



OBTENCIÓN DE MICROPARTÍCULAS PARA LA LIBERACIÓN CONTROLADA DE DROGAS

Scarafía, Camila

Instituto de Tecnología Celulósica, CONICET, Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral.

Director/a: Schnell, Carla Natalí

Área: Ingeniería

Palabras clave: Diclofenaco sódico, Secado por atomización, Xilano

INTRODUCCIÓN

La biomasa lignocelulósica tiene un potencial prometedor para las biorrefinerías debido a que es la fuente renovable más abundante en la naturaleza. Particularmente, el xilano (Xil) es un polímero natural y biodegradable que se encuentra en la biomasa lignocelulósica y se consideran un producto secundario de la industria forestal y de la industria papelera.

La obtención de micropartículas poliméricas como portadores de fármacos y la contribución de las mismas en el campo farmacéutico ha sido de suma importancia para administrar medicamentos en el sitio de interés de acción, logrando, además mantener la concentración deseada y reduciendo los efectos secundarios (da Costa Urtiga y col. 2017). El Xil ha sido considerado como una materia prima adecuada para producir sistemas de administración colónica de fármacos, ya que permanece intacto en el estómago y en el intestino delgado y luego es biodegradado por enzimas colónicas (da Costa Urtiga y col. 2020). En estudios recientes de nuestro grupo, se ha mostrado que los hidrogeles de complejos de polielectrolitos (PECs) de Xil y quitosano (Q) pueden resultar muy eficientes como sistemas para la liberación controlada de drogas aniónicas no esteroidas (Schnell y col. 2020).

Título del proyecto: "Valorización de las hemicelulosas mediante la obtención de micropartículas biodegradables para la liberación controlada de drogas".

Instrumento: PICT Joven Investigador

Año convocatoria: 2020.

Organismo financiador: Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica

Directora: Dra. Carla Schnell.



OBJETIVOS

- ✓ Ampliar las posibilidades de aplicación del xilano extraído de madera de álamo en un producto de alto valor agregado como son las micropartículas (MP) como sistema para la liberación controlada de droga.
- ✓ Obtener micropartículas (MP) a partir de suspensiones coloidales de complejos de polielectrolitos (PECs) combinando el Xil con en el Q a distintas concentraciones de PECs (1,5; 1,75 y 2,0 %p/p) y utilizando la técnica de secado por atomización (spray drying).
- ✓ Evaluar el efecto del pretratamiento de las MP con citrato de sodio (7% p/p) a pH 5, sobre las propiedades de las mismas.
- ✓ Evaluar la capacidad de las MP pretratadas y no pretratadas para incorporar y liberar de forma controlada principios activos aniónicos no esteroideos (diclofenaco sódico).

METODOLOGÍA

Obtención y caracterización de xilano

El Xil se extrajo de madera de álamo mediante un tratamiento con NaOH (150 g NaOH/ 100 g álamo) a 90 °C durante 120 minutos. Una vez obtenido el licor, se precipitó el xilano (relación licor: alcohol 1:1) y se purificó mediante solubilización, re-precipitación en alcohol y centrifugación. Se determinó el peso molecular promedio mediante GPC-HPLC (cromatografía de permeación en gel) con un detector de índice de refracción (Shimadzu RID-10A). Se utilizó el método colorimétrico fenol/ácido sulfúrico (Hodge y Hofreiter 1962) para cuantificar el contenido de xilosa y mediante el Método de Scott (1979), se determinó el contenido de grupos ácidos glucurónicos (en el polímero).

Obtención de las micropartículas

Primeramente, se prepararon soluciones diluidas de Xil (0.5% p/p) y de Q (0.75% p/p) de manera de lograr la disolución completa de los polímeros. Luego, ambas soluciones se concentraron por evaporación controlada en un baño de agua (70 °C). Las concentraciones finales utilizadas fueron de Xil ≈2% p/p y de Q 1.5% p/p. Seguidamente, se prepararon los complejos (PECs) mediante la adición de la solución de Xil a la solución de Q y bajo agitación controlada durante 30 min a diferentes concentraciones finales de PECs (1.5 ;1.75 y 2.0% p/p). Finalmente, estas suspensiones de PECs se utilizaron para obtener las micropartículas mediante secado por atomización en las siguientes condiciones: temperatura de entrada 170 °C, temperatura de salida 80 °C y flujo de gas 45 (mL/min) y se utilizó una boquilla de 0.75 µm. Una vez obtenidas las MP, se realizó un pretratamiento con solución de citrato de sodio al 7% p/p (agente de intercambio iónico) a pH 5,0 durante 1h a 4 °C.

Caracterización de las micropartículas

Se determinaron los tamaños de las MP sin pretratar mediante imágenes de Microscopía óptica utilizando una magnificación de 100x. Para su observación las MP se dispersaron en alcohol isopropílico y se sonicaron. Además, la morfología de las MP se observó por Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) utilizando un equipo Phenom ProX, Phenom-World (Netherlands).

Se determinó también la capacidad de hinchamiento (swelling) mediante inmersión en solución de buffer fosfato salino (PBS pH 7,4) a 37°C. A diferentes tiempos de inmersión (1h, 4h y 24 h) las micropartículas se retiraron de la solución mediante filtración y luego se pesaron.

Incorporación y liberación del principio activo

Para la incorporación del principio activo, las MP pretratadas con citrato de sodio y no pretratadas se colocaron en solución de 8 mM de diclofenaco sódico durante 20 h y a 23 °C. Se dejaron en un agitador orbital (PSU-10 i Boeco) a 50 rpm y se obtuvieron las micropartículas cargadas por centrifugación y separación del sobrenadante. Los ensayos de



liberación se realizaron por inmersión de las MP pretratadas y no pretratadas en 50 ml de solución de PBS (pH 7,4) (relacionada con el valor de pH del colon) a 37 °C y con agitación orbital a 50 rpm. Las curvas de liberación fueron obtenidas tomando alícuotas de 3 mL a diferentes intervalos de tiempo y reemplazando con un volumen igual de PBS para mantener un volumen constante. La cantidad de fármaco presente se determinó midiendo en un espectrofotómetro UV-Vis a una longitud de 275 nm.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Obtención y caracterización de xilano

El rendimiento del xilano extraído y precipitado correspondió a aproximadamente el 45% de las hemicelulosas presentes en la madera original, considerando que el *Populus deltoides* 129/6 contiene 18,6% de xilano/madera (Cobas, 2012). La **Tabla 1** muestra los resultados obtenidos de la caracterización del xilano extraído. Teniendo en cuenta el contenido de xilosa y de grupos ácidos, la pureza del xilano fue de 99,1%, presentando un grupo ácido glucurónico cada 10-11 moléculas de xilosa. El peso molecular del Xil es de 56,3 kDa y un índice de polidispersidad de 1,50.

Tabla 1: Caracterización del xilano extraído de madera de álamo

Muestra	% xilosa / xilano	Grupos ácidos glucurónicos según método de Scott (meq/g)	Pureza (%)
Xilano	87,2	0,63	99,1

Obtención y caracterización de micropartículas

El rendimiento del secado por atomización de los PECs obtenidos en las diferentes concentraciones fue aproximadamente del 70 %. El diámetro medio de las MP obtenido utilizando microscopia óptica fue de $3,71 \pm 1,71 \mu\text{m}$, $3,12 \pm 1,20 \mu\text{m}$ y $3,62 \pm 1,59 \mu\text{m}$ para las MP preparadas desde soluciones de 1,5; 1,75 y 2,0% p/p, respectivamente. Estos resultados sugieren que el tamaño de partícula se encuentra determinado principalmente por la boquilla de atomización empleada. En la **Figura 1** se muestra una imagen de microscopia SEM de las MP-1,75%. Todas las MP mostraron una forma esférica irregular sin grandes poros con una superficie extensivamente abollada. La formación de las superficies abolladas de la MP secas se atribuye a la contracción durante el proceso de secado (Saéñz et al. 2009).

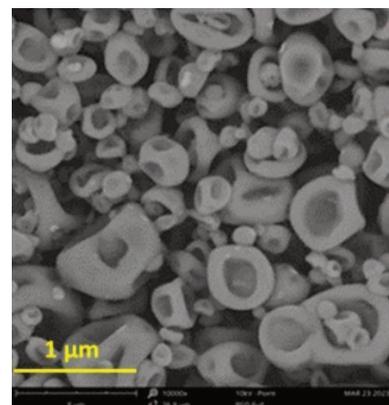


Figura 1: Imagen obtenida por SEM de las 1,75% MP (Magnificación 1000)

La **Figura 2** muestra la capacidad de hinchamiento de las MP-1.75% pretratadas y no pretratadas en solución de PBS (pH 7.4) y a 37°C. Se puede observar que ambas MP presentan valores altos de hinchamiento y que el mismo aumenta en el tiempo. Las MP pretratadas mostraron tener mayor capacidad de hinchamiento en las condiciones estudiadas, esto puede deberse a la presencia de mayor cantidad de contraiones que pueden intercambiarse con los iones presentes en el medio líquido.

Incorporación y liberación del principio activo

Se encontró que las MP-1.75% pretratadas con citrato de sodio presentan mayor capacidad de absorción de diclofenaco sódico ($691,5 \pm 3,0 \text{ mg/ g MP}$) respecto de las MP no pretratadas ($155,2 \pm 2,1 \text{ mg/ g MP}$). El citrato de sodio presente en las MP pretratadas se libera en la solución permitiendo la incorporación del principio activo a través de un fenómeno de intercambio iónico (Schnell y col. 2020). La **Figura 3** muestra la cinética de liberación del

diclofenaco sódico desde las MP-1,75% pretratadas y no pretratadas con ácido cítrico en solución de PBS y a 37°C. Se observa que la liberación del principio activo desde las MP no tratadas fue explosivo y en cambio desde las MP pretratadas, la liberación fue más controlada. Además, se obtuvo el mismo comportamiento en la capacidad de incorporación y liberación del principio activo con las MP-1,5% y MP-2,0%.

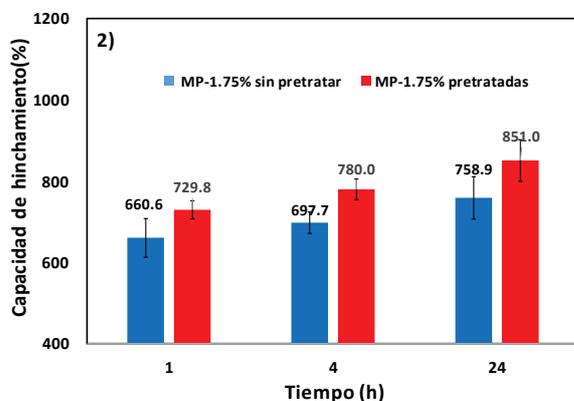


Figura 2: Capacidad de hinchamiento en función del tiempo en solución de PBS a 37 °C de las MP-1,75% pretratadas o no con citrato de sodio. **Figura 3:** Liberación de diclofenaco sódico en función del tiempo en solución de PBS a 37 °C a partir de las MP-1,75% pretratadas y no pretratadas.

CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos muestran que se puede obtener micropartículas a partir de complejos de xilano y quitosano, utilizando la técnica de secado por atomización. La concentración de PECs utilizada para obtener las MP no modificó las propiedades físico-químicas evaluadas. Además, el tratamiento con citrato de sodio resultó ser esencial para lograr mayores cantidades de absorción del diclofenaco sódico y lograr una liberación controlada del mismo en condiciones relacionado al pH del colon.

BIBLIOGRAFÍA

- **A. Cobas**, 2012. Modelos de variación de propiedades del leño juvenil a maduro en saliceas y su influencia sobre pulpas químicas. (Tesis Doctoral, Diciembre 2012, La Plata, Argentina).
- **da Costa Urtiga, S. C., Alves, V. M. O., de Oliveira Melo, C., de Lima, M. N., Souza, E., Cunha, A. P., & do Egito, E. S. T.** 2020. Xylan microparticles for controlled release of mesalamine: Production and physicochemical characterization. *Carbohydrate Polymers*, 250, 11692909.
- **da Costa Urtiga, S., Aquino Azevedo de Lucena Gabi, C., Rodrigues de Araújo Eleamen, G., Santos Souza, B., Pessôa, H. D. L. F., Marcelino, H. R., & Oliveira, E. E.** 2017. Preparation and characterization of safe microparticles based on xylan. *Drug development and industrial pharmacy*, 43(10), 1601-16.
- **Hodge J.E. & Hofreiter B.T.** 1962. Determination of reducing sugars and carbohydrates. In: Whistler, R.L., Wolfrom, M.L. (Ed.), *Methods in carbohydrate Chemistry*, Academic Press, New York, San Francisco, and London. 1, 380.
- **Saézn, C., Tapia, S., Chávez, J., & Robert, P.** 2009. Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). *Food chemistry*, 114(2), 616-622.
- **Schnell, C. N., Galván, M. V., Zanuttini, M. A., & Mocchiutti, P.** 2020. Hydrogels from xylan/chitosan complexes for the controlled release of diclofenac sodium. *Cellulose*, 27(3), 1465-1481.
- **Scott, R. W.** 1979. Colorimetric determination of hexuronic acids in plant materials. *Analytical Chemistry*, 51(7), 936-941.