

Complejo de Hierro-Dextrana Inyectable para Uso Antianémico

Georgina MICHELENA¹, Antonio BELL¹, Emilia CARRERA¹,
Arlyn REYES¹ & Antonio IRAIZOS²

¹ Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA),
P.O. Box 4026, Ciudad de La Habana, Cuba.

² Instituto de Farmacia y Alimentos (IFAL). Universidad de La Habana.
Calle 23 # 21425 entre 214 y 222. La Coronela. La Lisa. Ciudad de La Habana, Cuba.

RESUMEN. Se desarrolló un proceso de síntesis y purificación mediante centrifuga sedimentadora para la producción del complejo inyectable de hierro dextrana de uso antianémico. Se caracterizó la dispersión y el proceso, calculando el diámetro de partícula, el tiempo, las gravedades de centrifugación y el factor Σ , mediante los cuales fue seleccionada una centrifuga sedimentadora para efectuar el proceso. La caracterización del producto mediante difracción por rayos X y espectroscopía infrarroja y Mossbauer, así como los ensayos clínicos realizados en cerdos mostraron resultados satisfactorios y comparables a los productos comerciales de importación.

SUMMARY. "Injectable Iron-Dextran Complex for Antianemic Use". A process for the synthesis and purification (decanter centrifugation) of injectable iron-dextran complex of antianemic use was carried out. Dispersion and process were characterized by calculating particule diameter, time, gravity centrifugation and factor Σ , in order to pick out the adequate decanter centrifuge. Characterization of the product by spectroscopy techniques and clyn-c assays in pigs revealed that it is comparable with the commercial products now imported.

INTRODUCCION

La diversificación azucarera responde a una estrategia para lograr una explotación más amplia de la caña de azúcar. Los derivados de dextrana constituyen dentro de esta línea una opción que además de diversificar y revalorizar el azúcar permiten aumentar las posibilidades de tratamiento clínico de animales.

Por su estructura molecular en forma lineal las dextranas brindan un soporte inerte y completamente metabolizable por el cuerpo para el desarrollo de derivados clínicos que la han convertido en excelente matriz para medicamentos de acción controlada¹.

El complejo polimérico de hierro dextrana es, dentro de los derivados, el más difundido y utilizado en la prevención y terapia de la anemia causada por la deficiencia de hierro en mamíferos. Este garantiza que el hierro administrado sea asimilable, permitiendo al ión férrico su fácil y rápida absorción, donde la parte polisacárida

carídica sirve de portador y controlador de su efecto.

En la década del 70's la empresa inglesa Fisons se convierte en la pionera de las producciones de complejos de dextrana(hierro y hasta la actualidad constituye el mayor productor de polisacáridos de hierro². El proceso tecnológico implantado se efectúa a partir de la hidrólisis química de la dextrana nativa para la reducción de su peso molecular, prosiguiendo con una reacción de complejamiento con el carbonato de sodio y el cloruro férrico heptadhidratado a temperatura de 90 °C y pH = 10. La purificación del fármaco para convertirlo en calidad inyectable se realiza a través de la precipitación con solventes empleando grandes volúmenes de etanol, que encarecen los costos energéticos y de inversión de planta.

El objetivo del presente trabajo es diseñar un nuevo proceso de síntesis y purificación del complejo hierro dextrana que aumente la pro-

PALABRAS CLAVE: Centrifugación, Dextrana, hierro dextrana, *Leuconostoc mesenteroides*, Purificación.
KEY WORDS: Centrifugation, Dextran, Iron dextran, *Leuconostoc mesenteroides*, Purification.

* Autora a quien dirigir la correspondencia

ductividad del sistema y que sustituya el tradicional proyecto de purificación etanólica por otro que se adecue de manera más conveniente a las condiciones cubanas, con una alta factibilidad económica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Con el objetivo de encontrar mejoras tecnológicas en el proceso de purificación del complejo se realizó la síntesis previa del β -oxihidróxido férrico a temperatura ambiente y con adición lenta del carbonato de sodio sobre el cloruro férrico heptahidratado. El resultado es un complejo coloidal de baja solubilidad y alto contenido de sales. Con vistas a purificar el β -oxihidróxido férrico se procedió al lavado del coloide y a la separación sólido-líquido de la mezcla bajo condiciones de separación centrífuga en un equipo de vasos oscilantes (Heraeus Sepatech D-3360 Osterode). El estudio de lavado se realizó en un vaso de 250 ml totales con agitador magnético Heidolph MR 2000 y bala magnética de 4 cm de longitud, con un volumen de mezcla inicial de 20 ml. En las experiencias se varió el número de etapas de lavado hasta 3 y la relación Vagua/Vmezcla (V_a/V_m) hasta 10.

Se realizó la prueba de determinación del tiempo de sedimentación. El método establece que la muestra a separar se coloque en un tubo de centrífuga graduado y se procese a las gravedades de la escala productiva, repitiendo a diferentes tiempos hasta que el volumen de sedimento permanezca constante. Se calculó el factor Σ (área de sedimentación equivalente) para determinar los parámetros de operación que permitieran la selección del equipo industrial y su escalado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con los antecedentes de los trabajos de Kavalec ³ en la separación del óxido de zirconio, se procedió a la reducción de los iones cloruros del β -oxihidróxido férrico mediante lavado, procediendo a la separación por centrifugación. Los resultados según los correspondientes balances de hierro y cloruro se muestran en la Tabla 1.

De acuerdo a la Tabla 1, no se produjo pérdida de hierro apreciable en ningún caso obteniéndose la disminución del contenido de cloruro. Finalmente se decidió realizar el lavado en 2 etapas con 4 volúmenes de agua en cada una (variante IV); de esta manera se llega a un compromiso adecuado entre eficiencia de lavado y simplicidad de la operación industrial.

	Hierro g/100 ml	Cloruro g/100 ml
Mezcla inicial	2,73	4,66
Sedimento I	2,71	1,25
Sedimento II	2,73	0,53
Sedimento III	2,73	0,49
Sedimento IV-1	2,70	1,73
Sedimento IV-2	2,69	0,21
Sedimento V-1	2,72	2,51
Sedimento V-2	2,69	1,09
Sedimento V-3	2,69	0,26

Tabla 1. Balances de Fe^{3+} y Cl^- después del lavado y centrifugación a 750 rpm en el laboratorio. I: 6 V_a/V_m ; II: 8 V_a/V_m ; III: 10 V_a/V_m ; IV: 2 x 4 V_a/V_m ; V: 3 x 2 V_a/V_m .

Con el objetivo de introducir el proceso dentro de la práctica ingenieril de la producción industrial, es necesario realizar un estudio de caracterización y evaluación de la operación para la selección de la centrífuga adecuada a nivel de planta⁴. La selección de la centrífuga depende de la aplicación y eficiencia que se requiera en la separación y para ello es imprescindible caracterizar la dispersión y el proceso. En este caso lo más importante es recuperar el β -FeOOH lavado y con la menor humedad posible, de manera de garantizar un bajo contenido de iones cloruros en el sedimento.

Caracterización del tamaño de partícula en la dispersión

El método normativo ⁵ establece la determinación del tamaño de partícula por la técnica de sedimentación gravitatoria para soluciones de concentración de sólidos menores a 10%, donde ocurre sedimentación por caída libre. Sin embargo varios autores ⁶ coinciden en plantear como método de buena exactitud para la estimación del tamaño de partícula promedio los resultados obtenidos por medio del ensayo de sedimentación en un campo gravitacional, limitándolo a partículas más finas que 20 μm .

Partiendo de la ley de Stokes, que relaciona el diámetro de una partícula con la velocidad que desarrolla al caer libremente en un medio de viscosidad y densidad conocida, es posible calcular el diámetro de partícula evaluando la velocidad de sedimentación gravitacional:

$$d = \sqrt{\frac{18 Vg \mu}{(\rho_s - \rho) g}}$$

donde d es el diámetro de la partícula, V es la velocidad de sedimentación (m/s), μ es la viscosidad del líquido (Pa.s), ρ_s y ρ es la densidad del sólido y el líquido, respectivamente (g/mL),

y g es la aceleración de la gravedad (g/ms²).

Los resultados obtenidos realizando la experiencia en centrífuga de vasos oscilantes tarados de laboratorio se ilustran en la Tabla 2.

Fuerza centrífuga relativa aplicada, RCF (g)	Tiempo de sedimentación (min)	V _g (m/s)	d (μ)
9	15	5,395 E-6	3,982
35	5	4,162 E-6	3,497
70	2	5,202 E-6	3,909
140	1	5,202 E-6	3,909

Tabla 2. Determinación del tamaño de partícula según los resultados obtenidos por sedimentación centrífuga.

Según estos resultados las partículas tienen un diámetro promedio de 3,824 μm, que está en el orden del valor obtenido por micrometría. Por lo que se considera que el diámetro promedio de partícula de la dispersión será aproximadamente 4 μm. Estas mediciones coinciden con las realizadas por la técnica de micrometría utilizando un microscopio MNG-6 con contraste de fase y con un aumento total de 700 x.

Caracterización del proceso

Se han reportado dos métodos para obtener datos relevantes en el proceso de separación antes de realizar una inversión capital definitoria ⁷.

Prueba para la determinación del tiempo de sedimentación

Los resultados mostraron que la sedimentación tiene prácticamente un efecto lineal, mientras la solución madre contenga partículas suspendidas, que en este caso fue en el intervalo de 0-2 min. Cuando comienza la compactación la relación entre la altura del sedimento y el tiempo de centrifugación se hace no lineal. Cuando la altura del sedimento permanece constante en el tiempo de centrifugación la compactación finaliza y ese tiempo define la operación. La experiencia mostró que el tiempo requerido para lograr la separación a 70 g fue de 3 minutos.

Determinación del área equivalente o factor Σ

La operación de la centrífuga continua es predicha a partir de los datos experimentales utilizando la expresión:

$$Q/\Sigma = \frac{4.6 g}{\omega^2 t} \log \frac{2 r_2}{r_1 + r_2}$$

Seleccionando trabajar a 70 g (750 rpm), suficientes para la recuperación de todo el producto, Q/Σ resultó igual a 6,272 E-6 m/s.

Considerando las características de la dispersión y del proceso y con el auxilio de un programa de cómputo de α-Laval ⁸ se seleccionó una separadora del tipo sedimentadora (*decanter*). La evaluación de la operación en la centrífuga de este tipo disponible (Modelo Westfalia Ca 150 01 00) resultó ser favorable con una relación del (Q/Σ) real de 4,15 E-6 m/s.

Una vez ejecutada la operación industrial de purificación por lavados y centrifugación del β-FeOOH y con un contenido mínimo de iones cloruros, se sintetizó la hierro dextrana a partir de la dextrana de bajo peso molecular.

Las características finales del complejo inyectable veterinario se presentan en la Tabla 3.

Caracterización fisicoquímica

Para comparar la estructura química del complejo con los productos comerciales establecidos se caracterizaron las muestras mediante difracción de rayos X, espectrometría Infrarrojo y de Mossbauer. Se determinó que todos los complejos dextrana-hierro estudiados tienen la misma naturaleza química y por tanto el producto nacional no difiere estructuralmente con relación a los patrones IMPOSIL e Infeon de importación.

Ensayos clínicos

Los ensayos clínicos se realizaron utilizando un total de 44 animales de la especie porcina categoría crías (3 días) durante 30 días, determinando el contenido de hemoglobina en sangre y peso corporal cada 5 días para 6 determinaciones totales. El tratamiento se aplicó en dos dosis de 1 ml equivalente a 200 mg de hierro

Ensayos	Especificaciones
Apariencia	Líquido carmelita oscuro ligeramente viscoso
pH	5.2 - 6.5
Contenido de hierro	9.5 - 10.5 % (p/v)
Contenido de cloruro	0.8 - 1.1 % (p/v)
Contenido de dextrana	8.0 - 15.0 % (p/v)
Contenido total de hierro libre	< 0.5%
Contenido de Fe-II libre	< 0.2%
Contenido de Fe-III libre	< 0.3%
Residuos no volátiles	24 - 32%
Contenido de fenol	0.45 - 0.55%
Conteo microbiano	Libre de m.o. patógenos y menos de 50 m.o. aeróbicos por mL
Gravedad específica, 25 °C	1.0 - 1.2
Viscosidad relativa, 25 °C	Menos de 20 cP

Tabla 3. Algunas de las propiedades físico-químicas de la solución del complejo inyectable.

(vía intramuscular), manteniendo y comparando contra la aplicación del producto Fisons (Inglaterra) que sirvió de patrón. El peso corporal promedio al inicio de los ensayos fue de 1,4 kg. No se encontró ningún comportamiento anormal en el período de tiempo analizado, ni se presentó ninguna alteración ni complicación de salud. Los aumentos de peso (7,2 kg) y hemoglobina (2,95 mmol/L) en los animales tratados fue comparable a los resultados logrados con los productos de importación.

CONCLUSIONES

Se describe el procedimiento de síntesis y purificación del complejo hierro-dextrana inyectable a partir de la síntesis previa del β -oxihidróxido férrico y mediante procesos de lavado y recuperación del sólido por centrifugación.

El diámetro de partícula, el tiempo y las gravedades de centrifugación y el factor Σ calculado determinaron el empleo de una centrifuga del tipo sedimentadora para efectuar el proceso.

Los ensayos químicos, biológicos y clínicos mostraron la similitud del preparado con otros comerciales de importación y buenos comportamientos en el estado de salud de los animales tratados.

REFERENCIAS

1. Kim, D. & D.F. Day (1994) *Enzyme Microb. Technol.* **16**: 844-8
2. Buckley, P. (1992) "Dextran 50 years". Dextran Abstract Journal. *International Scient. Services. 26th. Annual, 1.* Kabi Pharmacia Dextran System. ISSN 0346-9492, Suecia
3. Kavalec, B. & B. Russel (1985) *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **35 A**: 426-30
4. Walas, S.M. (1987) *Chem. Engineering* **16**: 75-81
5. BSI. BS-812 (1989) Norma para la determinación del tamaño de partícula por el método gravimétrico. *Normas cubanas*, Sección 103.
12. Comité Estatal de Normalización, La Habana, Cuba
6. Mahar, J.T. (1993) *Pharmaceutical Technology International* **5**: 54-61
7. De Loggio, T. & A. Letki (1994) *Chem. Engineering* **23**: 70-81
8. Alfa Laval Sharples Centrifuges (1989) Selection Guide. Alfa Laval Software Corporation