



Revista CENIC. Ciencias Químicas

ISSN: 1015-8553

juan.araujo@cnic.edu.cu

Centro Nacional de Investigaciones Científicas
Cuba

Marrero Delange, David

D003: Un Nuevo Producto Obtenido De La Cera De Caña De Azúcar Con Utilidad Promisoria En El
Manejo De Desórdenes Aterotrombóticos

Revista CENIC. Ciencias Químicas, vol. 35, núm. 1, enero-abril, 2004, pp. 43-44

Centro Nacional de Investigaciones Científicas
La Habana, Cuba

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181625914011>

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

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

RESEÑA

D003: UN NUEVO PRODUCTO OBTENIDO DE LA CERA DE CAÑA DE AZÚCAR CON UTILIDAD PROMISORIA EN EL MANEJO DE DESORDENES ATERTOTROMBOTICOS

M.C.Lic. David Marrero Delange

Departamento de Química Farmacéutica, Centro de Productos Naturales, Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Avenida 25 y 158, No.15202, Apartado Postal 6414, Playa, Ciudad de La Habana, Cuba.

17 de octubre de 2003.

TRABAJO PRESENTADO EN OPCION AL GRADO CIENTIFICO DE DOCTOR EN CIENCIAS FARMACEUTICAS.

La aterosclerosis es un proceso patológico que constituye la base de las enfermedades oclusivas arteriales, entre las cuales se encuentran, las coronarias (EC), cerebrovasculares y periféricas, las que representan las principales causas de morbi-mortalidad en los sujetos de edad media y avanzada en los países desarrollados y en Cuba. Ha sido demostrado que la hipercolesterolemia (HC), en especial la asociada a la elevación del colesterol transportado por las lipoproteínas de baja densidad (LDL-C), se encuentra entre los tres principales factores de riesgo coronario.

Hoy día, los medicamentos que dominan esta clase terapéutica son los inhibidores de la hidroximetilglutaril-coenzima A (HMGCoA) reductasa, enzima marcadora de la velocidad biosintética del colesterol, los que son considerados como las drogas sintéticas de primera elección en el tratamiento de la HC. Entre ellas, se encuentran la lovastatina, simvastatina, pravastatina, fluvastatina, serivastatina y más recientemente, la atorvastatina. No obstante, pese a su eficacia y buena tolerabilidad, el uso de estas drogas induce diversas experiencias adversas (efectos gastrointestinales, miopatías, incremento de las transaminasas séricas y cuadros de rabdomiolisis, entre otras), las cuales dan origen a algunas de sus contraindicaciones e incluso, dieron lugar a la retirada de la cerivastatina del mercado mundial en el 2001.

En la última década, grandes estudios de prevención primaria y secundaria han probado de manera convincente que los niveles de LDL-C disminuyen la incidencia de los eventos cardiovasculares en pacientes con antecedentes de EC, e incluso, la mortalidad total.

Teniendo en cuenta estos antecedentes, queda justificada la búsqueda de medicamentos eficaces, seguros y bien tolerados a partir de fuentes existentes en el país, que presenten alguna ventaja con respecto a los empleados actualmente en la terapia y prevención de las enfermedades de origen aterotrombótico. Estos medicamentos podrían incrementar tanto la expectativa como la calidad de vida de la población cubana y por su importancia, se ubicarían dentro de las prioridades de nuestro Sistema de Salud. Así, en los años noventa se obtuvo el policosanol a partir de la cera de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.), el cual es una mezcla de alcoholes lineales de alto peso molecular que se indica como hipolipemiente para el tratamiento de la HC tipo II y que además, inhibe la agregación plaquetaria. El policosanol ha demostrado ser efectivo, muy seguro y bien tolerado, lo cual lo hace superior a las restantes drogas de la misma línea terapéutica.

Estudios realizados han demostrado que el 1-octacosanol, componente mayoritario del policosanol se transforma, tanto *in vivo* como *in vitro*, en ácido 1-octacosanoico ($C_{28:0}$). Estudios experimentales revelaron que a dosis similares, este ácido fue más efectivo que el policosanol en la inhibición de la biosíntesis del colesterol, en la reducción de los niveles de tromboxano (TxA_2), sustancia endógena con acción proagregante y vasoconstrictora, y del tamaño del trombo inducido en modelos de trombosis. Estas evidencias experimentales sugieren que los ácidos grasos (AG) homólogos a los alcoholes que componen el policosanol pudieran ser también efectivos en el tratamiento de las enfermedades aterotrombóticas.

Considerando que estos AG también se encuentran presentes en la cera de caña de azúcar, libres y formando parte de los ésteres, fue interesante desarrollar la obtención de ellos paralelamente con la evaluación de sus efectos farmacológicos, siempre y cuando se lograra una mezcla de AG de muy alto peso molecular ($> C_{24:0}$) con una pureza promisorio para su uso como medicamento. El aislamiento y purificación de mezclas de estos AG, con el $C_{28:0}$ entre los principales componentes es un tema novedoso, ya que no había sido descrito con anterioridad, ni a partir de la cera de la caña ni de otras fuentes naturales, lo que se había limitado a estudios aislados con objetivos analíticos. Tampoco se habían asociado mezclas de estos AG al manejo de patologías aterotrombóticas ni en el desarrollo de medicamentos, por lo que no existían antecedentes de los requerimientos de Química Farmacéutica relacionados con estas estructuras tales como el desarrollo de métodos analíticos suficientemente exactos y precisos para el control de su calidad y para el desarrollo de los correspondientes estudios de estabilidad. Todos estos hechos, que evidenciaban novedad científica y potencial interés por su función social y posible efecto económico asociado, motivaron a que el autor partiera de la hipótesis de que era posible aislar, purificar y caracterizar una mezcla de AG de muy alto peso molecular a partir de la cera refinada de la caña de azúcar.

Se desarrolló un procedimiento para la obtención de una mezcla de AG de muy alto peso molecular ($C_{24:0}$ - $C_{36:0}$), que fue denominada D003, a partir de la cera refinada de caña de azúcar *Saccharum officinarum* L., en la cual los diferentes AG se presentan en una composición relativa reproducible en la que el $C_{28:0}$ es el componente mayoritario. Se partió de la cera saponificada y los AG se separaron mediante el empleo de un Soxhlet y de un reactor agitado (RA) con la utilización de disolventes orgánicos. Posteriormente, los AG se purificaron por medio de sucesivas cristalizaciones hasta alcanzar la pureza prefijada. El proceso de obtención del D003 con el RA desarrollado en el laboratorio se escaló en plantas de producción donde se logró reproducir la composición relativa y la pureza del producto.

En el estudio de caracterización del D003 se determinó su intervalo de fusión; su solubilidad en disolventes orgánicos según la clasificación de la USP 23; su composición en AG ($C_{24:0}$ al $C_{36:0}$), según estudios por espectroscopias UV, IR, RMN de 1H y de ^{13}C y por CG-EM al ser sus espectros muy similares a los del patrón de $C_{28:0}$; así como también, su contenido de metales pesados (Pb, Cd y Hg) y alcalinos (Na y K), obtenido por absorción atómica-fotometría de llamas, el cual resultó inferior a los niveles de aceptación según Farmacopeas vigentes.

Se estudiaron los factores críticos de la determinación del D003 mediante la CG con columna de relleno (Chromosorb W-HP de 80-100 mallas, impregnado al 3 % con OV-101; 3,1 m x 3,0 mm d.i.), y se encontró que existe influencia de la velocidad y del tipo de inyección sobre el factor másico de respuesta (f_i^m). Al utilizar la técnica de inyección convencional, se observó que ocurre un aumento considerable del f_i^m con la disminución de la velocidad de inyección y con el aumento de la longitud de la cadena de los AG. Al comparar la técnica convencional con la de *solvent-flush*, se detectó que esta última permite obtener resultados más precisos y el f_i^m se hace menos dependiente de la masa molecular del AG, lo que indica una disminución del efecto discriminatorio. En estas condiciones de análisis, también se encontró una buena correlación entre las respuestas y las masas inyectadas en todo el intervalo de masas estudiado de 0,5 a 2 μg , así como una buena resolución y precisión. También se evaluaron diversos métodos de derivatización como HCl-MeOH 5 % v/v; H_2SO_4 -MeOH 5 % v/v con extracción simultánea utilizando n-hexano y tolueno; diazometano y MSTFA. De estos, la disolución metilante de HCl-metanol 5 % v/v fue escogida por ofrecer el mejor resultado cuantitativo y la mayor precisión. Todos estos resultados contribuyeron a una mejor determinación cuantitativa de los AG presentes en el D003.

Sobre la base de los resultados del estudio con ácidos patrones, se desarrollaron dos metodologías por CG con columna capilar *wide-bore* para la determinación de los componentes del D003 en la materia prima y en la forma terminada (tabletas revestidas con dosis de 5,0 mg). Estas metodologías fueron validadas, como parte de lo cual, se determinó la aplicabilidad del sistema cromatográfico utilizado y su linealidad en intervalos suficientemente amplios (25 al 200 %) de relaciones de masas de ácidos en función del patrón interno. También se estudió la exactitud y linealidad de los métodos que abarcaron entre 30 y 150 % de la masa nominal; se probó la robustez ante pequeños cambios en las condiciones operacionales de los equipos y se determinó la precisión según ensayos de repetibilidad y reproducibilidad mediante un estudio interlaboratorios. También se evaluó la especificidad de los métodos mediante la comparación de los cromatogramas de muestras del patrón interno y de las matrices (D003 materia prima, tabletas de D003 y placebo), para comprobar si existían interferencias entre la señal correspondiente al patrón interno con alguna de las pertenecientes a los AG, impurezas o a los excipientes. Además, las muestras de cada matriz fueron sometidas a condiciones drásticas de tratamiento, mediante diversos procesos que provocan degradación tales como, hidrólisis ácida y básica (0,1 mol/L) durante un día a 105 °C; oxidación con H_2O_2 30 % durante 7 d a 25 °C; fotólisis con luz UV a 254 nm 7 d a 25 °C y termólisis 15 d a 105 °C. La pureza de las señales obtenidas por CG capilar con detección de ionización por llama fue corroborada por CG-EM.

Se desarrolló el Método del Conjunto (MC) ante la imposibilidad práctica de contar con todos los patrones comerciales necesarios para la determinación de los f_i^m de los AG de interés. Este método se fundamenta en el carácter aditivo de las masas y las respuestas cromatográficas, medidas como área. Teniendo en cuenta este carácter, se consideró a todos los componentes de la mezcla de ácidos purificada por cromatografía de columna, como un conjunto único. A partir del área total determinada al analizar dicha mezcla y de la masa utilizada en el análisis, se calculó el factor de respuesta para el conjunto, el cual fue utilizado en la determinación del D003. Estos AG fueron además cuantificados por el método validado y al comparar los resultados obtenidos con ambos métodos, se observó que no presentaban diferencias significativas, todo lo cual indica la validez del MC.

Además, se demostró que pueden ser utilizadas las fases estacionarias apolares: DB-5 y BPX-5 en programas de temperatura que van de 250 a 320 °C y de 220 a 340 °C a 10 °C min^{-1} , respectivamente. Con ello se demostró que los métodos validados cumplen con las exigencias internacionales actuales de la industria farmacéutica y pueden ser utilizados como parte de los controles de calidad del producto, así como en los estudios de estabilidad.

El trabajo está estructurado en tres capítulos, además de Introducción, Conclusiones, Recomendaciones, Bibliografía (general y propia del autor), Agradecimientos y Glosario. Consta de 149 páginas. Se refieren 252 citas bibliográficas, de ellas el 71 % corresponden a los años 90 y posteriores. El autor ha publicado cinco artículos relacionados con el tema de tesis y ha presentado 11 trabajos en siete foros internacionales. Este trabajo además, está avalado por dos patentes, una concedida en Cuba, USA, Europa, Australia y otros países y otra solicitada en Cuba.

La introducción aborda los antecedentes, la hipótesis y los objetivos del trabajo. En el primer capítulo, se presenta una revisión bibliográfica actualizada que abarca aspectos relacionados con la cera de la caña de azúcar y los métodos de aislamiento y extracción de los AG. Se exponen tanto aspectos generales de los análisis por CG, así como los particulares de la determinación de mezclas de ácidos grasos por esta técnica y también se presenta un acápite relacionado con la validación de metodologías analíticas para la industria farmacéutica, en el que se exponen y discuten diferentes criterios encontrados en publicaciones y en las guías de validación vigentes. En el segundo capítulo se exponen los materiales empleados y las metodologías seguidas. En el tercero, se presentan los resultados y su discusión, los cuales se encuentran resumidos en 32 tablas e ilustrados por 13 figuras.

Entre los nuevos aportes al conocimiento científico del trabajo se encuentra que constituye la primera referencia en la literatura sobre la obtención de una mezcla de AG primarios de muy alto peso molecular entre $C_{24:0}$ y $C_{36:0}$ con elevada pureza, a la cual se denominó D003 que presenta efectos farmacológicos promisorios en el manejo de las enfermedades de origen aterotrombótico. Además, se desarrollaron y validaron metodologías analíticas, tanto para la materia prima como para su forma terminada, que igualmente constituyen un aporte científico al ser las primeras metodologías para la determinación de estos trece AG con la precisión y exactitud requeridas por la industria farmacéutica actual.

Por otra parte, el hecho de que esta mezcla se obtenga de una fuente natural abundante en Cuba y como un subproducto de la Industria Azucarera, ubica este trabajo dentro de la búsqueda de renglones que permiten favorecer el desarrollo sostenido de la economía del país a través de la obtención de productos que disminuyan importaciones y/o puedan ser exportables.

Los resultados de este trabajo permitieron contar con un nuevo producto de origen natural, cuyos estudios farmacológicos han probado que presenta promisorios efectos como hipolipemiente, antiagregante plaquetario y antioxidante, que justificarían su uso en enfermedades aterotrombóticas, como alternativa a la terapia actual con policosanol. El producto ya se encuentra en fase II de estudios clínicos encaminados en esta dirección. Los resultados y la ausencia de toxicidad comprobada en los estudios de toxicidad realizados (aguda, subcrónica y crónica en roedores y no roedores, genotoxicidad y teratogénesis) hasta este momento sustentan las hipótesis planteadas. Para llegar a esta fase, el desarrollo de la Química Farmacéutica del D003 objeto de esta tesis, ha sido una base exigida y lograda con el objetivo de garantizar la identidad, pureza y control de la calidad de este producto.