

Incorporación de carbamazepina funcionalizada en hidróxidos dobles laminares

Peralta, Ma. Florencia ^a; Granero, Gladys E. ^b; Arguello Dalma S^a, Crivello, Mónica E. ^a y Mendieta, Silvia N. ^a

^a Centro de Investigación y Tecnología Química – CONICET – UTN, Córdoba, Argentina

^b Unidad de Investigación y Desarrollo en Tecnología Farmacéutica – CONICET – UNC, Córdoba

e-mail: smendieta@frc.utn.edu.ar

Resumen

Actualmente la quimioterapia aplicada en tumores genera efectos secundarios no deseados. Los hidróxidos dobles laminares (HDL), son nanoarcillas aniónicas que actúan como transportadores y protectores de principios activos durante la circulación sanguínea y los liberan dentro de los tumores, presentándose como una posible solución a dichos tratamientos. Otra vía en consideración es el estudio de nuevas moléculas con potencial anticancerígeno. La carbamazepina (CBZ) por ejemplo es un medicamento antiepiléptico que ha mostrado eficacia en líneas celulares cancerosas de mama y colon. Los HDL están formados por láminas positivas estabilizadas por un espacio aniónico. Los fármacos pueden insertarse en dicho espacio, para lo cual necesitan tener carga negativa. La CBZ es una molécula neutra, que puede funcionalizarse con surfactantes negativos. Con esta perspectiva, se propuso incorporar CBZ funcionalizada en HDL.

Se estudió la solubilidad de CBZ con surfactantes aniónicos como: lauril sulfato de sodio (SLS) y sulfobutiléter7 β -ciclodextrina (CD). Las muestras con mayor solubilidad se centrifugaron y el sobrenadante se utilizó para incorporar CBZ mediante el método de reconstrucción, haciendo uso de la propiedad del material llamada efecto memoria. Los sistemas obtenidos se analizaron mediante DRX y FTIR, y el contenido de fármaco incorporado se midió mediante UV/vis. La variación en la masa de HDL utilizada no influyó significativamente en la incorporación de CBZ y se observaron espaciamentos interlaminares a menores valores en 2θ , indicio de que la CBZ funcionalizada se incorporó en el sólido anfitrión. Las muestras con SLS mostraron mayor capacidad de carga de CBZ.

Abstract

Currently, the chemotherapy applied in tumors generates non-desired side effects. The layered double hydroxides (LDH) are anionic nanoclays that act as transporters and protectors of the drugs during blood circulation and release them in the tumors, introducing themselves as a possible solution to those treatments. Another consideration is the study of new molecules with anticancer potential. The carbamazepine (CBZ), for example, is an antiepileptic medicine that has shown efficacy in breast and colon cancer cell lines. The LDH are composed of positive layers stabilized by an anionic space. The drugs can be incorporated into that space, for which they need a negative charge. The CBZ is a neutral molecule that can be functionalized with anionic surfactants. With this perspective, it was proposed to incorporate functionalized CBZ into LDH.

The solubility of CBZ was studied with anionic surfactants: sodium lauryl sulfate (SLS) and sulfobutylether7 β -cyclodextrin (CD). The samples with higher solubility were centrifuged and the supernatant was used to incorporate the CBZ by the reconstruction method, making use of the material property called memory effect. The obtained systems were analyzed by XRD and FTIR, and the incorporated drug loading was measured by UV/vis. The variation in the mass of LDH used did not significantly influence the incorporation of CBZ and interlaminar spaces at lower values in 2θ were observed, indicating that the functionalized CBZ was incorporated into the host solid. The samples with SLS showed a higher loading capacity of CBZ.

Palabras clave

Hidróxidos dobles laminares, carbamazepina, administración de fármacos, nanoarcillas.

INTRODUCCIÓN

Actualmente, el cáncer es la segunda causa de muerte en el mundo, lo que lo convierte en uno de los objetivos de estudio más importantes de la medicina moderna. En Argentina, el cáncer de mama es el de mayor incidencia (17% del total de tumores malignos), seguido por el colorrectal (13%) y el cáncer de próstata (9%) [1]. Al presente, uno de los principales tratamientos contra el cáncer es la quimioterapia, que consiste en el uso de fármacos que atacan predominantemente las células cancerosas de crecimiento rápido. A pesar de los últimos avances, queda mucho por mejorar ya que, debido a su baja selectividad, el tratamiento da lugar a multitud de efectos secundarios. La toxicidad asociada al medicamento, y que produce efectos adversos como náuseas, vómitos y anemia, limitan su eficacia [2].

Otro obstáculo serio para muchas drogas efectivas contra el cáncer es la escasa solubilidad en agua y la baja biodisponibilidad; muchas requieren un vehículo para dirigirse en el organismo al lugar de acción correctamente. En este sentido la nanotecnología y los nanomateriales juegan un papel preponderante en el avance del conocimiento del tema. Los nanomateriales son materiales con al menos una dimensión en el rango de la nanoescala [3], lo que les otorga características físicas y químicas inusuales, incluido el efecto cuántico, alta reactividad y relación de área de superficie-volumen.

En las últimas décadas, se han desarrollado muchos sistemas de administración de fármacos para mejorar la eficacia de los agentes quimioterapéuticos. Entre estos, las nanopartículas de polímeros y micelas y los liposomas son los más destacados [4-6]. Los nanosistemas inorgánicos se están convirtiendo en fuertes competidores debido a sus grandes ventajas, tales como gran superficie, mejor capacidad de carga del fármaco, mejor biodisponibilidad, menores efectos secundarios tóxicos y liberación controlada del fármaco [7-10].

Entre los nanosistemas inorgánicos se encuentran los Hidróxidos Dobles Laminares (HDL), nanoarcillas compuestas por láminas catiónicas de unos pocos nanómetros. Para compensar esas cargas, se requieren aniones que residen en la zona interlaminar, junto con moléculas de agua. La capacidad de intercambio aniónico de los HDL y el hecho que sean biocompatibles los hace aptos para ser

empleados dentro del campo farmacéutico como antiácidos [11], matrices de fármacos que posean propiedades definidas para liberación controlada de los mismos. Los sistemas de liberación controlada de fármacos pretenden reducir la frecuencia de la dosis suministrada, minimizar las fluctuaciones en el nivel plasmático y sérico y lo que es más importante, eliminar o minimizar los efectos secundarios produciendo una concentración terapéutica del fármaco que sea estable en el organismo. Las nanoarcillas HDL permiten la liberación de medicamentos con respuesta al pH, eficiente penetración de la membrana celular, buen escape endosómico, biodegradación en el citoplasma de la célula (pH entre 4 y 6) y, sobre todo, la velocidad de liberación del fármaco se puede ajustar cambiando el anión entre capas [12-14].

Otro desafío en el campo de la quimioterapia es encontrar nuevos fármacos anticancerígenos. Con este objetivo, drogas aprobadas para otro tipo de enfermedades se están ensayando en diferentes tumores. La Carbamazepina (CBZ) es un anticonvulsivo que se usa para tratar la epilepsia, y ha mostrado actividad contra el cáncer de mama y de colon *in vitro* [15, 16]. Sin embargo, también produce alteraciones en los glóbulos rojos [17].

Hasta el momento, sólo se ha evaluado el uso de nanoarcillas como vehículos de anticancerígenos en los pocos fármacos aniónicos existentes, que son metotrexato, cisplatino, 5- fluorouracil y doxorubicina [18-20]. Sin embargo, no se han estudiado compuestos con actividad anticancerígena pero sin carga neta. La funcionalización de estas moléculas con surfactantes aniónicos como el lauril sulfato de sodio o la ciclodextrina podría ampliar el campo de aplicación de estas nanoarcillas.

La CBZ tiene carga neta cero y es poco soluble en agua. Algunos autores han aumentado su solubilidad al acomplejarla con D-gluconolactona [21], polímeros [22], ciclodextrinas [23], lauril sulfato de sodio y tween 80 [24]. Algunos trabajos incorporaron CBZ en matrices como silicas [25] o nanotubos de carbón [26] para la remediación del agua; sin embargo, no hay estudios que incorporen CBZ en HDL ni en sistemas diseñados para incrementar su actividad anticancerígena.

En el presente trabajo, proponemos usar CBZ como fármaco con potencial anticancerígeno; funcionalizarlo con lauril sulfato de sodio y sulfobutiléter7 β -ciclodextrina que pueden aumentar su solubilidad en agua y darle carga

negativa, e incorporarlo en nanoarcillas tipo HDL, que pueden evitar sus efectos secundarios durante la circulación sanguínea y aumentar su actividad en las células tumorales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Carbamazepina grado USP (Parafarm) provista por Saporiti, Argentina. Sulfobutiléter- β -ciclodextrina fue donada por Captisol® y Sodio lauril sulfato (95%) Cicarelli, $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (98%) se adquirió en Sigma Aldrich, St. Louis, USA. $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (98%) y NaOH (97%) de Biopack y Etanol grado absoluto de Sintorgan®.

Curvas de solubilidad

Se disolvieron cantidades crecientes de CD (0,25 gr, 0,5 gr y 0,75 gr) en 5 mL de agua ultrapura (5%, 10% y 15% p/v de CD). Bajo agitación magnética a temperatura ambiente, se adicionó 0.05 gr de CBZ y se dejó la agitación durante tiempos crecientes (3 h, 24 h y 48 h). Se centrifugó y midió la concentración de CBZ disuelta en el sobrenadante mediante espectrofotometría UV/vis (espectrofotómetro Perse T7DS) a una longitud de onda de 285 nm.

El mismo procedimiento se realizó con cantidades crecientes de SLS (0,025 gr, 0,05 gr y 0,1 gr) en 5 mL de agua ultrapura (0,5%, 1% y 2% p/v de SLS).

Síntesis de los materiales

Los HDL se prepararon por coprecipitación de los nitratos de Mg y Al. Para esto, se prepararon soluciones de $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (0,3 M) y $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,6 M) en 25 mL de agua ultrapura con una relación molar Mg:Al = 2. Las soluciones se agregaron a 20 mL de agua con una velocidad de 1 mL/min, bajo agitación magnética constante. La coprecipitación se realizó a 70°C con atmósfera de nitrógeno para evitar el ingreso de CO_2 . El pH se mantuvo en $10 \pm 0,2$ mediante el agregado de NaOH 2 M. La suspensión resultante se agitó durante 48 hs, se centrifugó y lavó con agua bidestilada hasta llegar a pH 7 y se dejó secar a temperatura ambiente. Esta muestra se denominó HDL y corresponde al sólido anfitrón. Para la incorporación de CBZ, se calcinó parte del anfitrón a 450°C por 9 h y se almacenó a 120°C.

La CBZ se disolvió en base a los resultados obtenidos en las curvas de solubilidad: se disolvió 4,2 gr de CD ó 0,6 gr de SLS en 28 mL de agua

ultrapura (15% de CD y 2% de SLS) bajo agitación magnética, a temperatura ambiente y con atmósfera de nitrógeno. Se agregó 0,2 gr de CBZ y se dejó en agitación durante 3 h la muestra con CD y 24 h la muestra con SLS. Se centrifugó y se separó el sobrenadante.

La CBZ disuelta se incorporó en los HDL mediante el método de reconstrucción. Para ello 8 mL del sobrenadante se introdujo en un balón con agitación magnética, atmósfera de nitrógeno y 40°C de temperatura. Se agregó cantidades crecientes de HDL calcinada (47 mg, 70 mg y 94 mg), correspondientes a una relación molar Al:CBZ 1:1, 1,5:1 y 2:1. Se dejó en agitación durante 48 h, se centrifugó, se lavó con 15 mL de agua ultrapura y se dejó secar a temperatura ambiente. Las muestras obtenidas se denominaron HDL(1)-surfactante-CBZ, HDL(1,5)-surfactante-CBZ y HDL(2)-surfactante-CBZ.

Caracterización de los materiales

Los patrones de difracción de rayos X (DRX) se recolectaron en el difractor X'Pert Pro-PAnalytical con radiación $\text{Cu K}\alpha$ ($\lambda = 1,54 \text{ \AA}$), con una velocidad de 3°/min en 2θ y un paso de 0.02° en el rango entre 2° y 15° y un paso de 4,25 s y 0.026° en 2θ , continuo, en el rango entre 4° y 65°.

Los espectros infrarrojos por transformada de Fourier (FTIR) se obtuvieron en el espectrofotómetro Nicolet iS10 a temperatura ambiente. Las muestras se prepararon con KBr y se comprimieron en un disco con una prensa a 4 toneladas. El espectro de cada muestra se recolectó acumulando 48 escaneos, con una resolución de 2 y 4 cm^{-1} .

El contenido de CBZ en los HDL se determinó mediante espectrofotometría UV/vis. Una cantidad conocida de sistema (1 mg) se colocó en un matraz de 5 mL y se agregó 2,5 mL de HCl 1 M para disolver las láminas inorgánicas. Se agregó etanol hasta completar el volumen final. La concentración de CBZ en la solución se determinó a 285 nm mediante una curva de CBZ en HCl:etanol 1:1 v:v. El valor informado es el promedio de tres ensayos independientes. El contenido de CBZ se obtuvo de acuerdo a la concentración de CBZ en la solución y al peso del compuesto (Ecuación 1).

$$\text{Contenido CBZ (\%)} = \frac{\text{cantidad de CBZ}}{\text{peso del compuesto}} \times 100 \quad (1)$$

RESULTADOS

Con el fin de mejorar la solubilidad de CBZ en agua, se realizaron curvas de solubilidad con CD

y SLS. El agregado de cantidades crecientes de CD aumentó la solubilidad de la CBZ de manera linealmente proporcional (Figura 1). La máxima solubilidad obtenida fue de 20 mM, con el agregado de CD al 15 % p/v. El ensayo se realizó a distintos tiempos de agitación, y no se observaron diferencias significativas, por lo que se decidió trabajar con el tiempo mínimo de 3 h. Smith y col. [27] obtuvieron una solubilidad similar (22,9 mM) con 15% p/v de CD pero luego de 72 h de agitación.

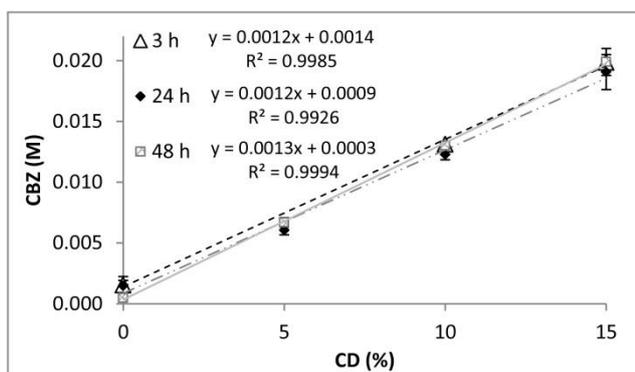


Figura 1: Curvas de solubilidad CBZ con CD.

El agregado de cantidades crecientes de SLS también aumentó la solubilidad de la CBZ de manera linealmente proporcional (Figura 2). La máxima solubilidad se obtuvo con el agregado de SLS al 2% p/v. Sin embargo, en este caso los tiempos de agitación sí influyeron en los resultados. La solubilidad de CBZ máxima fue de 20 mM, al igual que la obtenida con CD, y se logró con 24 h de agitación. Estos resultados son similares a los obtenidos por Li y col. [24], que obtienen una solubilidad de 9,4 mM con SLS al 1% p/v luego de 72 h de agitación.

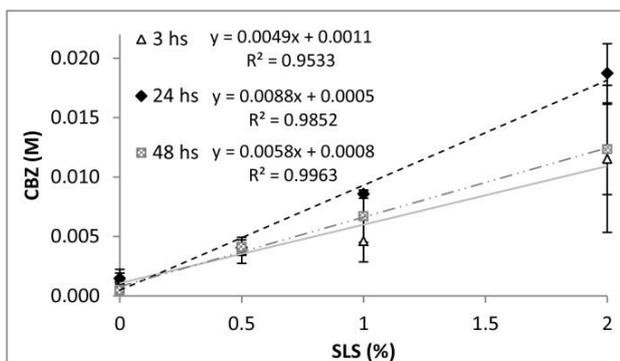


Figura 2: Curvas de solubilidad CBZ con SLS.

En base a los resultados anteriores, se realizaron soluciones de CBZ con CD al 15% p/v

con 3 h de agitación y con SLS al 2% p/v con 24 h de agitación. Estas soluciones se centrifugaron para eliminar restos de fármaco no disuelto y se usaron para incorporar la droga en las nanoarcillas. Se utilizó el método de reconstrucción y cantidades crecientes de HDL.

La Figura 3 muestra los patrones de difracción de rayos X de las muestras con CD. Todos los sólidos muestran una estructura cristalina, aunque con láminas poco ordenadas como las del anfitrión, observable en $2\theta = 60^\circ$. La presencia de la CD se observa en $2\theta = 20-25^\circ$. En las muestras con CBZ y CD, el pico correspondiente al espacio interlamilar del anfitrión, estabilizado con NO_3 , disminuye de intensidad, y aparecen dos nuevos espacios, en ~ 11 y ~ 21 Å (Tabla 1), lo que confirma la incorporación del fármaco/CD en los HDL.

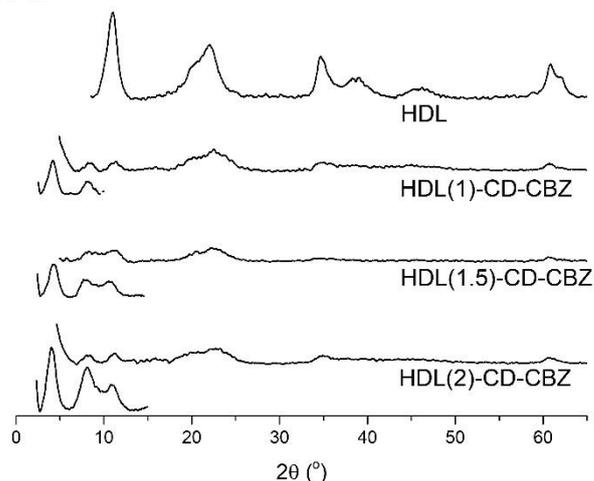


Figura 3: Difracción de rayos X de compuestos con CD y distintas cantidades de HDL.

En la muestra HDL(2)-CD-CBZ se observa picos de mayor intensidad y levemente corridos a la izquierda respecto a las otras dos sólidos sintetizados. Sin embargo, el contenido de CBZ es de $\sim 3\%$ en todas las muestras, independientemente de la cantidad de HDL utilizada durante la síntesis (Tabla 1).

Tabla 1: Espacio interlamilar de los HDL y contenido de CBZ.

	Espacio interlamilar (Å)	Contenido de CBZ (%)
HDL	8,0	--
HDL(1)-CD-CBZ	8,0; 10,8 y 21	2,92 ± 0,27
HDL(1,5)-CD-CBZ	8,0; 10,6 y 21	2,84 ± 0,14
HDL(2)-CD-CBZ	8,0; 10,9 y 22,1	3,34 ± 0,10
HDL(1)-SLS-CBZ	7,6, 15,2 y 30,4	9,23 ± 0,60
HDL(1,5)-SLS-CBZ	7,7, 15,2 y 30,4	10,29 ± 0,60
HDL(2)-SLS-CBZ	14,7 y 30,4	9,35 ± 0,27

La Figura 4 muestra los patrones de difracción de rayos X de las muestras con SLS. En dichas muestras se observa poca definición de la estructura laminar en los picos en 2θ a $20-25^\circ$ y 35° , debido a la presencia del surfactante. El pico correspondiente al espacio interlaminar basal de los NO_3^- ($2\theta \approx 11^\circ$), disminuye de intensidad notablemente en las muestras HDL(1)-SLS-CBZ y HDL(1,5)-SLS-CBZ, y desaparece en la muestra HDL(2)-SLS-CBZ. Además, en los tres sólidos sintetizados aparecen picos en $2\theta \approx 4$ y 7° , correspondientes a distancias interlaminares de ~ 30 y 15 \AA respectivamente (Tabla 1). Dicho aumento y desplazamiento indica que la CBZ/SLS se incorporó en las nanoarcillas. En cuanto al contenido de fármaco, la muestra HDL (1,5)-SLS-CBZ mostró la máxima incorporación (10,3%, Tabla 1), por lo que ésta sería la muestra seleccionada para continuar los ensayos.

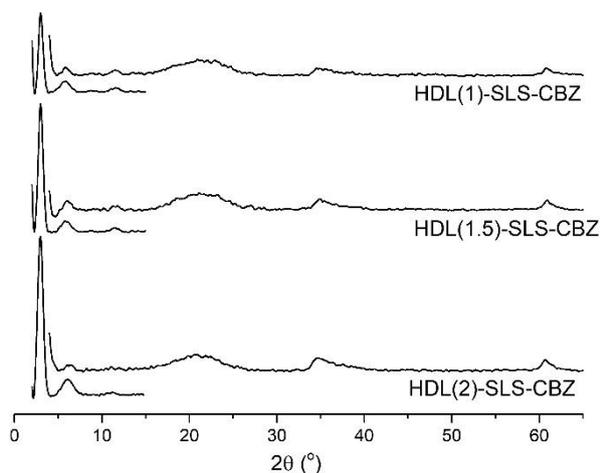


Figura 4: Difracción de rayos X de compuestos con SLS y distintas cantidades de HDL.

En los espectros de FTIR (Figura 5), se observa la vibración ν_3 del NO_3^- (1384 cm^{-1}) que se encuentra en el espacio interlaminar está disminuida en el compuesto con CBZ/SLS respecto al sólido anfitrión. Esto concuerda con lo observado por DRX. Estos iones fueron reemplazados por la CBZ, cuyos picos característicos se observan en 1597 cm^{-1} (deformación N-H) y en 1685 cm^{-1} (estiramientos C=O), y por el SLS, cuyos picos se observan en 1222 cm^{-1} (estiramientos asimétricos de SO_2) y en 1070 cm^{-1} (estiramientos simétricos de SO_2). Además, la flexión de las moléculas de agua (banda en 1638 cm^{-1}) presentes en los HDL anfitriones desaparece en la muestra con fármaco. El pico en 448 cm^{-1} se debe a las vibraciones metal- O^{2-} .

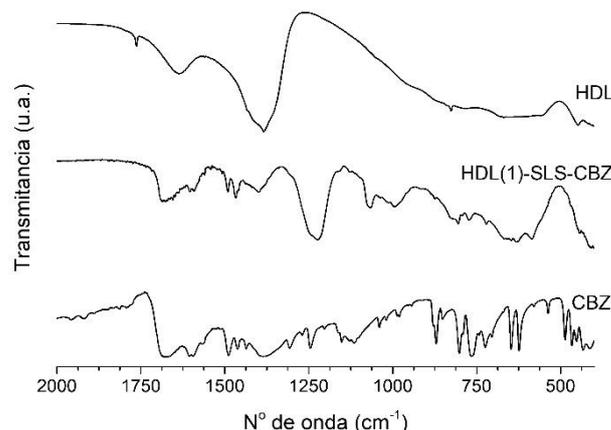


Figura 5: Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier de compuestos con SLS.

CONCLUSIONES

La CBZ se disolvió en igual concentración con CD y con SLS. El agregado de estos surfactantes, además introdujo cargas negativas que permitieron la incorporación del fármaco en el HDL. Las muestras con SLS mostraron un contenido de fármaco superior a las muestras con CD, y se requiere menor porcentaje de ingredientes extra en la formulación. Estos resultados, junto con los patrones de rayos X y FTIR, muestran que la formulación HDL-SLS-CBZ es prometedora para el tratamiento de tumores sólidos, por lo que los ensayos subsiguientes serán realizar experimentos que muestren su eficacia en células cancerosas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el soporte financiero proveniente del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), de la Universidad Tecnológica Nacional (UTN) y de la Universidad Nacional de Córdoba (UNC).

REFERENCIAS

- [1] <https://www.argentina.gob.ar/salud/instituto-nacional-del-cancer/estadisticas/incidencia>, 18/3/2021.
- [2] Hurria, A.; Togawa, K.; Mohile, S.G.; Owusu, C.; Klepin, H.D.; Gross, C.P.; Lichtman, S.M.; Gajra, A.; Bhatia, S.; Katheria, V. (2011). Predicting chemotherapy toxicity in older adults with cancer: a prospective multicenter study. *Journal of Clinical Oncology*, 29(25), 3457–3465.
- [3] Coussens L. M. y Werb, Z. (2002) Inflammation and Cancer. *Nature*, 420(6917), 860-867

- [4] Yang, Y.; Pan, D.; Luo, K.; Li, L.; Gu, Z. (2013). Biodegradable and amphiphilic block copolymer-doxorubicin conjugate as polymeric nanoscale drug delivery vehicle for breast cancer therapy. *Biomaterials*, 34(33), 8430–8443.
- [5] Yang, G.; Wang, J.; Wang, Y.; Li, L.; Guo, X.; Zhou, S. (2015). An Implantable Active-Targeting Micelle-in-Nanofiber Device for Efficient and Safe Cancer Therapy. *ACS Nano*, 9(2), 1161–1174.
- [6] Nicolas, J.; Mura, S.; Brambilla, D.; Mackiewicz, N.; Couvreur, P. (2013). Design, functionalization strategies and biomedical applications of targeted biodegradable/biocompatible polymer-based nanocarriers for drug delivery. *Chemical Society Reviews*, 42, 1147–1235.
- [7] Hanafi-Bojd, M.Y.; Reza, M.; Ramezani, N.; Xue, M.; Amin, M.; Shahtahmasebi, N.; Malaekheh-Nikouei, B. (2015). Surface functionalized mesoporous silica nanoparticles as an effective carrier for epirubicin delivery to cancer cells. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 89, 248–258.
- [8] Yu, S.; Gao, X.; Baigude, H.; Hai, X.; Zhang, R.; Gao, X.; Shen, B.; Li, Z.; Tan, Z.; Su, H. (2015). Inorganic Nanovehicle for Potential Targeted Drug Delivery to Tumor Cells, Tumor Optical Imaging. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 7(9), 5089–5096.
- [9] Lu, J.; Liong, M.; Zink, J. I.; Tamanoi, F. (2007). Mesoporous silica nanoparticles as a delivery system for hydrophobic anticancer drugs. *Small Nano-Micro*, 3(8), 1341–1346.
- [10] Naz, S.; Shamoan, M.; Wang, R.; Zhang, L.; Zhou, J.; Chen, J. (2019). Advances in Therapeutic Implications of Inorganic Drug Delivery Nano-Platforms for Cancer. *International Journal of Molecular Science*, 20(4), 965.
- [11] Parashar, P.; Sharma, V.; Dayal Agarwal, D.; Richhariya, N. (2012). Rapid synthesis of hydrotalcite with high antacid activity. *Materials Letters*, 74, 93–95.
- [12] Mishra, G.; Dash, B.; Pandey, S. (2018). Layered double hydroxides: A brief review from fundamentals to application as evolving biomaterials. *Applied Clay Science*, 153, 172–186.
- [13] Choy, J. H.; Oh, J. M.; Choi, S. J.; Ducheyne, P. (2017). Layered Double Hydroxides as Controlled Release Materials. *Comprehensive Biomaterials II*, 705–718.
- [14] Senapati, S.; Thakur, R.; Verma, S. P.; Duggal, S.; Mishra, D. P.; Das, P.; Shripathi, T.; Kumar, M.; Rana, D.; Maiti, P. (2016). Layered double hydroxides as effective carrier for anticancer drugs and tailoring of release rate through interlayer anions. *Journal of Controlled Release*, 224, 186–198.
- [15] Meng, Q.; Chen, X.; Sun, L.; Zhao, C.; Sui, G.; Cai, L. (2011). Carbamazepine promotes Her-2 protein degradation in breast cancer cells by modulating HDAC6 activity and acetylation of Hsp90. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 348(1-2), 165–171.
- [16] Akbarzadeh, L.; Moini Zanjani, T.; Sabetkasaei, M. (2016). Comparison of Anticancer Effects of Carbamazepine and Valproic Acid. *Iranian Red Crescent Medical Journal*, 18, e37230–e37230.
- [17] Ficarra, S.; Misiti, F.; Russo, A.; Carelli-Alinovi, C.; Bellocco, E.; Barreca, D.; Laganà, G.; Leuzzi, U.; Toscano, G.; Giardina, B.; Galtieri, A.; Tellone, E. (2013). Antiepileptic carbamazepine drug treatment induces alteration of membrane in red blood cells: Possible positive effects on metabolism and oxidative stress. *Biochimie*, 95(4), 833–841.
- [18] Yan, L.; Gonca, S.; Zhu, G.; Zhang, W.; Chen, X. (2019). Layered double hydroxide nanostructures and nanocomposites for biomedical applications. *Journal of Materials Chemistry B*, 7, 5583–5601.
- [19] Kim, T.-H.; Lee, G. J.; Kang, J.-H.; Kim, H.-J.; Kim, T.-I.; Oh, J.M. (2014). Anticancer Drug-Incorporated Layered Double Hydroxide Nanohybrids and Their Enhanced Anticancer Therapeutic Efficacy in Combination Cancer Treatment. *BioMed Research International*, 193401.
- [20] Kim, H.-J.; Jeung, D.-G.; Oh, J.-M. (2021). Boosting the anticancer activity of doxorubicin with a layered double hydroxide nanocarrier. *Applied Clay Science*, 203, 106000.
- [21] Moradiya, H. G.; Nokhodchi, A.; Bradley, M. S. A.; Farnish, R.; Douroumis, D. (2016). Increased dissolution rates of carbamazepine - gluconolactone binary blends processed by hot melt extrusion. *Pharmaceutical Development and Technology*, 21(4), 445–52.
- [22] Yamashita, H.; Sun, C. C. (2019). Expedited Tablet Formulation Development of a Highly Soluble Carbamazepine Cocrystal Enabled

by Precipitation Inhibition in Diffusion Layer. *Pharmaceutical Research*, 36, 90.

- [23] Abou-Taleb, H. A.; Fathalla, Z.; Abdelkader, H. (2020). Comparative studies of the effects of novel excipients amino acids with cyclodextrins on enhancement of dissolution and oral bioavailability of the non-ionizable drug carbamazepine. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 155, 105562.
- [24] Li, M.; Qiao, N.; Wang, K. (2013). Influence of sodium lauryl sulfate and tween 80 on carbamazepine-nicotinamide cocrystal solubility and dissolution behaviour. *Pharmaceutics*, 5, 508–524.
- [25] Suriyanon, N.; Punyapalakul, P.; Ngamcharussrivichai, C. (2013). Mechanistic study of diclofenac and carbamazepine adsorption on functionalized silica-based porous materials. *Chemical Engineering Journal*, 214, 208–218.
- [26] Wei, H.; Deng, S.; Huang, Q.; Nie, Y.; Wang, B.; Huang, J.; Yu, G. (2013). Regenerable granular carbon nanotubes/alumina hybrid adsorbents for diclofenac sodium and carbamazepine removal from aqueous solution. *Water Research*, 47(12), 4139–4147.
- [27] Smith, J. S.; MacRae, R. J.; Snowden, M. J. (2005). Effect of SBE7- β -cyclodextrin complexation on carbamazepine release from sustained release beads. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 60, 73–80.