

## “NANOPARTÍCULAS DE PLGA CONTENIDAS EN MATRICES DE QUITOSANO PARA LA LIBERACIÓN CONTROLADA DE PROGESTERONA”

**Dominino, Josefina**

*Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química (INTEC, CONICET-UNL)*

Director/a: Estenoz, Diana  
Codirector/a: Busatto, Carlos

Área: Ingeniería

Palabras claves: Nanopartículas, Liberación controlada, Progesterona.

### INTRODUCCIÓN

Los sistemas de liberación controlada de fármacos basados en matrices poliméricas biocompatibles y biodegradables aparecen como una alternativa prometedora para la administración de principios activos. Presentan varias ventajas, tales como la minimización del número de dosis requeridas, la reducción de los efectos adversos, la protección del fármaco frente a la degradación y/o inactivación, entre otras (Sáez y col., 2003).

La progesterona es una hormona esteroide lipofílica. Este fármaco requiere un sistema de administración prolongado para inducir el estro y la ovulación en los animales de producción (Busatto y col., 2018). Existen varios sistemas de administración de progesterona para la sincronización del celo basados en polímeros no biodegradables, con altas cargas residuales de medicamentos, remoción periódica y alto impacto ambiental.

En este trabajo se propone desarrollar formulaciones basadas en nano- y micropartículas de PLGA y quitosano para la liberación controlada de progesterona. Para este fin, se prepararon nanopartículas de PLGA encapsulando la hormona progesterona mediante el método de evaporación/extracción de solvente, y posteriormente se estudió su inclusión en matrices de quitosano mediante el método de spray drying para generar micropartículas poliméricas biodegradables que permitan controlar las velocidades de liberación del principio activo. El tamaño y la morfología de las partículas se caracterizaron mediante método de dispersión de luz dinámica (DLS) y técnicas de microscopía, y se evaluó la eficiencia de encapsulación y los perfiles de liberación del principio activo.

### OBJETIVOS

Desarrollar sistemas de liberación controlada de principios activos hidrofóbicos basados en matrices poliméricas biodegradables. Se propone estudiar la preparación de nanopartículas de PLGA contenidas en matrices de quitosano, a fin de generar estructuras poliméricas capaces de controlar la liberación de la progesterona.

Título del proyecto: “Monómeros y Polímeros Funcionales Basados en Recursos Naturales Vegetales para Aplicaciones en Materiales, Energía y Agroquímicos de Bajo Impacto Ambiental”

Instrumento: CAID (Código: 50620190100093LI)

Año convocatoria: 2020

Organismo financiador: UNL

Directora: Dra. Diana Estenoz

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Materiales*

PLGA 50:50 (Mw = 6622 Da), Quitosano (Mw = 64 kDa, 93% DD), progesterona (99,2%, Farmabase), etanol (Cicarelli), cloruro de metileno (Cicarelli), alcohol polivinílico (PVA, 205 kDa, grado de hidrólisis: 87,7%, Sigma Aldrich). Los reactivos se utilizaron sin purificación adicional y se utilizó agua destilada y desionizada para preparar todas las soluciones.

### *Preparación de las nanopartículas de PLGA*

Se disolvieron el PLGA y la progesterona en diclorometano. Esta solución se emulsionó en una solución acuosa de PVA al 1% p/v empleando un homogeneizador durante 10 minutos a diferentes velocidades (7000, 10000 y 12000 rpm). A continuación, se procedió a eliminar el solvente orgánico en rotaevaporador durante 1 h a temperatura ambiente. Se estudiaron diferentes cargas de droga (5, 10 y 20% p/p respecto del PLGA) siguiendo el procedimiento descrito anteriormente.

### *Preparación de las nanopartículas de PLGA contenidas en matrices de quitosano*

Las nanopartículas de PLGA conteniendo la hormona se dispersaron en una solución de quitosano al 1%, y dichas formulaciones se secaron usando un Mini Spray Dryer B-290 (Buchi) a 160 °C, con un caudal de líquido de 10 mL/min y un flujo de aire de pulverización de 35 L/min.

### *Caracterización de los sistemas particulados*

El tamaño y la morfología de las partículas se caracterizaron mediante las técnicas de Dispersión de Luz Dinámica (DLS) y microscopía óptica.

Para determinar la eficiencia de encapsulación de la hormona se dispersaron aproximadamente 5 mg de nano- y micropartículas en 10 mL de etanol y se agitaron a 50 rpm durante 48 h. Luego, las muestras se centrifugaron a 5000 rpm durante 10 min. La concentración de progesterona en el sobrenadante se cuantificó mediante espectroscopia UV a 240 nm. Para la curva de calibración se emplearon estándares de progesterona de 1, 5, 10, 20 y 50 ppm.

## RESULTADOS

Se analizó la influencia de la velocidad de homogeneización de la emulsión sobre el tamaño de las nanopartículas de PLGA obtenidas, y se observó que a mayores velocidades se obtuvieron menores tamaños de partícula. Por DLS se obtuvo un tamaño medio de partícula de 118,17 nm a una velocidad de homogeneización de 12000 rpm. Esta condición experimental se empleó posteriormente para estudiar la encapsulación de la hormona a diferentes cargas de droga. Los resultados obtenidos para cada síntesis se resumen en la Tabla 1.

Se observó que a mayor porcentaje de carga de droga se obtuvo una mayor eficiencia de encapsulación. Esto se debe probablemente a la menor migración del principio activo desde la fase orgánica hacia la fase acuosa a causa de su baja solubilidad en medio acuoso. Para una carga de droga del 20% se obtuvo una alta eficiencia de encapsulación del proceso. Además, los resultados obtenidos indican que el tamaño medio de partícula no se vio afectado por las cargas de drogas estudiadas.

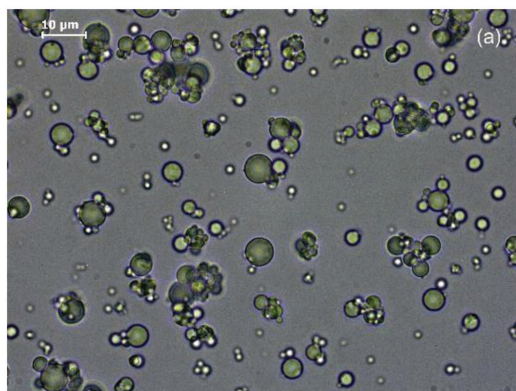
Las nanopartículas de PLGA cargadas al 20% de progesterona se emplearon posteriormente para estudiar su inclusión en matrices de quitosano mediante la técnica de spray drying. De esta forma se prepararon nanopartículas de PLGA contenidas en micropartículas de

quitosano. La metodología de trabajo propuesta permite obtener formulaciones mediante secado directo de las dispersiones poliméricas mediante un proceso continuo. En la Figura 1 se muestran las imágenes de microscopía óptica de las micropartículas de quitosano obtenidas. El tamaño medio de las mismas resultó de  $3,66 \pm 1,42 \mu\text{m}$ . El rendimiento del proceso fue de aproximadamente 61%. Mediante determinaciones de eficiencia de encapsulación se estimó un  $44,2 \pm 7,5$  de entrapamiento de la hormona.

Actualmente se están estudiando la caracterización funcional de los reactivos y los sistemas particulados por FTIR y los perfiles de liberación del principio activo desde las diferentes formulaciones.

**Tabla 1.** Resultados de las caracterizaciones de las partículas.

Carga de progesterona (% p/p)	Velocidad de homogeneización (rpm)	Tamaño de partícula (nm)	Eficiencia de encapsulación (%)
0%	7000	$488,8 \pm 53,8$	-
0%	10000	$186,4 \pm 43,4$	-
0%	12000	$118,2 \pm 21,7$	-
5%	12000	$135,7 \pm 28,0$	$20,22 \pm 0,66$
10%	12000	$125,7 \pm 25,3$	$61,33 \pm 6,74$
20%	12000	$130,7 \pm 26,6$	$98,71 \pm 2,80$



**Figura 1.** Micrografía óptica de las micropartículas de quitosano.

## CONCLUSIÓN

Se optimizaron las condiciones experimentales para la preparación de nanopartículas de PLGA. Se encontró que a mayores velocidades de homogeneización de la emulsión se obtuvieron menores tamaños de partículas. A su vez, se observó que a mayor porcentaje de carga de principio activo se obtuvo una mayor eficiencia de encapsulación. Se estudió la inclusión de las nanopartículas de PLGA en matrices de quitosano para generar estructuras bicapa que permitan controlar la liberación del principio activo. Los resultados indican que los sistemas estudiados podrían ser una alternativa atractiva y sostenible para la administración controlada de drogas hidrofóbicas.

## BIBLIOGRAFÍA

**Busatto, C., Pesoa, J., Helbling, I., Luna, J., & Estenoz, D.** (2018). Effect of particle size, polydispersity and polymer degradation on progesterone release from PLGA microparticles: Experimental and mathematical modeling. *International Journal of Pharmaceutics*, 536(1), 360–369.

**Sáez, V., Hernáez, E., & López, L.** (2003). Liberación controlada de fármacos. Aplicaciones biomédicas. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 4(2), 111-122.