

Vehiculación del fármaco antifúngico clotrimazol en liposomas

Usach Iris *, Martínez Paula, Peris José Esteban

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica y Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad de Valencia, España.

*Correspondencia: iris.usach@uv.es

1. Introducción

Las infecciones fúngicas de la piel son patologías de carácter benigno frecuentes en la práctica clínica. Diferentes tipos de hongos son los agentes causales de este tipo de infecciones, siendo *Candida albicans* uno de los más habituales. El tratamiento usual de la candidiasis superficial consiste en la utilización de antifúngicos pertenecientes al grupo de los azoles. A este respecto, las preparaciones tópicas de clotrimazol se consideran efectivas y con buena tolerancia cutánea [1].

A lo largo de las últimas décadas, se han publicado diversos estudios destinados a mejorar la eficacia antifúngica del clotrimazol tras su aplicación tópica. Así, formulaciones de nanoemulsiones, etosomas o vesículas híbridas estructuradas en tres dimensiones han mostrado una mejoría en la actividad antifúngica en comparación con el preparado comercial de referencia, Canesten® [2, 3]. En este sentido, el objetivo principal del presente trabajo ha sido la formulación de liposomas de clotrimazol y el estudio de su efecto frente a *C. albicans*, utilizando como referencia Canesten®.

2. Materiales y métodos

2.1. Preparación de los liposomas

Los liposomas se prepararon con 50 mg de fosfolipón 90G y 0,25 ml de una disolución de clotrimazol (10 mg/ml) en DMSO. La mezcla se hidrató con 4,25 ml de agua y se sometió a la acción de un desintegrador ultrasónico de alta intensidad

durante 2 ciclos de 1,5 minutos cada uno (5 segundos “encendido” y 2 segundos “apagado”, 60 % de amplitud). La concentración de clotrimazol en la mezcla final fue de 0,5 mg/ml.

2.2. Caracterización de los liposomas

La formación de las vesículas liposomales y su morfología se evaluaron mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM). El diámetro medio (DM), el potencial zeta (PZ) y el índice de polidispersión (IP) se obtuvieron con un equipo Malvern Nano ZS Zetasizer.

2.3. Estudio antimicrobiano

El estudio antimicrobiano consistió en la evaluación de las curvas de crecimiento de *C. albicans* en presencia de diferentes formulaciones de clotrimazol. Para ello, se utilizaron viales que contenían 500 µl de clotrimazol en dispersión acuosa, liposomas o Canesten®. La concentración de clotrimazol fue, en todos los casos, 100 µg/ml. Seguidamente, se adicionó a los viales 500 µl de inóculo de *C. albicans* (1-5 x 10⁴ UFC/ml), por lo que la concentración de clotrimazol en el medio final fue de 50 µg/ml. Además, se preparó un control de crecimiento positivo, en ausencia de clotrimazol, y se evaluó el efecto de los liposomas vacíos (sin clotrimazol) en la curva de crecimiento. Los viales se incubaron a 36 °C, tomándose muestras a diferentes tiempos prefijados (9, 24, 33 y 48 h). Las muestras se sembraron en placas Petri con agar dextrosa Sabouraud (SDA) y se incubaron a 36 °C durante 48 h. Después de este periodo, se realizó el recuento de las colonias observadas.

3. Resultados y Discusión

3.1. Preparación y caracterización de liposomas

Tanto los liposomas cargados con fármaco como los vacíos presentaron una estructura multilaminar. Además, los cargados presentaron una forma ligeramente esférica, mientras que los vacíos fueron más irregulares (Fig. 1).

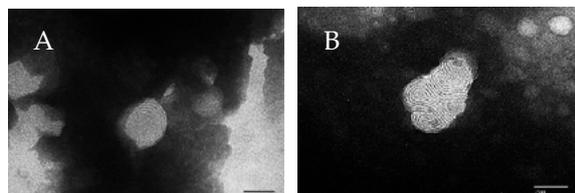


Fig. 1. Micrografía de TEM de liposomas cargados con clotrimazol (A) y liposomas vacíos (B). Las barras corresponden a 50 nm.

La caracterización de los liposomas mostró un ligero aumento, no significativo, en el tamaño promedio de los liposomas al incorporar el fármaco, de 90,6 nm a 102,2 nm (Tabla 1). Además, el valor de IP indicó cierta homogeneidad del sistema. Sin embargo, no puede predecirse una gran estabilidad física de los liposomas formulados, ya que el valor de PZ no se situó fuera del intervalo +30 a -30 mV, que es lo requerido habitualmente para predecir una buena estabilidad física [4].

Tabla 1. Potencial Z (PZ), diámetro medio (DM) e índice de polidispersión (IP) de liposomas vacíos y cargados con clotrimazol. Media ± D.E., n=6.

Muestra	DM (nm)	IP	PZ (mV)
Liposomas vacíos	90,6 ± 4,8	0,30 ± 0,01	-4,32 ± 0,89
Liposomas con clotrimazol	102,2 ± 12,4	0,32 ± 0,04	0,07 ± 0,03
P*	NS	NS	P < 0,001

*Significación estadística (prueba ANOVA).

NS: No significativo.

3.2. Curvas de crecimiento de *C. albicans*

Las curvas de crecimiento de *C. albicans* en presencia de los distintos preparados de clotrimazol ensayados se muestran en la figura 2.

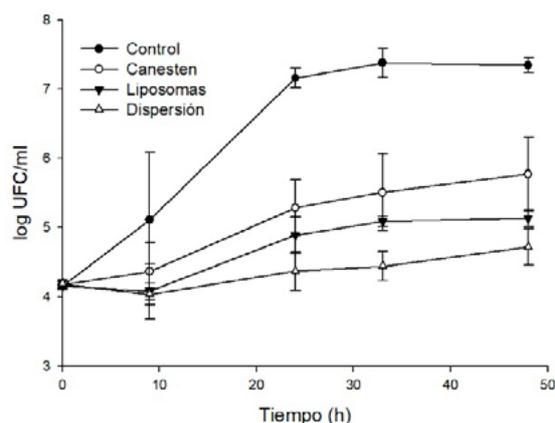


Fig. 2. Curvas de crecimiento de *C. albicans* obtenidas en ausencia (control) y en presencia de diferentes formulaciones de clotrimazol (50 µg/ml). Media ± D.E., n=6.

Los liposomas dieron lugar a una mayor inhibición del crecimiento de *C. albicans* que el Canesten®, aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas. La mayor inhibición del crecimiento se obtuvo con la dispersión del clotrimazol en el medio de cultivo. No se detectó una diferencia estadísticamente significativa entre los liposomas y la dispersión. Sin embargo, la diferencia entre la dispersión y el Canesten® sí que fue significativa.

El estudio realizado con liposomas vacíos mostró que el crecimiento de *C. albicans* no se veía afectado por los mismos (Fig. 3).

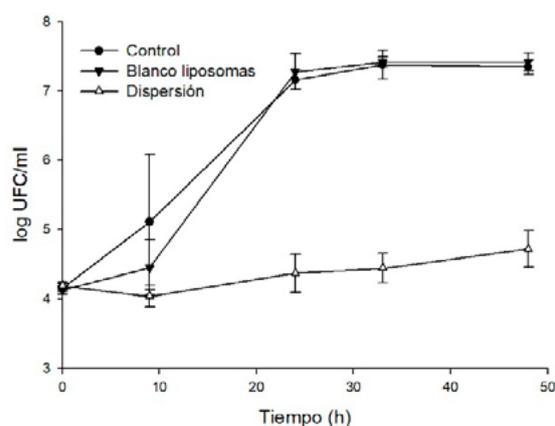


Fig. 3. Curvas de crecimiento de *C. albicans* correspondientes al control (sin clotrimazol), liposomas vacíos y dispersión de clotrimazol. Media ± D.E., n=6.

4. Conclusiones

La formulación de clotrimazol en liposomas no da lugar a un incremento significativo en la actividad antifúngica del mismo frente a *C. albicans* en comparación al producto comercial Canesten®. Sin embargo, una dispersión acuosa simple del clotrimazol puede resultar ligeramente más efectiva que el Canesten®.

Referencias bibliográficas

1. Manca ML et al. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2014;117:360-7.
2. Soriano-Ruiz JL et al. *Int J Pharm*. 2019;554:105-15.
3. Manca ML et al. *Pharmaceutics*. 2019;11(6):263.
4. Manaia EB et al. *Int J Nanomed*. 2017;12:4991–5011.

Este trabajo debe ser citado como:

Usach I, Martínez P, Peris José E. Vehiculación del fármaco antifúngico clotrimazol en liposomas. *Rev Esp Cien Farm*. 2021;2(2):256-8.