente a una administración intravenosa de 0,5 horas.

La tabla 6.36 muestra los resultados medios de Cmax y su desviación estándar. La figura 6.8 muestra las diferencias en valores de Cmax observadas según el tipo de administración.

Durante el estudio han fallecido varios conejos. Dos de ellos fallecieron tras la administración de dosis intravenosa de 0,5 horas y otro tras la administración de dosis intravenosa de 3,0 horas. Ningún conejo falleció tras una administración intramuscular, lo que hace pensar que este tipo de administración no es más peligrosa que la intravenosa. No existen referencias bibliográficas sobre la posible toxicidad aguda del meropenem en conejos. Las dosis administradas en conejos (50 mg/kg) son bastante parecidas a las descritas en la ficha técnica para el tratamiento en pediatría de infecciones graves (40 mg/kg, 3 veces al día). Sin embargo la toxicidad aguda expresada como mortalidad es muy grande y aparentemente se puede relacionar con los valores de Cmax mostrados en los experimentos ya que son las administraciones donde se alcanzan mayores de Cmax (las IV) donde se observa la mortalidad.

ADMINISTRACIÓN	Cmax ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	
	PROMEDIO	DESVEST
Intravenosa 0,5 h	18,10	3,16
Intravenosa 3,0 h	7,88	0,19
Solución intramuscular	8,38	0,45
Suspensión intramuscular	6,76	0,31
Suspensión intramuscular microesferas	5,03	0,88

Tabla 6.36.: Resultados medios de Cmax obtenidos con las cinco administraciones estudiadas.

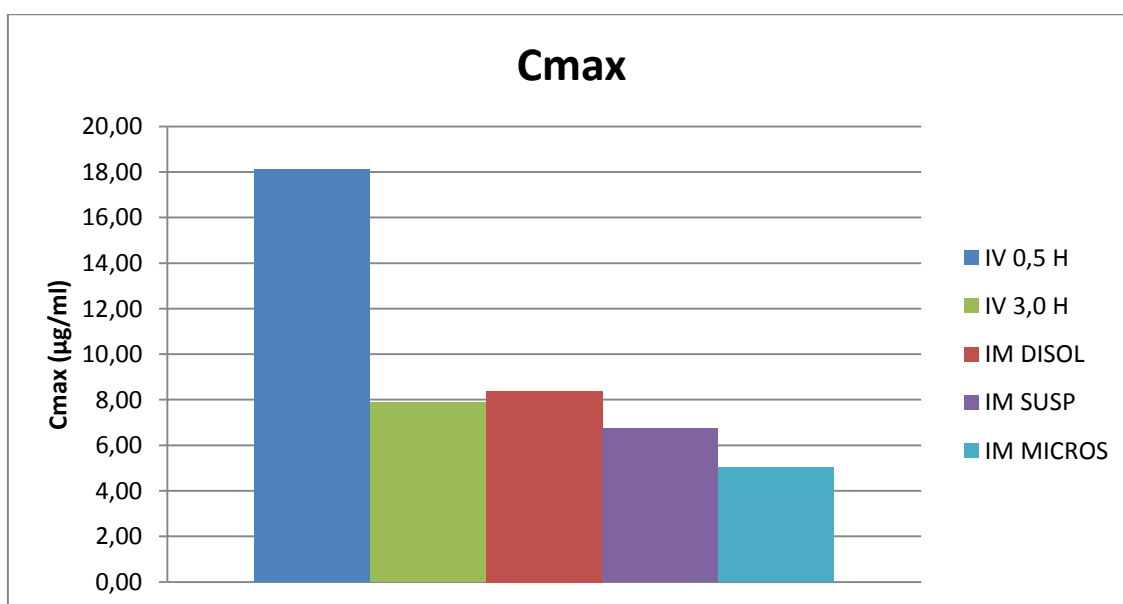


Fig. 6.8.: Cmax medio para cada tipo de administración.

Se alcanzaron mayores Cmax en administraciones intravenosas, sobre todo en la administración con perfusión de 0,5 horas (la que dió una entrada más rápida en el organismo de meropenem). Las administraciones intramusculares presentaron una concentración máxima menor, siendo la administración intramuscular de microesferas de meropenem la que menor valor obtuvo.

La tabla 6.38 muestra los resultados del estudio estadístico (ANOVA) de Cmax. Se concluye el estudio estadístico observando que hay diferencias estadísticamente muy significativas de Cmax ($P < 0.01$) según el tipo de administración.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	681,59	4	170,40	55,0	1,6 x E-10	2,87
Dentro de grupos	61,99	20	3,10	-	-	-
Total	743,57	24	-	-	-	-

Tabla 6.38.: Resultados del estudio estadístico ANOVA para los valores de Cmax obtenidos con las cinco administraciones estudiadas.

La tabla 6.39 muestra los resultados medios de Tmax y su desviación estándar. Como es lógico, las administraciones intravenosas dan una entrada directa y el Tmax coincide con el primer tiempo de muestreo una vez finalizada la perfusión. En el caso de las administraciones intramusculares el Tmax suele ser el primer tiempo de muestreo prácticamente por unanimidad por lo que no se hace estudio ANOVA.

ADMINISTRACIÓN	Tmax (h)	
	PROMEDIO	DESVEST
Intravenosa 0,5 h	0,5	0,0
Intravenosa 3,0 h	3,0	0,0
Solución intramuscular	2,0	0,0
Suspensión intramuscular	2,0	0,0
Suspensión intramuscular microesferas	2,0	0,0

Tabla 6.39.: Resultados de la media de Tmax y su desviación estándar obtenidos con las cinco administraciones estudiadas.

La tabla 6.40 y la figura 6.9. muestran los tiempos aparentes de semivida plasmática ($t_{1/2}$) del meropenem y sus desviaciones estándar obtenidos con las cinco administraciones estudiadas.

ADMINISTRACIÓN	$t_{1/2}$ (h)	
	PROMEDIO	DESVEST
Intravenosa 0,5 h	0,2	0,0
Intravenosa 3,0 h	0,3	0,0
Solución intramuscular	1,0	0,0
Suspensión intramuscular	1,5	0,1
Suspensión intramuscular microesferas	6,4	0,3

Tabla 6.40.: Resultados medios de semivida aparente ($t_{1/2}$) y su desviación estándar obtenidos con las cinco administraciones estudiadas.

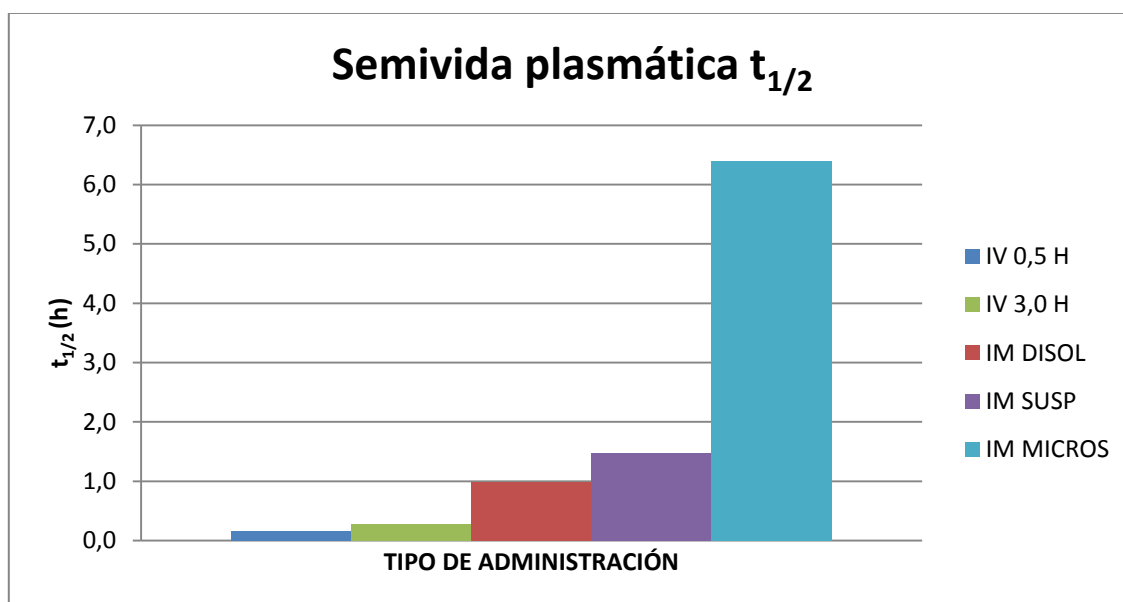


Fig. 6.9.: Semivida aparente media ($t_{1/2}$) para cada tipo de administración.

La semivida obtenida en los conejos es algo inferior a la descrita en la ficha técnica de meropenem en humanos (1,0 hora) ya que en la administración intravenosa en conejos oscila entre 0,2 y 0,3 horas. Estas semividas menores en conejos que en humanos, se puede relacionar con una mayor velocidad de eliminación en conejos que en humanos. Por esta razón las concentraciones obtenidas en conejo son menores de las esperadas y los tiempos de muestreo utilizados en administraciones intravenosas no fueron los apropiados ya que hubo bastantes muestras en que no se detectaba meropenem por esa mayor velocidad de eliminación. La semivida es mayor en las administraciones intramusculares que en

intravenosas. Esto se debe a que en la administración intramuscular hay absorción y se sigue liberando fármaco después de haber alcanzado la concentración máxima. Por esta razón creemos preferible utilizar el término semivida aparente puesto que incluye un efecto de absorción.

La tabla 6.41 muestra los resultados del estudio estadístico (ANOVA) de semivida aparente. Se concluye el estudio estadístico observando que hay diferencias estadísticamente muy significativas de semivida aparente media ($t_{1/2}$) ($P < 0.01$) según el tipo de administración.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	160,1	4	40,0	1651,6	6,8 x E-25	2,9
Dentro de grupos	0,5	20	0,0	-	-	-
Total	160,6	24	-	-	-	-

Tabla 6.41: Resultados del estudio estadístico ANOVA para los valores de semivida aparente ($t_{1/2}$) obtenidos con las cinco administraciones estudiadas.

Si asumimos que la semivida aparente ($t_{1/2}$) nos indica la velocidad de absorción podemos relacionar este parámetro con los valores de AUC y C_{max} para intentar establecer si hay relación estadística entre estas variables.

La figura 6.10 nos muestra la relación encontrada entre los valores de AUC y la semivida aparente. El estudio estadístico de ANOVA nos muestra que existe una relación muy significativa ($P < 0,01$) entre AUC y la semivida aparente, con una linealidad de un coeficiente de correlación de 0,90.

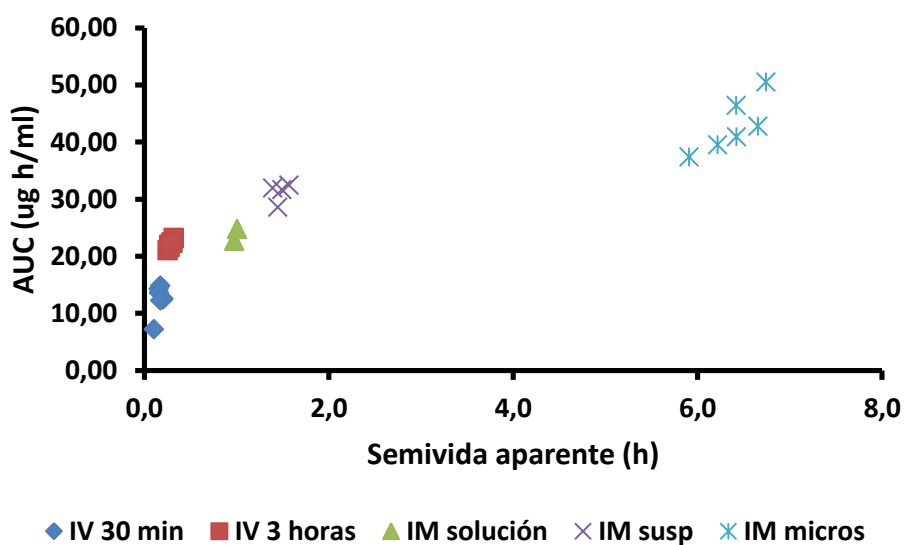


Fig. 6.10.: Relación entre los valores de AUC y la semivida aparente media ($t_{1/2}$) para cada tipo de administración.

La figura 6.11 muestra la relación entre C_{max} y semivida aparente. El estudio estadístico de ANOVA nos muestra que existe una relación muy significativa ($P < 0,01$) entre C_{max} y la semivida aparente aunque no lineal porque en este caso el coeficiente de correlación es de 0,59. Podríamos deducir que al retrasar la absorción aumenta su semivida aparente, aumenta AUC y disminuye C_{max} .

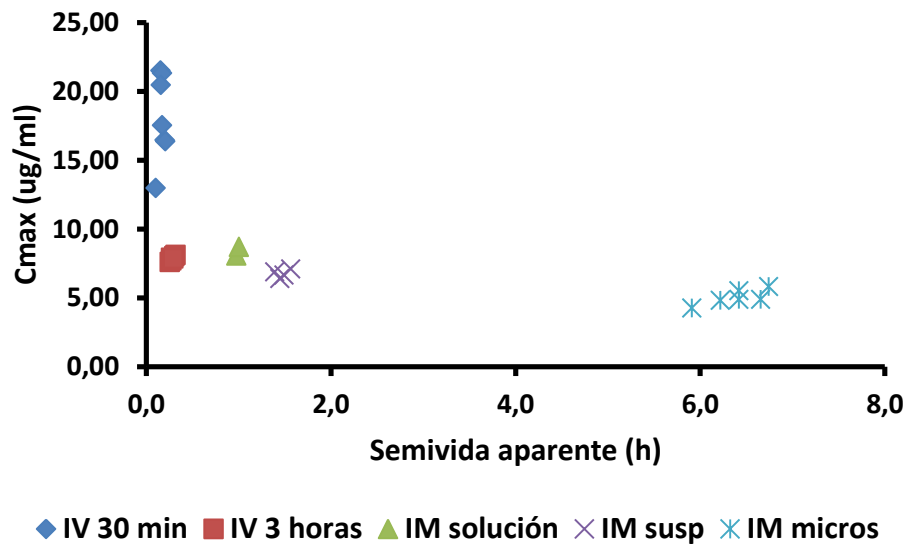


Fig. 6.11.: Relación entre los valores de C_{max} y la semivida aparente media ($t_{1/2}$) para cada tipo de administración.

En la figura 6.12. viene representado el CMI_{90} de *Staphylococcus coagulasa negativo*, responsable del 67,0% de las infecciones nosocomiales en operaciones quirúrgicas (Rhomberg, P.R. et al, 1999-2008). La administración intravenosa con perfusión de 0,5 horas consigue estar por encima de dicho CMI_{90} durante menos de 3,0 horas, mientras que la administración intramuscular de microesferas de meropenem supera esta concentración durante más de 25,0 horas.

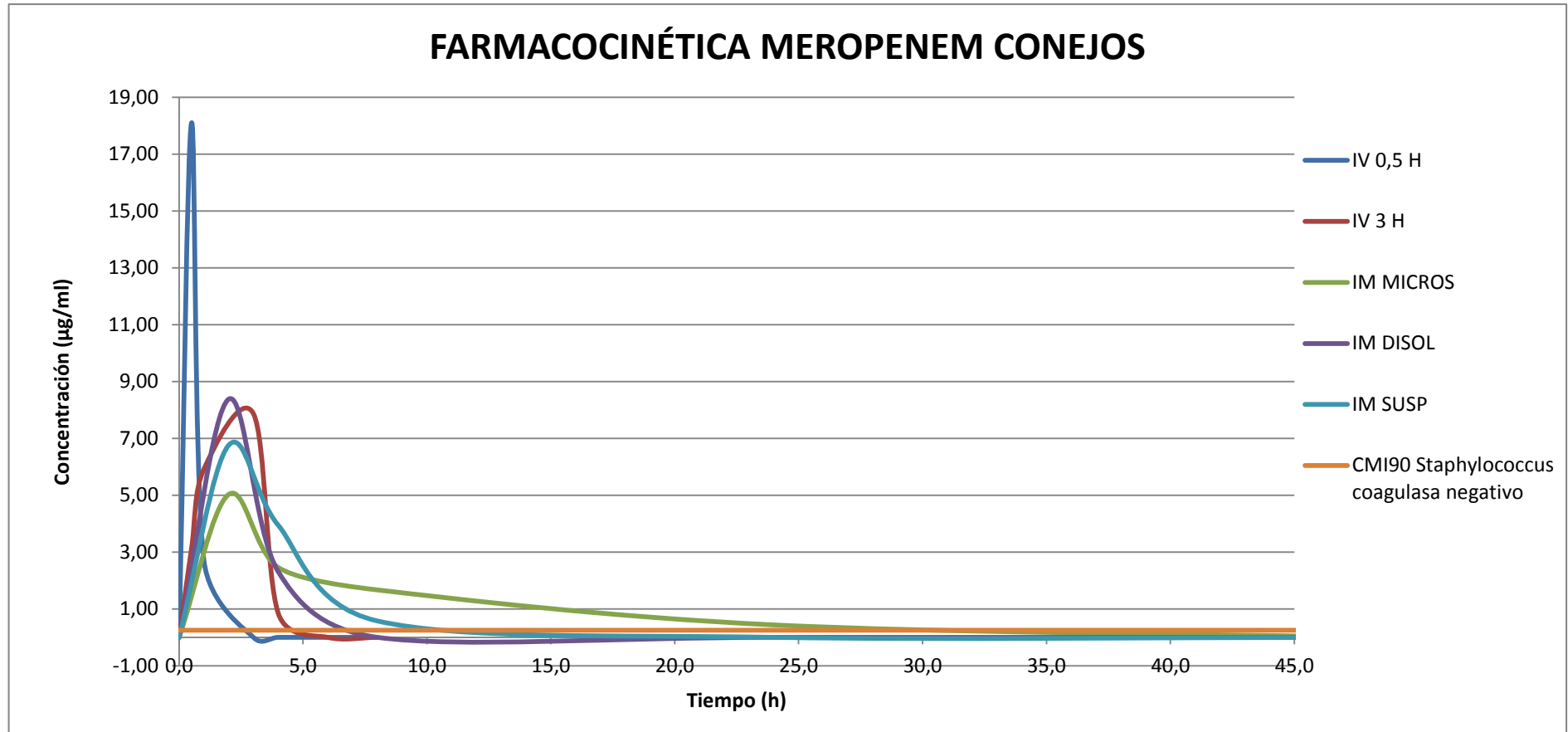


Fig. 6.12. Gráfico del estudio farmacocinético de diferentes formulaciones de meropenem en conejos.

IV 0,5 H: Administración perfusión 0,5 horas

IV 3 H: Administración perfusión 3,0 horas

IM MICROS: Administración intramuscular de microesferas de meropenem

IM DISOL: Administración intramuscular de solución intramuscular de meropenem

IM SUSP: Administración intramuscular de suspensión de meropenem

CMI₉₀ Staphylococcus coagulasa negativo: representante del 67% de las infecciones nosocomiales (Rhombert, P.R. et al, 1999-2008).

6.5. CONCLUSIÓN

En el ensayo farmacocinético de meropenem en conejos se han obtenido los resultados esperados según la bibliografía.

Los valores de área bajo la curva (AUC) aumentan cuando la administración es intramuscular, frente a una administración intravenosa. Esto nos permite demostrar que la liberación de meropenem se realiza de forma más controlada cuando se administra por esta vía.

El AUC aumenta cuando la administración intramuscular es en forma de suspensión, con respecto a una disolución. Las suspensiones favorecen el efecto de liberación controlada y mantener concentraciones mínimas inhibitorias por encima del umbral durante más tiempo.

El AUC aumenta cuando existe un sistema que controla la liberación dentro de la suspensión, como son las microesferas de meropenem.

En el caso de la vía intravenosa, el AUC aumenta cuando la administración se prolonga de 0,5 horas a 3,0 horas.

Existen grandes diferencias entre las diferentes administraciones a la hora de comparar el tiempo en el que la concentración del fármaco está por encima de la concentración mínima inhibitoria de los microorganismos más frecuentes. En este caso hemos comparado el *Staphylococcus coagulasa negativo*, responsable del 67,0% de las infecciones nosocomiales en operaciones quirúrgicas y podemos observar que la suspensión con microesferas de meropenem logra tiempos mucho más prolongados que el resto.

En publicaciones como la de *Firsov, A.A., et al, 1997*, donde comparan administraciones de meropenem en bolus y en infusiones prolongadas, demuestran que el análisis del AUC es una buena herramienta para comparar diferentes modos y regímenes de administración de antibióticos. Estudios similares se han hecho con otros antibióticos como el Moxifloxacino (*Cárceles, C.M., et al, 2006*)⁽⁴⁸⁾. En este estudio se demuestra que la misma dosis del mismo principio activo administrada por diferentes vías puede dar lugar a resultados farmacocinéticos muy diferentes, y defienden el uso de formulaciones de liberación controlada donde se evitan administraciones múltiples y se favorece el mantenimiento de la concentración plasmática del principio activo por encima de concentraciones deseadas durante más tiempo.

Con todos estos resultados, se concluye que la forma de administración más adecuada para conseguir los efectos deseados de liberación controlada en el tiempo es la administración intramuscular de suspensión de microesferas de meropenem.

7. ENSAYOS EN HUMANOS

7.1. INTRODUCCIÓN

Tras realizar los ensayos en animales, se realizó un estudio en seres humanos.

Puesto que no era posible administrar las formulaciones de microesferas de meropenem en humanos, ya que se trata de formulaciones en investigación no autorizadas para el uso en humanos, se realizó un estudio farmacocinético con las presentaciones comercializadas de meropenem.

El estudio se basó en comparar diferentes velocidades de perfusión, con el fin de evaluar la farmacocinética en humanos. En la revisión bibliográfica no se han encontrado estudios farmacocinéticos completos de sistemas de administración controlada de meropenem, aunque sí que existen tratamientos en la práctica clínica de forma empírica con perfusiones intravenosas a diferentes velocidades (*Lee, L.S., et al, 2010; Thalhammer, F., et al, 1999; Langgartner, J., et al, 2008; Roberts, J.A., et al, 2009*).

El objetivo del presente estudio fue demostrar que se obtienen mayores AUC en administraciones más prolongadas en el tiempo, lo que confirmaría los resultados obtenidos en animales y justificaría el uso de administración intramuscular de suspensión de microesferas de meropenem.

Además, se realizó una comparación entre muestras de plasma y muestras de suero, para determinar la unión del meropenem a proteínas plasmáticas.

Los pacientes del estudio se seleccionaron de la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital Clínico San Carlos de Madrid. Fue el propio hospital quien tuvo interés en comparar la farmacocinética del meropenem a diferentes velocidades de administración, pues la experiencia les decía que cuanto más se prolongaba la administración, más efectivo era el tratamiento. Las muestras fueron tratadas y analizadas en el Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid.

7.2. MATERIALES Y MÉTODOS

A) MATERIALES

En este estudio participaron pacientes de la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital Clínico San Carlos de Madrid. El estudio se realizó hasta con 15 pacientes, pero solo se pudieron obtener resultados de 4 de ellos, ya que las muestras del resto no permitieron un correcto análisis.

- **Dispositivos de administración:**
 - Perfusión intravenosa de 0,5 horas: Perfusor 0,5 horas.
 - Perfusión intravenosa de 1,0 horas: Perfusor 1,0 hora.
 - Perfusión intravenosa de 2,0 horas: Perfusor 2,0 horas.
- **Tratamientos:**
 - Perfusión intravenosa de 0,5 horas: Meronem® 1000 mg.
 - Perfusión intravenosa de 1,0 horas: Meronem® 1000 mg.
 - Perfusión intravenosa de 2,0 horas: Meronem® 1000 mg.
- **Dosis de administración:**
 - 1000 mg

B) MÉTODOS

- **Administraciones:** se realizaron administraciones intravenosas por perfusión, a diferentes velocidades:
 - Perfusión 2,0 horas (x2 pacientes).
 - Perfusión 1,0 hora (1 paciente).
 - Perfusión 0,5 horas (1 paciente).

- **Tiempo de lavado:** a cada paciente sólo se le realizó una administración, por lo que no requiere tiempo de lavado de meropenem.

- **Muestras:** las muestras se tomaron por vía intravenosa. Los tiempos de muestreo fueron los siguientes:
 - Perfusión 2,0 horas: 0,0 h (justo antes de la administración), 2,0 h (fin de la perfusión), 3,0 h y 4,0 h.
 - Perfusión 1,0 hora: 0,0 h (justo antes de la administración), 1,0 h (fin de la perfusión), 2,0 h y 4,0 h.
 - Perfusión 0,5 horas: 0,0 h (justo antes de la administración); 0,5 h (fin de la perfusión), 1,0 h y 4,0 h.

- **Tratamiento de las muestras:**
 - La primera parte del tratamiento de las muestras se realizó en el Hospital Clínico San Carlos de Madrid. Fue el mismo hospital quien trató las muestras para obtener plasma (con anticoagulante EDTA) o suero (sin anticoagulante).
 - La segunda parte del tratamiento de las muestras se realizó en el Departamento de Farmacia y tecnología Farmacéutica de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Complutense de Madrid.
 - Las muestras se centrifugaron a 4000 rpm durante 5,0 min, de tal forma que se podía separar el plasma o suero.
 - 750 µl de plasma/suero + 2250 µl de agua desionizada se incorporaban en un tubo de plástico.
 - Los tubos de plástico se centrifugaron a 6000 rpm durante 8,0 min.
 - El sobrenadante se separaba para su análisis en HPLC.

- **Conservación de las muestras**
 - Las muestras de los pacientes estuvieron 48,0 horas en congelador.
- **Análisis HPLC de las muestras:** según método validado en el capítulo 3.
- **Tratamiento de los resultados:** Para calcular la concentración real a partir de la concentración obtenida en el análisis se aplicaron los siguientes factores:
 - La recta patrón empleada fue: $\text{Área} = 154,67 * \text{Concentración} + 0,24$
 - x4: Dilución realizada en el tratamiento de muestra (750 μl de plasma + 2250 μl de agua desionizada).
 - x factor de estabilidad: según el estudio de estabilidad realizado previamente en medio PBS (Capítulo 4, ver tabla 4.6.), se consideraron las siguientes ecuaciones:

$$\text{Congelador: \%Meropenem} = -0,0542 \times (\text{Tiempo (h)}) + 99,533$$

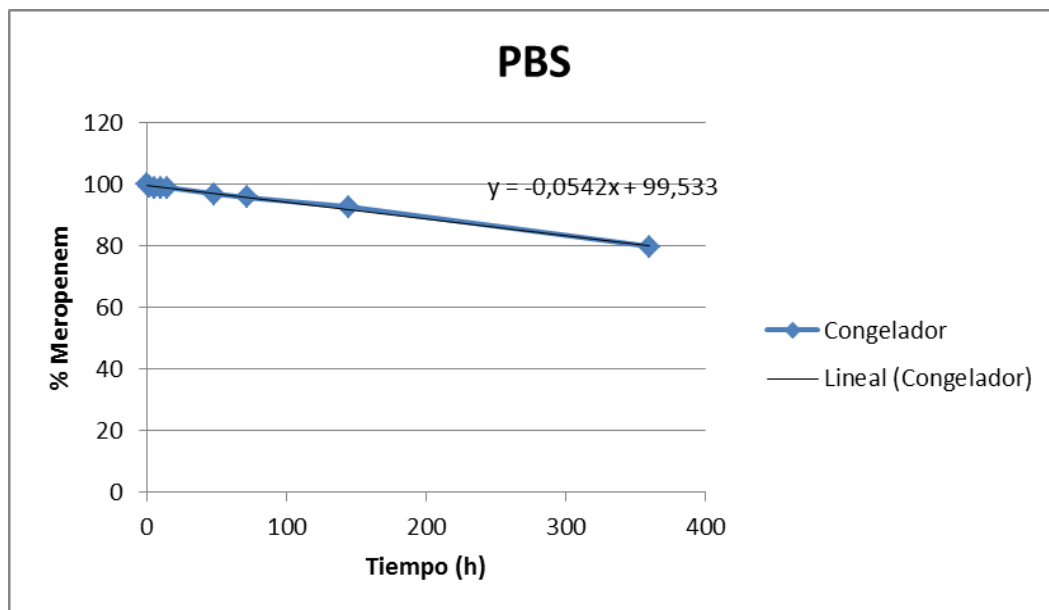


Fig. 7.1. Gráfico del estudio de estabilidad en PBS.

Tiempo (h)	% Meropenem Sin degradar
0,0 h	100,0%
24,0 h	98,2%
48,0 h	96,9%
72,0 h	95,6%

Tabla 7.1.: Estabilidad del meropenem disuelto en PBS en congelador según los estudios de estabilidad realizados en el capítulo 4.

- **Análisis de los resultados:** con los datos obtenidos se realizó un análisis farmacocinético para obtener la siguiente información:
 - Concentración de meropenem a lo largo del tiempo
 - Área bajo la curva (AUC)
 - Concentración máxima (C_{max})
 - Tiempo de semivida plasmática (t_{1/2})
 - Orden de eliminación del meropenem

La comparación de los resultados obtenidos entre los cuatro pacientes sirve para poder establecer conclusiones sobre la administración prolongada de meropenem.

7.3. RESULTADOS

PACIENTE 1: PERFUSIÓN I.V. DE 2,0 HORAS

Datos Paciente	
Nombre	N.D.
NHC	1975828
Edad (años)	52
Peso (kg)	80,0
Talla (m)	1,75
IMC (kg/m ²)	26,1
Datos bioquímicos	
Urea (g/dl)	32,0
Cr (mg/dl)	0,8
ClCr (ml/min)	211,0
Proteínas totales (g/dl)	5,9
Albúmina (g/dl)	3,1
Insuficiencia hepática	No
Datos Farmacológicos	
Tratamiento	Meropenem
Administración	1g/8 horas perfusión 2,0 h
Otros fármacos	Linezolid, omeprazol, clonidina, ramipril, furosemida
Enfermedad	PCR, sospecha NAV

Tabla 7.2.: Paciente 1: Datos del paciente, bioquímicos y farmacológicos.

Perfusión intravenosa de 2,0 horas						
PACIENTE 1						
Tiempo (h)	TIPO	Área (mVxS)	Conc. (µg/ml)	Conc. real (µg/ml)	AUC (µg h/ml)	In Conc
0,0	Plasma	7,18	0,05	0,18	0,00	-1,69
0,0	Suero	10,15	0,06	0,26	0,00	-1,33
2,0	Plasma	899,86	5,82	24,00	24,18	3,18
2,0	Suero	871,25	5,63	23,24	23,50	3,15
3,0	Plasma	198,23	1,28	5,28	14,64	1,66
3,0	Suero	190,09	1,23	5,06	14,15	1,62
4,0	Plasma	9,38	0,06	0,24	2,76	-1,41
4,0	Suero	11,29	0,07	0,29	2,68	-1,22

Tabla 7.3.: Paciente 1: Concentración y área bajo la curva tras la administración intravenosa de 2,0 horas.

A continuación se muestra el gráfico con la concentración de meropenem a lo largo del tiempo, tanto en plasma como en suero:

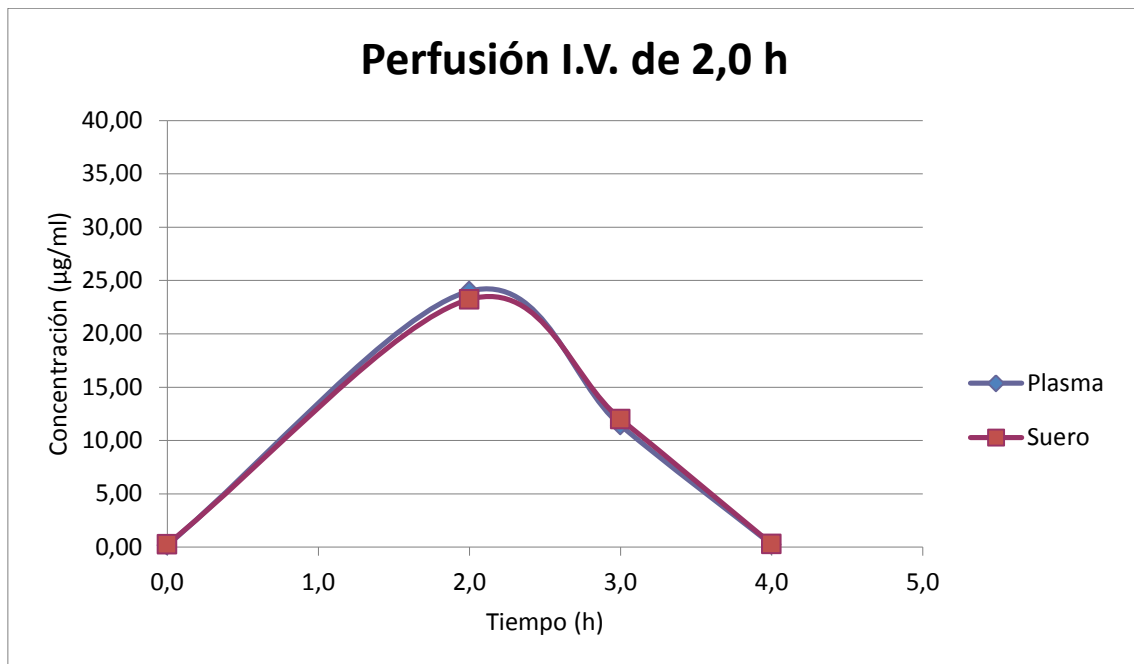


Fig. 7.2.: Concentración de meropenem en plasma y suero tras la administración intravenosa de 2,0 horas.

Las áreas bajo la curva obtenidas para plasma y suero fueron:

$$\begin{aligned} AUC_{0-4} \text{ PLASMA} &= 41,58 \mu\text{g h/ml} \\ AUC_{4-\infty} \text{ PLASMA} &= 0,10 \mu\text{g h/ml} \\ \mathbf{AUC_{0-\infty} \text{ PLASMA} &= 41,68 \mu\text{g h/ml}} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} AUC_{0-4} \text{ SUERO} &= 40,32 \mu\text{g h/ml} \\ AUC_{4-\infty} \text{ SUERO} &= 0,13 \mu\text{g h/ml} \\ \mathbf{AUC_{0-\infty} \text{ SUERO} &= 40,46 \mu\text{g h/ml}} \end{aligned}$$

Las concentraciones máximas obtenidas para plasma y suero fueron:

$$\begin{aligned} \mathbf{C_{max} \text{ PLASMA} &= 24,00 \mu\text{g/ml}} \\ \mathbf{C_{max} \text{ SUERO} &= 23,24 \mu\text{g/ml}} \end{aligned}$$

El tiempo de semivida plasmática ($t_{1/2}$) calculado para una cinética de orden uno es:

- **Tiempo semivida plasmática ($t_{1/2}$) plasma = 0,3 h**
- **Tiempo semivida plasmática ($t_{1/2}$) suero = 0,3 h**

PACIENTE 2: PERFUSIÓN I.V. DE 2,0 HORAS

Datos Paciente	
Nombre	ND
NHC	892749
Edad (años)	76
Peso (kg)	66
Talla (m)	1,58
IMC (kg/m ²)	26,4
Datos bioquímicos	
Urea (g/dl)	62,0
Cr (mg/dl)	0,47
ClCr (ml/min)	99,0
Proteínas totales (g/dl)	6,7
Albúmina (g/dl)	3,3
Insuficiencia hepática	No
Datos Farmacológicos	
Tratamiento	Meropenem
Administración	1g/8 horas perfusión 2,0 h
Otros fármacos	Diltiacem, doxazosina, omeprazol, escitalopram
Enfermedad	Cx cardiaca, fiebre sin foco

Tabla 7.4.: Paciente 2: Datos del paciente, bioquímicos y farmacológicos.

Perfusión intravenosa de 2,0 horas						
PACIENTE 2						
Tiempo (h)	TIPO	Área (mVxS)	Conc. (µg/ml)	Conc. real (µg/ml)	AUC (µg h/ml)	In Conc
0,0	Plasma	16,21	0,10	0,43	0,00	-0,85
0,0	Suero	14,81	0,09	0,39	0,00	-0,95
2,0	Plasma	935,43	6,05	24,95	25,37	3,22
2,0	Suero	993,13	6,42	26,49	26,88	3,28
3,0	Plasma	206,69	1,33	5,51	15,23	1,71
3,0	Suero	210,97	1,36	5,62	16,05	1,73
4,0	Plasma	20,74	0,13	0,55	3,03	-0,60
4,0	Suero	22,18	0,14	0,59	3,10	-0,54

Tabla 7.5.: Paciente 2: Concentración y área bajo la curva tras la administración intravenosa de 2,0 horas.

A continuación se muestra el gráfico con la concentración de meropenem a lo largo del tiempo, tanto en plasma como en suero:

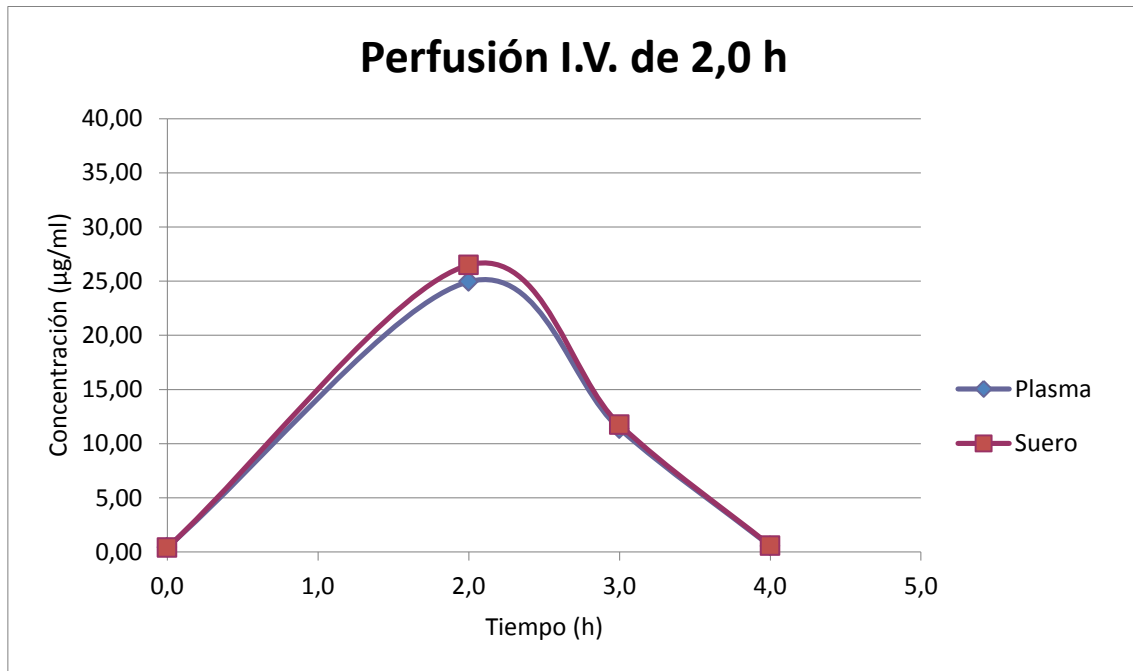


Fig. 7.3.: Concentración de meropenem en plasma y suero tras la administración intravenosa de 2,0 horas.

Las áreas bajo la curva obtenidas para plasma y suero fueron:

$$\begin{aligned} AUC_{0-4} \text{ PLASMA} &= 43,64 \mu\text{g h/ml} \\ AUC_{4-\infty} \text{ PLASMA} &= 0,29 \mu\text{g h/ml} \\ \mathbf{AUC_{0-\infty} \text{ PLASMA} &= 43,93 \mu\text{g h/ml}} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} AUC_{0-4} \text{ SUERO} &= 46,04 \mu\text{g h/ml} \\ AUC_{4-\infty} \text{ SUERO} &= 0,31 \mu\text{g h/ml} \\ \mathbf{AUC_{0-\infty} \text{ SUERO} &= 46,35 \mu\text{g h/ml}} \end{aligned}$$

Las concentraciones máximas obtenidas para plasma y suero fueron:

$$\begin{aligned} \mathbf{C_{max} \text{ PLASMA} &= 24,95 \mu\text{g/ml}} \\ \mathbf{C_{max} \text{ SUERO} &= 26,49 \mu\text{g/ml}} \end{aligned}$$

El tiempo de semivida plasmática ($t_{1/2}$) calculado para una cinética de orden uno es:

- **Tiempo semivida plasmática ($t_{1/2}$) plasma = 0,3 h**
- **Tiempo semivida plasmática ($t_{1/2}$) suero = 0,3 h**

PACIENTE 3: PERFUSIÓN I.V. DE 1,0 HORA

Datos Paciente	
Nombre	ND
NHC	215493
Edad (años)	ND
Peso (kg)	ND
Talla (m)	ND
IMC (kg/m ²)	ND
Datos bioquímicos	
Urea (g/dl)	ND
Cr (mg/dl)	ND
ClCr (ml/min)	ND
Proteínas totales (g/dl)	ND
Albúmina (g/dl)	ND
Insuficiencia hepática	No
Datos Farmacológicos	
Tratamiento	Meropenem
Administración	1g/8 horas perfusión 1,0 h
Otros fármacos	ND
Enfermedad	ND

Tabla 7.6.: Paciente 3: Datos del paciente, bioquímicos y farmacológicos.

Perfusión intravenosa de 1,0 hora						
PACIENTE 3						
Tiempo (h)	TIPO	Área (mVxS)	Conc. (µg/ml)	Conc. real (µg/ml)	AUC (µg h/ml)	In Conc
0,0	Plasma	10,51	0,07	0,27	0,00	-1,30
0,0	Suero	20,22	0,13	0,53	0,00	-0,63
1,0	Plasma	1031,22	6,67	27,50	13,89	3,31
1,0	Suero	996,28	6,44	26,57	13,55	3,28
2,0	Plasma	133,91	0,86	3,57	15,53	1,27
2,0	Suero	131,01	0,85	3,49	15,03	1,25
4,0	Plasma	13,84	0,09	0,36	3,93	-1,01
4,0	Suero	16,86	0,11	0,44	3,93	-0,81

Tabla 7.7.: Paciente 3: Concentración y área bajo la curva tras la administración intravenosa de 1,0 hora.

A continuación se muestra el gráfico con la concentración de meropenem a lo largo del tiempo, tanto en plasma como en suero:

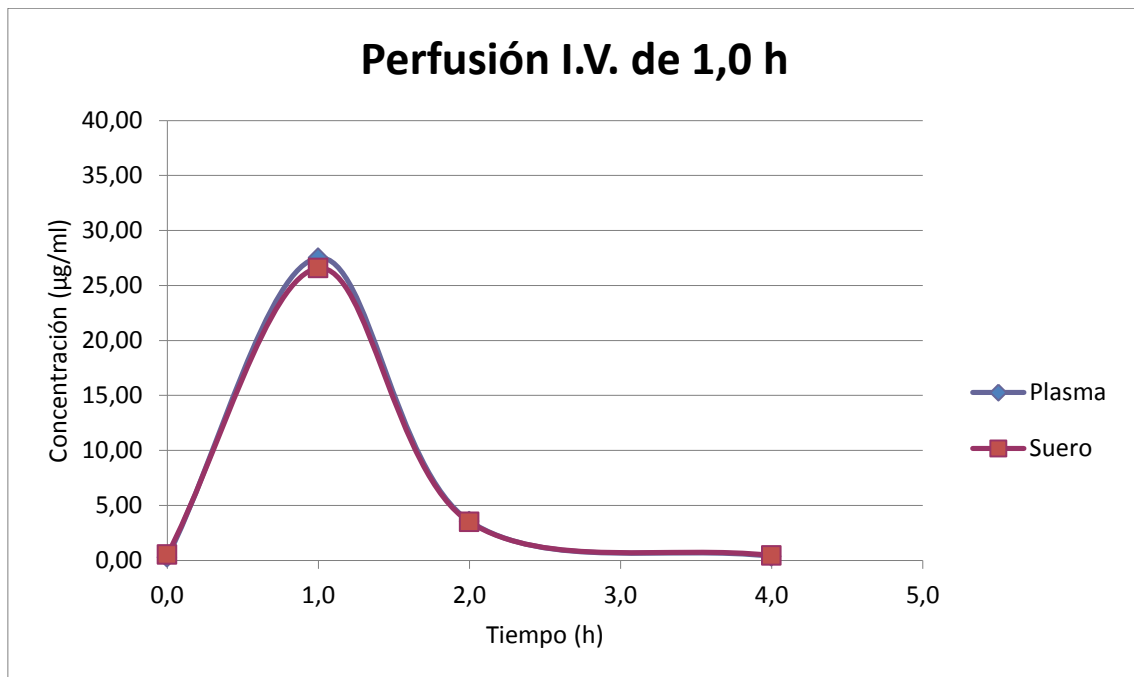


Fig. 7.4.: Concentración de meropenem en plasma y suero tras la administración intravenosa de 1,0 hora.

Las áreas bajo la curva obtenidas para plasma y suero fueron:

$$\begin{aligned} AUC_{0-4} \text{ PLASMA} &= 33,40 \mu\text{g h/ml} \\ AUC_{4-\infty} \text{ PLASMA} &= 0,26 \mu\text{g h/ml} \\ \mathbf{AUC_{0-\infty} \text{ PLASMA} &= 33,66 \mu\text{g h/ml}} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} AUC_{0-4} \text{ SUERO} &= 32,51 \mu\text{g h/ml} \\ AUC_{4-\infty} \text{ SUERO} &= 0,33 \mu\text{g h/ml} \\ \mathbf{AUC_{0-\infty} \text{ SUERO} &= 32,84 \mu\text{g h/ml}} \end{aligned}$$

Las concentraciones máximas obtenidas para plasma y suero fueron:

$$\begin{aligned} \mathbf{C_{max} \text{ PLASMA} &= 27,50 \mu\text{g/ml}} \\ \mathbf{C_{max} \text{ SUERO} &= 26,57 \mu\text{g/ml}} \end{aligned}$$

El tiempo de semivida plasmática ($t_{1/2}$) calculado para una cinética de orden uno es:

- **Tiempo semivida plasmática ($t_{1/2}$) plasma = 0,5 h**
- **Tiempo semivida plasmática ($t_{1/2}$) suero = 0,5 h**

PACIENTE 4: PERFUSIÓN I.V. DE 0,5 HORAS

Datos Paciente	
Nombre	ND
NHC	589058
Edad (años)	ND
Peso (kg)	ND
Talla (m)	ND
IMC (kg/m ²)	ND
Datos bioquímicos	
Urea (g/dl)	ND
Cr (mg/dl)	ND
ClCr (ml/min)	ND
Proteínas totales (g/dl)	ND
Albúmina (g/dl)	ND
Insuficiencia hepática	No
Datos Farmacológicos	
Tratamiento	Meropenem
Administración	1g/8 horas perfusión 0,5 h
Otros fármacos	Metronidazol, midazolam, fentanilo, cisatracurio, noradrenalina, dopamina
Enfermedad	Pancreatitis aguda

Tabla 7.8.: Paciente 4: Datos del paciente, bioquímicos y farmacológicos.

Perfusión intravenosa de 0,5 horas						
PACIENTE 4						
Tiempo (h)	TIPO	Área (mVxS)	Conc. (µg/ml)	Conc. real (µg/ml)	AUC (µg h/ml)	In Conc
0,0	Plasma	6,96	0,04	0,18	0,00	-1,71
0,0	Suero	5,86	0,04	0,15	0,00	-1,90
0,5	Plasma	1398,86	9,04	37,31	9,37	3,62
0,5	Suero	1296,46	8,38	34,58	8,68	3,54
1,0	Plasma	104,74	0,68	2,79	10,02	1,03
1,0	Suero	112,47	0,73	2,99	9,39	1,10
4,0	Plasma	10,95	0,07	0,29	4,61	-1,24
4,0	Suero	7,39	0,05	0,19	4,78	-1,66

Tabla 7.9.: Paciente 4: Concentración y área bajo la curva tras la administración intravenosa de 0,5 horas.

A continuación se muestra el gráfico con la concentración de meropenem a lo largo del tiempo, tanto en plasma como en suero:

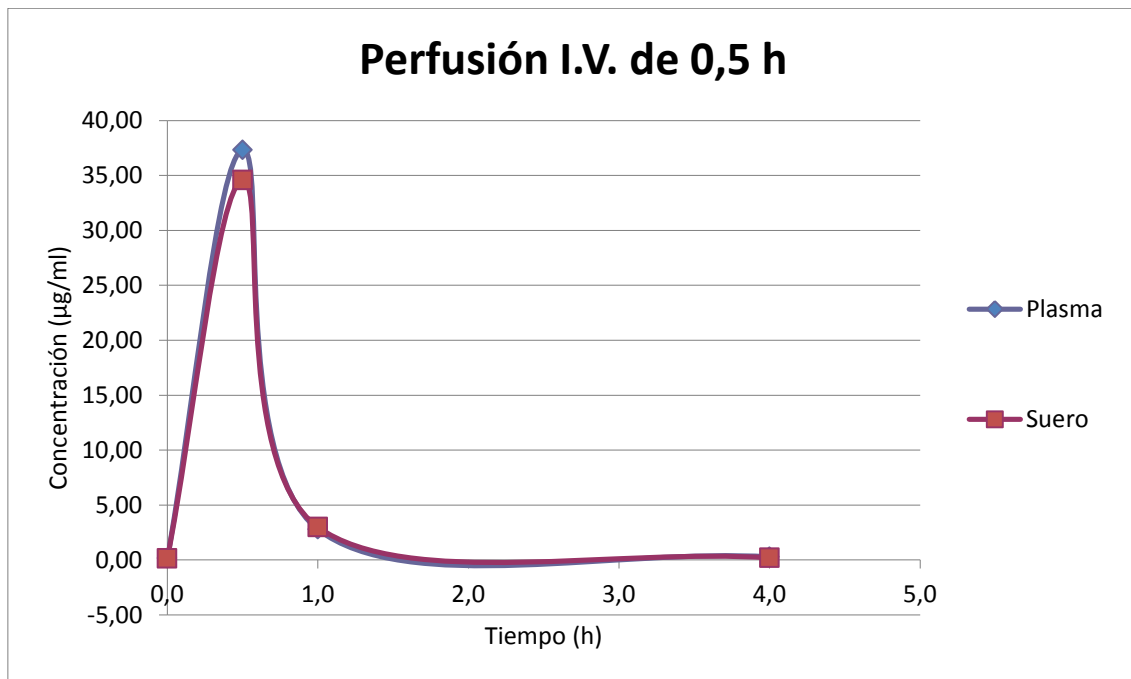


Fig. 7.5.: Concentración de meropenem en plasma v suero tras la administración intravenosa de 0,5 horas.

Las áreas bajo la curva obtenidas para plasma y suero fueron:

$$\begin{aligned} AUC_{0-4} \text{ PLASMA} &= 24,05 \mu\text{g h/ml} \\ AUC_{4-\infty} \text{ PLASMA} &= 0,25 \mu\text{g h/ml} \\ \mathbf{AUC_{0-\infty} \text{ PLASMA} &= 24,30 \mu\text{g h/ml}} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} AUC_{0-4} \text{ SUERO} &= 22,90 \mu\text{g h/ml} \\ AUC_{4-\infty} \text{ SUERO} &= 0,15 \mu\text{g h/ml} \\ \mathbf{AUC_{0-\infty} \text{ SUERO} &= 23,05 \mu\text{g h/ml}} \end{aligned}$$

Las concentraciones máximas obtenidas para plasma y suero fueron:

$$\begin{aligned} \mathbf{C_{max} \text{ PLASMA} &= 37,31 \mu\text{g/ml}} \\ \mathbf{C_{max} \text{ SUERO} &= 34,58 \mu\text{g/ml}} \end{aligned}$$

El tiempo de semivida plasmática ($t_{1/2}$) calculado para una cinética de orden uno es:

- **Tiempo semivida plasmática ($t_{1/2}$) plasma = 0,6 h**
- **Tiempo semivida plasmática ($t_{1/2}$) suero = 0,5 h**

7.4. DISCUSIÓN

Las muestras suero (sin tratar con EDTA) y plasma (tratadas con EDTA) presentan valores muy similares. El resultado de un estudio estadístico (T-Student para muestras pareadas, Microsoft Office 2010) muestra que no hay diferencias significativas ($P < 0,01$). Esto puede deberse a que el meropenem presenta una baja unión a proteínas plasmáticas ($UPP = 2,0\%$) y predomina su distribución extracelular.

Se obtiene un AUC mayor cuanto más prolongada es la perfusión (ver figuras 7.6, 7.7 y 7.8). El resultado de un estudio estadístico (T-Student para muestras pareadas, Microsoft Office 2010) muestra que hay un efecto muy significativo entre el tiempo de duración de la perfusión y el valor de AUC ($P < 0,01$). El AUC de perfusiones de 2,0 horas fue mayor que el AUC de perfusión de 1,0 hora, y este mayor al AUC de perfusión de 0,5 horas.

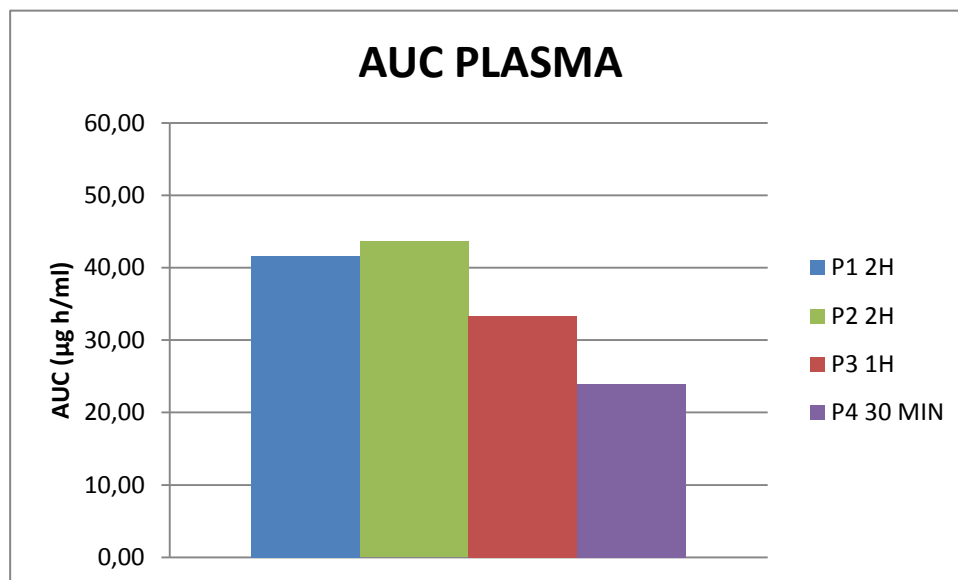


Fig. 7.6.: Histograma comparativo del área bajo la curva (AUC) de meropenem en plasma en los cuatro pacientes tras sus administraciones.

P1 2H: Paciente 1 Administración IV perfusión 2,0 horas

P2 2H: Paciente 2 Administración IV perfusión 2,0 horas

P3 1H: Paciente 3 Administración IV perfusión 1,0 hora

P4 30 MIN: Paciente 4 Administración IV perfusión 0,5 horas

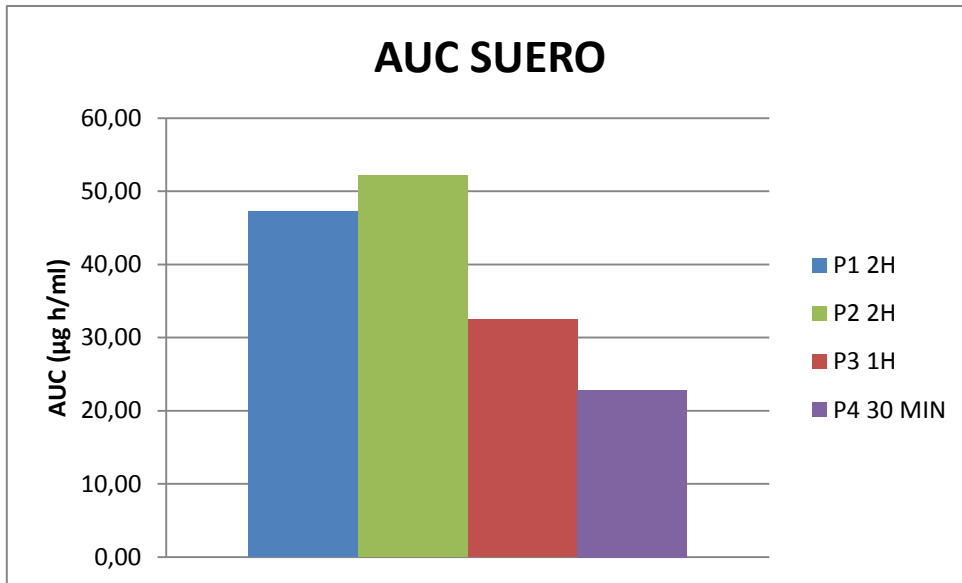


Fig. 7.7.: Histograma comparativo del área bajo la curva (AUC) de meropenem en suero en los cuatro pacientes tras sus administraciones.

P1 2H: Paciente 1 Administración IV perfusión 2,0 horas

P2 2H: Paciente 2 Administración IV perfusión 2,0 horas

P3 1H: Paciente 3 Administración IV perfusión 1,0 hora

P4 30 MIN: Paciente 4 Administración IV perfusión 0,5 horas

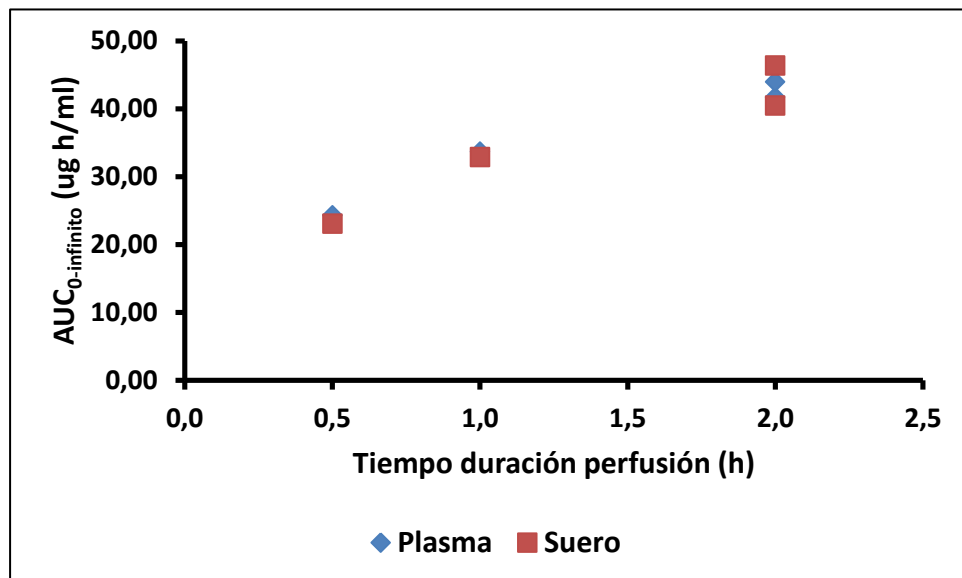


Fig. 7.8.: Efecto del tiempo de duración de la perfusión en AUC_{0-infinity} tanto en las muestras de plasma como suero.

Al igual que en los experimentos en conejos se estudia el efecto de la duración de la perfusión en C_{max} y $t_{1/2}$. El estudio estadístico (T-Student para muestras pareadas, Microsoft Office 2010) muestra que en ambos casos hay un efecto muy significativo entre el tiempo de duración de la perfusión en C_{max} y $t_{1/2}$ ($P < 0,01$). Este efecto se muestra en las figuras 7.9 y 7.10.

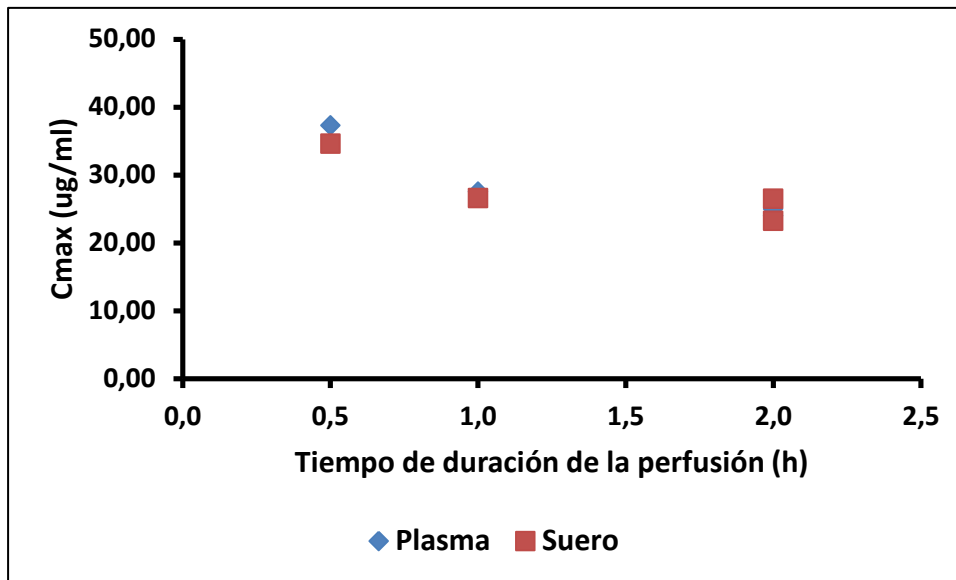


Fig. 7.9: Efecto del tiempo de duración de la perfusión en C_{max} tanto en las muestras de plasma como suero.

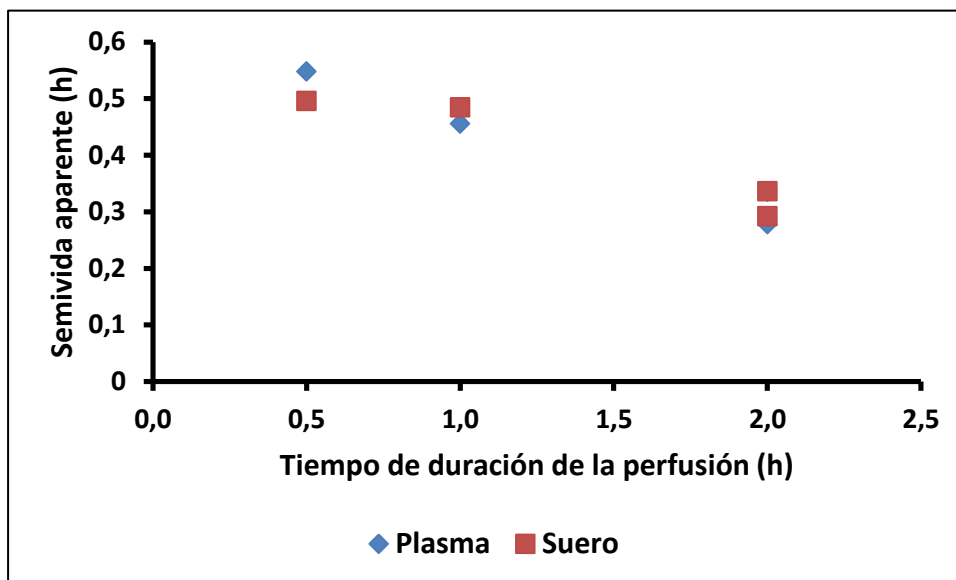


Fig. 7.10.: Efecto del tiempo de duración de la perfusión en la semivida aparente tanto en las muestras de plasma como suero.

Al igual que sucedía en conejos, al aumentar el tiempo de perfusión disminuye C_{max} , por lo que posiblemente también deban disminuir algunos efectos secundarios relacionados con concentraciones elevadas.

Curiosamente, y a diferencia de los conejos, en los experimentos en humanos al aumentar el tiempo de perfusión disminuye la semivida. Este diferente comportamiento entre especies posiblemente se pueda relacionar con las diferencias observadas en la velocidad de eliminación (parece que bastante mayor en conejos que en humanos) y las diferencias en concentraciones obtenidas (mayores en humanos que en conejos).

Según los datos obtenidos, todas las administraciones han tenido una eliminación del fármaco según una cinética de orden uno, puesto que existe mayor correlación entre las variables cuando se estudia según este modelo.

El tiempo de semivida plasmática del meropenem según la cinética de eliminación de orden uno es muy bajo, ha oscilado entre 0,3 horas a 0,5 horas (entre 18,0 minutos y 30,0 minutos aproximadamente). La rápida eliminación del fármaco coincide con lo descrito en la bibliografía.

En las figuras 7.11 y 7.12 viene representado el CMI_{90} de *Staphylococcus coagulasa negativo*, responsable del 67,0% de las infecciones nosocomiales en operaciones quirúrgicas (Rhombert, P.R. et al, 1999-2008).

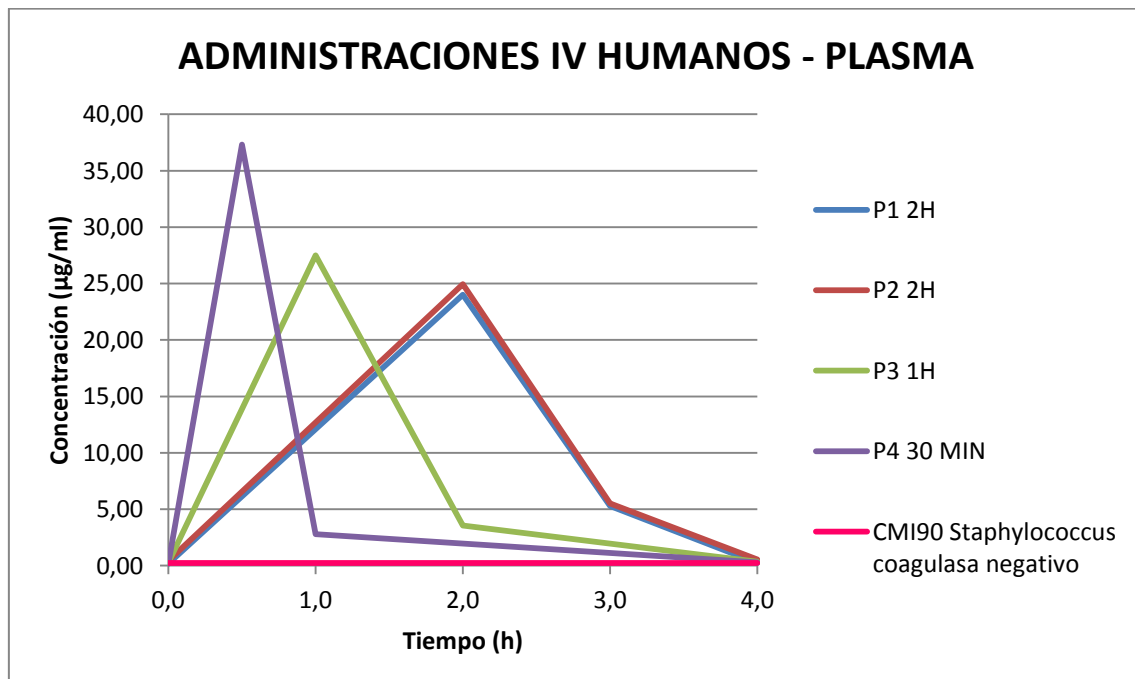


Fig. 7.11. Gráfico del estudio farmacocinético de diferentes perfusiones de meropenem en humanos.

Concentración en plasma de meropenem a lo largo del tiempo.

P1 2H: Paciente 1 Administración IV perfusión 2,0 horas

P2 2H: Paciente 2 Administración IV perfusión 2,0 horas

P3 1H: Paciente 3 Administración IV perfusión 1,0 hora

P4 30 MIN: Paciente 4 Administración IV perfusión 0,5 horas

CMI_{90} *Staphylococcus coagulasa negativo*: representante del 67,0% de las infecciones nosocomiales.

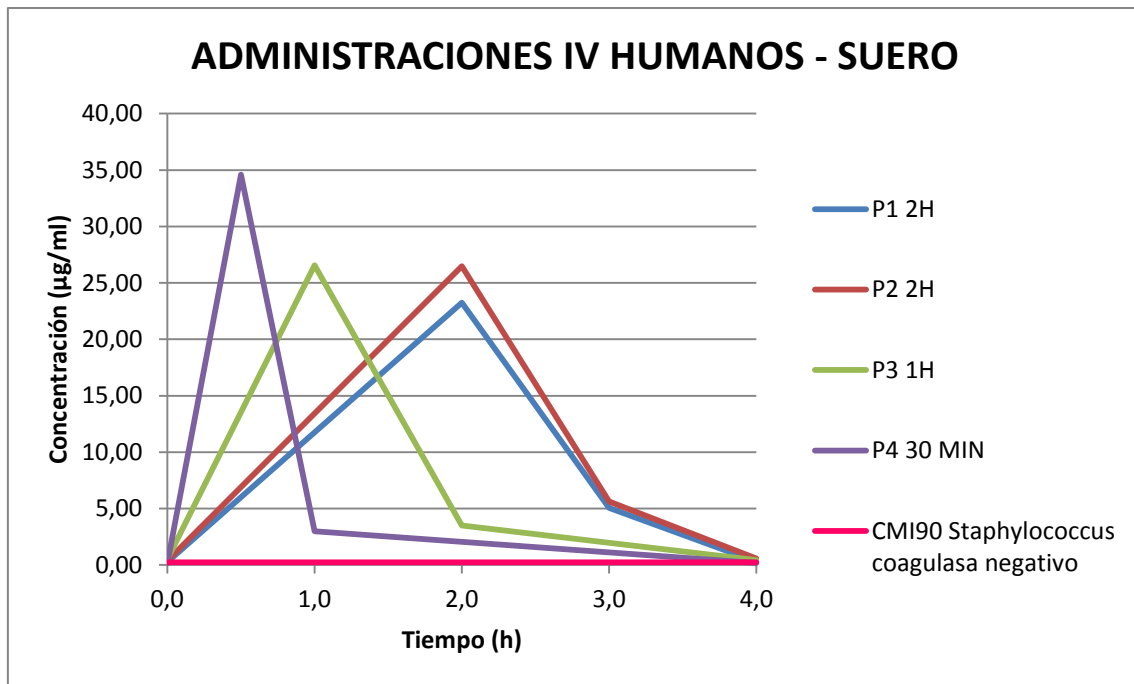


Fig. 7.12. Gráfico del estudio farmacocinético de diferentes perfusiones de meropenem en humanos. Concentración en suero de meropenem a lo largo del tiempo.
P1 2H: Paciente 1 Administración IV perfusión 2,0 horas
P2 2H: Paciente 2 Administración IV perfusión 2,0 horas
P3 1H: Paciente 3 Administración IV perfusión 1,0 hora
P4 30 MIN: Paciente 4 Administración IV perfusión 0,5 horas
CMI₉₀ Staphylococcus coagulasa negativo: representante del 67,0% de las infecciones nosocomiales.

7.5. CONCLUSIÓN

Con estos resultados demostramos que las administraciones prolongadas pueden ser más beneficiosas que las administraciones cortas, puesto que la concentración del antibiótico permanece durante más tiempo por niveles por encima de las mínimas concentraciones inhibitorias de la mayoría de microorganismos.

Las concentraciones en sangre son bactericidas y bacteriostáticas durante un tiempo prolongado para la mayoría de los microorganismos descritos en la bibliografía, según lo visto anteriormente en la tabla 2.3 del capítulo 2. Tiempos de perfusión intravenosa lentos (2,0 horas) permiten obtener niveles de meropenem en sangre por encima de la mayoría de las concentraciones mínimas inhibitorias durante más tiempo, si comparamos con tiempos de perfusión más rápidos (0,5 horas).

En publicaciones como la de *Firsov, A.A., et al, 1997*, donde comparan administraciones de meropenem en bolus y en infusiones prolongadas, demuestran que el análisis del AUC es una buena herramienta para comparar diferentes modos y regímenes de administración de antibióticos.

Otros estudios relacionados son los anteriormente mencionados: *Lee, L.S., et al, 2010; Thalhammer, F., et al, 1999; Langgartner, J., et al, 2008; Roberts, J.A., et al, 2009*). En ellos ya se comparan tratamientos de meropenem intravenosos a diferentes velocidades de administración, logrando resultados similares a los obtenidos en el presente trabajo.

Formas de liberación controlada como las microesferas de meropenem podrían mejorar estos resultados, como se ha visto en animales.

8. FABRICACIÓN INDUSTRIAL

8.1. INTRODUCCIÓN

En este capítulo se ha realizado un diseño de la fabricación industrial de un inyectable con microesferas de meropenem. Para ello se ha estudiado la presentación, la formulación y las fases del proceso productivo, quedando organizado en los siguientes apartados:

- Componentes y Presentación
- Formulación
- Generalidades de la fabricación de meropenem
- Proceso de fabricación: Materias primas
- Fabricación de jeringas precargadas
- Fabricación de viales liofilizados con microesferas de PLGA y meropenem
- Acondicionamiento final
- Planta industrial: planos, clasificación, presiones y flujos

Este desarrollo teórico se ha realizado con la experiencia adquirida en la industria farmacéutica.

8.2. COMPONENTES Y PRESENTACIÓN

El primer apartado de este capítulo se centra en describir una presentación comercial e industrial para las microesferas de meropenem de administración intramuscular.

Las microesferas no deben permanecer mucho tiempo en el medio suspensor, ya que no interesa que comience la hidrólisis de las mismas hasta que no se vaya a administrar al paciente. Por ello se ha decidido desarrollar una **formulación para reconstituir**.

Por un lado tendremos un vial liofilizado con microesferas de meropenem y PLGA liofilizadas y por otro lado una jeringa precargada con el agente suspensor.

A) COMPONENTES

Jeringas precargadas

Envases que contienen el disolvente de las micropartículas. Constan de las siguientes partes:

- Jeringa: se comercializan en envases tipo RTF (*'Ready To Fill'*) o NEST (*'Nido'*), que son bandejas de 100 unidades de jeringas lavadas o estériles. Son de vidrio tipo I o borosilicatado. Vienen siliconadas por dentro para permitir un adecuado desplazamiento del émbolo por su interior. Su capacidad es de 2,25 ml.
- Émbolos: se reciben en bolsas esterilizables. Son de bromobutilo. Vienen siliconados para que deslicen adecuadamente por la jeringa.
- Vástago: Material de plástico que empuja al émbolo a lo largo de la jeringa. Se incorporan tras la esterilización.
- Agujas: Hay agujas de reconstitución y agujas de inyección.



Fig. 8.1.: Imágenes de jeringas precargadas, con jeringa, émbolo, vástago y protección.

Viales

Pequeño frasco de vidrio utilizado para el envasado de preparados inyectables. En este caso se utilizarán para contener las micropartículas de meropenem liofilizadas. Se componen de:

- Vial: Compuesto de vidrio tipo I o borosilicatado. Se lavan y esterilizan/despirogenizan por calor seco en el túnel de lavado y esterilización/despirogenización.
- Tapón: Compuesto de bromobutilo que se sitúa en la boca del vial. Presentan dos posiciones, la de pre-cierre y la de cierre. La posición de pre-cierre permite que salga el agua que se sublima en la liofilización por unos orificios. Antes del pre-cierre se esterilizan en autoclave por calor húmedo.
- Cápsula: Material de aluminio que fija el tapón al vial y fija el cierre. En su parte superior contiene una tapa de plástico denominada Flip-off®. Antes de la capsulación se esterilizan en autoclave mediante calor húmedo.



Fig. 8.2.: Imágenes de viales donde se puede observar el vial, el tapón y las cápsulas.

Otros

- Blister de PVC: en este blister se introducen la jeringa precargada, el vial y las agujas.
- Etiquetas: En jeringa y vial.
- Prospecto.
- Estuche de cartón.

C) PRESENTACIÓN

Cada estuche de la presentación contiene:

- Un vial que contiene las microesferas de PLGA de liberación prolongada con meropenem en su interior.
- Una jeringa precargada que contiene 1,8 ml de disolvente.
- Dos agujas Hypoint® 20G TW de 2 pulgadas para la reconstitución
- Una aguja Needle-Pro® para inyección intramuscular (aguja de seguridad 20G TW de 2 pulgadas con dispositivo de protección para la administración en el glúteo).

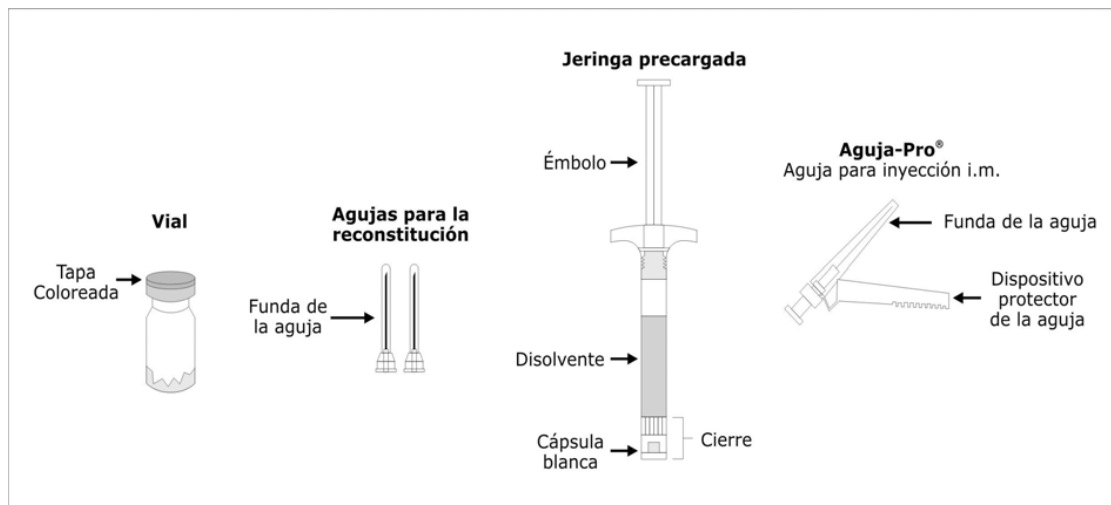


Fig. 8.3.: Componentes de la presentación de microesferas de meropenem. Incluye el vial liofilizado, las agujas y la jeringa precargada.

Los pasos a seguir para su uso son los siguientes:

1. Se debe sacar el envase del frigorífico y dejar que se adapte a la temperatura ambiente antes de reconstituir. Retirar la cápsula de plástico coloreada del vial.
2. Abrir la jeringa rompiendo el sello de la cápsula blanca y quitar esta última junto con el protector de caucho de su interior.
3. Abrir la funda de una de las agujas para la reconstitución y conectarla a la jeringa (conexión Luer).
4. Inyectar todo el contenido (disolvente) de la jeringa en el vial.
5. Retirar la jeringa vacía con la aguja para la reconstitución del vial. Desenroscar la aguja de la jeringa.
6. Abrir la funda de la segunda aguja para la reconstitución y conectarla a la jeringa (conexión Luer).

7. Agitar enérgicamente el vial durante 10 segundos como mínimo hasta obtener una suspensión homogénea. La mezcla está completa cuando la suspensión tiene un aspecto uniforme, espeso, y de color lechoso, y todo el polvo se ha dispersado por completo.
8. Insertar la aguja para la reconstitución en el vial colocado verticalmente. Aspirar lentamente la suspensión del vial en posición vertical, pero ligeramente inclinado.
9. Retirar la jeringa con la aguja para la reconstitución del vial. Desenroscar la aguja de la jeringa.
10. Conectar la conexión Luer de la aguja Needle-Pro a la jeringa. Resuspender la suspensión con agitación de la aguja.
11. Inyectar todo el contenido de la jeringa intramuscularmente en la nalga del paciente. No administrar por vía I.V.

8.3. FORMULACIÓN

Para elaborar la formulación industrial se ha realizado un escalado a partir de la fórmula galénica desarrollada previamente en el capítulo 5.

La fórmula galénica desarrollada Formulación 6 (Tabla 5.34.) presenta la siguiente composición:

Componente	Cantidad (g)	Función
Microesferas de PLGA Resomer® RG 504 y meropenem	200,00	API
CMCNa	10,00	Viscosizante
Polisorbato 20	5,00	Tensioactivo
NaCl	4,50	Isotonizante
Ácido cítrico anhidro	1,20	Regulador pH
Na ₂ HPO ₄	0,50	Regulador pH
NaOH	0,72	Regulador pH
Agua desionizada	csp 0,75 litros	Disolvente/dispersante

Tabla. 8.1.: Fórmula galénica de microesferas de meropenem y PLGA desarrollada en el capítulo 5.

En esta fórmula la concentración de microesferas es de 266,67 mg/ml, con una proporción de meropenem frente a PLGA de 31,6%. La concentración de meropenem es de 84,19 mg/ml.

Jeringas de 1,8 ml contienen 150 mg de meropenem aproximadamente.

El tamaño de lote diseñado es de 39.473 jeringas, que viene dado por la capacidad de un reactor de 75 litros útiles de capacidad, en el que se formula la suspensión sin las microesferas de meropenem.

$$75.000 \text{ ml} / 1,9^* \text{ ml jeringa} = 39.473 \text{ jeringas}$$

* Se dosifican 1,9 ml debido que las jeringas se sobredosifican

A raíz de estos datos se ha diseñado la siguiente formulación:

MEROPENEM 150 MG-39.473 jeringas

COMPONENTE	FUNCIÓN	CANTIDAD/ UNIDAD (mg)	CANTIDAD/LOTE (g)	PORCENTAJE (%)
VIAL				
MEROPENEM	Principio activo	480,00	5.000*	31,0-32,0
PLGA	Polímero	(microesferas)	15.000*	68,0-69,0
JERINGA				
CMCNa	Viscosizante	24,00	1.000	1,3
POLISORBATO 20	Humectante	12,00	500	0,7
NaCl	Regulador osmolaridad	10,80	450	0,6
ÁCIDO CÍTRICO ANHIDRO	Regulador pH	2,88	120	0,2
HPO₄Na₂ 2H₂O	Regulador pH	1,20	50	0,1
NaOH	Regulador pH	1,73	72	0,1
AGUA PARA INYECCIÓN	Disolvente	csp 1,8 ml	csp 75 l	csp 100,0%

*Rendimiento proceso de atomización del 85,0%, por lo que se utilizan 17.647 g de PLGA y 5.882 g de meropenem. Se deben obtener 20 kg de microesferas.

Tabla. 8.2.: Fórmula industrial de microesferas de meropenem y PLGA para un lote de 75 litros.

Las microesferas deben tener una proporción de meropenem del entre el 31,0% y el 32,0% (148,8-153,6 mg)

Las microesferas deben tener una proporción de meropenem encapsulado entre el 23,0% y el 24,0%.

8.4. GENERALIDADES DE LA FABRICACIÓN DE MEROPENEM

El meropenem es un antibiótico betalactámico. Las Normas de Correcta Fabricación o GMPs exigen que la fabricación y análisis de estos productos se realice en instalaciones dedicadas. Los betalactámicos (penicilánicos, cefalosporánicos, carbapenemos...) deben fabricarse en edificios independientes, incluso independientes entre diferentes familias de betalactámicos. Son productos relacionados con hipersensibilidad y con alergias, y por ello se exige que estén más controlados y se fabriquen de forma aislada, con el fin de evitar contaminaciones cruzadas. La climatización, desagües y todas las instalaciones en general de los edificios donde se fabrican betalactámicos deben estar estrictamente diseñadas para evitar emisiones o vertidos de estos productos al ambiente, no solo por evitar problemas de alergias e hipersensibilidad, sino también se pretende evitar la aparición de resistencias a estos productos.

Además, al tratarse de antibióticos, no deben analizarse junto con el resto de productos, pues pueden inhibir el crecimiento microbiano de los ensayos microbiológicos de los demás productos.

Cada vez hay menos empresas que fabriquen este tipo de productos, pues resulta un gasto muy elevado tener instalaciones dedicadas a betalactámicos.

Las microesferas de PLGA y meropenem se han desarrollado para su administración intramuscular, por lo que hay que tener un control microbiológico y ambiental muy estricto, con el fin de evitar que el producto se contamine.

Para la fabricación de meropenem se requiere tener un sistema de calidad robusto que permita obtener un medicamento seguro y eficaz. El personal debe estar altamente cualificado y entrenado en todos los procesos para poder obtener un producto con garantías.

Se requiere una tecnología muy avanzada para la fabricación de meropenem, se necesitan instalaciones y equipos lo suficientemente robustos para permitir fabricar productos con esta calidad, como pueden ser los liofilizadores o las líneas de dosificación.

El proceso de fabricación debe estar validado, se deben tener muy controlados todos los parámetros de proceso. Además se exige una limpieza muy exhaustiva que evite la contaminación del producto, así como contaminaciones cruzadas con otros productos.

Además se requiere de instrumentación analítica altamente cualificada, que permita realizar todos los controles de calidad según las validaciones analíticas desarrolladas.

Para su fabricación se requieren las siguientes etapas:

- Proceso de fabricación: Materias primas.
 - Recepción, muestreo y almacén.
 - Control de calidad.

- Fabricación de jeringas precargadas (suspensión).
 - Preparación del agente suspensor.
 - Filtración.
 - Llenado en jeringas precargadas.
 - Esterilización por vapor húmedo.
 - Revisión 100%.
 - Almacén de intermedios.
 - Acondicionamiento (vástago y etiqueta).

- Fabricación de viales liofilizados con microesferas de PLGA y meropenem.
 - Preparación de la suspensión.
 - Atomización.
 - Preparación de la suspensión de microesferas.
 - Llenado en viales.
 - Liofilización.
 - Capsulado.
 - Revisión 100%.
 - Esterilización por radiación gamma.
 - Almacén de intermedios.
 - Etiquetado.

- Acondicionamiento final.
 - Envasado secundario en estuches.
 - Almacén.
 - Control de calidad.

8.5. PROCESO DE FABRICACIÓN: MATERIAS PRIMAS

PRIMAS

1. RECEPCIÓN, MUESTREO Y ALMACÉN DE MATERIAS PRIMAS

- **Departamento:** Almacén
- **Sala:** Almacén: Sin clasificar, el almacén no precisa un control ambiental tan estricto como el de las salas clasificadas. No obstante se debe controlar la temperatura y humedad.
Zona de muestreo: Grado D con una cabina de muestreo con flujo laminar vertical (grado C).
- **Materiales:** Materias primas y material de acondicionamiento.
- **Maquinaria/equipos:** Almacén robotizado, Infrarrojo cercano (NIR), cabina de muestreo.
- **Procedimiento:** Las materias primas llegan al muelle de entradas. Se reciben materiales que serán utilizados en la producción (material productivo) y material de acondicionamiento. Se revisa la presencia de todo el pedido, sin signos aparentes de defectos.

Las materias primas se introducen en la sala de muestreo, donde se toman muestras bajo flujo laminar y se realiza una identificación NIR (Infrarrojo Cercano) de todos los contenedores.

Los materiales se almacenan caóticamente, gracias a un sistema informático validado. Hasta que se realiza un control de calidad, estas materias primas quedan en estado de cuarentena.

- **Controles:** Se realiza un control de calidad de todos los materiales, según lo descrito en el siguiente punto.



Fig. 8.4.: Almacén robotizado.

2. CONTROL DE CALIDAD DE LAS MATERIAS PRIMAS Y MATERIALES DE ACONDICIONAMIENTO

- **Departamento:** Departamento de Control de Calidad.
- **Sala:** El Departamento de Control de Calidad se divide en tres áreas: Química, Microbiología y Acondicionamiento. Las áreas de control Química y Acondicionamiento son zonas no clasificadas; mientras que el área microbiológica debe tener una climatización independiente y tener zonas bajo flujo laminar grado A para el control de esterilidad. Es importante tener unos sistemas de extracción de gases adecuados y mucha recirculación del aire.
- **Materiales:** Materias prima y material de acondicionamiento, reactivos, material de laboratorio (probetas, tubos de vidrio, pipetas...), medios de cultivo...
- **Maquinaria/equipos:** HPLC, espectrofotómetros, balanzas...
- **Procedimiento:** Las materias primas son sometidas a diferentes controles de calidad. El material de acondicionamiento también debe controlarse. Entre los controles de calidad se incluyen la identificación y valoración de meropenem por del HPLC. Una vez que se hayan obtenido los resultados se podrán liberar las materias primas, siempre que se cumplan las especificaciones.



Fig. 8.5.: Laboratorio de control de calidad.

3. PESADA DE MATERIAS PRIMAS

- **Departamento:** Departamento de Pesadas.
- **Sala:** Grado D con cabina de pesadas con flujo laminar vertical (grado C). Los retornos del flujo laminar deben estar equipados con filtros y la cabina en depresión respecto al exterior.
- **Materiales:** Materias primas productivas.
- **Maquinaria/equipos:** Cabina de Pesadas Telstar® DFB de flujo laminar vertical.
- **Procedimiento:** El flujo de fabricación comienza cuando se emite la Orden de Fabricación. El almacén suministra los materiales al Departamento de Pesadas.

Los materiales se pesan bajo flujo laminar, donde quedan protegidos de contaminaciones. Para evitar errores, la balanza debe llevar un sistema informático que registre el peso, y solo permita liberar cuando el peso sea el correcto. Las materias primas pesadas se introducen en un recipiente adecuado, con etiqueta identificativa. En este caso se va a simular una fabricación de un lote de 39.473 jeringas precargadas de microesferas de meropenem.

- **Controles:** pesada, repesada.



Fig. 8.6.: Cabina de pesadas de flujo laminar vertical.

8.6. FABRICACIÓN DE JERINGAS PRECARGADAS

4. PREPARACIÓN DEL AGENTE SUSPENSOR

- **Departamento:** Departamento de Producción.
- **Sala:** Zona clasificada grado C (hay esterilización terminal), con el reactor esterilizado mediante sistema SIP.
- **Materiales:** Materias primas (agua para inyección, NaCl, NaOH, hidrogenofosfato disódico, ácido cítrico anhidro, polisorbato 20 y carboximetilcelulosa sódica).
- **Maquinaria:** Reactor 100 l Montcasyer® de acero inoxidable 316L. Fijado al suelo con células de carga. Tomas en la parte superior: manómetro, válvula de seguridad, nitrógeno, vacío, nivel radar, bola de limpieza, agua para inyección, pH, boca de hombre con luz. Tomas en la parte inferior: sonda de temperatura, agitador magnético, válvula neumática (salida producto). Doble camisa de enfriamiento/calentamiento.
- **Procedimiento:** Los materiales se transportan desde el Departamento de Pesadas hasta Fabricación, pasan a través de un SAS y entran en la sala de preparación de la disolución. En primer lugar se incorporan 60 l de agua para inyección. A continuación se disuelven 0,45 kg de NaCl; 0,072 kg de NaOH; 0,05 kg de hidrogenofosfato disódico dihidrato y 0,12 kg de ácido cítrico anhidro; empleando agitación. Por último se añaden 0,5 kg de polisorbato 20 y 1 kg de carboximetilcelulosa sódica. Se disuelven los solutos y finalmente se enrasa con agua para inyección hasta 75 l.
La disolución pasa del reactor a la llenadora de jeringas a través de una tubería en donde se incorporan los filtros.
- **Controles:** Aspecto, pH, osmolaridad y Bioburden.



Fig. 8.7.: Reactor de preparación de fórmulas.

5. FILTRACION

- **Departamento:** Departamento de Producción.
- **Sala:** Grado C. El primer filtro clarificante (0,45 μm) está ubicado en la sala del reactor, mientras que el segundo filtro (doble filtro) (0,22 μm) está ubicado justo antes de la máquina de llenado de jeringas precargadas (en la misma sala).
- **Materiales:** Disolución preparada (agente suspensor de las microesferas).
- **Maquinaria/equipos:** Filtro de 0,45 μm y 2 filtros de 0,22 μm Millipore® Opticap XL; conductos de acero inoxidable 316L.
- **Procedimiento:** El agente suspensor es filtrado por un filtro de 0,45 μm nada más salir del reactor. Es transferido a través de un conducto que atraviesa la pared para llegar a una sala contigua, en la que hay dos filtros de 0,22 μm y un equipo de llenado de jeringas precargadas. Esta filtración se realiza para reducir la carga microbiana antes de utilizar el autoclave. Tras el doble filtro esterilizante, el disolvente llega a un tanque intermedio de 2 litros, de donde recoge el líquido el equipo de llenado de jeringas.
- **Controles:** integridad de los filtros.



Fig. 8.8.: Filtros esterilizantes de producto.

6. LLENADO DEL AGENTE SUSPENSOR EN JERINGAS PRECARGADAS

- **Departamento:** Departamento de Producción.
- **Sala:** Entorno grado C. El punto de llenado debe estar bajo flujo laminar grado A.
- **Materiales:** Disolución preparada, jeringas y émbolos.

Las jeringas vienen en envases *NEST*, que son bandejas de 100 unidades de jeringas lavadas y estériles (radiación gamma). Vienen siliconadas por dentro para permitir un adecuado desplazamiento del émbolo por su interior. Las jeringas son de 2,25 ml. Son suministradas por el Almacén y llegan a Fabricación, donde atraviesan un SAS de materiales que se comunica con la sala de llenado de jeringas.

Los émbolos se reciben en bolsas esterilizables. Son suministrados por el Almacén y llegan a producción a través de un SAS de materiales. A continuación se transportan al autoclave de calor húmedo, donde se esterilizan a 121,0°C durante un tiempo establecido y validado. La salida del autoclave comunica con la sala de llenado de jeringas. Vienen siliconados para que deslicen adecuadamente por la jeringa. El sistema de recogida y posicionamiento de émbolos también debe ser estéril.



Fig. 8.9.: Materiales del proceso de llenado (*NEST* con jeringas y bolsas esterilizables con émbolos).

- **Maquinaria/equipos:** Autoclave (Fedegari® FOAF2), equipo de llenado de jeringas (Filling and Sealing Machine Type MLD Bosch®). La llenadora consta de un sistema de transporte lineal continuo y sincronizado desde la carga hasta la descarga, realiza el llenado mediante bombas de tipo pistón, viene con flujo laminar integrado, CIP/SIP, control de peso estadístico. La llenadora tiene una velocidad de 400 jeringas/minuto.

- **Procedimiento:** Tras el filtro hay un tanque intermedio de 2 litros esterilizable, de donde parte un colector y unos conductos de silicona hacia las agujas de dosificación. Desde el filtro hasta las agujas, el circuito debe ser estéril (esterilizado previamente mediante SIP). El equipo dosificador abre automáticamente los *NEST* y extrae las jeringas. A continuación las hace pasar por las agujas dosificadoras, llenándolas de la disolución previamente preparada (agente suspensor de las microesferas). Después se incorpora el émbolo y finalmente coloca las jeringas llenas en los *NEST*.
Estas jeringas se llevan al autoclave que comunica con la sala de llenado.
- **Controles:** Aspecto, volumen medio, uniformidad de volumen, dosificación y valoración de NaCl.

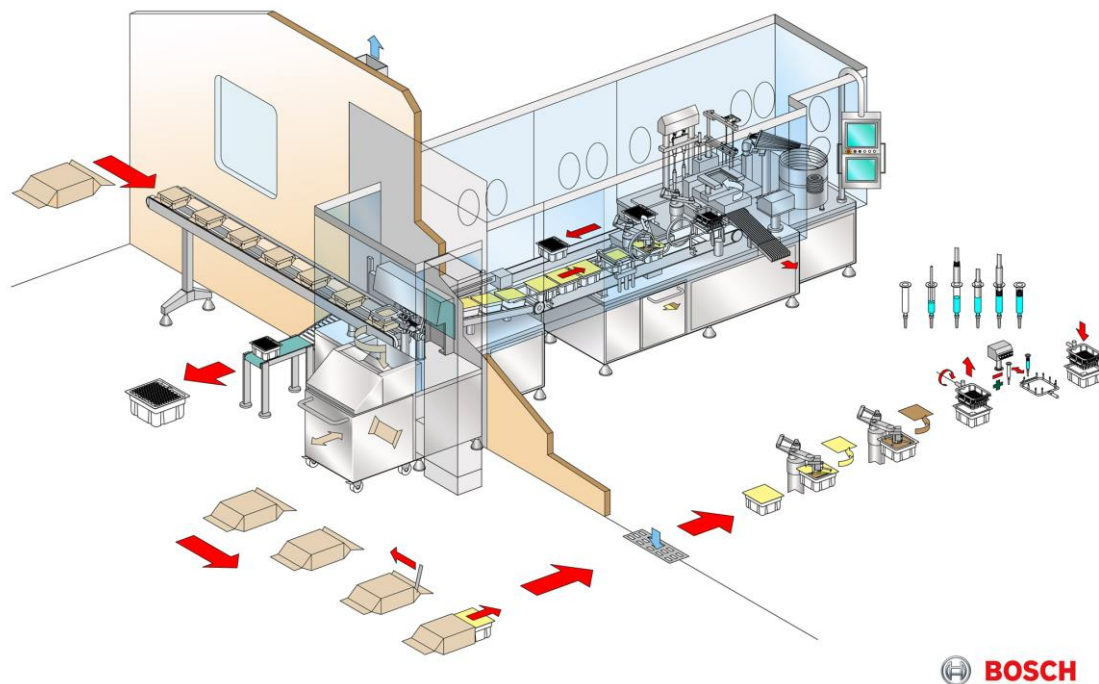


Fig. 8.10.: Línea de llenado de jeringas precargadas.

7. ESTERILIZACIÓN DE LAS JERINGAS

- **Departamento:** Departamento de Producción.
- **Sala:** La sala donde se localiza el autoclave es anexa a la sala de llenado de jeringas. La descarga de las jeringas desde el autoclave se hace por una compuerta contigua a la sala de revisión de jeringas, que no está clasificada.
- **Materiales:** Jeringas precargadas.
- **Maquinaria/equipos:** Autoclave Fedegari® FOAF6. Esterilización a contrapresión. Esta técnica neutraliza el efecto de la sobrepresión que se forma en el interior de los contenedores cuando se esterilizan (la sobrepresión hace que se eleven los tapones/émbolos de los contenedores). En primer lugar se introduce el vapor de agua desde la parte inferior de la cámara. En la parte superior hay unos ventiladores y en las paredes unos deflectores, que permiten homogeneizar la circulación del vapor de agua (a igual temperatura y presión, el aire es 1,5 veces más denso que el vapor de agua). Una vez que se ha producido la esterilización comienza la fase de enfriamiento, de tal manera que se va sustituyendo la mezcla de vapor de agua-aire por aire comprimido a una presión controlada. La cámara presenta sección cilíndrica, de acero inoxidable 316Ti, de una sola pared y con una carcasa de aluminio.
- **Procedimiento:** Los *NEST* con las jeringas se llevan al autoclave. La esterilización se realiza a 121,0°C, con el vacío controlado a contrapresión de aire estéril, sino el émbolo de la jeringa que contiene el disolvente se desprendería (al mismo tiempo que se aplica vacío se debe ir incorporando más aire). A continuación, las jeringas estériles se descargan por la sala contigua, que da acceso a la sala de revisión.
- **Controles:** Aspecto, esterilidad, apirogenicidad.



Fig. 8.11.: Autoclave de esterilización por vapor húmedo.

8. REVISIÓN DEL 100%

- **Departamento:** Departamento de Producción.
- **Sala:** Sin clasificar. Es contigua a la sala del autoclave.
- **Materiales:** Jeringas precargadas.
- **Maquinaria/equipos:** Revisadora Electrónica Brevetti® K15-600, equipo automático continuo para la inspección de jeringas precargadas. Detección de partículas, nivel, defectos cosméticos, fisuras... Presenta una velocidad de 400 jeringas/minuto.
- **Procedimiento:** Las jeringas son recogidas del autoclave y revisadas al 100%. Una vez revisadas se ponen en bandejas y se paletizan.
- **Controles:** Revisión automática del 100,0% de las jeringas, que controla partículas, fisuras, volumen y estética.

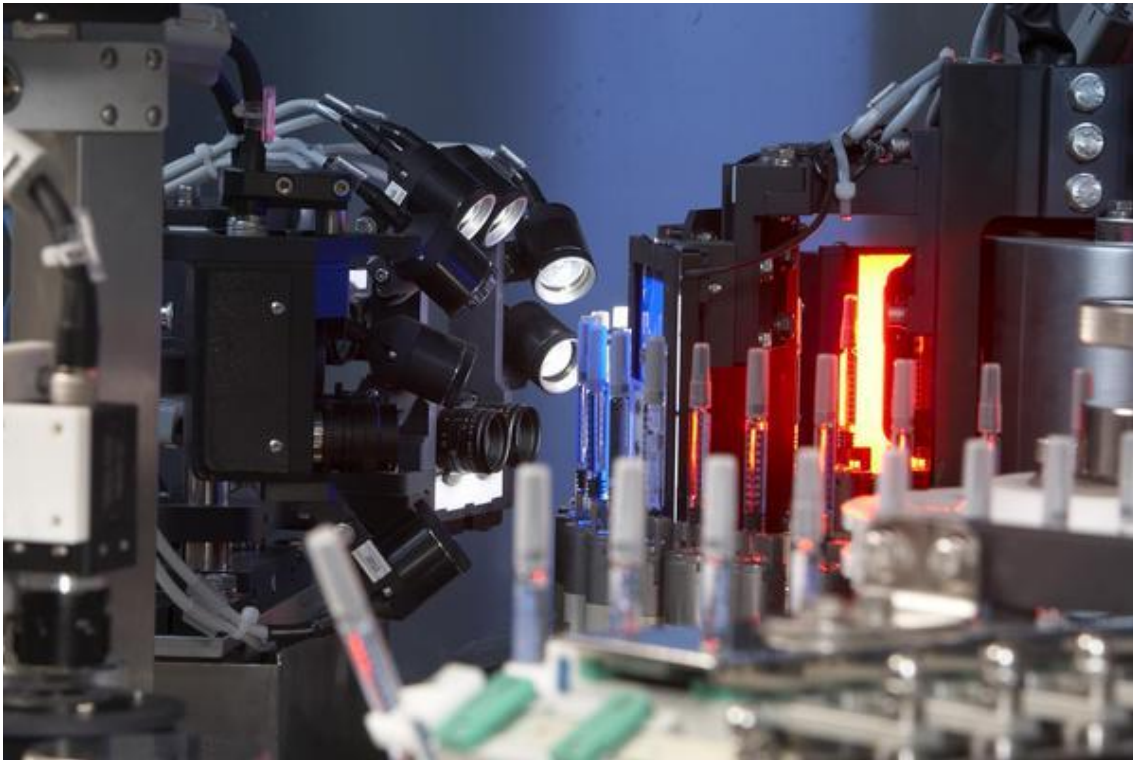


Fig. 8.12.: Revisadora automática de jeringas precargadas.

9. ALMACÉN DE INTERMEDIOS

- **Departamento:** Almacén.
- **Sala:** No clasificada. El almacén requiere control y registro de la temperatura y humedad.
- **Materiales:** Jeringas precargadas.
- **Maquinaria/equipos:** Almacén robotizado.
- **Procedimiento:** Los pallets con bandejas de jeringas se transportan desde Fabricación hasta el Almacén. Se almacenan hasta la orden de acondicionamiento.
- **Controles:** -

10. ACONDICIONAMIENTO: VÁSTAGO Y ETIQUETA

- **Departamento:** Acondicionamiento.
- **Sala:** No clasificada.
- **Materiales:** Jeringas precargadas, vástagos y etiquetas.
- **Maquinaria/equipos:** Rod Insertion and Labelling of pre-filled syringes RIL 100 Bosch®. Equipo que posiciona el vástago y la etiqueta en las jeringas precargadas. Las jeringas se recogen y se guían a través de unas vías que permiten incorporar los vástagos cuando llegan a la posición de inserción. A continuación se transportan a la posición de etiquetado, donde la etiqueta se imprime in situ y se pega al cuerpo de la jeringa. La presencia de etiqueta es detectada por un sensor. Velocidad de 100 jeringas/minuto.
- **Procedimiento:** Los pallets con bandejas con jeringas se transportan desde el Almacén hasta Acondicionamiento. El equipo de acondicionamiento se encarga de acoplar el vástago e incorporar la etiqueta. El equipo está en línea con la estuchadora, dando lugar al producto terminado.
- **Controles:** Aspecto, fuerza de deslizamiento y control de la etiqueta.

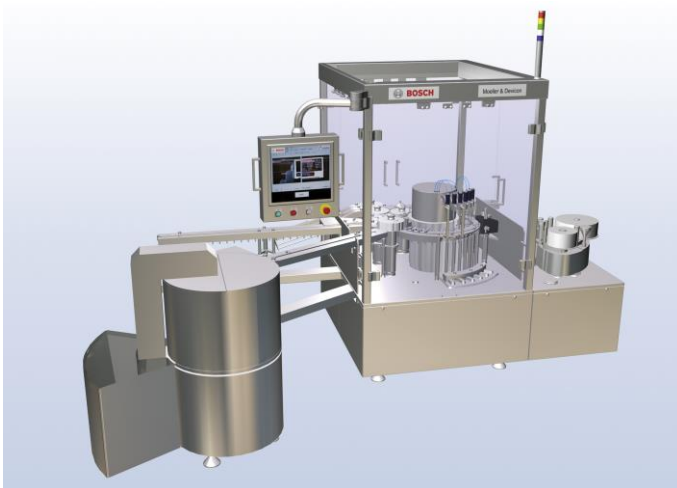


Fig. 8.13.: Posicionadora de vástago y etiqueta sobre jeringas precargadas.

8.7. FABRICACIÓN DE VIALES LIOFILIZADOS CON MICROESFERAS DE PLGA Y MEROPENEM

11. PREPARACIÓN DE LA SUSPENSIÓN

- **Departamento:** Departamento de Producción.
- **Sala:** Zona clasificada grado C.
- **Materiales:** PLGA Resomer® RG504, meropenem, diclorometano.
- **Maquinaria/equipos:** Reactor 1000 l Montcasyer® de acero inoxidable 316L. El reactor debe ser ATEX ya que se trabaja con disolventes orgánicos. Fijado al suelo con células de carga. Tomas en la parte superior: manómetro, válvula de seguridad, nitrógeno, vacío, nivel radar, bola de limpieza, agua para inyección, PH, boca de hombre con luz. Tomas en la parte inferior: sonda de temperatura, agitador magnético, válvula neumática (salida producto). Doble camisa de enfriamiento/calentamiento.

- **Procedimiento:** Los materiales se transportan desde el Departamento de Pesadas hasta Fabricación, pasan a través de un SAS de materiales y entran en la sala de preparación de la suspensión.

Para el lote se necesitan preparar 20 kg de microesferas. Se necesitan 15 kg de PLGA Resomer® RG 504 y 5 kg de meropenem. Puesto que el proceso tiene un rendimiento aproximadamente del 85,0%, se utilizan 17,647 kg de PLGA Resomer® RG 504 y 5,882 kg de meropenem. Estas cantidades deben disolverse en 590 litros de diclorometano. La formulación debe agitarse hasta obtener una disolución del PLGA y una dispersión del meropenem.

La salida del reactor se comunica con un conducto de acero inoxidable 316L que conduce la suspensión hasta la sala contigua, donde se atomiza.

- **Controles:** Aspecto, pH, osmolaridad y Bioburden.

12. ATOMIZACIÓN

- **Departamento:** Departamento de Producción.
- **Sala:** Grado C, contigua a la sala de preparación de la suspensión.
- **Materiales:** Suspensión de PLGA y meropenem.
- **Maquinaria/equipos:** GEA Niro® Pharma Spray Dryer, con boquilla de 0,7 mm. El líquido se conduce gracias a la acción de una bomba peristáltica hasta una boquilla, que es un dispositivo que presenta un orificio por el que pasa el líquido. En este orificio coincide una salida de aire comprimido, que permite la pulverización del líquido. El líquido entra en una cámara donde la temperatura supera a su punto de evaporación, de forma que microprecipitan los solutos/partículas contenidos. Las partículas son conducidas hasta un ciclón separador gracias a la acción de un aspirador, en donde se separan del aire y los vapores. Finalmente las partículas caen a un recipiente. Sistema CIP/SIP. Filtro HEPA a la entrada de aire. Sistema de protección frente a explosiones (ATEX).
- **Procedimiento:** La suspensión es conducida mediante una bomba peristáltica a través unos conductos siliconados hasta la pistola. En la pistola se forman microgotas, que entran en la cámara de evaporación, donde se forman las micropartículas y el disolvente se evapora (enfriamiento adiabático). Las microesferas son aspiradas hacia un ciclón separador, donde se separan del aire y gases. Finalmente las microesferas caen en un recipiente. Este recipiente debe airearse 24,0 horas con aire filtrado, bajo flujo laminar. Las microesferas se recolectan por aspiración y se transportan por un conducto siliconado hasta la sala de preparación de la suspensión.

Las microesferas deben tener una proporción de meropenem del 31,0 al 32,0%.

Las microesferas deben tener una proporción de meropenem encapsulado del 23,0 al 24,0%.

El proceso debe tener un rendimiento aproximado del 85%.

- **Controles:** Aspecto, tamaño y distribución de tamaños, porcentaje encapsulado, disolventes residuales, carga y rendimiento.



Fig. 8.14.: Imagen de una boquilla atomizando producto.

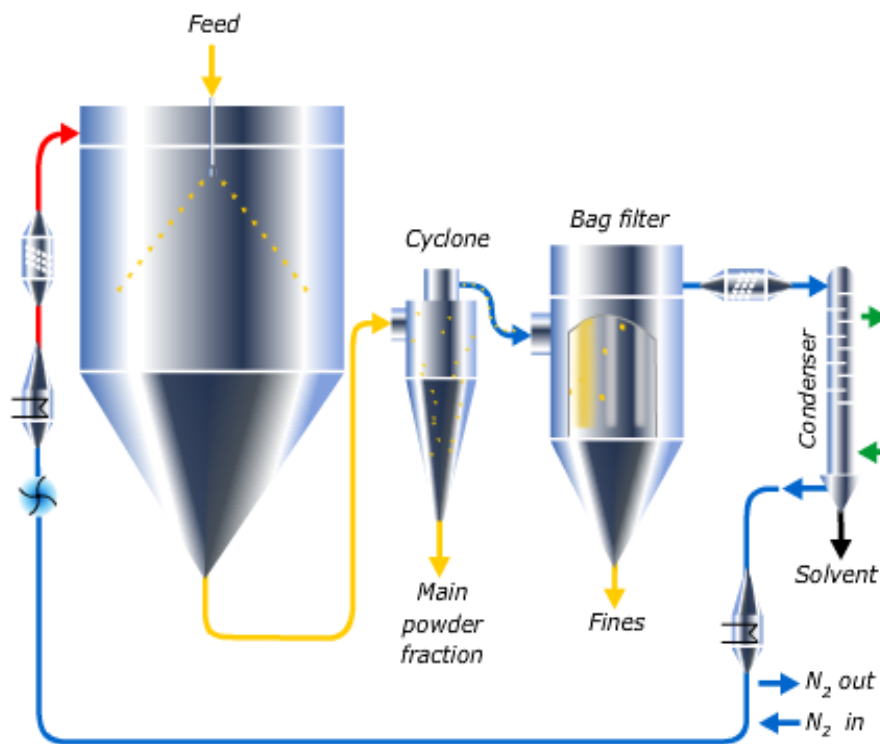


Fig. 8.15.: Esquema de un atomizador de circuito cerrado.

13. PREPARACIÓN DE LA SUSPENSIÓN DE MICROESFERAS

- **Departamento:** Departamento de Producción.
- **Sala:** Grado C, contigua a la sala de atomización.
- **Materiales:** Microesferas, vehículo acuoso constituido por 0,75% de CMCNa y 0,1% de Polisorbato 20 (100 litros)
- **Maquinaria/equipos:** Reactor 150 l Montcasyer® de acero inoxidable 316L.
- **Procedimiento:** Puesto que es muy difícil llenar viales con 480 mg de microesferas en polvo gravimétricamente, hay que suspenderlas para llenar volumétricamente. Después, mediante la liofilización, puede eliminarse el agua.

Se prepara el medio suspensor. A 90 litros de agua para inyección se le adicionan 0,75 kg de CMCNa y 0,1 kg de Polisorbato 20. Se debe agitar hasta la completa dispersión. A continuación se incorporan los 20 kg de microesferas. Agitación hasta dispersión. Finalmente se enrasa hasta 100 litros con agua para inyección.

La suspensión resultante tiene 200 mg microesferas/ml.

La suspensión se conduce a través de un conducto de acero inoxidable 316L hasta la sala de llenado de viales.

- **Controles:** Aspecto, viscosidad, densidad, tamaño y distribución de partícula, sedimentación, potencial Z y resuspensión.

14. LLENADO DE LAS MICROESFERAS EN VIALES

- **Departamento:** Producción.
- **Sala:** Entorno grado C y equipo dosificador bajo flujo laminar (grado A).
- **Materiales:** Suspensión de micropartículas, viales 5 ml y tapones de liofilizado.
- **Maquinaria/equipos:** Lavadora Bosch® RRU, túnel de esterilización de viales Bosch® HQL, autoclave Fedegari® FOAF2, dosificadora-pretaponadora de viales Bosch® FLC. La lavadora limpia los viales con agua recirculada purificada, agua para inyección y seca con aire estéril. El túnel esteriliza y despirogeniza los viales. También presenta un flujo laminar para distribuir homogéneamente el aire y una zona de enfriamiento para bajar la temperatura de los viales a la salida a la llenadora. La llenadora presenta pistones volumétricos para la dosificación, flujo laminar integrado, CIP/SIP, control estadístico del peso. La línea de llenado tiene una velocidad de 400 viales/minuto.

Sistema de transporte automático de viales: transporta viales al liofilizador, presenta flujo laminar integrado (grado A).

- **Procedimiento:** Los viales llegan a Fabricación y pasan un SAS de materiales. A continuación entran en la sala donde son lavados, esterilizados y despirogenizados con agua para inyección y esterilización por calor seco a unos 300,0°C (según validación) en un túnel de lavado y esterilización.

Los tapones también pasan a través del SAS de materiales y se llevan a una sala donde se esterilizan con calor húmedo en autoclave a 121,0°C durante el tiempo establecido en la validación.

A continuación la máquina dosificadora-pretaponadora de viales Bosch® FLC dosifica los viales. Debe dosificar 2,4 ml para poder incorporar 480 mg de microesferas.

Después coloca los tapones en posición de pre-cierre, de tal forma que permita la salida de agua durante la liofilización.

Los viales llenos y pretaponados se transportan automáticamente al liofilizador.

Durante la dosificación conviene mantener el reactor en agitación para evitar la sedimentación.

- **Controles:** Aspecto, volumen medio, uniformidad de volumen, uniformidad de contenido.

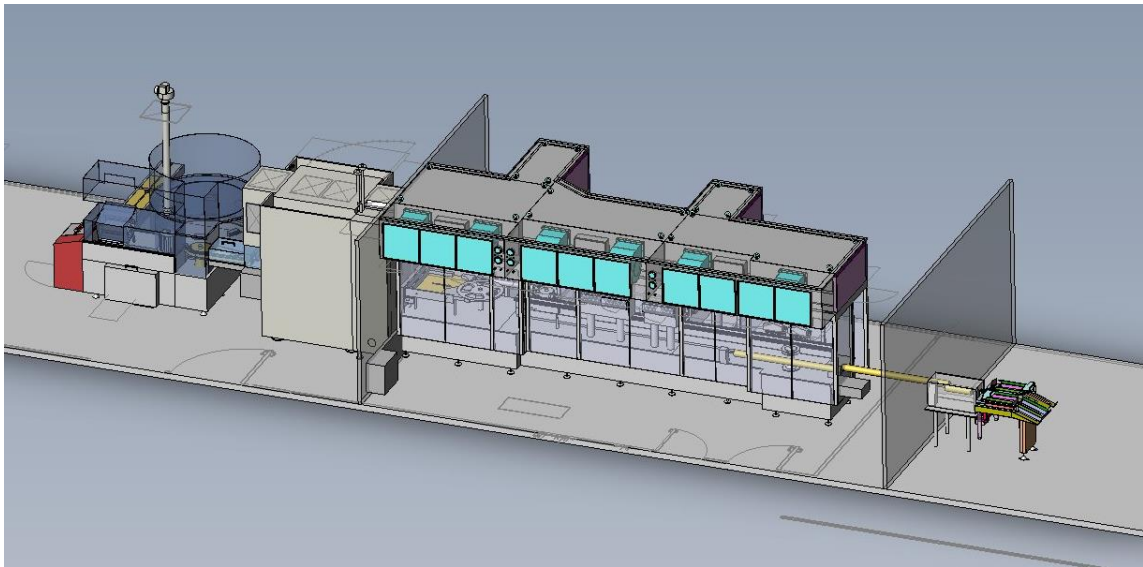


Fig. 8.16.: Plano 3D de una línea de viales con lavadora, túnel y llenadora.

15. LIOFILIZACIÓN

- **Departamento:** Departamento de Producción.
- **Sala:** Sala grado C, el interior del liofilizador cumple grado A tras realizar un CIP/SIP, los sistemas de transporte para carga y descarga cumplen grado A (con flujo laminar integrado).
- **Materiales:** Viales pretaponados.
- **Maquinaria/equipos:** Liofilizador Edwards® Lyofast 15. Equipo diseñado para liofilizar, es decir, eliminar el agua de un producto mediante un ciclo de congelación-sublimación. Partes: Cámara de congelación-sublimación, condensador, bombas de vacío. Compresores de tornillo, bombas de vacío secas. Sistema de cierre de tapones. Sistemas de limpieza y esterilización CIP/SIP. Capacidad de 54.900 viales de 5 ml.
- **Procedimiento:** Es muy difícil dosificar 480 mg de polvo con precisión, por lo que primero se forma una suspensión y se dosifica volumétricamente en viales. La suspensión se liofiliza, de tal forma que obtenemos el peso adecuado de microesferas secas en los viales. Los viales llegan a través de la cinta de transporte automática al liofilizador, durante toda la fase de carga. A continuación se aplica un ciclo de congelación (-40,0°C), secado primario (aplicando vacío y subiendo la temperatura) y finalmente secado secundario (aplicando más vacío y subiendo la temperatura), hasta que la humedad quede por debajo del 1,0%. Se rompe vacío con aire seco o nitrógeno y el liofilizador tapona los viales. Por último, en el proceso de descarga, los viales son transportados desde el liofilizador hasta la capsuladora mediante un sistema de transporte automático.
- **Controles:** Humedad, aspecto, tamaño y distribución de tamaños, carga, uniformidad de peso, uniformidad de contenido, valoración, impurezas...

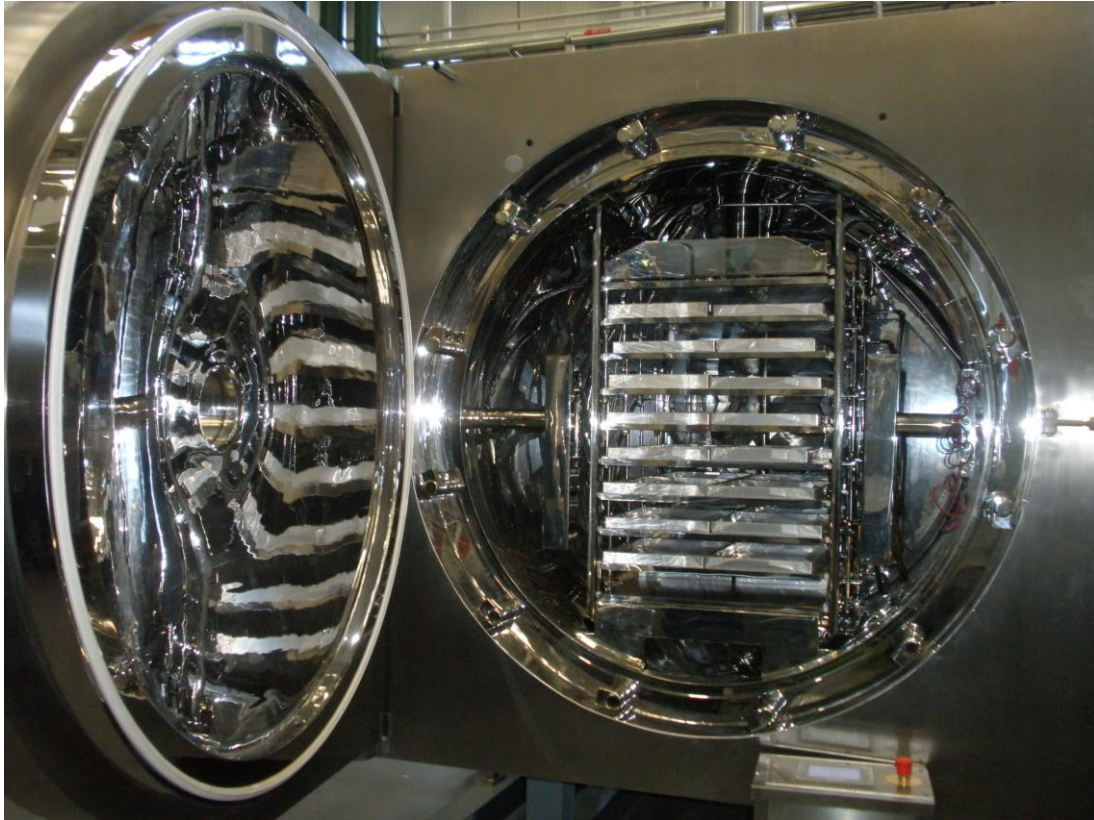


Fig. 8.17.: Cámara abierta de un liofilizador, donde se pueden observar las bandejas con los viales.



Fig. 8.18.: Viales pretaponados con contenido líquido antes de liofilizar, viales pretaponados liofilizados antes de taponar y viales taponados liofilizados.

16. CAPSULADO

- **Departamento:** Departamento de Producción.
- **Sala:** Grado C, contigua a la sala del liofilizador. La zona de capsulado está bajo flujo laminar (grado A). La salida de la capsuladora está fuera de la zona limpia, en zona no clasificada.
- **Materiales:** Viales taponados, cápsulas de aluminio con Flip off.
- **Maquinaria/equipos:** Capsuladora Bosch® VRK. Equipo que posiciona cápsulas de Aluminio con Flip-Off, que aseguran la unión hermética entre el tapón y el vial. Los viales llegan a través de una cinta transportadora desde la sala del liofilizador y las cápsulas se alimentan por un bombo vibratorio. Cuando los viales pasan debajo de una rampa se les posiciona a cada uno las cápsulas; posteriormente pasan a la estación de capsulado, donde se produce el sellado definitivo.
- **Procedimiento:** Los viales se introducen en el equipo, que los capsula. Los viales capsulados se descargan y se transportan hasta la sala de revisión.
- **Controles:** Aspecto, estanqueidad del vial.

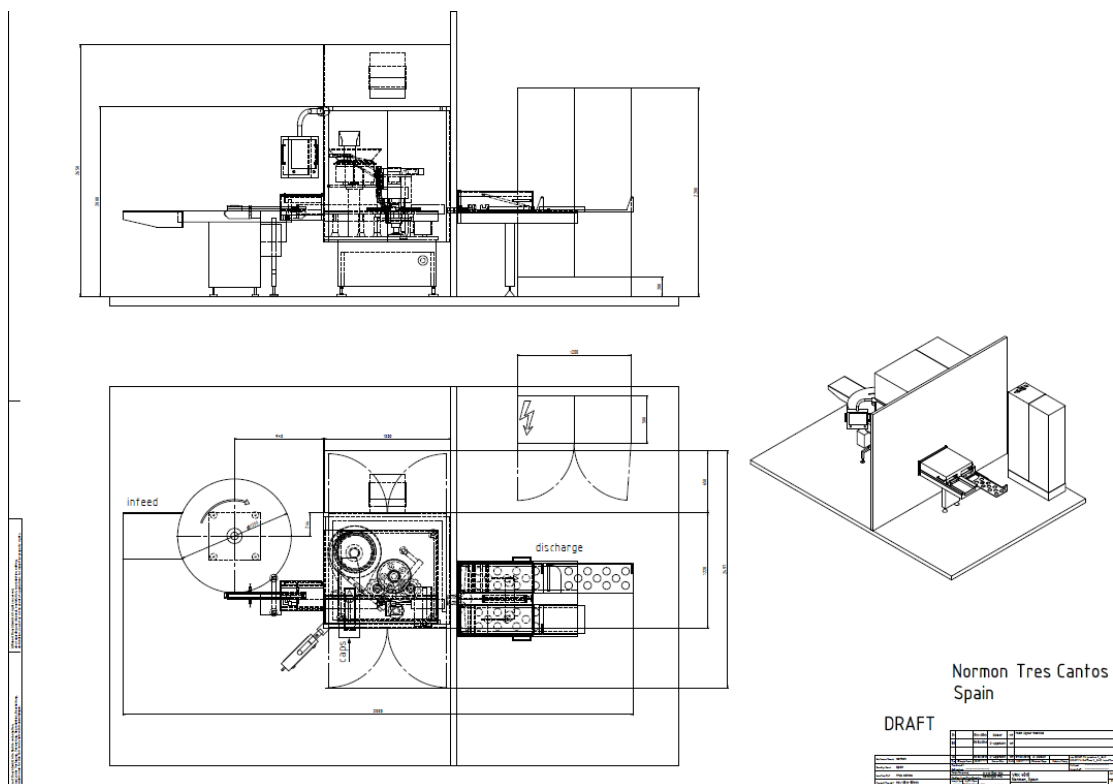


Fig. 8.19.: Planos 2D de una capsuladora de viales liofilizados.

17. REVISIÓN DEL 100%

- **Departamento:** Departamento de Producción.
- **Sala:** Sin clasificación, contigua a la sala de capsulado.
- **Materiales:** Viales capsulados.
- **Maquinaria/equipos:** Revisadora automática Pilastro® SA18. Revisión automática de defectos cosméticos, nivel del liofilizado, partículas en las paredes y fondo del liofilizado, fisuras y control de oxígeno-nitrógeno en el interior.
- **Procedimiento:** Los viales entran capsulados a la revisadora, donde se revisan de forma automática. A continuación se montan en bandejas y se paletizan.
- **Controles:** Revisión del 100,0% de los viales, controlando el aspecto, fisuras, estética, presencia de tapón y cápsula...



Fig. 8.19.: Pantalla HMI de una revisadora automática de viales.

18. ESTERILIZACIÓN DE LOS VIALES DE LAS MICROESFERAS

- **Departamento:** Empresa subcontratada.
- **Sala:** Sin Clasificar.
- **Materiales:** Viales con microesferas, ^{60}Co .
- **Maquinaria/equipos:** Transporte, instalaciones de radiación gamma.
- **Procedimiento:** Los pallets se llevan al muelle de salidas, desde donde se transportan a unas instalaciones que cuentan con equipos de esterilización mediante radiación gamma. En estas instalaciones se esterilizan las muestras con radiación gamma de 2,2 MRad a partir de una fuente de ^{60}Co .
Una vez esterilizados, se transportan otra vez a la fábrica, al muelle de entradas.
- **Controles:** Aspecto, esterilidad, apirogenicidad, valoración e impurezas.

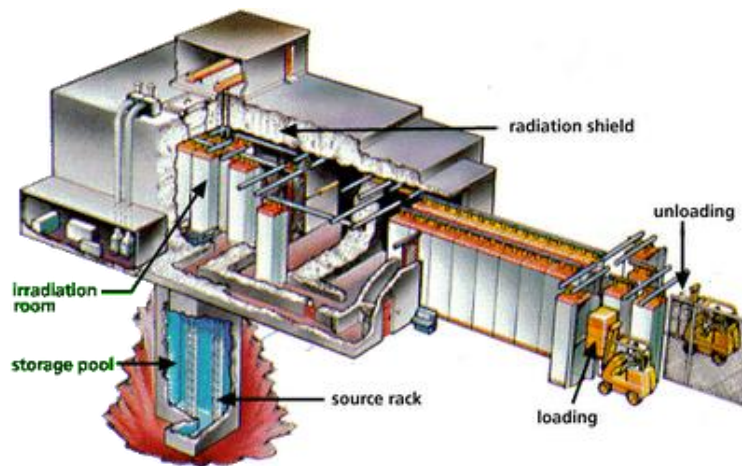


Fig. 8.20.: Planta de esterilización mediante radiación gamma.

19. ALMACÉN DE INTERMEDIOS

- **Departamento:** Almacén.
- **Sala:** No clasificada. El almacén requiere control y registro de la temperatura y humedad.
- **Materiales:** Viales.
- **Maquinaria/equipos:** Almacén robotizado.
- **Procedimiento:** Desde el muelle de entradas se transportan los viales esterilizados hasta el almacén, tras realizar el muestreo correspondiente.
- **Controles:** -

20. ETIQUETADO

- **Departamento:** Acondicionamiento.
- **Sala:** No clasificada, en la zona de acondicionamiento.
- **Materiales:** Viales, etiquetas.
- **Maquinaria/equipos:** Máquina de etiquetado Bausch Stroebel® ESF, en línea con el equipo de envasado secundario en estuches del producto final. Velocidad: 400 etiquetas/minuto.
- **Procedimiento:** Los viales se transportan desde el Almacén hasta Acondicionamiento y se incorporan a la línea de etiquetado, en donde se etiqueta. La línea finaliza en un equipo Pick and Place, que posicionará el vial etiquetado en el estuche final.
- **Controles:** Aspecto, control de etiqueta.

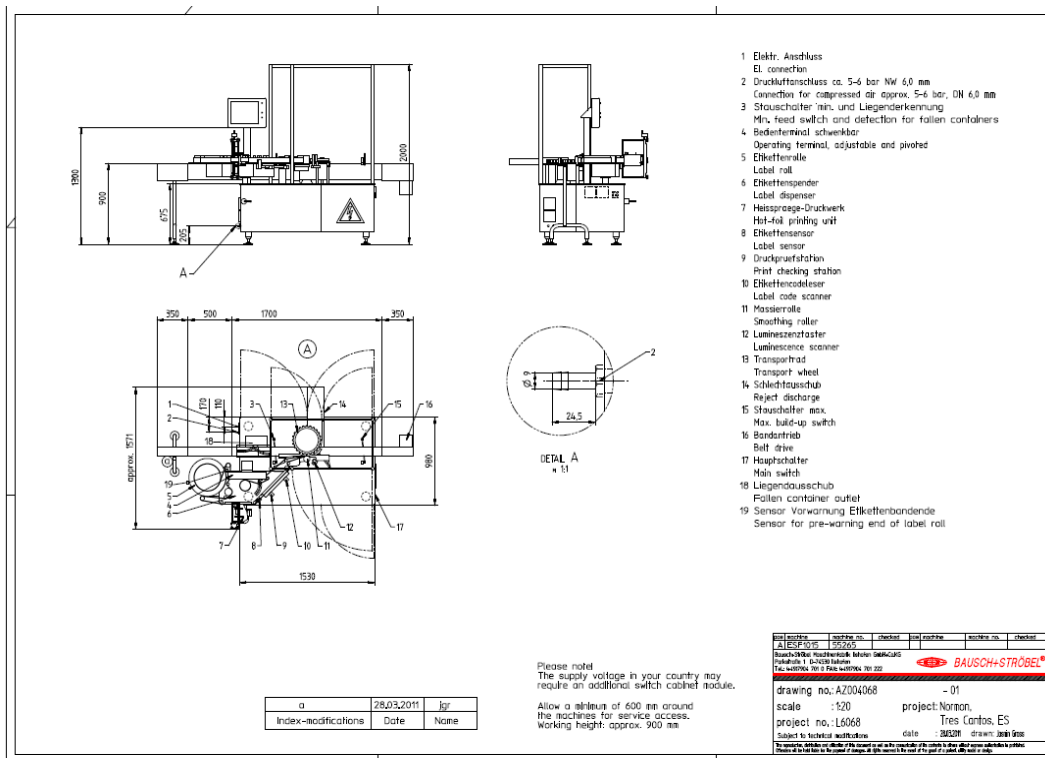


Fig. 8.21.: Planos 2D de una etiquetadora de viales.

8.8. ACONDICIONAMIENTO FINAL

21. ENVASADO SECUNDARIO EN ESTUCHES

- **Departamento:** Acondicionamiento.
- **Sala:** No Clasificada.
- **Materiales:** Jeringas precargadas, viales, agujas, blister de PVC, estuche y prospecto.
- **Maquinaria/equipos:** Línea termoformadora Marchesini® FB220 con sistema de alimentación Pick and Place. Equipo capaz de deformar el PVC u otros materiales de acondicionamiento mediante calor, formando las oquedades que permiten la posterior incorporación de los componentes.

Pick and Place: En este caso el equipo está acoplado con un sistema Pick and Place, que incorpora las jeringas, los viales y agujas en el PVC deformado (blíster).

Estuchadora: Una vez que el blister contiene todos sus componentes, lo incorpora dentro de un estuche con un prospecto.

Encajadora y paletizadora Pester®: Los estuches los incorpora en cajas de cartón y las cajas de cartón las incorpora en pallets.

- **Procedimiento:** Está en línea con los dos equipos de etiquetado. En esta línea hay una estación termoformadora de oquedades en el PVC. A continuación se introducen la jeringa (proveniente de la línea de etiquetado), el vial (proveniente de la otra línea de etiquetado) y las agujas por un sistema Pick and Place (robot). La presencia de todos estos componentes la comprueba una telecámara. Una vez que se han incorporado y revisado, el blister y el prospecto se introducen en el estuche. Posteriormente se cierra el estuche y se comprueba el peso en la misma línea (Balanza Mettler Toledo Garvens®). El lote y la fecha de caducidad se timbran mediante un sistema láser, y posteriormente son controlados por una telecámara.

Los estuches se van introduciendo en cajas y las cajas en pallets automáticamente.

- **Controles:** Control de peso del estuche con una balanza, control del timbrado con una telecámara, control de estuche y prospecto por código de barras, control de calidad de inspección por atributos Military Standard MIL-STD mediante un nivel de inspección normal.



Fig. 8.22.: Sistema robótico Pick and Place de incorporación de jeringas al blíster.



Fig. 8.23.: Final de línea del envasado: Encajadora y paletizadora.

22. ALMACÉN

- **Departamento:** Almacén.
- **Sala:** No Clasificada. El almacén requiere control y registro de la temperatura y humedad.
- **Materiales:** Pallets con estuches del medicamento.
- **Maquinaria/equipos:** Almacén robotizado.
- **Procedimiento:** Los pallets generados en la línea de acondicionamiento se identifican adecuadamente y se llevan al almacén, donde son almacenados de manera caótica. El producto ira saliendo según se vayan haciendo pedidos.
- **Controles:** -



Fig. 8.24.: Almacén robotizado de pallets.

23. CONTROL CALIDAD PRODUCTO TERMINADO

- **Departamento:** Departamento de Control de Calidad.
- **Sala:** El Departamento de Control de Calidad se divide en tres áreas: Química, Microbiología y Acondicionamiento. Las áreas de control Química y Acondicionamiento son zonas no clasificadas; mientras que el área microbiológica debe tener una climatización independiente y tener zonas bajo flujo laminar grado A para el control de esterilidad. Es importante tener unos sistemas de extracción de gases adecuados y mucha recirculación del aire.
- **Materiales:** Producto Terminado (Viales y Jeringas precargadas), reactivos, material de laboratorio (probetas, tubos de vidrio, pipetas...), medios de cultivo...
- **Maquinaria/equipos:** HPLC, espectrofotómetros, balanzas...
- **Procedimiento:** El Producto Terminado llega a Control de Calidad. Tanto las jeringas precargadas como los viales son analizados química y microbiológicamente. Solo cuando todos los resultados son conformes se puede liberar el lote para su venta en el mercado.



Fig. 8.25.: Laboratorio de control de calidad.

8.9. PLANTA INDUSTRIAL: PLANOS, CLASIFICACIÓN, PRESIONES Y FLUJOS

La planta de fabricación diseñada está dividida en diferentes secciones:

- Zona de Fabricación
- Zona de Acondicionamiento
- Almacén y Picking
- Control de Calidad: Acondicionamiento, Química y Microbiología
- Zona Pesadas
- Muelle
- Zona de Muestreo
- Estabilidad
- Galénica
- Muestroteca
- Zonas Técnicas: Planta del agua, Calderas, Grupos frigoríficos...
- Oficinas: Garantía de Calidad, Producción, Validaciones, Calibraciones, Mantenimiento, Ingeniería, Dirección Médica, Recursos Humanos, Seguridad, Formación, Informática...
- Comedor y cocina
- ...

En el siguiente plano se pueden distinguir algunas de las zonas descritas:

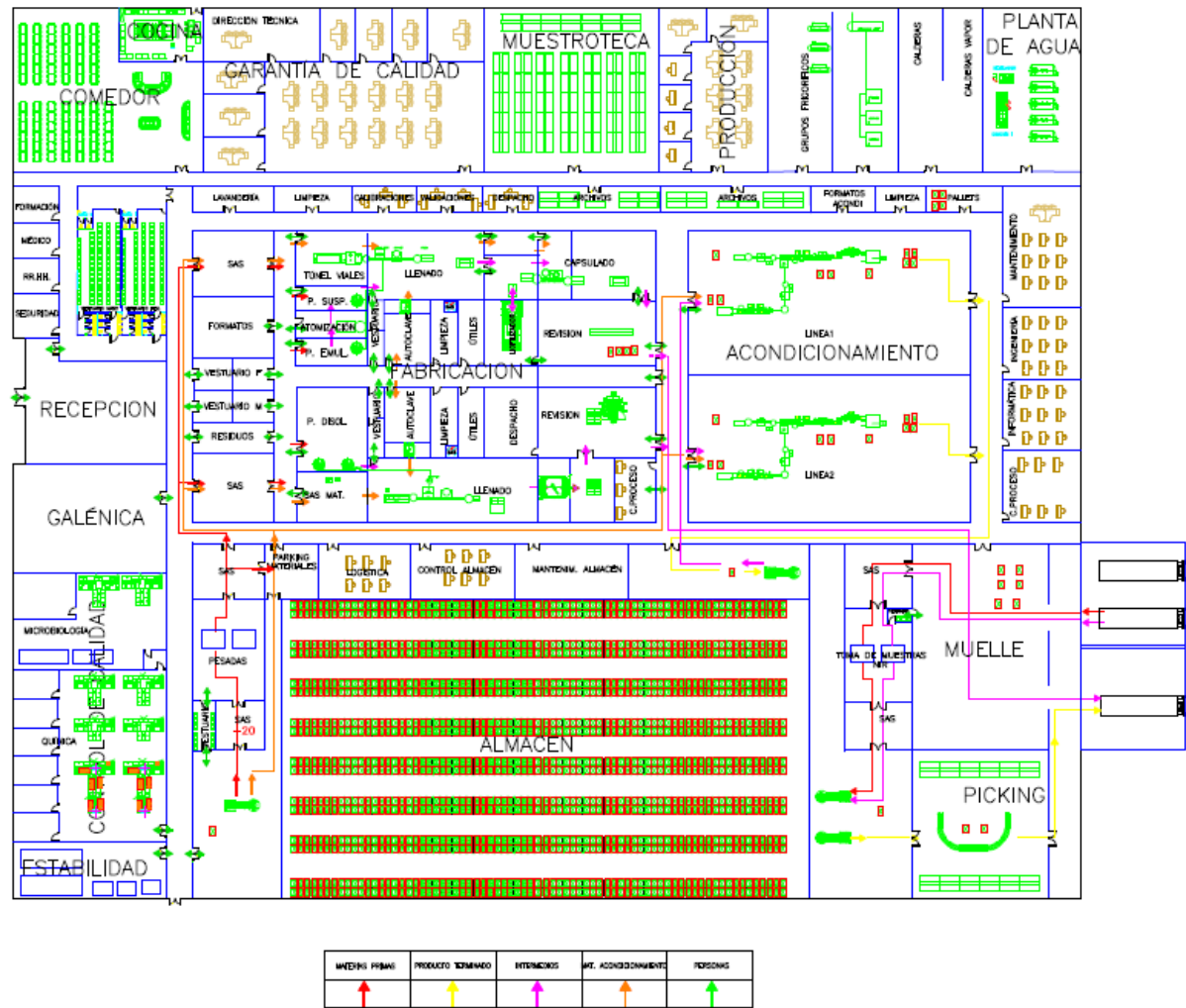


Fig. 8.26.: Plano de la planta industrial de fabricación, indicando flujos de materias primas, de producto terminado, de intermedios, de material de acondicionamiento y de personas.

A) FLUJO DE MATERIALES

- Muelle: Las materias primas y material de acondicionamiento llegan al muelle, donde son descargados.
- Zona de Muestreo: Se realiza un muestreo y ensayo NIR.
- Almacén: Se almacenan las materias primas y material de acondicionamiento en cuarentena, a la espera de ser liberados.
- Zona de Pesadas: Se pesan las materias primas.
- Zona de Fabricación: Se separan los materiales que se utilizan para la fabricación de viales de los que se utilizan para la fabricación de jeringas. Dentro de fabricación se distinguen estas dos zonas, cada una con sus operaciones y flujos independientes.
- Intermedios:
 - Los viales se llevan al muelle, desde donde se transportan a la planta de esterilización por radiación gamma. A continuación regresan a la planta, donde son muestreados y almacenados.
 - Las jeringas se mandan al almacén.
- Acondicionamiento: Las jeringas y los viales esterilizados se llevan a las líneas de acondicionamiento.
- Almacén: Se almacena el producto terminado proveniente de acondicionamiento.
- Picking: Organiza y gestiona los pedidos de producto terminado, enviándolos al muelle.

B) FLUJO DE PERSONAL

Entrada del personal por recepción, desde donde pueden tomar dos direcciones:

1. Planta de fabricación:

- Entran por el vestuario general, desde donde pueden llegar a diferentes áreas (Fabricación, Acondicionamiento, Pesadas, Almacén, Control de Calidad, Muestreo...)
- Fabricación, Pesadas y Muestreo tienen otros vestuarios adicionales, para entrar a zonas clasificadas.
- Cada sección tiene su flujo de personas establecido.

2. Oficinas, Zonas Técnicas y Comedor/Cocina: El personal no pasa a través de ningún vestuario.**C) CLASIFICACIÓN DE ZONAS**

Encontramos salas con diferentes grados de clasificación:

• Grado A

- Dosificadora de jeringas MLD Bosch®.
- Dosificadora-pretaponadora de viales Bosch® FLC.
- Sistema automático de carga de viales desde la dosificadora al liofilizador.
- Liofilizador (interior).
- Sistema automático de descarga de viales desde el liofilizador a la capsuladora.
- Capsuladora de viales.

• Grado B (N.A.)

- Al existir una esterilización final no se requiere un entorno B alrededor de los equipos ubicados en grado A.

- **Grado C**

- Zona de Muestreo
 - Cabina de muestreo (con flujo laminar).
- Zona de Pesadas
 - Cabina de pesadas (con flujo laminar).
- Fabricación de viales
 - Sala de Preparación de la Suspensión previa a la atomización.
 - Sala de Atomización.
 - Sala de Preparación de la Suspensión posterior a la atomización.
 - Sala del Túnel de lavado, esterilización, despirogenización.
 - Sala de la Dosificadora-pretaponadora de viales (Entorno).
 - Sala de Capsulado de viales (Entorno).
 - Sala de carga del Liofilizador (Sala de carga y descarga).
 - SAS de personal entre sala de llenado y capsulado.
 - SAS-vestuario de personal de acceso a la sala de llenado (zona limpia).
- Fabricación de jeringas
 - Sala de Preparación del agente suspensor.
 - Sala Dosificadora de jeringas (Entorno).
 - SAS-vestuario de personal de acceso a la sala de llenado (zona limpia).

- **Grado D**

- Zona de Muestreo
 - Sala de muestreo (Entorno).
 - SAS de entrada y salida.
- Zona de Pesadas
 - Sala de pesadas (Entorno).
 - SAS de entrada y salida.
- Zona de Fabricación
 - Vestuarios de acceso a la zona (x2).
 - SAS de materiales de acceso a la zona (x2).
 - Pasillo general.
 - Sala de Residuos.
 - Sala de Formatos.
 - Salas de Limpieza (x2).
 - Salas de Útiles (x2).
 - Salas de Autoclave (x2).
 - SAS-vestuario de personal de acceso a las salas de llenado (zona sucia).
 - Despacho de Fabricación.

D) PRESIONES**• - 10 Pa**

- Zona de Muestreo
 - Cabinas de Muestreo.
- Zona de Pesadas
 - Cabinas de Pesadas.

• + 0 Pa

- Sala de Muestreo (Entorno)
- Sala de Pesadas (Entorno)
- Zona de Fabricación
 - Salas No Clasificadas (Revisión, Control en Proceso).
 - Despacho de Fabricación.
 - Liofilizador (Zona Técnica).

• + 5 Pa

- Zona de Fabricación
 - Pasillo General.

• + 20 Pa

- Zona de Muestreo
 - SAS de entrada y salida.
- Zona de Pesadas
 - SAS de entrada y salida.
- Zona de Fabricación
 - Vestuarios de acceso a la zona (x2).
 - SAS de materiales de acceso a la zona (x2).
 - Sala de Residuos.
 - Sala de Formatos.

- Salas de Limpieza (x2).
 - Salas de Útiles (x2).
 - Salas de Autoclaves (x2).
 - Sala de Preparación de la Emulsión.
 - Sala de Atomización.
 - Sala del Túnel de lavado, esterilización, despirogenización.
 - Sala de Preparación de la Suspensión.
 - Sala de Capsulado de viales.
 - Sala de Preparación de la Disolución.
 - SAS-vestuario de personal de acceso a las salas de llenado.
- **+ 35 Pa**
 - Zona de Fabricación
 - Sala de la Dosificadora-pretaponadora de viales (Entorno).
 - Sala de carga del Liofilizador (Sala de carga y descarga).
 - SAS de personal entre sala de llenado y capsulado.
 - Sala Dosificadora de jeringas (Entorno).

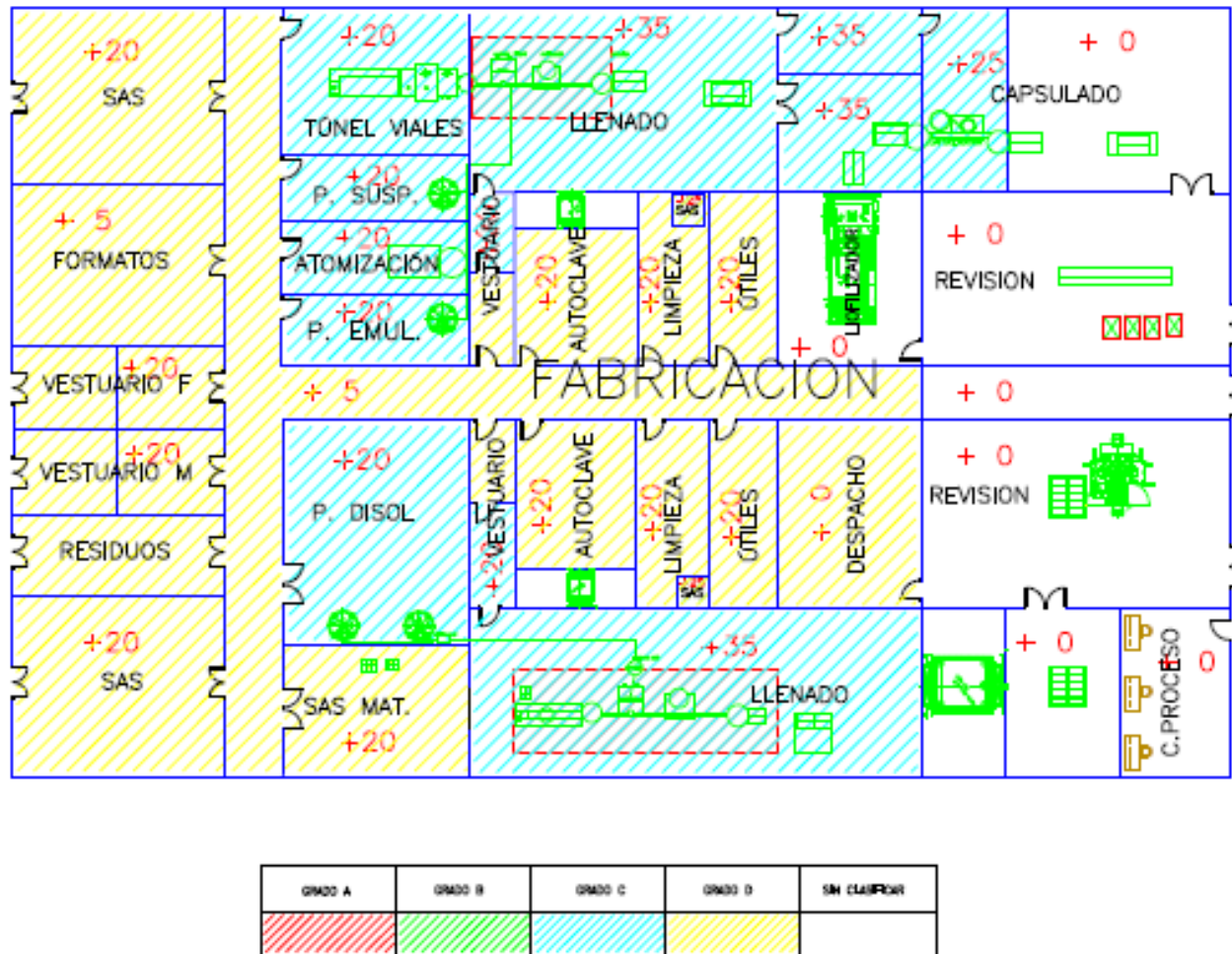


Fig. 8.27.: Plano de clasificación y presión (Pa) de las salas de la zona de fabricación de viales y jeringas.

B) CLIMATIZACIÓN

Es imprescindible tener una adecuada climatización de la planta de fabricación. Para ello se requiere de la presencia de diferentes climatizadores independientes. Encontramos las siguientes áreas de climatización:

- **Climatizador I:** Zona de Fabricación (a su vez se divide en dos: uno correspondiente a la línea de viales y otro a la línea de jeringas).
- **Climatizador II:** Zona de Acondicionamiento, Muelle, Picking, Zona No Clasificada de Fabricación, Pasillos Generales.
- **Climatizador III:** Garantía de Calidad, Muestroteca, Despechos de Producción, Grupos Frigoríficos.
- **Climatizador IV:** Comedor y cocina.
- **Climatizador V:** Control de Calidad (Química) y Estabilidad.
- **Climatizador VI:** Control de Calidad (Microbiología).
- **Climatizador VII:** Almacén.
- **Climatizador VIII:** Galénica.
- **Climatizador IX:** Zona de Muestreos.
- **Climatizador X:** Zona de Pesadas.

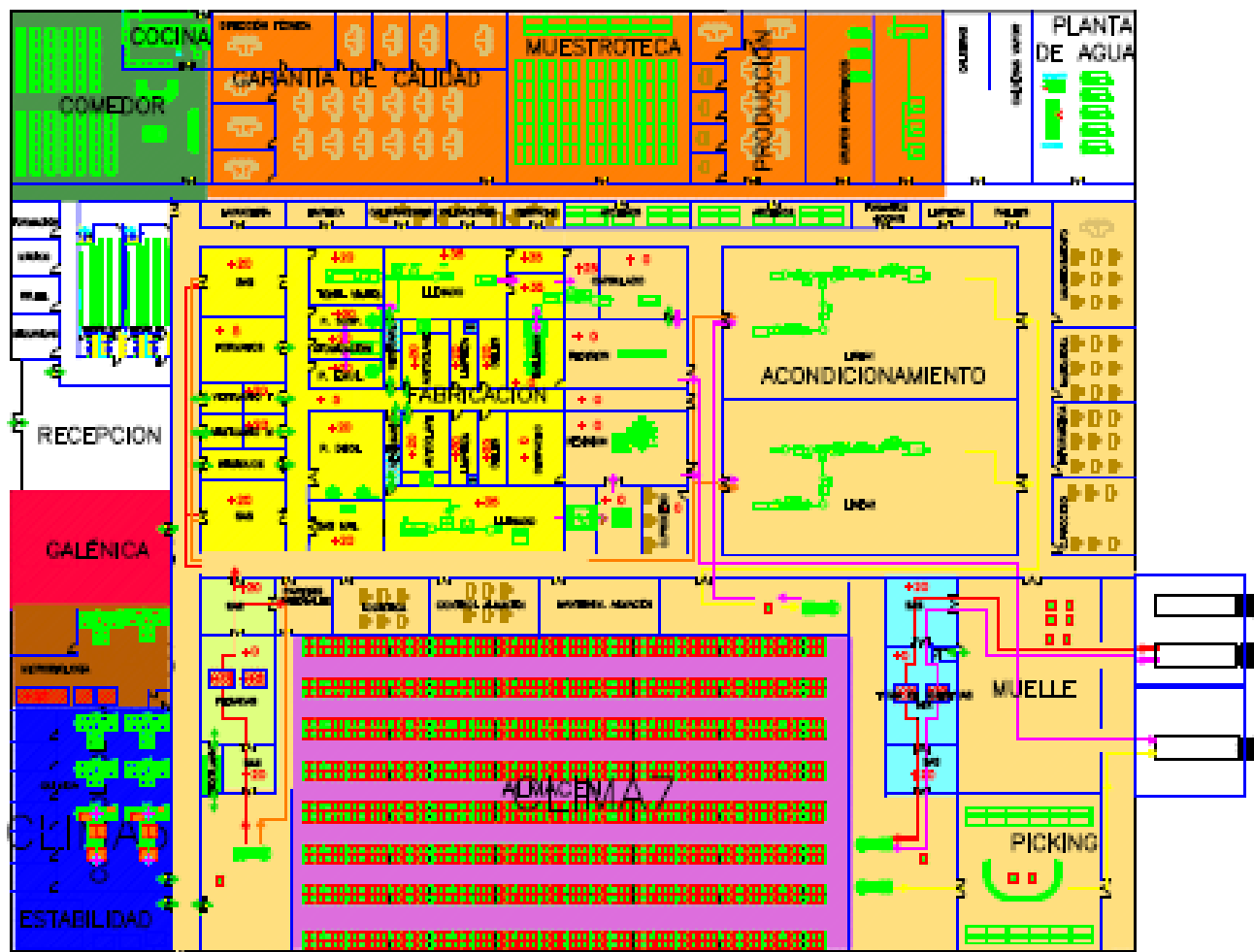


Fig. 8.28.: Plano de climatizadores de la planta industrial de fabricación.

9. CONCLUSIONES

1. El método analítico desarrollado para la valoración de meropenem mediante HPLC es adecuado y se ha validado satisfactoriamente.
2. Los estudios de estabilidad demuestran que el meropenem es una molécula muy inestable, sobre todo cuando se encuentra en disolución. La temperatura y el medio de disolución influyen significativamente en la estabilidad. En medio simulado fisiológico (PBS) y 37,0°C, el tiempo de degradación del 50,0% de meropenem es de unas 48,0 horas.
3. La atomización con PLGA es un proceso sencillo, robusto, validable y económico para la obtención de microesferas de meropenem aptas para su uso farmacéutico.
4. El proceso de compresión de microesferas de PLGA y meropenem, así como la caracterización de los comprimidos, no presenta robustez debido a las deficientes características de compresibilidad del PLGA.
5. La elaboración y análisis de suspensiones inyectables de microesferas de meropenem y PLGA es sencilla y robusta. La liberación del principio activo a partir de suspensiones de microesferas se realiza de forma más controlada que con los comprimidos por lo que se selecciona la formulación de suspensión para posteriores ensayos *in vivo*.
6. En ensayos sobre animales (conejos), se han comparado farmacocinéticamente varias formulaciones y vías de administración, demostrando que las suspensiones de microesferas de meropenem presentan un mayor tiempo por encima de las concentraciones mínimas inhibitorias de la mayoría de los microorganismos al compararse con el resto de formas de administración estudiadas. Al controlar la liberación y prolongar la absorción se produce un aumento del AUC y un descenso del C_{max}.
7. En ensayos con humanos se ha demostrado que las administraciones intravenosas más prolongadas en el tiempo favorecen un mayor tiempo por encima de las concentraciones mínimas inhibitorias de la mayoría de los microorganismos.
8. La liberación controlada de meropenem permite obtener concentraciones de meropenem por encima de concentraciones mínimas inhibitorias de la mayoría de microorganismos durante más tiempo. En el caso de administraciones locales, como las microesferas de meropenem, podemos aumentar la concentración de meropenem en el lugar de acción, lo

que puede ser muy útil en intervenciones quirúrgicas. Se podrían reducir el número de administraciones y cantidad de fármaco administrado.

9. Se ha diseñado un modelo de fabricación y análisis industrial de microesferas de meropenem. Su fabricación precisa de instalaciones especiales dedicadas, de tecnología avanzada, y de un proceso de calidad muy estricto.

10. CONTROLLED RELEASE SYSTEMS OF MEROPENEM

Introduction

Meropenem is a broad spectrum antibiotic, with a very low plasma half-life.

Controlled release systems of Meropenem could improve its pharmacokinetics for treatments and prophylaxis of diseases.

Aim

This study is focused on developing controlled release systems of Meropenem. Local controlled release systems could be specially useful for prophylaxis in surgical interventions.

Methodology, Results and Discussion

Analytical validation

The first stage of the study was based on validating an analytical HPLC method for Meropenem assay. This method was developed in accordance to *European Pharmacopoeia 8.0.*, *USP 38* monograph and ICH guidelines. The target of validating the analytical procedure was to demonstrate that it is suitable for its intended purpose. The following validation characteristics were considered: Accuracy, Precision (Repeatability and Intermediate Precision), Specificity, Detection Limit, Quantitation Limit, Linearity and Range.

After performing all the tests, the analytical method was considered to be validated. This HPLC method could be used in the rest of the stages of this study.

Stability study

Meropenem has low stability when dissolved due to the hydrolysis of the β -lactam ring. In order to understand the degradation behavior of this drug we performed a stability study at different temperatures and solvents. Stability test was studied in water, NaCl 0.9 percentage, Glucose 5.0 percentage, Glucose 10.0 percentage and Phosphate Buffered Saline (PBS) solution. Each media was tested at different temperatures: -18.0°C , 4.0°C , 22.0°C and 37.0°C .

The results showed that the higher the temperature, the faster the degradation. The solvent had also influence in the degradation rate; Meropenem was more stable when dissolved in water; NaCl 0.9 percentage and PBS mediums than when dissolved in glucose mediums.

The obtained results showed a correlation with the Meropenem technical data and leaflet information.

Controlled release systems of Meropenem

This section of the study was based on obtaining pharmaceutical forms which could release Meropenem in a controlled way.

Meropenem was included inside microspheres of polylactic-co-glycolic acid (PLGA), an excipient which is biodegradable and has appropriate properties as controlled release drug delivery system. Atomization method was used for manufacturing the microspheres.

After characterization, these microspheres were integrated in several pharmaceutical forms such as implantable minitablets or intramuscular suspensions. Manufacturing robustness and analytical tests were performed for both systems.

Atomization was an adequate method for manufacturing microspheres of PLGA and Meropenem. The characteristics of the microspheres were correct for their intended use.

In the one hand, implantable minitablets were difficult to manufacture and analyze. Poor tableting properties of the components didn't allow obtaining tablets with robustness.

In the other hand, intramuscular suspension was successfully manufactured and analyzed. Releasing rate of Meropenem from this formulation was tested and showed an excellent behavior.

Animal studies

A study with rabbits was performed in order to compare the pharmacokinetics of Meropenem after the administration of the same dose in different formulations. The following formulations were compared:

- Meropenem intravenous perfusion during 0.5 hours.

- Meropenem intravenous perfusion during 3.0 hours.
- Meropenem intramuscular solution.
- Meropenem intramuscular suspension.
- Microspheres of Meropenem intramuscular suspension.

The results showed that the Area Under the Curve (AUC) was higher in intramuscular formulations, but above all the microspheres intramuscular suspension formulation. For intravenous administrations, AUC was higher when the perfusions were longer.

The formulations with higher AUC present during longer periods the concentration of Meropenem over the Minimum Inhibitory Concentrations 90 (MIC_{90}) of the most common nosocomial microorganisms.

Human studies

A pharmacokinetic study of Meropenem after the administration of intravenous solutions at different perfusion speeds was performed in humans. The following speeds were tested administrating the same dose of Meropenem:

- Meropenem intravenous perfusion during 0.5 hours.
- Meropenem intravenous perfusion during 1.0 hour.
- Meropenem intravenous perfusion during 2.0 hours

The AUC was higher when the perfusions were longer, as demonstrated previously in animals. The concentration of Meropenem over MIC_{90} of most of microorganisms was achieved during more time when the perfusion was slower.

Industrial manufacturing

In this chapter, the industrial manufacturing procedure for intramuscular suspensions of microspheres of Meropenem was designed.

The selected presentation for manufacturing was freeze dried vial with meropenem microspheres and prefilled syringes with suspension media.

All the manufacturing steps (warehousing, compounding, atomization, filtration, filling, freeze drying, inspection, packaging, quality checks...) were designed. Also plant layouts, classification of the clean rooms, room pressures, material and people flows... were designed.

Conclusions

1. The developed analytical HPLC method is adequate for meropenem assay, as it has been satisfactorily validated.
2. The stability studies demonstrate that meropenem is an unstable molecule, mostly when is in aqueous dissolution. The dissolution media and the temperature have a direct impact in the stability of meropenem. In simulated fisiologic conditions (PBS buffer) at 37.0°C, 50.0 percentage of meropenem was degradated in about 48.0 hours.
3. Spray drying of meropenem and PLGA is a robust, validable and economic method for obtaining suitable microspheres for pharmaceutical use.
4. Meropenem and PLGA microspheres tableting and characterization of the tablets is not a robust process due to the poor tableting properties of PLGA.
5. Manufacturing and analyzing injectable suspensions of meropenem and PLGA microspheres can be done easily and robustly. Release of meropenem from the suspension of microspheres is more controlled than the release from the tablets. Suspension of microspheres was selected for further *in vivo* studies.
6. In the animal studies with rabbits, the pharmacokinetics of several formulations and routes of administration were compared, and demonstrated that the meropenem intramuscular microspheres presented the longest time over the minimum inhibitory concentrations of most of microorganisms. The controlled release of the different dosage forms was related with an increase of AUC and a decrease of the C_{max} obtained.
7. In the human studies was demonstrated that the longer the intravenous perfusion of meropenem, the longer the time over the minimum inhibitory concentrations of most of microorganisms.

8. Meropenem controlled release systems allow obtaining longer periods of this molecule over the minimum inhibitory concentrations of most of microorganisms. In local administrations, such as microspheres of meropenem, is possible to increase the concentration in the action area, which can be very useful for surgical interventions
9. A design for manufacturing and analyzing microspheres of meropenem was developed. It requires dedicated facilities, advanced technology and a strict quality system.

11. AGRADECIMIENTOS

- *Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid*
- *Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Alcalá de Henares*
- *Animalario de la Universidad de Alcalá de Henares*
- *Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital Clínico San Carlos de Madrid*
- *Laboratorios Normon S.A.*

12. BIBLIOGRAFÍA

- Ababio, G.O., Rogers, J.A., Morck, D.W., Olson, M.E.. Efficacy of sustained release ciprofloxacin microspheres against device-associated *Pseudomonas aeruginosa* biofilm infection in a rabbit peritoneal model. *Journal of Medical Microbiology*. 1995; (43), 368-376.
- Aftabrouchard, C., Doelker, E.. Méthodes de préparation des microparticules biodégradables chargées en principes actifs hydrosolubles. *STP Pharmaceutical Science*. 1992; 2 (5), 365-80.
- Almarsson, Ö., Kaufman, M.J., Stong, J.D., Wu, Y., Mayr, S.M., Petrich, M.A., Williams, J.M.. Meropenem Exists in Equilibrium with a Carbon Dioxide Adduct in Bicarbonate Solution. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1998; (87), 663-666.
- Andollina, A., Bertoni, F., Zolezzi, C., Trentani, F., Trentani, P., Borrelli, A.M., Tigani, D.. Vancomycin and meropenem in acrylic cement: elution kinetics of *in vitro* bactericidal action. *La Chirurgia degli Organi di Movimento Journal*. 2008; (91), 151-158.
- AstraZeneca Farmacéutica Spain, S.A.. Ficha técnica Meronem® I.V. (500, 1000 mg). Julio 1999.
- Atanaskovic-Markovic, M., Gaeta, F., Medjo, B., Viola, M., Nestorovic, B., Romano, A.. Tolerability of meropenem in children with IgE-mediated hypersensitivity to penicillins. *Allergy*. 2008; (63), 237-240.
- Baldwin, C.M., Lyseng-Williamson, K.A., Keam, S.J.. Meropenem: A review of its use in treatment of serious bacterial infections. *Drugs*. 2008; (6), 803-838.
- Baleani M., Persson C., Zolezzi C., Andollina A., Borrelli A.M., Tigani D.. Biological and biomechanical effects of vancomycin and meropenem in acrylic bone cement. *Journal of Arthroplasty*. 2008; 23(8), 1232-1238.
- Bassetti, M., Nicolini, L., Esposito, S., Righi, E., Viscoli, C.. Current status of newer carbapenems. *Current Medicinal Chemistry*. 2009; 16(5), 564-575.
- Berthoin, K., Le Duff, C.S., Marchand-Bryanert, J., Carryn, S., Tulkens, P.M.. Stability of meropenem and doripenem solutions for administration by continuous infusion. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2010.
- Blumer, J.F.. Meropenem: evaluation of a new generation carbapenem. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 1998; (8), 73-92.
- Cárceles, C.M., Serrano, J.M., Marín, P., Escudero, E., Fernández-Varón, E.. Pharmacokinetics of Moxifloxacin in Rabbits after Intravenous, Subcutaneous and a Long

acting Poloxamer 407 Gel Formulation Administration. *Clinical Medicine. Journal of Veterinary Medicine A*. 2006; (53), 300-304.

- Catena, F., Ansaloni, L., Gazzotti, F., Pezzilli, R., Nanetti, A., Santini, D., Nardo, B., Pinna, A.D.. Effect of early antibiotic prophylaxis with ertapenem and meropenem in experimental acute pancreatitis in rats. *Journal of Hepato-Biliary-Pancreatic Surgery*. 2009; (16), 328–332.
- Cielecka-Piontek, J., Zajac, M., Jelinska, A.. A comparison of the stability of ertapenem and meropenem in pharmaceutical preparations in solid state. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2008; (46), 52-57.
- Coella, R. et al. The cost of infection in surgical patients: a case study. *Journal of Hospital Infections*. 1993; (25), 239–250.
- Dailly, E., Bouquié, R., Deslandes, G., Joillet, P., Le Floch, R.. A liquid chromatography assay for a qualification of doripenem, ertapenem, imipenem, meropenem concentrations in human plasma: Application to a clinical pharmacokinetic study. *Journal of Chromatography B*. 2011; (879), 1137-1142.
- Dawes, G.J.S., Fratila-Apachitei, Mulia, L.E.K., Apachitei, I., Witkamp, G.-J., Duszczuk, J.. Side effect of PGLA spheres on drug loading efficiency and release profiles. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2009; (20), 1089-1094.
- De Rosa, G., Larobina, D., La Rotonda, M.I., Musto, P., Ungaro, F., Quaglia, F.. How cyclodextrine incorporation affects the properties of protein-loaded PGLA-bases microsphere: the case of insulin/hydroxypropyl- β -cyclodextrin system. *Journal of Controlled Release*. 2005; (102); 71-83.
- Denooz, R., Charlier, C.. Simultaneous determination of five beta-lactam antibiotics (cefepim, ceftazidim, cefuroxime, meropenem and piperacillin) in human plasma by HPLC with ultraviolet detection. *Journal of Chromatography B*. 2008; (864), 161-167.
- Dreetz, M., Hamacher, J., Eller, J., Borner, K., Koeppe, P., Schaberg, T., Lode, H.. Serum Bactericidal Activities and Comparative Pharmacokinetics of Meropenem and Imipenem-Cilastatin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1996; 105-109.
- Druliis-Kawa, Z., Gubernator, J., Dorotkiewicz-Jach, A., Doroszkiewicz, W., Kozubew, A.. *In vitro* antimicrobial activity of liposomal meropenem against *Pseudomonas aeruginosa* strains. *International Journal of Pharmaceutics*. 2006; (315), 59-66.

- Duncan, C.P., Masri, B.A.. The role of antibiotic loaded cement in the treatment of an infection after hip replacement. *Journal of Bone Joint Surgery*. 1994; 76 (11), 1742-1751.
- Elragehy, N.A., Abdel-Moety, E.M., Hassan, N.Y., Rezk, M.R.. Stability-indicating determination of meropenem in presence of its degradation product. *Talanta*. October 2008; 77(1):28-36.
- European Pharmacopoeia 8.0. 2014
- Firsov, A.A., Mattie, H.. Relationships between antimicrobial effect and area under the concentration-time curve as a basis for comparison of modes of antibiotic administration: Meropenem Bolus Injections versus Continuous Infusions. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1997; 352-356.
- Fritz, S., Hartwig, W., Lehmann, R., Will-Schweiger, K., Kommerell, M., Hackert, T., Schneider, L., Büchler, M.W., Werner, J.. Prophylactic antibiotic treatment is superior to therapy on-demand in experimental necrotizing pancreatitis. *Critical Care*. 2008; (12), R141.
- Gavini, E., Chetoni, P., Cossu, M., Álvarez, M.G., Saettone, M.F., Giunchedi, P.. PLGA microspheres for the ocular delivery of a peptide drug, vancomycin using emulsification/spray-drying as the preparation method: *in vitro/in vivo* studies. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2004; (57), 207-212.
- Gobernado, M., Acuña, C.. Ertapenem. *Revista Española de Quimioterapia*. 2007. (20), 277-299.
- Gonnisse, Y., Remon, J.P., Vervaet, C.. Development of directly compressible powders via co-spray drying. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2007; (67), 220-226.
- Habraken, W.J.E.M., Liao, H.B., Zhang, Z., Wolke, J.G.C., Grijpma, D.W., Mikos, A.G., Feijen, J., Jansen, J.A.. *In vivo* degradation of calcium phosphate cement incorporated into biodegradable microspheres. *Acta Biomaterialia*. 2010; (6), 2200-2211.
- ICH Q3C (R5): Impurezas: Guía de Disolventes Residuales. 2011
- IMS Health. <http://www.imshealth.com/portal/site/imshealth>
- International Conference of Harmonisation (ICH Q2 (R1): Validación de métodos analíticos). 2005.

- Ishii, X.Y., Yamaguchi, K., of the Meropenem Surveillance Group. Evaluation of the susceptibility trends to meropenem in a nationwide collection of clinical isolates in Japan: a longitudinal analysis from 2002 to 2006. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2008; (61), 246-350.
- Johansen, P., Estevez, F., Zurbriggen, R., Merkle, H.P., Glück, R., Corradin, G., Gander, B.. Towards clinical testing of a single-administration tetanus vaccine based on PLA: PLGA microspheres. *Vaccine*. 2001; (19), 1047–1054.
- Jones, R.N.. Perspectives on the development of new antimicrobial agents for resistant gram-positive pathogens. *Journal of Infectious Diseases*. 2000; 4(1), 1-8.
- Keel, R.A., Sutherland, C.A., Crandon, J.L., Nicolau, D.P.. Stability of doripenem, imipenem and meropenem at elevated room temperatures. *International Journal of Antimicrobiological Agents*. 2011; 184-185
- Kobayashi, K., Nakamoto, H., Okada, S., Hoshitani, K., Uchida, K., Arima, H., Shoda, J., Takane, Y., Ikeda, N., Sugahara, S., Okada, H., Suzuki, H.. Efficacy and safety of meropenem plus tobramycin followed by meropenem plus vancomycin for treating peritonitis in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Advances in Peritoneal dialysis*. 2006; (22), 65-68.
- Kobayashi, Y.. Study of the synergism between carbapenems and vancomycin or teicoplanin against MRSA, focusing on S-4661, a carbapenem newly developed in Japan. *Journal of Infections Chemotherapy*. 2005; (11), 259–261.
- Koomanachai, P., Crandon, J.L., Kutti, J.L., Nicolau, D.P.. Comparative pharmacodynamics for intravenous antibiotics against Gram-negative bacteria in Europe between 2002 and 2006: a report from the OPTAMA program. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2009; (33), 348-353.
- Koort, J.K., Mäkinen, T.J., Suokas, E., Veiranto, M., Jalava, J., Törmälä, P. and Aro, H.T.. Sustained release of ciprofloxacin from an osteoconductive poly (DL)-Lactide implant. *Acta Orthopaedica*. 2008; 79 (2): 295-301.
- Kurihara, Y., Kizu, J., Hori, S.. Simple and rapid determination of serum carbapenem concentrations by HPLC. *Journal of Infectious Chemotherapy*. 2008; (14), 30-34.
- Langgartner, J., Vasold, A., Glück, T., Reng, M., Kees, F.. Pharmacokinetics of meropenem during intermittent and continuous intravenous application in patients treated by continuous renal replacement therapy. *Intensive Care Medicine*. 2008; (34), 1091-1096.

- Lecaroz, M.C., Blanco-Prieto, M.J., Campanero, M.A., Salman, H., Gamazo, C.. Poly (D,L-Lactide-Coglycolide) Particles Containing Gentamicin: Pharmacokinetics and Pharmacodynamics in *Brucella melitensis* – Infected mice. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2007; 1185-1190.
- Lee, L.S., Kinzig-Schippers, M., Nafziger, A.N., Ma, L., Sörgel, F., Jones, R.N., Drusano, G.L., Bertino, J.S.. Comparison of 30 min and 3 h infusion regimens for imipenem/cilastin and for meropenem evaluated by Monte Carlo simulation. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2010; (68), 251-258.
- Legrand, T., Chhun, S., Rey, E., Blanchet, B., Zahar, J.R., Lanternier, F., Pons, G., Jullien, V.. Simultaneous determination of three carbapenem antibiotics in plasma by HPLC with ultraviolet detection. *Journal of Chromatography B*. 2008; (875), 551-556.
- Lemons, J.E.. Ceramics: Past, present and future. *Bone*. 1996; Volume 19, Issue 1, Supplement 1, Pages S121-S128.
- Linden, P.. Safety Profile of Meropenem. *Drug Safety*. 2007; (30), 657-668.
- López Hernández, O.D., Gómez Carril, M.. Preparación de microesferas mediante secado por aspersión. *Revista Cubana de Farmacia*. 2008; (42).
- López López, C., Carro Díaz, E.M., Torres Alemán, I., Torrado Durán, J.J., Torrado Durán, S.. Composición química de IGF-I para el tratamiento y prevención de enfermedades neurodegenerativas. Patente PCT WO 03/077940 A1.
- Mantovani, M.. Nanoesferas e a liberacao controlada de fármacos (en línea).
- Matsumoto, R., Kawakami, K., Aoki, S.. Impact of compression pressure on tablet appearance. *International Journal of Pharmaceutics*. 2007; (341), 44-49.
- McWhinney, B.C., Wallis, S.C., Hillister, T., Roberts, J.A., Lipman, J., Ungerer, J.P.J.. Analysis of 12 beta-lactam antibiotics in human plasma by HPLC with ultraviolet detection. *Journal of Chromatography B*. 2010; (878), 2039-2043.
- Mendez, A., Chagastelles, P., Palma, E., Nardi, N., Schapoval, E.. Thermal and alkaline stability of meropenem: degradation products and cytotoxicity. *International Journal of Pharmaceutics*. 2008; (28), 350(1-2), 95-102.
- Mendez, A.S.L., Dalomo, J., Steppe, M., Schapoval, E.E.S.. Stability and degradation kinetics of meropenem in powder for injection and reconstituted sample. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2006; (41), 1363-1366.

- Mendez, A.S.L., Steppe, M., Schapoval, E.E.S.. Validation of HPLC and UV spectrophotometric methods for the determination of meropenem in pharmaceutical dosage form. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2003; (33), 947-954.
- Moran, E., Masters, S., Berendt, A.R., McLardy-Smith, P., Byren, I., Atkins, B.L.. Guiding empirical antibiotic therapy in orthopedics: The microbiology of prosthetic joint infection managed by debridement, irrigation and prosthesis retention. *Journal of Infection*. 2007; (55), 1-7.
- Mori, H., Takahashi, K., Mizutani, T.. Interaction between valproic acid and carbapenem antibiotics. *Drug metabolism review*. 2007; 39(4), 647-657.
- Murakami, H., Kobayashi, M., Takeuchi, H., Kawashima, Y.. Utilization of poly (DL-lactide-co-glycolide) nanoparticles for preparation of mini-depot tablets for direct compression. *International Journal of Controlled Release*. 2000; (67), 29-36.
- Murillo, M., Gamazo, C., Goñi, M.M., Irache, J.M., Blanco-Prieto, M.J.. Development of microparticles prepared by spray-drying as a vaccine delivery system against brucellosis. *International Journal of Pharmaceutics*. 2002; (242), 341-344.
- Nakamura, A., Miyake, K., Misawa, S., Kuno, Y, Takashi, H., Hori, S., Kondo, S., Takeda, Y., Ohsaka, A.. Association between antimicrobial consumption and clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a 14 year study. *Journal of Infectious Chemotherapy*. 2011; Doi 10-1007/s10156-011-0302-6.
- Narola, B., Singh, A.S., Mitra, M., Santhakumar, P.R., Chandrashekar, T.G.. A validated reverse phase HPLC method for the determination of disodium EDTA in Meropenem drug substance with UV-detection using precolumn derivatization technique. *Analytical Chemistry Insights*. 2011; (6), 7-14.
- Norskov-Lauritsen, N., Marchandin, H., Dowzicky, M.J.. Antimicrobial susceptibility of tigecycline and comparators against bacterial isolates collected as part of the TEST study in Europe (2004-2007). *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2009; (34), 121-130.
- Nucci, M., Noué, S.A., Garnica, M., de Oliveira, A.L.M., Maiolino, A.. Prophylactic meropenem during neutropenia in allogeneic stem cell transplant recipients. *Bone Marrow Transplantation*. 2004; (33), 973-974.
- Nukaga, M., Bethe, C.R., Thomsom, J.M., Hujer, A.M., Distler, A., Anderson, V.E., Knox, J.R., Bonomo, R.A.. Inhibition of Class A beta-Lactamases by Carbapenems: Crystallographic Observation of Two Conformations of Meropenem in SHV-1. *JACS Articles*. 2008.

- OMS. Prevención de infecciones nosocomiales. Guía Práctica. 2ª Ed. WHO/CDS/CSR/EPH/2002.12
- Onishi, H., Takahashi, M., Machida, Y.. PLGA implant tablet of ketoprofen: Comparison of *in vivo* and *in vitro* releases. Biological Pharmaceutical Bulletin. 2005; (28), 2011-2015.
- Orhan, Z., Cevher, E., Yildiz, A., Ahiskali, R., Sensoy, D., Mülazimoglu, L.. Biodegradable microspherical implants containing teicoplanin for the treatment of methicillin-resistant Staphylococcus aureus osteomyelitis. Archives of Orthopaedic and Trauma Surgery. DOI 10.1007/s00402-009-0886-9.
- Özalp, Y., Özdemir, N., Kocagöz, S., Hasirci, V.. Controlled release of vancomycin from biodegradable microcapsules. Journal of Microencapsulation. 2001; (18), 89-110.
- Pankey, G.A., Ashcraft, D.S.. The detection of synergy between meropenem and polymyxin B against meropenem-resistant Acinetobacter baumannii using Etest® and time-kill assay. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. 2009; (63), 228-232.
- Park, J.H., Choi, S.O., Kamath, R., Yoon, Y.K., Allen, M.G., Prausnitz, M.R.. Polymer particle-based micromolding to fabricate novel microstructures. Biomed Microdevices. 2007; (9), 223-234.
- Pereira, J.G., Pova, P.. Antibiotics in critically ill patients – a systematic review of the pharmacokinetics of beta-lactams. Critical Care. 2011. 15:R206 doi: 10.1186/cc10441.
- Pérez-Simón, J.A., García-Escobar, I., Martínez, J., Vázquez, L., Caballero, D., Cañizo, C., Mateos, M.V., San Miguel, J.F.. Antibiotic prophylaxis with meropenem after allogeneic stem cell transplantation. Bone Marrow Transplantation. 2004; (33), 183–187.
- Popham, G.J., Manguno, P., Seligson, D., Henry, S.L.. Antibiotic-impregnated beads. Part II: Factors in antibiotic selection. Orthopedic Review. 1991; 20 (4): 331-337.
- Quaglia, F., De Rosa, G., Granata, E., Ungaro, F., Fattal, E., La Rotonda, M.I.. Feeding liquid, non-ionic surfactant and cyclodextrin affect the properties of insulin-loaded poly (lactide-co-glycolide) microspheres prepared by spray drying. Journal of Controlled Release. 2003; (86), 267-278.
- Rafiq, I., Gambhir A.K., Wroblewski B.M., Kay, P.R.. The microbiology of infected hip arthroplasty. International Orthopaedics (SICOT). 2006; (30) 532–535.
- Ramchandani, M., Robinson, D.. *In vitro* and *in vivo* release of ciprofloxacin from PGLA 50:50 implants. Journal of Controlled Release. 1998; (54), 167–175.

- Ré, M.I.. Microencapsulção em busca de produtos inteligentes. *Ciência Hoje*. 2000; (27):162, 25-29.
- Rhomberg, P.R., Deshpande, L.M., Kirby, J.T., Jones, R.N.. Activity of meropenem as serine carbapenemases evolve in US Medical Centers: monitoring report from MYSTIC Program (2006). *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2007; (59), 425-432.
- Rhomberg, P.R., Jones, R.N.. Summary trends for the Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection Program: a 10-year experience in the United States (1999–2008). *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2009.
- Roberts, J.A., Kirkpatrick, C.M.J., Roberts, M.S., Robertson, T.A., Dalley, A.J., Lipman, J.. Meropenem dosing in critically ill patients with sepsis and without renal dysfunction: intermittent bolus versus continuous administration? Monte Carlo simulations and subcutaneous tissue distribution. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2009; (64) 142-150.
- Romanelli, G., Cravarezza, P.. Intramuscular meropenem in the treatment of bacterial infections of the urinary and lower respiratory tracts. Italian Intramuscular Meropenem Study Group. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 1995; (36), 109-119.
- Rowe, R.C., Sheskey, P.J., Quinn, M.E. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. Sixth Edition. Pharmaceutical Press. 2009.
- Sáez, V., Estibaliz, Sanz Angulo, L., Katime, I.. Liberación controlada de fármacos. Micropartículas. *Revista Iberoamericana de Polímeros*. 2004; Vol. 5(2).
- Sánchez-Brunete Santos, J.A.. Microesferas con anfotericina B para el tratamiento de la Leishmaniosis visceral. Tesis Doctoral, Madrid, 2003.
- Sánchez-Brunete, J.A., Dea, M.A., Rama, S., Bolas, F., Alunda, J.M., Torrado Durán, S., Torrado Durán, J.J.. Influence of the vehicle on the properties and efficacy of microparticles containing amphotericin B. *Journal of Drug Targeting*. 2005; 13 (4): 225-233.
- Sayin S., Çalis, S., Atilla, B., Marangoz S., Hinchal, A.. Implantation of vancomycin microspheres in blend with human/rabbit bone grafts to infected bone defects. *Journal of Microencapsulation*. 2006; (23): 553-566.
- Schnieders, J., Gbureck, U., Thull, R., Kissel, T.. Controlled release of gentamicin from calcium phosphate – poly(lactic acid-co-glycolic acid) composite bone cement. *Biomaterials*. 2006; (27), 4239-4249.

- Seong, H., An, T.K., Khang, G., Choi, A.U., Lee, C.O., Lee, H.B.. BCNU-loaded poly (D,L-lactide-co-glycolide) wafer and antitumor activity against XF-498 human CNS tumor cells *in vitro*. *International Journal of Pharmaceutics*. 2003; (251), 1-12.
- Shah, P.M.. Parenteral Carbapenems. *Clinical Microbiology and Infection*. 2008; (14).
- Shi, X., Wang, Y., Ren, L., Huang, W., Wang, D.A.. A protein/antibiotic releasing poly (lactic-co-glycolic acid) lecithin scaffold for bone repair applications. *International Journal of Pharmaceutics*. 2009; (373), 85-92.
- Solomon, A.W., Stott, P.M., Duffy, K., Kumar, P.G.A., Holliman, R.E., Bridle, S.H.. Elution and antibacterial activity of meropenem from implanted acrylic bone. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2010; doi:10.1093/jac/dkq196.
- Suárez, C., Gudiol, F.. Antibióticos betalactámicos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2009. (27), 116-129.
- Takahashi, M., Onishi, H., Machida, Y.. Development of implant tablet for a week long sustained release. *Journal of Controlled Release*. 2004; (100), 63-74.
- Tanaka, S., Matsui, H., Kasai, M., Kunishiro, K., Takeya, N., Shirahase, H.. Novel prodrugs of meropenem with two lipophilic pro-moieties: synthesis and pharmacokinetics. *The Journal of Antibiotics*. 2011; (64), 233-242.
- Thalhammer, F., Traunmüller, F., Menyawi, I.E., Frass, M., Hollenstein, U.M., Locker, G.J., Stoiser, B., Staudinger, T., Thalhammer-Scherrer, R., Burgmann, H.. Continuous infusion versus intermittent administration of meropenem in critically ill patients. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 1999; (43), 523-527.
- Turner, P.J.. MYSTIC Europe 2007: activity of meropenem and other broad spectrum agents against nosocomial isolates. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2009; (63), 217-222.
- USP 38 (United States Pharmacopoeia 38). May 2014.
- Valero, J., Egea, M.A., Alsina, M.A., García, M.L.. Sistemas poliméricos de administración de fármacos. *Nanoesferas y microcápsulas*. *Pharmaceutical Industry*. 1993; 93-101.
- Van Ende, C., Tintillier, M., Cuvelier, C., Domenici, A., Luciani, R.. Intraperitoneal Meropenem Administration: a Possible Alternative to the Intravenous Route. *Peritoneal Dialysis International*. March 2010; (30), 250-258.

- Virto, M.R., Elorza, B., Torrado, S., Elorza, M.A., Frutos, G.. Improvement of gentamicin poly (D, L-lactic-co-glycolic acid) microspheres for treatment of osteomyelitis induced by orthopedic procedures. *Biomaterials*. 2007; (28), 877–885.
- Wang, G., Liu, S.J., Ueng, S.W.N., Chan, E.C.. The release of cefazolin and gentamicin from biodegradable PLA/PGA beads. *International Journal of Pharmaceutics*. 2004; (273), 203-212.
- Wenzel, R.P. The economics of nosocomial infections. *Journal of Hospital Infections*. 1995; (31), 79–87.
- Xu, Q., Czermuszka, J.T.. Controlled release of amoxicillin from hydroxyapatite-coated poly (lactic-co-glycolic acid) microspheres. *Journal of Controlled Release*. 2008; (127), 146-153.
- Zhanel, G.G., Wiebe, R., Dilay, L., Thomson, K., Rubinstein, E., Hoban, D.J., Noreddin, A.M., Karlowsky, J.A.. Comparative Review of Carbapenems. *Drugs*. 2007; 67 (7): 1027-1052.