

Estudio de estabilidad de tabletas que contienen 20 mg de policosanol como ingrediente activo

Roxana Sierra Pérez, Eduardo A. Rodríguez Leyes, Abilio Laguna Granja, Víctor Luis González Canavaciolo, Evangelina Uribarri* y Caridad Velázquez Gómez.

Centro de Productos Naturales, Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Avenida 25 y 158, Apartado Postal 6414, Playa, Ciudad de La Habana, Cuba. Correo electrónico: cpn@cnic.edu.cu. *Laboratorios MedSol, Ciudad de La Habana, Cuba.

Recibido: 23 de febrero de 2006. Aceptado: 9 de noviembre de 2006.

Palabras clave: estabilidad, policosanol, cromatografía gaseosa, productos de degradación.
Key words: stability, policosanol, gas chromatography, degradation products.

RESUMEN. El objetivo de un estudio de estabilidad es determinar el período de tiempo durante el cual el producto farmacéutico conserva adecuadamente sus propiedades al ser almacenado en determinadas condiciones. El estudio de estabilidad de las tabletas que contienen 20 mg de policosanol, un nuevo medicamento con propiedades hipocolesterolemizantes, se realizó con el objetivo de predecir la fecha de vencimiento e investigar la posible aparición de productos de degradación. Para ello, se observaron durante el estudio propiedades como: color, dureza, desintegración, masa promedio, contenido de policosanol y contenido de microorganismos. El contenido de ingrediente activo se determinó por cromatografía gaseosa, utilizando la técnica validada a tales efectos. También fueron estudiados los efectos de las condiciones drásticas de almacenamiento tales como: hidrólisis ácida y básica, oxidación, fotólisis y termólisis. Por otra parte, se realizaron estudios a largo plazo teniendo en cuenta dos zonas climáticas, o sea, zona II (25 °C y 60 % de humedad relativa (HR)) y la zona IV (30 °C y 70 % de HR) y un estudio acelerado a 40 °C y 75 % de HR. Estos estudios demostraron que esta formulación es estable, ya que no se produjeron cambios significativos en los indicadores estudiados según los criterios de aceptación establecidos en las condiciones estudiadas. El contenido de policosanol se mantuvo con muy poca variación durante todo el estudio, por lo que no fue posible utilizar el método cinético de Arrhenius para la determinación de la fecha de vencimiento. El perfil cromatográfico de las muestras después de 9 meses de estar sometidas a degradación térmica mostró un conjunto de picos los cuales fueron identificados por Cromatografía Gaseosa acoplada a Espectrometría de Masas, correspondiendo a los estearatos y palmitatos de hexacosanilo, octacosanilo y triacontanilo, estos productos de degradación se observaron solamente en este estudio. Teniendo en cuenta estos resultados y los obtenidos tanto en el ensayo acelerado como en los a largo plazo, se proponen cinco años como fecha de vencimiento para las tabletas de policosanol que contienen 20 mg de ingrediente activo para los países que pertenecen a las zonas climáticas II y IV.

ABSTRACT. The objective of a stability study is to determine the period of time during which a pharmaceutical drug meets appropriate standards when stored under defined conditions. The stability studies of tablets containing 20 mg of policosanol, a new cholesterol lowering drug, were conducted to predict an expiration date and to search the appearance of putative degradation products. All quality specification parameters such as colour, moisture content, hardness, disintegration, policosanol content and microbiological limits of the tablets were done. The content of the active ingredient was determined by Gas Chromatography, using a validated analytical method. The effect of drastic treatments such as acid and basic hydrolysis, oxidative and photolytic degradation as well as thermolysis on such parameters was studied. In addition, studies under drastic conditions of storage (40 °C and 75 % R. H.) and under environmental conditions of storage for climatic zones II and IV were performed. These studies showed that these tablets are a stable pharmaceutical formulation, without significant changes on their quality criteria at the conditions studied. Policosanol content stayed unchanged during all these studies, therefore, it was not possible to determine an expiration date by kinetic method of Arrhenius extrapolation. The chromatographic profile of the samples after 9 months of thermal

degradation shows chromatographic peaks that were identified by Gas Chromatographic-Mass Spectrometric analysis, corresponding to the octacosanoyl, triacontanoyl and hexacosanoyl esters of palmitate and stearate, being the only degradation products observed on these studies. Taking into account these results, both under drastic and under environmental conditions, it is proposed for the tablets containing 20 mg of policosanol an expiring date of five years for the countries that belongs to the climatic zones IV and II.

INTRODUCCION

Los estudios de estabilidad coordinados establecen la calidad de la droga en las distintas etapas de su desarrollo y estos ensayos están clasificados según sus objetivos. El estudio que se desarrolló corresponde con un estudio del tipo III, los que se realizan para lograr el registro del producto y su desarrollo se encuentra acorde a las normas de armonización establecidas por las oficinas reguladoras de Estados Unidos, la Comunidad Económica Europea y Japón.¹

Para que un estudio de estabilidad sea aceptado internacionalmente debe adaptarse a los conceptos de calidad de los productos. Esto significa que los ensayos deben cumplir con normas internacionales acorde a la composición, manufactura y envase, así como las especificaciones de calidad del producto. Por otra parte, los ensayos deben ser reproducibles, ya que fueron diseñados para asegurar la calidad del producto durante su desarrollo.¹⁻⁶

El policosanol es una mezcla de alcoholes alifáticos primarios de alto

peso molecular obtenido a partir de la cera de la caña de azúcar. Estudios farmacológicos realizados indican su eficacia como agente hipolipemiente y antiagregante plaquetario. En investigaciones relacionadas con el control de colesterol, así como con la disminución de la placa de ateroma en arterias, se demostró que dosis de 20 mg de policosanol reducen considerablemente los riesgos de arterosclerosis, por lo que para facilitar la administración de este medicamento a pacientes que requieran de esta dosis se decidió la elaboración de tabletas de 20 mg.⁷⁻¹¹

El objetivo de este trabajo fue el estudio de la estabilidad de las tabletas revestidas que contienen 20 mg de policosanol, y para ello, se llevaron a cabo ensayos en los que las muestras se almacenaron en condiciones tanto aceleradas como teniendo en cuenta las condiciones ambientales de las zonas climáticas II y IV.¹²

MATERIALES Y METODOS

Para el ensayo acelerado I se emplearon disoluciones acuosas de ácido clorhídrico e hidróxido de sodio a 0,1 mol/L y de peróxido de hidrógeno 30 %. En la preparación de las muestras para analizar por cromatografía de gases como disolvente se empleó cloroformo y en la identificación y cuantificación tanto de los alcoholes que componen el principio activo como de los productos de degradación, se emplearon patrones comerciales de calidad analítica.

Para la determinación del contenido de policosanol se empleó un cromatógrafo de gases Modelo GC 14 B (Shimadzu, Japón) con detector de ionización por llama, acoplado a un sistema de cómputo para el procesamiento de los datos Modelo C-R4A (Shimadzu, Japón). Las condiciones cromatográficas fueron: columna capilar *wide bore* con fase enlazada DB-5, 30 m X 0,53 mm de diámetro interno (d.i.) y 1,5 µm de espesor de película. Programación: de 250 a 320 °C a 5 °C/min y 10 min isotérmico a la temperatura final. La velocidad lineal del gas portador (hidrógeno) fue de 86,0 cm/s (11,4 mL/min), para la formación de la llama el flujo de hidrógeno fue de 40 mL/min y el aire 400 mL/min. El detector y el inyector se calentaron a 320 y 300 °C respectivamente. El volumen de inyección fue de 1 µL.

Para la identificación de los productos de degradación se empleó un cromatógrafo de gases FISIONS GC 8000 series, acoplado a un espectrómetro de masas MD-800 (Fison

Instrument, Inglaterra) con base de datos Lab-Base (VG MASSLAB, Inglaterra), con columna cromatográfica capilar SPB-5 de 25 m de largo X 0,32 mm de d.i.. Programación: 100 a 200 °C a 40 °C/min y de 200 a 320 °C a 8 °C/min con 90 min, isotérmico a 320 °C. Tiempo de *splitless* 1 min. Temperatura del inyector: 320 °C, fuente a 250 °C e interfase a 200 °C. La energía de ionización (IE) fue de 70 eV. Barrido de masas desde 40 hasta 80 um, con un tiempo de barrido de 1 s. Flujo de gas portador (He): 1 mL/min. Volumen de inyección: 1 µL.

La evaluación del color se realizó mediante inspección visual, la dureza, desintegración y contenido de microorganismos se realizaron en el laboratorio de investigación - desarrollo de los Laboratorios Med-Sol, según lo establecido por la USP26.

PARTE EXPERIMENTAL

Para realizar estos estudios se utilizaron tres lotes de tabletas con revestimiento tipo película no entérica con 20 mg de policosanol y envasadas en sobres termoconformados de burbuja (blisters) de láminas de cloruro de polivinilo (PVC) y aluminio que contienen 10 tabletas cada uno. Durante los ensayos de estabilidad acelerados II y a largo plazo I y II estos blisteres, se conservaron en cajas de cartón similares a las que se utilizan en la comercialización.

Para el estudio acelerado I (condiciones muy drásticas) se tomó una cantidad suficiente de tabletas y se trituraron en un mortero hasta obtener un polvo fino y homogéneo, el que se sometió a condiciones propicias para la ocurrencia de: hidrólisis ácida y básica (HCl y NaOH 0,1 mol/L y T = 108 °C/24 h); degradación por oxidación (H₂O₂ 30 % a temperatura ambiente); degradación fotolítica (luz UV de 254 nm a temperatura ambiente por siete días) y termólisis (55 °C/ 9 meses).¹³

Para el estudio acelerado II las tabletas se colocaron a 40 °C y una humedad relativa del 75 %. Se tomaron muestras a t₀, 1, 2, 3, 6, 9, 12 meses y se analizaron: la masa promedio, la apariencia (color), la dureza, el tiempo de desintegración, el contenido de microorganismos y el contenido de policosanol.^{13,15}

Para los estudios a largo plazo las muestras fueron sometidas a las condiciones de la zona II (25 °C y 60 % HR) y la zona IV (30 °C y 70 % HR), las determinaciones se realizaron al

inicio y a los 3, 4, 5, 6, 9, 12 meses durante el primer año, a los 18, 24 meses en el segundo año y a los 36, 48 y 60 meses, las que consistieron en los mismos análisis del estudio acelerado II.¹

RESULTADOS Y DISCUSION

Estudio acelerado I

Del análisis de los resultados (Tabla 1), se puede observar que el contenido de policosanol en las muestras sometidas a degradación se encuentra dentro de los límites establecidos en las especificaciones de calidad del producto [(20 ± 2) mg], no obstante, se aprecia una ligera disminución en el contenido de la muestra sometida a degradación por termólisis. La comparación de los cromatogramas de ambos tipos de muestras mostró que en la cercanía de los alcoholes que componen este ingrediente activo (hasta 15 min) no aparecen nuevas señales cromatográficas. Sin embargo, en los cromatogramas correspondientes a los ensayos de hidrólisis (básica y ácida) y termólisis (Fig. 1) se observa la aparición de cuatro nuevos picos a muy elevados tiempos de retención (> 20 min), los que fueron identificados, por comparación con patrones comerciales de estos compuestos y por Cromatografía Gaseosa acoplada a Espectrometría de Masas, como: los palmitatos de hexacosanilo y octacosanilo y los estearatos de octacosanilo y triacontanilo.

Un análisis estadístico mediante *t* de student, indica que no existen diferencias significativas entre los resultados obtenidos para la muestra sin degradar y los obtenidos para las muestras sometidas a hidrólisis, fotólisis y oxidación mientras que para la muestra sometida a termólisis si se observan diferencias, aunque estas no sobrepasan los límites establecidos en las especificaciones de calidad.

Estudio acelerado II

En el estudio acelerado II (40 °C y 75 % HR) se realizó la determinación del contenido de humedad de las muestras y se encontró que esta no sobrepasaba el 1,0 %, la que se encuentra dentro de los límites establecidos en las especificaciones de calidad del producto. Al culminar los doce meses de ensayo no se observaron afectaciones en el contenido de microorganismos (bacterias: < 10 UFC/g, hongos: < 10 UFC/g, ausencia de microorganismos patógenos), el contenido de policosanol ni en los indicadores físico químicos

Tabla 1. Contenido del policosanol sometido a condiciones drásticas de tratamiento ($n = 3$). $t_{\text{tab.}}$ ($0,05; n_1 + n_2 - 2$) = 2,776.

Tratamiento	Contenido de policosanol (mg)	$t_{\text{exp.}}$
Sin tratamiento	21,00 ± 0,40	–
Hidrólisis ácida	20,50 ± 0,36	1,613
Hidrólisis básica	20,37 ± 0,43	1,853
Degradación por oxidación	20,81 ± 0,46	0,543
Degradación fotolítica	20,73 ± 0,35	0,871
Degradación térmica	19,76 ± 0,56	3,123

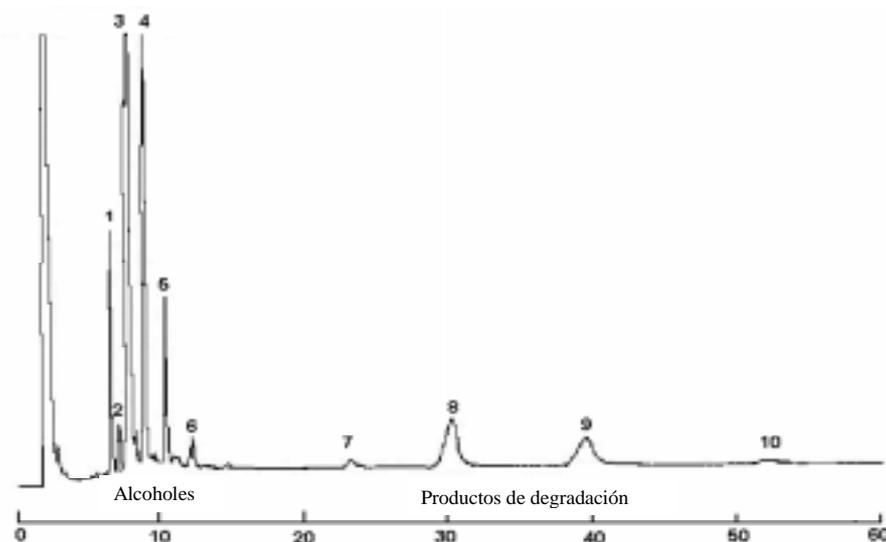


Fig. 1. Cromatograma gaseoso de la muestra sometida a termólisis. 1. Hexacosanol (C_{26}). 2. Heptacosanol (C_{27}). 3. Octacosanol (C_{28}). 4. Triacosanol (C_{30}). 5. Dotriacosanol (C_{32}). 6. Tetraacosanol (C_{34}). 7. Palmitato de hexacosanilo (P_{26}). 8. Palmitato de octacosanilo (P_{28}). 9. Estearato de octacosanilo (E_{28}) y 10. Estearato de triacosanilo (E_{30}).

que se evaluaron (Fig. 2), por lo que no fue posible utilizar el método cinético de Arrhenius para la determinación de la fecha de vencimiento. Solo la apariencia de las tabletas (resultados no mostrados), se vio afectada por una pérdida de coloración a partir de los 9 meses de ensayo (de verde claro a verde muy claro), lo que no influyó en la determinación del contenido ni de los demás indicadores evaluados.

Estudio a largo plazo I y II

Los resultados del estudio de estabilidad bajo las condiciones climáticas de las zonas climáticas II y IV durante los 60 meses de estudio no mostraron alteraciones en el contenido de principio activo, en los principales indicadores físico químicos evaluados (Fig. 3 y 4), ni en el contenido de microorganismos.

Tanto para el estudio acelerado II como para los estudio a largo plazo I y II, se llevó a cabo el procesamiento estadístico de los resultados utilizando el análisis de varianza ANOVA del paquete de programas CSS, y no se encontraron diferencias significativas, para un 95 % de confianza, entre los resultados obtenidos para cada uno de los tiempos de muestreo respecto al obtenido para el tiempo inicial (t_0), además, estos se encuentran dentro de los límites establecidos en las especificaciones de calidad del producto.

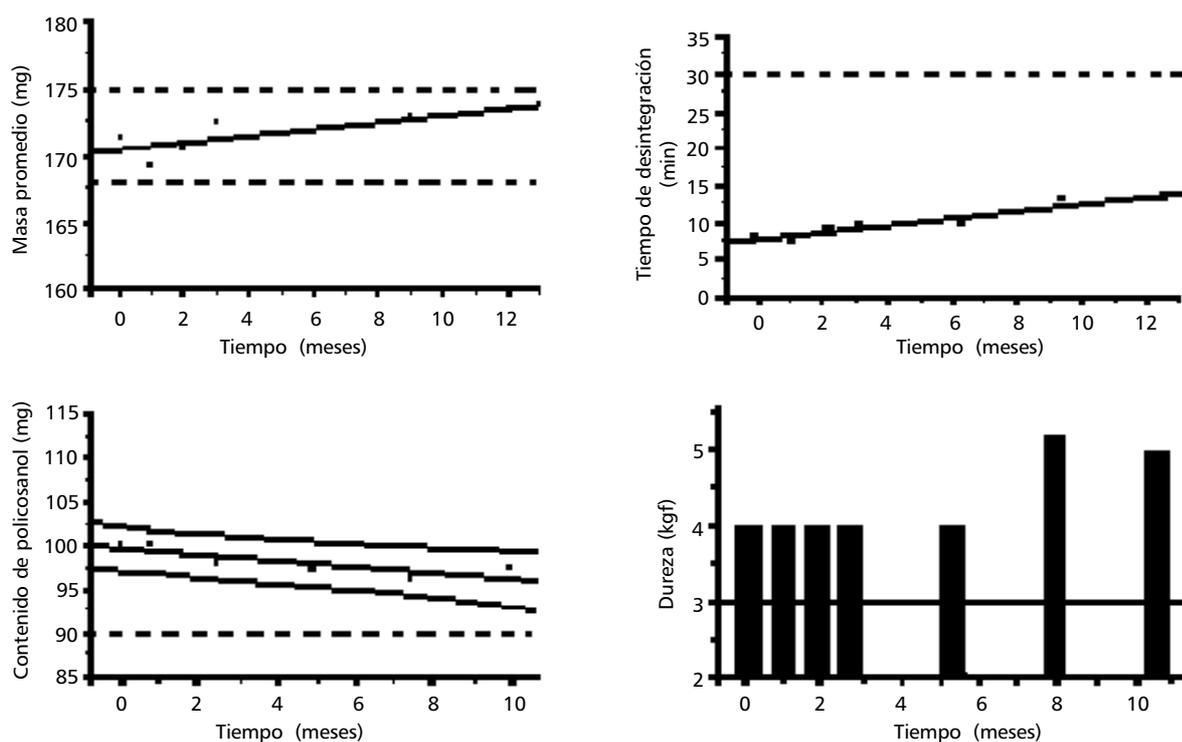


Fig. 2. Comportamiento de los indicadores físico químicos de las tabletas durante el estudio acelerado II (40 °C y 75 % HR). Las líneas discontinuas representan los límites establecidos en las especificaciones de calidad.

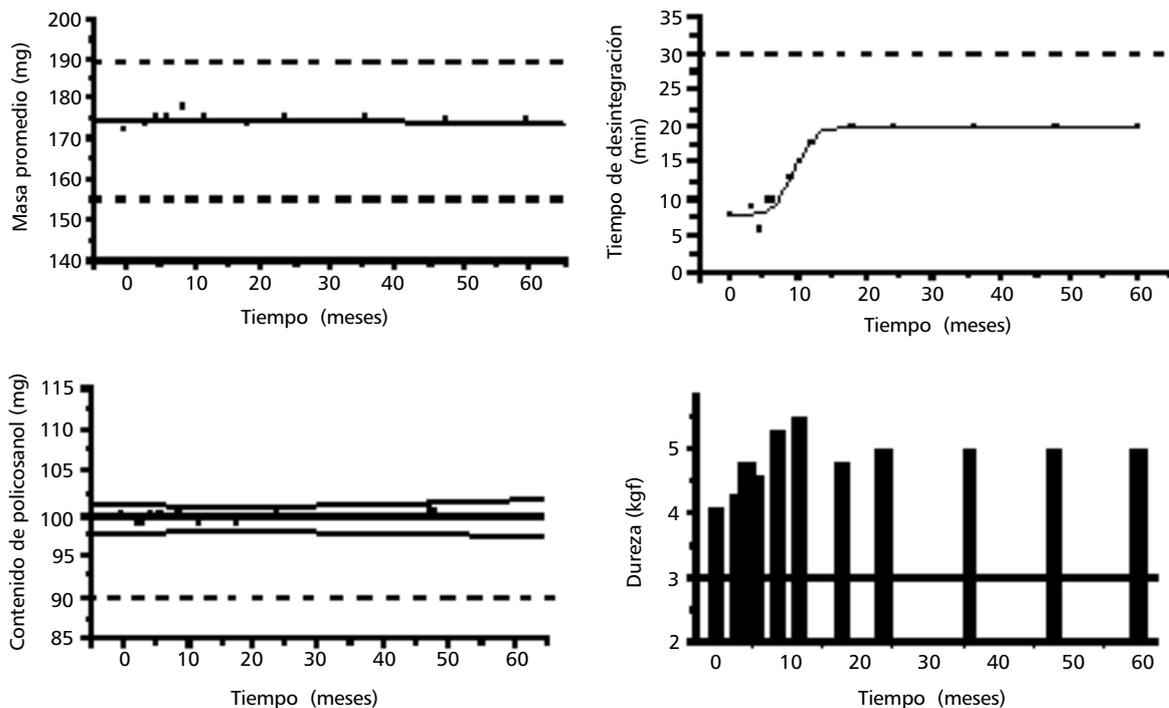


Fig. 3. Comportamiento de los indicadores físico químicos de las tabletas durante el estudio a largo plazo I (Zona IV). Las líneas discontinuas representan los límites establecidos en las especificaciones de calidad.

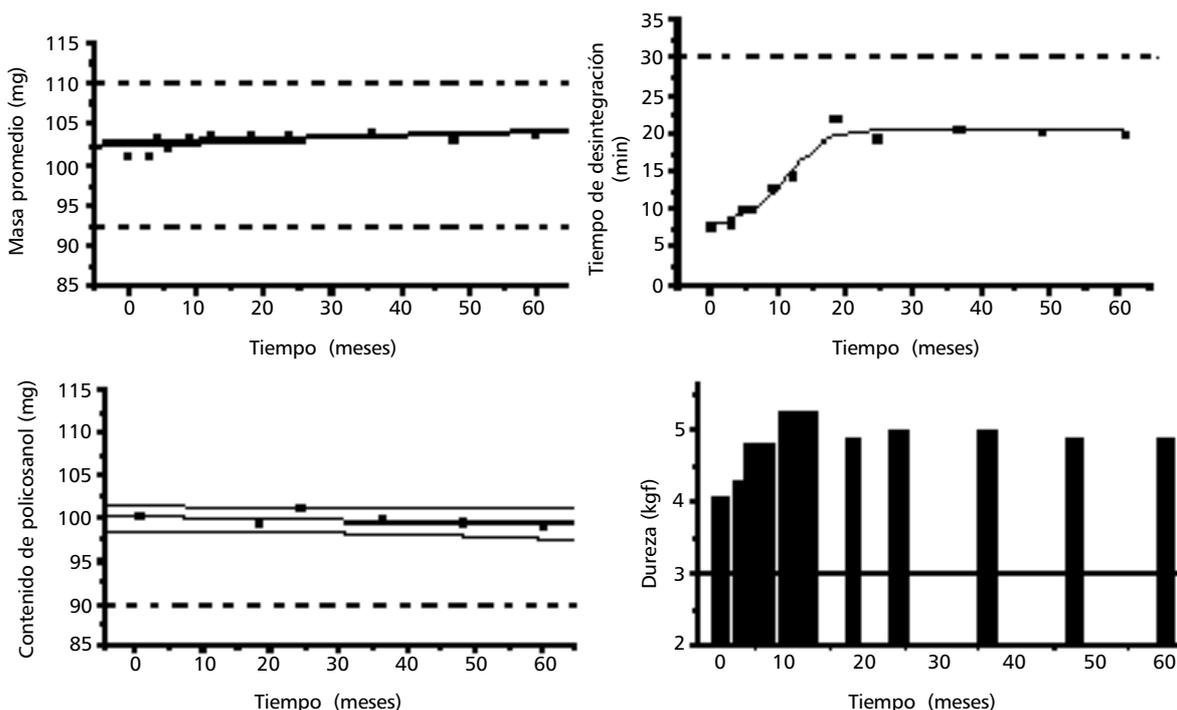


Fig. 4. Comportamiento de los indicadores físico químicos de las tabletas durante el estudio a largo plazo II (Zona II). Las líneas discontinuas representan los límites establecidos en las especificaciones de calidad.

CONCLUSIONES

Tomando en consideración los resultados de los estudios de estabilidad en condiciones de estrés, aceleradas y a largo plazo, en ninguno de los cuales se afectó el contenido de policosanol ni el resto de los indicadores de calidad, se puede asegurar que las tabletas de policosanol con 20 mg de ingrediente activo son

estables durante cinco años por lo que se propone esta como fecha de vencimiento de dichas tabletas, siempre que se mantengan en sus envases primarios y secundarios, protegidos de la luz y la humedad.

BIBLIOGRAFIA

1. Ministerio de Salud Pública de la República de Cuba. Regulación 24-2000:

Requerimientos de los estudios de estabilidad para el registro de productos farmacéuticos nuevos y conocidos; Centro para el Control Estatal de la Calidad de los Medicamentos.

2. Food and Drug Administration: Guideline for submitting documentation for the stability of human drugs and biologic. FDA. Center for Drugs and Biologics. Office of Drug Research and Review. USA, 1987.

3. ICH Topic Q1 A. Stability testing on new drug substances and products; Step 5 ICH Technical Coordination, U.K., 1998.
4. Guidelines on the Stability testing of Pharmaceuticals, Australian Guidelines for the Registration of Drugs, Vol. 1, Appendix 9, 1994.
5. Müller H. Stability Testing in Relation to Guidelines in the EC, Japan and USA A Recommendation, 1993.
6. Aneiros E., Más R., Calderón B., Illnait J., Fernández L., Castaño G., and Fernández J.C. Effect of policosanol in lowering-cholesterol levels in patients with type II hypercholesterolemia, **Curr. Ther. Res.**, **56**, 176, 1995.
7. Carbajal D., Arruzazabala M. L., Valdés S. and Más R. Effect of policosanol on platelet aggregation and serum level of arachidonic acid metabolites in healthy volunteers, **Prostaglandin, Leukotrienes and Essential Fatty acids**, **58**, 61-64, 1998.
8. Menéndez R., Fraga V., Amor A.M., González R.M. and Más R. Oral administration of policosanol inhibit in vitro cooper-induced rat lipoprotein peroxidation, **Physiol. and Behav.**, **67**, 1-7, 1999.
9. Castaño G., Más R., Fernández L., Illnait J., Gámez R. and Fernández J.C. Comparison of two regimens of policosanol administered at 20 mg/d in patients with type II hypercholesterolemia: A randomized, double-blind, placebo-controlled, **Current Therapeutic Research.**, **62**, 194-208, 2001.
10. World Health Organization. Accelerated stability studies of widely used pharmaceutical substances under simulated tropical conditions. WHO/PHARM/86.529, 1986.
11. Larmond E. Methods for sensory evaluation of foodS; Publication 1284. Canada Department of Agriculture, 1976.
12. United States Pharmacopeia, 26th Edition (USP 26 NF21), National Publishing, Philadelphia, (2091) Weight variation of nutritional supplements, 2003.
13. United States Pharmacopeia, 26th Edition (USP 26 NF21), National Publishing, Philadelphia, (701) Desintegration and dissolution of nutritional supplements, 2003.
14. United States Pharmacopeia, 26th Edition (USP 26 NF21), National Publishing, Philadelphia, (631) Color and achromicity, 2003.
15. United States Pharmacopeia, 26th Edition (USP 26 NF21), National Publishing, Philadelphia, (2021) Microbial limit test - nutritional supplements, 2003.