

ESTUDIO DE ABSORCIÓN PERCUTÁNEA DE ÁCIDO RETINOICO Y RETINOL FORMULADOS EN GELES DE HIDROXIPROPIL CELULOSA

María Magdalena Jiménez Soriano; María José Fresno Contreras

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Alcalá, E-28871-Alcalá de Henares (Madrid), España.

Resumen

El objetivo del estudio fue evaluar la absorción percutánea del ácido *all-trans* retinoico - AR - y del retinol - ROL - en un gel similar que contenía 0,1% de ácido *all-trans* retinoico - AR - o 1% de retinol - ROL -. Los resultados indican que el - AR - y - ROL - tienen una distribución similar después de la aplicación local de gel. Desde luego, los componentes activos se retienen principalmente en la epidermis y el riesgo sistémico de absorción parece ser limitado a las dosis ensayadas. Estos aspectos resultan beneficiosos para el uso tópico común del - AR - y - ROL -, que ejercen su actividad sobre la piel y presentan toxicidad sistémica y teratogenicidad.

Abstract

The purpose of the study was to evaluate cutaneous penetration of *all-trans* retinoic acid - RA - and retinal - ROL - with a similar gel contained 0.1 % *all-trans* retinoic acid - RA - or 1 % retinal - ROL -. The results indicate that - RA - and - ROL - have a similar distribution after topical application of gel. Indeed, active components are mainly retained in the epidermis and systemic absorption risk seems to be limited at tested doses. These features are beneficial for common topical use of - RA - and - ROL -, which exert activity on skin and present systemic toxicity, notably teratogenicity.

Introducción

Los Retinoides conforman una clase de compuestos de gran interés (1). Ejercen efectos

farmacológicos notables a nivel cutáneo sobre la proliferación y diferenciación celular. Han demostrado su eficacia en la administración local y se utilizan ampliamente en el tratamiento de diversos desórdenes cutáneos. Tanto el ácido *all-trans* retinoico (AR) como su precursor metabólico retinol (ROL), se utilizan en el tratamiento local del acné y en los productos cosméticos antienvjecimiento. Sin embargo, estos compuestos a nivel sistémico, pueden provocar importantes efectos adversos entre los que se encuentran su elevada toxicidad y teratogenicidad; de ahí que muchos estudios estén dirigidos a evaluar la absorción percutánea de los retinoides (2-4).

El objetivo del trabajo fue por tanto evaluar la absorción percutánea del ácido *all-trans* retinoico (AR) y del retinol (ROL) en geles.

Materiales y Métodos

Preparación de los geles

Se elaboraron geles con 0,1 % de ácido *all-trans* retinoico - AR - (SIGMA Chem. Co, St. Louis, USA) o 1 % de retinol - ROL - (SIGMA Chem. Co, St. Louis, USA) en vehículos de 95 % etanol (Panreac Química SA, Barcelona, España), agua, hidroxipropil celulosa (Guinama, Valencia, España) y 0,1 % de Butil hidroxitolueno (BHT, Guinama, Valencia, España). Se evaluó su estabilidad en condiciones aceleradas (24 horas a 32 °C y 15 días a 40 °C) y antes de cada ensayo almacenadas 24 días a 4 °C.

Preparación de la piel

Las muestras de piel procedían del abdomen de ratas sin pelo con edades comprendidas entre 3 y 6 meses. Los animales se sacrifican por decapitación, la piel de la zona abdominal se retira cuidadosamente mediante cirugía. La piel se limpió, y la grasa subcutánea se eliminó. A continuación, las muestras de piel se lavaron con lauril sulfato sódico al 1 % p/p (lado epidérmico) y éter (lado dérmico), y después con agua bidestilada. La integridad de las muestras de piel se evaluó por un método físico, Pérdida de agua transepidérmica – TEWL - (Tewameter® TM 210). Antes de la medida, la sonda se ubicó sobre la piel durante 2 minutos a fin de estabilizar sus sensores. Se midió la pérdida de agua transepidérmicas en las muestras de piel durante 1 minuto (media \pm desviación estándar, SD, $\text{g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$). Quisiéramos indicar que las muestras que dieron un TEWL de más de $15\text{ g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$ se eliminaron. El espesor de la piel se determinó utilizando un medidor del espesor (Mitutoyo, Japón, 0,01-10 mm). Los discos de piel - $2,54\text{ cm}^2$ - se almacenaron a $-20\text{ }^\circ\text{C}$ hasta su uso (5).

Preparación de las células de difusión

Las muestras de piel se montaron en células de difusión - $2,54\text{ cm}^2$ y 10 ml - de forma que el lado dérmico se expuso al fluido receptor – FR - y el estrato córneo – EC - al aire (condiciones no oclusivas).

El fluido receptor consistió en una mezcla de isopropanol y agua (30:70, v/v).

Los geles se aplicaron a una dosis de $8\text{ mg}/\text{cm}^2$ formando una película perfectamente extendida. Las células se llenaron con 10 ml de fluido receptor y se pusieron en un baño termostático de agitación horizontal para asegurar la homogeneidad del - FR - y el mantenimiento de la temperatura de la piel en $32,0 \pm 0,1\text{ }^\circ\text{C}$. Los ensayos se realizaron por sextuplicado.

Ensayo in vitro de absorción percutánea

Después de un tiempo de exposición de 1, 6 y 24 horas, se tomaron muestras del fluido receptor (FR), dermis (D) y epidermis (E). El fluido receptor – FR - se retiró y la epidermis – E - se

separó de la dermis – D - de forma mecánica con la ayuda de pinzas, previa inmersión de la muestra en agua a $60\text{ }^\circ\text{C}$ durante 45 segundos.

Extracción y dosificación de los Retinoides

Para la cuantificación de los retinoides en los geles y la piel - E, D y FR - se desarrolló y validó un método analítico directo y muy sensible. Los retinoides se extrajeron con IPP más 0,05 % BHT. Las determinaciones se realizan en un *Cromatógrafo HPLC* (System Gold® Beckman Ltd.), equipado con un *detector UV* de longitud de onda variable (Detector 166) y un sistema de dos bombas de presión en paralelo (Solvent Module 125); columna Genesis C18 - $4\text{ }\mu\text{m}$, $150 \times 4,6\text{ mm}$ -. La fase móvil filtrada – $0,45\text{ }\mu\text{m}$ - consistió en una mezcla metanol:agua con 1% ácido acético (85:15 v/v) a una velocidad de 1 ml/min; detección a 340 nm.

Análisis estadístico

Los resultados se analizaron con el software Prismas®. La diferencia en las concentraciones de retinoides en el fluido receptor, dermis y epidermis para cada fórmula se comparó por un t-test. Una $P < 0,05$ se consideró estadísticamente significativa (6).

Resultados y Discusión

Estabilidad de los retinoides en los geles

Las concentraciones de ácido all-*trans* retinoico – AR - y retinol - ROL - fueron 0,112 % y 1,039 %, respectivamente. Los resultados bajo condiciones aceleradas muestran que ambos geles resultaron relativamente estables a las condiciones experimentales - 24 h y $32\text{ }^\circ\text{C}$ – (Tabla 1). Las concentraciones de retinoides se verificaron también antes de cada ensayo de absorción percutánea (Tabla 2).

Tabla 1. Estabilidad de los retinoides.

	1h 32°C	6h 32°C	24h 32°C	15d 40°C
AR	0,124 %	0,117 %	0,095 %	0,104 %
ROL	1,015 %	1,012 %	1,006 %	0,012 %

Tabla 2. Concentración de retinoides a 4°C.

	1 d	7 d	15 d	24 d
AR	0,112 %	0,107 %	0,117 %	0,119 %
ROL	1,039 %	0,961 %	0,948 %	0,926 %

Ensayo de absorción percutánea

Los resultados indican que la mayor parte de los retinoides - AR o ROL -, se detectaron en la epidermis. Estas cantidades disminuyen a las 24 horas, pero la disminución del - ROL - fue más brusca que la del - AR - (Figura 1).

En la dermis se detectó una cantidad inferior de retinoides (Figura 2); en el caso del - ROL - la cantidad se mantuvo constante desde la primera hora, mientras que en el caso del - AR - esta cantidad aumentó a las 24 horas.

No se encontraron en ninguno de los dos casos retinoides en el fluido receptor. Por tanto, se puede decir que el estudio mostró un gradiente de concentración en la piel, con concentraciones altas de retinoides en la epidermis, y bajas cantidades en la dermis debido a su carácter lipófilo (7). Sin embargo, una parte del - ROL - desapareció de la epidermis a las 24 horas y no fue detectado en ninguna otra parte. Desde luego, resulta extraño puesto que el - ROL - no difundió a la dermis, ni se transformó en - AR -. En estudios complementarios se podría evaluar si el - ROL - se degrada o metaboliza en compuestos que se detecten a otra longitud de onda o a un tiempo de retención más largo que los utilizados en este estudio (8). En la dermis, el - AR - no alcanzó su máximo nivel rápidamente, mientras que en el caso del - ROL - la cantidad se mantuvo constante desde la primera hora, lo que lleva a pensar que el - ROL - difunde más rápido en la dermis que el - AR -. Por último, se puede decir, en función de los resultados obtenidos que tanto - AR - como - ROL - no difundieron completamente a través de la piel. Esta cuestión nos lleva a apuntar que quizás, como el - AR - ejerce su acción también sobre los folículos, una fracción del mismo podría haber tomado el sendero transfolicular (9).

Finalmente, se puede concluir que el ácido *all-trans* retinoico y el retinol tienen una distribución similar después de la aplicación local del gel. Los retinoides se retienen principalmente en la epidermis y el riesgo de absorción sistémica parece ser limitado a las dosis ensayadas. Estos aspectos resultan beneficiosos para el uso local común del ácido *all-trans* retinoico y el retinol, que ejercen su actividad sobre la piel y reducen la toxicidad sistémica (10).

Figura 1. Valores relativos de difusión en epidermis.

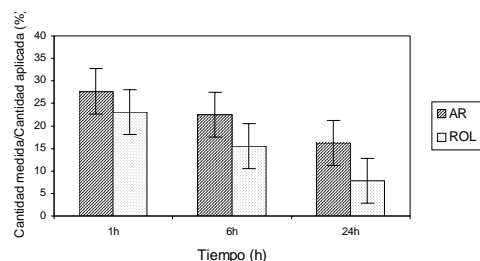
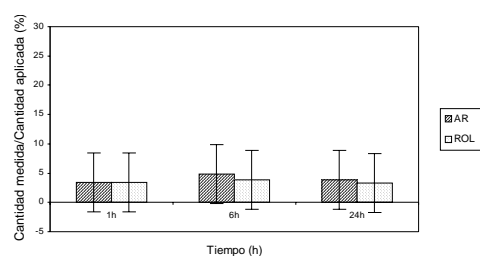


Figura 2. Valores relativos de difusión en dermis.



Bibliografía

1. Boutrand C, Estudio de absorción percutánea del ácido *all-trans* retinoico a partir de tres formulaciones galénicas. Tesis Doctoral, Lyon, 1998.
2. Chandraratna RA, Current research and future developments in retinoids: oral and topical agents, *Cutis*, 61, 40, (1998).
3. Barua AB, Furr HC, Properties of retinoids. Structure, handling, and preparation, *Mol Biotechnol*, 10, 167, (1998).
4. Keller KL, Fenske NA, Uses of vitamins A, C and E and related compounds in dermatology: a review, *J Am Acad Dermatol*, 39, 11, (1998).
5. Kurul E, Hekimoglu S, Skin permeation of two different benzophenone derivatives from various vehicles, *Int J Cosmet Sci*, 23, 211, (2001).
6. Brand RM, Mueller C, Transdermal penetration of atrazine, alachlor, and trifluralin: effect of formulation, *Toxicol Sci*, 68, 18, (2002).
7. Schaefer H, Penetration and percutaneous absorption of topical retinoids, *Skin Pharmacol*, 6, 3, (1993).
8. Rössler B, Kreuter J, Ross G, Effect of collagen microparticles on the stability of retinol and its absorption into hairless mouse skin in vitro, *Pharmazie*, 49, 175, (1994).
9. Buchan P, Eckhoff C, Caron D, Nau H, Shroot B, Schaefer H, Repeated topical administration of *all-trans*-retinoic acid and plasma levels of retinoic acids in humans, *J Am Acad Dermatol*, 30, 428, (1994).

10. Ries G, Hess R, Retinol: safety considerations for its use in cosmetic products, J Toxicol Cut and Ocular Toxicol, 18, 169, (1999).

Este trabajo se encuentra dentro del proyecto de investigación (UAH PI 2003/020) financiado por la Universidad de Alcalá.

Autor de contacto:

Nombre y apellidos María Magdalena Jiménez Soriano

e-mail magdalena.jimenez@uah.es

Institución Facultad Farmacia, Universidad de Alcalá

Dirección Dpto. de Farmacia y Tecnología

Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Alcalá, E-28871-Alcalá de Henares (Madrid)

Ciudad Alcalá de Henares (Madrid)

Tel.: 91 885 5105

Fax: 91 885 4660