

## OPTIMIZACIÓN DEL DISEÑO DE NANOPARTÍCULAS CON CAPACIDAD DE RESPUESTA MAGNÉTICA COMO APLICACIÓN A LA LIBERACIÓN CONTROLADA DE FÁRMACOS.

V. Gallardo<sup>1</sup>, S. A. Gómez-Lopera<sup>2</sup>, A. V. Delgado<sup>2</sup>, J. L. Arias<sup>2</sup>

*1 Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica . Universidad de Granada*

*2 Departamento de Física Aplicada. Universidad de Granada*

### Introducción.

La actividad biológica de un principio activo depende fundamentalmente de la interacción entre éste y el tejido u órgano diana. Sin embargo, para poder ejercer dicho efecto, el fármaco debe estar presente en su lugar de acción en cantidad suficiente para provocar la respuesta deseada. Dentro de los diferentes sistemas coloidales diseñados para el transporte específico de fármacos destacan, por sus grandes posibilidades, los transportadores magnéticos coloidales. Ello es debido a su respuesta a un campo magnético externo que puede conducir la partícula al lugar deseado y mantenerla durante el período de tiempo requerido.

Los principales beneficios de estos sistemas dentro del campo terapéutico (1) son la eliminación de reacciones adversas, que frecuentemente derivan de la distribución sistémica de los fármacos, y la posibilidad de reducir la dosis precisa de un agente terapéutico, disminuyendo los posibles efectos adversos derivados de las dosis tradicionales. Además, se solucionan los problemas de inestabilidad en los fluidos biológicos o *in vivo* del fármaco (2), y el reconocimiento y eliminación del sistema coloidal por el sistema fagocítico mononuclear se verá retrasado por la concentración de las partículas en un lugar determinado del organismo dado que el campo magnético podría impedir su libre distribución.

En el presente trabajo realizamos la optimización de la síntesis de partículas constituidas por un núcleo magnético (magnetita) y un recubrimiento polimérico biodegradable responsable del almacenamiento y liberación de fármaco [poli(etil-2-cianoacrilato), PE-2-CA], con el objetivo de obtener unos sistemas de liberación controlada de fármaco con un tamaño apropiado para la administración parenteral y un recubrimiento polimérico óptimo que permita el transporte de una cantidad adecuada de principio activo.

Para ello, valoraremos el peso relativo del recubrimiento polimérico, el grosor del recubrimiento, las características de redispersabilidad y las propiedades electrocinéticas de las partículas obtenidas al emplear diferentes cantidades iniciales relativas de monómero y magnetita.

### Materiales y Métodos.

Todos los productos químicos utilizados tienen calidad analítica de Panreac (España), excepto el etil-2-cianoacrilato, que fue proporcionado por Loctite (España). El agua utilizada tiene calidad Milli-Q (Milli-Q Academic, Millipore, Francia).

El método de síntesis que proponemos (3) está basado en las condiciones utilizadas en la síntesis de nanosferas de polímero [método de polimerización aniónica en emulsión (4)]. De esta manera, pretendemos que la polimerización del monómero en presencia de magnetita provoque el recubrimiento de ésta, aunque es obvio que

también se puede producir la formación de polímero independiente.

En el caso de las partículas obtenidas con la proporción de peso inicial monómero:magnetita 4:3, el proceso de síntesis comienza con la adición de un 1 % (p/v) de monómero de forma progresiva y bajo agitación mecánica (1000 rpm), a 50 mL de un medio de polimerización con un 0.75 % (p/v) de suspensión de magnetita en una disolución  $2 \cdot 10^{-3}$  N de HCl. Tras la polimerización del monómero (3 horas), se realizó la neutralización del medio con 1 mL de una disolución de KOH  $10^{-1}$  N para finalizar la polimerización. En la rutina de limpieza se aprovecharon las propiedades magnéticas de los núcleos de magnetita para separar las partículas compuestas de las partículas poliméricas, considerándose la limpieza total del sistema cuando el sobrenadante dejara de ser blanquecino (color debido a las partículas poliméricas no magnéticas) y cuando la conductividad del sobrenadante (menos de  $2 \mu\text{S/cm}$ ) nos hacía ver que la suspensión estaba libre de restos químicos necesarios para la finalización del proceso. Las partículas se secaron a  $35^\circ\text{C}$  en una estufa con circulación forzada de aire (Digitronic, J. P. Selecta, S. A.). En el proceso de secado se observó la formación de una lámina compacta de polímero, atribuible al carácter adhesivo de éste, que da lugar a la agregación de las partículas. Finalmente, el almacenamiento se realizó en recipientes de polietileno conservados en un desecador.

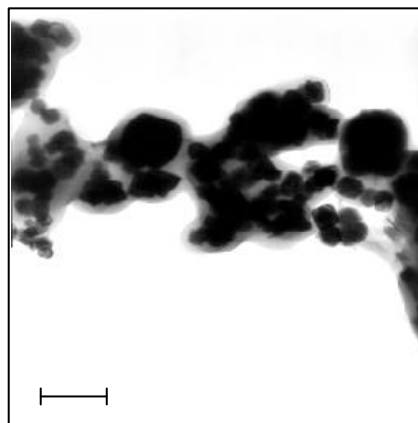
Para optimizar las condiciones de síntesis, se obtuvieron partículas compuestas con diferentes proporciones de monómero:magnetita (desde 1:4 a 4:1), determinándose en los diferentes casos el efecto de la cantidad de monómero sobre el número de núcleos magnéticos recubiertos y el grosor del recubrimiento.

Debido a que las propiedades de los óxidos son extremadamente sensibles a las variaciones del pH, y esto no es esperable en el caso del polímero a causa de la naturaleza de los grupos responsables de su carga (grupos ácido acrílico

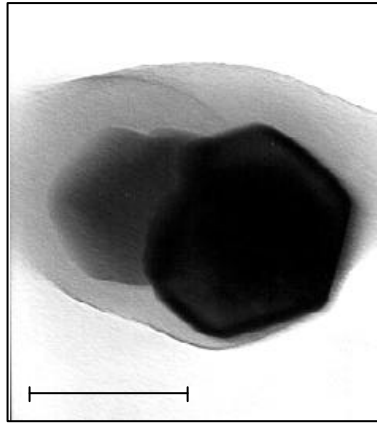
libres), emplearemos la determinación electroforética para comprobar de forma independiente las características del recubrimiento. Las suspensiones estudiadas tenían una concentración de partículas aproximada del 0.1 % y las medidas se realizaron 24 horas después de la preparación de las suspensiones. Los datos representados son el promedio de 15 determinaciones, cambiando la muestra cada tres

### Resultados y Discusión.

La secuencia de microfotografías que presentamos nos permite realizar un análisis cualitativo del efecto de la variación de las cantidades relativas de monómero y magnetita en el medio de dispersión sobre la estructura de las partículas. La Fig. 1 presenta las partículas sintetizadas cuando la proporción de peso inicial es de 4:3 [la Fig. 2 es un detalle de la muestra 1, obtenida mediante microscopía electrónica de alta resolución (HRTM)]. Su diámetro medio es de  $128 \pm 19$  nm y la microfotografía muestra claramente que las partículas de magnetita están recubiertas por una capa polimérica de unos 30 nm de grosor.



**Figura 1.** Microfotografía electrónica de transmisión de las partículas compuestas con la proporción de monómero:magnetita 4:3. Longitud de la barra: 200 nm.



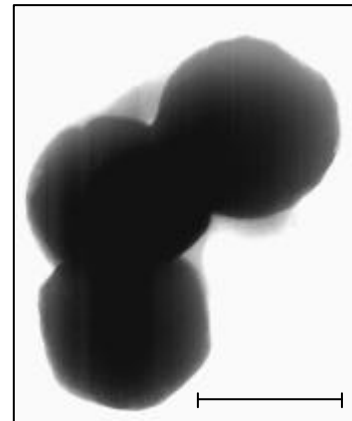
**Figura 2.** Microfotografía electrónica de transmisión de alta resolución de las partículas compuestas con la proporción de monómero:magnetita 4:3. Longitud de la barra: 100 nm.

La Fig. 3 corresponde al caso en que la proporción de monómero es baja (1:4); en estas condiciones, como mucho se obtiene una capa muy fina de polímero principalmente localizada en las regiones de contacto entre los núcleos magnéticos, aunque bastante magnetita parece no estar recubierta en absoluto. Por el contrario, cuando la cantidad de monómero está en exceso respecto a la de magnetita (4:2 y 4:1), todas las partículas aparecen recubiertas; de hecho, la apariencia del sistema compuesto es la de una gran matriz polimérica con partículas de magnetita embebidas en su interior (Fig. 4).

En la Tabla 1 presentamos las cantidades relativas de polímero unido a magnetita (masa de polímero por unidad de masa de magnetita), el grosor del recubrimiento y las características de redispersabilidad de las partículas compuestas obtenidas para distintas proporciones monómero:magnetita. En los casos 1:4 y 4:1, no se puede apreciar el recubrimiento. En el primero, por la pequeña cantidad de polímero presente. En el segundo por su exceso, que impide observar las partículas individuales.

La cantidad de polímero unido a las partículas se obtuvo por diferencia de pesada entre las partículas de magnetita recubiertas y las partículas de magnetita desnudas; el grosor del recubrimiento polimérico se dedujo de las

microfotografías TEM. Finalmente, el ensayo de redispersabilidad fue realizado cualitativamente, mediante observación visual simple de la turbidez tras la sonicación de la suspensión sedimentada.



**Figura 3.** Microfotografía electrónica de transmisión de las partículas compuestas con la proporción de monómero:magnetita 1:4. Longitud de la barra: 100 nm.



**Figura 4.** Microfotografía electrónica de transmisión de las partículas compuestas con la proporción de monómero:magnetita 4:1. Longitud de la barra: 2 μm.

Como se aprecia, la cantidad de PE-2-CA incorporada a las partículas aumenta cuando la proporción de monómero:magnetita aumenta. Respecto al grosor del recubrimiento polimérico, nótese cómo un exceso del monómero inicialmente añadido no da lugar necesariamente a un recubrimiento polimérico más eficaz de la magnetita. La pobre redispersabilidad alcanzada cuando la proporción monómero:magnetita está

por debajo de 4:3 es un indicio de la formación de capas de polímero que son virtualmente imposibles de destruir mediante métodos no químicos. Por motivos obvios (basta con ver las fotografías) no pudieron realizarse medidas de tamaño de las partículas compuestas obtenidas con las proporciones 4:1 y 1:4.

Tabla 1. Características de las diferentes partículas recubiertas obtenidas.

Proporción de pesos inicial monómero: magnetita	Peso relativo del recubrimiento polimérico	Grosor del recubrimiento (nm)	Redispersabilidad
1:4	0.0288 ± 0.0008	-	Muy buena
2:4	0.183 ± 0.001	40 ± 20	Muy buena
3:4	0.193 ± 0.001	50 ± 30	Muy buena
1:1	0.1263 ± 0.0009	90 ± 50	Muy buena
4:3	0.602 ± 0.001	46 ± 19	Buena
4:2	1.418 ± 0.003	62 ± 15	Difícil
4:1	1.487 ± 0.005	-	Nula

En cuanto al tamaño de las partículas compuestas, se observa claramente en las figuras adjuntas cómo son los núcleos de magnetita los encargados de determinar la forma de las partículas compuestas (esférica) y la reducción de tamaño respecto a las partículas de polímero (299 ± 46 nm).

La Fig. 5 muestra los resultados obtenidos en la determinación electroforética de la eficacia del recubrimiento: es clara la evolución de la movilidad electroforética de las partículas recubiertas hacia la de las partículas poliméricas, al aumentar la proporción del peso de monómero, principalmente en relaciones por encima de 1:1.

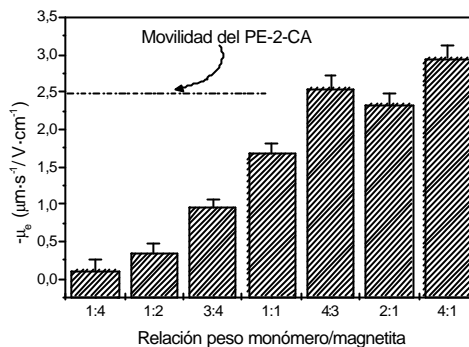


Figura 5. Histograma de las movilidades electroforéticas de las partículas compuestas, para diferentes pesos relativos de monómero y magnetita en la suspensión inicial.

Estos resultados justifican la selección de las partículas con proporción de monómero y magnetita 4:3 como posible vehículo de fármaco, ya que se puede considerar que el recubrimiento es óptimo y, además, el número de núcleos magnéticos recubiertos es elevado.

#### Bibliografía.

1. Senyei A., Widder K. J., Czerlinski G., "Magnetic guidance of drug carrying microspheres", *J. Appl. Phys.*, 49, 3578 (1978).
2. Pouliquen D., Chouly C., "Magnetic Microcarriers for Medical Applications". En: "The MML Series (Vol. 2): Medical & Biotechnology Applications" (Ed.: Arshady R.), Citus Books, Londres, 343 (1999).
3. Arias J. L., Gallardo V., Gómez-Lopera S. A., Plaza R. C., Delgado A. V., "Synthesis and characterization of poly(ethyl-2-cyanoacrylate) nanoparticles with magnetic core", *J. Controlled Release*, 77, 309 (2001).
4. Fattal E., Peracchia M. T., Couvreur P., "Poly(alkylcyanoacrylates)". En: "Handbook of Biodegradable Polymers", Eds.: Domb A. J., Kost J., Wiseman D. M., Harwood Academic Publishers, Amsterdam, 183 (1997).

Autor de contacto:

José Luis Arias Mediano

jlarias@ugr.es

Departamento de Física Aplicada, Facultad de Ciencias, Universidad de Granada, 18071

Granada

Tel.: 958-249099 Fax: 958-243209