

## MICROPARTICULAS BIODEGRADABLES PARA LIBERACIÓN CONTROLADA DE FÁRMACOS UTILIZADOS EN EL TRATAMIENTO DE TUBERCULOSIS

Ferrero, Francisco

*Química Fina, INTEC- (CCT CONICET Santa Fe-UNL)*

Director: Mengatto, Luciano

Codirectora: Turino, Ludmila

Área: Ciencias de la salud

Palabras claves: Liberación controlada, micropartículas, tuberculosis.

### INTRODUCCIÓN

La tuberculosis es la enfermedad infecciosa bacteriana con mayor prevalencia en el mundo. Su quimioterapia no es sencilla por la necesidad de regímenes de múltiples fármacos en forma diaria durante largos períodos de tiempo. La administración diaria se debe principalmente a los cortos tiempos de vida media de los fármacos y a que son necesarias dosis altas para que puedan llegar a lugares poco vascularizados del cuerpo, tales como los granulomas. El tratamiento puede complicarse aún más por el incumplimiento del paciente y el desarrollo de cepas resistentes a los fármacos. Entre los fármacos de primera línea se encuentran la isoniacida (H) y rifampicina (R). Uno de los mayores problemas que presenta el uso de R es su degradación en medio ácido, que se acelera en presencia de H. Una posible solución sería compartimentalizar los antibióticos para reducir las interacciones entre ellos mismos en el medio estomacal.

### OBJETIVOS

- Diseñar partículas biodegradables que contengan y liberen antibióticos para el tratamiento de la tuberculosis.
- Estudiar *in vitro* propiedades y características fisicoquímicas y funcionales de los sistemas de liberación.

Título del proyecto: SISTEMAS BIODEGRADABLES PARA LIBERACION CONTROLADA DE FARMACOS UTILIZADOS EN EL TRATAMIENTO DE LA TUBERCULOSIS.

Instrumento: PICT

Año convocatoria: 2016

Organismo financiador: AGENCIA-FONCyT

Director: Mengatto, Luciano.

## METODOLOGÍA

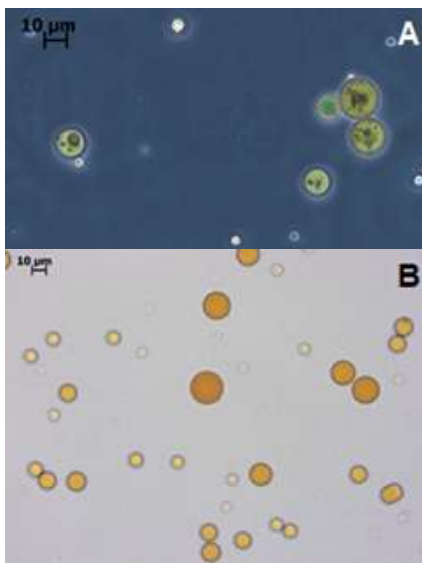
Las partículas se sintetizaron mediante el método de emulsión/evaporación y se empleó un copolímero de ácido poliláctico-co-glicólico (PLGA, por sus siglas en inglés, poly(lactic-co-glycolic)acid). Las síntesis se realizaron mediante una emulsión orgánica/acuosa (O/A) y una doble emulsión acuosa/orgánica/acuosa (A1/O/A2). La fase orgánica volátil fue diclorometano (DCM), mientras las fases acuosas fueron agua o soluciones acuosas de polímeros (gelatina, alginato, poli-(vinil alcohol)). El DCM se removió por evaporación, mientras que la fase acuosa fue liofilizada, obteniendo así las partículas. Para preparar las emulsiones se utilizaron un Homogeneizador de alta velocidad (IKA) y un homogeneizador ultrasónico (Cole Parmer). La forma y distribución de tamaños de las partículas fue caracterizada mediante microscopía óptica (LEICA). La cuantificación de los fármacos se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución (LC-10A Shimadzu). Se determinaron para cada fármaco su contenido en la formulación (CF % = masa de fármaco/masa de formulación x 100) y la eficiencia de atrapamiento (EE %, masa final de fármaco/masa inicial de fármaco x 100). Se evaluó el rendimiento para cada metodología de preparación de partículas (R %, masa de formulación/masa inicial de reactivos x 100). Para estudiar posibles interacciones fármaco polímero se realizaron experimentos de espectroscopía IR (FTIR-8001 PC Shimadzu). Se caracterizaron 5 formulaciones (TB 1-5, Tabla 1). Se realizaron experimentos de liberación *in vitro* simulando tiempos y valores de pH fisiológicos del estómago (2 h, pH 1,6) e intestino (22 h, pH 7,4), a una temperatura de 37 °C y con agitación orbital.

## RESULTADOS

En la Tabla 1 se muestran los valores de contenido de fármaco (CF %), eficiencias de atrapamiento (EE %) y Diámetros (D) para todas las formulaciones. Se mencionan en particular para la discusión, los resultados de TB2 y TB5 como ejemplo de doble y simple emulsión respectivamente. Las partículas presentaron forma esférica y los diámetros no variaron demasiado entre las distintas síntesis (10,7-13,8  $\mu\text{m}$ ). Los diámetros fueron  $12,3 \pm 3,3 \mu\text{m}$  y  $13,8 \pm 3,5 \mu\text{m}$  para las formulaciones TB2 (Fig. 1.A) y TB5 (Fig. 1.B) respectivamente. En las partículas preparadas mediante doble emulsión (Fig. 1.A) se observó en el interior la presencia de gotas de la fase acuosa 1. El objetivo de trabajar con doble emulsión fue atrapar los 2 antibióticos de distinta solubilidad en una misma partícula, R es hidrofóbico y H hidrofílico. La eficiencia de atrapamiento de H fue muy baja o no cuantificable (NC) en todos los casos (TB1-3), indicando que no se incluyó en el interior de las partículas preparadas por doble emulsión aun modificando la técnica con el agregado de gelatina o alginato. El uso de estos polímeros tuvo el propósito de favorecer la inclusión de H que además de ser hidrofílico posee un tamaño molecular pequeño. De esta manera, se decidió evaluar simple emulsión y aumentar la cantidad de R para ver el efecto sobre su EE y no se usó H en estas síntesis. No obstante, estas modificaciones no generaron cambios importantes en la eficiencia de atrapamiento de R que fue buena y se mantuvo entre el 50-60% en todas las preparaciones. Los rendimientos para cada metodología de preparación (R%) de partículas fueron muy buenos y estuvieron entre 71-88%.

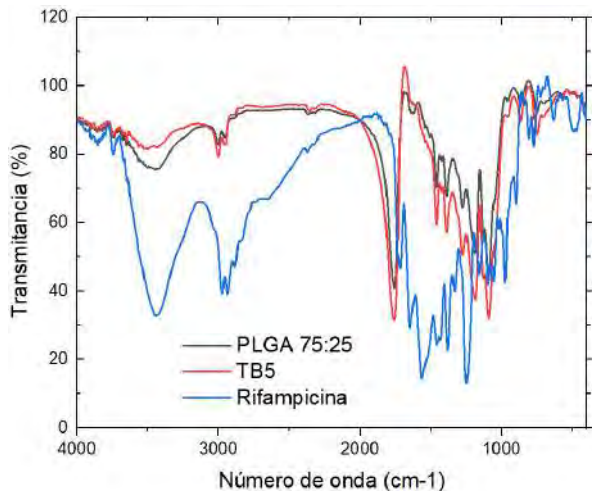
Tabla 1: Contenido de fármaco (CF %), Eficiencia de atrapamiento (EE %) y Diámetro (D)

Formulación	Emulsión	D (µm)	R, CF (%)	R, EE (%)	H, CF (%)	H, EE (%)
TB1	Doble	13,5 ± 3,1	3,23	59,84	0,064	1,17
TB2	Doble con Alginato 2% en A1	12,3 ± 3,3	2,95	49,85	NC	NC
TB3	Doble con Gelatina 1% en A1	10,7 ± 3,7	3,14	57,39	0,94	1,68
TB4	Simple	13,7 ± 2,6	3,28	56,42	-	-
TB5	Simple, con doble masa de R	13,8 ± 3,5	5,5	53,64	-	-

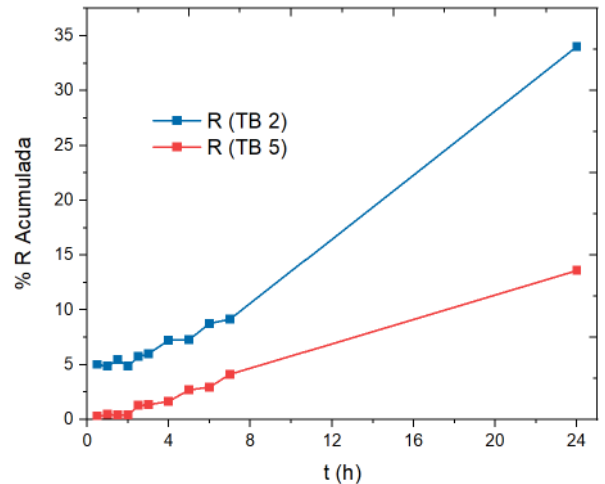


**Figura 1:** Imágenes obtenidas mediante microscopía óptica. A) Partículas sintetizadas por doble emulsión (TB2), B) Partículas sintetizadas por simple emulsión (TB5)

Para estudiar la interacción entre el PLGA y los antibióticos se realizaron experimentos de espectroscopía IR (Fig. 2). Los espectros obtenidos para muestras de las micropartículas, presentaron picos correspondientes a grupos funcionales del polímero. Este resultado se condice con el hecho de que el PLGA es el componente mayoritario y no permite observar señales de los fármacos. Se realizaron ensayos de liberación *in vitro* (Fig. 3) para evaluar la utilidad de las formulaciones como sistemas de liberación controlada. Se realizaron de manera secuencial a pH estomacal (1,6) durante las primeras 2 h seguido de 22 h a pH intestinal (7,4) hasta alcanzar las 24 h. En cuanto a los resultados de los ensayos de liberación, todas las formulaciones presentaron el mismo comportamiento, bajos porcentajes durante el tiempo a pH 1,6 y un aumento progresivo luego del cambio a pH 7,4. La formulación realizada por doble emulsión con alginato (TB2) logró valores de R acumulada cercanos al 5% luego de las primeras 2 h y 34% al completar las 24 h. La formulación realizada por simple emulsión con doble masa de R (TB5) presentó valores muy bajos de R liberada a pH estomacal y alcanzó aproximadamente el 14% al finalizar el ensayo.



**Figura 2:** Espectros IR de PLGA 75:25, TB5 y Rifampicina.



**Figura 3:** Ensayos de liberación *in vitro* para las formulaciones TB2 y TB5.

## CONCLUSIONES

Se prepararon y caracterizaron *in vitro*, micropartículas biodegradables a base de PLGA. El uso de doble emulsión y agregado de polímeros a la fase acuosa 1 no favoreció el atrapamiento de H. El uso de simple emulsión y el aumento de masa de R no mejoraron la eficiencia de atrapamiento del fármaco. De este modo se prepararon partículas que sólo contienen R con buenas eficiencias de atrapamiento y se podría usar simple emulsión para reducir los reactivos, costos y tiempos de preparación. Las partículas preparadas mediante las distintas formulaciones presentaron forma esférica con distribución de tamaño uniforme. Las partículas constituyen un soporte para liberación controlada a distintos valores de pH. Los porcentajes de liberación de R fueron bajos a pH ácido, lo cual evitaría el contacto de R con H en el medio estomacal. De esta manera se mejoraría la estabilidad de R. Se evaluarán otros polímeros para preparar partículas que contengan H y preparar así la formulación final de coadministración oral. Además se estudiarán excipientes y otros polímeros que permiten mejorar las eficiencias de atrapamiento de los antibióticos y colaboren en la liberación controlada.

## BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

**Chiluba Mwila, Roderick B. Walker.** (2020) Improved Stability of Rifampicin in the Presence of Gastric-Resistant Isoniazid Microspheres in Acidic Media. *Pharmaceutics* 2020, doi : <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12030234>

**A. Ghanizadeh Tabriz, U. Nandi, A.P. Hurt, H-W. Hui, S. Karki, Y. Gong, S. Kumar, D. Douroumis.** (2020) 3D Printed Bilayer Tablet with Dual Controlled Drug Release for Tuberculosis Treatment, *International Journal of Pharmaceutics* 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.120147>

**Pesoa, J., Rico, M.J., Rozados, V., Scharovsky, O.G., Luna, J., Mengatto, L.N.** (2018). Paclitaxel delivery system based on poly(lactide-co-glycolide) microparticles and chitosan thermosensitive gel for mammary adenocarcinoma treatment. *J Pharm Pharmacol*, Vol. 70, pp. 1494-1502.

### Agradecimientos

Agencia (Proyecto PICT-2016-0228), CONICET. FBCB, Universidad Nacional del Litoral. Lic. María Rocío Peverengo.