

36 MESES DEL ESTUDIO DE ESTABILIDAD DEL ABEXOL SUSPENSIÓN

36 MONTHS STABILITY STUDY OF ABEXOL SUSPENSION

Roxana Vicente Murillo^a (0000-0002-5311-1877)
 Víctor L. González Canavaciolo^a (0000-0001-5294-8758)
 Laura Salahange González^a (0000-0001-9667-3215)
 Reynerio Rodríguez Zamora^b (0009-0008-1089-2344)
 Niurka Benítez Guerra^b (0009-0006-3342-6149)
 Ángel Luis Pelegrín Gamboa^b (0000-0001-9889-9701)

^a Centro Nacional de Investigaciones Científicas, La Habana, Cuba.

^b Laboratorios Farmacéuticos Medilip, La Habana, Cuba.

^{a,*} roxana.vicente@cnic.cu

Recibido: 03 de diciembre de 2024;

Aceptado: 10 de diciembre de 2024;

RESUMEN

La suspensión del Abexol es un nuevo producto terminado antioxidante y gastroprotector, que contiene alcoholes grasos extraídos y purificados de la cera de abejas *Apis mellifera*. Como parte del desarrollo de esta suspensión, para determinar su vida útil, se realizaron estudios de estabilidad acelerada y a largo plazo con tres lotes fabricados en los Laboratorios Medilip, los cuales fueron envasados en frascos de vidrio ámbar de 125 mL y en frascos de tereftalato de polietileno ámbar de 120 mL. El estudio de estabilidad acelerada se realizó a 40 ± 2 °C y 75 ± 5 % de Humedad Relativa (HR), y el estudio de estabilidad a largo plazo se realizó a 30 ± 2 °C y 70 ± 5 % HR. El contenido total de alcoholes grasos, determinado por un método analítico validado por cromatografía de gases, no cambió significativamente durante todo el estudio, lo que es consistente con la alta estabilidad conocida de estos alcoholes grasos. Las características organolépticas (líquido homogéneo blanco opaco después de agitar, con un ligero olor a platanito y sin materias extrañas), así como el pH (6,5 a 8,0) y el contenido microbiológico (bacterias < 1000 UFC/g, hongos y levaduras < 100 UFC/g y ausencia de *E. coli*), también se mantuvieron estables, sin cambios significativos con respecto a los valores iniciales en todos los muestreos. El cumplimiento de los criterios de aceptación establecidos de los tres lotes, en frascos de vidrio y plástico, durante todo el estudio, demostró que este nuevo producto es estable, al menos durante 12 meses, en condiciones de estabilidad acelerada (que podría ocurrir durante el transporte) y durante 36 meses en condiciones ambientales de la zona climática IV.

Palabras claves: Abexol suspensión, alcoholes grasos, cromatografía de gases, cuantificación, estabilidad.

ABSTRACT

Abexol suspension is a new antioxidant and gastroprotective finished product, containing fatty alcohols extracted and purified from *Apis mellifera* beeswax. As part of the development of the Abexol suspension, for determining its shelf life, accelerated and long-term stability studies were carried out. Three batches of this suspension, manufactured in Medilip Laboratories, and packed in 125 mL amber glass and in 120 mL amber polyethylene terephthalate flasks, were used in these studies. Accelerated stability study was carried out at 40 ± 2 °C and 75 ± 5 % Relative Humidity (RH), and long-term stability study was carried out at 30 ± 2 °C and 70 ± 5 % RH. Total content of fatty alcohols, determined by a Gas Chromatographic validated analytical method, did not significantly change during all the study, which is consistent with the known high stability of these fatty alcohols. Organoleptic characteristics (homogeneous opaque white liquid after shaking, with a light banana odour, and without foreign matter), as well as pH (6.5 to 8.0) and microbiological content (bacteria < 1000 CFU/g, fungi and yeast < 100 CFU/g, and absence of *E. coli*), also maintained stable, without significant changes with respect to the initial values in all samplings. Compliance with the established acceptance criteria of the three batches, in glass and plastic flasks, during all the study, demonstrated that this new product is stable, at least during 12 months, in conditions of accelerated stability (which could happen during transportation) and during 36 months in environmental conditions of climatic zone IV.

Keywords: Abexol suspension, fatty alcohols, gas chromatography, quantification, stability.

INTRODUCCIÓN

El ingrediente activo (IA) de las tabletas de Abexol® contiene, como componentes principales, una mezcla de alcoholes grasos entre 24 y 34 átomos de carbono, extraídos y purificados a partir de la cera de abejas *Apis mellifera* (González *et al.*, 2006). Este IA presenta efectos antiinflamatorios (Carbajal *et al.*, 2013; Pérez *et al.*, 2014; 2015), antioxidantes (López *et al.*, 2008; Ravelo *et al.*, 2016) y gastroprotectores (Hano *et al.*, 2001; Illnait *et al.*, 2013; Pérez *et al.*, 2013; Molina *et al.*, 2014).

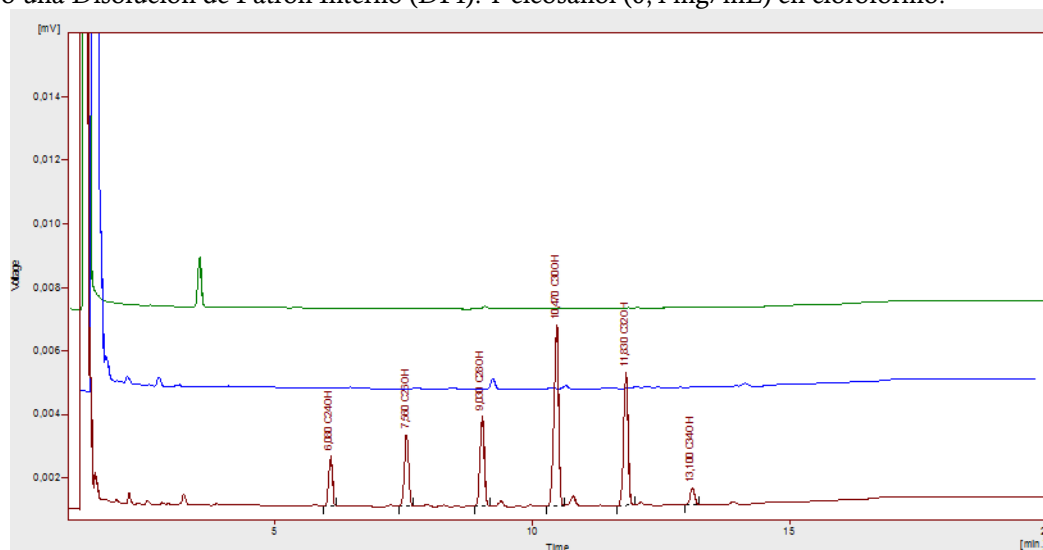
Recientemente se desarrolló una nueva forma terminada, alternativa a las tabletas de Abexol, consistente en una suspensión acuosa, para uso oral, la cual contiene 10 mg de alcoholes grasos/mL (González *et al.*, 2023; 2024). Dicha suspensión presenta varias ventajas sobre las tabletas, tales como un proceso tecnológico de fabricación más sencillo, con el empleo de excipientes sin limitaciones de uso, una mayor flexibilidad de dosificación, mayor grado de aceptación del producto y adherencia al tratamiento por parte del paciente, y fundamentalmente una mayor potencia farmacológica, demostrada en modelos experimentales y en un ensayo clínico (Breaña *et al.*, 2023; Hierro *et al.*, 2024).

Los ensayos de estabilidad de los IA y productos terminados brindan evidencias de sus comportamientos a través del tiempo, en diferentes condiciones ambientales (Centro para el Control Estatal de la Calidad de los Medicamentos [CEDMED], 2000; Grimm, 1998; *International Conference of Harmonization* [ICH], 2000). Aunque se ha demostrado que tanto el IA como las tabletas de Abexol® presentan muy alta estabilidad (González *et al.*, 2011; 2012; 2015), teniendo en cuenta que no hay evidencias del comportamiento de la nueva forma terminada líquida desarrollada para el Abexol, se hace necesario realizarle estudios de estabilidad, con vistas a conocer durante qué tiempo conserva sus parámetros de calidad dentro de los límites especificados en determinadas condiciones de almacenaje.

MATERIALES Y MÉTODOS

Reactivos y Disoluciones

Se empleó N-metil, N-trimetilsililtrifluoroacetamida (MSTFA) como agente derivatizante (Sigma, EUA), 1-eicosanol (C₂₀), 1-tetracosanol (C₂₄), 1-hexacosanol (C₂₆), 1-octacosanol (C₂₈) y 1-triacontanol (C₃₀) como sustancias de referencia de calidad analítica (Sigma, EUA) y cloroformo (Merck, Alemania). Además, se preparó una Disolución de Patrón Interno (DPI): 1-eicosanol (0,4 mg/mL) en cloroformo.



Equipos

Balanza analítica (Mettler Toledo, Suiza), termostato seco multiblock (Lab-Line Instr., EUA), compresor de aire (Shimadzu, Japón), generador de hidrógeno (OPGU, Italia), Cromatógrafo de gases GC-14A con detector de ionización por llama (Shimadzu, Japón), equipado con una columna BPX-5 (30 m x 0,53 mm d.i. x 1,5 µm de espesor de película, SGE, Australia) con un programa de 200°C (1 min) a 8 °C/min hasta 320 °C (3 min). El detector y el inyector se mantuvieron a 320 °C, el volumen de inyección fue 1 µL en modo *splitless* y el flujo del gas portador (hidrógeno) fue 8 mL/min. Para la formación de la llama se utilizaron flujos de 40 y 400 mL/min, para el hidrógeno y aire, respectivamente.

Estudios de estabilidad

Muestras de 3 lotes de Abexol suspensión (9001, 9002 y 9003) fabricados en el Laboratorio Farmacéutico Medilip, envasados en frascos de 125 mL de vidrio ámbar y en frascos de 120 mL de tereftalato de polietileno (TPE) ámbar, ambos con tapas plásticas de rosca y con sellos de inviolabilidad, se sometieron a las condiciones de almacenamiento del estudio de estabilidad acelerado ($40 \pm 2^\circ\text{C}$ y $75 \pm 5\%$ HR) y del estudio de estabilidad a largo plazo, zona climática IV ($30 \pm 2^\circ\text{C}$ y $70 \pm 5\%$ HR). En el caso del estudio a largo plazo, los frascos se colocaron en cajas de cartón como envase secundario.

Los estudios se efectuaron siguiendo las Guías de la Conferencia Internacional de Armonización (Grimm, 1998; ICH, 2000) y de la Agencia regulatoria cubana (CECMED; 2000). Los muestreos se realizaron al inicio y a los 1, 2, 3, 6, 9 y 12 meses, para el estudio acelerado y a los 3, 6, 9, 12, 18, 24 y 36 meses, para el estudio a largo plazo. En los muestreos se evaluaron las características organolépticas (teniendo en cuenta aspectos como la apariencia y color), el pH (*United States Pharmacopoeia* 40 [USP 40], 2017), los contenidos individual y total de alcoholes grasos (González *et al.*, 2024), y el contenido microbiológico, este último al inicio y a los 12, 24 y 36 meses según método de farmacopea (USP 40, 2017). Los lotes se consideraron como no degradados cuando cumplieron con las especificaciones de calidad que se resumen a continuación:

- Características organolépticas: líquido homogéneo blanco opaco después de agitar, con un ligero olor a platanito y sin materias extrañas
- pH: 6,5 – 8,0
- Contenido de alcoholes grasos: 10 mg de alcoholes grasos/mL de suspensión $\pm 10\%$
- Contenido microbiológico: bacterias < 1000 UFC/g, hongos y levaduras < 100 UFC/g y ausencia de *E. coli*/g.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estudio de estabilidad acelerado

Los lotes de Abexol suspensión, sometidos durante 12 meses a degradación acelerada en frascos de vidrio ámbar y TPE, no mostraron cambios en las características organolépticas con respecto al inicio en todos los muestreos. En cuanto a los demás parámetros de calidad (Tabla 1), los tres lotes también cumplieron con las especificaciones de calidad establecidas para el contenido de alcoholes grasos (10 mg alcoholes grasos/mL de suspensión $\pm 10\%$) y el pH (6,5 – 8,0) sin cambios significativos. Estos resultados demostraron que los lotes del Abexol suspensión, en ambos envases, son estables durante 12 meses a $40 \pm 2^\circ\text{C}$ y $75 \pm 5\%$ HR, y permiten predecir que esta suspensión mantendrá una alta estabilidad en la zona climática IV.

Tabla 1. Estabilidad del Abexol suspensión en frascos de vidrio y TPE, almacenados en condiciones de estabilidad acelerada.

Lote	Tiempo (meses)	Frasco de vidrio ámbar		Frasco de TPE ámbar	
		pH	CA	pH	CA
9001	Cero	7,38	9,40	7,38	9,40
	1	7,32	9,40	7,25	9,32
	2	7,21	9,32	7,13	9,23
	3	7,04	9,23	7,06	9,18
	6	6,95	9,17	6,95	9,25
	9	6,50	9,23	6,84	9,33
	12	7,15	9,30	6,82	9,23
	Cero	7,33	9,27	7,33	9,27
9002	1	7,31	9,29	7,26	9,24
	2	7,20	9,47	7,12	9,17
	3	7,01	9,19	7,01	9,17
	6	6,93	9,21	6,91	9,23
	9	6,83	9,27	6,50	9,30
	12	6,90	9,30	7,01	9,30
9003	Cero	7,38	9,63	7,38	9,63

1	7,33	9,58	7,26	9,56
2	7,22	9,44	7,10	9,35
3	7,01	9,31	7,02	9,17
6	6,91	9,31	6,89	9,33
9	6,54	9,27	6,66	9,43
12	6,85	9,03	6,84	9,33

CA: Contenido de alcoholes grasos en el Abexol suspensión (mg/mL)

Estudio de estabilidad a largo plazo, zona climática IV

Este estudio se hizo con el objetivo de determinar el tiempo de vida útil del Abexol suspensión en frascos de vidrio y TPE, de color ámbar. Para ello, fueron almacenadas muestras de 3 lotes en las condiciones de la zona climática IV (30 ± 2 °C y 70 ± 5 % HR) y se determinaron las características organolépticas, pH y contenido de alcoholes grasos durante 36 meses, según cronograma de muestreo. Además, se realizó el ensayo microbiológico en el tiempo cero, a los 12, 24 y 36 meses.

El Abexol suspensión, sometido durante 36 meses a las condiciones climáticas de la zona IV, no mostró cambios en las características organolépticas, con respecto a las iniciales, en todos los muestreos. En cuanto a las otras determinaciones (Tabla 2), todos los lotes cumplieron con las especificaciones de calidad establecidas para el contenido de alcoholes grasos ($10 \text{ mg/mL} \pm 10\%$), lo cual confirma la alta estabilidad de estos compuestos (González *et al.*, 2011; 2012; 2015), y el pH (6,5 – 8,0) también se mantuvo sin cambios significativos con respecto al inicio. Durante todo el estudio, el Abexol suspensión, aunque contiene un alto porcentaje de agua, no presentó microorganismos patógenos, y tanto el conteo de bacterias como el de hongos y levaduras se encontraron muy por debajo de sus especificaciones de calidad.

Los resultados anteriores demostraron que la suspensión de Abexol, en frascos ámbar de vidrio y de TPE, es estable al menos durante 36 meses, bajo las condiciones de la zona climática IV: (30 ± 2) °C y (70 ± 5) % HR. Próximos muestreos pudieran permitir que se prolongue el tiempo de vida útil de esta forma terminada.

Tabla 2. Estabilidad del Abexol suspensión en frascos de vidrio y TPE, almacenados en condiciones de la zona climática IV.

Lote	Tiempo (meses)	Frasco de vidrio ámbar		Frasco de TPE ámbar	
		pH	CA	pH	CA
9001	Cero	7,38	9,40	7,38	9,40
	3	7,09	9,11	7,08	9,14
	6	6,99	9,25	6,96	9,17
	9	6,80	9,40	6,82	9,33
	12	7,01	9,33	6,89	9,40
	18	6,75	9,10	6,76	9,17
	24	6,74	9,17	6,75	9,07
	36	6,67	9,00	6,68	9,23
	Cero	7,33	9,27	7,33	9,27
9002	3	7,02	9,25	7,01	9,19
	6	6,94	9,32	6,91	9,15
	9	6,84	9,30	6,80	9,23
	12	6,68	9,27	6,84	9,33
	18	6,73	9,10	6,73	9,17
	24	6,71	9,03	6,72	9,00
	36	6,64	9,03	6,65	9,03
	Cero	7,38	9,63	7,38	9,63
	3	7,03	9,22	7,02	9,29
9003	6	6,93	9,37	6,90	9,20
	9	6,74	9,47	6,78	9,27

12	6,84	9,53	6,83	9,37
18	6,74	9,33	6,74	9,13
24	6,73	9,17	6,72	9,20
36	6,68	9,37	6,67	9,23

CA: Contenido de alcoholes grasos en el Abexol suspensión (mg/mL)

CONCLUSIONES

Los estudios de estabilidad acelerado y a largo plazo demostraron que el Abexol suspensión, envasado en frascos color ámbar de vidrio y de tereftalato de polietileno, es estable al menos durante 12 meses en condiciones de estabilidad acelerada y durante 36 meses en condiciones de la zona climática IV.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Breñas, G., Zamora, Z., Oyarzabal, A., Pérez, M. F., Vicente, R., González, V., & Molina, V. (2023). Estudio comparativo de los efectos de los alcoholes de la cera de abejas como ingrediente activo y sus formulaciones farmacéuticas sobre la úlcera gástrica inducida por etanol en ratas. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 54, 287-294.
- Carbajal, D., Ravelo, Y., Molina, V., Mas, R., & Arruzazabala, M. L. (2013). Effect of D-002 on models of acute inflammation. *IJPSRR.*, 21(2), 62- 67.
- Centro para el Control Estatal de la Calidad de los Medicamentos, Ministerio de Salud Pública de la República de Cuba. (2000) Reg. No. 24. Requerimientos de los estudios de estabilidad para el registro de productos farmacéuticos nuevos y conocidos.
- González, V., Sierra, R., Magraner, J., & Rodríguez, E. (2006). Método para la determinación por cromatografía de gases del contenido de D-002, una nueva sustancia biológicamente activa purificada de la cera de abejas. *Revista CENIC. Ciencias Químicas*, 37(1), 21-22.
- González, V., Sierra, R., Marrero, D., & Rodríguez, E. A. (2011). Estudios de estabilidad del D002, mezcla de alcoholes grasos purificados de la cera de abejas, ingrediente activo y tabletas. *Rev. Cub. Quím.*, XXIII (3), 46-51.
- González, V., Sierra, R., Morales, C., Vicente, R., Rodríguez, E. A., & Marrero, D. (2012). Estudio de la estabilidad a largo plazo de tabletas de Abexol® envasadas en frascos de polietileno de alta densidad. *Revista CENIC Ciencias Químicas*, 43(1), 1- 5.
- González, V., Sierra, R., Morales, C.L., Vicente, R., Rodríguez, E. A., & Marrero, D. (2015). Cinco años de estabilidad de las tabletas de Abexol® en frascos plásticos y en blísteres *Revista CENIC. Ciencias Químicas*, 46, 107-111.
- González, V., Vicente, R., Rodríguez, R., Benitez, N., Rodríguez, E. A., Molina, V., Mendoza, S., & Oyarzábal, A. (2023) *Suspensión oral con efectos antiulceroso y quimioprotector sobre el cáncer de colon* (Cuba Patente No. 24638) Oficina Cubana de la Propiedad Intelectual.
- González, V. L., Vicente, R., Rodríguez, E. A., Benitez, N., Rodríguez, R., & Cruz, C. R. (2024). Suspensión oral de Abexol y su método analítico. *Revista CENIC. Ciencias Químicas* (en prensa).
- Grimm, W. (1998). Extension of the International Conference on Harmonization Tripartite Guideline for Stability Testing of New Drug Substances and Products to Countries of Climatic Zones III and IV. *Drug Develop & Indust Pharm.*, 24, 313-325.
- Hano, O., Illnait, J., Mas, R., Fernández, L., Piñol, F., & Fernández, J. (2001). Effects of D-002, a Product Isolated from Beeswax, on Duodenal Ulcer: A Double-Blind, Placebo- Controlled Study. *Curr Ther Res.*, 62(3), 394-407.

- Hierro, A., Fernández, J. C., Hernández, Y., Borges, S., *et al.* (2024). Estudio comparativo de la eficacia y seguridad del Abexol (suspensión versus tabletas) en pacientes con síntomas gastrointestinales. *Korean J Intern Med*, 39, 57-67. E-issn: 2005-6648.
- Illnait, J., Rodríguez, I., Molina, V., Mendoza, S., Mas, R., Fernández, L., Oyarzábal, A., Pérez, Y., Mesa, M., Fernández, J. C., Gámez, R., Jiménez, S., Ruiz, D., & Cruz, Y. (2013). Effects of D-002 (beeswax alcohols) on gastrointestinal symptoms and oxidative markers in middle-aged and older subjects. *Lat Am J Pharm.*, 32(2), 166-174.
- International Conference of Harmonization. (2000). Harmonized Tripartite Guideline. Q1AR Stability Testing Guideline: Stability Testing of New Drug Substances and Products, London, UK.
- López, E., Illnait, J., Molina, V., Oyarzábal, A., Fernández, L., Pérez, Y., Mas, R., Mesa, M., Fernández, J., Mendoza, S., Gómez, M., Jiménez, S., & Ruiz, D. (2008). Effects of D-002 (beeswax alcohols) on lipid peroxidation in middle-aged and older subjects. *Latin Am J Pharm.*, 27, 695-703.
- Molina, V., Zamora, Z., & Mas, R. (2014). Effects of the combined therapy D-002 plus grape seed extract (GSE) on aspirin-induced gastric ulcer in rats. *J Harmonization Pharmacy*, 3(3), 113-120.
- Pérez, Y., Oyarzábal, A., Mas, R., Molina, V., & Jiménez, S. (2013). Protective effect of D002, a mixture of beeswax alcohols against indomethacin-induced gastric ulcers and mechanism of action. *J Nat Med.*, 67(1), 182-189.
- Pérez, Y., Oyarzábal, A., Ravelo, Y., Mas, R., Jiménez, S., & Molina, V. (2014). Inhibition of ciclooxigenase and 5-lipooxygenase enzymes by D-002 (beeswax alcohols). *Current Top Nutra Res*, 12(1-2), 13-18.
- Pérez, Y., Mas, R., Oyarzábal, Á., Jiménez, S., & Molina V. (2015). Efecto sobre la actividad in vitro de las enzimas ciclooxigenasa y 5-lipoxigenasa de los alcoholes octacosanol y el triacontanol. *Rev Cub Farm.*, 49(1), 117 - 131.
- Ravelo, Y., Molina, V., Oyárzabal, A., Pérez, Y., Noa, M., Mas, R., Jiménez, S., & Mendoza N. (2016). Effects of D-002 (beeswax alcohols) on lung leukocyte infiltration and lipid peroxidation in rats with carrageenan-induced pleurisy. *Int J Pharm Scienc Review Res*, 38(1), 8-12.
- United States Pharmacopoeia 40 and National Formulary 35. (2017). USA: The United States Pharmacopeial Convention.

CONTRIBUCIÓN AUTORAL

Roxana Vicente Murillo: autor, conceptualización, análisis formal, investigación, metodología.

Víctor L. González Canavaciolo: conceptualización, curación de datos, revisión

Laura Salahange González: conceptualización, revisión del borrador

Reynerio Rodríguez Zamora: redacción del borrador original, edición, supervisión

Niurka Benitez Guerra: conceptualización, curación de datos, edición

Ángel Luis Pelegrín Gamboa: conceptualización, supervisión, edición

En este artículo no existen conflicto de interes entre los autores.