

Influencia de la esterilización sobre el comportamiento reológico y pH de una dispersión isotónica de hidroxipropilmetilcelulosa

Isabel Andueza*, Gisela Ávila y Doris Attias

*Departamento de Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad Central de Venezuela, Ciudad Universitaria, Urb. Los Chaguaramos, Caracas–Venezuela. Fax: 0058212 605.2707; e-mail: aduezai@camelot.rect.ucv.ve

Recibido el 25 de noviembre del 2002; aceptado el 27 de agosto del 2004

Resumen. La Hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), tiene muchas aplicaciones en el campo oftalmológico. En este trabajo se evaluó la influencia del proceso de esterilización por calor húmedo (121°C por 15 min), de una dispersión de Hidroxipropilmetilcelulosa al 2% 4000 cps, sobre las propiedades reológicas y el pH. La dispersión antes y después de esterilizar, presentó flujo pseudoplástico; este comportamiento no presentó diferencias durante el tiempo de reposo (72 horas, 3, 6, 9 semanas y 4 meses); a diferencia de la dispersión no estéril transcurrido 4 meses. El pH fisiológico de la dispersión se mantiene, una vez sometida al proceso de esterilización. En la elaboración y esterilización hay que considerar dos etapas de reposo: Primera, 24 horas antes del llenado. Segunda, al menos 72 horas, después de esterilizar.

Palabras clave: Esterilización, reología, pH

Abstract. Hydropropylmethylcellulose (HPMC), has many applications in ophthalmic preparations. In this contribution, the influence of the sterilization process by humid heat (121°C by 15 min) of an ophthalmological dispersion of hydropropylmethylcellulose at 2% 4000 cps were evaluated by the rheology properties and pH. The dispersion, before and after sterilizing, have pseudoplastic flux. This behavior not presenting differences among 72 h, 3, 6, 9 weeks and 4 month was observed. The no sterile dispersion at 4 month, had different behavior. The pH physiological stays once put under the sterilization process. In the process of elaboration and sterilization is necessary to consider two periods: First - To prepare the dispersion 24 hours before the filling. Second - To maintain in rest at least 72 hours, after sterilizing.

Key words: Sterilization, rheology, pH

Introducción

El número cada vez más elevado de pacientes portadores de sequedad ocular ha hecho que el ojo seco sea en la actualidad, uno de los mas frecuentes motivos de consulta de la práctica oftalmológica diaria. Esta incidencia, ha colocado a la sequedad ocular como uno de los principales tópicos de las investigaciones oftalmológicas actuales [1].

El ojo requiere humedad para mantener su superficie sana. Cuando la cantidad de lágrimas que el ojo produce es insuficiente o de mala calidad se produce este tipo de enfermedad, que es considerada hoy en día como parte integrante de una serie de patologías agrupadas bajo la denominación común de *enfermedades de la superficie ocular* [1].

La cura de esta enfermedad es bastante difícil, sin embargo su manejo y tratamiento utilizando las lágrimas en gotas o geles humectantes, donde la hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) juega un papel importante ya que posee la capacidad de interactuar con la superficie del epitelio mucosal [2] y ejercer su capacidad protectora de cubrir el endotelio corneal, conservar la forma de la cavidad intraocular y disminuir la evaporación de las lágrimas [3]. Este polímero es también empleado en cirugía intraocular como viscoelástico [4].

Es importante señalar que desde el punto de vista farmacéutico el desarrollo de fórmulas oftalmológicas requiere de rigurosos ensayos, tomando en consideración el aporte osmótico, pH, composición iónica, esterilidad, entre otros [3,5].

En este trabajo se evaluó el comportamiento reológico en función del tiempo y los perfiles de pH de una dispersión base

de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) al 2%, 4000 cps en agua y de otra con mezclas de sales a fin de hacerlas isotónica, así como la influencia del proceso de esterilización por calor húmedo sobre estos parámetros físicos.

El estudio de estos parámetros físicos tiene gran importancia en este tipo de formulación. En el estudio reológico, las formulaciones bajo la forma de colirio deben presentar poca resistencia al parpadeo para que se forme con facilidad, la película humectante en la superficie ocular. En los productos viscoelásticos para cirugía, su forma de aplicación es mediante una inyectora, donde la fuerza aplicada para la salida del fluido debe ser baja, presentando poca resistencia a fluir; pero una vez colocado en el sitio donde va a ejercer su efecto protector de los tejidos, debe adquirir nuevamente su alta viscosidad. Con todo lo anterior, se debe enfatizar la importancia del comportamiento reológico de los fluidos a ser aplicados en el ojo que, deben semejarse al que presentan los fluidos lagrimales.

El pH debe encontrarse dentro del rango fisiológico de los fluidos oculares a fin de evitar molestias o daños al paciente, por lo que el proceso de esterilización, no debe modificar ese parámetro. La presencia de la mezcla de sales a las concentraciones establecidas, se justifica en función de obtener una dispersión isotónica, con pH fisiológico donde la mezcla de sales incorporadas trata de simular el contenido salino de las lágrimas naturales del ojo humano. Este trabajo servirá de base para el desarrollo de formulaciones oftálmicas con características viscoelásticas, lágrimas artificiales y geles humectantes que al ser sometidos a un estudio económico presentarán

menor costo, si se comparan con los productos importados que se encuentran en el mercado, siendo esto una alternativa para pacientes de escasos recursos económicos, contribuyendo así a mejorar su calidad de vida.

Resultados y discusión

El comportamiento de las dispersiones isotónicas de HPMC al 2% sometidos a esterilización a diferentes tiempos (15, 20, 30, 40 min) demostró, que a estos tiempos se lograba un producto estéril, lo que nos permitió seleccionar el tiempo menor de 15 min para la esterilización; así mismo, la experiencia en la industria farmacéutica nacional, aplicando 15 min de esterilización para dispersiones de HPMC en agua está establecido en los procedimientos de rutina validados, lo cual corrobora la selección.

En una publicación anterior [6] se reportó que el flujo de dispersiones acuosas de HPMC al 2% y con mezclas de las mismas sales usadas en este trabajo, presentaron un comportamiento pseudoplástico Figura 1. El contenido salino empleado es con la finalidad de semejar la composición de sales del humor acuoso y de las lágrimas naturales.

En esa misma figura se observa que el proceso de esterilización no tiene influencia sobre el comportamiento reológico pseudoplástico de las dispersiones; según prueba de *t* de comparación de pendientes entre la dispersión antes y después de esterilizar, con 99% de exactitud [7]. Este polímero se deforma por el incremento de la velocidad de corte, disminuyendo el flujo y como consecuencia la viscosidad. Este tipo de flujo es el deseado en las dispersiones oftálmicas ya coincide con el reportado para las lágrimas naturales del ojo humano, y además ofrece menos resistencia al parpadeo que una dispersión de flujo Newtoniano; por ende tiene una mayor aceptación por parte del paciente; sobre todo en el caso que se desee desarrollar fórmulas oftálmicas de geles humectantes de HPMC.

En la Figura 2, se observan las viscosidades de la dispersión al transcurrir 24, 48 y 72 h después del proceso de esterilización. A las 24 y 48 h, no se ha alcanzado la máxima viscosidad, esto se debe probablemente a que durante ese período, las fuerzas débiles de Van Der Waals polímero-solvente han variado como consecuencia del proceso de esterilización, en donde el polímero se desolvata perdiendo parte de su agua de hidratación y por ende ocurre el decrecimiento de los valores de viscosidad.

El mismo comportamiento pseudoplástico y máxima viscosidad se pudo observar, una vez sometida la dispersión al proceso de esterilización con posterior reposo de 72 h. Este tiempo pareciera ser el que permite que la macromolécula flexible recupere su ordenamiento.

En las Figuras 3 y 4 se observa una ligera diferencia entre los valores ascendentes y descendentes de fuerza de corte contra r.p.m. a las 24 y 48 h.

Este hallazgo puede ser debido a que bajo las condiciones de 120 °C, 15 min, se modifica el grado de polimerización molecular, experimentando un cambio en la estructura la cual

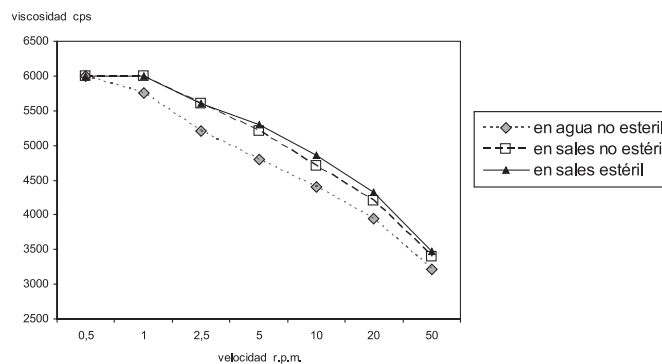


Fig. 1. Reogramas de las dispersiones de HPMC al 2 % en agua y en solución de sales (antes y después de esterilizar), a 26°C.

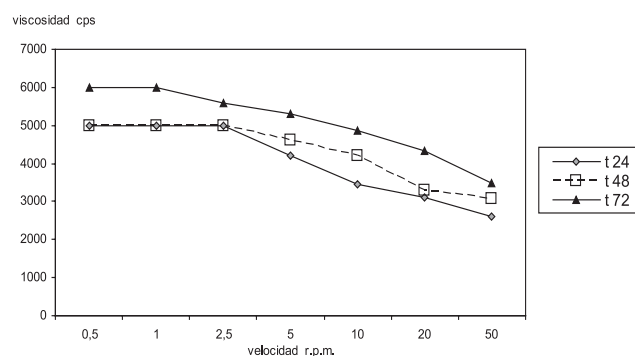


Fig. 2. Viscosidad de la dispersión isotónica de HPMC al 2% después de esterilizar, a los tiempos (t24, t48, t72 h), a 26°C.

se recupera al dejarla en reposo por al menos 72 h. Tiempo en el cual no hay cambio entre valores ascendentes y descendentes de viscosidad contra velocidad de corte.

En la Figura 5, se comparan los reogramas de la dispersión sin esterilizar y 72 h después de esterilizada, donde no se observa diferencia entre las respectivas pendientes, corroborado según prueba de *t* de comparación de pendientes con 99% de exactitud (7).

Los resultados obtenidos de los índices de pseudoplasticidad mostrados en la Tabla 1 indican, un comportamiento ligeramente pseudoplástico, donde todos los valores superan ligeramente la unidad, lo que descarta la presencia de un flujo newtoniano [8,9]. Esto nos reafirma que el proceso de esterilización no tiene influencia sobre las propiedades de flujo de la dispersión de HPMC en estudio, después de un reposo de 72 h.

Al comparar la dispersión a las 3 semanas, 6 semanas y 9 semanas después de su esterilización, no presentó diferencia entre las pendientes antes y después de sometida al proceso, aplicando el mismo procedimiento estadístico [7]. Los resultados a las 9 semanas se observan en la Figuras 6.

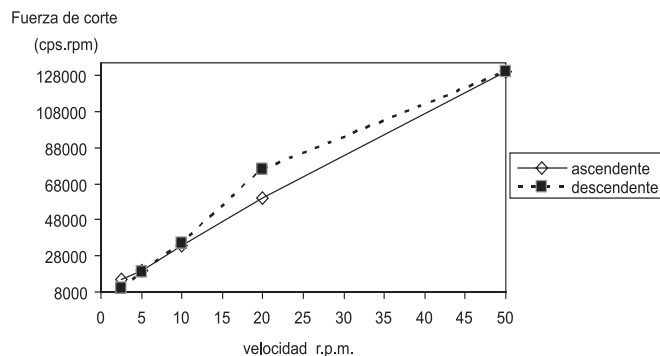


Fig. 3. Reograma ascendente y descendente de la dispersión isotónica de HPMC al 2%, a las 24 h después de esterilizar, a 26°C.

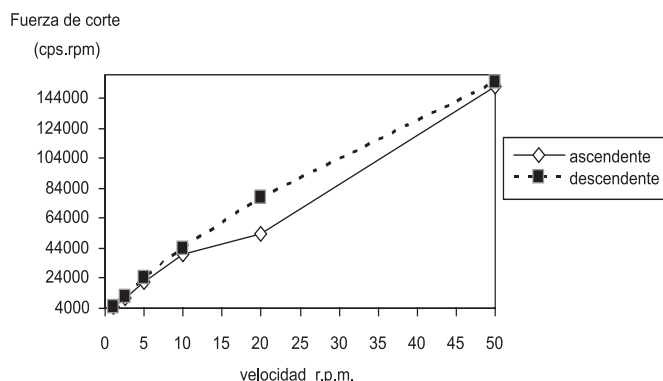


Fig. 4. Reograma ascendente y descendente de la dispersión isotónica de HPMC al 2%, a las 48 h después de esterilizar, a 26°C.

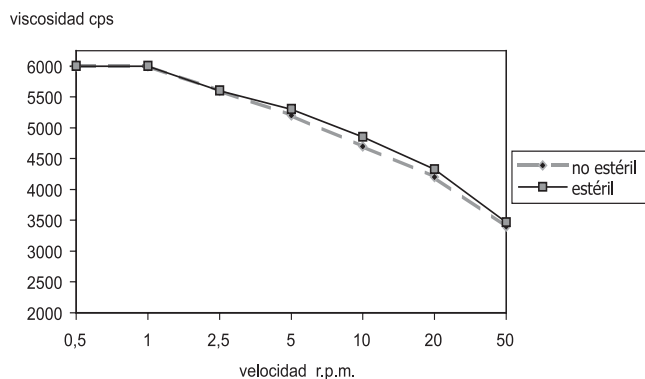


Fig. 5. Reogramas de la dispersión isotónica de HPMC al 2% antes y después de esterilizar, tiempo 72 h, a 26°C.

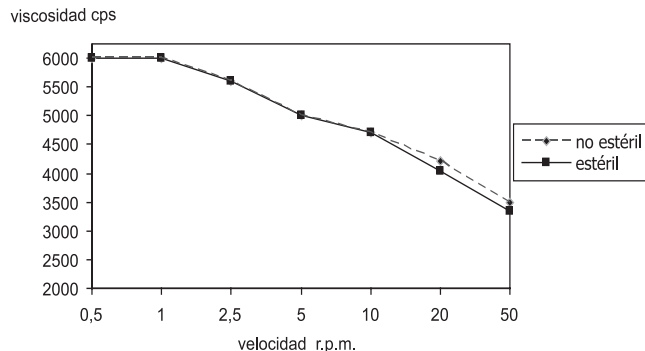


Fig. 6. Reogramas de la dispersión isotónica de HPMC al 2% antes y después de esterilizar, tiempo 9 semanas, a 26°C.

Tabla 1. Valores de Indices de Pseudoplasticidad de las dispersiones de HPMC a 26°C (tiempo de reposo 72 h)

Velocidad rpm	HPMC 2% en agua	HPMC al 2% isotónica sin esterilizar	HPMC al 2% isotónica estéril
5/10	1.091	1.106	1.09
10/20	1.114	1.119	1.121
20/50	1.227	1.235	1.246

En la Figura 7, se comparan los reogramas a las 72 h y a las 9 semanas antes y después de esterilizar; no presentando diferencias significativas. La macromolécula pareciera mantener su equilibrio correspondiente al promedio de cadenas alineadas y entrelazadas. Igual comportamiento se observó durante los periodos 3, 6 y 9 semanas.

Por otra parte la dispersión isotónica de HPMC al 2% antes y después de esterilizar, al haber transcurrido 4 meses, presentó diferencias entre las viscosidades. La dispersión sin esterilizar mostró un marcado derrumbamiento de la viscosidad Figura 8, probablemente debido al crecimiento microbiano. A pesar de no haberse determinado un conteo de colonias, las características físicas de la dispersión mostraron diferencias. La celulosa presente, es un nutriente que permite el crecimiento de microorganismos, produciendo así la degradación del polímero. Este resultado es de gran importancia y confirma la necesidad de esterilizar y preservar este tipo de formulación, a fin de asegurar su estabilidad y evitar riesgos en la salud del paciente.

Si se comparan los reogramas de la dispersión a las 72 h y 4 meses después de esterilizar, no se observa diferencia entre las respectivas pendientes; esto confirma una vez más que la dispersión estéril mantiene su comportamiento reológico durante ese lapso de tiempo. Figura 9.

El pH promedio de la dispersión isotónica y la solución acuosa de sales sin el polímero antes y después de esterilizar

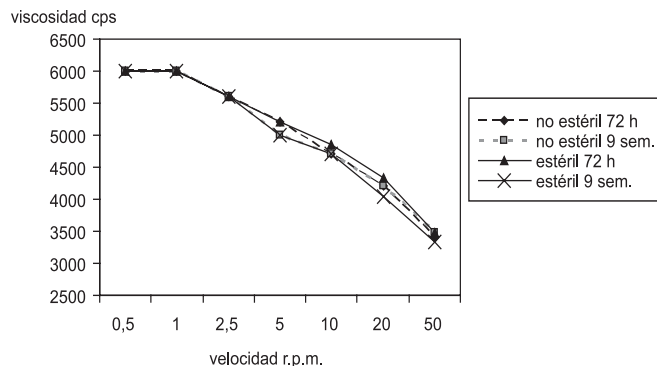


Fig. 7. Viscosidades de la dispersión isotónica de HPMC al 2% antes y después de esterilizar a 26°C, tiempos 72 horas y 9 semanas.

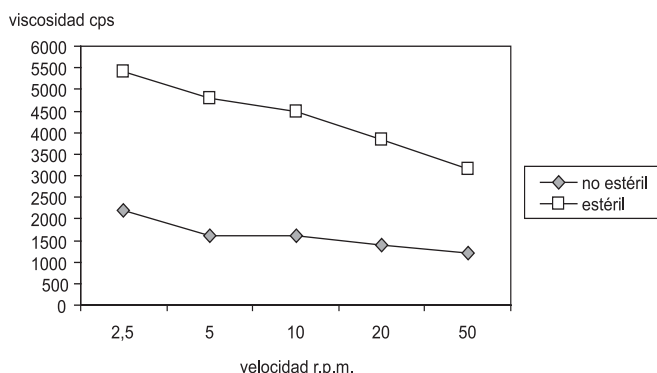


Fig. 8. Reogramas de las dispersiones isotónicas de HPMC al 2% antes y después de esterilizar, tiempo 4 meses, a 26°C.

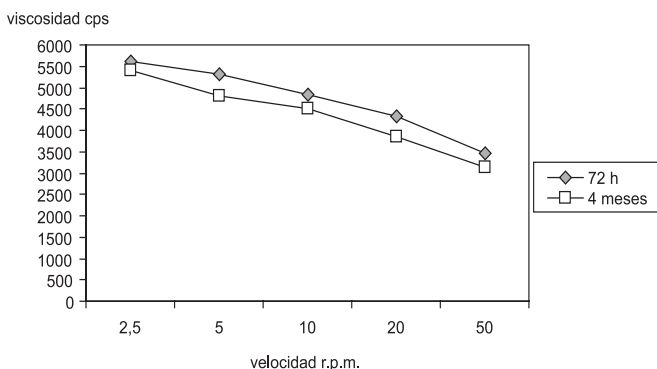


Fig. 9. Reogramas de la dispersión isotónica estéril de HPMC al 2%: tiempo 72 horas y 4 meses, a 26°C.

presentaron valores de pH dentro del rango permitido por la USP 24 (6.0-7.8) para dispersiones de HPMC de uso oftalmológico Figura 10, así mismo podemos observar que el proceso de esterilización no tiene influencia sobre el pH de la dispersión estudiada, según prueba de t de student de diferencia entre las medias de la dispersión antes y después de esterilizar con 95% de exactitud [7].

La presencia del polímero en la solución de las sales no influye en el pH de la dispersión final, ya que el pH de la dispersión salina del polímero corresponde con el pH de la solución de sales sin el polímero. De esta manera se confirma nuevamente [10], el papel preponderante que juega la combinación de las sales a fin de mantener el pH dentro del rango fisiológico de los fluidos lagrimales. Las sales de cloruro de sodio, cloruro de potasio, cloruro de calcio y cloruro de magnesio son sales neutras y no alteran el pH de la dispersión de HPMC [10]. Por otra parte, la incorporación del acetato de sodio y citrato de sodio que son sales provenientes de ácido débiles y bases fuertes son capaces de modificar y mantener el pH, dentro del rango fisiológico requerido.

Parte Experimental

La muestra de hidroxipropilmetilcelulosa 2910, 4000 cps en estudio, fue grado farmacéutico obtenida de Dow Chemical Co.

Las sales grado USP utilizadas fueron: cloruro de calcio, cloruro de sodio, cloruro de potasio, citrato de sodio, acetato de sodio, cloruro de magnesio. Las concentraciones empleadas y su aporte osmótico determinado por el método del equivalente en cloruro de sodio, se anexan en la Tabla 2.

La dispersión salina isotónica de HPMC al 2% fue preparada por duplicado y mantenida en reposo por 24 horas [10,11]; posteriormente fue envasada bajo campana de aire unidireccional en viales de borosilicato. La mitad del lote fue esterilizado en una autoclave Fanem 415 a 121°C a diferentes tiempos (15, 20, 30, 40 min) [11]. Luego se secó en una estufa Heraeus S/M 0°-100°C por 6 horas a 60°C con reposo de 72 horas. La otra mitad del lote se mantuvo sin esterilizar a fin de

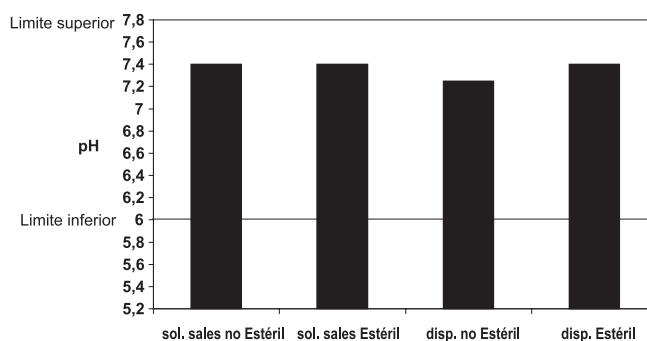


Fig. 10. pH de la dispersión isotónica de HPMC añ 2%, así como de la solución de sales (antes y después de esterilizar).

Tabla 2. Concentración de sales, aporte osmótico de las sales y valores del Equivalente en Cloruro de Sodio (E 1%).

Sales	Concentración empleada en %	Aporte osmótico	E 1%
Cloruro de calcio	0.048	0.02448	0.51
Citrato de sodio	0.170	0.0527	0.31
Cloruro de magnesio	0.03	0.0135	0.45
Acetato de sodio	0.39	0.1794	0.46
Cloruro de potasio	0.075	0.057	0.76
Cloruro de sodio	0.59	0.59	1

poder comparar durante el tiempo del estudio, la influencia del proceso de esterilización sobre las diferentes variables.

Las pruebas de esterilidad de las muestras, se realizaron siguiendo el método de transferencia directa de la USP 24 [12].

Se determinó la viscosidad en un viscosímetro rotacional Brookfield modelo RVT (13), con aguja No. 4 y realizadas las lecturas a temperatura ambiente (26 °C) de cada una de las dispersiones, empleando velocidades de 0.5, 1, 2.5, 5, 10, 20, 50, 100 rpm realizándole recorrido en sentido ascendente y descendente. Los valores se expresaron en centipoise. Todas las determinaciones de la dispersión isotónica esterilizada y no esterilizada se realizaron a las 24, 48, 72 h; 3, 6, 9 semanas y 4 meses después de finalizar el proceso de esterilización. Los límites permitidos de la USP 24, aceptan no menos de 75% y no mas de 140% de la viscosidad declarada para dispersiones de HPMC al 2% que contengan viscosidades superiores a 100 cps.

El comportamiento reológico se evaluó según prueba de t de comparación de pendientes significativa al 99%.

A la dispersión isotónica de HPMC al 2% antes y después de esterilizar, se les determinó los índices de pseudoplasticidad, relacionando las viscosidades obtenidas a 5 y 10 r.p.m a 10 y 20 r.p.m y a 20 y 50 r.p.m.

El estudio del pH de la dispersión, se realizó siguiendo la técnica de la USP 24 a 26°C en un potenciómetro Corning Scientific Instruments; modelo 5, con electrodo combinado de Ag-AgCl Orion 3104 BN.

La variación del pH se evaluó, según prueba de t de comparación de los valores medios significativa al 95%.

En resumen:

La dispersión isotónica de HPMC al 2% 4000 cps preparada en condiciones asépticas y esterilizada por calor húmedo a 121°C, durante 15 min; cumple con los requisitos de esterilidad establecidos por la USP 24 (12).

La dispersión en estudio, antes y después de esterilizar, presentaron flujo pseudoplástico, acorde con el tipo de flujo que se encuentra presente en las lágrimas naturales del ojo

humano facilitando la formación de la película, sin resistencia al parpadeo, así como también la salida del producto del envase.

No existe diferencia significativa, entre las pendientes de la dispersión isotónica antes y después de esterilizar cuando son evaluadas hasta las nueve semanas.

La dispersión isotónica de HPMC al 2% 4000 cps estéril mantiene su completa hidratación, máxima viscosidad y comportamiento pseudoplástico entre 72 h y 4 meses después de ser esterilizada. Período establecido para el estudio.

El proceso de esterilización, requisito indispensable en este tipo de formulación no modificó los parámetros físicos estudiados.

En el proceso de elaboración y esterilización hay que considerar dos etapas:

La primera es preparar la dispersión 24 h antes del llenado en los viales, a fin de asegurar hidratación completa, máxima viscosidad y claridad del polímero (10), y la segunda, mantener en reposo al menos 72 h, después de esterilizar, para lograr la recuperación completa de la estructura polimérica dentro de la dispersión de sales.

Agradecimiento

Laboratorios Farma S.A., y en especial, a la Dra. Aracelis Ortega. Al Instituto de Investigaciones Farmacéuticas de la Facultad de Farmacia de la Universidad Central de Venezuela por su aporte económico.

Referencias

1. Aguilar, A.; Ojo Seco. Páginas de Actualización en Oftalmología. <http://www oftalmologos.org.ar/publicaciones/aguilar.html> (2000)
2. Peppans, N.A.; Sahlin, J.J., *Biomaterials* **1996**, 17, 1553-1561.
3. Bapatla K.; Lorenzetti O.; in: Parenteral Medications, Vol. 2, Avis, K., Ed., Liberman H.; Lachman L. **1993**.
4. Liesegang, T.; Bourne W. *Am. J. Ophthalmol.* **1986**, 12, 723-726.
5. Turco S. Sterile Dosage Forms. Their preparation and clinical application. Ed., Lea & Febiger, **1994**, 28-31;57-75
6. Andueza I.; Avila G.; Attias D. *Rev. Soc. Quím. Méx.* **2000**, 44, 229-232.
7. Mendenhall, W. Introducción a la probabilidad y ala estadística. Ed., Wadsworth, Inc., **1982** 341-381.
8. Attias D., Reología de Sistemas Emulsificados Introducción, Técnicas para las Mediciones Reológicas. Universidad Central de Venezuela. **1991** 9-25.
9. Martin A. Physical Pharmacy. Ed., Lea & Febiger, **1993** 363-368/453/460.
10. Andueza I.; Avila G.; Attias D. *Rev. Soc. Quím. Méx.* **2000**, 44, 224-228.
11. Fechner, P.U., *Am. Intraocular Implant Soc. J.* **1985**, 11, 606-607.
12. The United State Pharmacopeia/Nacional Formulary (USP 24/NF 19). **2000**. 1818-1820,1850,2143-2148.
13. Fresno M.; Jiménez, M.; Selles, E.; *Ciencia Farmacéutica* **1993**, 3, 81-87.