

## Diseño y Eficiencia de Encapsulación para Acarreador de Fármaco Basado en Polímero Preformado y Nanopartículas de Magnetita

C. Chapa González<sup>1</sup>, A. V. López Salazar<sup>1</sup>, C. D. Ávila Valenzuela<sup>1</sup>, J. L. de Oliveira<sup>3</sup>, L. Fernandes Fraceto<sup>3</sup>, A. Carrillo Castillo<sup>1</sup>, C. A. Martínez Pérez<sup>2</sup>, P. E. García<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ingeniería Eléctrica y Computación, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Cd. Juárez, México

<sup>2</sup>Departamento de Física y Matemáticas, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Cd. Juárez, México

<sup>3</sup>Departamento de Ingeniería Ambiental, Universidad Estadual Paulista, Sorocaba, Brasil

**Resumen** - Dentro de la administración de fármacos existe el problema de una biodistribución deficiente de medicamentos hidrófobos. Debido a esto, se propone un sistema de nanomateriales para que permita su acarreo. Por un lado, nanopartículas de magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) obtenidas por coprecipitación química, con tamaño promedio de 13.45 nm y cuya superficie fue modificada por quimisorción de ácido oleico (AO) y por el procedimiento de doble emulsión se obtuvo el material compuesto nanoestructurado de nanopartículas magnéticas y polímero (PCL, PLA, PLGA, y PHBV). El procedimiento de encapsulación fue realizado con benzocaína. La eficiencia de encapsulación se determinó mediante HPLC, se obtuvo porcentajes mayores al 50 %. Estos materiales poseen tamaño de partícula entre 450 y 650 nm; potencial Z menor a -10 mV y el pH no mostró variaciones durante 35 días. Las propiedades fisicoquímicas de los materiales son indicativos de que no se presenta ruptura hidrolítica o agregación.

**Palabras clave** – acarreo de fármaco, nanopartículas magnéticas, nanocápsulas poliméricas, porcentaje de encapsulación

### I. INTRODUCCIÓN

Actualmente, los materiales compuestos nanoestructurados se han explorado extensivamente para combinar las propiedades respectivas de cada componente. Cada sistema de materiales posee propiedades intrínsecas y con los materiales compuestos se consigue un rendimiento mejorado en forma cooperativa. En los sistemas de acarreo y liberación de fármaco por un lado, las nanopartículas magnéticas carecen de capacidad de carga; pero pueden ser manipulables a través de un campo externo. Por otro lado, la capacidad de encapsulación de fármacos en materiales poliméricos es notable; pero, la liberación está limitada por factores como la difusión y la degradación hidrolítica o enzimática. Se estima que 40% de los fármacos que están surgiendo a través de esfuerzos en investigación farmacológica son de naturaleza hidrofóbica o lipofílica [1]. Por lo que la solubilidad limitada de los fármacos conlleva a una farmacocinética y biodistribución desfavorables, así como posibles problemas de toxicidad que impiden el pleno aprovechamiento de las propiedades terapéuticas del medicamento.

Por ello, el desarrollo de materiales compuestos por nanopartículas magnéticas y poliméricas puede desarrollar sistemas biomédicos [2] [3] [4]. Estos sistemas son propuestos no solo como acarreadores para la liberación

controlada de fármaco, sino también como agentes de contraste en imagen por resonancia magnética e hipertermia [5].

### II. METODOLOGÍA

#### *Síntesis de nanopartículas*

Las nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (M) son obtenidas por el método de coprecipitación química de iones  $\text{Fe}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$  con relación molar 2:1 respectivamente. Se hizo reaccionar sales de hierro divalente ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , J. T. Baker, CAS No. 7782-63-0) y trivalente ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , Mallinckrodt, CAS No. 10025-77-1) con una base fuerte ( $\text{NH}_4\text{OH}$ , J. T. Baker, CAS No. 1336-21-6). Después se añadieron 10 g de ácido oleico por goteo en agitación magnética con temperatura de 110 °C para eliminar agua y exceso de  $\text{NH}_4\text{OH}$ . Se realizaron lavados con una solución 30/70 de acetona-alcohol etílico y se colocó por 15 min en el ultrasonido para dispersar las partículas y eliminar el exceso de ácido oleico. El producto de precipitación se secó en estufa a 80°C para eliminar solventes. El producto de precipitación se caracterizó mediante difracción de rayos X (DRX) y el tamaño se determinó por dispersión dinámica de la luz (DDL).

#### *Elaboración de nanocápsulas*

La elaboración del sistema acarreador de fármaco consiste en nanocápsulas poliméricas obtenidas por el método de doble emulsión, en el cual la fase acuosa consistió en 50 ml de agua Milli-Q con poli vinil alcohol (PVA), como surfactante; la fase oleosa se compuso de 200 mg de ácido oleico o 200 mg de suspensión de nanopartículas y 40 mg de benzocaína (B) en 10 ml de acetona; la fase orgánica consistió en 400 mg de polímero preformado disuelto en 25 ml de cloroformo. Los polímeros empleados fueron poli caprolactona (PCL), poli ácido láctico (PLA), poli ácido (láctico-co- glicólico) (PLGA) y poli (3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato) (PHBV). Las fases fueron mezcladas mediante agitación por ultrasonido. La estabilidad de las formulaciones se determinó en base a la variación del diámetro hidrodinámico, índice de polidispersión y potencial Z en función del tiempo. Las mediciones fueron tomadas los días 0, 3, 7, 14, 21, 28 y 35.

#### *Eficiencia de encapsulación*

Finalmente, la eficiencia de encapsulación se determinó mediante cromatografía líquida de alta presión (HPLC). Se elaboró una curva de concentraciones de benzocaína que permitió generar una línea de tendencia. La cantidad de fármaco encapsulado se calculó con la diferencia entre la

concentración libre y la concentración total del sistema. La mediciones se realizaron por triplicado manteniendo una longitud de onda de 285 nm y un flujo de la fase móvil de 0.8 mL·min<sup>-1</sup>; se utilizó una fase móvil de acetronitrilo:agua (50:50) y una columna cromatográfica C18 250x4.6 mm.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Fig. 1 se muestra el patrón de DRX del producto de la reacción de coprecipitación. Se pueden apreciar seis picos de difracción característicos en ángulos 2θ: 30.4, 35.8, 43.5, 53.9 57.5 y 63.2 °. El patrón demuestra que los planos difractados (2 2 0), (3 1 1), (4 0 0), (4 2 2), (5 1 1) y (4 4 0) corresponden a la fase de óxido de hierro Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>.

El diámetro hidrodinámico obtenido por DDL muestra un tamaño promedio de 7.6 nm ± 5.4 nm. En la Fig. 2 se muestra que la distribución de tamaño de las nanopartículas de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> es estrecho y unimodal, con lo cual se descarta la presencia de aglomerados

El análisis por microscopia electrónica de barrido muestra una morfología esférica con depósitos de nanopartículas en la matriz polimérica. En la Fig. 3 se muestra la micrografía correspondiente al material compuesto por poli caprolactona y magnetita.

En cada una de las formulaciones no presentan alguna tendencia específica en función del tiempo y las pequeñas variaciones pueden ser debidas a errores en la medición. En general, las distribuciones de tamaño indican que no se encuentra magnetita libre. El recubrimiento de las nanopartículas de magnetita con el ácido oleico mejora la eficacia de captura de magnetita. La naturaleza hidrófoba de las nanopartículas facilita su incorporación en las nanocápsulas de polímero. El diámetro hidrodinámico de las formulaciones se presenta en la Fig. 4. Del mismo modo, el índice de polidispersión (PDI), que es una medida de la anchura de la distribución de la campana gaussiana de la distribución de tamaño. Para determinar la estabilidad físicoquímica de la suspensión, el PDI debe mantenerse dentro del rango de 0.08 - 0.70 son los valores medios donde hay una mejor calidad en la obtención de los tamaños de partícula [6]. Como se muestra en la Fig. 5 el PDI se encuentra por encima de 0.05 hasta los 0.30. Los valores del índice de polidispersión que se encuentra dentro del rango de 0.02-0.15 indican una estrecha distribución de tamaño.

Un valor elevado de potencial Z es determinante de la de estabilidad debido a que las fuerzas repulsivas que existen entre las nanocápsulas evitan la formación de aglomerados [7]. Valores entre ± 25 mV), permiten la predicción de una adecuada estabilidad coloidal [8]. Los valores negativos son un indicativo de las terminaciones carboxilo que están presentes en los poliésteres en el caso de los materiales empleados (PCL, PLA, PLGA y PHBV). Los valores obtenidos del potencial Z, que se muestran en la Fig. 6, se

encuentra entre -10 y -25 mV, e indican una posible estabilidad contra la agregación por atracción electrostática.

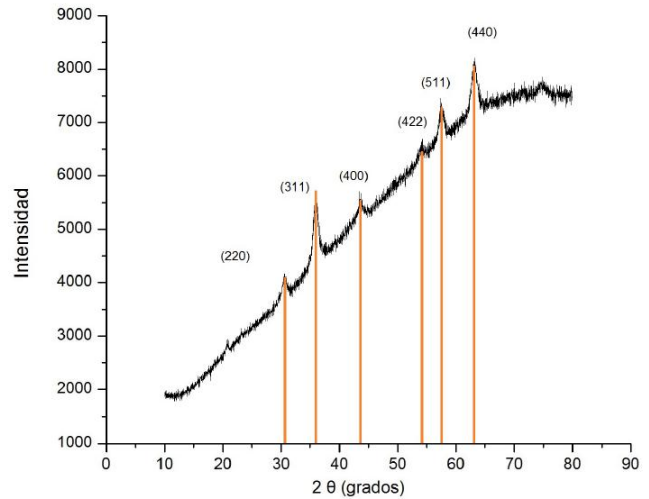


Fig. 1 Patrón de difracción de rayos X del producto de precipitación. Los planos cristalográficos señalados corresponden a la fase Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>

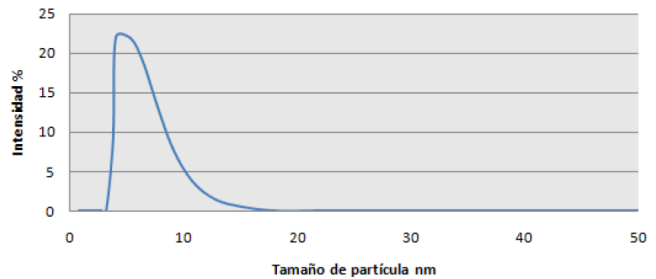


Fig. 2 Distribución de tamaño de las nanopartículas de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> calculado mediante dispersión dinámica de la luz (7.6 nm ± 5.4 nm)

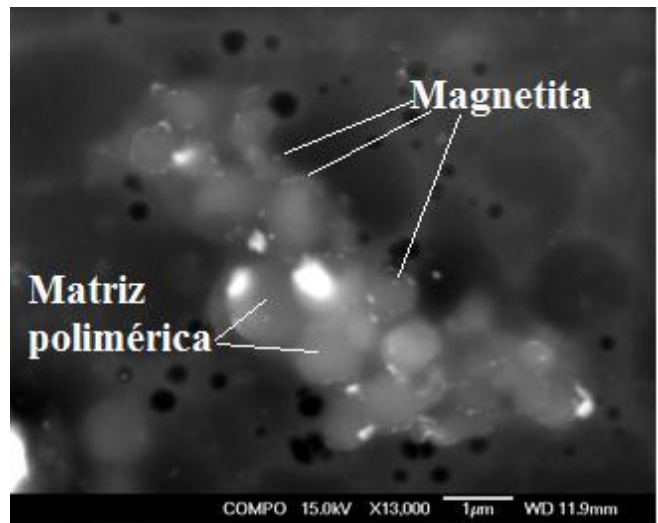


Fig. 3 Imagen obtenida por microscopio electrónico de barrido donde se muestra el material de la formulación PCL-M

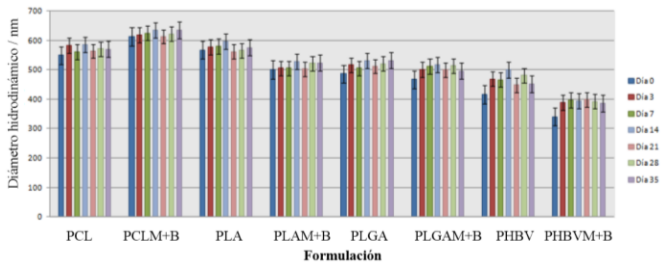


Fig. 4 Diámetro hidrodinámico en función del tiempo medido a las nanocápsulas de polímero-magnetita-benzocaína, las barras indican la desviación estándar

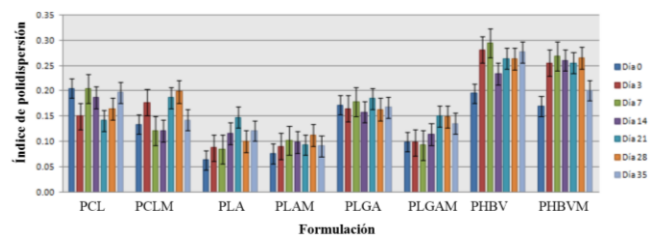


Fig. 5 Índice de polidispersión de las diversas formulaciones de polímero-magnetita-benzocaína, las barras indican la desviación estándar

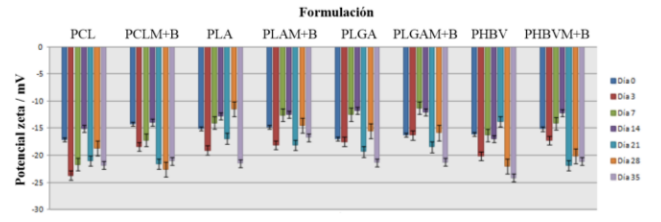


Fig. 6 Potencial zeta en función del tiempo medido a las diferentes formulaciones de polímero-magnetita-benzocaína, las barras indican la desviación estándar

La concentración de benzocaína contenida en cada una de las formulaciones se obtuvo mediante la ecuación de curva de concentración que se muestra en la Fig 7; a partir de la cual es posible determinar la eficiencia de encapsulación de los materiales propuestos de polímero-magnetita para acarreo de fármaco.

En la Fig. 8 se muestra los porcentajes de encapsulación del fármaco. Puede notarse que todos los porcentajes son mayores al 50%. Puede compararse la eficiencia de encapsulación por el método de doble emulsión reportado de 65%-75% para PCL [9], por lo que con este método se obtiene una eficiencia por encima de lo reportado al encapsular benzocaína en liposomas, que es alrededor del 30 % [10]. Como puede verse no existe relación entre el tamaño de las nanocápsulas y el porcentaje de encapsulación.

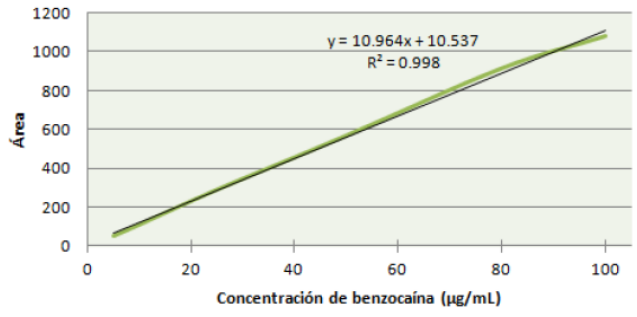


Fig. 7 Curva de concentración de benzocaína para determinar la eficiencia de encapsulación

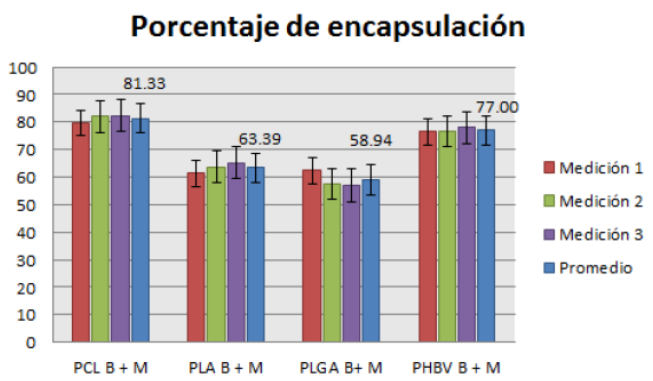


Fig. 8 Porcentaje de encapsulación de las formulaciones propuestas de polímero-magnetita, las barras indican la desviación estándar

IV. CONCLUSIÓN

Se logró obtener nanopartículas de magnetita de distribución de tamaño estrecha y modificada con ácido oleico para integrarlo mediante el procedimiento de doble emulsión a un material compuesto de nanocápsulas de polímero. Las propiedades físicoquímicas de los materiales no muestran dependencia en función del tiempo, estos parámetros son indicativos de que no se presenta ruptura hidrolítica o agregación. Asimismo, pudo determinarse la eficiencia de encapsulación de benzocaína. Por lo que, estos materiales nanoestructurados representan una opción para desarrollar sistemas acarreadores de fármacos de naturaleza hidrofóbica

RECONOCIMIENTOS

Este trabajo fue apoyado por el Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq-Brasil) y el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT-México)

BIBLIOGRAFÍA

- [1] P. Lim Soo, M. Dunne, J. Liu, C. Allen. “Nano-sized Advanced Delivery Systems as Parenteral Formulation Strategies for Hydrophobic Anti-cancer Drugs”, *Nanotechnology in Drug Delivery*. Springer. 2009, pp. 349.
- [2] G. Li, K. Huang, Y. Jiang, P. Ding, and D. Yang, “Preparation and characterization of carboxyl functionalization of chitosan derivative magnetic nanoparticles,” *Biochem. Eng. J.* 2008, 40(3), pp. 408–414
- [3] S. F. Medeiros, A. M. Santos, H. Fessi, and A. Elaissari, “Stimuli-responsive magnetic particles for biomedical applications,” *Int. J. Pharm.*, 2010 *in press*
- [4] B. D. Niu, Y. Li, Z. Ma, H. Diao, J. Gu, H. Chen, W. Zhao, M. Ruan, and Y. Zhang, “Preparation of Uniform, Water-Soluble, and Multifunctional Nanocomposites with Tunable Sizes” *Adv. Funct. Mater.* 2010, 20, 773–780
- [5] M. Hamoudeh and H. Fessi, “Preparation, characterization and surface study of poly-epsilon caprolactone magnetic microparticles.,” *J. Colloid Interface Sci.*, 2006, 300(2), pp. 584–90
- [6] Malvern Instruments Ltd. 2003 Zetasizer Nano Series User Manual 2.
- [7] S. Rezende, S. Stanisçuaski, L. Lucca, A. Raffin. “Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos” *Scheila* 2003, 26(5), pp. 726-737.
- [8] R. Grillo, Z. P. dos Santos, C. Maruyama, A. Rosa, R. de Lima, and L. Fraceto. “Poly(e-caprolactone) nanocapsules as carrier systems for herbicides: physico-chemical characterization and genotoxicity evaluation”. *J. of Haz. Mats.* 2012, pp. 231-232
- [9] C. Mora-Huertas, H. Fessi, A. Elaissari. “Polymer-based nanocapsules for drug delivery”. *Int. J. of Pharm.*, 2010, 385(1-2), 113-142.
- [10] P. Mura, F. Maestrelli, M. L. González-Rodríguez, I. Michelacci, C. Ghelardini, A. M. Rabasco. “Development, characterization and *in vivo* evaluation of benzocaine-loaded liposomes”. *Eur. J. of Pharm. and Biopharm.*, 2007, 67, pp. 86–95