

NANOVESÍCULAS BIOMIMÉTICAS: TECNOLOGÍA MÉDICA PARA GENERAR COSMÉTICOS DE ALTA EFICACIA

Los liposomas son nanovesículas que se llevan empleando desde la década de los 80 para distintas aplicaciones. Destaca, fundamentalmente, su uso en medicina para la protección y liberación de fármacos en una diana terapéutica (*drug delivery*).

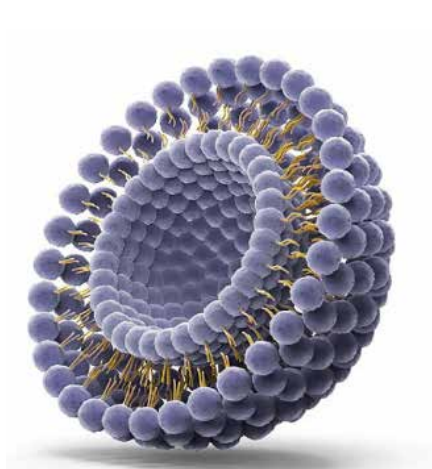


REBECA ALONSO BARTOLOMÉ

**directora científica de
INdermal-Nanovex
Biotechnologies**

Nanovex Biotechnologies es una empresa especializada en el desarrollo de nanovesículas en el campo de la medicina. En concreto, las ha desarrollado para la encapsulación de todo tipo de compuestos y, además, realiza multitud de modificaciones en dichos sistemas, como modificaciones superficiales agregando anticuerpos u otras proteínas para liberación en diana, marcajes fluorescentes para el seguimiento "in vivo", sistemas capaces de liberar el compuesto encapsulado bajo determinadas condiciones de pH o temperatura o sistemas específicos para cruzar la barrera hematoencefálica o la piel, entre otros.

Es para esta última aplicación donde Nanovex ha creado un sistema específico para aplicaciones dermocosméticas, basado en las nanovesículas desarrolladas para aplicaciones médicas. Dicho sistema debe ser capaz de proteger, vehicular y liberar activos en las capas diana de la piel con la máxima eficacia. De esta manera, se crea la marca INdermal, que desarrolla sistemas inteligentes e innovadores basados en la tecnología 'drug delivery' para aplicaciones cosméticas.



Las innovaciones de nuestros sistemas están fundamentadas en tres pilares: formulación, proceso de obtención y caracterización. Dentro de la formulación, todos los compuestos empleados son de grado farmacéutico, y únicamente se emplean fosfolípidos con más de un 95% de pureza. Además, se usan distintos estabilizantes y compuestos para asemejar la membrana del liposoma a la membrana de las células epidérmicas, obteniendo de esta manera sistemas biomiméticos. A su vez, nuestras fórmulas contienen diversos compuestos que facilitan la liberación del activo encapsulado en el estrato diana.

Nuestro proceso de fabricación está dividido en varias etapas para garantizar

que los liposomas obtenidos tienen unas características óptimas de empaquetamiento, flexibilidad, estabilidad, tamaño, distribución, potencial-Z, morfología, concentración, lamellaridad y eficacia de encapsulación.

Por último, nuestras instalaciones cuentan con tecnología avanzada para la caracterización de nanovesículas. Técnicas como, por ejemplo, DLS, M3-PALS, NTA o TEM nos permiten determinar todos los parámetros relativos a los liposomas, tanto en nuestros productos como en los productos cosméticos que los contienen.

Como ejemplo de los procesos de caracterización a los que sometemos a nuestros productos, presentamos los datos obtenidos para uno de nuestros productos más destacados: LIPO-RETINOL, basado en palmitato de retinol encapsulado en el interior de nuestros liposomas.

CARACTERIZACIÓN DEL PRODUCTO

Para una correcta caracterización del producto, se determinaron los siguientes parámetros:

- Tamaño medio
- Distribución de tamaños
- Potencial-Z
- Concentración de liposomas

TAMAÑO MEDIO

Para la determinación del tamaño medio de los liposomas se empleó tanto la técnica Dynamic Light Scattering (DLS) como la Nanoparticle Track Analysis, con los equipos Zetasizer Nano ZS-90 y Nanosight LM-10 respectivamente. Las muestras fueron diluidas en agua ultra-pura para una correcta determinación.

En la técnica DLS, el equipo analiza los tamaños mediante la determinación de la intensidad de la luz dispersada (gráfica de intensidad – tamaño). Esta medida, en ocasiones, no refleja el valor real del tamaño de las partículas, ya que en la medida por intensidad el equipo otorga mayor representación a partículas grandes (por dispersar luz con mayor intensidad). Para tener una representación real, es necesario representar los

resultados en número mediante la aplicación de algoritmos (siempre y cuando la calidad de la medida lo permita).

Para la determinación por NTA es necesario una dilución previa (1:1x106) de la muestra. El equipo permite a su vez la determinación de la concentración de partículas.

ENSAYO DE LIBERACIÓN DÉRMICA

Para determinar la capacidad de penetración en piel del producto lipo-retinol, se llevó a cabo un ensayo ex vivo en celdas Franz, en el cual se comparaba la penetración y liberación en la epidermis basal del activo libre (palmitato de retinol) con respecto al activo encapsulado (lipo-retinol), a la misma concentración. Los resultados mostraron una concentración de palmitato de retinol 12,5 veces superior en

la epidermis basal cuando se empleaba el producto liposomado con respecto al libre.

El ensayo de liberación dérmica tiene como objetivo determinar la penetración, en las capas principales de la piel de interés cosmético (estrato córneo y epidermis), del activo libre y del activo encapsulado para determinar la eficacia del producto.

Para llevar a cabo el ensayo, se emplea piel de cerdo sin ningún tipo de tratamiento previo que pueda alterar las características físico-químicas de sus capas. Una muestra de piel hidratada se introduce en la celda Franz previamente termostatzada a 35 grados centígrados. Allí, la parte inferior de la piel está en contacto con suero fisiológico termostatzado a 35 grados para simular las condiciones de un ensayo in vivo.

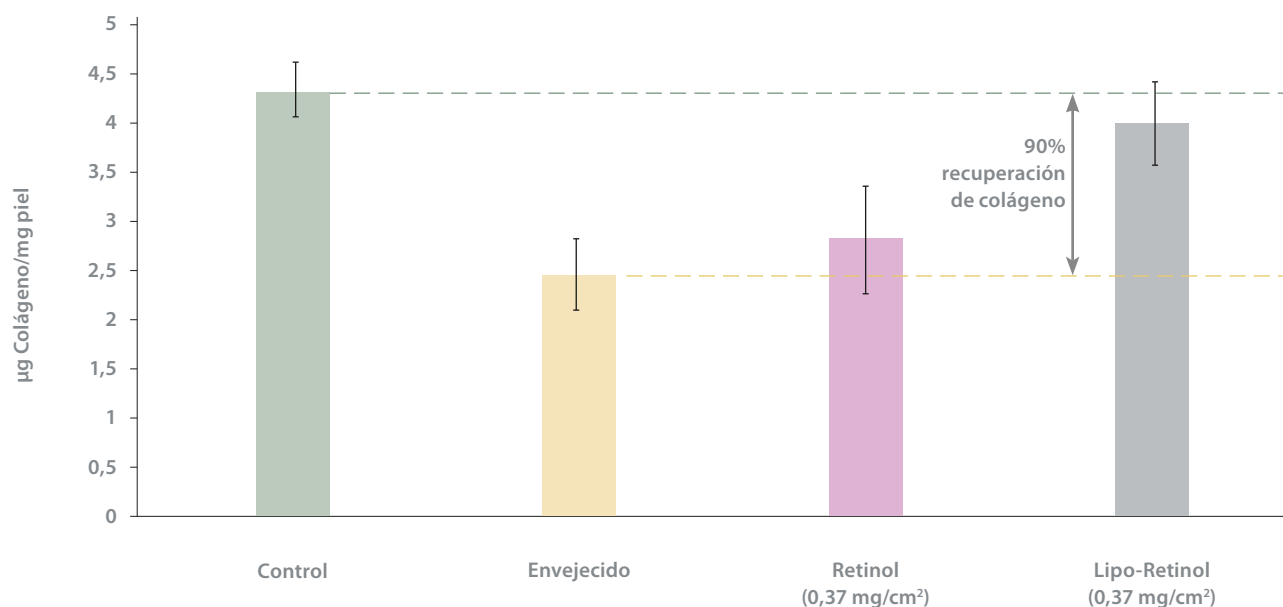


essentially exclusive

Special
Chemicals

SPECIAL CHEMICALS S.L.

www.special-chemicals.es C/Muntaner, 479 - 483 entlo. 1, 08021 Barcelona Telf: +34-93.414.70.84 Fax: +34-93.414.70.76



Una vez la piel está termostatizada e hidratada, comienza el experimento añadiendo, de forma no oclusiva, 100 µl del activo encapsulado y de una disolución del activo libre con espesantes, para que tenga una textura similar al producto objeto de estudio.

La superficie de piel en la que se realiza el ensayo tiene un área de 1 cm². El experimento se lleva a cabo por triplicado para cada muestra a analizar.

Transcurridas 8 horas, se extrae la piel y se separan las capas con la ayuda de un bisturí quirúrgico. El activo es extraído de las distintas capas mediante el empleo de disolventes y procesos de sonicación durante 30 minutos y, posteriormente, analizado mediante RP-HPLC.

Los ensayos llevados a cabo con lipo-retinol mostraban un aumento progresivo de la cantidad de retinol en las capas de la piel conforme estas son más profundas, llegando a obtener una cantidad 11 veces mayor en la capa basal de la epidermis cuando se compara el retinol encapsulado en liposomas con el retinol libre.

ENSAYO DE EFICACIA ANTIENVEJECIMIENTO DE LIPO- RETINOL

Se obtuvieron cultivos de explantes de piel organotípicos humanos (hOSEC) con el consentimiento informado de mujeres sanas de 40 a 55 años. La piel se cortó en porciones de 0,8 cm² y las muestras se colocaron con la dermis hacia abajo y la epidermis hacia arriba, en placas de cultivo que contenían medio DMEM con antibióticos. Los cultivos se incubaron durante 48 horas, a 37 °C, bajo 5% de CO₂ para la recuperación antes del inicio del estudio.

Se llevaron a cabo cuatro réplicas de cada grupo experimental y se realizó un experimento independiente.

Para imitar el envejecimiento de la piel se administró hidrocortisona a una concentración de 5 µg/ml. Al mismo tiempo, los productos de prueba se administraron tópicamente a una concentración de 0,37 mg de activo/cm² durante 7 días no consecutivos, como se detalla en la figura 1. Los productos de prueba y la hidrocortisona estuvieron en contacto con la piel durante todo el estudio.

Finalmente se disgregó el tejido y se determinó colorimétricamente la cantidad de colágeno en cada una de las muestras. Para ello, las pieles fueron procesadas y se determinó la cantidad de colágeno respecto a peso de explante. El colágeno cuantificado se expresó como µg de colágeno por mg de piel.

Como resultado del ensayo se pudo concluir que los explantes de piel tratados con hidrocortisona mostraron una clara reducción en el contenido de colágeno soluble en comparación con los controles no tratados. El tratamiento de la piel envejecida con lipo-retinol condujo a un aumento significativo en los niveles de colágeno en comparación con la piel envejecida, mientras que la piel tratada con retinol presentó valores de colágeno similar a los de la piel envejecida. Estos resultados sugieren que la aplicación tópica de lipo-retinol durante 7 días no consecutivos condujo a mejorar la capacidad de la piel para evitar los efectos de la hidrocortisona, generando un claro aumento en la producción de colágeno en muestras de piel humana estresadas con hidrocortisona ◀◀