

EFFECTO ANTIOXIDANTE DE LA VITAMINA E EN LA ESTABILIDAD QUÍMICA DE LIPOSOMAS MULTILAMINARES PORTADORES DE ACETÓNIDO DE TRIAMCINOLONA

Beatriz Clares Naveros y M^a del Mar Medina Pérez

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada

Introducción

El acetónido de triamcinolona, corticosteroide de amplio espectro con acción antiinflamatoria, antialérgica y antipruriginosa, posee problemas de efectividad debido a limitaciones en la dosis administrada, hasta valores inferiores en muchos casos a la dosis terapéutica, con el fin de reducir los efectos adversos (concentraciones sanguíneas); ello puede dar lugar a dosis insuficientes de principio activo en el lugar de acción (dermis y epidermis).

Por ello, se ha investigado su inclusión en liposomas multilaminares, con el fin de mejorar la biodisponibilidad del fármaco y facilitar su penetración a través de las diferentes barreras anatomofisiológicas, prolongando su dosis efectiva en el lugar de acción.

En principio, los liposomas son estables; sin embargo su conservación es compleja. Desde el punto de vista químico, los fosfolípidos de los liposomas pueden autooxidarse. Esta peroxidación lipídica puede verse favorecida por la presencia de metales, luz y pH elevado, o inhibida por agentes quelantes (EDTA) y antioxidantes (HUNT y TSANG, 1981)(1) (Fukuzawa y cols., 1998)(2).

El objeto de la presente investigación se centra en la evaluación de la influencia de un antioxidante, dl- α tocoferol, en la estabilidad química de vesículas lipídicas portadoras de acetónido de triamcinolona. El estudio de estabilidad se realiza durante 90 días incorporando vitamina E en solución acuosa coloidal a los liposomas ensayados y

conservando las muestras a temperatura ambiente y temperatura de refrigeración, protegidas de la acción de la luz

Material y Métodos

Para el estudio de la estabilidad se han elaborado dos series de muestras, que difieren en la incorporación o no del antioxidante. Cada serie consta de seis formulaciones diferentes de liposomas multilaminares portadores de acetónido de triamcinolona (AT), cuya constitución, proporciones molares y cantidades de cada componente figuran en las tablas I y II.

Tabla I. Composición de las formulaciones (F) de liposomas elaboradas con fosfatidilcolina.

F Nº	PROPORCION MOLAR PC: AT	mg/ 100ml	
		PC	AT
1	1 : 1	181.15	100.0
2	2 : 1	362.30	100.0
3	3 : 1	543.45	100.0

PC: Fosfatidilcolina

AT: Acetónido de Triamcinolona

Tabla II. Composición de las formulaciones (F) de liposomas elaboradas con fosfatidilcolina y colesterol.

F Nº	PROPORCION MOLAR PC: CH: AT	mg/ 100ml		
		PC	CH	AT
4	1 : 0.5 : 1	181.15	44.46	100.0
5	2 : 1 : 1	362.30	88.92	100.0
6	3 : 1.5 : 1	543.45	133.3	100.0

PC: Fosfatidilcolina

AT: Acetónido de Triamcinolona

CH: Colesterol

82 VI Congreso SEFIG y 3^{as} Jornadas TF

La técnica utilizada para la elaboración ha sido la descrita por Bangham y cols. (1974)(3), previamente normalizada en nuestro laboratorio. El método consiste en la hidratación de una película lipídica obtenida al evaporar al vacío el cloroformo en el que se encontraban solubilizados los componentes de la pared liposomal. Para la hidratación se utilizó agua destilada, obteniéndose una suspensión de liposomas en el exceso de solución acuosa. En dicha fase acuosa se adiciona la vitamina E a una concentración de 10 moles%. El acetónido de triamcinolona, dada su solubilidad se localizará en la matriz lipídica de los liposomas y la vitamina E en el espacio acuoso central.

Las formulaciones ensayadas corresponden a las integradas por α -fosfatidilcolina (PC) de huevo fresco y acetónido de triamcinolona, en proporciones molares 1:1, 2:1, 3:1, y a las elaboradas con fosfatidilcolina, colesterol (CH) y principio activo en relación molar 1:0.5:1, 2:1:1 y 3:1.5:1. En estas tres últimas la concentración de esteroles es del 50% con respecto al fosfolípido, y en todas ellas, la concentración de sustancia activa permanece constante e igual a 0,230 mmoles/100ml. Cada una de las fórmulas estudiadas se mantiene a temperatura ambiente (20-25 °C) y a temperatura de refrigeración (4-6°C), protegidas de la luz. El periodo de estudio ha sido de 90 días, determinándose a intervalos de 15 días la liberación o pérdida de agente captado por parte de las vesículas lipídicas. Para ello, se procede, a la separación del principio activo retenido del resto libre mediante centrifugación durante 10 minutos a 1000 rpm. La fracción libre se valora por espectrofotometría ultravioleta a 239nm, determinándose la concentración de acetónido de triamcinolona no encapsulado.

Resultados y discusión

Cada 15 días, durante los 3 meses de estudio, se ha calculado el porcentaje de corticoide retenido por los diferentes liposomas elaborados. Por diferencia entre el tanto por ciento captado en el día 0 y el evaluado en día sucesivos, se determina el porcentaje de agente liberado o perdido por las vesículas lipídicas, y, en consecuencia, su mayor o menor estabilidad a lo

largo del tiempo. Las medias aritméticas de dichos valores se recopilan en los cuadros III a VI, para cada fórmula, serie y temperatura ensayada. La Serie I corresponde a las formulaciones sin antioxidante y Serie II corresponde a las formulaciones con vitamina E. Los resultados ponen de manifiesto la influencia de la temperatura de conservación sobre la estabilidad del sistema, de tal manera que los liposomas de ambas series, mantenidos a temperatura de refrigeración (4-6°C), poseen una estabilidad mayor que las muestras a temperatura ambiente (20-25°C).

Tabla III. Porcentaje de AT perdido a 4°C para la Serie I

	F	1	4	2	5	3	6
Días	0	0	0	0	0	0	0
	15	4.88	0	3.10	0.44	5.78	0.44
	30	4.88	0	3.10	0.44	6.22	0.89
	45	4.88	0	5.32	0.89	6.22	4.43
	60	6.65	0.89	5.77	0.89	7.55	8.2
	75	6.65	0.89	6.20	0.89	7.55	9.76
	90	21.72	3.55	11.1	8.87	11.54	9.76

Tabla IV. Porcentaje de AT perdido a 25°C para la Serie I.

	F	1	4	2	5	3	6
Días	0	0	0	0	0	0	0
	15	0.45	0	1.34	0	0	2.21
	30	1.33	0	4	4.43	13.31	4.87
	45	2.22	0.44	4.44	6.21	17.74	7.98
	60	4.44	0.44	5.77	7.98	17.74	12.85
	75	6.66	0.44	6.66	8.86	19.96	15.96
	90	9.32	1.77	13.31	8.86	22.18	20.39

Tabla V. Porcentaje de AT perdido a 4°C para la Serie I.

	F	1	4	2	5	3	6
Días	0	0	0	0	0	0	0
	15	1.78	1.77	2.22	2.66	0.89	2.66
	30	3.11	3.99	4.44	4.43	17.74	6.21
	45	3.99	4.44	4.44	8.86	22.18	8.43
	60	5.32	4.44	8.87	10.20	26.62	15.08
	75	7.10	4.44	11.97	11.97	26.62	19.50
	90	11.80	4.44	15.97	15.08	31.05	23.95

Tabla VI. Porcentaje de AT perdido a 25°C para la Serie II.

	F	1	4	2	5	3	6
Días	0	0	0	0	0	0	0
	15	5.77	0.89	2.66	0.45	8.41	0.87
	30	5.77	1.33	2.66	0.9	8.41	1.31
	45	7.1	2.22	2.66	0.9	8.87	2.2
	60	11.53	2.22	4.43	0.9	10.2	3.53
	75	15.52	2.22	6.21	2.67	10.64	5.3
	90	21.73	4.88	9.31	8.43	10.64	7.52

Además de las condiciones de conservación, se ha comprobado como la presencia de colesterol en la bicapa lipídica afecta a la estabilidad del sistema. Al igual que en trabajos anteriores (Clares y Medina, 2001) (4), las muestras de ambas series (con y sin antioxidante) en cuya composición se incluye colesterol dan lugar a una pérdida de acetónido de triamcinolona menor que el resto de fórmulas. Probablemente se deba al efecto cementante ejercido por dicho esteroles sobre las bicapas liposomiales, que se traduce en una disminución de la permeabilidad. Dicho efecto ha sido comprobado por otros autores (Kunikazu, 2000) (5).

Con respecto a la presencia de vitamina E en la composición del liposoma, los porcentajes de agente perdido o liberado por las vesículas fueron sensiblemente inferiores en las muestras refrigeradas de la Serie II (con antioxidante), en comparación con la Serie I, a excepción de las fórmulas 2 y 5, donde los valores determinados fueron similares. Los datos obtenidos corroboran el efecto estabilizador que sobre la estructura del

liposoma puede ejercer la vitamina E, al impedir o reducir la peroxidación de los lípidos que constituyen la pared del liposoma.

Destaca la fórmula refrigerada y sin vitamina E, 1:1 con pérdidas del 21.72% (figura 1) frente a idéntica muestra con antioxidante, donde las pérdidas fueron del 9.32% (figura 2), sensiblemente inferiores.

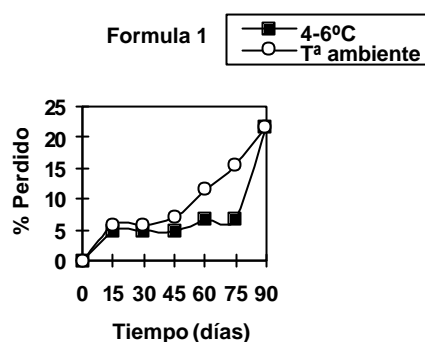


Figura 1. Representación gráfica del % de AT liberado (Serie I)

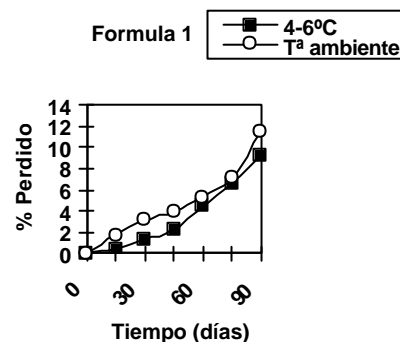


Figura 2. Representación gráfica del % de AT liberado (Serie II)

Bibliografía

- HUNT, C. A. y TSANG, S. α -Tocopherol Retards Autoxidation and Prolongs the Shelf I life of Liposomes Int. J. Pharm., 8, 101-110 (1981).
- FUKUZAWA, K., INOKAMI, Y., TOKUMURA, A., SUZUKI, A. Rate constants for quenching singlet and activities for inhibiting lipid peroxidation of caretenoids and alpha-tocopherol in liposomes. Lipids, 33, 751-756 (1998).
- BANGHAM, A. D. HILL M.W. y MILLER N.G.A. Preparation and use of liposomes as models of

84 VI Congreso SEFIG y 3^{as} Jornadas TF

- biological membranes In " Methods in membrane biology ", publié par Korn E.D. Plenum Press, New York, 1,1-68 (1974).
4. CLARES, B. y MEDINA, M. M. V Congreso de la Sociedad Española de Farmacia Industrial y Galénica (SEFIG), 127 Valencia 2001: Liposomas Multilaminares Portadores de Acetónido de Triamcinolona: Elaboración y Caracterización.
 5. KUNIKAZU, M., KAZUO, M., y MOTOHARU, I. Spectroscopic investigation of the molecular state of nystatin encapsulated in liposomes. Int. J. Pharm., 15, 201(1): 37-49 (2000).

Autor de contacto

M^a del Mar Medina Pérez y Beatriz Clares

mdelmar@ugr.es

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia.

Campus Universitario de la Cartuja s/n

18071- Granada

Telf: 958-243900/01

Fax: 958-248958