

Influencia de la temperatura en la microencapsulación de un oligopéptido altamente hidrosoluble

Defain Tesoriero, M. V.; Murano, M.; Stratico, M.; Lagomarsino, A.

Centro de Investigación y Desarrollo en Química y Petroquímica (CEQUIPE)

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de formulaciones de liberación controlada de fármacos ha tomado un gran impulso en esta última década. Los sistemas basados en el polímero biodegradable ácido poli(D,L-láctico-co-glicólico), PLGA, especialmente en la forma de microesferas inyectables, se encuentran actualmente bajo investigación para el desarrollo de nuevos productos de liberación controlada de proteínas y péptidos farmacológicamente activos.⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾

OBJETIVO

Nuestro objetivo es conseguir un producto de liberación sostenida durante un mes. En el presente trabajo se prepararon microesferas de un péptido altamente hidrosoluble a diferentes temperaturas de evaporación para estudiar su influencia sobre la morfología y la cinética de liberación de las microesferas obtenidas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de las microesferas. Las microesferas fueron preparadas según el procedimiento standard de doble emulsión y evaporación del solvente⁽¹⁾. Brevemente, la fase interna (W_1) se preparó con una solución acuosa del péptido. La fase orgánica consistió en una solución de PLGA en diclorometano. Dicha solución se mezcló con la W_1 y se obtuvo una emulsión utilizando un homogeneizador (Heidolph 900X). La emulsión obtenida se agregó a la fase externa (W_2), una solución de alcohol polivinílico (PVA) al 1% emulsionando con un homogeneizador (Heidolph 900X). La evaporación del diclorometano se realizó por agitación vigorosa de la emulsión $W_1/O/W_2$. Las microesferas se centrifugaron, lavaron, liofilizaron y almacenaron a 4°C. (ver Fig 1)

Morfología y tamaño de partícula. La forma y la superficie de las microesferas y tamaño de

partícula fueron analizados por microscopía electrónica.

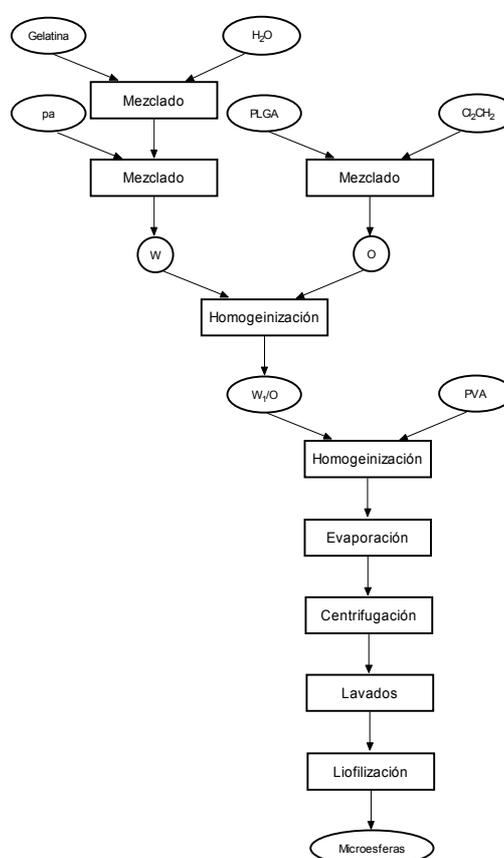


Fig. 1. Diagrama de Flujo. Proceso de obtención de las microesferas.

Contenido de la droga. Para la determinación del contenido del oligopéptido en las microesferas se disolvieron las mismas en dimetil-sulfóxido. Las muestras se cuantificaron por duplicado por HPLC en fase reversa en un equipo Shimadzu LC-10. Las condiciones analíticas de la HPLC fueron las siguientes: la cromatografía fue realizada con una columna Lichrospher RP-18 (Merck), utilizando un detector de longitud de onda variable a 220 nm, la fase móvil utilizada

fue metanol: acetato de amonio (0.25 M) 60:40, el flujo fue de 0.8 ml/min.

Evaluación de la cinética de liberación in vitro. Las microesferas (aprox. 50mg) fueron suspendidas en 10 ml de buffer fosfato 150 mM pH 7.4 adicionado con Tween 80 0.05 M y se incubaron en un baño con agitación constante a $(36\pm 1)^\circ\text{C}$.⁽³⁾ Se evaluó por duplicado la droga liberada a los 7, 14, 21 y 28 días con el método analítico descrito anteriormente.

RESULTADOS

Se evaluó el perfil de liberación, la morfología y la porosidad de microesferas obtenidas bajo diferentes condiciones de evaporación del solvente. La t° de evaporación de la muestra 1 fue mayor que la t° de evaporación de la muestra 2.

Podemos observar una mayor porosidad en la muestra 1, según se aprecia en las fotomicrografías.

La muestra 2 posee un perfil de liberación más aceptable que la muestra 1 ya que la liberación se sostiene por cuatro semanas. (ver Fig. 2)

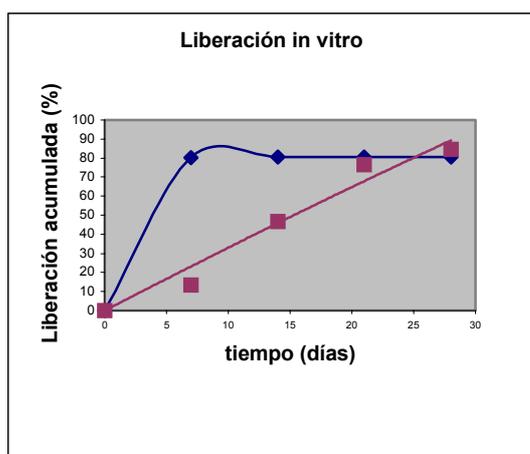


Fig. 2. Curvas de liberación in vitro. Muestra 1 (♦). Muestra 2 (■).

CONCLUSIONES

Son muchas las variables que influyen en la performance de este tipo de productos, entre otras, el peso molecular del polímero^{(2) (3)}, el pH⁽⁴⁾, la temperatura de evaporación del solvente⁽⁵⁾, la relación fase interna/ fase externa (rel. f_i / f_e).⁽¹⁾

La mayor temperatura de evaporación del solvente forzaría la difusión del mismo al exterior de la microesfera, esto produciría una mayor porosidad que se traduciría en la liberación del principio activo con una mayor relación cantidad de péptido liberado/ tiempo. De esta forma, la liberación de la droga se mantuvo en el tiempo en la

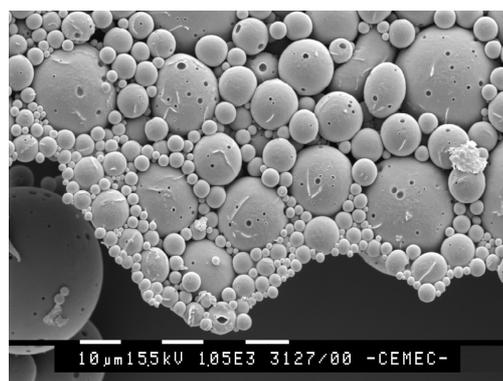
muestra donde la evaporación del solvente se realizó a menor temperatura. Así, la temperatura de evaporación del solvente podría ser una importante variable a controlar en este tipo de procesos.



Fotomicrografía - Muestra 1

Referencias

- [1] Ogawa, Y., Okada, H., Yashiki, T., Shimamoto, T. 1988. A new technique efficiently entrap leuprolide acetate into microcapsules of polylactic acid or copoly(lactic/glycolic) acid. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 36, 1095-1103.
- [2] Blanco, M.D., Alonso, M.J. 1997. Development and characterization of protein-loaded poly(lactide-co-glycolide) nanospheres. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 43, 287-294.
- [3] Ogawa, Y., Okada, H., Yashiki, T., Shimamoto, T. 1988. Controlled release of leuprolide acetate from polylactic acid or copoly(lactic/glycolic) acid microcapsules: Influence of molecular weight and copolymer ratio of polymer. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 36, 1095-1103.
- [4] Tobío, M., Gref, R., Sánchez, A., Langer, R., Alonso, M.J. 1998. Stealth PLA-PEG nanoparticles as protein carriers for nasal administration. Pharmaceutical Research. 15,2,270-275.
- [5] Yi-Yan Yang, Hui-Hui Chia, Tai-Shung Chung. 2000 Effect of preparation temperature on the characteristics and release profiles of PLGA microspheres containing protein fabricated by double-emulsion solvent extraction/evaporation method. Journal of Controlled Release 69, 81-96



Fotomicrografía - Muestra 2

Para mayor información contactarse con:
María Victoria Defain Tesoriero – mvdt@inti.gov.ar

[Volver a página principal](#) ◀