

Monitorización de la estabilidad del compuesto bioactivo oxiresveratrol encapsulado con β -ciclodextrina

Irene Conesa¹, Silvia Navarro-Orcajada¹, Adrián Matencio², Iván Muñoz-Sánchez¹, Lorena Laveda-Cano¹, Desiré Cano-Yelo¹, Francisco García-Carmona¹ & José Manuel López-Nicolás^{1*}

¹ Departamento de Bioquímica y Biología molecular-A, Facultad de Biología, Universidad de Murcia-Regional Campus de Excelencia Internacional "Campus Mare Nostrum" E-30100, Murcia, España. ² Dipartimento Di Chimica, Università di Torino, via P. Giuria 7, 10125, Torino, Italia.

*email: josemnl@um.es / tlf: +34 868 884 786



10, 11 y 12 de marzo de 2021

RESUMEN

Los estilbenos son moléculas bioactivas con una gran cantidad de propiedades beneficiosas para la salud, entre las que destacan sus aplicaciones como antioxidantes, antitumorales, antiinflamatorios o antidiabéticos entre otras. Sin embargo la baja solubilidad en agua de los estilbenos, así como su fácil degradación, dificultan que se alcancen concentraciones efectivas en los tejidos diana. Por esta razón, y con el fin de aumentar la solubilidad de estas moléculas, los complejos de inclusión de oxiresveratrol y ciclodextrinas se analizaron empleando DSC, TGA, SEM y el modelado molecular. Todas estas técnicas mostraron que la β -ciclodextrina (β -CD) era la mejor para la formación de los complejos.

La estabilidad del oxiresveratrol libre y complejo con β -CD en disoluciones acuosas (pH 3,73 y 6,51) almacenadas en distintas condiciones de temperatura e iluminación, se monitorizó controlando las variaciones en el espectro UV-Vis, pH y °Brix. El efecto de la encapsulación sobre la actividad antioxidante también fue analizado. Los resultados mostraron que las disoluciones eran estables, al menos, durante 5 semanas, especialmente cuando se almacenaban en oscuridad. Se conseguía aumentar la concentración de oxiresveratrol en la disolución, y la capacidad antioxidante de la misma.

INTRODUCCIÓN

Los estilbenos son un grupo de compuestos fenólicos que se localizan en las uvas, el vino, bayas y algunos frutos. Se trata de moléculas bioactivas con numerosas propiedades beneficiosas para la salud, entre las que destacan sus aplicaciones como antioxidantes, antitumorales, antiinflamatorios, antimicrobianos, antidiabéticos o neuroprotectores. Sin embargo, los estilbenos presentan una baja solubilidad en agua y una fácil degradación, lo que puede dificultar que se alcancen las concentraciones efectivas en los tejidos diana.

Las ciclodextrinas (CDs) tienen forma de anillo tronco cónico y están formadas por moléculas de glucosa unidas por enlaces α -(1,4)-glucósidos. La cavidad interior es altamente hidrofóbica, mientras que la superficie exterior es hidrofílica. Esto les otorga la capacidad de encapsular moléculas hidrofóbicas, formando complejos de inclusión, que son más solubles que la propia molécula no encapsulada. Hay 3 tipos de ciclodextrinas naturales, α -CD, β -CD y γ -CD, que se diferencian entre sí por el tamaño de la cavidad interior.

En este estudio [1], y con el fin de incrementar la solubilidad de los estilbenos, se analizaron y caracterizaron los complejos de inclusión de oxiresveratrol (*trans*-3,5,4',6'-tetrahydroxiestilbeno) con α -, β -, y γ - ciclodextrinas. También se analizó la estabilidad del oxiresveratrol y del complejo oxiresveratrol β -CD en solución acuosa a diferentes pH, así como los efectos en la actividad antioxidante de dicha encapsulación.

OBJETIVOS

- Caracterizar los complejos de inclusión de oxiresveratrol con las diferentes ciclodextrinas naturales.
- Evaluar la solubilidad y la actividad antioxidante del oxiresveratrol encapsulado con la mejor ciclodextrina.
- Analizar la estabilidad del oxiresveratrol libre o complejo con β -CD en disoluciones acuosas a distintos pH y en distintas condiciones de temperatura e iluminación.

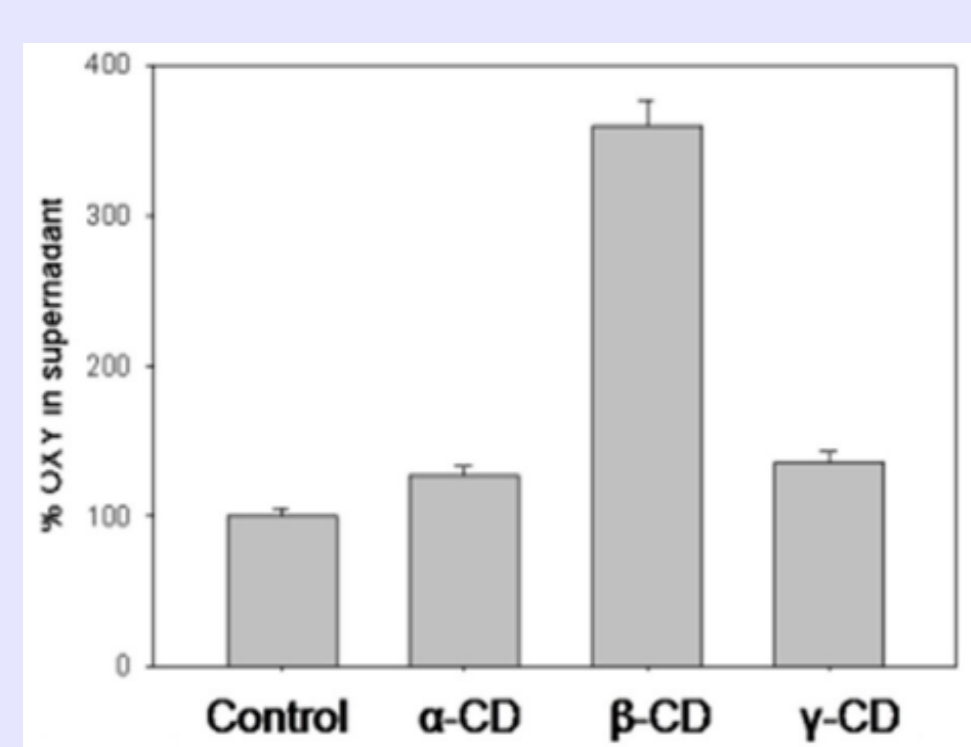


Fig. 1: Efecto de las CDs en la solubilidad del oxiresveratrol.

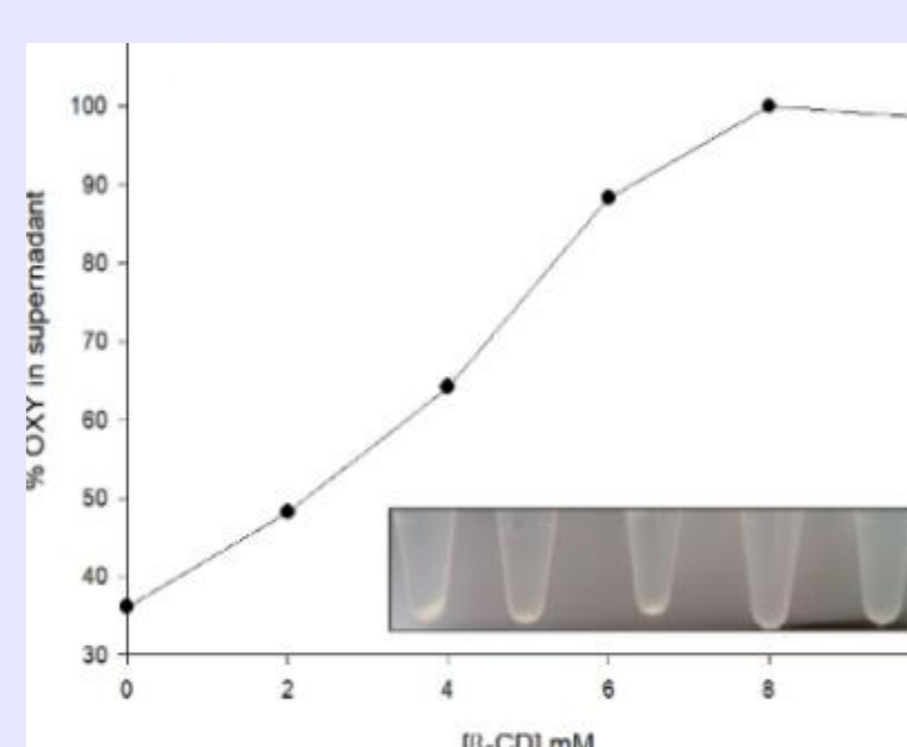


Fig. 4: Efecto de la β -CD en la solubilización del oxiresveratrol, 24h agitando a 25°C

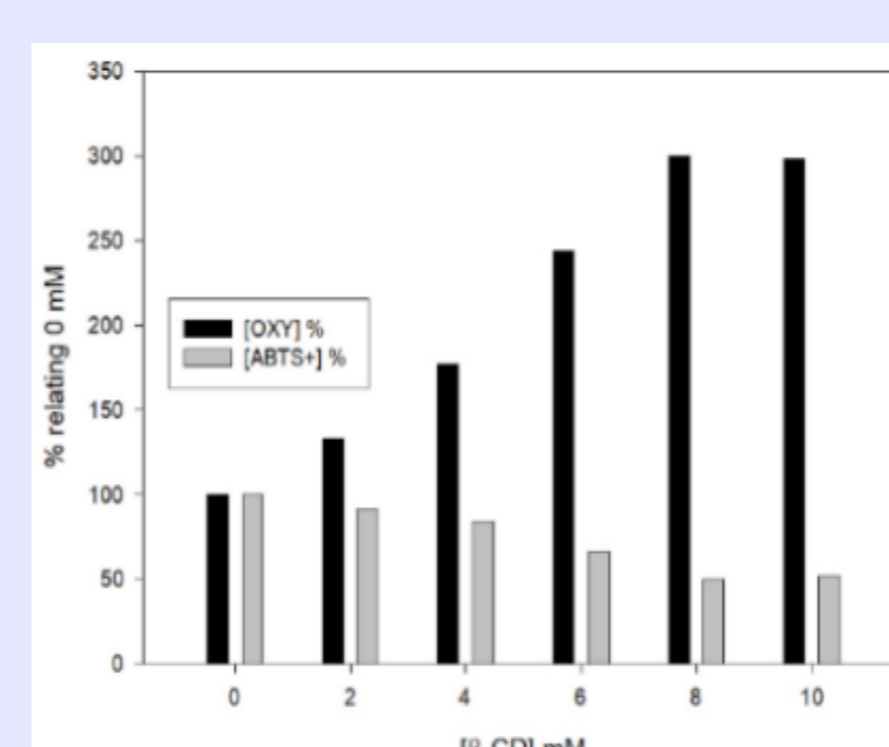


Fig. 5: Efecto del aumento de la concentración de oxiresveratrol en la actividad antioxidante.

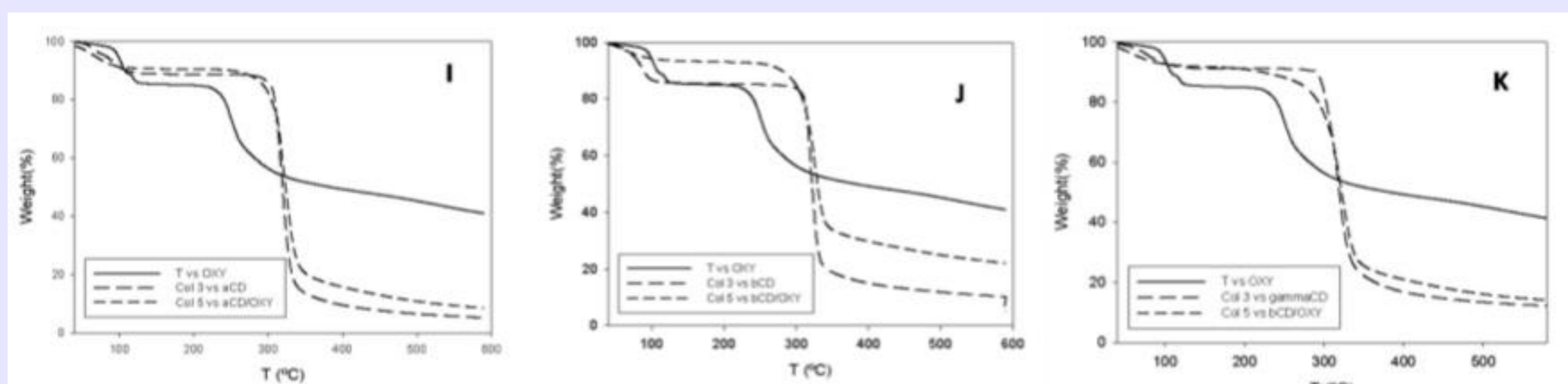


Fig. 2: TGA del oxiresveratrol con (I) α -CD, (J) β -CD y (K) γ -CD

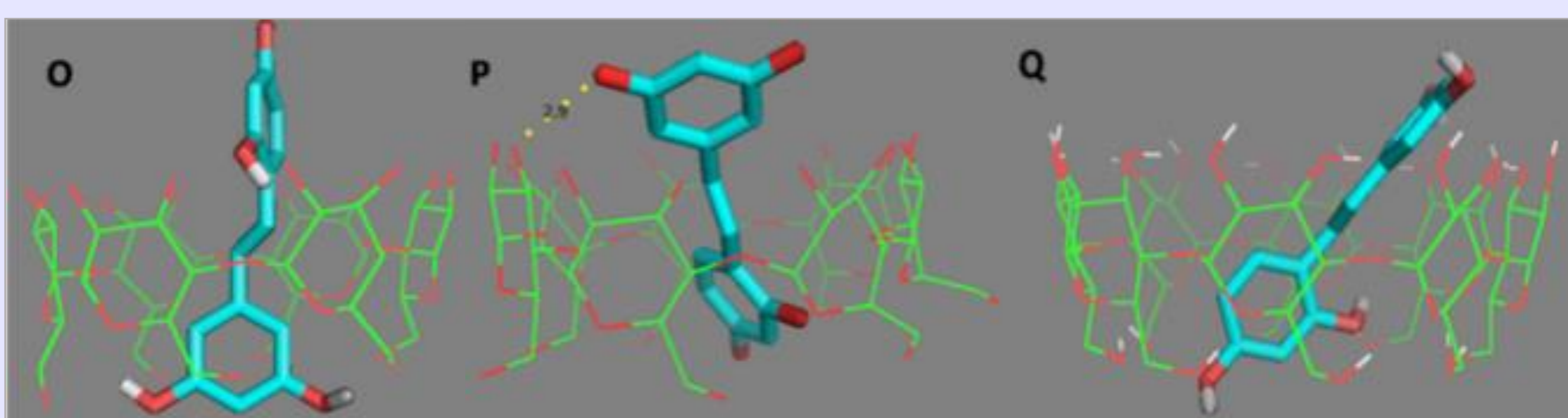


Fig. 3: Modelado molecular del oxiresveratrol con (O) α -CD, (P) β -CD y (Q) γ -CD. En amarillo los puentes de hidrógeno.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los complejos de inclusión del oxiresveratrol con las distintas ciclodextrinas se evaluaron empleando las técnicas de DSC, TGA, SEM y modelado molecular. Por otro lado, la estabilidad del oxiresveratrol libre y encapsulado en β -ciclodextrina en disoluciones acuosas (pH 3,73 y 6,51) almacenadas en distintas condiciones de temperatura e iluminación, se monitorizó controlando las variaciones en el espectro UV-Vis, pH y °Brix durante 5 semanas. La actividad antioxidante se determinó por el método ABTS.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Selección de la ciclodextrina más apropiada

Tras incubar 1mg/ml de oxiresveratrol con una concentración 8mM cada una de las ciclodextrinas naturales (α -CD, β -CD y γ -CD), se observó que la β -CD era capaz de encapsular 9,5 y 7,16 veces más que α -CD y γ -CD, respectivamente (Fig. 1). Además, los perfiles de TGA (Fig. 2) mostraron diferencias en la degradación del pico principal de oxiresveratrol con α -CD (a 319°C se perdió el 79,8% de la masa) y con β -CD (a 326°C se perdió el 71% de la masa) y con γ -CD (a 322°C se perdió el 77,7% de la masa). Los estudios de DSC confirmaron la verdadera formación de complejos de inclusión, el pico principal de degradación desaparece cuando se forman estos complejos [1].

Los análisis de SEM mostraron que la incorporación del oxiresveratrol en la cavidad de las ciclodextrinas genera cambios morfológicos, pasando de una estructura irregular a la formación de esferas regulares [1]. Los análisis de modelado molecular (Fig.3) también reafirmaron que la β -CD era la mejor CD para formar complejos con el oxiresveratrol con un score más favorable (α -CD = -5.2, β -CD = -9.1, y γ -CD = -5.2), además de estabilización a través de la formación de puentes de hidrógeno.

2. Efecto de la β -CD en la solubilidad y en la actividad antioxidante

El test de solubilidad del oxiresveratrol, en el cual la concentración de β -CD se incrementó desde 0 a 10mM a 25°C, mostró que la formación de complejos de inclusión permite la solubilización completa de una concentración de oxiresveratrol 4mM (Fig. 4). Al mismo tiempo, se observó un aumento de la actividad antioxidante a medida que la ciclodextrina solubilizaba al compuesto bioactivo (Fig. 5).

3. Estabilidad en soluciones acuosas

Los complejos se disolvieron en disoluciones acuosas a pH 3,73 y 6,51. Durante el transcurso de la investigación los valores de pH de las disoluciones preparadas se mantuvieron estables en todos los casos, y la adición de ciclodextrinas provocó un aumento del valor inicial de °Brix, aunque este parámetro también se mantuvo estable. Finalmente, la medida del espectro UV-Vis mostró que la relación entre el *trans*- y el *cis*- oxiresveratrol (absorbancia a 301 y 290nm, respectivamente) fue estable durante 5 semanas, pero solo a pH 3,73. El cálculo de la concentración restante de oxiresveratrol en las muestras puso de manifiesto una menor degradación del mismo en presencia de ciclodextrina y a pH 3,73, mientras que a pH 6,51 tanto el oxiresveratrol libre como el complejo mostraban una degradación similar. Esto podría ser debido a que la desprotonación del último pKa del ácido cítrico (6,4) favorece la oxidación del oxiresveratrol cuando hay exposición a la luz. En todos los casos, las condiciones de oscuridad y temperatura ambiente fueron las más estables para el almacenamiento.

CONCLUSIONES

La caracterización de los complejos de inclusión de oxiresveratrol con las ciclodextrinas naturales, empleando DSC, TGA, SEM y modelado molecular, mostró que la β -ciclodextrina era la CD más indicada para solubilizar oxiresveratrol. La encapsulación logró aumentar la solubilidad del oxiresveratrol, alcanzando una concentración final de 4mM, y aumentando la actividad antioxidante de la disolución. El estudio mostró que los complejos de inclusión eran estables en soluciones acuosas durante al menos 5 semanas, especialmente si se almacenaban en oscuridad, con la excepción de las muestras en disolución acuosa a pH 6,51 almacenadas a temperatura ambiente y sin proteger de la luz.

REFERENCIAS

[1] Matencio A., Navarro-Orcajada S., Conesa I., Muñoz Sánchez I., Laveda-Cano L., Cano Yelo D., García Carmona F., López Nicolás J.M. Evaluation of juice and milk "food models" fortified with oxiresveratrol and β -Cyclodextrin. Food Hydrocoll. 2020;98(105250):105250.

AGRADECIMIENTOS

Este artículo ha sido financiado por el Ministerio Español de Ciencia e Innovación, proyecto AGL2017-86526-P (MCI/ AEI/FEDER, UE) y por el Programa de Ayudas a Grupos de Excelencia de la Región de Murcia, Fundación Séneca, Agencia de Ciencia y Tecnología de la Región de Murcia(España) (Proyecto 19893/GERM/15).Este trabajo es el resultado de un contrato predoctoral para la formación de personal investigador (Silvia Navarro-Orcajada, número 21269/FPI/19) y también una ayuda postdoctoral para la formación en el extranjero (Adrián Matencio, número 21229/PD/19) ambos financiados por la Fundación Séneca (Región de Murcia, España).