

Estabilidad de la Cefixima Trihidratada en Medio Acuoso y en Estado Sólido

Rolando GONZÁLEZ ¹ e Hilda María GONZÁLEZ ²

¹ Centro de Química Farmacéutica, Calle 200 y 21, Atabey, Playa; P.O. Box. 165 042, Ciudad de La Habana, C.P. 11 600, Cuba

² Universidad de La Habana, Facultad de Farmacia y Alimentos, Departamento de Tecnología y Control de Medicamentos. Ciudad de La Habana, Cuba.

RESUMEN. En el presente trabajo se presenta una revisión crítica sobre los estudios realizados hasta el momento para establecer la cinética de degradación en medio acuoso y la estabilidad en estado sólido de la cefixima trihidratada. Se resumen los mecanismos de la degradación de la cefixima en medio acuoso (ácido, básico y neutro) y se muestran las estructuras químicas de los compuestos de degradación obtenidos en cada caso. Se resumen los principales aspectos que influyen en la estabilidad de la cefixima trihidratada en estado sólido, tales como: la trituración, la humedad relativa y su vínculo con la degradación que ocurre en medio acuoso.

SUMMARY. "Stability of Cefixime Trihydrate in Aqueous Media and in Solid State". A critical review about recent studies to establish the degradation kinetics in aqueous media and solid state stability of cefixime trihydrate is shown in this paper. The degradation mechanisms of cefixime in aqueous media (acid, basic and neutral) and the chemical structures of obtained degraded compounds are shown. The main causes of unstability of this drug in solid state, such as grinding and relative humidity, are also reviewed and they were linked to degradation in aqueous media.

INTRODUCCIÓN

La cefixima (I) -CAS N°. [79250-37-1]- (Figura 1) es un antibiótico cefalosporánico semisintético de administración oral, el cual posee mejor actividad para combatir las bacterias Gram-negativas que otras drogas de referencia como la cefalexina, el cefaclor y la amoxicilina ¹ y es utilizado en el tratamiento de la otitis media, faringitis, de las infecciones urinarias y del tracto respiratorio ²⁻³.

Los estudios de estabilidad físico-química se realizan para fijar el tiempo en que un fármaco puede mantener sus propiedades físico-químicas, contenido de principio activo e identidad dentro de las especificaciones establecidas ⁴. Paralelamente a los estudios de vida útil, usualmente se diseñan pruebas de degradación

PALABRAS CLAVE: Cefixima, Cinética de Degradación, Estabilidad, Revisión, Sustancias Degradadas

KEY WORDS: Cefixime, Degradation Kinetics, Degraded Compounds, Review, Stability Studies.

* Autor a quien debe dirigirse la correspondencia. Fax (537) 33 6471, e mail: cqf@infomed.sld.cu

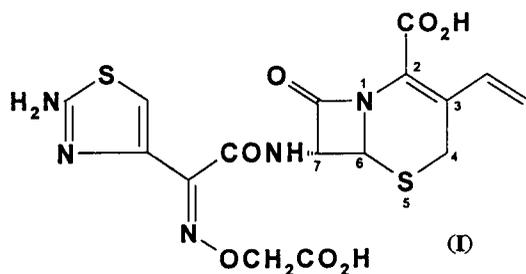


Figura 1. Estructura química de la cefixima trihidratada (isómero Z).

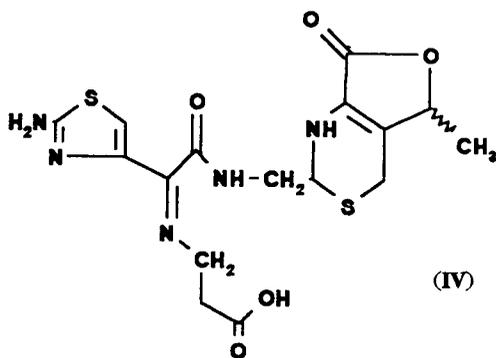
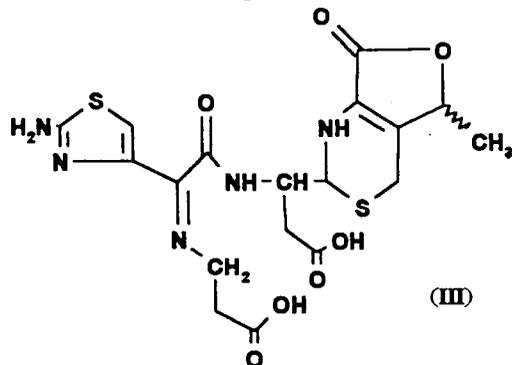
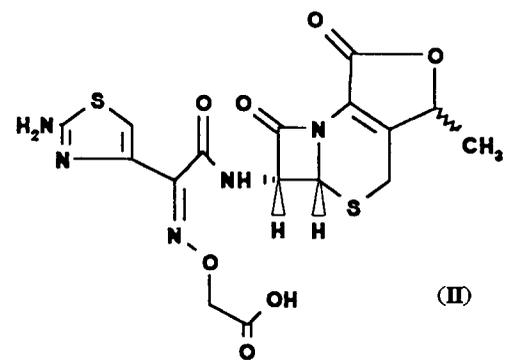


Figura 2. Estructura química de los productos de degradación de la cefixima obtenidos por hidrólisis ácida (pH = 1,1).

aceleradas con el fin de incrementar la velocidad de las reacciones degradativas. Estos estudios se realizan con el propósito de determinar los parámetros cinéticos que rigen estos procesos, y poder predecir el tiempo de la posible expiración del producto. En estos estudios se somete al fármaco a factores que afectan la estabilidad, para determinar las condiciones óptimas para su envase y almacenamiento.

Los sustituyentes en las posiciones C-3 y C-7 del anillo cefénico de **I** juegan un papel muy importante en la actividad antibactericida ⁵ y en la estabilidad ⁶ de este fármaco. Por esta razón, el conocimiento de los mecanismos y productos de degradación del mismo en los diversos medios estudiados permiten predeterminar las condiciones de almacenamiento óptimas y facilita el desarrollo de una formulación que asegure su máxima eficiencia.

El propósito de este trabajo es destacar los resultados obtenidos en el establecimiento de la cinética y los mecanismos de degradación de **I** en medio acuoso y en estado sólido.

CINÉTICA Y MECANISMOS DE DEGRADACIÓN DE LA CEFIXIMA EN DISOLUCIONES ACUOSAS

Namiki *et al.* ⁷ realizaron la degradación de **I** en medio acuoso a 25 °C, una fuerza iónica (μ) de 0,3 en un rango de pH desde 1 hasta 9. La cinética fue investigada mediante el uso de HPLC de fase reversa de par iónico con una columna RP - 18 (250 x 4 mm y 7 (m), con una fase móvil compuesta por una mezcla de acetonitrilo y tampón de fosfato de tetrabutilamonio de pH 7,00 (9:31 y 11:29), con un flujo de 1,5 mL/min y la detección se realizó a 254 nm.

Las curvas semilogarítmicas de las

concentraciones residuales de cefixima en el tiempo fueron lineales en todos los valores de pH investigados, lo que indicó que la degradación posee una cinética aparente de primer orden. El perfil semilog pH - velocidad tuvo un aspecto típico de las cefalosporinas (forma de U). Los valores más pequeños de constante de velocidad estuvieron entre pH 4 y pH 7.

La mayoría de los productos de degradación de la cefixima se obtuvieron en medio ácido (pH = 1,1), neutro (pH = 6,05) y básico (pH = 8,84). Estos productos se detectaron, aislaron y purificaron mediante cromatografía de fase reversa con columnas preparativas, TLC y HPLC. Los autores utilizaron la espectroscopia UV, IR, RMN protónico y la espectrometría de masas para establecer la estructura de los productos de degradación.

En el medio ácido (pH = 1,11), después de 3 días, se obtuvieron tres productos de degradación (Figura 2). Por medio de una catálisis ácida ocurre la formación de tres γ -lactonas debida a la lactonización inicial entre los grupos vinílicos y los grupos carboxílicos vecinos. La ruptura del anillo β -lactámico se debe a la protonación del mismo en un medio ácido y es seguido por la ruptura del anillo cefalosporánico. El proceso de lactonización, iniciada por la protonación del grupo vinilo ocurre simultáneamente y conduce a la descarboxilación. Los autores de este trabajo establecieron que la división del anillo cefénico en este medio, iniciada por la protonación, tiene lugar preferentemente sobre la lactonización, aún en un medio ácido.

En el medio básico (pH = 8,84), después de 2 días, se obtuvieron dos productos de degradación (Figura 3). La formación de **V** es considerada como el resultado de la ruptura del anillo β -lactámico, producida por el ataque nucleofílico del ión hidroxilo sobre el grupo carbonilo del anillo β -lactámico, seguido por el reagrupamiento de los enlaces olefínicos. La epimerización de la cefixima para formar **VI** se debe a la eliminación de un protón del carbono 7 por acción del ión hidroxilo. Esto provoca la formación de un carbanión planar. Los compuestos **V** y **VI** se forman casi a la misma velocidad.

En medio neutro (pH = 6,05), después de 14 días, se obtuvo un producto de degradación cuya estructura se muestra en la Figura 4. Este producto fue muy inestable y respondió positivamente a una reacción característica de aldehídos; sin embargo, los espectros IR y RMN no mostraron las bandas características y los co-

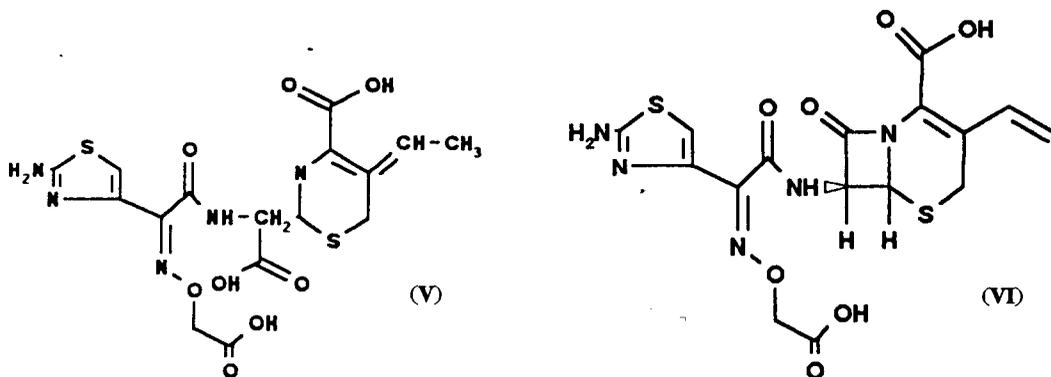


Figura 3. Estructura química de los productos de degradación de la cefixima obtenidos en medio básico (pH = 8,84).

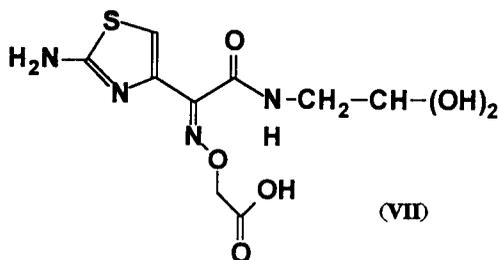


Figura 4. Estructura química del producto de degradación de la cefixima obtenido en medio neutro (pH = 6,05).

ruptura del anillo β -lactámico (probablemente **V**, de acuerdo a la opinión de los autores). El paso inicial es la ruptura del anillo β -lactámico por el ataque del agua, seguido por la fisión hidrolítica de los enlaces C-N y C-S en la posición 6 y la descarboxilación de un aldehído intermediario. El resto del proceso es todavía desconocido.

Los resultados obtenidos en este estudio permiten establecer ciertas regularidades en el comportamiento de la cefixima en medio acuoso, como que la apertura del anillo β -lactámico predomina en el primer paso de hidrólisis bajo todos los valores de pH estudiados, que el compuesto de degradación **V** es un intermediario clave en el proceso de degradación y su estabilidad depende fundamentalmente del pH y, por último, que el grupo vinílico tiende a participar en una reacción de ciclización intramolecular catalizada en medio ácido.

ESTABILIDAD DE LA CEFIXIMA TRIHIDRATADA EN ESTADO SÓLIDO

En 1989, Kitamura *et al.*⁸ estudiaron el efecto de la trituración en la estabilidad de **I**. En este trabajo se comprobó que las señales del patrón de difracción de polvo de rayos X de **I** disminuyeron a medida que aumentaba el tiempo de trituración. Este comportamiento sugirió a sus autores que las fuerzas de enlace entre las moléculas del agua y de **I** se debilitaban por la trituración, ya que la disminución de la cristalinidad con la trituración se debe al incremento de la libertad de las moléculas de agua en la red cristalina.

Para comprobar sus suposiciones los autores determinaron la energía de deshidratación de la cefixima trihidratada y de la forma anhidra por el método de Kissinger. Los valores obtenidos fueron de 72,4 kcal/mol para la forma trihidratada y 67,5 kcal/mol para la forma anhidra. Como puede observarse estos valores prueban que el proceso de trituración afecta las fuerzas de enlace entre las moléculas de agua y de la cefixima. Por otro lado, se demostró que las propiedades cristalinas de **I** no pueden ser recuperadas si esta es almacenada en condiciones de humedad elevada.

El estudio cinético de la decoloración por la influencia de la trituración demostró que existe un incremento en la constante de velocidad aparente de la decoloración con el incremento del tiempo de trituración. Teniendo en cuenta estos resultados, sus autores demostraron que la decoloración de la cefixima trihidratada en estado sólido está muy influenciada por su cristalinidad.

En un trabajo posterior, estos mismos autores⁹ profundizaron en los cambios

característicos de los aldehídos. Las señales asignadas al grupo NCH_2CH se observaron a 4,7 y 3,4 ppm. Teniendo en cuenta estas observaciones, los autores asumieron que se trataba de un producto hidratado con un grupo 7-acílico. Con relación a la degradación en medio neutro este proceso ocurre más lentamente.

El producto de degradación **VII** se deriva de un producto que ha sufrido la

que ocurren en el estado cristalino de **I** durante el proceso de deshidratación y discutieron su efecto en la estabilidad química y en el color de la cefixima trihidratada.

Para estudiar el efecto de la humedad relativa (HR) en la estabilidad de **I** se utilizaron desecadoras acondicionadas a 25, 50 y 75% con disoluciones saturadas de sales (NaI, NaCl y NaBr) y a 0% con pentóxido de fósforo, todas a 50 °C y 70 °C.

El color de la cefixima trihidratada se tornó rojo cuando fue almacenada a 75% de HR. Este cambio de color fue mayor que el observado bajo condiciones de HR iguales a 25 y 50%. Cuando el producto se almacenó a 0 % de HR, se apreció que este toma un color rojo amarillento. Este color fue completamente diferente a los observados bajo otras condiciones de HR.

Durante el estudio de estabilidad de **I**, almacenada a 75% de HR y 70 °C durante tres días, a 0% de HR a 70 °C, durante 2 días, se obtuvieron porcentajes de pureza iguales a 87,7 y 83,1%, respectivamente.

Los productos de degradación de **I** se aislaron y purificaron por HPLC (según técnica anteriormente descrita por Namiki *et al.* 7). La identificación se realizó por la espectrometría de resonancia magnética nuclear (RMN) y de masas (técnica FAB).

En presencia de humedad (HR = 75%, 70 °C) se obtuvieron tres productos de degradación, dos de los cuales coinciden estructuralmente con los productos de degradación **III** y **IV**, obtenidos por hidrólisis en medio ácido. Teniendo en cuenta los datos obtenidos mediante el análisis RMN, se demostró que el tercero (**VII**) es el isómero R en el grupo carboximetoxiimino del producto de degradación **III**.

En ausencia de humedad (HR = 0%, 70 °C) se obtuvieron otros tres productos de degradación. Uno de ellos (**VIII**) exhibió un pico molecular igual a 454, idéntico al de la cefixima; en el espectro ¹H-RMN las señales del protón vinílico desaparecieron y aparecieron dos nuevas señales que fueron asignadas a un grupo metileno. Por esta razón este pico molecular se asoció a la forma lactónica de la cefixima (Figura 5).

Otro de los productos mostró también un pico molecular a 454, mientras que el espectro ¹H-RMN mostró señales casi iguales a las del producto de degradación **II**, obtenido en medio ácido. Este producto (**IX**), fue identificado como el estereoisómero del compuesto **II**. Los productos de degradación obtenidos bajo las condiciones de almacenamiento de 25 y 50% de HR fueron casi idénticos a los observados a 75%.

Los productos de degradación de **I** en estado sólido, obtenido bajo las condiciones de humedad y temperaturas anteriormente señaladas, fueron casi idénticos a los observados en disoluciones acuosas. A partir de aquí, estos autores plantean que la humedad absorbida o el agua de cristalización eliminada a temperaturas

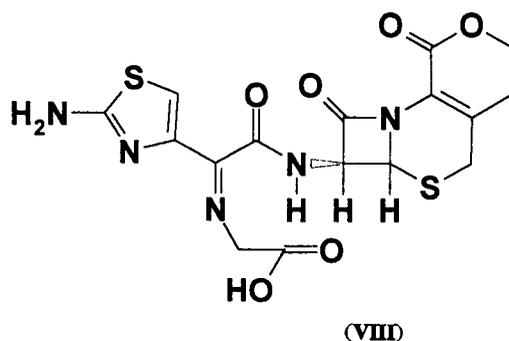


Figura 5. Estructura química del compuesto de degradación identificado como la forma lactónica de la cefixima (**VIII**), obtenido por exposición de **I** a condiciones extremas de humedad relativa.

elevadas, da lugar a una fase acuosa que forma una disolución saturada en la superficie, la cual facilita la formación de los mismos productos de degradación observados en las disoluciones acuosas del fármaco. Por todo lo anterior, se concluyó que existen los mismos mecanismos de degradación en disolución acuosa y en estado sólido y que estos están estrechamente relacionados con el agua hidratada o absorbida por la molécula. De esta manera se estableció que en la primera etapa de degradación, **I** adopta la estructura lactónica (producto **VIII**). Seguidamente, se forman los productos **III**, **IV** y **VII** por la desunión del anillo β -lactámico.

El anillo β -lactámico se hidroliza con relativa facilidad en disoluciones acuosas ácidas. Como a 0% de HR ese anillo β -lactámico no se hidroliza, los autores de este trabajo consideran que las moléculas de agua no participan en la reacción de degradación en condiciones de sequedad. Esta particularidad explica las diferencias de los colores observados durante la degradación de las muestras almacenadas bajo condiciones de sequedad y humedad.

Por otro lado, los intentos realizados para identificar los productos de degradación por decoloración fueron infructuosos, ya que no fue posible aislarlos mediante la técnica HPLC empleada debido a que estaban presentes en muy pequeña cantidad.

Durante el estudio sobre el efecto de la deshidratación de **I**, se confirmó que este producto es más inestable cuando se almacena por debajo de su humedad relativa crítica (10 a 20% a 25-70 °C), por debajo de la cual ocurre su deshidratación espontánea.

El porcentaje de agua de cristalización también influye en la estabilidad, ya que cuando esta fue disminuida a menos del 1 %, las muestras analizadas fueron más estables durante la deshidratación que las que contenían un porcentaje mayor de agua (3-9%).

Mediante el análisis por rayos X se demostró que la intensidad de los picos del patrón de difracción disminuyeron gradualmente con la disminución del contenido de agua por deshidratación a temperaturas elevadas. Así, por ejemplo, el pico a $2\theta = 9,0^\circ$, característico de **I**, desaparece completamente al cabo de 24 h de almacenamiento.

Es interesante destacar que para **I**, después de estar almacenado a 70 °C durante 1 h, y después de la disminución de las señales en el patrón de difracción de rayos X como ya se ha explicado, se observó la aparición de nuevos picos. La intensidad de estos picos nuevos se incrementa con la disminución del contenido de agua. Estos resultados sugieren que **I** no se transforma a una forma amorfa, sino a una forma anhidra con un patrón de difracción característico.

La forma anhidra de **I** obtenida por deshidratación puede recuperar el contenido de humedad completo durante su exposición a condiciones ambientales. La forma rehidratada ofrece el mismo patrón de difracción que el producto trihidratado original. La poca estabilidad de las muestras que fueron completamente deshidratadas se debe a la relativamente rápida hidratación ocurrida como un fenómeno reversible cuando el producto se almacenó bajo condiciones de humedad extremas.

El tiempo de deshidratación también constituye una variable a tener en cuenta, ya que el producto obtenido a un tiempo de deshidratación prolongado (16 a 24 h) resultó ser más estable que el deshidratado durante sólo 3 h debido a la eliminación total del agua.

Los resultados obtenidos por Kitamura *et al.*⁸⁻⁹ en este estudio demuestran que las moléculas de agua en la estructura cristalina juegan un papel muy importante en la estabilidad química de I, ya que como se ha planteado en el acápite anterior, estas moléculas de agua participan en el proceso de descomposición de I. Este comportamiento explica también los mecanismos de degradación de la misma en estado sólido. Además, se demostró que la trituración destruye la estructura cristalina de I, la cual no puede ser restituida, mientras que por la acción de la deshidratación el compuesto sólo modifica sus propiedades cristalinas, las cuales puede recuperar mediante un proceso de reabsorción de agua.

CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos por los autores citados en esta revisión, podemos concluir que: a) se registran 9 productos de degradación de la cefixima, obtenidos en los procesos hidrolíticos; b) la cefixima es más estable en disoluciones de pH neutro que en medios ácido o básico; c) la mayoría de los productos de degradación obtenidos en medio acuoso coinciden con los obtenidos en la degradación del sólido expuesto a humedad extrema (75%) y sequedad (0%); d) la trituración afecta irreversiblemente la cristalinidad de la cefixima y consecuentemente su estabilidad físico-química; e) la pérdida de estabilidad por deshidratación puede ser rehabilitada; f) debe evitarse la exposición del producto a condiciones de excesiva humedad y que dentro del envase donde se almacene debe mantenerse un nivel de equilibrio correspondiente con la humedad relativa crítica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Yamanaka, H., T. Chiba, K. Kawabata, H. Takasugi, T. Masugi & T. Takaya (1985) *J. Antibiotics* **38**: 1738-51.
2. McAteer, J.A., M.F. Hiltke, B. Michael & R.D. Kaulkner (1987) *Clin. Chem.* **33**: 1788-90
3. Anónimo (1989) *Clin. Pharm.* **8**: 685
4. Carstensen, J.T. (1987) "*Drug Stability*", New York & Basel: Marcel Dekker, Inc., págs. 1-493
5. Perlman D. (1974) "*Structure-Activity Relationships Among the Semisynthetic Antibiotics*". Academic Press, New York, 87-237
6. Indelicato, J.M., T.T. Norvillas, R.R. Pfeiffer, W.J. Wheeler & W.L. Wilham (1974) *J. Med. Chem.* **17**: 523
7. Namiki, Y., T. Tanabe, T. Kobayashi, J. Tanabe, Y. Okimura, S. Koda & Y. Morimoto (1987) *Int. J. Pharm. Sci.* **76**: 208-14
8. Kitamura, S., A. Miyamae, S. Koda & Y. Morimoto (1989) *Int. J. Pharm.* **56**: 125-34
9. Kitamura, S., S. Koda, A. Miyamae, T. Yasuda & Y. Morimoto (1990) *Int. J. of Pharm.* **59**: 217-24