

SINTESIS, CARACTERIZACION Y APLICACIÓN DEL NANOMATERIAL LP-SBA-15 EN LA LIBERACION CONTROLADA DE KETOROLAC TROMETAMINA.

Jorgelina Cussa^{a*}, Juliana M. Juarez^a, Marcos B. Gomez Costa^a

^a*Centro de Investigación en Nanociencia y Nanotecnología (NANOTEC), Facultad Regional Córdoba, Universidad Tecnológica Nacional, Maestro López y Cruz Roja Argentina, 5016, Córdoba, Argentina.*

**E-mail: jcussa@frc.utn.edu.ar*

Resumen

Los sistemas controlados de administración de fármacos pueden mantener la concentración de medicamentos en los sitios exactos del cuerpo dentro del rango óptimo y por debajo del umbral de toxicidad, mejorando la eficacia terapéutica y reduciendo la toxicidad. El material LP-SBA-15 es un nuevo huésped prometedor para los sistemas de administración de fármacos debido a su alta biocompatibilidad, biodegradabilidad in vivo y baja toxicidad. Se sintetizó el composite ketorolac-trometamina/LP-SBA-15. La síntesis del material y la carga de ketorolac-trometamina en los poros LP-SBA-15 fue exitosa, como lo demuestran los análisis XRD, FTIR, TGA, TEM y análisis morfológicos. Obtuvimos resultados prometedores para la liberación controlada de fármacos utilizando el nuevo material. La aplicación de estos materiales en la liberación de KETO es innovadora, logrando una alta tasa de liberación inicial y luego manteniendo una liberación más lenta. Esto permite mantener la concentración del fármaco dentro del rango de eficacia terapéutica, siendo altamente aplicable para el tratamiento de enfermedades que necesitan una respuesta rápida.

Palabras clave: LP-SBA-15, ketorolac trometamine, composite nanoestructurado, sistema de liberación de fármacos, nanomedicina.

Abstract

Controlled drug delivery systems can maintain the concentration of drugs in the exact sites of the body within the optimum range and below the toxicity threshold, improving therapeutic efficacy and reducing toxicity. LP-SBA-15 material is a new promising host for drug delivery systems due to high biocompatibility, in vivo biodegradability and low toxicity. Ketorolac-Tromethamine/LP-SBA-15 composite was synthesized. The material synthesis and loading of ketorolac-tromethamine into LP-SBA-15 pores were successful as shown by XRD, FTIR, TGA, TEM and textural analyses.

We obtained promising results for controlled drug release using the novel material. The application of these materials in KETO release is innovative, achieving an initial high release rate and then maintaining a slower release. This allows keeping drug concentration within the range of therapeutic efficacy, being highly applicable for the treatment of diseases that need a rapid response.

Keywords: LP-SBA-15, ketorolac tromethamine, nanostructured composite, drug delivery system, nanomedicine.

Estamos dispuesto a someter el trabajo al volumen especial dedicado al CICAT 2020 en alguna de las revistas internacionales: Catalysis Today o Topics in Catalysis en caso de que los revisores y el comité científico seleccionen su trabajo.

1. Introducción

Los materiales mesoestructurados representan una nueva generación de sólidos porosos que se caracterizan por poseer poros regulares en el rango de tamaño de los nanómetros (2-50 nm) y susceptibles de modulación en función de las necesidades de cada aplicación mediante diferentes procedimientos de síntesis. Las características son su gran desarrollo superficial, sus estructuras de poro definidas y su gran capacidad para la adsorción de sustratos orgánicos lo que les confiere un gran potencial para su aplicación en procesos de tratamiento de efluentes.

El concepto de Nanotecnología engloba aquellos campos de la ciencia y la técnica en los que se estudian, se obtienen y/o manipulan de manera controlada materiales, sustancias y dispositivos de muy reducidas dimensiones, en general inferiores a la micra, es decir, a escala nanométrica. El ámbito de la Nanotecnología incluye, además de las áreas del saber relacionadas con su origen, otros campos en su comienzo más alejados, pero para los que ya tiene una gran importancia, como son la Biología, la Medicina o el Medio Ambiente. A partir de los primeros informes de materiales mesoporosos por C. Kresge [1] se abrieron nuevos campos de exploración en la química de inclusión intra-cristal [2]. Generar materiales con propiedades mecánicas, físicas y químicas optimizadas que puedan ser controladas inteligentemente en un amplio rango constituye un objetivo científico / tecnológico atrayente por lo que resultan una opción atractiva para conseguir sistemas bien definidos que permitan el estudio detallado de propiedades fundamentales y que ya poseen una aplicación prácticamente directa en diferentes problemas tecnológicos [3-4], como aplicaciones de nano-bioingeniería como lo es “la liberación modificada de drogas” [5].

La tecnología de liberación controlada de fármaco está creciendo en importancia en las modernas industrias de medicamentos y productos farmacéuticos. La Nanotecnología permite que la liberación del fármaco sea mínimamente invasiva ya que posibilita la fabricación de dispositivos a escala nanométrica, tamaño que permite a estos dispositivos atravesar poros y membranas celulares. Otra gran ventaja es que se ve incrementada la efectividad del medicamento mediante el control preciso de la dosis requerida y del tamaño, la morfología y las propiedades superficiales del compuesto [6], la protección de fármacos sensibles de la degradación enzimática o

ácida en el tracto gastrointestinal [7]. La administración de fármacos es un campo emergente centrado principalmente en la dirección de fármacos [8]. Los sistemas de liberación controlada de fármacos pueden lograr una liberación en tiempo y lugar precisa de agentes terapéuticos al sitio de destino, manteniendo la concentración de fármacos en los sitios puntuales del cuerpo dentro de la gama óptima y bajo el umbral de toxicidad, mejorando la eficacia terapéutica y reducir la toxicidad [9]. La nanotecnología aplicada en la administración de fármacos, el diagnóstico y el desarrollo de fármacos representan el cambio en la medicina de este siglo. Este campo va a producir resultados significativos; por lo tanto, el fármaco se controla durante días o incluso semanas, dependiendo de la enfermedad que debe ser tratada. Los vehículos de administración de fármacos en forma de nanopartículas pueden ser sólidos orgánicos o inorgánicos, biocompatibles y no tóxicos. Estos nuevos sistemas permiten la absorción del fármaco en una forma controlada y con menos efectos secundarios adversos [10]. En los últimos años, la atención se ha dirigido significativamente a la nanociencia y la nanotecnología. La administración de fármacos basados en nanomateriales se ha puesto en relieve por los investigadores académicos e industriales.

Ketorolac trometamina (KETO) es un derivado de ácido carboxílico de los AINE pirrolizina con potente actividad analgésica y anti-inflamatoria moderada; siendo un agente terapéutico relativamente favorable para el tratamiento de dolor moderado a severo. Los efectos beneficiosos de KETO probablemente son resultado de su capacidad para bloquear la síntesis de prostaglandinas mediante la prevención de la conversión de ácido araquidónico a endoperóxidos. Por ejemplo, el peso por peso KETO resultó ser 50 veces más potente que el naproxeno en modelos de analgesia, pero sólo 3 veces más potente en modelos de inflamación. Esta notable disociación entre efectos analgésicos y anti-inflamatorios ha proporcionado la base para el desarrollo de la droga como un excelente anti-inflamatoria y analgésica. En el ámbito clínico, sin embargo, ketorolac se ha identificado como una causa que contribuye al aumento de la hemorragia postoperatoria, el fallo renal y gastritis; la severidad de estos efectos secundarios es, probablemente relacionada con la dosis [10].

El objetivo principal de este estudio son determinar la capacidad adsorción y las

propiedades de almacenamiento de la LP-SBA-15/KETO y la liberación logrando la eficacia terapéutica requerida.

2. Experimental

2.1. Material. Síntesis del LP-SBA-15:

Con el objetivo de sintetizar el material mesoporoso SBA-15 con tamaños de poros de mayor tamaño que para una SBA-15 convencional, se siguió un método que utiliza un agente expensor de miscelas [11]. Brevemente, se disolvieron 2,4 g del agente plantilla (en este caso, el copolímero Pluronic 123, Aldrich) y 0,027 g de NH₄F en 85 ml de HCl (1,3 M) a temperatura ambiente. La solución resultante se transfirió a un baño de agua a 17 °C. Después de 1 h, se añadieron 5,5 ml de tetraetilortosilicato (TEOS, Aldrich) y 1,2 ml de 1,3,5-triisopropilbenceno (TIPB, Aldrich). Las soluciones se agitaron mecánicamente durante 24 h en condiciones de temperatura constante. Las suspensiones blancas resultantes se envejecieron a 100°C (LP) en condiciones estáticas y presión autógena durante 24 h. Los productos sólidos se recuperaron por filtración, y para eliminar el agente plantilla se calentó el sólido obtenido bajo un flujo de N₂, a 20 mL/min a 470°C y luego se calcina a 550°C en aire durante 6 h.

2.2. Impregnación:

El fármaco (ketorolac trometamina) se disolvió en 20 ml de etanol con agitación vigorosa a 37 °C (35 mg/ml). Después de disolución completa, se añadió el material mesoporoso de sílice (15 mg/ml) con agitación vigorosa. La mezcla se mantuvo bajo agitación continua a temperatura ambiente durante 24 h en un reactor cerrado para evitar la evaporación de etanol. Después, la muestra se filtró y se secó durante 24 horas a 37 °C. Las muestras fueron nombrados LP-SBA-15 / KETO.

2.3. Liberación:

La liberación del fármaco se evaluó reproduciendo las condiciones fisiológicas, sumergiendo el composite en una solución de HCl (0,1 M) las primeras dos horas y en solución Buffer pH=7 las horas siguientes, para reproducir el fluido gástrico e intestinal respectivamente; todo el ensayo a 37 °C bajo agitación continua. Se realizaron estudios de liberación con el fin de evaluar la eficacia terapéutica requerida. Se realizaron ensayos independientes a tiempos determinados, en los cuales se recogieron y se filtraron muestras de 5mL. El análisis se realizó

por espectrofotometría UV-Vis para evaluar la cantidad de KETO liberado a $\lambda=346$ nm. Además, una solución de referencia en solución de HCl (0,1 M) y Buffer pH=7, con diferentes cantidades de KETO se preparó con el fin de generar la curva patrón de absorbancia frente a la concentración.

2.4. Caracterización

Se realizaron ensayos XRD, TEM y estudios morfológicos del hospedaje LP-SBA-15 y del composite LP-SBA-15/KETO.

La figura 1 muestra el patrón de difracción de Rayos X a bajo ángulo de las muestras. El patrón de XRD para el hospedaje LP-SBA-15 exhibe un fuerte pico de reflexión (1 0 0) y dos pequeños picos (picos-segundo y tercer orden correspondiente a los planos de difracción (1 1 0) y (2 0 0)). Estos picos pueden ser indexados con una estructura cristalográfica hexagonal del grupo P6mm. [12]. En el caso del composite LP-SBA-15/KETO, el patrón de difracción muestra un ligero ensanchamiento del pico de reflexión, así como también un corrimiento hacia mayores valores de 2θ . Este comportamiento puede atribuirse a una ligera distorsión de los canales mesoporosos debido a la incorporación del fármaco dentro de los canales del hospedaje.

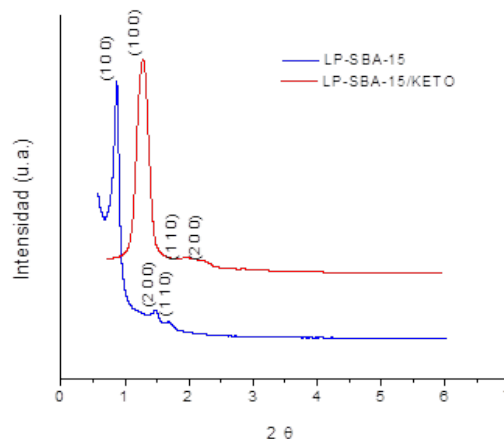


Figura 1. Patrón de difracción de rayos X de LP-SBA-15 y del composite LP-SBA-15/KETO

El patrón de difracción de rayos X a alto ángulo permite determinar la cristalinidad del fármaco en el interior del material mesoporoso LP-SBA-15. En la Figura 2 se puede observar que el hospedaje LP-SBA-15 presenta un comportamiento amorfo, mientras que el fármaco puro exhibe picos característicos debido a su naturaleza cristalina [13]. Por otro lado, el composite LP-SBA-

15/KETO muestra algunos picos característicos del Keto, lo que podría indicar que el fármaco incorporado en el hospedaje permanece en la forma cristalina. Es probable que el KETO incluido en los canales de la LP-SBA-15 se ordena en forma distinta o presente un cambio de fase.

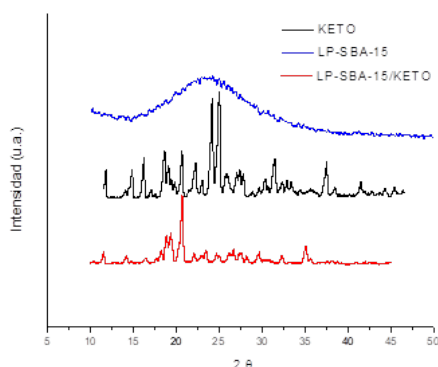


Figura 2. Patrón de difracción de rayos X de LP-SBA-15 y del composite LP-SBA-15/KETO

La tabla 1 resume las propiedades texturales del hospedaje LP-SBA-15 y del composite LP-SBA-15/KETO, incluyendo área superficial (BET), Volumen de poros y diámetro de poro. Como se puede observar hay una reducción significativa de esos parámetros lo que indicaría que el fármaco se encuentra en los poros del hospedaje.

Tabla 1. Propiedades texturales de las muestras.

Muestra	Área BET m ² /g	V _p (cm ³ g ⁻¹) Volumen de mesoporo	Diámetro de poro (nm)
LP-SBA-15	436	1,1	12
LP-SBA-15/KETO	250	0,8	7.5

La figura 3 muestra las imágenes TEM de dichos materiales. El hospedaje muestra un arreglo de nanocanales mesoporosos ordenados con un diámetro de 11-12 nm. Por otro lado, la muestra con la droga adsorbida mantiene la mesoestructura ordenada del hospedaje.

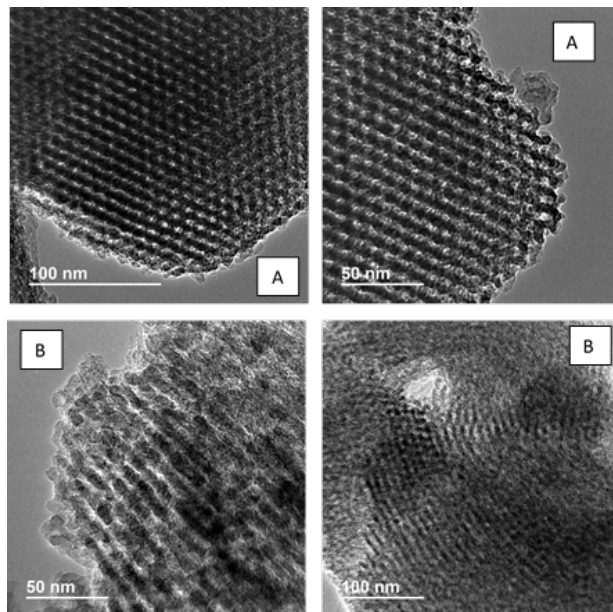


Figura 3. Imágenes TEM de A) LP-SBA-15 y de B) LP-SBA-15/KETO

3. Resultados y discusión

Liberación de Ketorolac-Thrometamina contenida en LP-SBA-15: La liberación del fármaco se realizó las primeras dos horas en HCl 1 M y luego en buffer pH=7 para imitar el fluido gástrico e intestinal respectivamente.

Los modelos utilizados para ajustar el mecanismo de liberación de Ketorolac de la matriz de la LP-SBA-15 son el modelo cinético de primer orden, el modelo de Higuchi, el modelo de Schott, el modelo de Weibull y el modelo de Ritger y Peppas. Estos modelos matemáticos son los más comunes y los más utilizados para determinar el mecanismo de liberación de un medicamento desde un sistema de administración[14-23].

El mecanismo de liberación del fármaco desde la matriz LP-SBA-15 se evaluó ajustando los datos experimentales por los modelos matemáticos antes referenciados. Para ello se utilizó mínimos cuadrados y el método de Levenberg-Marquardt para minimizar la función objetivo. Los resultados se muestran en la figura 4.

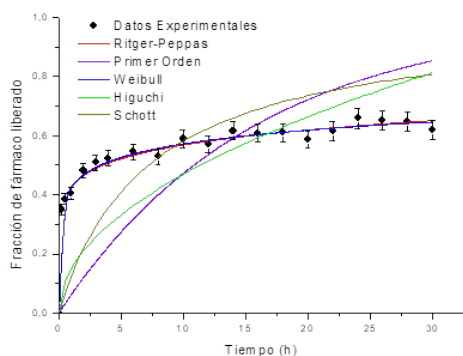


Figura 4. Ajuste de datos experimentales mediante los modelos matemáticos de primer orden, Higuchi, Schott, Weibull y Ritger-Peppas

Podemos observar que el mejor modelo para ajustar los datos experimentales es el de Ritger-Peppas seguido por el modelo de Weibull confirmado por el coeficiente de determinación R^2 , este valor es muy cercano a uno, lo que indica una alta significancia del modelo. Por lo tanto, los otros modelos (Primer Orden, Higuchi y Schott) no explican adecuadamente los datos de liberación controlada de drogas obtenidos en este estudio.

En la tabla 2 se pueden observar el valor de los coeficientes y el valor del coeficiente de determinación para cada modelo para los modelos de Ritger-Peppas y Weibull.

Tabla 2. Coeficientes de ajuste y coeficiente de determinación de modelos.

Modelo Matemático	Parámetros de ajuste	Coefficiente de determinación (R^2)
Weibull	T= 0.00 a=1.80 b=0.19	0.97
Ritger-Peppas	k=0.43 n=0.12	0.98

Podemos observar que el mejor modelo para ajustar los datos experimentales es el de Ritger-Peppas seguido por el modelo de Weibull confirmado por el coeficiente de determinación R^2 , este valor es muy cercano a uno, lo que indica

una alta significancia del modelo. Por lo tanto, los otros modelos (Primer Orden, Higuchi y Schott) no explican adecuadamente los datos de liberación controlada de drogas obtenidos en este estudio.

En la figura 5 podemos ver la liberación del Ketorolac-Trometamina de la matriz porosa de la LP-SBA-15 en el tiempo determinados para los dos medios de liberación presentando dos controles, el de administración desde pastillas (Dolten) y la disolución directa del fármaco.

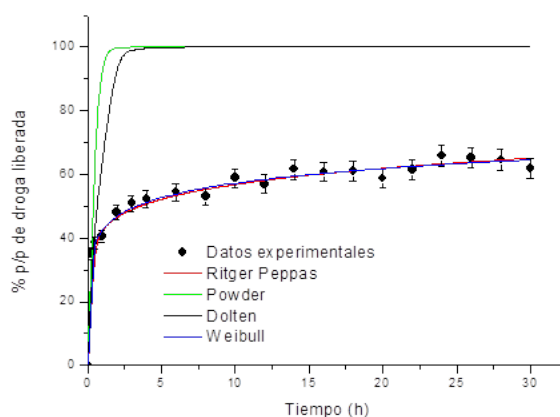


Figura 5. Liberación de ketorolac contenida en LP-SBA-15 con el ajuste de Ritger-Peppas y Weibull y controles.

Como podemos ver existe una liberación rápida al principio para luego seguir liberando de manera más lenta. La liberación inicial es rápida y puede atribuirse al hecho de que moléculas de Ketorolac están ubicadas en la superficie externa de la sílice o están a la salida de los mesoporos. Sin embargo, después de la entrega rápida inicial, se encuentra una liberación más lenta del medicamento residual más voluminoso. La morfología de la superficie y la matriz LP-SBA-15 permite una liberación gradual a tiempos altos. Los grupos químicos de la superficie (como los grupos Si-OH) [24], los sitios de anclaje de la superficie y la posición de los grupos oxigenados en la estructura de los poros de los silicatos nanoestructurados determinan su fuerza de adsorción cuando se usan como adsorbentes en soluciones acuosas. Es interesante observar que la velocidad de liberación está influenciada por los enlaces formados a través de las moléculas y el material del fármaco y por la difusión a través de la porosidad del hospedaje.

4. Conclusiones

En este trabajo, mostramos un prometedor material de almacenamiento de fármaco para la encapsulación efectiva y la liberación controlada de KETO, logrando la eficacia terapéutica requerida. Los estudios indican que el KETO se adsorbió en la superficie del canal de la LP-SBA-15 sin afectar la estructura o composición química del KETO. También se demuestra la capacidad de almacenamiento y propiedades de liberación de la LP-SBA -15 que contienen KETO. Existe una liberación rápida al principio para luego seguir liberando de manera más lenta. La liberación del KETO contenido en LP-SBA -15 puede ofrecer una significativa mejorara en la liberación controlada de fármacos y mejorando el efecto analgésico.

5. Agradecimientos

JC, JJ y MGC investigadores CONICET, UTN-FRC. Los autores agradecen PICT 2014-1740 PICT 2016-1135

6. Referencias

[1] C. Kresge, M. Leonowicz, W.Roth, J.Vartuli, J. Beck, *Nature* 359 (1992) 710.
 [2] K. Moller, T. Bein, R. Fischer, *Chem. Mater.*, 10 (1998) 2950.
 [3] A.E.S.F.A. el Ela, M.A. Hassan, D.A. El-Maraghy. *Saudi Pharm. Jour.*, 22 (2014) 349-359.
 [4] S. Zhua, C. Chena, Z. Chenb, X. Liua, Y. Li, Y. Shia, D. Zhanga. *Materials Chemistry and Physics* 126 (2011) 357–363.
 [5] J.M. Juárez, J. Cussa, M.B. Gómez Costa, O.A. Anunziata, *Current Nanoscience*, 14 (2018) 1-8.
 [6] K.E. Uhrich, S.M. Cannizzaro, R.S. Langer, K.M. Shakesheff. *Chemical Reviews*, 99 (1999) 3181-3198.
 [7] X.P. Qiu, S. Leporatti, E. Donath, H. Möhwald. *Langmuir*, 17 (2001) 5375-5380.
 [8] P.A. Tran, L. Zhang, T.J. Webster. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 61 (2009) 1097–1114.
 [9] S. Wang. *Microp. and Mesop.*, Mat. 117 (2009).
 [10] R. Bawa, *Nanomed. NBM.*, 2,3 (2007) 351–374.
 [11] L. Cao, T. Man, M. Kruk, *Chem. Mater*, 21 (2009) 1144-1153.
 [12] J.M. Juárez, M.B. Gómez Costa, O.A. Anunziata, *International Journal of Energy Research*, 39 (2015) 128–139.

[13] A.P. Rokhade, S.A. Agnihotri, S.A. Patil, N.N. Mallikarjuna, P.V. Kulkarni, T.M. Aminabhavi, *Carbohydrate Polymers*, 65 (2006) 243–252.
 [14] B. Narashimhan, S.K. Mallapragada, N.A. Peppas, *Release kinetics, data interpretation, in: Encyclopedia of controlled drug delivery*, Mathiowitz E. Ed., John Wiley and Sons, Inc, New York 1999.
 [15] T. Higuchi, *J. Pharm. Sci.*, 50, (1961) 874–875.
 [16] T. Higuchi, *J. Pharm. Sci.*, 52, (1963) 1145–1149.
 [17] M. Grassi, G. Grassi, *Curr. Drug Deliv.* 2, (2005) 97.
 [18] H. Schott, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 81 (1992) 467-470.
 [19] W. Weibull, *J. Appl. Mech.*, 18 (1951) 293–297.
 [20] F. Langenbucher, *J. Pharm. Pharmacol*, 24 (1972) 979–981.
 [21] P. Costa, J.M. Sousa Lobo, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13 (2001) 123–133.
 [22] W. Kormeyer, Robert Gurny, Eric Doelker, Pierre Buri, Nikolaos A. Peppas, *Journal of Pharmaceutics*, 15 (1983) 25-35.
 [23] P.L. Ritger, N.A. Peppas, *Journal of Controlled Release*, 5 (1987) 37-42.
 [24] O.A. Anunziata, M.B. Gómez Costa, M.L. Martínez, *Catal. Today*, 133-135 (2008) 897- 905.