

DISEÑO Y EVALUACIÓN DE PELÍCULAS (FILMS) POLIMÉRICAS PARA LIBERACIÓN CONTROLADA Y SOSTENIDA DE FÁRMACOS

Cárcoba Valadez, Jessica Alejandra (1), Rosillo de la Torre, Argelia (2)

1 [Licenciatura en Ingeniería Biomédica, División de Ciencias e Ingenierías, Campus León, Universidad de Guanajuato] | Dirección de correo electrónico: [ja.carcobavaladez@ugto.mx]

2 [Departamento de Ingenierías Química, Electrónica y Biomédica, División de Ciencias e Ingenierías, Campus León, Universidad de Guanajuato] | Dirección de correo electrónico: [rosillo.a@ugto.mx]

Resumen

Los sistemas de liberación de fármacos han sido estudiados durante las últimas décadas debido a las características físicas y químicas que poseen. Además, la extensa variedad de materiales con los que se pueden fabricar, permiten liberar concentraciones "constantes" de fármacos por periodos de tiempo prolongados, lo que los hace especialmente atractivos. En este trabajo se sintetizaron cuatro diferentes películas poliméricas (films) con y sin entrecruzante y, mediante microscopía óptica se midió el grosor medio ($\bar{e} = 0.582 \pm 0.002$ mm) y por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier, se identificaron las bandas de adsorción de los grupos funcionales presentes en los materiales. Posteriormente, se evaluó la cinética de liberación *in vitro* del fármaco, simulando condiciones fisiológicas (en buffer de fosfato (pH 7.4) y a 37.4°C), durante 24 h. El fármaco liberado se cuantificó mediante espectrofotometría UV/VIS. La cinética del diclofenaco de sodio (DS) liberado muestra que existe un mayor retenimiento del fármaco (25.64%) en las películas entrecruzadas y con mayor concentración de quitosano (Q).

Abstract

Drug release systems have been studied during the last decades due to their physical and chemical characteristics. In addition, they can be manufactured with a wide variety of materials which allow the release of "constant" drug concentrations for extended periods of time. In this work, four different polymeric films with and without crosslinker were synthesized. The average thickness of the films ($\bar{e} = 0.582 \pm 0.002$ mm) were measured by optical microscopy, additionally characteristic absorption bands of the vibrational modes of chemical bonds forming the material were identified by infrared spectroscopy by Fourier transform. Subsequently, the *in vitro* drug release kinetics were evaluated, simulating physiological conditions (in phosphate buffer (pH 7.4) and at 37.4°C), during 24 h. The released drug were quantified by UV / VIS spectrophotometry. The diclofenac sodium (DS) kinetics release showed a greater drug retention (%) in the crosslinked films with higher chitosan (Q) content.

Palabras Clave

Películas Poliméricas; Fármacos; Liberación; Quitosano; Alcohol Polivinílico; Diclofenaco sódico.

INTRODUCCIÓN

Los sistemas de liberación de fármacos basados en polímeros han sido estudiados durante las últimas décadas, el desarrollo de estas tecnologías es guiado por el deseo de aumentar la biodisponibilidad, la solubilidad de los fármacos y minimizar los efectos secundarios sistemáticos, lo que favorece la eficacia de los tratamientos farmacológicos y en consecuencia la supervivencia y calidad de vida de los pacientes [1].

Estas tecnologías han sido de interés debido a diferentes factores, en especial debido a su capacidad de liberar concentraciones "constantes" de fármacos por tiempos prolongados, así como a su versatilidad de presentaciones como, películas delgadas (films), geles, obleas, etc. Los polímeros usados en estos sistemas pueden ser materiales naturales o sintéticos, en su mayoría biodegradables. Entre los polímeros naturales que han sido investigados para la liberación de fármacos se encuentran los polisacáridos tales como ácido hialurónico [2], quitosano, etc.

Los materiales utilizados deben necesariamente ser de alta pureza para asegurar su biocompatibilidad, poco solubles, particularmente en solventes orgánicos y limitados oportunamente a cambios de composición polimérica [1]. El quitosano (Q), es un polisacárido compuesto por una distribución aleatoria de uniones β -(1-4) a D-glucosamina y N-acetil-D-glucosamina. Las bandas de adsorción características son 862, 1150, 1375, 1418, 2800-2900 cm^{-1} ; correspondientes a la flexión de OH fuera de órbita, tensión asimétrica del puente C-O-C, vibración de C-H y OH en anillo y vibración de estiramiento de C-H respectivamente [3].

Las películas poliméricas son una de las formas en las que se puede presentar un hidrogel. Los hidrogeles están compuestos de redes poliméricas reticuladas que cuentan con un alto número de dominios hidrofóbicos. Estas redes tienen alta afinidad por el agua, empero debido a los enlaces físicos y químicos presentes entre las cadenas poliméricas estos no se disuelven. El agua penetra estas redes causando un hinchamiento dándole su forma característica. Además, los hidrogeles cuentan con características atribuibles tales como los polímeros utilizados para su preparación como el alcohol polivinílico (PVA) el cual posee mucoadhesivos y bioadhesivos que realzan el tiempo de residencia del fármaco y la permeabilidad del tejido; llegando a ser dispositivos viables en la liberación de fármacos. Sus bandas de adsorción características son 1325, 1658 y 3278 cm^{-1} ; correspondientes a la vibración de Wagging de C-H y estiramiento de C=O y OH respectivamente [1-4].

El diclofenaco sódico (DS), es un antipirético, bien tolerado como agente antiinflamatorio no esteroideo con una potente actividad en el tratamiento de enfermedades reumáticas [5]. El DS es un ácido débil ($\text{pka} = 4.0$) [6] que puede detectarse a $\lambda = 276 \text{ nm}$ [7]. Las bandas espectrales características se encuentran a 748, 1577 y 3388 cm^{-1} ; las cuales corresponden a los modos vibracionales de estiramiento de los grupos fenilo sustituidos, fenilo y amino secundarios, respectivamente [8].

Los sistemas de liberación de fármacos durante las últimas décadas han sido tangibles debido a las características físicas y químicas que poseen, además de la extensa variedad de materiales con los que se pueden fabricar, atribuyéndoles específicamente el eluir y mantener la concentración del fármaco. En este trabajo se sintetizaron cuatro películas poliméricas (films) con y sin entrecruzante, cargadas y no con DS, las cuales se caracterizaron fisicoquímicamente y se evaluaron como sistemas de liberación prolongada de fármacos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de Películas Poliméricas

Se prepararon soluciones de quitosano de alto peso molecular (Sigma-Aldrich) en concentraciones de 1% y 2.5% peso/volumen (p/V) en ácido acético 0.4 M, solución acuosa de alcohol polivinílico [APV] (Sigma-Aldrich) al 8 % (p/V) y almidón dialdehído al 2% (p/V) en agua destilada utilizando autoclave (ALL AMERICAN), el cual

se usó como entrecruzante. Se llevaron a cabo las reacciones poliméricas con quitosano y PVA en relación 2:1 con las dos diferentes concentraciones de quitosano tal como se muestra en la tabla 1.

Los hidrogeles obtenidos fueron vertidos en moldes de 1 cm de diámetro (700 μ l por molde) y se secaron a 50°C durante 12 h en un horno por convección (estufa 0% humedad marca BINDER). Una vez concluido el proceso de secado fueron extraídas de los moldes, y se guardaron en bolsas de polietileno a temperatura ambiente hasta su evaluación. Todas las películas poliméricas se hicieron por triplicado.

Tabla 1. Descripción de las composiciones de cada una de las películas elaboradas. Los films se fabricaron por triplicado para su caracterización y liberación.

Quitosano (Q) [1%]	Quitosano (Q) [2.5%]	Alcohol Polivinílico [8%]	Entrecruzante	Diclofenaco Sódico
2 ml	--	1 ml	--	50 mg
2 ml	--	1 ml	10% (%Q)	50 mg
2 ml	--	1 ml	--	--
2 ml	--	1 ml	10% (%Q)	--
--	2 ml	1 ml	--	50 mg
--	2 ml	1 ml	10% (%Q)	50 mg
--	2 ml	1 ml	--	--
--	2 ml	1 ml	10% (%Q)	--

Caracterización fisicoquímica

Microscopía óptica

Se realizaron microscopías ópticas (objetivo 1X) de cada uno de los films con un microscopio óptico Nikon SMZ800 con la finalidad de medir el grosor medio de las películas poliméricas. Para lo cual se utilizó el programa ImageJ, conociendo el número de píxeles de la región de interés de cada una de las microscopías ópticas, se realizó una conversión (dónde para el objetivo 1X; 194 píxeles equivalen a un milímetro).

Espectrofotometría infrarroja por transformada de Fourier

Las películas poliméricas se caracterizaron mediante espectrometría infrarroja por transformada de Fourier. Para lo anterior, la película se pulverizó y se mezcló con bromuro de potasio (KBr) hasta formar una mezcla homogénea (film-KBr), posteriormente, utilizando una prensa se hizo una pastilla de film-KBr semitransparente en la que se lleva a cabo el análisis de espectrometría. El análisis se realizó mediante la técnica de reflectancia difusa en la región del medio infrarrojo (400–4000 cm^{-1}) en un espectrofotómetro de infrarrojo con transformada de Fourier Spectrum GX marca Perkin Elmer.

Evaluación de la cinética de liberación in vitro del fármaco

El ensayo para la determinación de la cinética de liberación in vitro del DS contenido en las películas se llevó a cabo siguiendo el procedimiento experimental. Una película se sumergió en 1 ml del buffer de fosfato (pH 7.4 y 37.4° C) que se usó como medio de liberación para el experimento. El experimento se realizó durante 24 h, en las cuales se tomaron muestras en lapsos de 15 minutos hasta completar la primera hora, enseguida se tomaron cada hora por 12 h y la última toma fue 24 h después del inicio del experimento. En cada uno de los tiempos evaluados, las muestras se decantaron y el medio de liberación fue remplazado con 1 ml de medio fresco para continuar el experimento.

El DS liberado se determinó mediante análisis espectrofotométrico (276 nm) usando un espectrofotómetro UV/VIS (Multiskan Go, ThermoScientific) y celdas de cuarzo; el fármaco liberado se cuantificó con base en una

curva de calibración realizada previamente. Para llevar a cabo el análisis espectrofotométrico, las muestras se diluyeron debido a que los valores de absorbancia medidos no estaban dentro del intervalo comprendido en la curva de calibración. Los experimentos se realizaron por triplicado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las películas sintetizadas mostraron una geometría circular con una superficie uniforme (figura 1i) y un grosor medio (de las todas las películas poliméricas fabricadas) de $\bar{e} = 0.582 \pm 0.002$ mm; los valores de grosores calculados para cada una de las películas poliméricas de muestra en el gráfico de la figura 1ii. Además de los espesores promedio de cada diferente película polimérica elaborada, de las cuales las más delgadas en comparación con el resto son las entrecruzadas, cuyo porcentaje de Q es del 2,5%, mientras que las más gruesas son las que contienen Q al 1% sin entrecruzar. La microscopía electrónica mostrada en la figura 1iii es una representación puntual de las diferentes espectroscopías realizadas, en la que además se indica el valor calculado de su grosor (e).

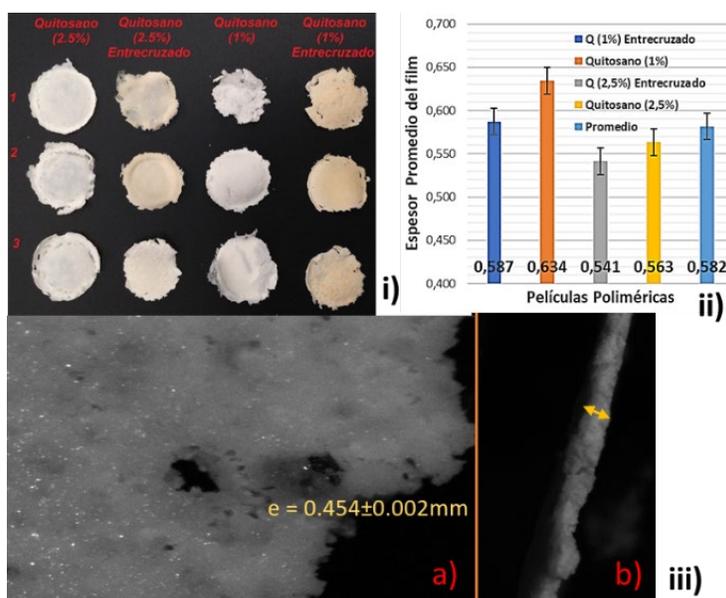


FIGURA 1: i) Imagen en la que se presentan las películas poliméricas cargadas con fármaco fabricadas. ii) Gráfico en el que se muestran los promedios del grosor de las diferentes los diferentes films fabricados, así como el valor promedio de todas las películas poliméricas elaboradas. iii) Microscopía óptica de película polimérica (Q 1%) entrecruzada y cargada DS, en la que me muestra el espesor calculado de la misma; a) vista frontal y b) vista transversal; utilizando objetivo 1X.

La espectroscopia infrarroja mostro las bandas de adsorción asociadas a los modos vibracionales, de estiramiento, tensión y flexión de los grupos funcionales presentes en los films (figura 2), de las cuales las de los grupos funcionales pertenecientes a quitosano y alcohol polivinílico permanecen constantes en todos los espectros lo cual era evidente encontrar.

Las espectroscopias correspondientes a las películas poliméricas cargadas con el fármaco además de mostrar las bandas de los films sin fármaco muestran de también las correspondientes a los grupos funcionales representativos que componen al diclofenaco sódico.

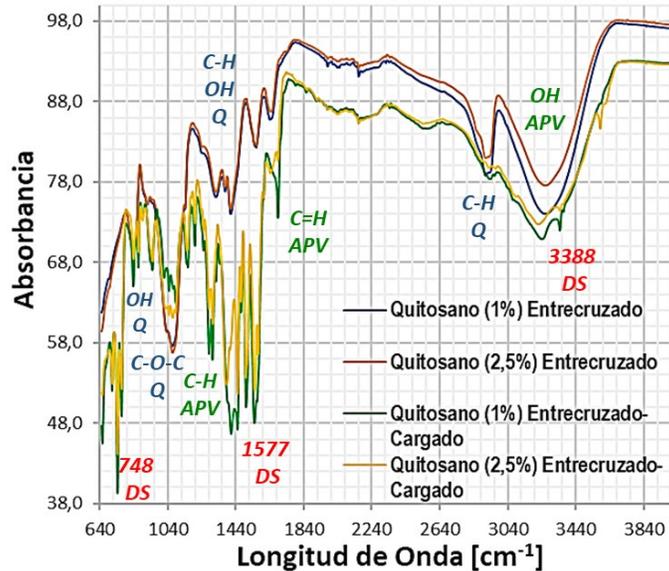


FIGURA 2: Espectros obtenidos por espectrometría infrarroja por transformada de Fourier donde se muestran las bandas de adsorción (longitudes de onda) asociadas a los modos vibracionales, de estiramiento, tensión y flexión de los grupos funcionales presentes en los films. Son evidentes las diferencias en los espectros correspondientes a las películas poliméricas cargadas con DS respecto a las películas sin DS cargado.

La curva de calibración con base a la cual se realizó la cuantificación del fármaco liberado se muestra en la figura 3, cuyo comportamiento es lineal y presenta un ajuste de $R^2 = 0.9984$.

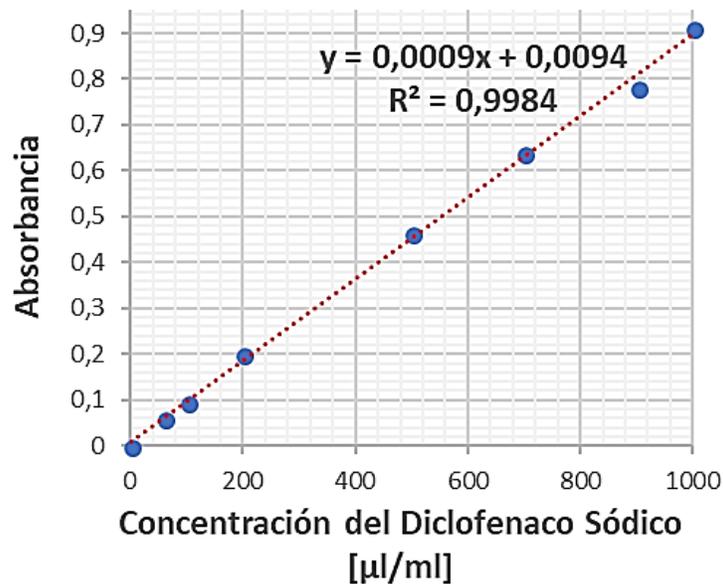


FIGURA 3: Curva de calibración para la cuantificación del fármaco liberado. Obtenida por espectrofotometría UV/VIS.

Los resultados obtenidos al realizar la cuantificación de DS liberado en el periodo de 24 h se presentan en la figura 4. En este gráfico observa que la cinética de liberación del fármaco durante la primera hora del experimento es mayor comparada con el resto del mismo; además de que es evidente que el comportamiento es el mismo, aunque, algunas difieren en la tasa de liberación, como es el caso de muestra de Q al 2.5% sin entrecruzar siendo la relativamente más rápida, mientras que por el contrario para el film que contiene el mismo porcentaje de Q, pero entrecruzado la cinética de liberación es más prolongada.

El comportamiento de la cinética liberación del DS durante el experimento en los films entrecruzados, se atribuye a la rigidez generada por la presencia del entrecruzante en el hidrogel; lo que involucra que el DS quede retenido por más tiempo en el film afectando así la tasa de liberación del fármaco.

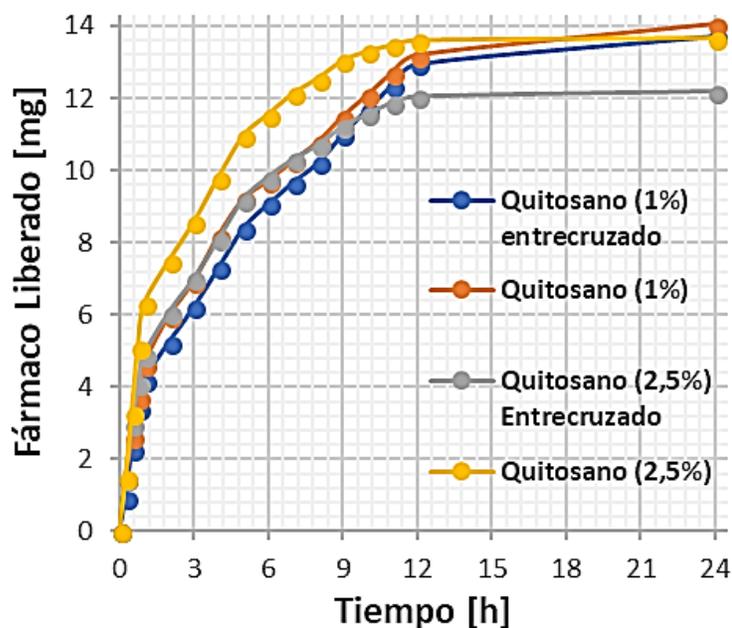


FIGURA 4: Gráfico en que se muestra la cinética promedio de liberación de DS en las diferentes películas poliméricas cargadas con DS con y sin entrecruzar.

CONCLUSIONES

Se sintetizaron, caracterizaron fisicoquímicamente y evaluaron películas poliméricas. En las que se evaluó y cuantificó la cinética de liberación del fármaco, en cuyo análisis se deduce que existe un mayor retenimiento del fármaco (25.64%) en las películas entrecruzadas, de las cuales, presentan una menor velocidad de liberación de DS las que tienen una mayor concentración de quitosano.

AGRADECIMIENTOS

A la División de Ciencias e Ingenierías, Campus León de la Universidad de Guanajuato por su hospitalidad y a los encargados de las instalaciones, especialmente de los laboratorios (Laboratorio de Biomateriales y Biomecánica y Laboratorio de Materia Blanda). A la Dirección de Apoyo a la Investigación y Posgrado (DAIP), por dar continuidad a este tipo de programas.

REFERENCIAS

- [1] Jesse B. Wolinsky, Yolanda L. Colson, Mark W. Grinstaff. (2012). Local drug delivery strategies for cancer treatment: gels, nanoparticles, polymeric films, rods and wafers. *Journal of controlled release*, 159(1), 14-26.
- [2] Al-Ghananeem, A. M., Malkawi, A. H., Muammer, Y. M., Balko, J. M., Black, E. P., Mourad, W., & Romond, E. (2009). Intratumoral delivery of paclitaxel in solid tumor from biodegradable hyaluronan nanoparticle formulations. *Aaps Pharmscitech*, 10(2), 410-417.
- [3] Bhattarai, N., Gunn, J., & Zhang, M. (2010). Chitosan-based hydrogels for controlled, localized drug delivery. *Advanced drug delivery reviews*, 62(1), 83-99.
- [4] Peppas, N. A., & Sahlin, J. J. (1996). Hydrogels as mucoadhesive and bioadhesive materials: a review. *Biomaterials*, 17(16), 1553-1561.
- [5] de Córdova, M. F., Barrales, P. O., & Díaz, A. M. (1998). Sensitive and selective determination of diclofenac sodium in pharmaceutical preparations by solid phase ultraviolet absorptiometry. *Analytica chimica acta*, 369(3), 263-268.
- [6] Willis, J. V., Kendall, M. J., Flinn, R. M., Thornhill, D. P., & Welling, P. G. (1979). The pharmacokinetics of diclofenac sodium following intravenous and oral administration. *European journal of clinical pharmacology*, 16(6), 405-410.
- [7] Desai, K. G., & Park, H. J. (2006). Study of gamma-irradiation effects on chitosan microparticles. *Drug delivery*, 13(1), 39-50.
- [8] Shen, X., Yu, D., Zhu, L., Branford-White, C., White, K., & Chatterton, N. P. (2011). Electrospun diclofenac sodium loaded Eudragit® L 100-55 nanofibers for colon-targeted drug delivery. *International journal of pharmaceutics*, 408(1-2), 200-207.