

## Desarrollo tecnológico de una solución oftálmica de latanoprost para el tratamiento del glaucoma

### Technological development of latanoprost eye solution for treatment of glaucoma

MSc. Ania González Cortezón, MSc. Caridad Margarita García Peña, MSc. Martha Gómez Carril, MSc. Alicia Lagarto Parra, Téc. Odalys Achón Tula, Téc. Yanet Montes de Oca Porto, Téc. Micaela Couret Trápana

Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM). La Habana, Cuba.

---

#### RESUMEN

**Introducción:** el latanoprost, análogo de la prostaglandina F2 $\alpha$ , es un agonista selectivo del receptor FP prostanoide que reduce la presión intraocular por incremento del flujo del humor acuoso, se clasifica como un antiglaucomoso y se indica en el tratamiento del glaucoma de ángulo abierto y la hipertensión ocular.

**Objetivo:** se diseñó una formulación de uso oftálmico conteniendo latanoprost como sustancia activa, a una concentración de 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , que cumpla con los índices de control de calidad para esta forma farmacéutica y proporcione el efecto terapéutico deseado.

**Métodos:** se realizaron los estudios de formulación y se ensayaron nueve variantes tecnológicas, seleccionándose la composición y procedimiento tecnológico más adecuados para su posterior escalado en la industria. Se ajustó el pH empleando la trometamina y la isotonicidad, con manitol, según las exigencias de una formulación oftálmica. Se desarrolló y validó una técnica analítica por Cromatografía Líquida de Alta Resolución para estudiar la estabilidad, determinar su fecha de vencimiento y para efectuar el control de la calidad de la formulación.

**Resultados:** el desarrollo tecnológico, resultó satisfactorio, se obtiene una formulación que cumple con todas las especificaciones descritas en la técnica desarrollada por el fabricante, para el control de la calidad del producto. Se comprobó que la preparación mantiene sus propiedades físicas, químicas y microbiológicas inalterables por un período de 24 meses, almacenada a una temperatura controlada entre 2 y 8 °C y protegido de la luz. El escalado a nivel piloto no reveló problemas tecnológicos y resultó no irritante, según el criterio establecido por la Unión Europea para la irritabilidad oftálmica.

**Conclusiones:** se obtuvo una formulación de colirio de latanoprost, útil en el tratamiento del glaucoma, con todas las especificaciones de calidad para este tipo de forma farmacéutica, con lo que pudiera aumentarse el arsenal terapéutico de Cuba.

**Palabras clave:** diseño de formulación, estabilidad, colirio, latanoprost.

---

## ABSTRACT

**Introduction:** latanoprost, F2 $\alpha$  prostaglandine analogue, is a selective FP receptor Prostanoid agonist that reduces the intraocular pressure due to increase of aqueous humor; it is classified as an anti-glaucoma drug and indicated for the treatment of open angle glaucoma and eye hypertension.

**Objective:** a formula for ophthalmic uses was designed, which contains latanoprost as active ingredient at concentration of 500  $\mu$ g/mL and complies with the quality control indexes for this pharmaceutical form and provides the desired therapeutic effect.

**Methods:** the formulation studies were conducted and nine technological variants were tested; the most adequate composition and technological procedure was selected for further industry scaling. The pH index and isotonicity were then adjusted using trometamin and manitol, respectively according to the demands of the eye formulation. A high resolution liquid chromatography-based analytical technique was developed and validated to study the stability, to determine the expiry date and to make the quality control of the formulation.

**Results:** the technological development proved to satisfactory since this formulation complies with all the specifications described in the manufacturer's technique for the quality control of the product. It was confirmed that this preparation keeps its physical, chemical and microbiological properties unchanged for 24 months if stored at 2-8 °C and protected from light. Pilot scale-up did not show either technological problem or irritating effect according to the European Union criteria for eye irritability.

**Conclusions:** there was attained a latanoprost eye drop formulation for the treatment of glaucoma, which complies with all the quality specifications for this type of pharmaceutical form and could increase the therapeutic arsenal in Cuba.

**Keywords:** formulation design, stability, eye drops, latanoprost.

---

## INTRODUCCIÓN

Los colirios constituyen la principal forma farmacéutica destinada a la vía de administración oftálmica. En la actualidad el desarrollo de nuevas formas de dosificación, permite disponer por esta vía, de una amplia gama de preparados.<sup>1</sup>

El latanoprost, análogo de la prostaglandina F2 $\alpha$ , es un agonista selectivo del receptor FP prostanoid que reduce la presión intraocular por un incremento del flujo del humor acuoso. Está indicado para el tratamiento del glaucoma de ángulo abierto y la hipertensión ocular, por lo que se clasifica como un antiglaucomatoso.<sup>2-</sup>

<sup>5</sup> Se absorbe a través de la córnea en forma de profármaco y allí se hidroliza a la forma ácida biológicamente activa, alcanza la circulación sistémica y se metaboliza principalmente en el hígado.<sup>6,7</sup>

Diseñar una formulación de latanoprost al 0.005 % (500 µg/mL) para uso oftálmico, que cumpla con los índices de control de la calidad para esta forma farmacéutica y que proporcione el efecto terapéutico deseado constituyó el objetivo del presente trabajo.

## MÉTODOS

### DESARROLLO TECNOLÓGICO

Para comprobar la concordancia con los requisitos exigidos para la sustancia farmacéutica activa y los excipientes se analizaron según las técnicas oficiales correspondientes, la desarrollada por el fabricante y la descrita en la Farmacopea 35 de los Estados Unidos.<sup>8</sup>

Para el desarrollo tecnológico de la formulación se empleó como sustancia activa latanoprost, procedente de China y correspondiente al lote 070611, que fue valorada previamente en los Laboratorios del Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM), según las especificaciones de calidad reportadas por el fabricante. Todos los reactivos empleados fueron de calidad para análisis y los equipos y cristalería de laboratorio se encontraban debidamente certificados.

Se utilizaron para el envase frascos de polietileno de baja densidad con *master bash*, de 5 mL de capacidad, fabricados *in situ* por la llenadora *Bottel Pack*, con tapa de polietileno de alta densidad y sello de inviolabilidad, previamente analizados para verificar que cumplieran con los requisitos establecidos para su uso farmacéutico.

Dadas las características del principio activo, de ser un líquido aceitoso de elevada viscosidad, prácticamente insoluble, se ensayaron nueve variantes tecnológicas y evaluados seis solventes, Se ajustó el pH y la isotonicidad de la formulación según las exigencias de un preparado oftálmico. La isotonicidad se ajustó con manitol y ácido bórico y el pH de máxima estabilidad se logró con el empleo de la trometamina.

A la formulación seleccionada, por sus resultados más prometedores, una vez envasado el producto, se le evaluó la influencia de la incidencia de la luz. Con este fin se sometieron unas muestras a la acción directa de la luz solar y otras se colocaron en los envases secundarios debidamente protegidos, en ambos casos fueron analizadas recién elaboradas y transcurridos siete días de fabricado el medicamento.

Una vez propuesta la formulación, con los diferentes parámetros de trabajo establecidos, se procedió a la elaboración de tres lotes a escala piloto de 10 000 mL de volumen total cada uno, identificados con los números 9001, 9002 y 9003, para realizar los estudios de estabilidad del producto final, definir sus condiciones de almacenamiento más idóneas y el tiempo de vida útil.

## DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE LA TÉCNICA DE ANÁLISIS PARA EL CONTROL DE LA CALIDAD Y ESTUDIO DE ESTABILIDAD DEL PRODUCTO TERMINADO

Se desarrolló y validó en los laboratorios del CIDEM, una técnica de análisis por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (CLAR), para la cuantificación de la sustancia activa en el producto terminado [TECNICA No. PT09007, desarrollada en la Unidad de Ciencia y Tecnología de Base (UCTB), Tecnologías Complejas del Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos CIDEM], tanto para el control de la calidad como para los estudios de estabilidad. Se definieron las especificaciones de calidad del medicamento, consistentes en la determinación de las características organolépticas, pH, volumen de solución por unidad, contenido del ingrediente farmacéuticamente activo, esterilidad y contenido de cloruro de benzalconio. La validación fue realizada según la categoría I (USP-30) de Medicamentos y la Regulación 41 No 2007 del Centro Estatal para el Control de los Medicamentos (CECMED), se evalúan los parámetros según esta categoría de ensayos.<sup>9,10</sup>

### ESTUDIO DE ESTABILIDAD

Se realizó a las muestras de los tres lotes en estudio el análisis físico—químico por el método de vida de estante y acelerado, según los requerimientos del CECMED para los estudios de estabilidad. La estabilidad acelerada se realizó a temperatura ambiente, analizándose el producto al inicio y a los 3 y 6 meses de fabricado.

El estudio por vida de estante se llevó a cabo almacenando las muestras a temperatura de 2—8 °C, según referencias que aparecen en la literatura especializada de que el principio activo se afecta a temperaturas mayores y la frecuencia de análisis fue al inicio, 3, 6, 9, 12, 18 y 24 meses a partir de la fecha de fabricación del medicamento.

Paralelamente al estudio de estabilidad, se analizó el comportamiento de la formulación, simulando el uso del producto por parte del paciente, determinando sus criterios de calidad a los 7, 15, 21 y 28 días de elaborado.

A los tres lotes de prueba, recién elaborado el medicamento, a los 6, 12 y 24 meses de comenzar el estudio, se les realizó el estudio microbiológico y el de efectividad de preservativos antimicrobianos.<sup>10</sup>

### DETERMINACIÓN DE LA IRRITABILIDAD OFTÁLMICA

Este método se basa en la determinación del potencial irritante ocular de la formulación de latanoprost 0.005 % colirio.

Para el estudio se emplearon conejos de laboratorio machos, albinos, de raza Nueva Zelanda, de masa corporal comprendida entre 1,5 y 2,0 Kg, procedentes del Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB), los cuales fueron mantenidos durante el ensayo en sala de temperatura controlada de  $22,0 \pm 2,0$  °C y ciclo luz—oscuridad 12 por 12 h. La alimentación consistió en dieta estándar para conejos CMO 1400, proveniente del CENPALAB y agua acidulada a libre demanda.

El ensayo se llevó a cabo según la norma No. 405 de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OECD).<sup>11</sup>

## ESCALADO PILOTO

La formulación y tecnología propuestas, fueron escaladas en los Laboratorios Farmacéuticos "Julio Trigo", utilizando para ello una tecnología de elaboración que se adaptó sin inversiones adicionales a las condiciones existentes en dicha industria, fabricando 3 lotes con un volumen total equivalente al 10,0 % de la capacidad instalada en la misma.

## RESULTADOS

Se comprobó que todas las sustancias, así como el material de envase utilizado en el estudio realizado, cumplieron con los requerimientos correspondientes para considerarlos aptos para uso farmacéutico.

En el estudio de preformulación, se pudo comprobar que de las variantes estudiadas, los mejores resultados se obtenían con la que se empleaba el *Cremophor RH 40* como agente solubilizante, ya que fue en la única que se obtuvo criterios de calidad satisfactorios desde el punto de vista analítico, logrando que el principio activo se disolviera completamente.

En el estudio de la influencia de la luz del producto en su envase final, se alcanzaron los resultados que se muestran en la tabla 1.

**Tabla 1.** Resultados obtenidos del estudio de influencia de la luz en el producto final

Factores ambientales	Recién elaboradas			Decursados 7 días		
	Características Organolépticas	pH (6,5-7,5)	Valoración % (90,0-110,0)	Características Organolépticas	pH (6,5-7,5)	Valoración % (90,0-110,0)
Muestras protegidas de la luz	Cumple	6,85	100,10	Cumple	6,86	100,05
Muestras expuestas a la luz	Cumple	6,90	99,98	Cumple	7,38	91,25

Se comprobó que con el contenido de preservante presente en la formulación, el mismo era capaz de proteger la formulación de contaminación microbiológica.

La validación de la técnica de análisis para la determinación del principio activo, arrojó que ésta es específica, precisa y que cumple con los criterios de linealidad y exactitud, por lo que pudo ser utilizada para el estudio de estabilidad del medicamento.

Muestras de los tres lotes elaborados con la formulación seleccionada en el estudio de preformulación, fueron sometidas a los ensayos descritos en la técnica de análisis, incluyendo el ensayo de esterilidad. Los resultados se muestran en la tabla 2.

**Tabla 2.** Resultados iniciales de los lotes fabricados para el estudio de estabilidad

Índices	LOTES			Límites
	9001	9002	9003	
Características organolépticas	Cumple	Cumple	Cumple	Líquido límpido, incoloro o ligeramente amarillento, inodoro, ausente de partículas extrañas en suspensión.
Identificación	Cumple	Cumple	Cumple	El tiempo de retención de la muestra coincide con el tiempo de retención de la sustancia de referencia en $\pm 5,0$ %.
Volumen por frasco	5,02 mL	5,01 mL	5,01 mL	No menor de 5,0 mL
pH	6,95	6,97	6,95	Entre 6,5 - 7,0
Valoración %	100,9	105,0	105,2	Entre 90,0 - 110,0 %
Contenido de preservio (%)	96,2	98,4	95,6	90,0 - 110,0 %
Productos de degradación	Inapreciables	Inapreciables	Inapreciables	No deben observarse picos adicionales al del latanoprost.
Esterilidad	Cumple	Cumple	Cumple	Ausencia de crecimiento microbiano

Los estudios de estabilidad del producto se muestran en las tablas 3 y 4, demostrando con los resultados obtenidos, que la formulación propuesta, mantiene todos los parámetros evaluados dentro de los límites establecidos y sin variación apreciable entre los mismos a lo largo del tiempo de estudio, por lo que se puede establecer 24 meses como fecha de vencimiento del producto. Similar comportamiento se encontró en el ensayo de esterilidad y contenido de cloruro de benzalconio.

En la tabla 5 se registra el estudio de frasco en uso con resultados satisfactorios.

Se pudo comprobar que el colirio desarrollado, resulta no irritante sobre las estructuras oculares del conejo, de acuerdo a la evaluación realizada a los 3 lotes del producto.<sup>12</sup>

La formulación y tecnología propuestas se introdujo a nivel piloto en la Empresa Laboratorio Farmacéutico "Julio Trigo", con resultados satisfactorios, que demostraron su factibilidad a esta escala.

**Tabla 3.** Resultados de los lotes en estudio de la estabilidad acelerada. (25,0 ± 2,0 °C y 60 % de HR)

	Ensayos	Inicial	3 meses	6 meses
Lote 9001	Características Organolépticas	Cumple	Cumple	Cumple
	pH	6,95	6,79	6,85
	Valoración (%)	100,9	100,0	98,9
	Productos de degradación	Inapreciables	Inapreciables	Inapreciables
Lote 9002	Características Organolépticas	Cumple	Cumple	Cumple
	pH	6,97	6,70	6,82
	Valoración (%)	105,0	104,0	103,2
	Productos de degradación	Inapreciables	Inapreciables	Inapreciables
Lote 9003	Características Organolépticas	Cumple	Cumple	Cumple
	pH	6,95	6,70	6,80
	Valoración (%)	105,2	104,0	102,8
	Productos de degradación	Inapreciables	Inapreciables	Inapreciables

**Tabla 4.** Resultados del estudio de estabilidad por vida de estante de los lotes en estudio (2-8 °C)

	Ensayos	Inicial	3 meses	6 meses	9 meses	12 meses	18 meses	24 meses
Lote 9001	Características organolépticas	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	pH	7,02	6,88	7,21	7,12	7,02	6,91	6,87
	Valoración (%)	98,5 %	94,7 %	93,9 %	93,2 %	92,7 %	92,5 %	92,2 %
	Productos de degradación	Inap.	Inap.	Inap.	Inap.	Inap.	Inap.	Inap.
	Contenido de preservio (%)	97,8 %	-	-	-	97,6 %	-	95,7 %
	Esterilidad	Cumple	-	-	-	Cumple	-	Cumple
	Lote 9002	Características Organolépticas	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
pH		7,02	6,78	7,14	7,08	7,24	6,94	6,91
Valoración (%)		97,8	97,0	95,3	94,7	94,1	94,1	93,6
Productos de degradación		Inap.	Inap.	Inap.	Inap.	Inap.	Inap.	Inap.
Contenido de preservio (%)		99,2	-	-	-	98,4	-	97,5
Esterilidad		Cumple	-	-	-	Cumple	-	Cumple
Lote 9003		Características Organolépticas	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	pH	7,01	6,78	7,11	7,09	7,27	6,88	6,86
	Valoración (%)	98,2	97,4	95,4	94,8	94,4	94,0	93,8
	Productos de degradación	Inap.	Inap.	Inap.	Inap.	Inap.	Inap.	Inap.
	Contenido de preservio (%)	96,7	-	-	-	96,9	-	94,5
	Esterilidad	Cumple	-	-	-	Cumple	-	Cumple

Inap. Inapreciables

**Tabla 5.** Resultados del estudio de estabilidad de frasco en uso (L-9003)

Parámetros	Inicial	7 días	15 días	21 días	28 días
Características Organolépticas	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
pH	6,97	6,85	6,87	6,93	6,84
Valoración (%)	99,7	99,5	99,5	99,4	99,1
Productos de Degradación	Inapreciables	Inapreciables	Inapreciables	Inapreciables	Inapreciables
Esterilidad	Cumple	-	-	-	Cumple

## DISCUSIÓN

En la evaluación de la influencia de la luz, se comprobó la marcada influencia en el tiempo en la calidad del producto, lo que evidencia la necesidad del uso del *Master*



*Bach* para proteger la solución de la luz y evitar reacciones del tipo fotolíticas que degraden el producto.

La preparación mantuvo sus propiedades físicas, químicas y microbiológicas inalterables, por un período de 24 meses, almacenada a una temperatura entre 2 y 8 °C, los resultados se sustentan en los análisis realizados, en los que se emplearon técnicas debidamente validadas y verificadas, que proporcionan una alta credibilidad a las conclusiones del presente trabajo.

Las condiciones establecidas para realizar el estudio de estabilidad acelerada, mantuvo la estabilidad del producto, no se alteró su calidad y permanecieron las características organolépticas, pH y valoración dentro de los límites establecidos en las especificaciones de calidad.

Los resultados del estudio de estabilidad por vida de estante, evidenció que el producto mantuvo los parámetros que determinan su calidad en los 24 meses de estudio, sin variaciones significativas. Se pudo observar que cada uno de los lotes objeto de ensayo, cumplió con la prueba de esterilidad al inicio y al transcurrir el tiempo, así como con la efectividad del preservativo antimicrobiano, con una total concordancia con la determinación de su contenido (cloruro de benzalconio) en la formulación.

El medicamento se mantiene estable, almacenado a temperatura de 2-8 °C, demostrado durante el estudio de frasco en uso, donde todos los parámetros evaluados permanecieron dentro de los límites establecidos para el producto terminado, garantizando que llegue al paciente un producto con la calidad requerida.

En el estudio de irritabilidad oftálmica, se observa que el Índice de Irritación Ocular obtenido para el producto en ensayo, se corresponde con una clasificación de no irritante. El producto produjo cambios muy leves en cornea que desaparecieron antes de las 48 h, lo cual avala el empleo seguro de la formulación sobre las estructuras oculares.

Se puede afirmar que se obtuvo una formulación de colirio de latanoprost, útil en el tratamiento del glaucoma, con todas las especificaciones de calidad para este tipo de forma farmacéutica, con lo que pudiera aumentarse el arsenal terapéutico de Cuba.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Faulí i Trillo. Tratado de Farmacia Galénica. 1ra Ed. Madrid: Luzan S.S.A.; 2000;329-347.
2. Reynolds JEF. Martindale. The Complete Drug Reference. 36 Ed. London: Pharmaceutical Press; 2009:1882.
3. Diccionario de Especialidades Farmacéuticas. 58 Ed. México DF: Ed. PLM, 2012 [citado 12 Sep 2014]. Disponible en: <http://www.minsa.gob.pe/portalebiblioteca2/biblio/plm/index.htm>

4. Latanoprost Solución oftálmica. Catálogo de Medicamentos Genéricos Intercambiables para farmacias y público. 2007. [citado 12 Sep 2014]. Disponible en [http://www.facmed.unam.mx/bmnd/gi\\_2k8/prods/PRODS/Latanoprost.htm](http://www.facmed.unam.mx/bmnd/gi_2k8/prods/PRODS/Latanoprost.htm)
5. The Merck Index. 13 Ed. [CD-ROM]. New Jersey: Merck; 2001:5391.
6. Rosenstein E. Diccionario de especialidades farmacéuticas. 47 ed. México, DF: Ed. PLM, SA de CV; 2001.
7. Xalatan 50 µg/mL colirio solución. Pfizer. 2001. [citado 12 Sep 2014]. Disponible en [http://bvs.minsa.gob.pe/local/biblio/plm/src/productos/27427\\_333.htm](http://bvs.minsa.gob.pe/local/biblio/plm/src/productos/27427_333.htm)
8. The United States Pharmacopeial. USP 35, NF 30. [CD-ROM]. Rockville: Mack Printing; 2012.
9. The United States Pharmacopeial, USP 30, NF 25. [CD-ROM]. Rockville: Mack Printing; 2007.
10. Centro Estatal para el Control de Medicamentos. Regulación 41/07. Validación de Métodos de analíticos. [citado 12 Sep 2014]. CECMED: La Habana; 2007. Disponible en: [http://www.cecmmed.sld.cu/Pages/Reg\\_EvalEL.htm](http://www.cecmmed.sld.cu/Pages/Reg_EvalEL.htm)
11. Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). Guideline for testing of chemical. Acute eye irritation/corrosion. No 405. Adopted 2002. Paris: OECD, 2002.
12. Rowe RC, Sheskly PJ, Quinn ME. Handbook of Pharmaceutical Excipients. 6th Ed. London: Pharmaceutical Press; 2009;68:335-6.

Recibido. 17 de septiembre de 2014.  
Aprobado: 30 de septiembre de 2014.

*Ania González Cortezón*. Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM). Ave. 26 No. 1605 entre Boyeros y Puentes Grandes. CP. 10600. Plaza de la Revolución, La Habana, Cuba.  
Correo electrónico: [ania.cortezon@infomed.sld.cu](mailto:ania.cortezon@infomed.sld.cu)