



## LIBERACIÓN DE FLORFENICOL DESDE PARTÍCULAS POLIMÉRICAS

**Piña Marcos, Julieta**

*Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química CONICET-UNL*

Director: Mengatto, Luciano

Codirector: Luna, Julio

Área: Ciencias de la Salud

Palabras claves: Liberación controlada, Micropartículas, Antibióticos.

### INTRODUCCIÓN

El florfenicol (FF) es un antibiótico de uso veterinario indicado para el tratamiento de enfermedades respiratorias e infecciones en bovinos. Para que una forma farmacéutica pueda ejercer su efecto terapéutico debe ser capaz de liberar el principio activo que transporta, sin embargo, este antibiótico tiene baja solubilidad en agua, y en consecuencia puede presentar problemas en cuanto a biodisponibilidad y eficacia terapéutica, además suele utilizarse en grandes dosis, limitando considerablemente su preparación y aplicación. Por otro lado, el florfenicol puede cristalizar en dos formas, las cuales muestran características fisicoquímicas distintas (Sun y col., 2014). Los sistemas de liberación controlada liberan las drogas a una velocidad más o menos constante durante un período específico de tiempo. Una estrategia para solucionar las cuestiones vinculadas a solubilidad y disponibilidad del FF, consiste en formar complejos con ciclodextrinas e incorporarlos en otros sistemas tales como partículas, implantes o hidrogeles. Las ciclodextrinas son moléculas que presentan una estructura en forma de cono y una cavidad en la que pueden incluir moléculas más pequeñas o parte de ellas. En el caso del FF se ha reportado la encapsulación en ciclodextrinas (Duchene y col., 2011). Una técnica a través de la cual pueden prepararse partículas poliméricas, es el secado spray, el cual transforma un sistema líquido en uno sólido particulado/pulverulento a través de la aspersion del líquido en una cámara en la cual circula aire caliente. Por esta razón, se busca trabajar en la formación de complejos entre ciclodextrinas y FF para ser aplicados en la formulación de sistemas particulados a base de polímeros naturales.

Título del proyecto: LIBERACIÓN CONTROLADA DE ANTIBIÓTICOS Y ENDECTOCIDAS DE USO VETERINARIO (NANOSISTEMAS BIODEGRADABLES PARA ADMINISTRACIÓN PARENTERAL).

Instrumento: PICT

Año convocatoria: 2018

Organismo financiador: AGENCIA-FONCyT

Director: Julio Luna



## OBJETIVOS

- Evaluar la interacción entre el agente activo (florfenicol) y las ciclodextrinas.
- Preparar y caracterizar sistemas de liberación particulados basados en polímeros naturales y complejos de ciclodextrinas.

## METODOLOGÍA

En este trabajo se utilizó  $\beta$ -ciclodextrina metilada al azar (CD) para la formación de los complejos y los polímeros alginato y quitosano para la preparación de las partículas. Para evaluar la interacción entre FF y CD, se realizaron diagramas de solubilidad de fases (DSF) y se determinó la estequiometría de formación del complejo mediante el método de variación continua (MVC). Para realizar el DSF, se agregó una cantidad fija en exceso de FF a soluciones acuosas con distinta concentración de CD. Las soluciones se agitaron hasta llegar al equilibrio y se cuantificó el FF. Para el MVC, se prepararon soluciones con concentración constante de FF y distintas concentraciones de CD y se obtuvieron los espectros de absorbancia (2401 PC Shimadzu). Se realizó una gráfica de  $\Delta A \cdot R$  en función de R, donde  $\Delta A$  es la diferencia entre la absorbancia del activo sin y con CD y R es la relación de las concentraciones  $[\text{activo}]/([\text{activo}]+[\text{CD}])$ . Se prepararon complejos de inclusión de FF con CD utilizando el método descrito por Velázquez (2019). Para esto se disolvió por separado el FF y la CD en metanol. Luego la solución de FF se agregó a la de CD (en proporción molar 1:1) y se agitó en un agitador magnético. El solvente orgánico se eliminó por evaporación. Para evaluar la formación del complejo se realizaron estudios de espectroscopía IR (FTIR-8001 PC Shimadzu). Las mezclas de quitosano y alginato se realizaron utilizando un homogeneizador ultrasónico (Cole Parmer). Para determinar la solubilidad del florfenicol y del complejo se colocó una cantidad fija en exceso del activo en un volumen de la mezcla de polímeros. Las mezclas se almacenaron a 37 °C con agitación orbital. Al alcanzar el equilibrio, las soluciones se centrifugaron y en los sobrenadantes se cuantificó el FF. Las partículas poliméricas se prepararon mediante secado por aspersion (B-290, Buchi) de formulaciones del complejo de inclusión o FF libre con soluciones mezclas de quitosano y alginato. Se realizaron experimentos de liberación *in vitro* de FF desde las partículas en recipientes a 37 °C y con agitación. Los medios de liberación fueron soluciones salinas con valores de pH 1,6 y 7,4 que simulan el pH fisiológico. La cuantificación de FF durante todo el trabajo se llevó a cabo mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, Prominence Serie 20A Shimadzu).

## RESULTADOS

Los DSF permitieron observar curvas del tipo A, que indican que el FF y la CD forman un complejo soluble en agua y que hay un aumento lineal de la solubilidad en función de la concentración de CD. La estequiometría de la interacción se determinó mediante el MVC y resultó ser 1:1, ya que en la gráfica de  $\Delta A \cdot R$  en función de R (Figura 1), el máximo se obtuvo para  $R=0,5$ .

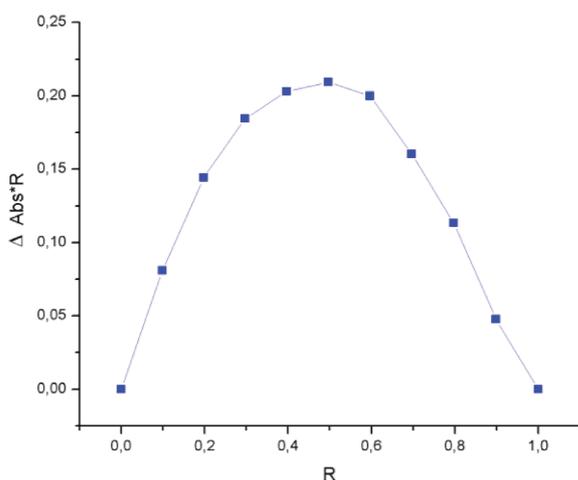


Figura 1: Gráfica de  $\Delta A^*R$  en función de R.

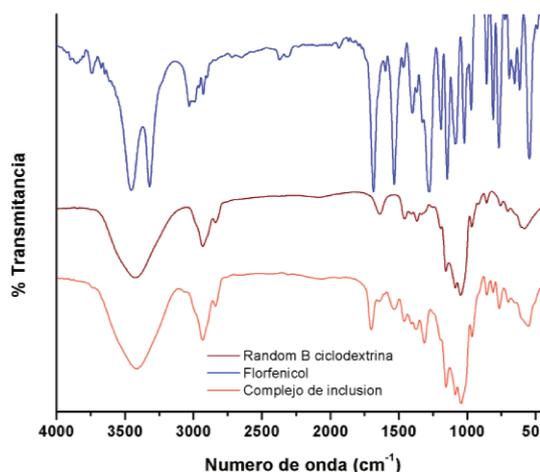
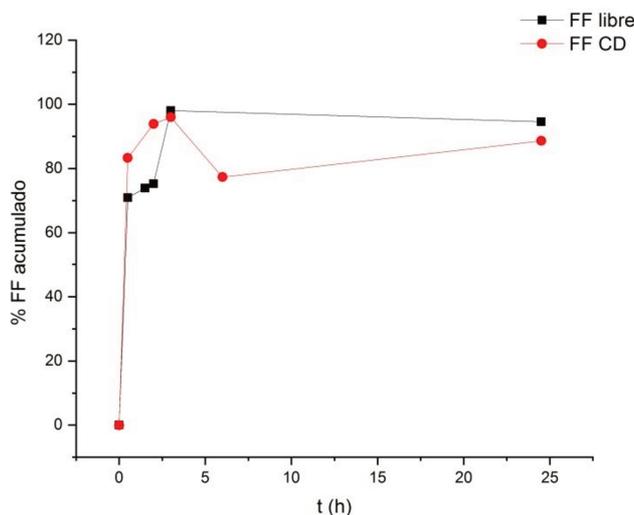


Figura 2: Espectros IR de la CD, el FF y del complejo de inclusión.

Los espectros de IR se muestran en la Figura 2. Se observaron corrimientos y cambios en la intensidad de los picos correspondientes al complejo de inclusión con respecto a los observados en los espectros del FF y de la CD, en particular en los picos correspondientes a los grupos NH:  $1321,5 \text{ cm}^{-1}$ , C=O:  $1701,1 \text{ cm}^{-1}$  y CN:  $1582,4 \text{ cm}^{-1}$ . Estos cambios indican que existen interacciones entre el FF y la CD, y que la parte de la molécula del antibiótico que contiene esos grupos sería la que ingresa en la cavidad de la CD.

Se prepararon mezclas de soluciones de quitosano y alginato en proporción 75:25. La solubilidad del FF libre y la del FF en el complejo de inclusión en esta mezcla fue  $940,15 \pm 78,80 \text{ mg/L}$  y  $1510,65 \pm 4,65 \text{ mg/L}$ , respectivamente. Por lo tanto el complejo de inclusión permitió aumentar la solubilidad del antibiótico.

Se obtuvieron dos formulaciones de partículas poliméricas mediante secado por aspersion de soluciones mezclas de quitosano y alginato que contenían el antibiótico en una concentración por encima de su solubilidad: FF libre (FF libre) y FF en el complejo de inclusión (FF CD). Se realizaron ensayos de liberación *in vitro* (Figura 3) para evaluar la utilidad de las formulaciones como sistemas de liberación controlada. La liberación se realizó a pH estomacal (1,6) durante las primeras 2 h seguido de pH intestinal (7,4) hasta alcanzar las 24 h. Tanto para la formulación FF libre como para la FF CD se liberó un porcentaje alto de antibiótico en las primeras horas del ensayo. La liberación fue mayor en el caso de la formulación con el complejo de inclusión. Esto puede deberse a que el complejo permite que el antibiótico esté completamente disuelto, y por lo tanto se libere más rápido, a diferencia del antibiótico libre el cual al estar en una concentración por encima de su solubilidad, forma cristales. La presencia de cristales implica un paso previo de disolución de la droga previo a su liberación.



**Figura 3:** Gráficas de liberación *in vitro* de FF libre y FF CD.

## CONCLUSIONES

Se comprobó que existe interacción entre el florfenicol y la  $\beta$ -ciclodextrina metilada al azar, y que dicha relación permite la formación de complejos de inclusión. Se observó que la solubilidad del FF fue mayor en la mezcla de quitosano y alginato cuando éste se encontraba incluido en la CD en relación a la droga libre. Los porcentajes de liberación de ambas formulaciones obtenidas mediante secado por aspersión fueron elevados al inicio del ensayo. Se continuará trabajando sobre la mezcla de polímeros y componentes de la formulación para lograr un mayor control de la liberación y evitar el efecto *burst* inicial.

## BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

- Duchene D., 2011.** Cyclodextrins in pharmaceuticals, cosmetics, and biomedicine: Current and future industrial applications. Editorial Wiley. Estados Unidos. p.3-18.
- Sun Z., Hao H., Xie C., Xu Z., Yin Q., Bao Y., Wang Y., 2014.** Thermodynamic properties of form A and Form B of florfenicol. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 53: 13506–13512
- Velázquez N., Ferreyra M., Mengatto L., Santagapita P., Buera M., Luna J., 2019.** Paclitaxel/ $\beta$ -cyclodextrin interactions, a perspective from pulsed NMR spectroscopy experiments. *Carbohydrate Research*, 486: 107828.