

LIBERACIÓN DE CORTICOSTEROIDES A PARTIR DE DIFERENTES BASES PARA PREPARACIONES DERMATOLÓGICAS

Bertha Pareja P.^{*}, Moisés Banarer P.^{*} y José Juárez E.^{***}

RESUMEN

En el presente trabajo se describen los métodos de evaluación que se aplican a las preparaciones dermatológicas que contienen corticosteroides y su liberación desde diferentes tipos de preparaciones (pomadas y geles), a fin de comprobar la acción antiinflamatoria de estos fármacos. Se hizo una revisión bibliográfica de los estudios acerca de los factores que inciden en la actividad de los preparados, referentes tanto al principio activo como a las formulaciones. El método experimental que demostró ser el mejor para la evaluación de la actividad antiinflamatoria de los corticoides fue el de Stripping de Ritschel, para el cual se emplearon cobayos albinos a los que se desnudo asépticamente la piel y luego aplicó las preparaciones.

INTRODUCCIÓN

Los criterios para juzgar la calidad terapéutica de los preparados dermatológicos, han variado profundamente durante los últimos años. No es suficiente considerar la homogeneidad, flujo, aspecto externo, facilidad de aplicación y eliminación como únicos factores de aceptabilidad, sino que se dá igual o mayor importancia a la liberación y la biodisponibilidad de los principios activos a partir de determinado tipo de base.

Estos conceptos han surgido como consecuencia del mejor conocimiento de la estructura y funciones de la piel, considerada no solamente como una mera cubierta o barrera física que aísla y protege al cuerpo de las agresiones del medio que lo rodea, sino que se han determinado sus múltiples funciones y el papel que desempeña cada uno de los estratos que la componen, en los procesos de sorción y excreción en cada una de sus partes. Los avances de la química han explicado la importancia que tiene la estructura química sobre las propiedades de los compuestos empleados en el tratamiento de los procesos patológicos de la piel, permitiendo que hoy sea posible elegir los principios activos adecuados, en su forma química más conveniente según sea la vía de administración, así como la profundidad de la penetración y el efecto deseado.

Si, además consideramos que la piel es el órgano más extenso y diferenciado del cuerpo humano, nos daremos cuenta de la importancia que revisten estos conocimientos para relacionarlos en la formulación de preparados dermatológicos.

GENERALIDADES

Si comparamos el diseño de fórmula de un producto de empleo dermatológico con los de otros, por ejemplo de administración peroral, veremos que los aspectos experimentales, especialmente en la etapa de los estudios farmacológicos, son sumamente

* Profesor Emérito de la U.N.M.S.M.

** Ex Profesor del Dpto. de Farmacotecnia. U.N.M.S. M.

*** Profesor del Departamento de Farmacotecnia. U.N.M.S.M.

difíciles ya que no existe en la escala zoológica ningún animal cuya piel sea similar a la del hombre lo que hace que gran parte del trabajo deba realizarse en voluntarios, con diferencias fisiológicas, patológicas y aún factores raciales que dificultan la interpretación de los resultados.

Todas estas consideraciones nos hicieron pensar que sería interesante y de utilidad práctica revisar los métodos de evaluación actualmente empleados en el juzgamiento de la calidad de ungüentos, cremas y pomadas y proponer un método fácilmente reproducible y relativamente simple que permita eliminar el mayor número de factores de error dando resultados válidos en el control rutinario de calidad.

Para nuestro estudio elegimos el grupo de corticosteroides por ser los principios activos más empleados en el tratamiento de los procesos inflamatorios de la piel, por ser entidades químicas de estructura bien conocida y porque la literatura al respecto es abundante.

El tratamiento de la mayoría de las afecciones inflamatorias de la piel ha sufrido una verdadera revolución desde el descubrimiento de la hidrocortisona y su posterior introducción en Dermatología. Los excelentes resultados obtenidos en el tratamiento de numerosas dermatosis con preparaciones conteniendo corticosteroides constituyen la demostración de su efectividad. Sin embargo, las significativas diferencias observadas en cuanto a su efectividad clínica se hacen cada día más evidentes demostrando de esta manera la influencia que tienen sobre la liberación del mismo principio activo diferentes factores relacionados con la formulación.

En efecto, si el principio activo es, por sus propiedades, responsable del efecto curativo de las afecciones cutáneas, la elección del excipiente no puede ser independiente de la respuesta terapéutica y por lo tanto debe ser considerado como agente coadyuvante que también participa en el tratamiento. Es un hecho conocido que según la naturaleza del vehículo, este puede facilitar o inhibir la absorción transepidermal de un principio activo permitiéndole ejercer únicamente un efecto meramente "superficial".

En el presente trabajo revisamos en primer término los diferentes métodos utilizados para evaluar la actividad cutánea de los corticoides contenidos en las preparaciones dermatológicas así como los factores que influyen la liberación y penetración de los mismos y en segundo término, en la parte experimental, aplicamos un nuevo método, muy novedoso, basado en una simple técnica fotográfica, que permite apreciar la forma objetiva los resultados obtenidos en las pruebas de actividad del acetato de hidrocortisona, eliminando numerosos factores de error, ofreciendo mayor reproductibilidad.

I. REVISIÓN DE LOS MÉTODOS DE EVALUACIÓN

A. IN VITRO

1. Determinación de la cinética de difusión a través de una membrana.

Este método permite evaluar la capacidad de un vehículo de liberar el principio activo en condiciones experimentales. Si el principio activo se encuentra en **solución**, la liberación se llevará a cabo de acuerdo a la ley de Fick o sea en función a la gradiente de concentración. En caso de que el principio activo se encuentre en **suspensión** este deberá

primero disolverse antes de ser liberado, por lo tanto estará regido por la ecuación de Noyes - Whitney.

$$\frac{dQ}{dt} = \frac{(P) \times D \cdot S \times (C_2 - C_1)}{E} \quad \text{Eq. de Fick}$$

$$\frac{dQ}{dt} = K \cdot S (C - C_1) \quad \text{Eq. de Noyes - Whitney}$$

Los métodos descritos en la literatura (Tablas N°s. 1 - 2) están basados en modelos que utilizan una membrana (celofán, celulosa, siliconas, etc.) cuya polaridad puede ser variable o en modelos que utilizan piel aislada que si bien constituye un medio más real, tienen el inconveniente de que se emplea ya sea piel fresca o congelada cuya permeabilidad está alterada; de otro lado, para que el estudio tenga mayor validez, debería utilizarse siempre muestras de piel idénticas para todos los ensayos, cosa que resulta imposible.

El segundo subgrupo está comprendido por los modelos que no emplean una membrana de difusión y que se basan principalmente en el coeficiente de participación del corticoide entre dos fluidos, un tampón cuyo pH es similar al de la piel y un vehículo lipídico como el miristato de isopropilo, al cual se le han atribuido propiedades similares a la piel.

2. Cultivo de Fibroblastos

Este método es particularmente útil para la comparación de la actividad de diversos corticoides. Los fibroblastos son células germinativas que participan en los procesos de cicatrización así como en las manifestaciones de defensa ante la inflamación. Bajo la influencia de los corticoides se pueden observar cambios morfológicos en los fibroblastos como desintegración del citoplasma y el núcleo así como la inhibición de la motilidad y multiplicación. Por lo tanto, la efectividad local de los corticoides puede ser correlacionada cuantitativamente con la disminución en el crecimiento de las células presentes en el cultivo inicial.

B.- IN VIVO

De los ensayos utilizados para apreciar la actividad de los preparados dermatológicos, los utilizados para determinar la actividad de los corticoides tópicos son los más elaborados y sofisticados, presentan de manera general la ventaja de poder correlacionarlos con los ensayos clínicos. Estos métodos son:

1. Empleo de trazadores radiactivos.- Varios autores han determinado con la ayuda de estas sustancias que la cantidad de corticoide absorbido que llega a la circulación sistemática no es proporcional a su eficacia local, en segundo lugar, el objeto de la terapia local es alcanzar una mayor persistencia del efecto "in situ", por lo que muchos autores prefieren determinar la radioactividad presente a nivel de la piel para evaluar la actividad de los preparados a base de corticoides.
2. Prueba de la vaso - constricción.- Este es un método semi-cuantitativo que requiere de un equipo especializado de alta precisión y cuyos resultados son difíciles de

aplicar en preparaciones dermatológicas ya que la respuesta es determinada sobre una base puramente subjetiva.

Hay algunas variaciones a esta determinación del diámetro de la zona de vasoconstricción que consisten en el empleo de espectrofotometría de reflexión que hace uso de un rayo luminoso filtrado a través de un medio correspondiente a la hemoglobina, y la determinación espectrofotométrica del rayo reflejado.

La termometría diferencial utiliza la termografía, de tal modo que la menor temperatura de la piel en la cual se ha producido la vasoconstricción puede ser visualizada por medio de un tipo especial de radiografía. También han sido utilizados con este propósito termosondas y cristales líquidos.

Otra variante la constituye la determinación de la microcirculación mediante el xenón radiactivo. Este gas puede atravesar los tejidos cutáneos intactos y una vez lograda la perfusión con el gas, se determina el tiempo de depuración de xenón; las curvas exponenciales obtenidas permiten calcular el flujo sanguíneo subcutáneo.

3. Inhibición de un proceso inflamatorio experimental

La actividad antiinflamatoria de los corticoides puede ser evaluada mediante la determinación de la inhibición de una "inflamación aséptica" o experimental, la cual puede lograrse de diferentes maneras como por ejemplo:

3a. Empleo de irritantes primarias: Estos son sustancias que tienen la propiedad de generar un eritema sobre las superficies a las cuales son aplicados. La actividad de los corticoides puede ser cuantificada en base a su capacidad para reducir o inhibir la inflamación producida. Entre los irritantes primarios más usados podemos mencionar los siguientes: ácido nítrico, aceite de mostaza, alcohol tetrahidrofurfurílico, aceite de croton, kerosene o petróleo, 6-cloro-2,4-dinitrobenceno y radiaciones ultravioleta.

El empleo de estos agentes, sin embargo, ocasiona el efecto de inflamación "no fisiológica" y por lo tanto no son las que de manera general deben ser tratadas por los preparados dermatológicos en cuestión.

3b. Método de Stripping.- Consiste en "desnudar" progresivamente, con ayuda de cinta adhesiva, las diversas capas epidérmicas de tal modo de causar una irritación artificial y un traumatismo "normalizado". Este método, introducido inicialmente por Wolf y modificado después por Ritschel es uno de los más utilizados en la actualidad.

3c. Formación de granuloma.- Este método es útil solamente en animales de experimentación (cobayos o ratas) y consiste en la inyección subcutánea de aire (25mL) seguida de 0,65 mL de aceite de croton. La cuantificación de este método está basada en la involución del timo y la disminución de la cantidad de exudado presente.

4. Métodos diversos

Entre los ensayos que han sido utilizados con este fin se pueden mencionar las pruebas de adelgazamiento de la piel (epidermis de la cola de ratón o epidermis de

cobayo), inhibición del crecimiento del pelo, reducción de la división celular y finalmente la supresión clínica de la psoriasis.

FACTORES QUE AFECTAN LA ACTIVIDAD LOCAL DE LOS CORTICOIDES

Los resultados obtenidos mediante la aplicación de los métodos descritos anteriormente, han permitido poner en evidencia parámetros que son considerados como responsables de la actividad antiinflamatoria de los corticoides. Sin embargo es necesario insistir que si bien la actividad tópica de un corticoide depende de su estructura química y sus propiedades fisicoquímicas, es igualmente importante la formulación así como el modo de aplicación del preparado sobre la piel.

1. Factores inherentes al principio activo

1.1 Influencia de la estructura química

Tal como se conoce, las características básicas esenciales para una actividad tópica antiinflamatoria manifiesta, se encuentran presentes en la hidrocortisona. En especial se puede destacar la presencia del doble enlace C_4-C_5 , una función cetónica en posición 3, un radical hidroxilo en C_{11} y el radical 17-21 dihidroxiacetona.

Numerosos productos han sido sintetizados por introducción de radicales y grupos funcionales que refuercen la actividad, mejoren el índice terapéutico dando mejor efecto tópico y mejor efecto sistémico (Tabla N° 3 y N° 4).

Los grupos cerrados en círculo representan los lugares en los cuales la molécula de hidrocortisona ha sido modificada a fin de producir principio análogos sintéticos con diferentes propiedades fisicoquímicas que pueden ser utilizadas bajo la forma de alcohol libre, así como de éster. (21-acetato, 17-valerato).

1.2 Influencia de las propiedades fisicoquímicas

Las modificaciones químicas producen cambios en las características fisicoquímicas, solubilidad y coeficiente de partición. En cuanto a la solubilidad, cuanto más soluble es un corticoide en agua, menor es su eficacia y potencia, ésta es la razón por la cual los corticoides modernos presentan moléculas fuertemente sustituidas, menos polares y menos solubles. En cuanto al coeficiente de partición es importante indicar que Katz y Shaikn han demostrado que el producto de la raíz cuadrada de la solubilidad molar por el coeficiente de partición éter/agua da valores similares al índice definido como e: "p.Mc Kenzie" que representa la inversa del logaritmo del 50% de la dosis efectiva (DE 50%) para lograr el efecto de vasoconstricción. Por lo tanto, cuanto más elevados sean los valores del p.McKenzie y del producto de la raíz cuadrada por el coeficiente de partición mayor será la eficacia de los corticoides.

1.3 Otros factores

Otros factores cuya importancia es significativa son el peso molecular, el tamaño de partícula y el polimorfismo.

2. Influencia de la formulación

El excipiente debe optimizar la actividad tópica del principio activo favoreciendo su liberación y/o su absorción, estos dos procesos difusionales, que deben ser estudiados conjuntamente ya que constituyen eventos consecutivos interdependientes e íntimamente ligados.

Es posible controlar la velocidad de liberación de un corticoide a partir de un excipiente, regulando ya sea la concentración total del principio activo en la base o controlando la solubilidad o el coeficiente de difusión del mismo.

Así mismo debe prestarse atención a las interacciones entre el corticoide y la base, esto puede controlarse mediante la combinación de la constante de difusión, el coeficiente de partición, y la concentración de principio activo en la base.

PARTE EXPERIMENTAL

MATERIAL Y MÉTODOS

- Si bien el ideal habría sido trabajar en piel humana, pensamos que para el control de calidad rutinario el trabajo en cobayos es más factible, siempre que se mantenga constante la raza y otras características del animal.
- En la presente investigación se emplearon cobayos albinos "Dunkin Harstley" de 400 - 500 g de peso. El método operatorio fue el siguiente:
- Cortar y depilar el pelo a ambos lados de la columna vertebral en un área 5 x 11 cm, 12 horas antes del experimento (depilatorio comercial no mas de 10 min. Para evitar irritación.
- Producción experimental de eritema en uno de los lados depilados (cubrir el otro con tela negra para que sirva de control) por exposición de 90 segundos a una luz U.V. colocada a 10 cm de distancia del animal.

Después de 5 horas se observó y fotografió la zona irritada.

- Aplicación de las pomadas: se dividió la zona afectada en tres partes y colocó con la ayuda de una espátula 200 mg del preparado (diferentes preparaciones en cada animal) y se mantuvo durante 25 min, se retiró con la ayuda de una espátula la crema, limpió con algodón hidrófilo y se observó los resultados; proceso que se repitió por tres veces.

EVALUACION DE LOS RESULTADOS

La disminución de la irritación fue evaluada por comparación con la superficie no irritada, primero visualmente de acuerdo a la siguiente escala:

PIEL NORMAL	PIEL IRRITADA	COLOR DE LA SUPERF. TRATADA CON LA PREPARACIÓN	RESULTADO	PORCENTAJE DE EFICACIA
Rosado pálido	Rojo	Igual color que la piel irritada	0	0
		Ligera mejora	+	25
		Mejora significativa	++	50
		Muy buena mejora	+++	75
		Ninguna diferencia con la piel normal	++++	100
		Más rojo que la piel irritada	-	-25

Luego se fotografió en las condiciones siguientes:

Film Kodrachrome II Tipo A

Luz artificial 40 ASA, velocidad 1/30 segundos

Iluminación 600 vatios (4 lámparas de 150 watts)

Distancia entre la piel y el objetivo: 6 cm.

Después del revelado de las películas o diapositivas, se tomó una muestra circular (6mm de diámetro) de cada uno y colocar cada disco en 2 mL de ácido acético concentrado durante 2 horas. El color así disuelto es apreciada espectrofotométricamente a 540 nm con ayuda de una escala ampliada. Para ello el cero del aparato se ajustó a la coloración eluída de la película obtenida de la piel intacta y normal antes de la irritación. La densidad óptica obtenida con la coloración óptica de la película de la piel irritada corresponde al 100% de irritación y, las densidades ópticas de las eluciones de las muestras de piel irritada a diferentes tiempos son comparadas en función de este valor de 100%. La diferencia obtenida indica el porcentaje de mejora expresado en porcentaje a semejanza de la determinación visual.

Los promedios de mejora en función del tiempo se grafican en papel milimetrado y se calculan las áreas bajo la curva para luego calcular la biodisponibilidad tópica.

CONCLUSIONES

1. Se propone un nuevo método para la evaluación de los preparados tópicos.
2. El fundamento del método es la disminución de la irritación la cual se aprecia visualmente y luego fotográficamente.
3. El método es bastante exacto aunque necesita equipo especial y personal entrenado.

TABLA Nº 1. MODELOS DE DIFUSIÓN CON MEMBRANAS UTILIZADAS PARA SIMULAR LA TRANSFERENCIA CUTÁNEA

AUTORES	REFERENCIA	SUSTANCIAS ESTUDIADAS	MEDIO	MEMBRANA	MEDIO DE DIFUSIÓN
Stoughton y Coll	137	Hidrocortisona	Soluciones acuosas de sulfóxido.	Piel humana aislada	Solución salina Fisiológica
Colman y Coll	34	Acetonido de Fluocinolona, Fluocinomida	Solución de Propilen glicol. Miristato de isopropilo, isopropanol	Piel humana aislada	Solución isotónica del Sódico
Poulsen B.J.	110	Acetonido de Fluocinolona Fluocinomida	Pomada	Piel humana aislada	Solución salina fisiológica
Polano M.K. Ponec M.	106	Acetonico de triamcinolona 17-butilato de hidrocortisona	Pomadas y cremas	Piel humana aislada	Solución salina fisiológica
Ponec M. Polano M.K.	107	17-butilato de Hidrocortisona	Solución alcohólica cremas	Piel humana aislada	Solución salina fisiológica
Ponec M.	108	17-butilato de hidrocortisona	Cremas, geles alcohólicos, solución alcohólica, pomadas	Piel humana aislada	Solución salina fisiológica

TABLA Nº 2. MODELOS DE DIFUSIÓN SIN MEMBRANA UTILIZADOS PARA SIMULAR TRANSFERENCIA CUTÁNEA

AUTORES	REFERENCIA	SUSTANCIAS ESTUDIADAS	PREPARACIÓN GALÉNICA	MEDIO DE DIFUSIÓN
Dempski.	38	Dexametasona	Pomada	Agua
Poulsen y Coll.	109	Acetonido de fluocinolona, Fluocinomida	Geles acuosos	Miristato de Isopropilo
Poulsen B.J.	110	Acetonico de Fluocinolona	Pomadas	Miristato de isopropilo
Coll J.	36	Fluocinomida	Geles	Miristato de isopropilo
Gillet-Vander Bruggen.	56	Hidrocortisona	Gel Alcohólico	Miristato de Isopropilo
Moes-Henschel Jaminet.	94	Dexametasona 17-valerato de Betametasona 21-acetato de fluprednolideno	Gel acuoso	Miristato de Isopropilo
Hernández y Coll.	64	Flupamesona Fluprednolideno Formocortal	Pomadas	Miristato de isopropilo

TABLA Nº 3. PARALELISMO ENTRE LOS MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD LOCAL DE CORTICOSTEROIDES

Corticosteroides	In vitro		In vivo		Confirmación
	Fibroblastos	Efecto vasoconstrictor cutáneo	Efecto antigranulomatoso	Involución	Evaluación clínica tópica
Hidrocortisona	1	1	2	1	1
Prednisolona	1,7	3,4	2,7	4	2
Dexametasona	7,5	38	104	47 a 83	10
Parametasona	11,31	-	63,6	45,1	-
Acetónido de Triamcinolona	56	-	48,5	37,7	40
Acetónido de Fluocinolona	440	-	446	263	160

TABLA Nº 4: MODIFICACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA TÓPICA Y GENERAL POR INTRODUCCIÓN DE NUEVOS GRUPOS EN EL ANILLO ESTIRENO

CORTICOSTEROIDES	ACTIVIDAD TÓPICA	ACTIVIDAD GENERAL	NUEVOS GRUPOS
Hidrocortisona	1	1	
Prednisolona	1-2	4	Doble unión C1
Triamcinolona	1	5	= C ₁ -C ₂ -Fen9-OH en 16
Triamcinolona acetónido	10	-	Idem + Acetónido C ₁₆ -C ₁₇
Fluormetolona	40	1-2	= C ₁ -C ₂ -CH ₃ en 6-F en 9- Pérdida de OH en C ₂₁

TABLA Nº 5: GELES

Nº	EXCIPIENTES	AGUA	pH
1	Polímero carboxivinílico de muy alto peso molecular (A) 1 g Glicerina 20 g Alcohol 95° 15 g Trietanolamina csp pH	62 g	6,5
2	Carbopol 934 1 g Trietanolamina csp pH	97 g	6,5
3	Carbopol 934 1 g Glicerina 20 g Alcohol 951° 15 g Trietanolamina csp 1pH	62 g	7,8
4	Carbopol 934 1 g Trietanolamina csp pH	97 g	7,8
5	Carbopol 934 1 g Trietanolamina csp pH	97 g	4,1
6	Carboximetilcelulosa De Na (B) 2,5	97,5 g	7,4

(A) Carbopol 934 BF Goodrich Chemical Company

(B) Dehydazol FS22 Dehydaz

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Coll-Colomer J. Cuartero F. Beaus R. y Vericat Cadesas F. Influencia de las variaciones en el excipiente sobre la liberación *in vitro* y la Biodisponibilidad de un nuevo corticoesteroide formulado en gel tópico. Congreso Nacional de Biofarmacia y Farmacocinetica Barcelona. Mayo de 1975.
2. Fernández M. J. Sánchez Morcillo J. y Selles E. Biodisponibilidad de corticoides fluorados en preparaciones semisolidas. Segundo Congreso Nacional de Biofarmacia y Farmacocinetica. Madrid. Mayo de 1977.
3. Ritschel W. Deut Apoth. Ker, Ztg 108: 1029-1968.
4. Malkinson F. D. Permeability of Stratum Corneum in the epidermis Academic Press-London 1964.
5. Colman M. F. Pulsen B. J. and Higuchi T. Enhancement of the percutaneous absorption by the use of volatile-non volatile systems as vehicles. P. Pharm. Sci. 1963-58 Lo 90-1102.
6. W. A. Ritschel. Kitzmiller and Serracino. Inclott. Rev. Can. Biol. Vol. 32. 1973.
7. Ponck M. Penetration of corticosteroids through the skin in relation to the vehicle. Dermatologica 1976. 152 suppl, 1-37-46.

Nota.- Los autores agradecen al Dr. W.A. Ritschel por sus sugerencias y comunicaciones personales referentes a la técnica aplicada en la parte experimental del trabajo.

"Mi único interés es aclarar fenómenos nuevos, ¡y qué feliz se siente el investigador cuando el éxito final de sus esfuerzos lleva el gozo a su corazón!"...

"Quizá creáis que van a absorberme las preocupaciones materiales y que me van a alejar de la química experimental. ¡En modo alguno! ¡Esta noble ciencia es mi ideal!"

Carl Wilhelm Scheele