



Sistema de liberación controlada de fármacos: Espuma mesoporosa MCF-Clorambucilo

Juliana M. Juárez, Jorgelina Cussa, Oscar A. Anunziata and Marcos B. Gómez Costa.

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: jjuares@frc.utn.edu.ar.

Palabras Claves: MCF, CLORAMBUICLO, SISTEMA DE LIBERACION DE FARMACOS.

Resumen

La espuma celular mesoestructurada (MCF) es un material prometedor para los sistemas de administración de fármacos dado a la alta biocompatibilidad, biodegradabilidad y baja toxicidad. Sus propiedades incluyen una gran área superficial, poro grande uniforme.

En este trabajo, la espuma mesoporosa MCF fue sintetizada con éxito para su aplicación en nanotransportadores de fármacos, específicamente de Clorambucilo, obteniendo el composite MCF-CBL. La síntesis del material mesoporoso y el proceso de incorporación de Clorambucilo en los poros de la MCF fueron exitosos tal como se muestra en los análisis de XRD, FTIR, TEM y análisis de propiedades texturales.

La liberación del fármaco se realizó simulando las condiciones fisiológicas para reproducir las condiciones del organismo. Se evaluó el mecanismo de liberación del fármaco en el hospedaje MCF-CLB. Se utilizaron diferentes modelos matemáticos para ajustar los datos experimentales, el mejor modelo que describe el fenómeno en estudio durante todo el período es el modelo de Weibull. Los resultados auspiciosos que obtuvimos para la liberación del fármaco utilizando el nuevo material, la principal ventaja de esta liberación es que la velocidad de liberación es rápida al inicio y luego disminuye gradualmente hasta que se liberan 24 h prácticamente todo el fármaco contenido en el portador. (> 95%).

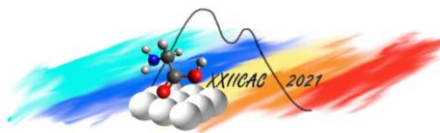
Abstract

Mesostructured cellular foam (MCF) is a promising material for drug delivery systems due to its high biocompatibility, biodegradability, and low toxicity. Its properties include a large surface area, uniform large pore.

In this work, the MCF mesoporous foam was successfully synthesized for its application in drug nanocarriers, specifically Chlorambucil, obtaining the MCF-CLB composite. The synthesis of the mesoporous material and the process of incorporation of Chlorambucil in the pores of the MCF were successful as shown in the XRD, UV Vis Ref. Difusa, TEM analysis and analysis of textural properties.

The release of the drug was conducted by simulating the physiological conditions to reproduce the conditions of the organism. The mechanism of drug release from the MCF-CLB host was evaluated. Different mathematical models were used to adjust the experimental data, the best model describing the phenomenon under study over the entire period is the Weibull model. The auspicious results we attained for the release of the drug using the new material, the main advantage of this release is that the rate of release is fast at the beginning and then gradually decreases until 24 h practically all the drug contained in the carrier is released (>95%).

The summary must reflect the general content of the article with the main details of the experimental part, results, and conclusions.



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. Los materiales con diámetros de poro superiores a 5 nm ofrecen una superficie accesible a la mayoría de los contaminantes orgánicos en fase acuosa y presentan, por tanto, nuevas perspectivas para su utilización en procesos de adsorción o catalíticos entre otros.

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].

El clorambucilo (CLB), es una sustancia clasificada como carcinógeno humano [6], se utiliza como fármaco de quimioterapia administrado para el tratamiento de algunos tipos de cáncer. Se utiliza principalmente para tratar la leucemia linfocítica crónica, el linfoma no Hodgkin de bajo grado, el linfoma de Hodgkin y el cáncer de ovario. Químicamente, es ácido 4- [4-bis (2-cloroetil) aminofenil] butírico. Tiene un resto de mostaza nitrogenada (ClCH_2CH_2) 2N -, que se une a la posición p del núcleo de benceno del ácido 4-fenil butírico y L-fenilalanina.

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 [7], la protección de fármacos sensibles de la degradación enzimática o ácida en el tracto gastrointestinal y el enmascaramiento de olores peculiares [8]. La administración de fármacos es un campo emergente centrado principalmente en la dirección de fármacos [9]. Los sistemas de liberación controlada de fármacos pueden lograr la entrega espacial y temporal precisa de agentes terapéuticos al sitio de destino, manteniendo la concentración de fármacos en los sitios precisos del cuerpo dentro de la gama óptima y bajo el umbral de toxicidad, mejorando la eficacia terapéutica y reducir la toxicidad [10]. La nanotecnología aplicada en la administración de fármacos, el diagnóstico y el desarrollo de fármacos representan el cambio en la medicina en el siglo XXI. Diversos materiales nanoestructurados se produjeron y se aplican a la administración de fármacos tales como nanopartículas, nanocápsulas, nanotubos, micelas, microemulsiones y liposomas [11].

Experimental

Síntesis de la Espuma MCF

La síntesis del material tipo MCF se realizó según el procedimiento descrito por Meynen y col. [11]. Para la síntesis se usó una solución de NH_4F y mesitileno. Bromuro de cetil trimetil amonio (CTAB) fue utilizado como tensioactivo y ortosilicato de tetraetilo (TEOS) como fuente de sílice. En primer lugar, CTAB se disolvió en agua bajo agitación, a continuación, se añadió la cantidad requerida de ácido clorhídrico a esta solución, se agitó para dar una solución incolora. Finalmente, se añadió una mezcla de mesitileno y ortosilicato de tetraetilo lentamente durante un período de 30 minutos bajo agitación. La mezcla se mantuvo a temperatura ambiente durante toda la noche y se observaron dos capas el día siguiente: una capa inferior sólida y una solución transparente superior. Posteriormente se filtró, se lavó con agua desionizada varias veces y se secó a 40°C durante 6 h. Los materiales secos de color blanco, se calcinaron a 600°C durante 8 h en aire. La temperatura del horno se incrementó a una velocidad de $2^\circ\text{C} / \text{min}$.

Adsorción - Liberación

La droga Clorambucilo (CLB) fue adsorbido utilizando etanol como disolvente. Obteniendo el composite: MCF-CLB. Las propiedades fisicoquímicas y texturales de los materiales puros y del composite se caracterizaron por: difracción de rayos X, análisis termogravimétrico, microscopía electrónica de transmisión, espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier y estudios de superficie BET.

La liberación del fármaco se evaluó para cada material reproduciendo las condiciones fisiológicas, sumergiendo el composite en una solución de HCl (0,1 M) las primeras dos horas y en solución Buffer $\text{pH}=7$ las horas siguientes, para reproducir las condiciones del organismo; todo el ensayo a 37°C bajo agitación continua.

Se realizaron estudios de liberación con el fin de evaluar la eficacia terapéutica requerida. En diferentes momentos, se recogieron y se filtraron muestras de 5mL. El análisis se realizó por espectrofotometría UV-Vis para evaluar la cantidad de CLB liberado a $\lambda=258 \text{ nm}$. Además, se preparó una solución de referencia en solución de HCl (0,1 M) y Buffer $\text{pH}=7$, con diferentes cantidades de CLB con el fin de generar la curva patrón de absorbancia frente a la concentración.

Resultados y discusión

Se realizaron ensayos XRD, UV-Vis Ref difusa, TEM y estudios morfológicos del hospedaje MCF y del composite MCF-CLB.

La Figura 1 muestra los patrones XRD de ángulo bajo del hospedaje MCF y del composite MCF-CLB. En ambas muestras, el patrón está bien resuelto y muestra un pico fuerte en $2\theta \approx 0.4$ y dos picos débiles en ángulos más altos [12]. La incorporación de CLB en el huésped no provocó modificaciones significativas en la estructura mesoporosa de la MCF.

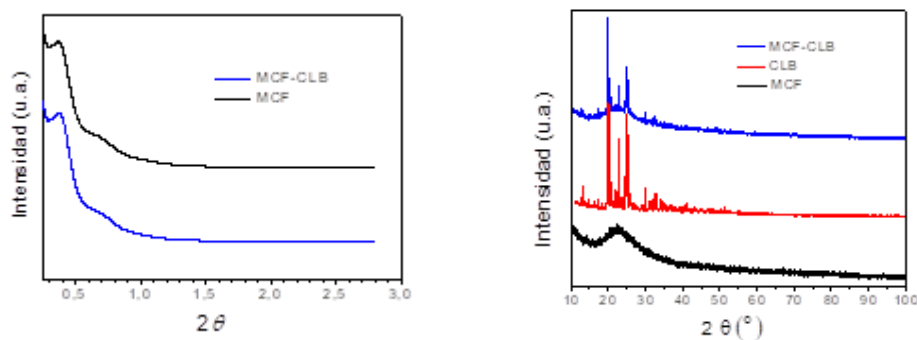


Figura 1: patrón de Rayos X del hospedaje y del composite.

En el caso del **patrón** de difracción a alto **ángulo**, el hospedaje MCF presenta picos de **reflexión** anchos en el rango de 2θ a $20-25^\circ$, que corresponden a la naturaleza mesoporosa del mismo [13]. El patrón del composite MCF-CLB presenta los picos característicos de CLB, esto indica que el fármaco está presente en los poros de la espuma mesoporosa, con su estructura cristalina. Por otro lado, después de la adsorción del fármaco, el hospedaje MCF mantuvo la estructura mesoporosa característica.

La Tabla 1 resume las propiedades texturales del hospedaje MCF y del composite MCF-CLB, 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.

Material	Área BET (m ² /g)	Vol. Total de poros (cm ³ /g)	Vol. Mesoporos (cm ³ /g)	Vol. Microporos (cm ³ /g)	Diámetro de poro (nm)
MCF	641.5	2.5	2.45	0.05	17
MCF-CLB	153.8	0.9	0.9	0	15.2

La Figura 2 muestra las imágenes TEM de ambos materiales MCF (a) y MCF-CLB (b). En el caso del hospedaje, presenta una naturaleza porosa bien ordenada de espumas mesoporosas. La estructura mesoporosa general del MCF se mantuvo prácticamente sin cambios después de la incorporación de CLB, lo que indica que esta incorporación no ha modificado la estructura mesoporosa del hospedaje, lo que está de acuerdo con los estudios de XRD y propiedades texturales.

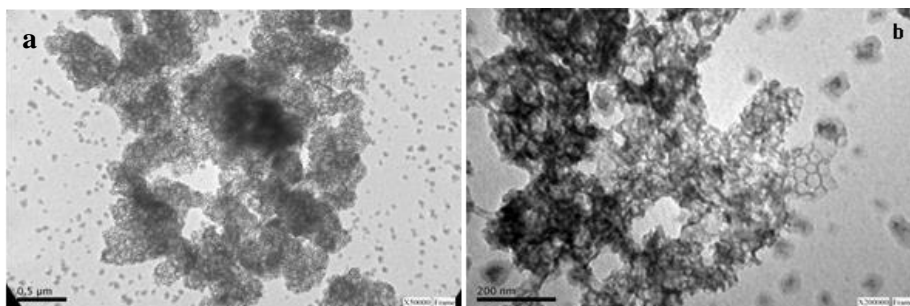


Figura 2: Imágenes TEM del hospedaje y del composite.

La Figura 3 muestra el espectro de reflectancia difusa del hospedaje, del composite y del fármaco puro. Como era de esperar, el **hospedaje** no muestra banda de absorción. La banda a 252 nm es atribuible a transiciones aromáticas $\pi \rightarrow \pi^*$. La banda a 305 nm es característica de las transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$, de los anillos aromáticos sustituidos con metilo y nitrógeno en la posición p (metil p-toluidina) [14], que aparecen en el espectro del composite. Las dos especies que generan estas transiciones electrónicas son características de CLB.

La Figura 4 muestra la **liberación** de CLB contenido en la MCF. Como control se utilizaron tabletas comerciales de LEUKERAN® disueltas (recubiertas de azúcar), que liberaron 80% a las 2 hs y completamente a las 8 h (cinética de primer orden). Mientras que la liberación de CLB de MCF se liberó primero rápidamente (pH = 1, tracto gástrico) 66% aproximadamente a las 4 hs y luego continuó durante un

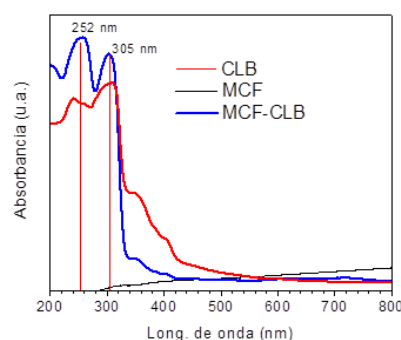


Figura 3: UV-Vis Ref. Difusa

tiempo prolongado para alcanzar el 100% a las 35 h, a pH 6,7 (tracto intestinal), que son los valores de absorción vías del fármaco (ver Figura 4).

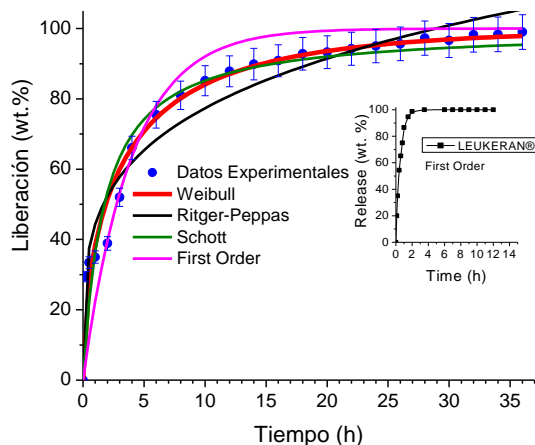


Figura 4: Liberación de CLB en MCF

Los modelos utilizados para ajustar el mecanismo de liberación de clorambucilo de la matriz MCF son el modelo cinético de primer orden, el modelo de Schott, el modelo de Weibull y el modelo de Ritger y Peppas. Estos modelos matemáticos se utilizan ampliamente para determinar el mecanismo de liberación del fármaco desde un sistema de administración [15-18]. (Ver Tabla 2)

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

Modelo Matemático	Fitting parameters	R ²	Adj-R ²	SSE	S
Ritger Peppas	k 0.443 n 0.242	0.960	0.956	0.0714	0.0613
First Order	k 0.253	0.913	0.908	0.1569	0.0864
Weibull	a 0.488 b 0.579	0.971	0.967	0.0346	0.0426
Schott	k 0.575	0.935	0.931	0.0773	0.0623

El perfil de liberación del fármaco para CLB-MCF se puede interpretar como bifásico. Por tanto, hay una fase de liberación rápida asociada con la difusión del fármaco, adsorbido o débilmente unido, a la matriz portadora polimérica, seguida de una fase de liberación lenta asociada con la difusión del fármaco en el hospedaje poroso o en los poros más pequeños.

Conclusiones

En este estudio, desarrollamos un eficiente nanomaterial para ser utilizado en la encapsulación eficiente y la liberación controlada de CLB, con la eficacia terapéutica requerida. Los estudios indican que el fármaco está presente en los poros de la espuma mesoporosa, con su estructura cristalina, sin afectar la estructura o composición química del CLB. La estructura mesoporosa general del hospedaje MCF no sufrió grandes cambios luego de la incorporación de CLB, lo que implica que esta incorporación no modificó la estructura mesoporosa de la espuma. El estudio también demuestra que no hay interacción química entre ambos, por lo que la fisorción es la interacción predominante. Además, se demuestra la difusión de CLB a través de los canales de MCF y la formación del composite. Los modelos utilizados para ajustar el mecanismo de liberación de clorambucilo de la matriz MCF son el modelo cinético de primer orden, el modelo de Schott, el modelo de Weibull y el modelo de Ritger y



Peppas. Estos modelos matemáticos se utilizan ampliamente para determinar el mecanismo de liberación del fármaco desde un sistema de administración. Todos los parámetros estadísticos indican que el mejor modelo que describe el fenómeno en estudio durante todo el período es el modelo de Weibull. La principal ventaja de esta liberación es que la velocidad de liberación es rápida al inicio y luego disminuye gradualmente hasta que se libera prácticamente todo el fármaco contenido en el transportador (> 95%) logrando efectos terapéuticos ventajosos.

Agradecimientos

JMJ, JC, OAA y MGC, investigadores del CONICET, UTN-FRC. Los autores agradecen a FONCyT. PICT 2017-2021 1740 y PICT 2016-1135.

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] X. Niua, L. Wana, Z. Houb, T. Wanga, C. Suna, J. Suna, P. Zhaoa, T. Jianga, S. Wanga; *International Journal of Pharmaceutics* 452 (2013) 382– 389
- [6] Report on Carcinogens, Eleventh Edition (PB2005-104914, 2004) p III-47
- [7] K.E. Uhrich, S.M. Cannizzaro, R.S. Langer, K.M. Shakesheff; *Chemical Reviews* 99 (1999) 3181-3198
- [8] X.P. Qiu, S. Loporatti, E. Donath, H. Möhwald; *Langmuir* 17 (2001) 5375-5380
- [9] P.A. Tran, L. Zhang, T.J. Webster; *Advanced Drug Delivery Reviews* 61 (2009) 1097–1114
- [10] S. Wang, *Microp. and Mesop. Mat.* 117 (2009)
- [11] L. Wu, J. Zhang, W. Watanabe. *Advanced Drug Delivery Reviews* 63 (2011) 456–469
- [12] P. Schmidt-Winkel, W.W. Lukens, P. Yang, D.L. Margolese, J. S. Lettow, J. Y. Ying, G.D. Stucky; *Chem. Mater.* 12(3) (2000) 686–696.
- [13] K.H. Bhadra, G.D. Yadav; *Microporous Mesoporous Mater.* 263 (2018) 190-200.
- [14] C. Sivakumar, A. Gopalan, T. Vasudevana, W. Ten-Chin; *Synth. Met.* 126 (2002) 123-135.
- [15] P.L. Ritger, N.A. Peppas; *J. Controlled Release.* 5(1) (1987) 23-36.
- [16] W. Weibull, A statistical distribution function of wide applicability, *J. Appl. Mech.* 18 (1951) 293–297.
- [17] H. Schott; *J. Pharma. Sci.* 81(5) (1992) 467-470.
- [18] V. Papadopoulou, K. Kosmidis, M. Vlachou, P. Macheras; *Int. J. Pharm. (Amsterdam, Neth.).* 309 (2006) 44–50.