

## Artículos Originales

Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos

### CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE LAS MICROESFERAS OBTENIDAS CON DIFERENTES POLÍMEROS Y LA LIBERACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO

Dianelis Fernández Mena,<sup>1</sup> Martha Gómez Carril,<sup>2</sup> Leopoldo Núñez de la Fuente,<sup>3</sup> Diana Ramos Picos,<sup>4</sup> Antonio Moya Mirabal<sup>5</sup> y Aleida Chang Valdés<sup>6</sup>

#### RESUMEN

---

Se evaluó la influencia de varios polímeros del ácido láctico y su copolímero con el ácido glicólico sobre las características físico-químicas de las microesferas obtenidas por el método de emulsión múltiple y evaporación/extracción del solvente. Se comparó el comportamiento de cada uno de estos polímeros; se observó que los copolímeros del ácido láctico-glicólico (RG-503 y RG-506) permiten obtener un porcentaje de encapsulación más próximo al 100 % y los perfiles de liberación del principio activo desde las microesferas es mucho mejor que en los restantes polímeros estudiados.

*DeCS:* MICROESFERAS; POLIMEROS; TECNOLOGIA FARMACEUTICA; POLIGLACTINA 910/química; EMULSIONES/química; SOLVENTES/química; EVAPORACION.

---

Dentro de los modernos sistemas de administración de fármacos, las microesferas presentan características destacables, como capacidad de modificar ciertos parámetros cinéticos y la biodistribución de las moléculas transportadas, lo que permite su aplicación en el área de la administración selectiva y controlada de fármacos, particularmente en

el tratamiento del cáncer, afecciones de la piel, mucosa y enfermedades infecciosas.

Las microesferas están constituidas por una amplia gama de polímeros en forma individual y/o combinados que pueden ser de origen natural y sintético.

En cuanto a los materiales de origen sintéticos, una gran variedad han sido

---

<sup>1</sup> Licenciada en Ciencias Farmacéuticas. Aspirante a Investigadora.

<sup>2</sup> Master en Tecnología y Control de los Medicamentos. Investigadora Auxiliar.

<sup>3</sup> Master en Ciencias Técnicas. Investigador Agregado.

<sup>4</sup> Master en Ciencias Farmacéuticas. Aspirante a Investigadora

<sup>5</sup> Master en Ciencias Farmacéuticas. Investigador Agregado.

<sup>6</sup> Técnica en Análisis Químico.

propuestos para la elaboración de las microesferas siendo muy utilizado el ácido láctico y su copolímero con el glicólico por ser biodegradable, biocompatible y físicamente resistente.<sup>1</sup>

En este trabajo nos propusimos como objetivo evaluar la influencia de la viscosidad de polímeros del ácido poli (L-láctico), DL-láctico y DL-láctico-co-glicólico en las características físico-químicas de microesferas cargadas con un producto trazador coloreado y soluble en agua y el análisis de sus perfiles de liberación.

## MÉTODOS

Se empleó ácido poli L-láctico (Resomer L-207), ácido poli DL-láctico (Resomer R-202 y 203) y ácido poli DL-láctico-co-glicólico (Resomer RG-503 y 506), de la Boehringer Ingelheim, alcohol polivinílico (APV), PM 15000, de la BDH, cloruro de sodio y diclorometano (DCLM) de la Riedel De Haën y ampollitas de vidrio con capacidad de 10 mL, incoloras y calidad hidrolítica I.

Se utilizó un homogeneizador Polytron PT 100 para la formación de las emulsiones, agitador digital Bioblock para la evaporación del solvente, centrífuga Janestki para su recolección, rotoviscosímetro Haake con sistema M5/NV para la determinación de la viscosidad de la fase oleosa; para la cuantificación del producto trazador se empleó un espectro-fotómetro Spectronic Genesys 2 PC y una zaranda termostataada para obtener los perfiles de liberación.

## PREPARACIÓN DE LAS MICROESFERAS

Las microesferas se prepararon formando una emulsión múltiple de agua en aceite en agua (w1/o/w2) y eliminando el solvente por evaporación/extracción según la técnica reportada en la literatura.<sup>2-6</sup>

Para obtener las soluciones de los polímeros con viscosidad aparente de 250 mPa.s, demostradas anteriormente como la más adecuada para lograr microesferas con las características físico-químicas requeridas, se prepararon soluciones con diferentes concentraciones de polímeros y se determinó la viscosidad utilizando el rotoviscosímetro de la firma Haake con sistema M5/NV.

Con las soluciones poliméricas de viscosidad aparente aproximadamente igual a 250 mPa.s de los 5 polímeros en estudio, se desarrolló el método de obtención de las microesferas utilizando una relación volumétrica fase orgánica:fase acuosa 10:500 y se evaluaron las características físico-químicas de estas. Los ensayos se repitieron hasta lograr la relación fase orgánica:fase acuosa más adecuada para cada polímero.

## EFICIENCIA DE ENCAPSULACIÓN

Para calcular la eficiencia de encapsulación se registró el espectro de absorción en la zona del visible del producto trazador disuelto en agua y buffer TRIS pH 7,4 a una concentración de 20 µg/mL, utilizando un espectrofotómetro Spectronic Genesys 2 PC.

Curva de calibración. Se realizó una curva de calibración preparando soluciones de concentraciones entre 4 y 20 µg/mL en metanol/ DCLM (9:1), leyendo la absorbancia a la longitud de onda de máxima absorción (508 nm) determinada anteriormente.

Preparación de la muestra. Se pesaron 20 mg de microesferas cargadas con el producto trazador y se disolvieron con una solución de metanol/DCLM (9:1), y se completó a volumen de 100 mL con la misma solución.

## PÉRFIL DE LIBERACIÓN

Preparación de la muestra. Se pesaron 100 mg de microesferas y se colocaron cuantitativamente en ampollitas de vidrio

transparente de 10 mL de capacidad y se le adicionó un volumen de 5 mL de buffer TRIS pH 7,4. Las ampollas se sellaron herméticamente y se colocaron en una zaranda termostata a 37 °C y 60 movimientos horizontales por minutos.

A intervalos de tiempo predeter-minados se extrajo una ampollita, se filtró su contenido a través de membrana de nitrato celulosa de 0,2 µm y se tomaron alicuotas de 2 mL y se llevó a volumen de 10 mL con *buffer* TRIS pH 7,4, para determinar el contenido del producto trazador en la solución. Para esto se preparó una curva de calibración con soluciones de concentraciones entre 4 y 20 µg/mL en buffer TRIS pH 7,4, leyendo la absorbancia a 508 nm.<sup>7-10</sup>

## RESULTADOS

En la tabla 1 se presenta los polímeros estudiados, los valores de su viscosidad

intrínseca reportada por su proveedor y la concentración de cada uno de ellos para rendir soluciones de viscosidad aparente aproximadamente de 250 mPa.s.

TABLA 1. Valores de viscosidad intrínseca y aparente de los diferentes polímeros

Polímeros	h intrínseca (dL/g)	Concentración (%)	h aparente (mPa.s)
R-202	0,2	130	268
R-203	0,3	85	258
RG-503	0,4	35	288
RG-506	0,5	19	274
L-207	1,6	15	250

En la tabla 2 se muestran los resultados del estudio físico-químico realizado a las microesferas obtenidas con las soluciones poliméricas en una relación fase orgánica: fase acuosa de 10:500, excepto para el polímero R-202, con el que fue necesario variarla a 5:500 debido a que se dificultaba la evaporación del solvente y no se obtenían las microesferas libremente dispersadas en el medio.

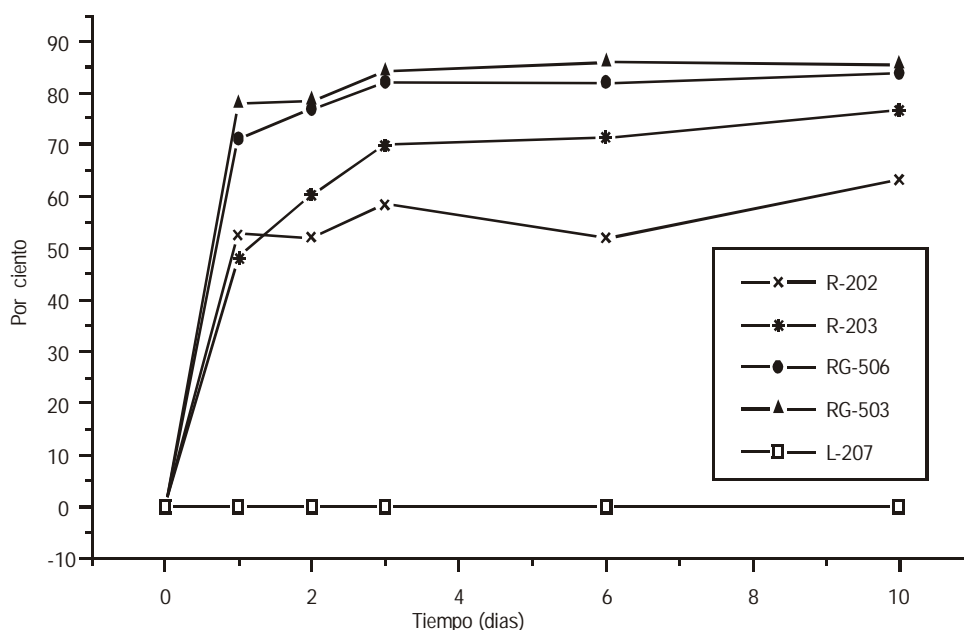


FIG. Perfiles de liberación de los diferentes polímeros estudiados.

TABLA 2. Estudio físico-químico de las microesferas

Polimeros	Rendimiento(%)	Eficiencia de encapsulación (%)	Diámetro medio( $\mu\text{m}$ )	Solvente residual (%)
R-202	83,7	69,24	0,823	< 1 p.p.m.
R-203	77,33	90,86	0,817	< 1 p.p.m.
RG-503	82,8	95,62	0,767	< 1 p.p.m.
RG-506	74,1	99,34	0,787	< 1 p.p.m.
L-207	70,2	81,24	0,843	< 1 p.p.m.

Teniendo en cuenta la eficiencia de encapsulación de las microesferas obtenidas con los diferentes polímeros, se calculó el porcentaje del producto trazador liberado a intervalos de tiempo de 24 h durante 10 días. Los resultados de los perfiles de liberación se muestran en la figura.

## DISCUSIÓN

Como se puede observar en la tabla 1, a medida que aumenta la viscosidad intrínseca del polímero reportada por el proveedor disminuye la concentración de este en la solución para lograr la viscosidad aparente que se requiere, de ahí se infiere que es imprescindible conocer las especificaciones de calidad del polímero a emplear.

En los ensayos para obtener las microesferas fue necesario hacer ajustes en la técnica ya que en todos los ensayos, excepto en los realizados con el polímero R-202, la relación fase orgánica:fase acuosa fue de 10:500; en este caso fue necesario disminuir la fase orgánica a 5:500 para que las microesferas pudieran encontrarse libremente dispersas en el medio acuoso después de la evaporación total de solvente. También se varió la cantidad del producto trazador para que se mantuviera constante la relación de este con respecto a la cantidad de polímero empleado para poder comparar la eficiencia de encapsulación.

Una vez definidas todas las variables en el proceso de obtención se realizaron ensayos por duplicado con cada uno de los polímeros y se obtuvieron los resultados que se muestran en la tabla 2. Como se observa en esta tabla 2, los diámetros medios de las microesferas y el solvente residual no presentan diferencias entre los ensayos, encontrándose entre los valores esperados; en cuanto al rendimiento se observan valores lógicos para la escala de trabajo y la mejor eficiencia de encapsulación se encontró con los polímeros R-203, RG-503 y RG-506.

En la determinación de los perfiles de liberación se obtuvieron los resultados que se muestran en la figura, en la que se puede observar que en las microesferas cuya matriz corresponde a la del polímero L-207 no hubo liberación del producto trazador durante el tiempo estudiado, no así con las del resto de los polímeros. Los mejores resultados se observaron en las microesferas compuestas por los polímeros del ácido poli D; L láctico-co-glicólico.

Sin embargo, como con los polímeros R-202 y R-203 también se observó una liberación mayor de 40 % a las 24 h, se considera que es necesario estudiar el comportamiento in vitro de las microesferas de los 4 polímeros que liberan para determinar algunos parámetros farmacocinéticos, que serán los que ayudarán a decidir cuál o cuáles de ellos son los que ofrecen un producto con la eficiencia terapéutica deseada.

## SUMMARY

The influence of various polymers of lactic acid and its copolymer with the glycolic acid on the physical and chemical characteristics of the microspheres obtained by the multiple emulsion method and the evaporation extraction of the solvent was evaluated. The behavior of each of these polymers was compared. It was observed that the polymers of lactic-glycolic acid (RG-503 and RG-506) allow to attain a percentage of encapsulation closer to 100 % and that the release profiles of the active principle from the microspheres is much better than in the rest of the studied polymers.

*Subject heading:* MICROSPHERES; POLYMERS; TECHNOLOGY, PHARMACEUTICAL; POLYGLACTIN 910/chemistry, EMULSIONS/chemistry; SOLVENTS/chemistry; EVAPORATION.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pena MB, Martínez BG, Nacucchio MC. Microesferas: aspectos tecnológicos y aplicaciones farmacéuticas. *Acta Farm Bonaerense* 1990;9(1):53-64.
2. Yan Ch, Resau JH, Hewetson J, West M, Rill WL, Kende M. Characterization and morphological analysis of protein-loaded poly (lactide-co-glycolide) microparticles prepared by water-in-oil-in-water emulsion technique. *J Contr Rel* 1994;32:231-41.
3. Ramos D, Gómez M, Fernández D. Método de obtención de microesferas biodegradables. *Rev Cubana Farm* 2001;(1):70-7.
4. Fernández D, Gómez M, Ramos D, González N, Núñez L, Flores N. Obtención de microesferas biodegradables de ácido poli L láctico cargadas con doxorubicina. (En prensa).
5. Benite S, Benoit JP, Puisieux F, Thies C. Characterization of drug loaded poly (D,L-lactide) microspheres. *J Pharm Sci* 1994;732(2):1721-8.
6. Núñez L, Izquierdo JC, Gómez M, Fernández D, Ramos D. Determinación de solvente residual en microesferas de ácido láctico y glicólico. (En prensa).
7. Görner T, Gref R, Michenot D, Sommer F, Tran MN, Dellacherie E. Lidocaine-loaded biodegradable nanospheres. I. Optimization of the drug incorporation into the polymer matrix. *J Contr Rel* 1999;57:259-68.
8. Okada H, Yamamoto M, Heya T, Inoue Y, Kamei S. Drug delivery using biodegradable microspheres. *Cont Rel* 1994;28:121-9.
9. González N, Fernández D, Gómez M, Laffita O, Ramos D. Influencia del polímero empleado en la preparación de microesferas para liberación del fármaco. *Rev Cub Farm* 2000;34:134-6.
10. Heya T, Okada H, Ogawa Y, Toguchi H. Factors influencing the profiles of TRH release from copoly (DL-lactide/glycolic acid) microspheres. *Int J Pharm* 1991(72):199-205.

Recibido: 3 de octubre de 2002. Aprobado: 4 de noviembre de 2002.

*Lic. Dianelis Fernández Mena.* Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos. Departamento de Formas Terminadas. Calle 19 de mayo No.13 esquina a Amézcaga, municipio Plaza de la Revolución, CP 10600, Ciudad de La Habana, Cuba.