

Formulación de soluciones oftálmicas de ciclosporina en colirio al 2 por 100 para la práctica clínica

Elena Pérez Hernando^{1*}, Luis Alberto del Río Álvarez²

¹ Italfarmaco, S. A.

² Sección de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad CEU San Pablo.

Recibido el 28 de septiembre de 2009.

RESUMEN

Los colirios de ciclosporina existentes en la práctica farmacéutica presentan deficiencias que hacen que su calidad y seguridad no sea aceptable, máxime cuando se emplea como fuente de materia prima un medicamento comercializado. En el presente trabajo se define la fuente de principio activo, los excipientes empleados, los métodos de elaboración de las formulaciones y su evaluación que incluye su solubilización, fabricación y estabilidad física, así como la tolerancia de los vehículos en voluntarios sanos. Se han elaborado formulaciones acuosas y oleosas de colirios de ciclosporina al 2 por 100 con vehículos como miristato de isopropilo, macroglicéridos de oleilo, triglicéridos de cadena media, aceite de oliva y suero fisiológico. La fórmula de ciclosporina y miristato de isopropilo resulta la más adecuada por lo que se propone al Formulario Nacional español.

Palabras clave: Solubilización; Vehículos; Formulario Nacional; Calidad; Seguridad.

ABSTRACT

Formulation of cyclosporine 2% eyedrops solutions for clinical practice

The cyclosporine eyedrops in the current pharmaceutical practice display deficiencies that cause their quality and safety not acceptable, especially when a commercialized made up drug is used like source of raw material. In the present investigation, the source of active principle is defined, the ingredients, the methods of making-up of the formulations and their evaluation that includes solving, manufacturing and physical stability as well as the tolerance of the vehicles in healthy volunteers. Aqueous and oily formulations cyclosporine 2% eyedrops have been manufactured using vehicles like isopropyl myristate, oleoyl macrogolglycerides, medium chain triglycerides, olive oil and saline solution. Cyclosporine and isopropyl myristate formula is the most suitable and it is proposed to be included into the Spanish National Formulary.

Key words: Solubilisation; Pharmaceutical vehicles; National Formulary; Quality; Safety.

1. INTRODUCCIÓN

Ciertas patologías oculares son tratadas por vía sistémica al no existir medicamentos comercializados para administración local. Esto hace que, al ser la mucosa oftálmica una zona poco vascularizada, se requieran dosis elevadas de fármaco lo que lleva asociado, necesariamente, problemas de toxicidad y aparición de efectos secundarios. Uno de estos casos es la prevención del rechazo en el trasplante de córnea (1). Dicho trasplante es uno de los más exitosos pero, a pesar de que se realizan más de dos mil trasplantes de este tipo cada año en España (2), se trata de uno de los menos estudiados (3). Existe la creencia de que en este tipo de trasplantes no existen rechazos por ser la córnea una zona inmunoprivilegiada, pero la realidad es distinta, ya que en el 10 por 100 de los casos se producen rechazos agudos y en el 25 por 100, las córneas trasplantadas son rechazadas en un periodo de 4-5 años (4) debido a la inflamación producida tras la intervención quirúrgica (5).

La ciclosporina es un péptido aislado de un hongo por Thiele en 1969 (6) y en donde se estudiaron sin resultados sus propiedades antifúngicas, no sucediendo así con sus propiedades inmunosupresoras no citotóxicas. El uso de ciclosporina por vía oral se propuso en oftalmología a dosis bajas y por períodos de tiempo limitados a causa del riesgo de efectos secundarios sistémicos (7). Acheampong *et al.* (8) estudiaron su distribución tisular encontrando concentraciones máximas en la conjuntiva y menores en el humor acuoso y en el suero por lo que Chast *et al.* (9) ensayaron en animales un colirio de ciclosporina al 2 por 100 a partir de la solución oral disponible en el comercio (Sandimum® Neoral® Novartis) a un régimen diario de seis gotas, con escasa absorción sistémica, y Behrens-Bauman *et al.* describieron irritación local en conejos si se emplea etanol como vehículo (10). En el hombre, los estudios realizados (11) con la solución oral de Sandimmun® demuestran epitelio patía y sensación de quemadura ocular (12).

Estas formulaciones, al no existir como medicamentos de fabricación industrial, son elaboradas por farmacéuticos en oficina de farmacia u hospital como formulación magistral. En distintas publicaciones y formularios aparecen descritos colirios de ciclosporina para este fin que presentan diferente composición y una metodología no unificada. Aunque la legislación española (13) no prohíbe el empleo de las especialidades para la elaboración de formulaciones, tampoco lo permite abiertamente, por lo que se trata de un vacío legal. El empleo de la especialidad farmacéutica lleva asociados otros problemas como son los de una inadecuada esterilización, una menor precisión en la dosis de principio de activo empleado, mayor coste de la formulación (que establecemos en cuatro veces) y una menor seguridad y calidad en la fórmula, debido a los excipientes que se incluyen.

Dichas formulaciones deben estar respaldadas por los denominados formularios nacionales. En España, el Formulario Nacional y su revisión (14) no llegan al centenar de preparaciones entre fórmulas magistrales tipificadas y preparados oficinales. Este número es superado ampliamente por cualquiera de los formularios que se encuentran actualmente en circulación como el del Hospital Son Dureta de Palma de Mallorca (15). A nivel cualitativo, la mayoría de los preparados expuestos, son de utilidad terapéutica baja o están cubiertos

por especialidades existentes en el mercado. Se debe hacer mención, también, a las monografías de principios activos que incluyen materias primas obsoletas cuya utilidad es cuanto menos dudosa. En el apartado de excipientes apenas se describen excipientes simples y los excipientes compuestos descritos no aportan novedades a la práctica farmacéutica.

Por estos motivos, en la presente investigación se han trazado como objetivos:

- Estudiar las formulaciones de ciclosporina existentes para la vía ocular.
- Proponer una alternativa de mejora desarrollando métodos de estudio sobre solubilidad, estabilidad y tolerancia.
- Proponer la inclusión de la fórmula desarrollada como fórmula magistral tipificada en el Formulario Nacional.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Como ingredientes de uso farmacéutico se han elegido Miristato de isopropilo (Panreac Química SAU, Barcelona, España), Aceite de oliva (Fagron Ibérica SAU, Barcelona, España), Ricinoleato de macroglicerol (Cremophor[®] EL, BASF, Alemania), Triglicéridos de cadena media (Fagron Ibérica SAU, Barcelona, España), Macroglicéridos de oleilo (Labrafil[®] M 1944 CS, Gattefossé, Barcelona, España), Aceite de ricino (Acofarma, S. A., Barcelona, España), Propilenglicol (Panreac Química SAU, Barcelona, España), Cloruro de benzalconio (Fagron Ibérica SAU, Barcelona, España), Lágrimas artificiales a base de alcohol polivinílico (Liquifilm[®] Allergan, España) y Suero fisiológico (Salinet[®] Grifols, España).

Como fuentes de materia prima, Ciclosporina (Fagron Ibérica SAU, Barcelona, España), Sandimmun[®] inyectable 50 mg/mL (que contiene como solventes Etanol y Ricinoleato de macroglicerol y como antioxidante Nitrógeno), Sandimmun[®] Neoral[®] 100 mg/mL solución oral y Sandimmun[®] Neoral[®] 100 mg cápsulas (ambos contienen como solventes Etanol absoluto, Propilenglicol, Aceite de ricino polioxilo-40-hidrogenado y Mono-di-triglicéridos de aceite de

maíz y como antioxidante DL- α -tocoferol). La solución oral presenta un período de validez de tres años y por debajo de 20° C tienden a solidificar los componentes oleosos que posee de origen natural de forma reversible (16).

La ciclosporina (Figura 1) es un compuesto rico en aminoácidos hidrofóbicos insoluble en agua, pero muy soluble en etanol (17) con un LogP de 4.1 (18). Para estudiar su solubilidad en solventes de interés farmacéutico se empleó el método gravimétrico (19), que consiste en pesar una cantidad conocida de la materia prima y añadir progresivamente un volumen pequeño del solvente objeto de estudio hasta que se consiga la disolución por desaparición de la turbidez originada.



Figura 1. Estructura química de ciclosporina.

Para el envasado de las formulaciones se eligieron envases estériles (Envases Sirep, Tarragona, España) que constan de frasco y gotero de polietileno de baja densidad y tapón (con cierre de seguridad) de polietileno de alta densidad y viales transparentes clase I (Auxlaper, S. A., Barcelona, España), previamente esterilizados en autoclave (P-Selecta, Barcelona, España) durante 20 minutos a 121° C. Para la esterilización de las fórmulas se empleó filtración en entorno aséptico de campana de flujo laminar (NuAire II A/B3, Plymouth, USA) con filtros de nylon de 0,22 μ m estériles (Millipore Co, EEUU).

Las formulaciones que emplean como fuente de ciclosporina a especialidades farmacéuticas se muestran en la Tabla 1. La metodología es la de los propios autores.

Los colirios formulados con ciclosporina materia prima, tanto oleosos como acuosos propuestos se muestran en la Tabla 2.

Tabla 1. **Composición (metodología) de las fórmulas a base de medicamentos industriales**

Medicamentos (dosis equivalente a ciclosporina 2 g)	Solventes (csp 100 mL)		
	Fórmula A	Fórmula B	Fórmula C
Sandimmun® Neoral® 100 mg/m	Aceite de oliva (20)		
Sandimmun® inyectable 50 mg/mL		Aceite de maíz (21)	
Sandimmun® Neoral® cápsulas 100 mg			Lágrimas artificiales (22)

Tabla 2. **Composición de los colirios de ciclosporina**

<i>Materias primas</i>	<i>Formulaciones % (p/v)</i>					
	<i>D</i>	<i>E</i>	<i>F</i>	<i>G</i>	<i>H</i>	<i>I</i>
Ciclosporina A Ph. Eur.	2	2	2	2	2	2
Ricinoleato de macroglicérol	40	—	—	—	—	—
Cloruro benzalconio	0,01	—	—	—	—	—
Miristato de isopropilo	—	csp 100	—	—	—	—
Aceite de ricino	—	—	—	csp 100	—	—
Triglicéridos de cadena media	—	—	—	csp 100	—	—
Macroglicéridos de oleilo	—	—	—	—	csp 100	—
Aceite de oliva	—	—	—	—	—	csp 100
Suero fisiológico	csp 100	—	—	—	—	—

La elaboración de las fórmulas ha consistido en pesar la cantidad de ciclosporina determinada junto con el solvente determinado y disolver el principio activo mediante agitación magnética. En el caso del empleo de cloruro de benzalconio, se prepara previamente una solución al 0,01% (23) en suero fisiológico y se homogeneiza mediante agitación magnética. Cuando la mezcla es homogénea, se filtra la solución en campana de flujo laminar sobre un gotero estéril empleando un filtro de Nylon de 0,22 μm estéril acoplado a una jeringa estéril de 10 mL. Se cierra el envase y etiqueta correctamente.

Se evalúa el aspecto, para lo que se observa si el preparado cumple con el ensayo de limpidez descrito en la Real Farmacopea Española (24) y se envejecen las fórmulas en cámara climática (Vötsch VC 0057, Vötsch Industrietechnik, Alemania) en condiciones aceleradas reconocidas (40° C/75% HR) durante cuatro semanas.

Para la evaluación de la tolerancia de los vehículos, el estudio se llevó a cabo de acuerdo con la declaración de Helsinki y las generales directrices de la legislación española. Al entrar en el estudio, los individuos firmaron un consentimiento informado por escrito. Para su inclusión o exclusión, los voluntarios del estudio se reclutaron en nuestra Sección de Farmacia y Tecnología Farmacéutica previo anuncio. Eran de ambos sexos y su edad se situaba entre veinticinco y cincuenta y cinco años. No presentaban tratamiento farmacéutico oftálmico relacionado alguno. El campo visual no se tuvo en cuenta para su inclusión. Se excluyó a los sujetos con patología asociada, alergia conocida a las sustancias a ensayar, tratamiento que pudiese afectar a la visión o pérdida significativa de transparencia del cristalino, síntomas oculares de picor, sequedad, sensación de arenilla, sensibilidad al humo, aire acondicionado o piscinas y molestias al levantarse por las mañanas.

Se les administró a diez voluntarios sanos, una gota de cada uno de los vehículos en uno de los ojos dejando el otro como control. A continuación, se les hacía completar un cuestionario en el que se valoraban en una escala de 1 a 5 (1 como valor mínimo y 5 como máximo) los parámetros de la Tabla 3.

Tabla 3. **Parámetros de tolerancia de los vehículos**

1. Visión borrosa. Se crea una película en el ojo que impide o disminuye la visión normal.
2. Aparición de picor o quemazón.
3. Se estimula, en exceso, parpadeo o lacrimo.
4. Duración de los síntomas anteriores: menos de un minuto, entre dos y tres minutos, entre tres y cuatro, entre cuatro y cinco y más de cinco minutos, respectivamente.
5. Grado de intolerancia general.

Los resultados obtenidos de esta evaluación se han sometido a tratamiento estadístico mediante ANOVA bidireccional en forma de

suma de cuadrados Tipo III para discriminar entre cada media con el procedimiento de la diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher para una $P < 0,05$.

3. RESULTADOS

Los resultados de solubilidad de ciclosporina hallados en diferentes solventes se exponen en la Tabla 4. Los vehículos de características orgánicas son los apropiados para disolver la dosis requerida de ciclosporina.

Tabla 4. **Solubilidad de ciclosporina en vehículos de interés farmacéutico**

Vehículo	Masa de solvente para disolver 2 g de ciclosporina	Solubilidad de ciclosporina
Miristato de isopropilo	10,2 g	Fácilmente soluble
Propilenglicol	20,6 g	Soluble
Aceite de ricino	23,0 g	Soluble
Triglicéridos de cadena media	29,5 g	Soluble
Macroglicéridos de oleilo	30,0 g	Soluble
Ricinoleato de macroglicérol	39,4 g	Soluble
Aceite de oliva	57,6 g	Soluble
Glicerina	> 1000 g	Muy poco soluble
Suero fisiológico	> 10000 g	Prácticamente insoluble

En la Tabla 5 se hallan los valores encontrados de todas las formulaciones ensayadas en cuanto a su grado de estabilidad física como mantenimiento del aspecto de solución transparente.

En lo que respecta a las formulaciones realizadas a partir de las especialidades farmacéuticas registradas, no se han podido lograr preparados en solución. Todo esto lleva a considerar que ninguna de las fórmulas resulta adecuada. Las formulaciones propuestas con el empleo de la materia prima original son inicialmente conformes, al tratarse todas ellas de disoluciones y cumplir con el ensayo de limidez descrito en la Real Farmacopea Española. La fórmula que

utiliza aceite de ricino no pudo ser esterilizada debido a la elevada viscosidad que presentaba, lo que es una limitación para el empleo de la filtración esterilizante (25) a pesar de describirse este método de esterilización (26).

Tabla 5. **Estabilidad física de las formulaciones de ciclosporina**

Fórmulas	Inicial	Envejecimiento
A	Conforme	No conforme. Separación de fases
B	No dispersable. No conforme	—
C	No dispersable. No conforme	—
D	Conforme	No conforme. Separación de fases
E	Conforme	Conforme
F	Soluble. No Esterilizable. No conforme	—
G	Conforme	Conforme
H	Conforme	Conforme
I	Conforme	No conforme. Separación de fases

En cuanto a la estabilidad física, tras cuatro semanas en cámara climática a 40° C y 75 por 100 de humedad relativa, ninguna de las formulaciones acuosas resultó ser estable debido a que se produjo precipitación del principio activo que ya aparecía en la primera semana en las citadas condiciones.

La formulación con aceite de oliva, que es la que sirve de referencia en la práctica, no resultó estable. Las formulaciones oleosas restantes, compuestas con miristato de isopropilo, triglicéridos de cadena media y macroglicéridos de oleilo, resultaron conformes al no presentar ningún tipo de inestabilidad física y seguir cumpliendo, tras ese periodo, con el ensayo de limpidez de la Real Farmacopea Española.

En cuanto a la evaluación de la tolerancia de los vehículos empleados en las fórmulas D, E, G, H e I, sus resultados se encuentran

en la Tabla 6. Por medio de un estudio estadístico ANOVA bidireccional en forma de suma de cuadrados Tipo III para discriminar entre cada media con el procedimiento de la diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher para una $P < 0,05$, los vehículos más adecuados indistintamente son miristato de isopropilo y una mezcla de ricinoleato de macroglicérol en suero fisiológico. Habida cuenta de la inapropiada estabilidad hallada para la formulación con esta última, se propone la formulación que emplearía miristato de isopropilo para incluirse en el Formulario Nacional.

Tabla 6. Valores de tolerancia de los vehículos

Vehículos	Visión borrosa	Picor/ Quemazón	Parpadeo/ Lagrimeo	Duración síntomas	Grado de intolerancia	Media/ Grupos homogéneos
Aceite de oliva	3,9 ± 0,7	4,8 ± 0,6	4,1 ± 0,5	4,8 ± 0,6	4,8 ± 0,6	4,5 A
Macroglicéridos Oleilo	4,0 ± 0,7	3,2 ± 0,7	3,7 ± 0,8	4,1 ± 0,6	3,7 ± 0,7	3,7 B
Triglicéridos Cadena Media	2,8 ± 0,8	3,2 ± 0,5	3,0 ± 0,8	4,6 ± 0,8	3,0 ± 0,4	3,3 C
Ricinoleato Macroglicérol + Suero fisiológico	1,3 ± 0,4	1,2 ± 0,3	1,9 ± 0,6	1,6 ± 0,6	1,2 ± 0,4	1,4 D
Miristato Isopropilo	1,7 ± 0,8	1,1 ± 0,2	1,6 ± 0,6	1,2 ± 0,5	1,3 ± 0,5	1,4 D

4. DISCUSIÓN

Tras haber realizado un estudio experimental para obtener una formulación de colirio de ciclosporina al 2 por 100, se establece que las fórmulas existentes en la práctica farmacéutica presentan deficiencias a distintos niveles que hacen que su calidad no sea aceptable. A partir de esto, se han diseñado y elaborado alternativas con distintos vehículos de interés farmacéutico. De todas las formulaciones propuestas, la de ciclosporina en colirio al 2 por 100, que incluye miristato de isopropilo como vehículo, ha demostrado ser la más adecuada en lo que respecta a la formulación, elaboración, esterili-

zación y estabilidad física. Asimismo, el vehículo ha presentado una adecuada tolerancia al nivel estudiado, por lo que se propone dicha formulación para ser incluida, como fórmula magistral tipificada, en el Formulario Nacional.

5. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha obtenido el Premio Normon dentro del Concurso Científico 2005 convocado por la Real Academia Nacional de Farmacia.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. Niederkorn, J. Y. (2003) Immunology and immunomodulation of corneal transplantation. *Int. Rev. Immuno.* 21 (2-3): 173-96.
2. ONT, Organización Nacional de Trasplantes (2008) <http://www.ont.es>
3. George, A. J. T. & Larkin, D. F. P. (2004) Corneal Transplantation: The Forgotten Graft. *American Journal of Transplantation* 4: 678-685.
4. Wilson, C. G. (2004) Topical drug delivery in the eye. *Experimental Eye Research* 78: 737-743.
5. Coster, D. J. & Williams, K. A. (2003) Management of high-risk corneal grafts. *Eye.* 17(8): 996-1002.
6. Stähelin, H. F. (1996) The history of cyclosporin A (Sandimmune®) revisited: Another point of view. Birkhäuser Basel. *Cellular and Molecular Life Sciences.* 52 (1).
7. Pfau, B.; Kruse, F. E.; Rohrschneider, K.; Zorn, M.; Fiehn, W.; Burk, R. O. & Volcker, H. E. (1995) Comparison between local and systemic administration of cyclosporin A on the effective level in conjunctiva, aqueous humor and serum. *Ophthalmologie.* 92 (6): 833-9.
8. Acheampong, A. A.; Schackleton M.; Tang-Liu D. D.; Ding S.; Stern, M. E. & Decker, R. (1999) Distribution of cyclosporin A in ocular tissues after topical administration to albino rabbits and beagle dogs. *Curr. Eye Res.* 18: 91-103.
9. Chast, F. L.; Legeais, J. M.; Batista, R.; Bardin, C. & Renard, G. (2004) Préparation d'un collyre de ciclosporine à 2%. *J. Fr. Ophthalmol.* 27: 567-76.
10. Behrens-Bauman W.; Theuring, S. & Brewitt, H. (1986) The effect of topical cyclosporin A on rabbit cornea: a clinical and electron microscope study. *Graefes Arch. Clin Ex.p Ophthalmol.* 224: 520-4.
11. Bouchard, C. S. & Belin, M. W. (1988) Topical cyclosporin A: improved graft survival in high risk corneal transplant patients. *ARVO Annual Meeting Abstract Issue.* Bethesda: 450.

12. Secchi, A. G.; Tognon, M. S. & Leonardi, A. (1990) Topical use of cyclosporine in the treatment of vernal keratoconjunctivitis. *Am. J. Ophthalmol.* 110: 641-5.
13. Boletín Oficial del Estado (2006), Ley 29/2006, de 26 de julio, de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios, núm. 178, de 27 de julio.
14. Ministerio de Sanidad y Consumo (2007), Formulario Nacional + CD-ROM. Editorial BOE. Madrid.
15. Guía Farmacoterapéutica HUSD (2007), <http://www.elcomprimido.com/FAR-HSD/ENLACESVADEMECUMS.htm>
16. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (2008), Ficha técnica Sandimmun Neoral. <https://sinaem4.agemed.es/consaem/>
17. Hassan, M. M. A. & Al-Yahya, M. A. (1987) Cyclosporine. Analytical profiles of Drug substances. *American Pharmaceutical Association.* 16: 145-206.
18. VIRTUAL COMPUTATIONAL CHEMISTRY LABORATORY (2008) <http://www.vcclab.org/lab/alogs/>
19. Gibson, M. (2001) Pharmaceutical Preformulation and Formulation. A practical guide from candidate drug selection to commercial dosage form. HIS Health Group, Englewood, CO.
20. Robert, P. Y.; Leconte, V.; Olive, C.; Ratsimbazafy, V.; Javerliat, M. & Adenis, J. P. (2001) Collyre à la cyclosporine A: fabrication, toxicité, pharmacocinétique et indications en l'an 2000. *J. Fr. Ophthalmol.* 24 (5): 527-535.
21. Mcelhiney, L. F. (2005) Comunicación - Foro de formulación magistral. International Society of Pharmaceutical Compounding. <http://www.isphc.com>
22. Alonso, J. M. (2003) *Preparación de medicamentos y formulación magistral para oftalmología*. Ediciones Díaz de Santos. Madrid.
23. Furrer, P.; Mayer, J. M. & Gurny, R. (2002) Ocular tolerance of preservatives and alternatives. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 53 (3): 263-80.
24. Ministerio de Sanidad y Consumo (2005) *Real Farmacopea Española*, III edición (Farmacopea Europea, IV edición). Boletín Oficial del Estado. Madrid.
25. Obiols, J. R. & Beaus, R. (2005) Validación de los sistemas de filtración esterilizante. *Industria Farmacéutica*, mayo/junio: 86-97.
26. Arco Ortiz, J. *et al.* (2004) *Formulación magistral de medicamentos*. Colegio Oficial de Farmacéuticos de Vizcaya.

*** Información de contacto:**

Elena Pérez Hernando.

e-mail: ephernando@hotmail.com