

DESARROLLO Y EVALUACIÓN DE UNA FORMULACIÓN OFTÁLMICA DE ATROPINA AL 0,01%

Development and Evaluation of a 0,01% Atropine Ophthalmic Formulation

Maria Luisa BRIZ MARTÍN

Facultad de Farmacia. Campus Miguel de Unamuno. Salamanca.

Correo-e: mluisabriz@usal.es

Aránzazu ZARZUELO CASTAÑEDA

Área de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Campus Miguel de Unamuno. Salamanca.

Correo-e: druy@usal.es

Adela SÁNCHEZ ÁVILA

Farmacia Ávila Bardají. Calle Gran Vía 24, 37001 Salamanca.

Correo-e: avilasanchezadela@gmail.com

RESUMEN: Introducción: El uso de colirio de atropina en bajas concentraciones (0,01%) ha resultado ser el tratamiento más eficaz para controlar la progresión de la miopía en niños. Sin embargo, no existe comercializado como tal, y por tanto, la formulación de medicamentos individualizados es alternativa para abordar dicho tratamiento.

Objetivo: Desarrollo galénico de una fórmula de sulfato de atropina 0,01%, estudio de estabilidad y validación del método analítico para la cuantificación de sulfato de atropina en las soluciones oftálmicas elaboradas.

Materiales y métodos: Estudio bibliográfico, desarrollo y elaboración de diversas fórmulas, controles y estudio de estabilidad durante dos meses a 25°C/60%HR y 5°C.

Discusión y resultados: El método analítico ha resultado ser selectivo, lineal, preciso tanto inter como intradía. El pH y la osmolaridad de las formulaciones propuestas no se modificaron al cabo de los dos meses en ninguna de ellas; no se observaron diferencias estadísticamente significativas ni en la riqueza de atropina ni del conservante, durante el estudio de estabilidad.

Conclusión: Los resultados obtenidos recomiendan una formulación con tampón fosfato, ya que su pH se asemeja más al pH fisiológico y, teniendo en cuenta que se trata de un colirio de uso crónico, se aconseja, *a priori*, y sin conservante.

Palabras clave: Atropina; Colirio; Miopía; UPLC.

ABSTRACT: Introduction: Topical use of low concentration atropine (0.01%) has proved to be the most effective treatment for controlling the progression of myopia in children. However, it is not commercialized as such and therefore the formulation of individualized drugs is an alternative to approach such treatment.

Objectives: Galenic development of a 0.01% atropine sulfate formula, stability study and validation of the analytical method for the quantification of atropine sulfate in elaborated ophthalmic solutions.

Material and Methods: Bibliographic study, development and elaboration of various formulas, controls and study of stability during two months at 25°C/60%RH and 5°C.

Discussion and Results: The analytical method has proved to be selective, linear, accurate both inter and intraday. The pH and osmolarity of the proposed formulations were not modified after two months in any of them; no statistically significant differences were observed either in the richness of atropine or the preservative during the stability study.

Conclusion: The results obtained recommend a formulation with phosphate buffer, since its pH is more similar to the physiological pH and, considering that it is a chronic use eye drops, it is advisable, and without preservative.

Key words: Atropine; Eye drop; Myopia; UPLC.

1. INTRODUCCIÓN

La miopía se ha convertido en un problema de salud pública a nivel mundial y es una de las cinco enfermedades oculares identificadas como prioridad inmediata para la *Iniciativa Mundial para la Eliminación de la Ceguera Evitable*. En

los países desarrollados, la miopía es la afección médica más común que requiere tratamiento, con una tasa en adultos que oscila entre el 15% y el 49% (Huang, *et al.*, 2016).

La incidencia de la miopía varía en función de factores geográficos, socioeconómicos y étnicos. En Asia, un 47,3% de los adultos padecen esta enfermedad, (Tan, *et al.*, 2016) llegando a alcanzar incluso un 90% en algunos países asiáticos (Lee, *et al.*, 2016). Un estudio de cohortes de la Academia Americana de Oftalmología ha demostrado que la prevalencia de la miopía es cada vez mayor en Europa Occidental y del Norte, siendo cada vez más frecuente en niños recién nacidos. Este aumento es similar en América del Norte (Williams, *et al.*, 2015) y tiene consecuencias tanto clínicas como económicas. La mayor necesidad de detección y tratamientos de la miopía conlleva una mayor prestación por parte de los servicios clínicos, optométricos y oftalmológicos (Williams, *et al.*, 2015). Además de los efectos sobre la visión y los costes de corrección asociados, la miopía constituye un factor de riesgo importante para el desarrollo de enfermedades oculares; glaucoma, cataratas y desprendimiento de retina, incluso en miopes leves (menos de 3 Dioptrías) (Huang, *et al.*, 2016).

Actualmente, la atención clínica estándar se basa en el tratamiento de las consecuencias ópticas y médicas de la miopía, en lugar de limitar su progresión. Numerosos ensayos han evaluado la eficacia de distintas terapias dirigidas a ralentizar dicha progresión, tales como lentes bifocales y multifocales, lentes de contacto y ortoqueratología. Sin embargo, todos ellos concluyen que el tratamiento más eficaz es el uso de fármacos antimuscarínicos vía tópica. Tanto la pirenzepina como la atropina han demostrado una disminución en la progresión de la miopía de 0,31 y 0,80 dioptrías al año, respectivamente (Tan, *et al.*, 2016, Lee, *et al.*, 2016).

El colirio de atropina ha resultado ser el tratamiento más seguro y eficaz para frenar la progresión de la miopía, según estudios retrospectivos, y numerosos ensayos clínicos (Tan, *et al.*, 2016). La atropina es un fármaco antagonista no selectivo del receptor muscarínico que provoca midriasis, dilatación de la pupila y cicloplejía, es decir parálisis del músculo ciliar por acomodación. Ha sido utilizada por vía tópica, para prevenir la progresión de la miopía desde hace varias décadas en Taiwán y otros países asiáticos (Tan, *et al.*, 2016). Aunque no se conoce con exactitud el mecanismo de acción de dicho fármaco, los primeros estudios sugerían que se debía a los efectos de la atropina en la acomodación del cristalino. Sin embargo, estudios más recientes han demostrado que la atropina actúa también por una vía no acomodativa, regulando el receptor muscarínico de la retina y esclerótica (Huang, *et al.*, 2016, Lee, *et al.*, 2016).

A pesar de la eficacia demostrada, el uso de colirios de atropina conlleva una serie de efectos adversos inevitables, tales como midriasis, fotofobia, visión borrosa, deslumbramiento y fenómeno de rebote una vez finalizado el tratamiento.

Estos efectos secundarios, que aparecen sobre todo a dosis elevadas de atropina (1% - 0,5%), han limitado su uso clínico (Huang, *et al.*, 2016, Lee, *et al.*, 2016, Polling, *et al.*, 2016). Numerosos estudios han evaluado la eficacia del colirio de atropina a distintas concentraciones, demostrando que a dosis más bajas (0,01%) los efectos adversos son mínimos, consiguiendo una reducción de la progresión de la miopía del 50%.

Teniendo en cuenta estudios de seguridad y eficacia, podemos concluir que la atropina en concentraciones del 0,01% ha resultado ser el perfecto candidato para limitar la progresión de la miopía (Huang, *et al.*, 2016, Tan, *et al.*, 2016, Lee, *et al.*, 2016, Polling, *et al.*, 2016, Chia, *et al.*, 2014).

El principal problema que se plantea para los oftalmólogos es que solo existe comercializado el colirio de atropina al 0,5%. Ante la falta de respuesta de la industria farmacéutica a esta necesidad de los oftalmólogos, la formulación de medicamentos individualizados ofrece una alternativa para abordar dicho tratamiento.

2. OBJETIVOS

- Desarrollo galénico de una fórmula de sulfato de atropina 0,01% que cumpla los requisitos de farmacopea, para el control de la miopía.
- Estudio de estabilidad de las fórmulas desarrolladas durante dos meses
- Validación del método analítico de UPLC puesto a punto para la cuantificación de sulfato de atropina en las soluciones oftálmicas elaboradas.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Estudio bibliográfico

En primer lugar se ha realizado una búsqueda bibliográfica en distintas bases de datos: PubMed, Medline y Google Scholar de artículos y publicaciones de revistas científicas, con el fin de recopilar información acerca del uso de la atropina oftálmica como recurso para frenar la miopía en niños. Se ha llevado a cabo un estudio comparativo de numerosos ensayos clínicos y estudios retrospectivos que evalúan los colirios de atropina a distintas concentraciones, los conservantes más utilizados y sus posibles efectos adversos. Se han analizado además las referencias bibliográficas de los artículos seleccionados, con el fin de rescatar otros estudios.

Posteriormente, para conocer la normativa, la correcta elaboración, los requisitos y las exigencias oficiales de las formulaciones oftálmicas, se ha consultado la Real Farmacopea Española (RFE) (Real Farmacopea Española. 5.^a ed.; 2015), el Formulario Nacional (FN) (Formulario nacional. 2.^a ed.; 2015) y otros manuales

basados en la formulación magistral de medicamentos para oftalmología (Formulación magistral de medicamentos. 5.ª ed., Alonso, 2003).

3.2. *Elaboración de las fórmulas*

MODUS OPERANDI

Una vez definidas las fórmulas se elaboraron siguiendo el *modus operandi* recogido a continuación:

1. Pesar o medir todos los componentes de la fórmula.
2. Añadir el principio activo en $\frac{3}{4}$ partes del solvente agitando hasta disolución.
3. Añadir lentamente, si procede, el conservante hasta su completa disolución.
4. Completar hasta el volumen total especificado en la fórmula, con el resto del solvente.

ACONDICIONAMIENTO Y ALMACENAMIENTO

Las soluciones oftálmicas elaboradas se envasaron en envases multidosis estériles, herméticos y con cierre inviolable. De 10 ml de polipropileno con tapón gotero.

Los colirios elaborados se almacenaron en cámaras climáticas para su posterior estudio de estabilidad (Formulario nacional. 2.ª ed.; 2015).

3.3. *Controles y estudio de estabilidad*

Una vez elaborados los cuatro lotes de colirios, siguiendo la fórmula y el procedimiento descrito anteriormente, se realizaron los controles exigidos por Farmacopea. A pesar de que la RFE exige un control microbiológico de esterilidad, en nuestro caso en la elaboración de los colirios no contábamos con una cabina de flujo laminar vertical y por tanto no se podía asegurar la esterilidad de los mismos, por lo que se prescindió de dicho ensayo.

Los controles que se han realizado son los siguientes:

1. pH.
2. Osmolaridad.
3. Riqueza del principio activo y del conservante.
 - Antes de medir la riqueza de Atropina sulfato de las formulaciones, se puso a punto y se validó un método analítico de UPLC, usando como fase móvil tampón fosfato pH 2.8 y como modificador orgánico Acetonitrilo (C18, 1,7 mm, 50*4.6mm).

- La riqueza del conservante se determinó con un método de UPLC previamente validado.

Para nuestro estudio de estabilidad, se tomaron muestras a tiempo cero (t_0) y se almacenaron los colirios durante dos meses, en cámaras climáticas en las siguientes condiciones: 25°C/60%HR y 5°C. A los dos meses (t_2) se realizaron de nuevo los controles para determinar si los parámetros fijados seguían dentro de especificaciones.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El método analítico puesto a punto ha demostrado ser selectivo, lineal, preciso tanto intra como interdía con unos coeficientes de variación < 2% (0,5 y 0,7% respectivamente), exacto (% recuperación $100,9 \pm 0,6$) y robusto para cambios de flujo, temperatura y fase móvil, para un rango de concentraciones de 80-120mg/ml.

Según la RFE las exigencias tecnológicas de las formulaciones oftálmicas están condicionadas por las características físico-químicas del fluido lacrimal, con el que se mezclan una vez administrados, particularmente por su osmolaridad y pH (Real Farmacopea Española. 5.ª ed.; 2015).

Tabla 1. Requisitos tecnológicos básicos a tener en cuenta para la formulación de colirios o gotas oftálmicas.

Consideraciones tecnológicas (LÁGRIMAS)		
Osmolaridad (lágrimas)	pH	Viscosidad
Ojos abiertos: 302-318 mOsm Ojos cerrados: 290 mOsm	pH=7,4 margen tolerado ligeramente alcalino: (7,4-9,5)	25-50 cp

Siguiendo las recomendaciones de la RFE y FN para la elaboración de colirios, los vehículos utilizados pueden ser agua purificada y estéril, aceites vegetales naturales o vehículos lipófilos sintéticos. En nuestro caso y dado que nuestro principio activo, sulfato de atropina es un polvo cristalino blanco, muy soluble en agua, hemos utilizado como vehículo agua purificada y estéril (Real Farmacopea Española. 5.ª ed.; 2015, Formulario nacional. 2.ª ed.; 2015)

Además la RFE recomienda el uso de NaCl al 0,9% como agente isotónico, ya que es equivalente y compatible con las lágrimas (isotónico e isosmótico), y por tanto lo hemos incluido en nuestra Fórmula A (Real Farmacopea Española.

5.^a ed.; 2015). A pesar de que lo ideal es que no sea necesario ajustar el pH de la formulación, ya que el poder neutralizante de las lágrimas debería ser suficiente, para poder realizar un estudio comparativo hemos diseñado una FÓRMULA B que incluye el tampón fosfato $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ y que permite mantener el pH a 7,4, cumpliendo con los requisitos tecnológicos exigidos.

Teniendo en cuenta los requisitos tecnológicos de los colirios, las características de nuestro principio activo, sulfato de atropina, y las recomendaciones de la Real Farmacopea Española, se han diseñado dos fórmulas magistrales con el fin de comparar su estabilidad:

- FÓRMULA A

Sulfato de atropina: principio activo.

Cloruro sódico 0,9 %: agente isotonzante.

Cloruro de Benzalconio (BAK): conservante.

- FÓRMULA B

Sulfato de atropina: principio activo.

T.Fosfato ($\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$) y Cloruro sódico: agente isotonzante.

Cloruro de Benzalconio (BAK): conservante.

Para este tipo de formulaciones se exige limpieza, esterilidad y la inclusión de un agente conservante en envases multidosis, ya que la contaminación bacteriana aparece con el empleo del envase durante dos semanas dos veces al día. Siguiendo las recomendaciones de la RFE, y analizando los componentes de otros colirios de uso crónico, hemos encontrado que el conservante más utilizado, que cumple con los requisitos tecnológicos de los colirios y que mejor se adapta a nuestra fórmula es el Cloruro de Benzalconio (BAK) en concentraciones 0,01%-0,0001%. Sin embargo, se ha demostrado que la administración sucesiva de formulaciones oftálmicas con conservantes generan, un efecto tóxico sobre la superficie ocular, observándose en los pacientes problemas de inflamación y síndrome de ojo seco (Herrero, 2007; Bell, Rosin, 2016).

Por tanto, como hemos elaborado nuestros colirios en envases multidosis y con el fin de realizar un estudio comparativo, hemos diseñado dos fórmulas alternativas que incluyen Cloruro de Benzalconio como conservante FÓRMULA A/BAK y FÓRMULA B/BAK.

Tabla 2. Composición Colirio Atropina + NaCl (FÓRMULA A),
Composición Colirio Atropina + T.Fosfato (FÓRMULA B).

MATERIAL FÓRMULA A	Cantidad por 100 ml (mg)	%
Atropina Sulfato	10	0,01
NaCl	900	0,90
Cloruro de Benzalconio	1,5	0,0015
Agua purificada	csp	csp
TOTAL		100
MATERIAL FÓRMULA B	Cantidad por 100 ml (mg)	%
Atropina Sulfato	10	0,01
Na ₂ HPO ₄	470	0,47
NaH ₂ PO ₄	460	0,46
NaCl	400	0,40
Cloruro de Benzalconio	1,5	0,0015
Agua purificada	csp	csp
TOTAL		100

Sobre los colirios envasados se realizaron los controles previamente fijados, quedando los resultados obtenidos a continuación:

Tabla 3. Resultados pH, Osmolaridad (mOsm/kg), Riqueza Atropina
(% riqueza declarada), Riqueza Conservante BAK (% riqueza declarada).

COLIRIO	t ₀	t ₂ 5°C	t ₂ 25°C
<i>pH</i>			
LOTE A	5,46 ± 0,02	5,78 ± 0,04	5,72 ± 0,04
LOTE A/BAK	5,78 ± 0,04	5,77 ± 0,01	5,70 ± 0,02
LOTE B	6,65 ± 0,01	6,68 ± 0,01	6,69 ± 0,01
LOTE B/BAK	6,67 ± 0,01	6,68 ± 0,03	6,69 ± 0,01
<i>Osmolaridad (mOsm/kg)</i>			
LOTE A	285,0 ± 1,4	297,5 ± 0,6	297,6 ± 0,6
LOTE A/BAK	285,5 ± 0,7	290,0 ± 0,1	290,3 ± 0,6

LOTE B	273,0 ± 0,0	277,0 ± 0,1	276,0 ± 0,0
LOTE B/BAK	273,4 ± 2,1	277,8 ± 0,3	278,0 ± 0,0
<i>Riqueza Atropina (% riqueza declarada)</i>			
LOTE A/BAK	99,04 ± 0,26	99,60 ± 0,28	99,49 ± 0,67
LOTE B/BAK	101,14 ± 0,59	101,09 ± 0,49	100,84 ± 0,65
<i>Riqueza Conservante BAK (% riqueza declarada)</i>			
LOTE A	100,55 ± 0,45	99,96 ± 0,57	100,18 ± 0,48
LOTE A/BAK	100,01 ± 0,21	100,31 ± 0,81	100,36 ± 0,57
LOTE B	100,47 ± 0,52	100,39 ± 0,68	100,16 ± 1,05
LOTE B/BAK	100,37 ± 0,40	100,38 ± 0,79	100,18 ± 0,57

Como podemos observar en la Tabla 3, los valores de pH de las cuatro formulaciones a tiempo cero cumplen con las especificaciones fijadas. Sin embargo las formulaciones B y B/BAK, que incluyen un tampón fosfato, se acercan más al pH óptimo que recomienda la RFE (pH 6,8-8,5). El pH no se modificó al cabo de los dos meses en ninguna de las formulaciones.

En cuanto al control de osmolaridad, como podemos apreciar en la Tabla 3, las cuatro formulaciones cumplen con las especificaciones exigidas (270-300 mOsm) tanto a tiempo cero como al cabo de los dos meses, manteniendo valores de osmolaridad tolerables por el ojo y prácticamente constantes durante los dos meses del estudio.

Tal y como se describe en la Tabla 3 no se han observado diferencias estadísticamente significativas ni en la riqueza de ATP ni del conservante, durante el estudio de estabilidad.

5. CONCLUSIONES

Las cuatro fórmulas que hemos diseñado para el colirio de atropina al 0,01% han demostrado ser estables durante los dos meses de estudio, tanto a temperatura ambiente como almacenada en frío y cumplen con los requisitos exigidos por farmacopea. Realizando un estudio comparativo de las cuatro formulaciones, se recomendaría la fórmula que contiene Tampón fosfato (FÓRMULA B), ya que su pH se asemeja más al pH fisiológico y, teniendo en cuenta que se trata de un colirio de uso crónico, se aconseja, *a priori*, prescindir de la fórmula con conservante.

La estabilidad de las mismas, tanto en frío como a temperatura ambiente, es un aspecto de gran interés para la oficina de farmacia. Puesto que para elaborar colirios es necesario estar acreditado para estériles y la mayoría de las farmacias no formulan estas formas farmacéuticas, es necesario la fabricación por terceros y el

transporte desde la oficina de farmacia elaboradora a la dispensadora, estando en muchas ocasiones ambas distantes. La estabilidad de la formulación a temperatura ambiente facilita el transporte, puesto que no es necesario transporte en frío, lo que simplifica y abarata el mismo.

Para completar el estudio sería necesario elaborar las fórmulas en una farmacia o servicio de farmacia hospitalario acreditado para estériles y realizar un estudio microbiológico para demostrar la esterilidad y seguridad de los mismos y definir si es posible la elaboración y uso de dicha fórmula sin conservante, lo que como se ha comentado supone una ventaja en tratamientos crónicos.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Aguirre L, Pérez JA, Pujol M. Validación de métodos analíticos. AEFI. Barcelona: 2001.
- Alonso JM. Preparación de medicamentos y formulación magistral para oftalmología. Madrid: Díaz de Santos; 2003.
- Bell N, Rosin L. Preservative toxicity in glaucoma medication: clinical evaluation of benzalkonium chloride-free 0.5% timolol eye drops. *Clin. Ophthalmol.* 2013;7:2131-2135.
- Chia A, Chua W, Wen L, Fong A, Goon Y, Tan D. Atropine for the Treatment of Childhood Myopia: Changes after Stopping Atropine 0.01%, 0,1% and 0.5%. *Am J Ophthalmol.* 2014;157(2):451-457.
- Formulación magistral de medicamentos. 5.ª ed. Bizkaia: Colegio Oficial de Farmacéuticos de Bizkaia, 2004.
- Formulario nacional. 2.ª ed. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, 2015.
- Herrero R. Generalidades de los conservantes en las formulaciones oftálmicas. *Archivos de la Sociedad Española de Oftalmología.* 2007;82:531-532.
- Huang J, Wen D, Wang Q, McAlinden C, Flitcroft I, Chen H *et al.* Efficacy Comparison of 16 Interventions for Myopia Control in Children. *Ophthalmology.* 2016;123(4):697-708.
- Lee C, Sun C, Lin Y, Lin K. Effects of topical atropine on intraocular pressure and myopia progression: a prospective comparative study. *BMC Ophthalmol.* 2016;16(1):1-7.
- Polling J, Kok R, Tideman J, Meskat B, Klaver C. Effectiveness study of atropine for progressive myopia in Europeans. *Eye.* 2016;30(7):998-1004.
- Real Farmacopea Española. 5.ª ed. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, 2015. p. 600-602.
- Tan D, Tay S, Loh K, Chia A. Topical Atropine in the Control of Myopia. *Asia Pac J Ophthalmol.* 2016;5(6):424-428.
- Williams K, Bertelsen G, Cumberland P, Wolfram C, Verhoeven V, Anastasopoulos E *et al.* Increasing Prevalence of Myopia in Europe and the Impact of Education. *Ophthalmology.* 2015;122(7):1489-1498.