

---

**DESARROLLO TECNOLÓGICO Y ESTUDIO DE ESTABILIDAD DE UNA FORMULACION DE ETOPOSIDO 100 mg SOLUCION INYECTABLE, PARA EL TRATAMIENTO DEL CANCER.**

**Autores:** MSc Ania González Cortezón<sup>1</sup>; MSc Luis Octavio Martínez Alvarez<sup>1</sup>; Téc. Odalys Achón Tula<sup>2</sup>

- 1 Máster en Tecnología y Control de Medicamentos. Investigador Auxiliar. Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos.
- 2 Técnico Medio en Química Industrial. Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos.

**Autor para correspondencia:** MSc Ania González Cortezón. Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM). Ave. 26 No. 1605 entre Boyeros y Puentes Grandes. CP. 10 600. Plaza de la Revolución, La Habana, Cuba.

**Correo electrónico:** [ania.cortezon@infomed.sld.cu](mailto:ania.cortezon@infomed.sld.cu)

### RESUMEN

Se diseñó una formulación de Etopósido, solución inyectable, conteniendo 100 mg del ingrediente activo por bulbo, que cumpla con los índices de calidad para esta forma farmacéutica y que proporcione el efecto terapéutico deseado. Para ello se realizaron los estudios de formulación correspondientes, donde se ensayaron 4 variantes tecnológicas, se seleccionó la composición y procedimiento tecnológico más adecuados para su posterior escalado en la industria. Se ajustó el pH de la formulación según las exigencias de un preparado parenteral y se logró su máxima estabilidad empleando ácido cítrico anhidro. Se evaluó y estandarizó una técnica analítica por Cromatografía Líquida de Alta Resolución para estudiar la estabilidad de la formulación propuesta y determinar su fecha de vencimiento, así como para el control de la calidad de la misma. Se seleccionó una de las variantes ensayadas, que resultó satisfactoria, obteniéndose un producto que cumplió con todas las especificaciones descritas en la monografía para el control de la calidad del mismo. Se comprobó que la preparación mantuvo sus propiedades físicas, químicas y microbiológicas inalterables por un período de 12 meses, almacenada a temperatura ambiente. Finalmente el medicamento diseñado fue escalado a nivel piloto, sin que se presentaran problemas tecnológicos en su proceso.

**Palabras claves:** diseño de formulación, estabilidad, solución inyectable, etopósido.

---

**TECHNOLOGICAL DEVELOP AND STUDY OF STABILITY OF A FORMULATION DE ETOPOSIDE 100 MG INJECTABLE SOLUTION.****ABSTRACT**

A formulation of Etoposide, an injectable solution, containing 100 mg of the active ingredient per bulb, was designed that meets the quality indices for this pharmaceutical form and provides the desired therapeutic effect. For this, the corresponding formulation studies were carried out, where 4 technological variants were tested, the most appropriate technological composition and procedure was selected for subsequent scaling in the industry. The pH of the formulation was adjusted according to the requirements of a parenteral preparation and its maximum stability was achieved using anhydrous citric acid. An analytical technique was evaluated and standardized by High Performance Liquid Chromatography to study the stability of the proposed formulation and determine its expiration date, as well as to control its quality. One of the variants tested was selected, which proved satisfactory, obtaining a product that met all the specifications described in the monograph for quality control. It was found that the preparation kept its physical, chemical and microbiological properties unchanged for a period of 12 months, stored at room temperature. Finally, the designed medication was scaled at the pilot level, without technological problems in its process.

**Keywords:** formulation design, stability, solution for injection, etoposide.

**INTRODUCCIÓN**

El cáncer representa un problema de salud en Cuba debido a que desde 1958 constituye la segunda causa de muerte<sup>(1)</sup>, llegando a convertirse en la actualidad, en la primera causa de fallecimientos, por lo que resulta una voluntad política del Estado asegurar los medicamentos a los pacientes que padecen esta enfermedad.<sup>(2,3)</sup> Es por ello que el Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM), perteneciente a BioCubaFarma, contempla dentro de sus prioridades, el desarrollo de las investigaciones que permitan la producción de medicamentos que se emplean en el tratamiento de esta enfermedad.

La aparición en la práctica médica de nuevos agentes antineoplásicos anualmente ha permitido avances sin precedentes en el tratamiento del cáncer, aumentando considerablemente la calidad de vida de los pacientes que padecen esta enfermedad.

El etopósido es un agente anticancerígeno aprobado actualmente en los Estados Unidos para el tratamiento de cáncer de pulmón de células pequeñas y tumor testicular refractario. Es un inhibidor de la topoisomerasa II. Actúa en la fase premitótica de la división celular para inhibir la síntesis del ADN; es ciclo celular dependiente y fase específico, con el máximo efecto en las fases S y G2 de la división celular.

Etopósido es un medicamento antineoplásico que puede emplearse solo o en combinación con otros medicamentos oncológicos. Está indicado en la terapia del cáncer de células pequeñas de pulmón y carcinoma testicular no seminomatoso resistente. Hasta el momento no existe este medicamento de producción nacional a disposición de los pacientes, por lo que se hace necesario su desarrollo <sup>(4, 5)</sup>.

El objetivo del presente trabajo fue diseñar una formulación de Etopósido conteniendo 100 mg del principio activo por bulbo, para uso parenteral, que cumpla con los índices de control de la calidad para esta forma farmacéutica.

## MÉTODOS

### **Desarrollo tecnológico:**

La materia prima activa, así como los excipientes utilizados, se analizaron por las técnicas oficiales correspondientes, para comprobar la concordancia con los requisitos exigidos para cada uno de ellos. En el desarrollo tecnológico de la formulación, se empleó etopósido como sustancia activa, correspondiente al lote 1201001 del fabricante LIANYUNGANG GUIYUAN CHEMPHARM CO., LTD, proveniente de China, valorada previamente en los laboratorios del Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM), según las especificaciones de calidad reportadas en la USP 40 <sup>(6)</sup>.

Todos los reactivos empleados fueron de calidad para análisis y los equipos y cristalería de laboratorio se encontraban debidamente certificados.

Para el envase se utilizaron bulbos 6R calidad hidrolítica I. Además fueron empleados tapones de goma butílica, sin espiga, de 20 mm de diámetro y sellos de aluminio anodizado para el sellaje. En todos los casos, igualmente se analizaron para comprobar que cumplieran con los requisitos establecidos para su uso farmacéutico.

Se ensayaron un total de 4 variantes tecnológicas, donde se evaluaron diferentes agentes cosolventes, debido a que el etopósido es escasamente soluble en agua y se requiere un disolvente orgánico o una mezcla de estos, para preparar una solución, donde todo el principio activo se encuentre disuelto. Se evaluó la influencia del empleo del Propilenglicol y el Polietilenglicol en diferentes proporciones en la composición del producto. Además, fue necesario el empleo de un

tensoactivo que ayudara a la disolución completa. Se ajustó el pH de la formulación según las exigencias de un preparado parenteral empleando ácido cítrico anhidro.

A la variante seleccionada de resultados más prometedores en el diseño de formulación, se le evaluó la influencia de la incidencia de la luz una vez envasado el medicamento, para lo cual se envasó el producto en bulbos incoloros y ámbar y se sometió las mismas a la acción directa de la luz. Las muestras fueron analizadas recién elaboradas y transcurridos 6 meses de fabricado el medicamento.

Una vez seleccionada la formulación, con los diferentes parámetros de trabajo establecidos, se procedió a la fabricación de tres lotes de 5 000 mL de volumen total cada uno, en la Planta de Citostáticos de los Laboratorios Farmacéuticos AICA, identificados con los números 001, 002 y 003, para realizar los estudios de estabilidad del producto final, y definir las condiciones idóneas de almacenamiento y el tiempo de vida útil.

### **Evaluación y estandarización de la técnica de análisis para el control de la calidad y estudio de estabilidad del producto terminado:**

Se realizó la evaluación del desempeño de una técnica de análisis por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR) en el Laboratorio de Investigaciones Analíticas del CIDEM, para la cuantificación de la sustancia activa en el producto terminado, según como aparece reportado en la USP 40<sup>(6)</sup>, tanto para el control de la calidad como para los estudios de estabilidad. Se definieron las especificaciones de calidad del medicamento, que consistieron en descripción, identificación, pH, endotoxinas bacterianas, contenido de alcohol, contenido de alcohol bencílico, compuestos relacionados, valoración y esterilidad. La estandarización se llevó a cabo de acuerdo con la categoría I de Medicamentos y la Regulación 41-2007 del Centro Estatal para el Control de los Medicamentos (CECMED), evaluándose los parámetros según lo reportado en esta regulación. <sup>(7)</sup>

### **Estudio de estabilidad**

Se realizó el análisis físico-químico a las muestras de los tres lotes por el método de vida de estante y acelerado, en los dos materiales de envase propuestos, según los requerimientos del CECMED para los estudios de estabilidad.

La estabilidad acelerada, para estudiar el comportamiento del producto frente a condiciones drásticas de temperatura y humedad, se llevó a cabo con muestras correspondientes a los tres lotes y se colocaron a temperatura de 40°C y 75% de humedad relativa, durante 6 meses, realizándose mediciones al inicio, 1, 2, 3 y 6 meses de fabricado el producto.

Para el estudio de estabilidad por vida de estante las muestras se almacenaron a temperatura ambiente ( $30 \pm 2^\circ\text{C}$ ) y la frecuencia de análisis fue realizada al inicio, 3, 6, 9 y 12 meses a partir de la fabricación del medicamento.

Se realizaron, además, el estudio microbiológico y de endotoxinas bacterianas, recién elaborado el medicamento y a los 6 y 12 meses de comenzado el estudio, a los 3 lotes de prueba. <sup>(7)</sup>

### **Escalado Piloto:**

La formulación y tecnología propuestas, fueron escaladas en la Planta de Citostáticos de los Laboratorios AICA, perteneciente a BioCubaFarma, utilizando para ello una tecnología de fabricación 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. Se trabajó con un sistema de aisladores, los cuales brindan protección al producto, al operario y al medio ambiente en correspondencia con cumpliendo de los lineamientos de las Buenas Prácticas de Fabricación de productos estériles.

## **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 con el empleo de polietilenglicol y polisorbato 80, se alcanzaron criterios de calidad satisfactorios desde el punto de vista analítico, logrando que el principio activo se disolviera completamente.

Se demostró que utilizando el ácido cítrico anhidro, se logró que la formulación estudiada, alcanzara el pH exigido para este tipo de preparado y en correspondencia con el de máxima estabilidad del producto.

Tras la evaluación de las muestras sometidas a la acción directa de la luz, se comprobó que no existían variaciones estadísticamente significativas de los parámetros evaluados, una vez decursado el tiempo de estudio, al compararlas con las muestras protegidas en bulbos ámbar.

La técnica de análisis evaluada para la determinación del principio activo, pudo ser utilizada para el control de la calidad y los estudios de estabilidad del medicamento, después de comprobar su especificidad y otros parámetros de desempeño.

Muestras de los 3 lotes elaborados con la formulación seleccionada en el estudio de preformulación, fueron sometidas a los ensayos descritos en la técnica del Laboratorio de Investigaciones Analíticas

del CIDEM, incluyendo los ensayos de esterilidad y endotoxinas bacterianas. Los resultados se muestran en la [tabla I](#).

Los estudios de estabilidad del producto se presentan en las [tablas II](#) y III, los que demuestran según los resultados, 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 18 meses como fecha de vencimiento del producto. Similar comportamiento se encontró en los ensayos de esterilidad y endotoxinas bacterianas.

Una vez concluidas todas las etapas, se realizó el escalado piloto del producto, en la Planta de Citostáticos, con resultados satisfactorios, lo que demuestra su factibilidad a esta escala.

## DISCUSIÓN

En el estudio realizado de pH, se pudo comprobar la cantidad más idónea de ácido cítrico anhidro a emplear, obteniendo un producto con un valor de pH correspondiente al de su máxima estabilidad.

En la evaluación realizada a los diferentes materiales de envase ensayados, se comprobó que no existían diferencias estadísticamente significativas en los resultados obtenidos entre cada uno de ellos, por lo que se montó el estudio de estabilidad con las muestras envasadas en bulbos incoloros calidad hidrolítica I, por ser los menos costosos.

Se comprobó que la preparación mantuvo sus propiedades físicas, químicas y microbiológicas inalterables por un período de 12 meses, almacenada a temperatura ambiente ( $30 \pm 2^\circ\text{C}$ ). Los resultados se sustentan en los análisis realizados, en los que se emplearon técnicas debidamente verificadas, que proporcionan una alta credibilidad a las conclusiones del presente trabajo.

Analizando los resultados del estudio de estabilidad acelerada, se comprobó que en las condiciones establecidas para realizar este estudio, se mantuvo la estabilidad del producto, ya que el tratamiento, no alteró su concentración en más de 5.0%, y permanecieron las características organolépticas, pH y valoración dentro de los límites establecidos en las especificaciones de calidad (Tabla II).

De los resultados del estudio de estabilidad por vida de estante, se pudo concluir que el producto mantuvo los parámetros que determinan su calidad en los 12 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 decursado el tiempo, así como con el ensayo de endotoxinas bacterianas (Tabla III).

Por todo lo anteriormente expresado, se puede concluir que la formulación desarrollada, resultó ser estable física, química y microbiológicamente, durante 12 meses, en las condiciones de almacenamiento propuestas. Se pudo establecer los parámetros físicos, químicos, biológicos y

microbiológicos para el control de la calidad del producto final, proponiendo una tecnología de fabricación factible y consistente a escala piloto, con resultados satisfactorios.

## ANEXOS

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

Ensayos	L-001	L-002	L-003	Límites.
<b>Descripción</b>	Cumple	Cumple	Cumple	Líquido incoloro, transparente
<b>Identificación</b>				
<b>a)</b>	Cumple	Cumple	Cumple	a) El espectro infrarrojo de la muestra es similar al espectro de la sustancia química de referencia citarabina (RS 081)
<b>b)</b>	Cumple	Cumple	Cumple	b) El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma de la preparación de la valoración de la muestra se corresponde con el tiempo de retención del pico principal obtenido con la solución de referencia
<b>pH</b>	3.6	3.7	3.7	Entre 3.0 y 4.0
<b>Endotoxinas bacterianas</b>	Cumple	Cumple	Cumple	Contiene no más de 2.0 unidades de USP de endotoxinas por mg de Etopósido
<b>Contenido de alcohol (%)</b>	95.1	95.6	96.8	Entre 90.0 % y 110.0 %
<b>Contenido de alcohol bencílico (%)</b>	97.2	96.7	97.5	Entre 90.0 % y 110.0 %
<b>Compuestos relacionados</b>	No se detectan	No se detectan	No se detectan	No más de 3.0 % del total de impurezas encontradas
<b>Esterilidad</b>	Cumple	Cumple	Cumple	Solución estéril
<b>Valoración (%)</b>	100.2	100.6	100.8	Entre 90.0 % y 110.0 %.

**Tabla II.** Resultados del estudio de estabilidad acelerada. (40 °C y 75 % de HR).

Ensayos	Inicial	1 mes	2 meses	3 meses	6 meses
<b>L-001</b>					
<b>Descripción</b>	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
<b>pH</b>	3.6	3.6	3.6	3.7	3.7
<b>Compuestos relacionados</b>	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
<b>Endotoxinas bacterianas</b>	Cumple	-	-	Cumple	Cumple
<b>Esterilidad</b>	Cumple	-	-	Cumple	Cumple
<b>Valoración (%)</b>	100.2	100.6	99.1	95.2	95.1
<b>L-002</b>					
<b>Descripción</b>	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
<b>pH</b>	3.7	3.7	3.7	3.7	3.7
<b>Compuestos relacionados</b>	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
<b>Endotoxinas bacterianas</b>	Cumple	-	-	Cumple	Cumple
<b>Esterilidad</b>	Cumple	-	-	Cumple	Cumple
<b>Valoración (%)</b>	100.6	100.2	99.9	95.8	95.8
<b>L-003</b>					
<b>Descripción</b>	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
<b>pH</b>	3.7	3.7	3.7	3.7	3.7
<b>Compuestos relacionados</b>	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
<b>Endotoxinas bacterianas</b>	Cumple	-	-	Cumple	Cumple
<b>Esterilidad</b>	Cumple	-	-	Cumple	Cumple
<b>Valoración (%)</b>	100.8	100.3	99.5	95.6	95.9

Nd-no se detecta



**Tabla III.** Resultados del estudio de estabilidad por vida de estante de los lotes en estudio. ( $30 \pm 2^\circ\text{C}$ ).

Ensayos	Inicial	3 meses	6 meses	9 meses	12 meses
<b>L-001</b>					
<b>Descripción</b>	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
<b>pH</b>	3.6	3.7	3.7	3.6	3.6
<b>Compuestos relacionados</b>	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
<b>Endotoxinas bacterianas</b>	Cumple	-	-	-	Cumple
<b>Esterilidad</b>	Cumple	-	-	-	Cumple
<b>Valoración (%)</b>	100.2	100.4	99.9	99.5	99.0
<b>L-002</b>					
<b>Descripción</b>	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
<b>pH</b>	3.7	3.7	3.7	3.7	3.7
<b>Compuestos relacionados</b>	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
<b>Endotoxinas bacterianas</b>	Cumple	-	-	-	Cumple
<b>Esterilidad</b>	Cumple	-	-	-	Cumple
<b>Valoración (%)</b>	100.6	100.6	100.7	100.3	99.5
<b>L-003</b>					
<b>Descripción</b>	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
<b>pH</b>	3.7	3.7	3.7	3.7	3.7
<b>Compuestos relacionados</b>	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
<b>Endotoxinas bacterianas</b>	Cumple	-	-	-	Cumple
<b>Esterilidad</b>	Cumple	-	-	-	Cumple
<b>Valoración (%)</b>	100.8	100.9	100.1	99.9	99.2

Nd-no se detecta

---

**LITERATURA CITADA**

- 1.- Rodríguez S., A; Martín G., A.; Revista Brasileira de Cancerología. El registro nacional de cáncer de Cuba. Procedimientos y resultados; 2001, 47(2): 171-77.
- 2.- Los tipos de cáncer con más incidencia en Cuba; Disponible en <http://www.soycuba.cu/noticia/los-tipos-de-cancer-con-mas-incidencia-en-cuba>; 2013.
- 3.- **Cuba: el reto de enfrentar el cáncer; Disponible en <http://www.cubahora.cu/ciencia-y-tecnologia/cuba-el-reto-de-enfrentar-el-cancer>; 2014.**
- 4.-Ficha técnica del producto. Disponible en [https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/63625/P\\_63625.pdf](https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/63625/P_63625.pdf). 2018.
- 5.-Formulario Nacional de Medicamentos. Disponible en: <http://fnmedicamentos.sld.cu/index.php?P=FullRecord&ID=61>. 2010.
- 6.- The United State Pharmacopeial Convention 12601. United States Pharmacopeica (USP-40 NF-35). 22<sup>th</sup> ed.2017.
- 7.- Regulación 41/07. "Validación de Métodos de analíticos". Centro Estatal para el Control de Medicamentos (CECMED). Cuba; 2007. Disponible en [http://www.cecmmed.sld.cu/Pages/Reg\\_EvalEL.htm](http://www.cecmmed.sld.cu/Pages/Reg_EvalEL.htm).