



INTEGRACION,
EXTENSION,
DOCENCIA
E INVESTIGACION
PARA LA
INCLUSION
Y COHESION
SOCIAL

22 AL 25
NOVIEMBRE
DE 2011
SANTA FE
ARGENTINA



TITULO: Preparación de Sustancias de Referencia para Laboratorios de Producción Pública de Medicamentos

EJE: Ciencia, tecnología y sociedad

AUTORES: Laureano Sabatier¹; Gisela Samaja¹; María Luisa Villalba¹; Vanina Pérez²; Julián José Prieto²; Cecilia Beatriz Milazzo²

REFERENCIA INSTITUCIONAL: (1) Cátedra de Química Medicinal, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata (2) Unidad de Producción de Medicamentos (UPM), Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata

CONTACTOS: lbb@biol.unlp.edu.ar, upm@exactas.unlp.edu.ar

RESUMEN

Las sustancias de referencia (SR, comúnmente llamadas estándares) son compuestos químicos que se emplean habitualmente en los sectores de desarrollo y control de calidad de laboratorios productores de medicamentos, como así también en centros de salud pública. Las mismas son indispensables para ensayos fisicoquímicos que involucren identificación y/o cuantificación del fármaco (entre ellos ensayos de valoración, uniformidad de contenido en unidades de dosificación, ensayo de disolución) o de otros compuestos relacionados con el fármaco (sustancias relacionadas) cuyos límites admitidos son bajos y están vinculados con toxicidad del tratamiento. Habitualmente se emplean SR provistas por la Food and Drug Administration (FDA) de Estados Unidos (USP-RS) o las certificadas en la Comunidad Económica Europea (PhE-RS). Debido a la diferencia cambiaria, tanto USP-RS como las PhE-RS se caracterizan por su alto costo y su adquisición implica una erogación significativa para las unidades públicas de producción de medicamentos y centros de salud pública. Algunas SR se encuentran disponibles desde la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), a un precio accesible. No obstante, las más costosas a nivel internacional, por ejemplo las de sustancias relacionadas, no se encuentran disponibles aún por esta vía.

Nuestro proyecto propone abordar la obtención de SR de algunos fármacos prioritarios definidos por unidades de producción pública de medicamentos de todo el país,



INTEGRACION,
EXTENSION,
DOCENCIA
E INVESTIGACION
PARA LA
INCLUSION
Y COHESION
SOCIAL

22 AL 25
NOVIEMBRE
DE 2011
SANTA FE
ARGENTINA



focalizándonos en SR no disponibles en el listado de SR de ANMAT (<http://www.anmat.gov.ar/Medicamentos/suref6.asp>). Se prevé desarrollar los procedimientos de síntesis química, purificación, identificación y ensayos de control de calidad, que permitan obtener compuestos de referencia de máxima calidad y que cumplan requisitos impuestos por los órganos de control público. Las SR producidas se entregarán gratuitamente a unidades públicas de producción de medicamentos y centros de salud pública. Se reducirán de esta manera los costos de producción y control de medicamentos de centros de salud estatales y unidades productoras de medicamentos públicas. Este aporte redundará en un mejor aprovechamiento de los recursos (generalmente limitados) destinados a estas unidades.

Actualmente hemos avanzado en la obtención de SR de compuestos relacionados del enalapril (antihipertensivo) e ibuprofeno (analgésico, antiinflamatorio): dicetopiperacina del enalapril y 4-isobutilacetofenona, previéndose el inicio de su distribución gratuita a centros de salud pública y unidades de producción pública de medicamentos para fines de 2011. El proyecto se haya avalado por el Laboratorio Central de Salud Pública del Ministerio de Salud de la Provincia de Buenos Aires y por la Red de Laboratorios Públicos de Medicamentos para Producción, Investigación, Desarrollo y Servicios.

DESARROLLO

Las SR son compuestos químicos que se emplean habitualmente en los sectores de desarrollo y control de calidad de laboratorios productores de medicamentos, como así también en centros de salud pública. Las mismas son indispensables para realizar controles analíticos de rutina necesarios para garantizar la seguridad y eficacia del medicamento, tales como ensayos de identificación, valoración, uniformidad de contenido en unidades de dosificación y ensayo de disolución, o para cuantificar la presencia de otros compuestos relacionados con el fármaco (sustancias relacionadas) cuyos límites admitidos son bajos y están vinculados con toxicidad del tratamiento. Las SR que se emplean suelen estar certificadas o bien por la Food and Drug Administration (FDA) de Estados Unidos (USP-RS) o por la Comunidad Económica Europea (PhE-RS). Debido a la diferencia cambiaria entre nuestro país y Estados Unidos y Europa, tanto USP-RS como las PhE-RS se caracterizan por su alto costo y su adquisición implica una erogación significativa para las unidades



INTEGRACION,
EXTENSION,
DOCENCIA
E INVESTIGACION
PARA LA
INCLUSION
Y COHESION
SOCIAL

22 AL 25
NOVIEMBRE
DE 2011
SANTA FE
ARGENTINA



públicas de producción de medicamentos y centros de salud pública (su costo se encuentra en el rango de US\$ 158 ó €115 los 300 mg a US\$ 620 ó €425 por 20 mg, según de qué sustancia se trate). Las Algunas SR están disponibles desde la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) tienen un precio de \$410 en cantidades variables (entre 25 y 300 mg, según el compuesto del que se trate), sin embargo muchas de las más costosas a nivel internacional, por ejemplo las de compuestos relacionados, no se encuentran disponibles por esta vía. Proponemos obtener SR de algunos fármacos prioritarios definidos por unidades de producción pública de medicamentos de todo el país, focalizándonos en SR no disponibles en el listado de SR de ANMAT (<http://www.anmat.gov.ar/Medicamentos/suref6.asp>).

Se han relevado las principales necesidades de SR en plantas de producción pública de medicamentos de la Red de Laboratorios Públicos de Medicamentos para Producción, Investigación, Desarrollo y Servicios. Sobre el listado generado, la cátedra de Química Medicinal ha seleccionado, teniendo como criterios el costo y la factibilidad de obtención, un conjunto de fármacos de diversas categorías terapéuticas de los que se generarán SR. El listado de fármacos seleccionados es un listado dinámico que irá variando en relación a las necesidades prioritarias de las unidades de producción pública de medicamentos asociadas al proyecto, la disponibilidad de sustancias relacionadas que puede ser adquiridas desde ANMAT, posibles emergencias sanitarias nacionales y regionales, etc..

Hemos abordado, inicialmente, la obtención de dicetopiperacina de enalapril (una de las sustancias relacionadas del fármaco antihipertensivo enalapril) y de la 4-isobutilacetofenona (sustancia relacionada del analgésico antiinflamatorio ibuprofeno).

Las SR se obtienen, según sea conveniente, por síntesis química o por purificación/aislamiento. En el caso de recurrir a técnicas de purificación, se utilizan, según corresponda, recristalización desde distintos solventes, extracción o cromatografía preparativa. La síntesis, purificación y control de pureza (control por cromatografía en capa delgada –TLC-, punto de fusión mezcla –pf-, rotación óptica) se realizan en la Cátedra de Química Medicinal y el control de calidad se lleva a cabo en el Laboratorio de Control de Calidad de la Unidad de Producción de Medicamentos, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP (control por HPLC, IR, RMN, estudios de estabilidad en acelerada y en estantería). En la figura 1 se presenta un esquema de flujo de trabajo. Se busca obtener un grado de pureza adecuado para el empleo al que se reservan las SR, comprendido entre 99.5 y 100.5% de pureza.

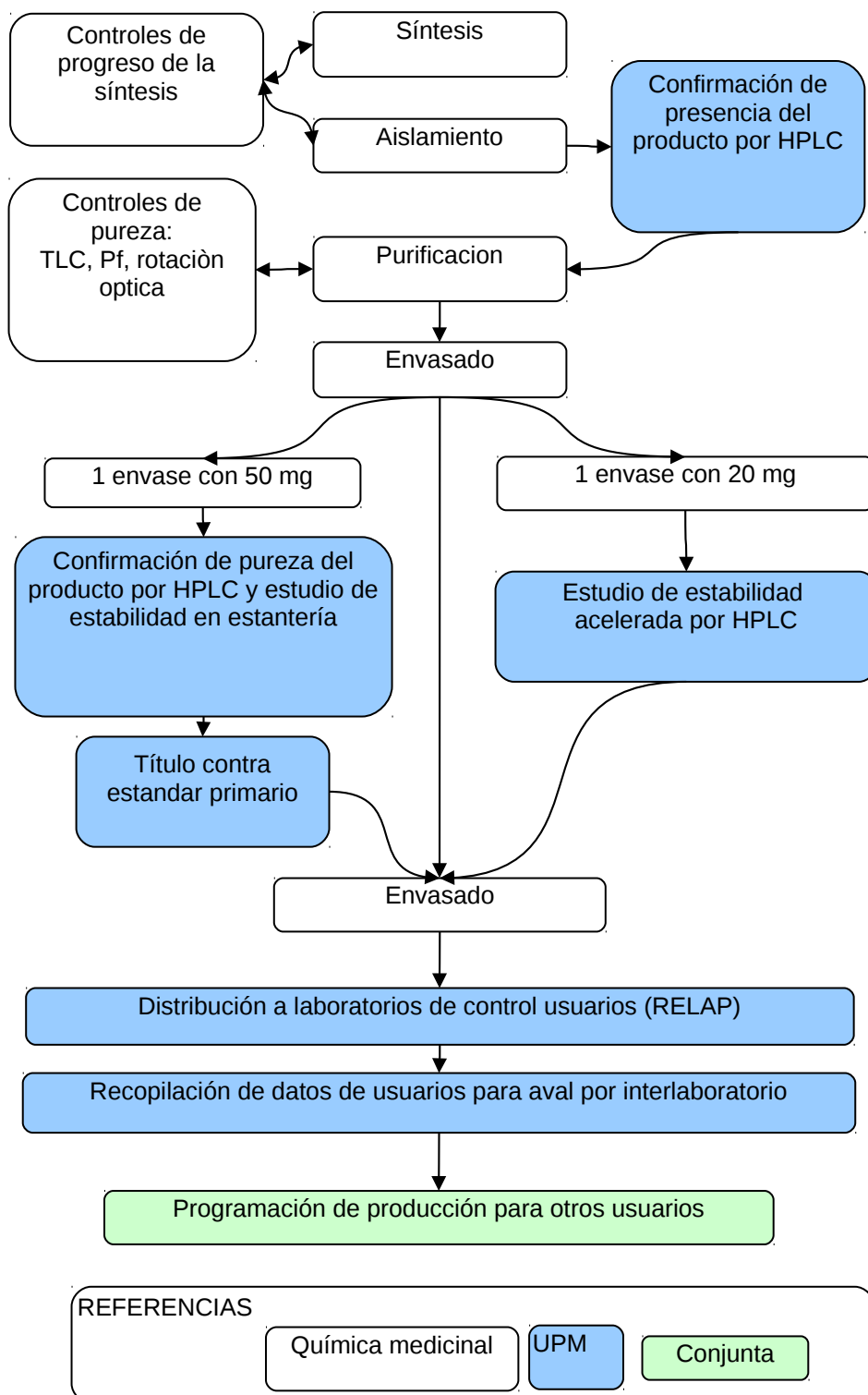


Figura 1. Esquema según el cual se aborda la obtención de SR.



INTEGRACION,
EXTENSION,
DOCENCIA
E INVESTIGACION
PARA LA
INCLUSION
Y COHESION
SOCIAL

22 AL 25
NOVIEMBRE
DE 2011
SANTA FE
ARGENTINA



Los objetivos del proyecto pueden resumirse, por lo tanto, en: obtener, por síntesis química y/o purificación, SR utilizadas cotidianamente en plantas de producción pública de medicamentos de todo el país; desarrollar u optimizar metodologías que permitan la preparación de las SR objetivo; controlar, por medio de distintas técnicas de análisis de compuestos orgánicos, la calidad de las SR obtenidas; proveer SR gratuitamente a unidades de producción de medicamentos estatales y a centros de salud pública.

Por cada compuesto se dedican unas dos o tres semanas a búsqueda bibliográfica y planificación, y entre dos y tres meses para la obtención de 3 gramos de SR; luego se procede a realizar los estudios de estabilidad acelerada. Se estima la obtención de las SR necesarias para el control de calidad de medicamentos, de cinco a seis fármacos por año, teniendo en cuenta la asequibilidad de las mismas para dicha programación. Se prevé desarrollar los procedimientos fisicoquímicos que permitan obtener compuestos de referencia de máxima calidad y que cumplan requisitos impuestos por los órganos de control público, reduciendo la erogación asociada a adquisición de SR y por ende los costos de producción y control de medicamentos de centros de salud estatales y unidades productoras de medicamentos públicas. Este aporte redundará en un mejor aprovechamiento de los recursos (generalmente limitados) destinados a estas unidades, permitiendo simultáneamente destinar los fondos ahorrados a una mayor escala de producción y/o mejora de equipamiento. Mediante este proyecto, que prevemos como experiencia piloto con posibilidades de expansión, estimamos generar SR que de otra manera costarían un estimado de \$70000 a las unidades productoras de medicamentos beneficiarias.

Resultados alcanzados.

La dicetopiperacina de enalapril se obtuvo por calentamiento de maleato de enalapril entre 140 y 150 grados, durante 10 minutos (ciclación térmica). Las condiciones de obtención se optimizaron mediante estudios de calorimetría diferencia de barrido. La Figura 2 presenta el esquema de reacción.

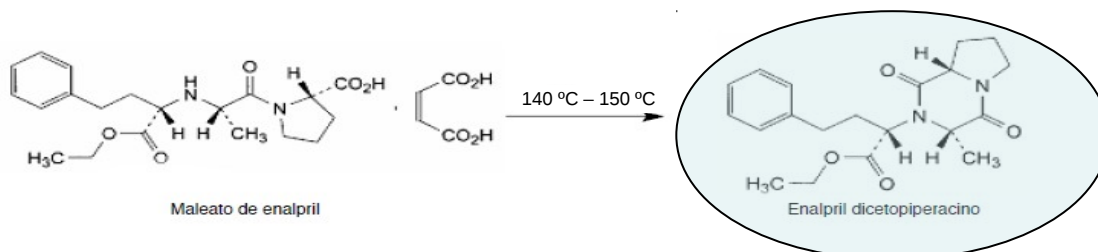


Figura 2. Obtención de dicetopiperacina de enalapril.

La purificación se realizó mediante cromatografía en columna y subsecuente recristalización con mezcla de solventes. El control de calidad se llevó a cabo mediante cromatografía en capa delgada y HPLC (Figura 3). Se utilizó un equipo HPLC Shimadzu UFLC Prominence con detector UV con arreglo de diodos, ajustado a 215 nm, y una columna de octadecilsilano unida a partículas de sílice de 5 μm de 250 mm x 4 mm, fase móvil: bufer fosfato pH 2,5:acetonitrilo (60:40), temperatura 50 grados. La identidad del producto obtenido se verificó mediante H-RMN y C-RMN (Figuras 4 y 5). Una vez verificada la identidad, se envasó en viales herméticos bajo atmósfera de nitrógeno un lote cuyo grado de pureza HPLC es adecuado para la determinación del título y los estudios de estabilidad acelerada y en estantería de una muestra museo. El título se determinará mediante un interlaboratorio en el marco de la RELAP. Finalmente se procederá a la entrega gratuita de las unidades producidas, correctamente documentadas y rotuladas a centros públicos de producción de medicamentos.

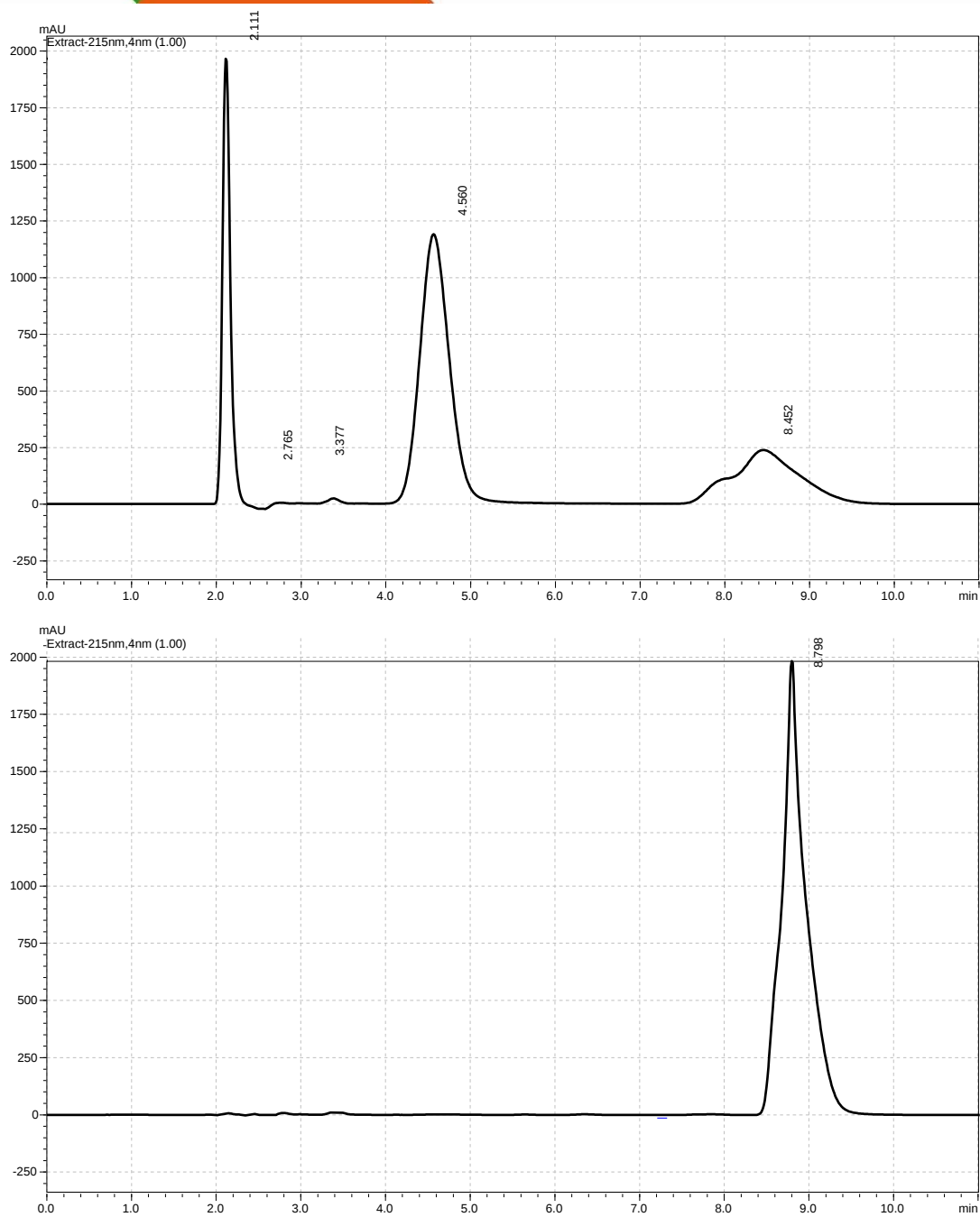
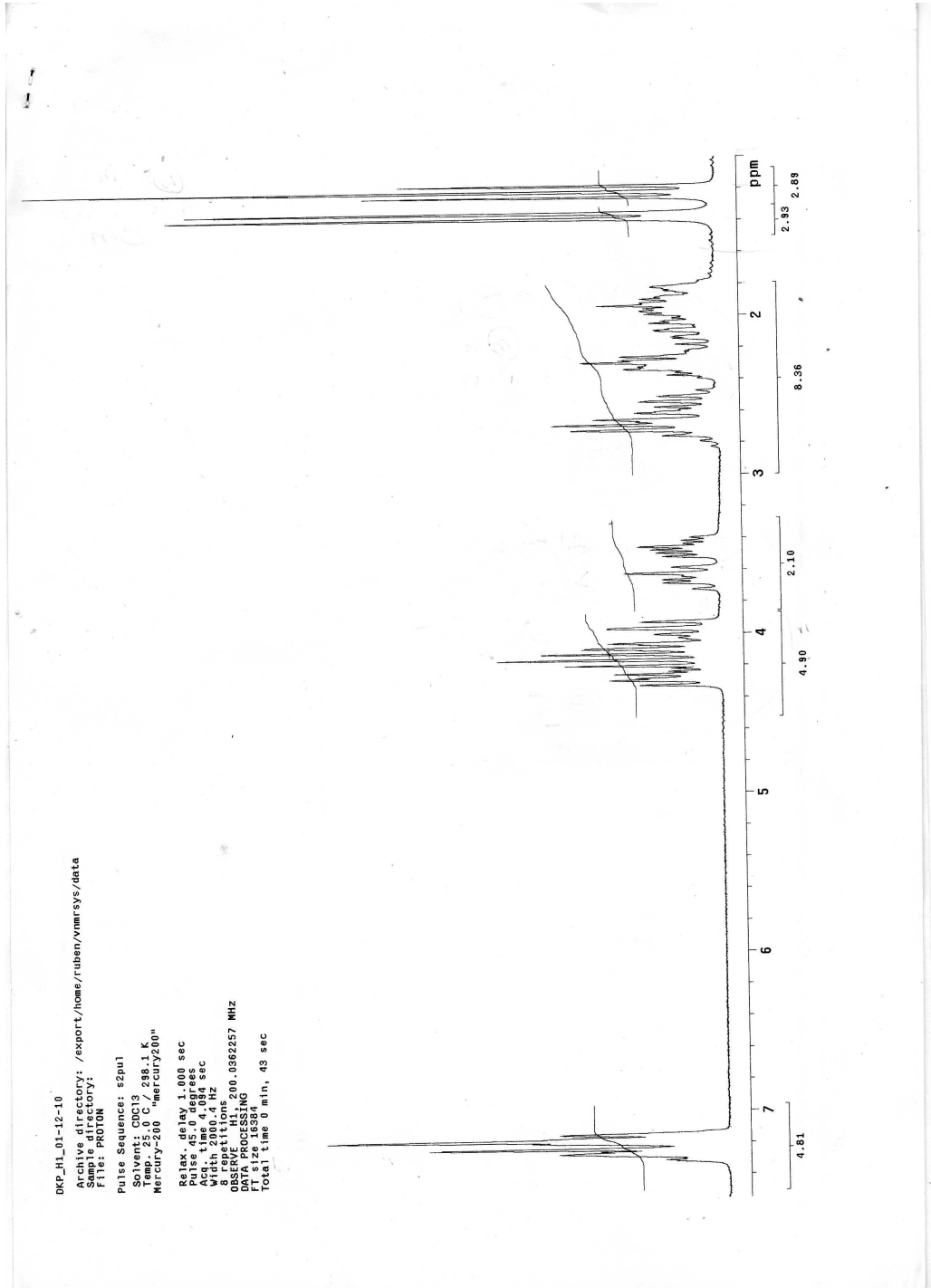


Figura 3. Cromatogramas. Mezcla de reacción (arriba); producto envasado puro (abajo).



la diketopiperacina,

Figura 4.
 Espectro
 H-RMN de

DKP_C13_01-12-10
Archive directory: /export/home/ruben/vnmr/sys/data
Sample directory:
File: CARBON
Pulse Sequence: s2pu1
Solvent: CDCl3, 298.1 K
Mercury-200 "mercury200"
Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
AQ 0.080000 sec
Width 12578.6 Hz
448 repetitions
OBSERVE C13, 50.291389 MHz
INSTRUM C13, 200.0372056 MHz
Power 33 dB, continuously on
WALTZ-16 modulated
NUC1 13C, 101.626100 MHz
Line broadening 1.0 Hz
FT size 32768
Total time 3 hr, 17 min, 17 sec

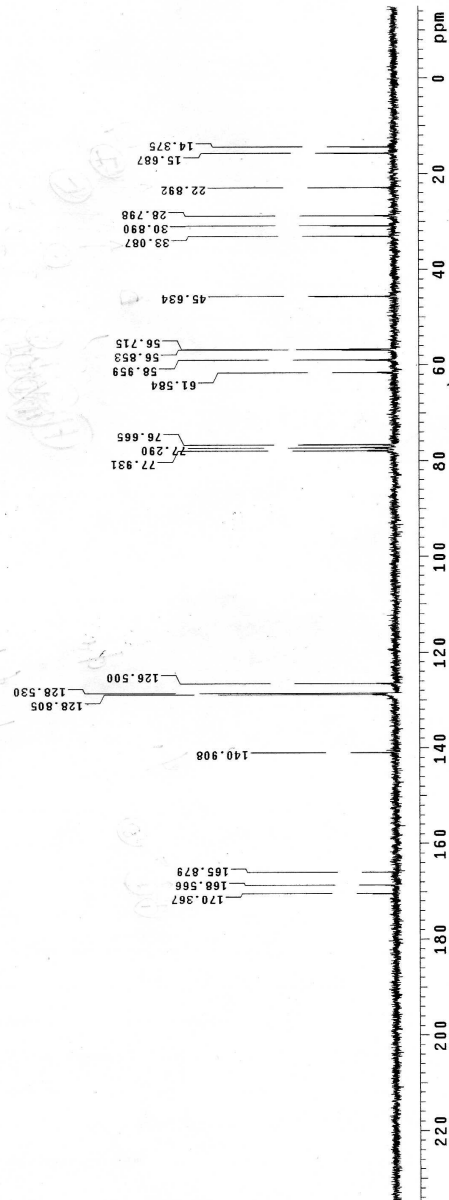


Figura
5.

Espectro H-RMN de la dicetopiperacina,



Por otro lado, se ha logrado la obtención de 4-isobutilacetofenona (Fig. 6). Actualmente nos encontramos en etapa de purificación de la misma mediante destilación.

Figura 6. 4-Isobutilacetofenona.

Consideramos que este proyecto ilustra las posibilidades de articular investigación y extensión, orientando la primera a la obtención, en el corto y mediano plazo, de resultados científico-tecnológicos de interés público y a la provisión tecnológica de instituciones públicos.

Agradecimientos.

Agradecemos a la Secretaría de Extensión de la Facultad de Ciencias Exactas, UNLP, por la acreditación del presente proyecto durante el período 2010-2013, y a la Secretaría de Extensión de la UNL, por la acreditación de este proyecto durante el período 2010-2012.