

ESTUDIO DE PERMEACION Y METABOLISMO DE ACETATO DE α -TOCOFEROL A PARTIR DE GELES COSMÉTICOS

Muñoz de Benavides, María¹, Ruíz Martínez, M^a Adolfin^a, Gallardo Lara, Visitación¹, Santi, Patrizia², Nicoli, Sara²

¹Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. Campus de Cartuja. 18071 Granada

²Depto. Farmacéutico. Facultad de Farmacia. Universidad de Parma. (Italia)

Introducción

Diversas afecciones cutáneas pueden implicar la formación de radicales libres: enfermedades autoinmunes, tumores, dermatitis irritativas y alérgicas, psoriasis, inflamaciones en general, acné y rosácea, dermatitis atópica, porfiria, envejecimiento cutáneo, fotoenvejecimiento (1).

La vitamina E (α -tocoferol, T) tiene una acción inhibitoria sobre los radicales libres por su efecto antioxidante (2), mejora la microcirculación cutánea y aumenta la resistencia de la piel a los efectos nocivos del sol (3). Además, se ha demostrado su capacidad estabilizadora de membranas y, en particular, de aquellas que contienen ácidos grasos poliinsaturados.

Por razones de estabilidad físico-química la forma comúnmente usada del α -tocoferol es el profármaco esterificado (4); en este estudio, el acetato de α -tocoferol, AT.

Las preparaciones cosmetológicas estudiadas en este trabajo contienen un 2,0% de dicha provitamina que, en su aplicación tópica, protege a las células y tejidos del daño producido por los radicales libres generados por los procesos biológicos naturales y por el estrés oxidativo ambiental. La administración tópica de este compuesto es importante debido a los bajos niveles de T presentes en la epidermis y dermis y a su labilidad frente a la luz UV y el ozono. La ingesta oral de 300 mg de T al día no consigue incrementar de forma significativa los

niveles de T en los lípidos de membrana de la piel humana.

Se ha determinado la acumulación de AT y de su metabolito, T, en epidermis y dermis tras la aplicación de cada una de las formulaciones seleccionadas para este estudio. El método analítico de detección en HPLC-UV se validó previamente.

Materiales y Métodos

Las formulaciones ensayadas son de diversa naturaleza físico-química: oleosas o lipogeles (Tabla 1) elaborados según un método original de gelificación de aceite de oliva (5) e hidrogeles (Tabla 2).

	EC	Olivem 700	Olivem 900	AT	Aceite de oliva
L1	3%	5%	-	2%	csp 100%
L2	3%	-	5%	2%	csp 100%

Tabla 1. Composición de los lipogeles 1 y 2 de AT (L1 y L2); EC: etilcelulosa.

El AT, termolábil, se ha incorporado al lipogel previamente elaborado, a temperatura ambiente.

	TW 80	PR	PG	HEC	AT	Gel Carbopol [®]
H1	2%	-	-	-	2%	csp100%
H2	-	40 ml	20 ml	1g	2%	-

Tabla 2. Composición de los hidrogeles de AT (H1 y H2); TW 80: Tween 80, PR: 2-propanol, PG: propilenglicol, HEC, hidroxietilcelulosa (Natrosol[®]) hidratada en 40 ml de H₂O destilada, Carbopol[®] ETD 2001.

En los ensayos de permeación llevados a cabo en celdas de difusión de Franz se utilizó piel fresca extraída de oreja de conejo, para evaluar el metabolismo cutáneo así como la capacidad de permeación del AT, teniendo en cuenta las limitaciones que comporta la extrapolación de los resultados a la piel humana (6).

El compartimento receptor contuvo 4,0 ml de solución tampón fosfato de pH 7,4 con un 5% de dimetil- β -ciclodextrina (DM- β -CD) para facilitar la solubilidad del activo hidrofóbico y, en el compartimento donador, se depositó una dosis de 1 ml de formulación al 2%. La solución receptora se mantuvo en agitación magnética para evitar el efecto de saturación bajo la membrana. El tiempo de duración del ensayo fue de 4 horas, al término de las cuales se tomó una alícuota del compartimento receptor, se eliminó la formulación donadora, se desmontaron las celdas y la piel fue tratada para obtener sendas soluciones extractivas de epidermis y dermis que fueron analizadas mediante HPLC-UV, así como las alícuotas del medio receptor tomadas al tiempo final del ensayo.

Resultados y Discusión

Se ha estudiado la capacidad de permeación y el metabolismo del AT atendiendo a la diversa naturaleza físico-química de los vehículos que han sido empleados en este trabajo, ya caracterizados desde un punto de vista organoléptico y reológico por nuestro grupo de investigación en trabajos anteriores. El ensayo de permeación de L1 y L2 dio lugar a unos valores tan bajos de acumulación y permeación del AT y la vitamina que no se pueden discutir con rigor ya que se encuentran cercanos al límite de detección y cuantificación del método analítico. De hecho, apenas se ha detectado alguna señal en el análisis de los extractos de

epidermis y dermis (Figura 1). Sí, en cambio, se evidencia una cierta concentración de T en el análisis de la muestra tomada del medio receptor a las 4 horas desde el inicio del ensayo. La presencia de dicha molécula indica la metabolización sufrida por el AT en la piel por las enzimas estererasas.

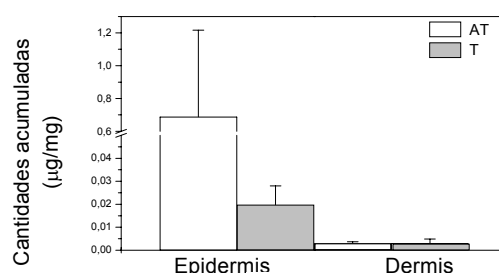


Figura 1. Acumulación de AT y T en epidermis y dermis ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tejido) tras la aplicación de la fórmula L2. Se representa la media \pm SEM de 4 réplicas.

Esta dificultad en la acumulación se podría explicar desde un punto de vista físico-químico teniendo en cuenta la elevada afinidad entre el vehículo oleoso y el activo cosmético, liposoluble. La cesión de la molécula activa se ve dificultada por la mayor apetencia hacia el vehículo que la contiene. De esta forma, los lipogeles ensayados demuestran no ser buenos vehículos del AT ya que un vehículo debe ser capaz de ceder el activo cosmético para que éste alcance el estrato córneo y se acumule en la piel llevando a cabo su efecto cosmético. Con respecto al gel de Carbopol[®] (H1) que incluye el AT con la estrategia de la combinación con TW 80 para conseguir incorporar la molécula lipofílica al gel acuoso, los resultados fueron poco favorables a la acumulación del activo en la piel. Es decir, que apenas se detectaron concentraciones eficaces de T en los dos estratos de piel estudiados. Sin embargo, el análisis del medio receptor a las 4 horas de curso

del experimento dio lugar a una cierta concentración de T, producto del metabolismo cutáneo de la provitamina. La razón que podría justificar la dificultad en la cesión del activo cosmético y, por tanto, los bajos niveles de acumulación en la piel puede ser, en este caso, la posible formación de una micela de TW 80 que incluya al AT de tal forma que impida su cesión a un medio hidrofílico -gel de carbopol-constituyendo, por tanto, un obstáculo o impedimento del contacto directo entre el activo y la piel. Esto trae como consecuencia la detección de bajos niveles de acumulación como de permeación (Figura 2).

Aún a pesar de estos valores reducidos, se mantiene la tendencia a la acumulación de ambas moléculas lipofílicas preferentemente en la epidermis que en la dermis acuosa. Asimismo, se observa el efecto del metabolismo sobre la provitamina que, al alcanzar la dermis, por acción de las enzimas estereras libera una mayor proporción de VE.

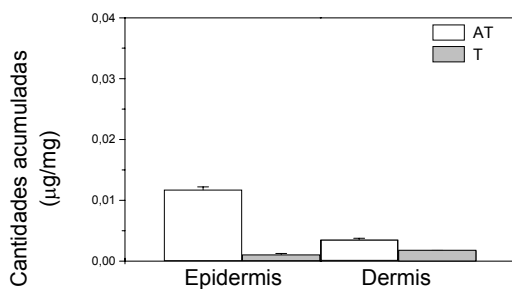


Figura 2. Acumulación de AcVE y VE en epidermis y dermis tras la aplicación de la formula Hidrogel 3 (AcVE, 2%)

Los ensayos de H2, finalmente, manifiestan la misma tendencia en cuanto a la acumulación en los estratos de la piel estudiados. La epidermis contiene tanto el derivado inalterado como T, originado por el metabolismo cutáneo del éster de acetato, siendo cuantitativamente superior la presencia

del AT. El estudio de acumulación en la dermis, hidrofílica, mostró valores inferiores a los de la epidermis expresados en cantidad de analito por peso de tejido (µg/mg) (Figura 3).

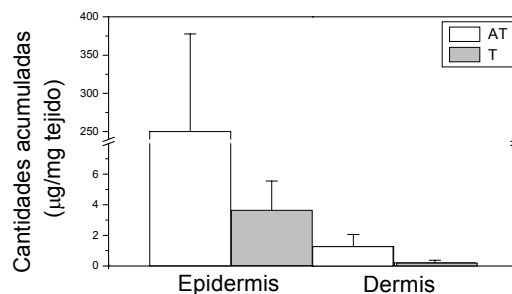


Figura 3. Acumulación de la provitamina (AT) y su metabolito activo (T) en la piel a partir de la aplicación tópica de H2.

Se ha llevado a cabo el cálculo del porcentaje de metabolismo -Extent of metabolism, E (%)- (Figura 4) de acuerdo con la ecuación propuesta por Rangarajan y Zatz (7):

$$E = \frac{VE}{VE + PV} \%$$

donde VE es α -tocoferol y PV representa el derivado de α -tocoferol acumulado en la piel (dermis y epidermis).

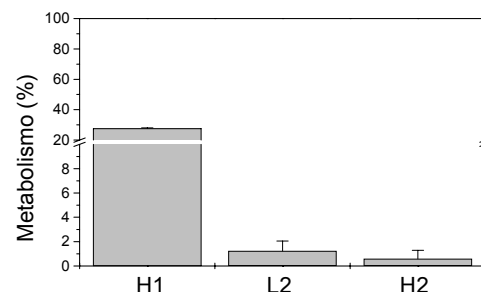


Figura 4. Porcentaje de metabolismo (E, Extent of Metabolism, %) de las formulaciones H1, H2 y L2 a t=4h de comienzo del ensayo. Cada valor es la media \pm SEM de 3 a 6 experimentos.

La fórmula que dio lugar a un mayor porcentaje de metabolismo fue H1 aunque, teniendo en cuenta los bajos niveles de acumulación en los estratos cutáneos, no resulta significativo. Una cantidad tan pequeña de provitamina permite suponer que las enzimas esterases se encuentran disponibles para recibir al sustrato que, de esta forma, resulta metabolizado en un porcentaje mayor que cuando se produce un fenómeno de acumulación de la provitamina cuantitativamente más elevado con la consiguiente saturación enzimática. Tal es el caso de H2 que, dando lugar a niveles de acumulación más elevados, sin embargo presenta un porcentaje de metabolismo muy bajo.

Bibliografía

1. Hallywell, B. Reactive oxygen species in pathology with special reference to the skin. En: Fuchs, J., Packer, L., Oxidative Stress in Dermatology. Marcel Dekker Inc, 3-11 New York (1993)
2. Wolf, R., Wolf, D., Ruocco, V. Vitamin E: the radical protector. Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology, 10 (2), 103 (1998)
3. Hernandez, M., Mercier-Fresnel, M.M. Les vitamines. Les oligo-éléments. En: Dossier de l'esthétique cosmétique. Préparation aux examens d'Etat. Maloine; 256. Paris (1988)
4. Rangarajan, M., Zatz, J.L. Skin delivery of vitamin E. Journal of Cosmetic Science, 50 (4); 249 (1999)
5. Ruiz, MA, Muñoz, M., Morales, M.E. y col Influence of gelling agent on the rheological characteristics of oleogels, Il Farmaco, 58, 1289 (2003)
6. Ostacolo, C., Marra, F., Laneri, S. y col α -Tocopherol pro-vitamins: synthesis, hydrolysis and accumulation in rabbit ear skin. Journal of Controlled Release, 99; 403-413 (2004).
7. Rangarajan, M., Zatz, J.L. Effect of formulation on the delivery and metabolism of α -tocopheryl acetate. J. Cosmet. Sci., 52: 225 (2001)

Autor de contacto:

María Muñoz de Benavides

mmunoz@ugr.es

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

Campus de Cartuja

18071 Granada

Telf.: 958243900/ 02

Fax: 958248958