

Desarrollo de solución inyectable de ribavirina en el Centro Militar de Farmacia de la Defensa como tratamiento de urgencia frente a agentes víricos altamente infecciosos. Cobertura de una laguna terapéutica

Rodríguez Fernández, M.J.¹, Ballesteros Torres, E.², García Cifuentes, M.², Somalo Duque, S.¹, De Miguel Sebastián, A.², Díaz Martínez, S.², Díez Álvarez, N.²

Sanid. mil. 2019; 75 (3): 135-142, ISSN: 1887-8571

RESUMEN

Antecedentes: España por su situación geopolítica no está exenta de amenazas y desafíos asociados a enfermedades infecciosas víricas como las «fiebres hemorrágicas víricas». Implementar acciones para disminuir estos riesgos frente a agentes víricos con el desarrollo de un tratamiento de urgencia por vía intravenosa resulta de gran interés. **Objetivos:** Desarrollar dos formulaciones de Ribavirina 100 mg/ml con distintos excipientes y condiciones de fabricación para buscar la formulación más estable. **Material y métodos:** Se ha utilizado ribavirina, distintos tampones y agua para inyectables. Se ha evaluado alteraciones físicas, riqueza y pH siguiendo especificaciones de la monografía de la Farmacopea Europea. **Resultados:** Se exponen resultados de pH y riqueza de ambas formulaciones con y sin esterilización terminal. **Conclusiones:** Los resultados obtenidos cumplen especificaciones para ambas formulaciones, demostrando una estabilidad química tras su conservación en condiciones de estudios a largo plazo durante 12 meses y acelerados durante 6 meses. El desarrollo de la ribavirina 100 mg/ml (10% w/v) inyectable satisface una necesidad terapéutica relacionada con el tratamiento de primera elección en enfermedades víricas altamente contagiosas que carecen de tratamientos eficaces.

PALABRAS CLAVE: Ribavirina. Solución inyectable. Antiviral. Fiebres hemorrágicas.

Development of the injectable ribavirin solution at the Military Defense Pharmacy Center as an emergency treatment against highly infectious agents. Coverage of a therapeutic lagoon

SUMMARY: Background: Spain, due to its geopolitical situation, is not exempt from the threats and challenges associated with viral infectious diseases such as the «viral hemorrhagic fevers». Implementing actions to reduce these risks with the development of an emergency treatment against these viral agents for intravenous is of great interest. **Objective:** Develop two formulations of Ribavirin 100 mg/ml with different excipients and manufacturing conditions to look for the most stable formulation. **Material and methods:** Ribavirin, various buffers and water for injections have been used. Physical alterations, richness and pH have been evaluated following specifications of European Pharmacopoeia monograp. **Results:** Results of pH and richness of both formulations are exposed with and without terminal sterilization. **Conclusions:** The results obtained meet specifications for both formulations, demonstrating chemical stability after preservation under long-term study conditions for 12 months and accelerated for 6 months. The development of injectable 100 mg/ml ribavirin (10% w/v) satisfies a therapeutic need related to the treatment of first choice in highly contagious viral diseases that lack treatments.

KEY WORDS: Ribavirin. Injectable solution. Antiviral. Hemorrhagic fevers.

INTRODUCCIÓN

Según el panorama descrito por la Estrategia de Seguridad Nacional 2017, en los últimos años, el número de enfermedades emergentes identificadas y de situaciones de riesgo asociadas a ellas ha aumentado. Se han identificado al menos seis alertas sanitarias globales, todas ellas con un importante impacto a nivel

nacional: el Síndrome Respiratorio Agudo Grave, la gripe por virus A/H5N1, la pandemia de gripe por virus A/H1N1, la nueva diseminación internacional del poliovirus salvaje, la enfermedad por virus Ébola en África del Oeste y la infección por virus Zika¹.

Por otro lado, Europa y el mundo en su conjunto, viven una de las mayores crisis migratorias registradas desde la Segunda Guerra Mundial. En este drama humano se ha incrementado exponencialmente la migración por motivos económicos o relacionados con factores medioambientales. España, por su posición geoestratégica, está especialmente expuesta a este desafío. Prevenir, controlar y ordenar los flujos migratorios irregulares en las fronteras, así como garantizar una adecuada acogida e integración de los inmigrantes, ayuda al control de posibles enfermedades infecciosas de los países de origen¹.

España, un país que recibe más de 75 millones de turistas al año, con puertos y aeropuertos que se cuentan entre los de mayor tráfico del mundo, un clima que favorece, cada vez más,

¹ Capitán Farmacéutico. Centro Militar de Farmacia de la Defensa. Colmenar Viejo. España.

² Técnico Superior. Centro Militar de Farmacia de la Defensa. Colmenar Viejo. España.

Dirección para correspondencia: María José Rodríguez Fernández. Centro Militar de Farmacia de la Defensa. Base de San Pedro. Crtra. Miraflores s/n. Colmenar Viejo (Madrid).

Recibido: 19 de junio de 2019

Aceptado: 23 de julio de 2019

Doi: 10.4321/S1887-85712019000300003

Tabla 1. Agentes virales infecciosos.

Virus	Condición	Letalidad	Infectividad	Contagioso	Riesgo CDC
Alphavirus	Chikungunya Encefalitis equina del este Encefalitis equina venezolana Encefalitis equina occidental	Baja	Variable	No	B
Arenavirus	Fiebre Lassa	Alta	Alta	Sí	A
Bunyavirus	Fiebres hemorrágicas del Crimea-Congo	Alta	Alta	Sí	A
Filovirus	Fiebre hemorrágica del Ébola Fiebre hemorrágica Marburg	Alta	Alta	Sí	A
Flavivirus	Encefalitis japonesa	Baja	Alta	No	B
Influenza virus	Gripe	Baja	Alta	Sí	
Norovirus	Vómitos de invierno	Baja	Moderado	Sí	
Viruela sp	Viruela	Muy alta	Alta	Sí	A

Riesgo CDC (Clasificación de los centros de control de enfermedades): A: alta letalidad, alta infectividad y se contagia persona-persona; B: letalidad moderada, infectividad moderada, interés en salud pública, posible contagio persona-persona; C: amenaza emergente, potencial para usar en liberación deliberada

la extensión de vectores de enfermedades, con una población envejecida y una situación geopolítica polarizada, no está exenta de amenazas y desafíos asociados a enfermedades infecciosas tanto naturales como intencionadas. En este escenario, resulta primordial implementar acciones para minimizar riesgos, siendo preciso, además de reducir la vulnerabilidad de la población, desarrollar planes de preparación y respuestas ante amenazas y desafíos sanitarios, tanto genéricos como específicos¹.

Entre las diversas amenazas conviene destacar las relacionadas con la aparición y diseminación de agentes infecciosos entre la población. La capacidad de respuesta frente a los agentes infecciosos víricos resulta más limitada que la disponible frente a otros agentes patógenos (como bacterias, hongos, protozoos o incluso helmintos); además, los productos antivirales presentan una superior interacción con las células huésped, lo que se traduce en una mayor toxicidad.

El uso de toxinas y posibles agentes vivos para mejorar la capacidad de armas convencionales data de tiempo atrás. Las armas biológicas se caracterizan por su amplio potencial actuando sobre un gran número de personas en áreas amplias; de manera general, los requerimientos logísticos de este tipo de armas son mínimos y su detectabilidad es reducida². Los agentes infecciosos que pueden ser potencialmente empleados en armas biológicas son variados, entre ellos cabe la posibilidad de utilizar agentes patógenos virales causantes de enfermedades emergentes.

Tabla 2. Características clínicas según virus infectante.

Virus	Síntomas
Ebola/Marburg	Fiebre rápida Vómitos y diarrea Erupción maculopapular Encefalopatía Hepatomegalia Insuficiencia multiorgánica Mortalidad 30-90%
Lassa	Fiebre lenta Ojos eritematosos Edema facial Dolor de pecho Vómitos y diarrea Derrames Encefalopatía Discapacidad auditiva. Mortalidad significativa en mujeres embarazadas hasta 50% con 95% en fetos
Crimea-Congo	Fiebre rápida Exantema petequial Ojos eritematosos Dolor de garganta Vómitos y diarrea Letargo Hepatomegalia Mortalidad del 30-50%

En la Tabla 1 se muestra la gran variabilidad de agentes virales infecciosos, teniendo en consideración diversas características de los mismos relacionadas con su capacidad de generar riesgos relacionados con la salud en la población².

Entre las enfermedades infecciosas causadas por agentes víricos, resulta destacable el conjunto que se agrupa bajo la denominación de fiebres hemorrágicas víricas, que abarcan desde enfermedades autolimitadas, no transmisibles y leves (dengue) hasta enfermedades altamente contagiosas (Ébola, Lassa, Marburg y fiebre de Crimea-Congo). Todas son zoonosis y tienen como reservorios a animales, con insectos como vectores o exposición a excreciones animales como mecanismos de transmisión. La transmisión de persona a persona puede producirse por exposición a la sangre y fluidos corporales infectados, la aerosolización durante intervención médica, incluyendo hematemesis y hemoptisis, la inoculación o la vía gastrointestinal².

La clínica observada tras la infección se manifiesta con síntomas difusos como malestar, decaimiento, aumento de la permeabilidad vascular que puede dar lugar a manifestaciones hemorrágicas como hematomas y sangrados, fiebres muy altas (con una duración mayor a 7 días)³. Dependiendo del virus infectante, la clínica se desarrolla según se indica en la Tabla 2².

Resulta de interés disponer de medidas que permitan hacer frente a una contingencia provocada por la diseminación de un agente viral altamente infeccioso.

La ribavirina (1-β-D-ribofuranosil-1H-1,2,4-triazol-3-carboxamida) es un nucleósido sintético de la guanosina (Figura 1). Esta molécula se ha planteado como posible contramedida frente a las fiebres hemorrágicas descritas anteriormente²⁻⁷. Se trata de un antivirico de amplio espectro que *in vitro* se muestra activo frente a DNA y RNA vírico, mediante una inhibición de su replicación.

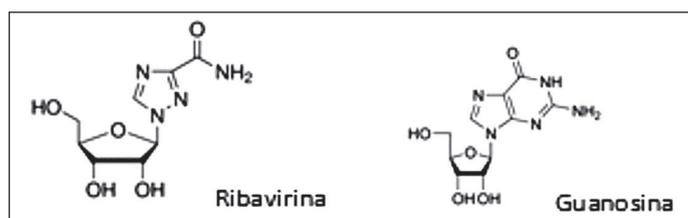
**Figura 1.** Estructura Ribavirina (izquierda) y Guanosina (derecha).

Tabla 3. Actividad antiviral de amplio espectro de la ribavirina.

ACTIVIDAD ANTIVIRAL DE AMPLIO ESPECTRO DE LA RIBAVIRINA		
Familia	Género	Tipo de Especie
Arenaviridae	Arenavirus	Virus Junin, Virus de la fiebre de Lassa, Virus Pinchinde, Virus de la coriomeningitis linfocítica.
Bornaviridae	Bornavirus	Borna virus de la enfermedad V y HE /80.
Bunyaviridae	Bunyavirus	San Angelo.
	Hantavirus	Virus Hantaan, Virus Seoul.
	Nairovirus	Virus de la fiebre hemorrágica de Crimea del Congo.
	Phlebovirus	Virus de la fiebre del Valle del Rift, Virus fiebre arena siciliano.
Coronaviridae	Coronavirus	Virus del síndrome respiratorio agudo severo, Virus del síndrome respiratorio de Oriente Medio, Virus de la Hepatitis murina.
Flaviviridae	Flavivirus	Virus del Dengue 1, 2, 4, Virus de la encefalitis japonesa, Virus Langat, Virus Usutu, Virus Wesselsbron, Virus del Nilo Occidental, Virus de la fiebre amarilla D17 y FNV, Virus Zika.
	Hepacivirus	GB virus B, Virus de la Hepatitis C.
Hepeviridae	Hepevirus	Virus de la Hepatitis E.
Orthomyxoviridae	Influenzavirus	Influenzavirus A, Influenzavirus B
Papillomaviridae	Virus del Papiloma	Virus del papiloma humano
Paramyxoviridae	Metapneumovirus	Adenovirus
	Morbillivirus	Virus del Sarampión
	Pneumovirus	Virus de Síndrome Respiratorio bovino, Virus de Síndrome Respiratorio humano.
	Respirovirus	Virus Sendai.
Poxviridae	Orthopoxvirus	Virus de la viruela del camello, Virus de la viruela bovina, Virus de la viruela del mono, Virus vacuna.
Retroviridae	Lentivirus	Virus de inmunodeficiencia humana, Virus de Maedi Visna.
Rhabdoviridae	Vesiculovirus	Virus estomatitis vesicular de Indiana.
Togaviridae	Alphavirus	Virus Chikungunya, Virus del bosque Semliki, Virus Sindbis
Sin asignar	Deltavirus	Virus de la Hepatitis Delta

Son sensibles a la acción de la ribavirina el virus respiratorio sincitial (VRS), influenza A y B, parainfluenza, adenovirus y algunos togavirus (rubéola), bunyavirus (Hantavirus) y arenavirus (fiebre de Lassa). También tiene acción in vitro sobre los virus de la hepatitis B y C, virus del herpes simple (VHS) e incluso virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)⁸. El amplio espectro de actividad antiviral de la ribavirina puede ser potencialmente atribuido a sus múltiples mecanismos de acción, pudiendo actuar como análogo de una base purínica en distintos procesos celulares y virales, provocando la activación de múltiples mecanismos simultáneamente⁹. Sin embargo, sigue siendo una incógnita el mecanismo de acción concreto de la ribavirina, y continúa siendo objeto de múltiples estudios, como los llevados a cabo para probar su eficacia en pacientes infectados con el virus VIH^{4,8,10}.

En la tabla 3 se indican los agentes víricos frente a los cuales la ribavirina es tratamiento de elección¹¹.

La ribavirina se encuentra disponible en diferentes formas de administración oral (comprimidos y cápsulas), aerosol y pomada^{9,12,13}. Desde 1980, en EEUU se empezaron a realizar usos esporádicos de ribavirina intravenosa para pacientes con enfermedades infecciosas graves que podían conducir a la muerte¹².

Ante la necesidad de un tratamiento de urgencia frente a los agentes víricos anteriormente citados, la administración intravenosa se configura como la vía más adecuada de administración, no disponiéndose en la actualidad de una forma farmacéutica inyectable comercializada en España. El desarrollo y obtención de una solución inyectable de ribavirina daría lugar a la cobertura de una necesidad terapéutica.

La administración de ribavirina se lleva a cabo de acuerdo a la posología indicada en la Tabla 4, según el agente infeccioso.

Tabla 4. Posología Ribavirina.

Agente infeccioso	Adultos	Niños
Fiebre de Lassa	2 g IV inicial + 1 g IV/6 h (4 días).	
Fiebre hemorrágica con síndrome renal secundario	33 mg/kg IV inicial, seguido 16 mg/kg IV cada 6 h durante 4 días y 8 mg/Kg IV cada 8 horas durante 3 días ²¹ .	
Crimea Congo	30 mg/kg IV inicial, seguida de 16 mg/kg cada 6 horas durante 4 días y, posteriormente y 8 mg/kg cada 8 horas durante 6 días ²² .	
Infección grave de Virus Respiratorio sincitial	Vía inhalatoria 20 mg/ml, 300 ml durante 12-18 h, con un generador de aerosol de partículas pequeñas, durante 3-7 días ²³ .	
Hepatitis A	Oral: 400 mg 3 veces al día durante 10 días ²⁴ .	
Hepatitis B o C agudas	Oral: 400 mg 3 veces al día, durante 20 días ²⁴ .	
Hepatitis C crónica (en combinación con interferón alfa-2b)	Oral: 400 mg 3 veces al día, durante 48 semanas, dependiendo de la respuesta en los parámetros séricos; reducir paulatinamente la dosis hasta suspenderlo ²⁴ .	

De forma adicional y complementaria siempre se debe reforzar el tratamiento con sueroterapia, analgesia, antibióticos y transfusiones, dependiendo de cada caso.

Como restricciones al empleo de ribavirina, se han descrito por vía inhalatoria posible irritación conjuntival, erupción cutánea y deterioro de las pruebas de función respiratoria como efectos adversos⁸. Con dosis orales altas o por vía intravenosa se ha observado anemia normocítica normocroma, generalmente reversible, que se sigue de reticulocitosis al suspender el tratamiento^{8,14}. Con tratamientos prolongados se han descrito alteraciones gastrointestinales y neurológicas (cefalea, insomnio y somnolencia) y la ausencia de eliminación en pacientes con insuficiencia renal^{8,15}. Tiene capacidad teratógena en animales de experimentación. Las interacciones medicamentosas son escasas; se ha propuesto cierto antagonismo con la azitromicina⁸.

OBJETIVO

El objetivo general de este trabajo consiste en el desarrollo de una solución inyectable de ribavirina de 100 mg/ml (10%) en ampollas en el Centro Militar de Farmacia de la Defensa (CEMILFARDEF), para su uso como tratamiento de urgencia frente agentes víricos altamente infecciosos, siendo una terapia de interés estratégico en materia de defensa, seguridad y salud pública.

Los objetivos específicos de este trabajo son:

1. El desarrollo galénico de una solución acuosa estéril de ribavirina susceptible de administración parenteral.
2. Estudiar su estabilidad química en ampollas de 5 ml en condiciones «a tiempo real» (largo plazo) durante 12 meses y «aceleradas» (corto plazo) durante 6 meses según Guide International Conference of Harmonisation (ICH) Q1A(R2) «Stability testing of new drug substances and products».

MATERIAL Y MÉTODO

Material

Materia prima y acondicionamiento

- Ribavirine Ph.Eur. (Calidad farmacéutica).
- Tampón Dihidrogenofosfato de sodio anhidro. (Calidad farmacéutica).
- Tampón Hidrogenofosfato de sodio anhidro. (Calidad farmacéutica).
- Ampollas de vidrio transparentes de 5 mililitros de capacidad.

Equipos

- Balanza analítica: Mettler AE260.
- pHmetro Mettler Toledo SEVEN COMPACT S220.
- Llenadora Bosch ARF 5020.
- HPLC Agilent Technologies. Mod: 1260 Infinity.
- Autoclave Celester STERIMEGA SM750.
- Estufa de cultivo SELECTA y RAYPA.

Método

La ribavirina (materia prima) tiene apariencia de polvo cristalino blanco o casi blanco, muy soluble en agua y ligeramente soluble en alcohol 96% y cloruro de metileno. Su pH en solución se encuentra entre 4,0-6,5¹⁶.

Se establece un desarrollo galénico de dos formulaciones distintas (Figura 2).

1. Preparación

Se plantean dos formulaciones de ribavirina, buscando encontrar la de mayor estabilidad química:



Figura 2. Desarrollo galénico de las formulaciones a estudio.

– *Formulación 1 (F1)*: Ribavirina en agua.

Se prepara una solución intermedia de 1.250 ml, disolviendo 125 gramos del principio activo en agua para inyectables, obteniendo un pH = 3,88.

– *Formulación 2 (F2)*: Ribavirina con tampón dihidrogenofosfato de sodio anhidro e hidrogenofosfato de sodio anhidro en agua para inyectables.

Se prepara una solución intermedia de 1.250 ml, disolviendo 125 gramos de principio activo con 8 gr de dihidrogenofosfato de sodio anhidro y 2,36 gr de hidrogenofosfato de sodio anhidro, obteniendo un pH = 6,35.

El pH es un factor importante a tener en cuenta en la formulación de soluciones acuosas de administración parenteral, puesto que puede condicionar no solo la tolerancia de la preparación por el organismo, sino también su estabilidad y la actividad del principio activo. El pH de la sangre, la linfa y el líquido cefalorraquídeo está comprendido entre 7,35 y 7,40. Aunque la sangre y otros fluidos disponen de un poder regulador importante que les permite tolerar la inyección de preparados con pH comprendidos entre 4 y 10, la administración de soluciones con valores de pH alejados del fisiológico puede producir dolor, así como inflamaciones y lesiones en tejidos y endotelios¹⁷.

2. Llenado

Se utilizan ampollas con una capacidad de 5 ml de vidrio transparente, cerradas, con banda autorrompible y estériles.

El llenado se realiza en un equipo BOSCH ARF 5020 (Figura 3). Se lleva a cabo sin introducir gas inerte (nitrógeno) en el interior de las ampollas, disponiendo así una atmósfera oxidativa y por ello favoreciendo los fenómenos oxidativos y la inestabilidad del fármaco, buscando el «peor caso».

Envasado de la Formulación 1: 211 ampollas con 5 ml/ampolla, de las cuales 105 se prepararon para pasar a la etapa de esterilización y 106 se prepararon para etiquetar.

Envasado de la Formulación 2: 233 ampollas con 5 ml/ampolla, de las cuales 100 se destinaron para pasar a la etapa de esterilización y 133 se prepararon para etiquetar.

3. Esterilización

Se realiza un ciclo de esterilización de 121 °C - 20 minutos en un autoclave Celester Sterimega SM750, a un total 205 ampollas (105 de la F1 y 100 de la F2).

La esterilización terminal de un producto en su envase definitivo es prioritaria, salvo que se produzca una degradación significativa del producto, a causa de este proceso, que obligaría a trabajar en un proceso por vía aseptica^{17,18}.

4. Etiquetado

Se etiquetan manualmente todas las ampollas, identificando fórmula, volumen, con/sin esterilización y fecha (Figura 4).



Figura 3. Llenado de ampollas de ribavirina en la llenadora BOSCH ARF 5020 en el módulo de estériles del CEMILFARDEF.

5. Método analítico

Se establecen los siguientes parámetros y ensayos para evaluar la calidad y estabilidad de la solución de Ribavirina al 10%: pH, riqueza mediante técnica Cromatografía de alta eficacia (HPLC) y ausencia de alteraciones físicas (turbidez, cambio de color, aparición de precipitado):

– Valoración por HPLC (Agilent Technologies. Mod: 1260 Infinity): Se sigue el método indicado en monografía de la Farmacopea Europea¹⁶. Especificación: 90-110 mg/ml o 90-110%.

– Medición pH de cada una de las muestras (pHmetro Mettler Toledo SEVEN COMPACT S220). Especificación: 4,5-6,0.

6. Estudio de estabilidad

Las ampollas de cada una de las formulaciones fabricadas se separan en dos grupos (Tabla 5) para almacenarlas en condiciones a tiempo real (a largo plazo): 25°C ± 2°C/60% HR ± 5%HR; y en condiciones aceleradas (a corto plazo): 40°C ± 2°C/75 HR ± 5%



Figura 4. Ampollas de Ribavirina 10% etiquetadas.

Tabla 5. Condiciones de almacenamiento de ampollas fabricadas.

	Condiciones a tiempo real 25°C ±2°C / 60% HR ± 5%HR		Condiciones aceleradas 40 °C ± 2°C/ 75 HR ± 5% HR	
	Número de ampollas		Número de ampollas	
F1	Esterilizadas	50	50	
	Sin esterilizar	50	50	
F2	Esterilizadas	47	47	
	Sin esterilizar	64	64	

HR; según ICH Q1A(R2)¹⁹, condiciones ambientales para zona climática I (templada) y II (subtropical), durante un tiempo de 6 meses para condiciones aceleradas y 12 meses para condiciones a tiempo real, y con estos últimos resultados se realiza una estimación estadística de un período de validez.

RESULTADOS

Todos los ensayos se realizaron en el departamento de Control de Calidad del CEMILFARDEF a los tiempos establecidos según ICH¹⁹:

Resultados en condiciones a tiempo real (a largo plazo) según Tabla 6.

Resultados en condiciones aceleradas (a corto plazo) según Tabla 7.

Extrapolación de los datos obtenidos a tiempo real en un estudio a 12 meses para la estimación de un posible periodo de validez (Figura 9 y Figura 10) en las fórmulas F1 y F2 esterilizadas.

Tabla 6. Resultados obtenidos en condiciones a tiempo real.

CONDICIONES A TIEMPO REAL					
Tiempo cero					
Ensayos	Especificaciones (Ph. Eur.)	F1		F2	
		Esterilizadas	Sin esterilizar	Esterilizadas	Sin esterilizar
pH	4,0-6,5	4,5	4,5	6,2	6,2
HPLC	90-110 mg/ml	102,0	101,1	99,4	101,9
	90-110%	102,0%	101,1%	99,4%	101,9%
Tiempo 3 meses					
Ensayos	Especificaciones (Ph. Eur.)	F1		F2	
		Esterilizadas	Sin esterilizar	Esterilizadas	Sin esterilizar
pH	4,0-6,5	4,5	4,5	6,2	6,1
HPLC	90-110 mg/ml	101,3	101,1	98,2	102,6
	90-110%	101,3%	101,1%	98,2%	102,6%
Tiempo 6 meses					
Ensayos	Especificaciones (Ph. Eur.)	F1		F2	
		Esterilizadas	Sin esterilizar	Esterilizadas	Sin esterilizar
pH	4,0-6,5	4,5	4,6	6,2	6,2
HPLC	90-110 mg/ml	101,2	101,2	100,3	102,1
	90-110%	101,2%	101,2%	100,3%	102,1%
Tiempo 12 meses					
Ensayos	Especificaciones (Ph.Eur.)	F1		F2	
		Esterilizadas	Sin esterilizar	Esterilizadas	Sin esterilizar
pH	4,0-6,5	4,6	N.A.	6,2	N.A.
HPLC	90-110 mg/ml	100,4	N.A.	97,9	N.A.
	90-110%	100,4%	N.A.	97,9%	N.A.

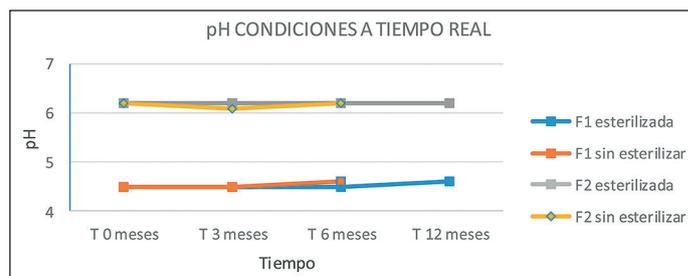


Figura 5. pH en condiciones a tiempo real.

DISCUSIÓN

Durante el estudio, tanto en condiciones a tiempo real como aceleradas, no se observan diferencias significativas entre los resultados obtenidos de pH o riqueza en cada una de las formulaciones (F1 y F2), tras haber sufrido un ciclo de esterilización, con respecto a las no esterilizadas. Por este motivo, después de transcurridos los 6 primeros meses, y comprobar que los parámetros de las muestras esterilizadas y no esterilizadas no presentan variaciones, se decide no continuar con los estudios de estabilidad de las muestras sin esterilizar y hacerlo únicamente con muestras esterilizadas, según se refleja tanto en la Tabla 6 como en la Figura 5 y 6.

Los resultados obtenidos (Tabla 6 y 7) cumplen especificaciones de Farmacopea Europea para ambas formulaciones (F1 y F2), demostrando una estabilidad química tras su conservación en condiciones de estudio a largo plazo durante 12 meses y acelerados durante 6 meses. Por ello, tanto la formulación F1 como la F2 resultan adecuadas para su fabricación en un proceso industrial, pues su estabilidad química con respecto a su riqueza (Fi-

Tabla 7. Resultados obtenidos en condiciones aceleradas.

CONDICIONES ACCELERADAS					
Tiempo cero					
Ensayos	Especificaciones (Ph. Eur.)	F1		F2	
		Esterilizadas	Sin esterilizar	Esterilizadas	Sin esterilizar
pH	4,0-6,5	4,5	4,5	6,2	6,2
HPLC	90-110 mg/ml	102,0	101,1	99,4	101,9
	90-110%	102,0%	101,1%	99,4%	101,9%
Tiempo 3 meses					
Ensayos	Especificaciones (Ph. Eur.)	F1		F2	
		Esterilizadas	Sin esterilizar	Esterilizadas	Sin esterilizar
pH	4,0-6,5	4,4	4,5	6,1	6,2
HPLC	90-110 mg/ml	101,4	99,9	98,4	101,2
	90-110%	101,4%	99,9%	98,4%	101,2%
Tiempo 6 meses					
Ensayos	Especificaciones (Ph. Eur.)	F1		F2	
		Esterilizadas	Sin esterilizar	Esterilizadas	Sin esterilizar
pH	4,0-6,5	4,5	4,5	6,1	6,2
HPLC	90-110 mg/ml	101,8	101,7	98,4	99,7
	90-110%	101,8%	101,7%	98,4%	99,7%

gura 6 y 8) y pH (Figura 5 y 7), mantienen valores incluidos en los límites de referencia establecidos para estas especificaciones.

La estabilidad reflejada en condiciones aceleradas demuestra la robustez de la formulación y la ausencia de requerimientos especiales para su almacenamiento y transporte.

Ambas formulaciones no experimentan alteraciones en el valor de pH inicial durante el periodo de estudio, pero la For-

mulación 2 presenta un pH más próximo al sanguíneo/fisiológico, lo que evitará posibles dolores o lesiones en la zona de administración (Figuras 5 y 7), a pesar de que el proceso de fabricación de la Formulación 1 sea más simple al disponer una composición más sencilla.



Figura 6. Riqueza en condiciones a tiempo real.

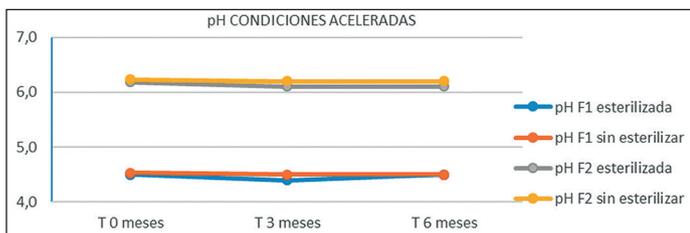


Figura 7. pH en condiciones aceleradas.



Figura 8. Riqueza en condiciones aceleradas.

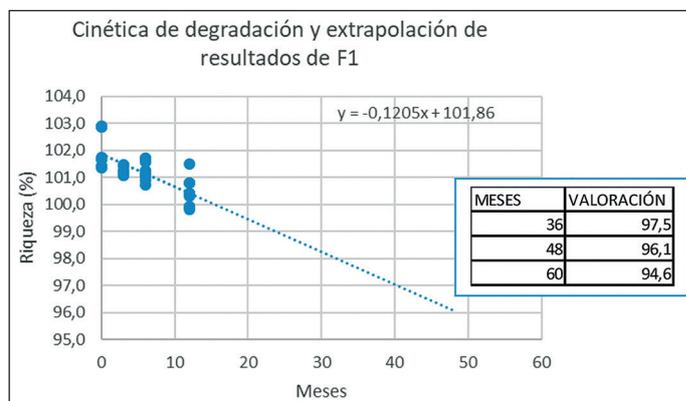


Figura 9. Valoración de muestras de ribavirina con agua (estériles) a tiempo real.

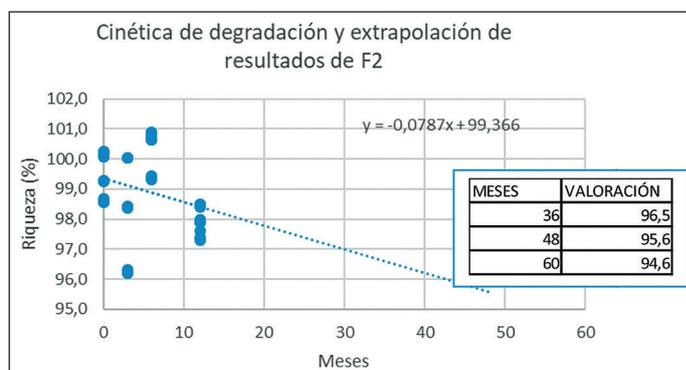


Figura 10. Valoración de muestras de ribavirina con tampón (estériles) a tiempo real.

Los resultados obtenidos en la evaluación de muestras a 12 meses, permiten establecer una estimación del contenido en sustancia activa. Como se observa en las Figuras 9 y 10, ninguna de las formulaciones supera el límite inferior establecido en la monografía de la ribavirina (Ph. Eur) del 90%, extrapolando a un período de 60 meses, en ambos casos se consigue un valor aproximado al 94,6% en condiciones de $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}/60\% \text{HR} \pm 5\% \text{HR}$. Las rectas de regresión permiten predecir la estabilidad de la formulación durante un período de 60 meses.

CONCLUSIÓN

El desarrollo de la ribavirina 100 mg/ml (10% w/v) inyectable satisface una necesidad terapéutica relacionada con el tratamiento de primera elección en enfermedades víricas altamente contagiosas que carecen de tratamientos eficaces en Sanidad Militar.

Los ensayos efectuados confirman que el diseño de la solución es robusto, permanece estable en condiciones aceleradas y a tiempo real, y la solución tamponada presenta un pH compatible con sangre y tejidos.

Se propone completar los estudios de estabilidad (*on going*) según ICH Q1A(R2) durante 60 meses, para establecer un período de validez del medicamento y considerar este antiviral de amplio espectro en futuras revisiones del Petitorio de Farmacia Militar²⁰ como medicamento de interés ante emergencias sanitarias provocadas por la dispersión de agentes víricos altamente infecciosos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Presidencia del Gobierno. Estrategia de Seguridad Nacional 2017. 2017.
2. North Atlantic Treaty Organization. Medical management of CBRN casualties. AMedP-7.1. NATO Standardization document database. 2018.
3. Nelson LS, Lewin NA, Howland MA, Hoffman RS, Goldfrank LR, Flomenbaum NE. Goldfrank's toxicologic emergencies. 9th ed. Nelson LS, Lewin NA, Howland MA, Hoffman RS, Goldfrank LR, Flomenbaum NE, editores. New York: McGraw-Hill Medical; 2011.
4. Fernandez H, Banks G, Smith R. Ribavirin: a clinical overview. Eur J Epidemiol. 1986; 2(1):1-14.
5. Hadi CM, Gova A, Khan SH, Bangura J, Sankoh M, Koroma S, et al. Ribavirin for Lassa Fever Postexposure Prophylaxis. Emerg Infect Dis. 2010; 16(12):2007-2009.
6. McCormick JB, King IJ, Webb PA, Scribner CL, Craven RB, Johnson KM, et al. Lassa fever. N Engl J Med. 1986; 314:20-26.
7. Khan JA, Rehman S, Fisher-Hoch SP, Mirza S, Khurshid M, McCormick JB. Crimean Congo-Haemorrhagic Fever treated with oral ribavirin. Lancet. 1995; 346:472-475.
8. Flórez J. Farmacología Humana. 4th ed. Masson, editor. Barcelona; 2003: 1400.
9. Graci JD, Cameron CE. Mechanisms of action of ribavirin against distinct viruses. Rev Med Virol. 2006; 16(1):37-48.
10. Parker WB. Metabolism and antiviral activity of ribavirin. Virus Res. 2005; 107(2):165-171.
11. Beaucourt S, Vignuzzi M. Ribavirin: A drug active against many viruses with multiple effects on virus replication and propagation. Molecular basis of ribavirin resistance. Curr Opin Virol. 2014; 8:10-15.
12. Riner MPH A, Chan-Tack MD KM, Murray MD JS. Original research: Intravenous ribavirin - Review of the FDA's emergency investigational new drug database (1997-2008) and literature review. Postgrad Med. 2009; 121(3):139-146.
13. Brayfield A, editor. Martindale. The complete drug reference. 38th ed. London: Pharmaceutical Press; 2014. 2650 p.
14. Brochot E, François C, Castelain S, Helle F, Van Nhien AN, Duchaussoy I, et al. A new tool to study ribavirin-induced haemolysis. Antivir Ther. 2012; 17(7):1311-1317.
15. Gupta SK, Kantesaria B, Glue P. Pharmacokinetics and safety of single-dose ribavirin in patients with chronic renal impairment. Drug Discov Ther. 2013; 7(4):158-163.
16. European Pharmacopoeia. 5th ed. 2017.
17. Irache Garreta JM, Espuelas Millán S. Formas de administración parenteral. En: Martínez Pacheco R, editor. Tratado de tecnología farmacéutica Volumen III: formas de dosificación. Madrid: SINTESIS; 2017. p. 157-181.
18. Alavedra M, García Celma MJ. Formulación de formas de dosificación líquidas de administración por vía parenteral. Soluciones y suspensiones. En: Gestión de la Calidad en el Desarrollo y Fabricación industrial de medicamentos Tomo I. Barcelona; 2001. p. 279-287.
19. Stability testing of new drug substances and products Q1A(R2). ICH Harmon. 2003;18.
20. Ministerio de Defensa (España). Orden Ministerial 8/2014, de 30 de enero, por la que se establece el petitorio de farmacia del Ministerio de Defensa. Boletín Oficial de Defensa, nº 25 de 6 de febrero de 2014:2471-2474.
21. Centro colaborador de La Administración Nacional de Medicamentos alimentos y TM. Ribavirina [Internet]. Vademecum. 2015 [citado 3 de marzo de 2019]. Disponible en: <https://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/r013.htm>
22. Organización General de Enfermería. Protocolos bioseguridad [Internet]. 2001 [citado 7 de marzo de 2019]. Disponible en: www.consejogeneralenfermeria.org/pdfs/bioseguridad/protocolos
23. Asociación española de pediatría. Ribavirina [Internet]. 2015 [citado 7 de marzo de 2019]. Disponible en: <http://pediamecum.es/wp-content/farmacos/Ribavirina.pdf>
24. Rodríguez Carranza R. Vademecum academico de medicamentos. 6th ed. MC GRAW HILL INTERAMERICANA; 2015.