



Encuentro
de Jóvenes
Investigadores

PARTÍCULAS POLIMÉRICAS PARA LIBERACIÓN CONTROLADA DE ISONIACIDA Y RIFAMPICINA

Peverengo, Rocío

Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química CONICET-UNL

Director: Mengatto, Luciano

Codirectora: Turino, Ludmila

Área: Ciencias de la Salud

Palabras claves: Micropartículas, Hidrogeles particulados, Tuberculosis

INTRODUCCIÓN

El objetivo general de este trabajo es el diseño de sistemas de liberación controlada de fármacos para el tratamiento de la tuberculosis (TB), enfermedad con una quimioterapia compleja por la necesidad de regímenes de múltiples fármacos en forma diaria durante largos períodos de tiempo (6-9 meses). La finalidad de estos sistemas es que permitan una mejor complacencia por parte del paciente evitando el abandono en tratamientos prolongados. Además, se busca disminuir los efectos secundarios y el número de dosis, mejorando el tratamiento y el control de la enfermedad y evitando la generación de cepas resistentes. En los últimos años se ha estado trabajando en el diseño de sistemas particulados a base de biopolímeros, cargados con antibióticos antituberculosos que además de contener y liberar, permiten solucionar cuestiones que se relacionan con la estabilidad de los antibióticos.

OBJETIVOS

- Preparar partículas poliméricas e hidrogeles particulados biodegradables que contengan los antibióticos isoniacida (H) y rifampicina (R).
- Estudiar y comparar las propiedades fisicoquímicas de ambos sistemas y su funcionalidad en experimentos de liberación *in vitro* de los antibióticos.

Título del proyecto: TRÍADAS PLATA-POLÍMEROS-ANTIBIÓTICOS COMO FORMULACIONES FARMACÉUTICAS ANTIBACTERIANAS .

Instrumento: CAI+D

Año convocatoria: 2020

Organismo financiador: UNL

Director/a: Mengatto, Luciano



Federación
Universitaria
del Litoral



Encuentro
de Jóvenes
Investigadores

METODOLOGÍA

Se prepararon partículas de ácido poli(láctico-co-glicólico) (PLGA, 5050 y 7525 de composición de monómeros) con el método de emulsión/evaporación. Se empleó una emulsión orgánica/acuosa (O/A) y una doble emulsión acuosa/orgánica/acuosa ($A_1/O/A_2$). La fase acuosa fue agua, soluciones de gelatina o alginato, suspensión de partículas o una solución de poli(vinil alcohol). La fase orgánica volátil fue diclorometano, el cual se removió del sistema por evaporación, dando lugar a la formación de las partículas. Para la preparación de las emulsiones se utilizaron un Homogeneizador ultrasónico (Cole Parmer) y un Homogeneizador de alta velocidad (IKA). Por otro lado, se prepararon partículas de quitosano (CHT) entrecruzadas con gelatina bovina tipo II (GEL). El CHT se disolvió en una solución de ácido acético (1 % v/v) y la GEL en agua. Luego, las soluciones se mezclaron en proporciones 7525 (GEL-CHT) hasta completa homogeneización. La mezcla se utilizó para preparar formulaciones líquidas que contenían H. A continuación, las formulaciones se secaron por aspersion en un Mini Spray Dryer B-290 (Buchi) a una temperatura de entrada 130 °C y un caudal de líquido de 4 mL/min. La determinación de tamaños y morfología de las micropartículas fue realizada mediante microscopía óptica (LEICA) y microscopía electrónica de barrido (SEM, PhenomWorld PRO X). Se determinó 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) cuantificándolos mediante HPLC o UV/VIS. Los ensayos de liberación *in vitro* se realizaron poniendo en contacto una masa de micropartículas con medios de liberación salino a pH fisiológicos: pH 1,6 por 2 h y en adelante pH 7 hasta las 24 h (37 °C, 130 rpm).

RESULTADOS

La Tabla 1 muestra el tamaño medio, carga de fármaco y eficiencias de atrapamiento de las formulaciones de micropartículas de PLGA. Las EE para R fueron alrededor del 50-70 %, resultando mayores en algunas formulaciones para PLGA 7525. La EE más alta obtenida para H fue alrededor del 20 %. El uso de doble emulsión o el agregado de polímeros (alginato o gelatina) no mejoraron el atrapamiento de H, casi la totalidad del antibiótico se encuentra en el sobrenadante. El atrapamiento mejoró con el agregado de las micropartículas de GEL-CHT que contienen H en la fase A_1 . Estas partículas se prepararon con una CF=40 %, de modo de poder incluir estas partículas en la fase A_1 (F_{47525}). El tamaño aproximado fue de 3-4 μm y las EE para H fueron muy buenas (80 – 100 %). Se muestran las imágenes de SEM de las micropartículas, la formulación F_{27525} (Figura 1a) presentan geometría esférica con escasos poros, F_{47525} (Figura 1b) presentan además bordes irregulares y las partículas de GEL-CHT son mayormente esféricas con presencia de otras estructuras (Figura 1c).





Tabla 1. Tamaño, CF y EE de las micropartículas de PLGA

PLGA 5050				Síntesis	PLGA 7525			
	Tamaño medio \pm SD (μm)	CF \pm SD (%)	EE \pm SD (%)		Tamaño medio \pm SD (μm)	CF \pm SD (%)	EE \pm SD (%)	
F1 5050	13,8 \pm 0,4	2,24 \pm 0,38(R) 0,70 \pm 0,03(H)	50,10 \pm 9,91(R) 11,43 \pm 5,68(H)	A ₁ /O/A ₂ ; Alginato de sodio al 2%	13,7 \pm 3,7	2,66 \pm 0,41(R) 0,35 \pm 0,21(H)	62,30 \pm 11,03(R) 5,67 \pm 3,49(H)	F1 7525
F2 5050	18,2 \pm 1,7	2,73 \pm 0,29(R) 0,99 \pm 0,03(H)	60,73 \pm 6,10(R) 15,04 \pm 2,38(H)	A ₁ /O/A ₂ ; Gelatina al 1%	14,4 \pm 2,3	3,06 \pm 0,11(R) 0,55 \pm 0,02(H)	67,25 \pm 4,31(R) 9,85 \pm 0,36(H)	F2 7525
				A ₁ /O/A ₂ ; 7525 1% + 40% H	12,0 \pm 4,0	2,85 \pm 0,15(R) 0,65 \pm 0,08(H)	63,33 \pm 3,28(R) 21,05 \pm 2,64(H)	F3 7525
				O/A; 7525 1% + 40% H	10,0 \pm 4,0	2,59 \pm 0,11(R) 0,58 \pm 0,19(H)	58,42 \pm 2,37(R) 21,61 \pm 6,97(H)	F4 7525

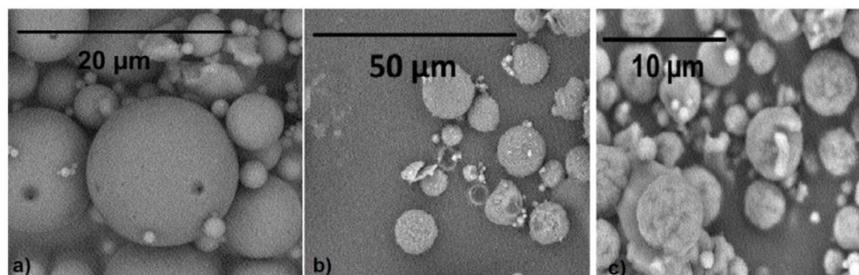


Figura 1. Imágenes obtenidas mediante SEM. **a)** Partículas de PLGA 7525 (F2₇₅₂₅), **b)** Partículas de PLGA 7525 sintetizadas con el agregado de micropartículas de GEL-CHT con H (F4₇₅₂₅), **c)** Partículas GEL-CHT con H.

En la Figura 2 se muestran los perfiles de liberación de las micropartículas. En las formulaciones de GEL-CHT, la H se liberó en su totalidad a las 2 h de iniciado el ensayo, esta rápida liberación podría atribuirse a una débil interacción entre los dos polímeros o a la hidratación de la GEL que es altamente hidrofílica. En cuanto a las formulaciones de PLGA, las partículas liberaron alrededor de 5-10 % de R en las primeras 2 h; luego con el cambio de pH, se logró una liberación hasta 20-25 %, siendo rápida y sostenida en F4₇₅₂₅, formulación que contiene las partículas de GEL-CHT. No se observó liberación de H en las condiciones experimentales realizadas. Esto podría deberse al recorrido que el fármaco deber realizar desde la fase hidrofílica interna hacia la matriz de PLGA y luego desde esta fase hidrofóbica hacia el medio de liberación.



Encuentro
de Jóvenes
Investigadores

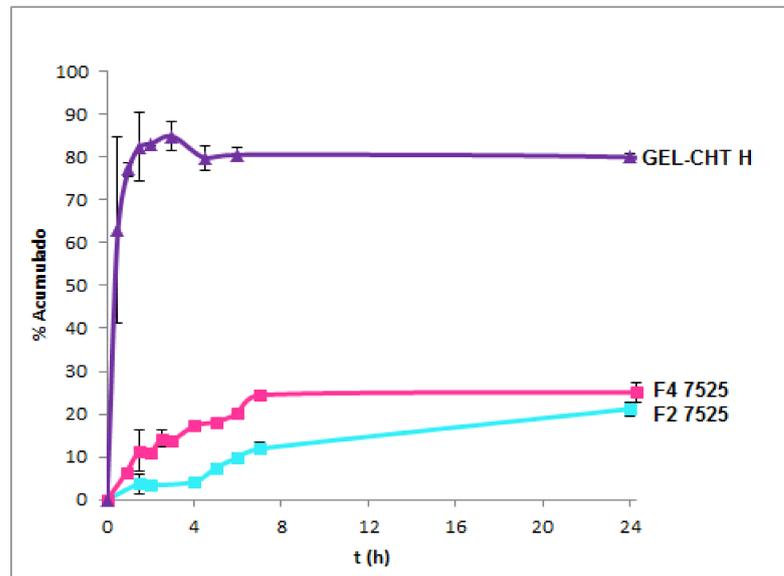


Figura 2. Perfiles de liberación R y H en Micropartículas de GEL-CHT y Micropartículas de PLGA. (■) R; (▲) H

CONCLUSIONES

Se evaluaron distintas estrategias para preparar micropartículas a base de PLGA que contengan ambos antibióticos. Se logró entrapar R con EE superiores al 50 % y se observó su liberación controlada por las propiedades de la formulación y el pH del medio. Se pudo mejorar el entrapamiento de H mediante el uso de una suspensión de partículas que ayudaron a retener al fármaco en el interior de la fase A₁. No obstante, no se observó la liberación del mismo durante los ensayos *in vitro*.

En el futuro, se optimizarán los sistemas hidrogeles particulados para lograr un mayor control de la liberación de H. De esta manera se tendrán partículas a base de GEL-CHT y PLGA con distintas cargas de H y R, que podrán combinarse en la preparación de coadministración.

BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

Park, H. K., Joo, W., Gu, B. K., Ha, M. Y., You, S. J., & Chun, H. J., 2018. Collagen/poly(d,l-lactic-co-glycolic acid) composite fibrous scaffold prepared by independent nozzle control multi-electrospinning apparatus for dura repair. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 66, 430-437.

Tejada, G., Lamas, M. C., Sortino, M., Alvarez, V. A., Leonardi, D., 2018. Composite microparticles based on natural mucoadhesive polymers with promising structural properties to protect and improve the antifungal activity of miconazole nitrate. *AAPS PharmSciTech*, 19, 3712-3722.

