



Revista CENIC Ciencias Químicas

ISSN: 1015-8553

ISSN: 2221-2442

Centro Nacional de Investigaciones Científicas

González, Laura Salahange; Canavaciolo, Víctor L. González; Murillo, Roxana Vicente; Leyes, Eduardo A. Rodríguez; Pérez, Roxana Sierra
DETERMINACIÓN DE ALCOHOLES GRASOS POR CROMATOGRFÍA DE GASES EN
NUEVA CREMA DERMOPROTECTORA SOMETIDA A ESTUDIOS DE ESTABILIDAD
Revista CENIC Ciencias Químicas, vol. 53, núm. 2, 2022, Julio-Diciembre, pp. 260-263
Centro Nacional de Investigaciones Científicas

Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181676182011>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

UDEM
redalyc.org

Sistema de Información Científica Redalyc
Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso
abierto

COMUNICACION CORTA

DETERMINACIÓN DE ALCOHOLES GRASOS POR CROMATOGRAFÍA DE GASES EN NUEVA CREMA DERMOPROTECTORA SOMETIDA A ESTUDIOS DE ESTABILIDAD

FATTY ALCOHOLS DETERMINATION BY GAS CHROMATOGRAPHY IN A NEW SKIN PROTECTIVE CREAM SUBMITTED TO STABILITY STUDIES

TRABAJO PRESENTADO EN EL EVENTO CNIC PRONAT 2022



Laura Salahange González ^a (0000-0002-6367-6804)
 Víctor L. González Canavaciolo ^{a,*} (0000-0001-5294-8758)
 Roxana Vicente Murillo ^a (0000-0002-5311-1877)
 Eduardo A. Rodríguez Leyes ^a (0000-0002-6833-8038)
 Roxana Sierra Pérez ^a (0000-0002-1156-646X)

^a Centro Nacional de Investigaciones Científicas (CNIC).

* victor.gonzález@cnic.edu.cu

Recibido: 12 de diciembre de 2022;

Aceptado: 14 de diciembre de 2022;

RESUMEN

Recientemente se desarrolló una crema dermoprotectora, con los alcoholes grasos 1-octacosanol y 1-triacontanol, los cuales presentan propiedades antioxidantes y antiinflamatorias. Como parte del desarrollo de este nuevo producto, quedó validado un método analítico por Cromatografía de Gases, el cual fue aplicado a muestras de tres lotes de crema sometidas a ensayos de estabilidad acelerada durante 12 meses y de estabilidad a largo plazo durante 36 meses. Las muestras de crema, envasada a razón de 25 g en tubos de aluminio litografiados de 25 g con laca epoxifenólica interior y tapa de polietileno de alta densidad, fueron colocadas a 40 ± 2 °C y 75 ± 5 % de humedad relativa (estabilidad acelerada) y a 30 ± 2 °C y 70 ± 5 % de humedad relativa (estabilidad a largo plazo en la Zona Climática IV). La aplicación del método analítico validado demostró que el contenido de los alcoholes grasos se mantuvo sin variación durante todo el tiempo en que las muestras fueron evaluadas, en ambos ensayos. Adicionalmente, se apreció que en todos los muestreos las cremas mantuvieron sus características organolépticas originales (semisólido de aspecto uniforme, sin grumos ni consistencia arenosa, de color crema claro y olor característico) así como los contenidos microbiológicos y el pH dentro de los intervalos definidos como Especificaciones de Calidad. Los resultados de estos ensayos sustentan que la crema es capaz de resistir, al menos, 12 meses en condiciones de estabilidad acelerada y 36 meses en las condiciones de la Zona climática IV.

Palabras claves: 1-triacontanol, 1-octacosanol, Cromatografía de Gases, crema dermoprotectora, estabilidad.

ABSTRACT

A new skin protective cream was recently developed containing the fatty alcohols 1-octacosanol (C28) and 1-triacontanol (30), which present antioxidant and anti-inflammatory properties. As part of the development of this new product, a Gas Chromatographic analytical method was validated. This method was used for the analyses of samples from three batches of the cream, which were submitted to accelerated stability assay during 12 months and to long-term stability assay during 36 months. The cream samples, packed at the rate of 25 g in lithographed aluminum tubes with inner epoxy-phenolic coating and high density polyethylene cap, were placed at 40 ± 2 °C and 75 ± 5 % relative humidity (accelerated stability), and at 30 ± 2 °C and 70 ± 5 % relative humidity (long-term stability in climatic Zone IV). The validated analytical method allowed to demonstrate that the fatty alcohols content did not change during all the time in which the samples were analyzed, in both assays. Additionally, it was observed that during all the time, the creams kept their original organoleptic characteristics (semi-solid with a uniform appearance, without lumps or sandy consistency, with a white to light cream color and a characteristic odor), as well as their microbiological content and pH between the Quality Specification defined ranges. The results of the present study support that the cream resist 12 months in conditions of accelerated stability and 36 months when stored at the conditions of the climatic Zone IV.

Keywords: 1-triacontanol, 1-octacosanol, Gas Chromatography, skin protective cream, stability.

INTRODUCCION

Los alcoholes grasos 1-octacosanol (C28) y 1-triacontanol (C30) han demostrado propiedades antioxidantes y antiinflamatorias (Guo *et al.*, 2017; Pérez *et al.*, 2015), por lo que se ha planteado su uso potencial en cosmética, para el tratamiento de enfermedades inflamatorias en la piel y otras afecciones dérmicas (Majeed *et al.*, 2007). Dichos alcoholes grasos pueden ser obtenidos a partir de ceras naturales como la cera de abejas (*Apis mellifera*) y la cera de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.) (González *et al.*, 2006; Marrero *et al.*, 2008). Teniendo en cuenta lo referido anteriormente, se desarrolló una crema dermoprotectora con extractos purificados que presentan altos contenidos de los alcoholes grasos mencionados.

Estudios previos han demostrado la alta estabilidad intrínseca, de al menos cinco años, de estos alcoholes grasos y de sus formas farmacéuticas sólidas (González *et al.*, 2011; Sierra *et al.*, 2006). No obstante, al hacer una nueva propuesta de formulación, se requieren estudios independientes de estabilidad, que permitan determinar su tiempo de vida útil. El presente trabajo tiene como objetivo, por tanto, conocer la estabilidad de la crema desarrollada, en este caso envasada en tubos de aluminio, tanto en condiciones drásticas como en las condiciones climáticas de Cuba, lo cual constituye un primer acercamiento a conocer sus mejores condiciones de envasado y almacenaje.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se emplearon muestras de tres lotes piloto de crema, conteniendo extractos purificados con > 10% de los alcoholes grasos C28 y C30 y excipientes de calidad farmacéutica, envasada a razón de 25 g en tubos de aluminio litografiados, con laca epoxifenólica interior, boca ciega y tapa blanca de polietileno de alta densidad con perforador, los cuales se colocaron en cajas de cartón como envase secundario.

Condiciones de almacenaje y frecuencia de muestreos

En el estudio de estabilidad acelerado las muestras se colocaron en una desecadora con una disolución saturada de cloruro de sodio, en estufa a 40 ± 2 °C, con lo cual se garantizó 75 ± 5 % de humedad relativa. Los muestreos se efectuaron al inicio y al cabo de los 3, 6, 9 y 12 meses. En el estudio a largo plazo, las muestras se colocaron en un local bajo las condiciones de la Zona Climática IV (30 ± 2 °C y 70 ± 5 % de humedad relativa), donde se llevó un registro diario de humedad y temperatura. Los muestreos se efectuaron al inicio y al cabo de 6, 12, 18, 24 y 36 meses, con determinación del contenido microbiológico al inicio y anualmente.

Determinación de los parámetros que rigen los estudios y criterios de aceptación

Para el análisis del contenido de los alcoholes C28 y C30 se pesó 1 g de crema en un vial de 20 ml ($n = 3$), se le añadieron 3 ml de una mezcla metanol:agua (80:20 v/v) y 5 ml de una disolución del alcohol C20 en cloroformo (0,4 mg/mL), empleado como patrón interno. Se agitó en zaranda durante 30 min, se centrifugó durante 5 min a 1500 rpm, se extrajo la fase orgánica hacia un vial de 20 ml, se evaporó hasta sequedad a 65°C con ayuda de corriente de aire y se adicionaron 2 mL de cloroformo. Se calentó a 65°C durante 3 min y se transfirió una alícuota de 500 µl hacia un tubo de ensayos, donde se añadieron 60 µl de N-metil, N-trimetilsilil trifluoroacetamida y se calentó a 65°C durante 15 min. Todos los reactivos empleados fueron de calidad analítica.

Se utilizó un cromatógrafo de gases GC-14B 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 180°C (1 min) hasta 320 °C (5 min) a 8 °C/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.

Las características organolépticas de la crema se determinaron atendiendo a su olor, color, apariencia y textura. Para la determinación del pH se dispersaron 2 g de crema en un vaso de precipitados con 40 mL de agua destilada y se utilizó un medidor de pH (Metler Toledo, EUA). El conteo de microorganismos se realizó según la Farmacopea de EE.UU. (USP-40, 2017).

El producto se consideró estable mientras los contenidos totales de alcoholes cumplieran con ser ≥ 95 % del contenido inicial, y adicionalmente, los contenidos determinados cada 12 meses se compararon con el contenido inicial mediante la prueba *t* de Student para $p = 0,05$. Además, se debieron cumplir con las características siguientes: semisólido de aspecto uniforme, sin grumos ni consistencia arenosa, de color blanco a crema claro y olor característico; pH entre 5,5 y 7,0; conteo de bacterias y microorganismos aeróbicos mesófilos ≤ 100 UFC en 0,1 g y ausencia de *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacteriaceae*, y hongos en 0,1 gramo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante los 12 meses en condiciones de estabilidad acelerada, el contenido total de los alcoholes 1-octacosanol y 1-triacontanol se mantuvo dentro de los límites establecidos en los tres lotes. Los resultados finales se compararon estadísticamente con los del tiempo inicial mediante la prueba *t* de Student para un 95% de confianza, lo cual permitió demostrar que no hubo variación significativa durante los 12 meses que duró este ensayo. Por otra parte, las características organolépticas y el pH de la crema se mantuvieron cumpliendo con sus especificaciones de calidad. Estos resultados demuestran que la formulación es capaz de resistir 12 meses en condiciones más drásticas que las ambientales, lo cual puede ocurrir durante su transportación, y a la vez permiten predecir una estabilidad química a 30 °C de al menos 5 años (CECMED, 2000).

Tabla 1. Resultados del ensayo de estabilidad acelerado de la crema a 40 ± 2 °C y 75 ± 5 % HR

Lote	Tiempo (meses)	pH	Contenido total de C_{28} y C_{30} (mg/g de crema)	p calculada (t_0 vs t_n)
1	0	6,80	13,69	0,740
	3	6,62	13,50	
	6	6,59	13,50	
	9	6,11	13,70	
	12	6,35	13,22	
2	0	6,80	13,62	0,734
	3	6,54	13,98	
	6	6,50	13,86	
	9	5,90	13,93	
	12	6,30	13,57	
3	0	6,80	13,83	0,438
	3	6,55	14,15	
	6	6,55	13,87	
	9	5,83	13,44	
	12	6,35	13,90	

Los estudios a largo plazo (Tabla 2), que son los que en última instancia definen el tiempo de vida útil, confirmaron la alta estabilidad de la crema durante tres años en las condiciones de la Zona Climática IV, sin que se apreciaran tendencias a la degradación ni cambios significativos en los parámetros evaluados. El análisis estadístico anual de los contenidos de alcoholes en cada lote mostró que no hubo variaciones significativas de este parámetro con respecto a los resultados iniciales, y las características organolépticas, pH, y el conteo microbiológico también cumplieron con los límites especificados.

Tabla 2. Resultados del ensayo de estabilidad a largo plazo de la crema a 30 ± 2 °C y 70 ± 5 % HR

Lote	Tiempo (meses)	pH	Contenido total de C_{28} y C_{30} (mg/g de crema)	p calculada (t_0 vs t_n)
1	0	6,80	13,69	0,955
	6	6,94	13,76	
	12	6,38	13,63	
	18	6,45	13,68	
	24	6,50	13,55	
	36	6,90	14,18	
2	0	6,80	13,62	0,843
	6	6,89	13,41	
	12	6,30	13,88	
	18	6,45	13,64	
	24	6,65	13,59	
	36	6,82	14,16	
3	0	6,80	13,83	0,080
	6	6,84	13,61	
	12	6,26	14,08	
	18	6,40	13,25	
	24	6,54	13,70	
	36	6,85	13,69	

CONCLUSIONES

La crema desarrollada, con 1-octacosanol y 1-triacontanol como ingredientes activos, envasada en tubos de aluminio, es capaz de resistir al menos 12 meses en condiciones de estabilidad acelerada y 36 meses en las condiciones de la zona climática IV.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Dr. C. Nilia de la Paz Martín-Viaña y al Dr. C. Oscar García Pulpeiro por su asesoría y apoyo en la elaboración de los lotes de crema.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- CECMED. Centro para el Control Estatal de la Calidad de los Medicamentos (2000). Regulación No. 23 - Requerimientos de los estudios de estabilidad para el registro de productos farmacéuticos activos nuevos y conocidos. Ministerio de Salud Pública de la República de Cuba Recuperado de: www.cecmec.sld.cu.
- González, V.L., Sierra, R., Magraner, J., Rodríguez, E.A. (2006). Método para la determinación por cromatografía de gases del contenido de D002, una nueva sustancia biológicamente activa purificada de la cera de abejas. *Rev CENIC Cienc. Quím.*, 37(1),75-76.
- González, V.L., Sierra, R., Marrero, D., y Rodríguez, E.A. (2011). Estudios de estabilidad del D002, mezcla de alcoholes grasos purificada de la cera de abejas, ingrediente activo y tabletas. *Rev.Cub. de Quím.*, 23(3),46-51.
- Guo, T., Lin, Q., Li, X., Nie, Y., Wang, L., *et al.* (2017). Octacosanol Attenuates Inflammation in Both RAW264.7 Macrophages and a Mouse Model of Colitis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(18), 3647-3658. doi: 10.1021/acs.jafc.6b05465.
- Majeed M., Gangadharan GK, Prakash S. (2007). US 2007/0196507 A1. United State. Composition and Methods containing High Purity Fatty Alcohols C24 to C36 for Cosmetic Applications.
- Marrero, D., González, V., Sierra, R. et al (2008). Validación de un nuevo método analítico por CG con columna capilar para la determinación de alcoholes alifáticos de alto peso molecular en el policosanol ingrediente activo. *Rev. Colombiana de Cienc. Quim Farm*, 37(1):62- 68.
- Pérez, Y., Mas, R., Oyarzábal, Á., Jiménez, S., y 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.de Farm.*, 49(1), 117-131.
- Sierra, R., Rodríguez, E., Laguna, A., González, V., Uribarri, E., Velazquez, C. (2006). Estudio de estabilidad de tabletas que contienen 20mg de policosanol como ingrediente activo. *Rev. CNIC Cienc. Quím.*, 37(3), 143-147.
- United States Pharmacopoeia 40 (USP-40). (2017). The United States Pharmacopoeial Convention, Inc USA.

Este artículo no presenta conflicto de interés

CONTRIBUCCION AUTORAL

Laura Salahange González: conceptualización, curación de datos, análisis formal

Víctor L. González Canavaciolo: conceptualización, redacción del borrador original

Roxana Vicente Murillo: curación de datos, análisis formal

Eduardo A. Rodríguez Leyes: curación de datos, análisis formal

Roxana C. Sierra Pérez: conceptualización, curación de datos, análisis formal, redacción del borrador original