

Discos de poco espesor de hidroxiapatita cubana sinterizada como sistema de liberación de fármacos

Cuban low-thickness sintered hydroxyapatite disks as a drug release system

MSc. María Elena Fernández Abreu,^I Dr. C Héctor López Salinas,^{II} Dr. C Clodomiro Alves Junior,^{III} MSc. Marina de Oliveira Cardoso Macêdo,^{IV} Dra. Rosângela de Carvalho Balaban,^V Dr. Carlos Figueroa,^I Ing. Meylí Valin Fernández^{VI}

^I Grupo de materiales. Facultad de mecánica. ISPJAE, La Habana, Cuba.

^{II} Departamento de Engenharia Têxtil, Centro de Tecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, Brasil.

^{III} Departamento de Engenharia Mecânica, Centro de Tecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, Brasil.

^{IV} Departamento de Engenharia Mecânica, Centro de Tecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, Brasil.

^V Departamento de Química. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, Brasil.

^{VI} Programa de Pós-graduação em Mecânica. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil.

RESUMEN

Objetivo: el objetivo principal de este trabajo es estudiar la posibilidad de que sean empleados como sistema de liberación controlada de fármacos, discos de Hidroxiapatita (HA) cubana, fabricados por prensado y sinterizado en hornos eléctrico, sin el empleo de agentes formadores de poros, con porosidades aparentes de 12, 20 y 40%, que fueron dopados por sobre presión con una solución acuosa de alginato de sodio al 5 % y 55 ppm de ceftazidima.

Métodos: se estudió la relación entre la penetración del polímero y la porosidad aparente con la liberación del fármaco.

Resultados: se demostró que estos discos infiltrados con el polímero que encapsula el fármaco pueden ser utilizados como sistema de liberación controlada. Se demuestra que la porosidad aparente y el tamaño de los poros son influyentes en la penetración del polímero y la masa de fármaco liberado.

Conclusiones: En las curvas de liberación obtenidas se observa que los discos pueden ser un potencial material para soportar medicamentos porque se evidencia como el material es capaz de controlar la liberación del medicamento remanente ocluido por un método de dopaje a sobre presión. El perfil indica que en un periodo de siete días se libera controladamente el medicamento.

Palabras clave: discos de Hidroxiapatita, biomateriales, fármacos, sistema de liberación controlada, bioactividad.

ABSTRACT

Objective: the main purpose of this study is to examine the potential use of Cuban hydroxyapatite (HA) disks as a controlled drug release system. These disks are manufactured by pressing, and sintered in electric furnaces without using pore-forming agents, with apparent porosities of 12, 20 and 40%, and doped by overpressure with a 5% sodium alginate aqueous solution and 55 ppm ceftazidime.

Methods: a study was conducted of the relationship between penetration of the polymer and apparent porosity with the release of the drug.

Results: it was shown that when infiltrated with the polymer encapsulating the drug, these disks may be used as a controlled release system. It was also found that apparent porosity and pore size influence polymer penetration and the mass of drug released.

Conclusions: the release curves obtained show that the disks may be a potential drug-supporting material, capable of controlling the release of the remnant drug occluded by an overpressure doping method. The profile reveals that controlled release of the drug is completed in seven days.

Key words: hydroxyapatite disks, biomaterials, drugs, controlled release system, bioactivity.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años la aplicación local de medicamentos ha despertado gran atención debido a que constituye un método seguro y eficiente mediante el cual se obtienen efectos quimioterapéuticos superiores con cantidades mínimas de fármacos. En el caso del uso local de antibióticos se cuenta hoy día con los sistemas de liberación sostenida que mantienen un nivel constante de medicamento.

El desarrollo de biomateriales compuestos como sistemas de liberación controlada de fármacos ha despertado la atención de los especialistas en las últimas décadas debido a las diversas ventajas que estos presentan en la práctica médica.¹ La hidroxiapatita puede combinarse con biopolímeros, capaces de micro encapsular medicamentos, pudiendo convertir el compuesto en una fuente localizada de suministro controlado del mismo.

En el grupo de biomateriales de mecánica del ISPJAE se está investigando en la obtención de discos de HA sintética cubana de pequeño espesor con porosidad controlada (12, 20 y 40 %) por el proceso de fabricación de presado y sinterizado sin

la adición de formadores de poros, los cuales se doparon por el método de sobre presión con un polímero y un fármaco.² Por este motivo, el objetivo principal de este trabajo es demostrar las posibilidades de utilizar estos discos como sistema de liberación controlada de fármacos. Para evaluar la utilización de estos discos de Hidroxiapatita infiltrados con polímero y fármaco como sistemas de liberación controlada de fármacos, se seleccionó el alginato de sodio que es un polímero natural y la ceftazidima que es un antibiótico que pertenece al grupo de las cefalosporinas de tercera generación utilizada en el tratamiento de infecciones osteoarticulares.²

MÉTODOS

Obtención de los discos

Los discos de Hidroxiapatita (HA) fueron elaborados con dos tipos de polvos; uno cubano (B1) del Centro de Biomateriales de la Universidad de la Habana de Cuba y el SC de la StremChemicals de EU. Estos discos se fabricaron sin aditivos formadores de poros por prensado uniaxial a un valor de 4 toneladas y sinterizadas en un horno eléctrico de atmósfera controlada con una razón de calentamiento de 4 °C/min en un rango de temperaturas de 800 - 1300°C, durante un tiempo que oscila entre 0,5 - 3 horas. Lo que permitió obtener un rango de porosidad aparente de 3 hasta 40%. Los valores de porosidad obtenidos se diferencian producto de la temperatura y el tiempo de sinterización aplicado, logrando reproducir la porosidad para cada tecnología fijada.

Las dimensiones de los discos oscilan de diámetro entre 16,2 - 18,8 mm con un espesor de 1,5 - 1,7 mm, con diámetros de poros entre 100 y 18 nm.

Las características reológicas de la solución de dopado (solución acuosa de alginato de sodio con 5g/l) determinadas son: viscosidad aparente media de 35 mPa·s y comportamiento pseudo plástico. La tensión superficial de la solución es de $54,8 \cdot 10^{-3}$ N/m y se determinó a 25°C utilizando un tensiómetro Nima Technologies empleando el método de placa de Wilhelmy usando papel cromatográfico Whatman de 1cm de ancho como placa. El equipo presenta un margen de error de ± 1 mN m⁻¹.

Dopado de los discos de HA

La infiltración del polímero en los discos de HA fue realizado por el método de sobre presión en un dispositivo con un radio del pistón de 20 mm. Bajo presión uniaxial, con cargas de 2 y 4 toneladas durante un minuto.

Se realizaron las mediciones de penetración del polímero en los discos de HA en función de la porosidad utilizando el Microscopio Óptico Olympus - BX60M, con rango de magnificación de 50 a 500x, el cual esta acoplado a una PC para el procesamiento de las imágenes obtenidas, con el programa Pro-Plus versión 6,0 de Media Cybernetics. La observación fue en la sección transversal del disco pulido hasta paño con pasta de diamante de 1 μm sin ataque químico y con ataque con solución acuosa de ácido orto fosfórico al 38 %. Las mediciones fueron realizadas barriendo de un extremo al otro la sección de la muestra. Realizando más de diez mediciones en cada zona.²

Ensayos de liberación de ceftazidima *in vitro*

Para obtener los perfiles de liberación se prepararon tres réplicas de cada porosidad estudiada para cada material, los cuales fueron colocadas en un pesafiltro y se les adicionó 25 mL de una disolución buffer de fosfato. Esta disolución fue preparada previamente, adicionando 8,0 mmol de $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$, 2,0 mmol de KH_2PO_4 , 2,7 mmol de KCl y 13,7 mmol de NaCl en 500 mL de agua destilada y desionizada contenida en un frasco de polietileno de 1000 mL. Posteriormente se traspasa cuantitativamente esta disolución a un matraz aforado de 1 L y se enrasa con agua destilada y desionizada. El pH de esta disolución, a 37°C, es $7,40 \pm 0,05$. Luego todos los pesafiltros se taparon y se introdujeron en un Baño termostatazo a $37,0 \pm 0,1^\circ C$ durante 360 horas (15 días). Periódicamente la disolución buffer de fosfato en contacto con las formulaciones fue extraída completamente y reemplazada por una cantidad igual de disolución fresca. La disolución extraída fue conservada en frascos de vidrio herméticamente tapados y mantenidos a $-20^\circ C$ hasta el momento del análisis. Las extracciones se realizaron, la primera a los treinta minutos y después cada una hora durante las primeras siete horas y cada 24 horas durante todo el tiempo de estudio.

La determinación de la cantidad de ceftazidima liberada en cada instante de tiempo, se realizó en un espectrofotómetro UV-Visible (Genesys UV) a una longitud de onda de 211nm, empleando una curva de calibración de 4, 8, 12, 16 y 20 ppm) de ceftazidima en una disolución tampón de fosfato.³

RESULTADOS

Distribución de tamaños y volúmenes de poros determinado por porosimetría de mercurio en los discos B1 y SC.

A partir de las gráficas obtenidas en la Porosimetría de Mercurio para los discos B1 y SC se pudieron obtener los volúmenes de poros para cada intervalo de radios de poros que mide el equipo empleado (Fig. 1 y 2).⁴

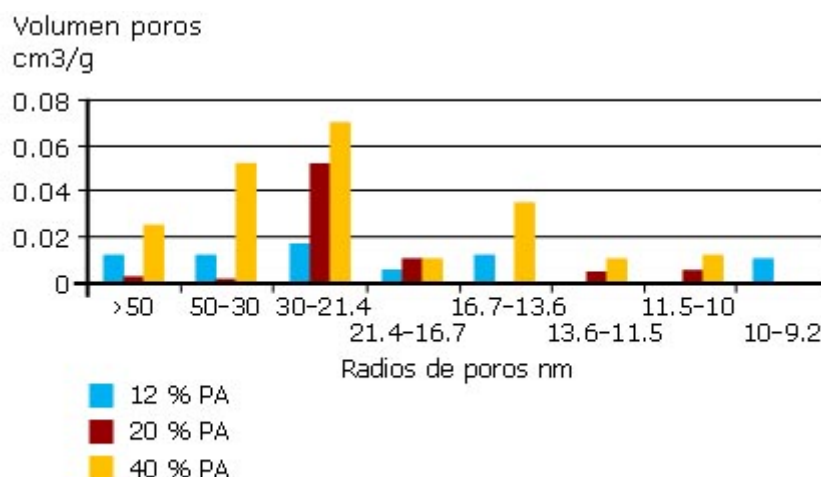


Fig. 1. Distribución de volúmenes de poros con respecto al radio de los poros para diferentes porosidades aparentes en los discos B1.

De los resultados obtenidos representados en la gráfica 1, podemos analizar que los discos B1 tienen las siguientes características.

- Para la porosidad del 12 % presenta una variedad de poros de mayor volumen con radios entre 50 hasta 13.6 nm y menor de 10 nm.
- Para 20 % PA concentra su mayor volumen de poros de radio de 30-16,7 nm lo que indica que los tamaños de poros tienden a ser más homogéneos.
- Para el 40 % PA tiende a existir una gran variedad de tamaños de poros, predominando el mayor volumen para los tamaños entre 50-21,4 nm.
- Se destaca que el mayor volumen de poros para las tres porosidades coinciden para los tamaños de poros entre 30 y 21 nm.

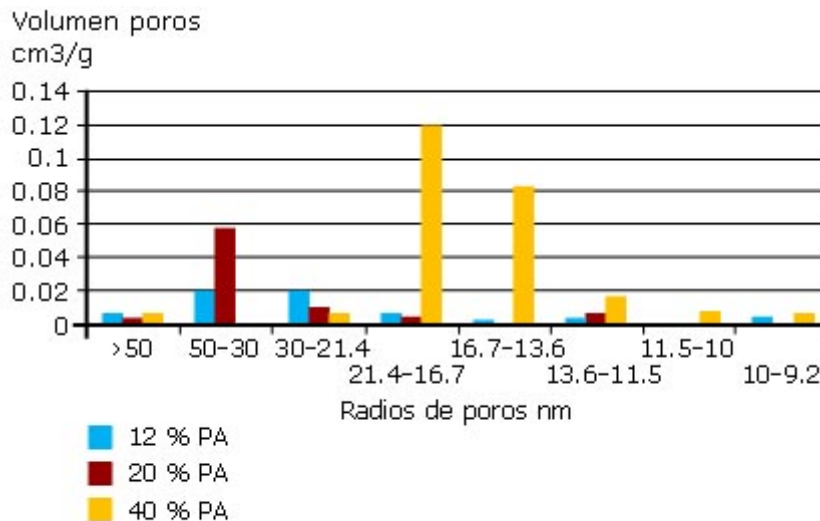


Fig. 2. Distribución de volúmenes de poros con respecto al radio de los poros para diferentes porosidades aparentes en los discos SC.

En los discos SC el tamaño de poros se encuentra distribuido en rangos más estrechos para cada porosidad. Obsérvese en la gráfica.

- Para 12 % PA tiende a tener su concentración de mayor volumen de poros entre los radio de poros de 50-21,4nm.
- Para 20 % PA predominan los poros de radio de 50-21,4 nm aunque tiene mayor volumen en los poros de 50 a 30 nm.
- Las porosidades de 20 y 12 % PA, presentan similar distribución de tamaño de poros con la diferencia del volumen de estos.
- Para el 40 % de PA presenta su mayor volumen de poros en el rango de tamaños menores entre radios de 21,4-13,6 nm y el resto del volumen en radio de poros menores a 13,6 nm hasta 9 nm.
- Se observa que los discos con 12 y 20% PA presentan mayores tamaños de poros que los de 40% PA.

La distribución de los volúmenes de poros según el tamaño de los mismos entre los discos B1 y SC es diferente. Mientras que en los SC con 12 y 20 % de porosidad su composición de poros es más similar a los de los discos B1 y muy diferente para el SC con 40 % donde se presenta la mayor cantidad de poros con los menores tamaños.

Penetración del polímero en los discos bajo el dopado

Se analizó la penetración del polímero para los discos B1 y SC con las porosidades de 12, 20 y 40 % bajo las cargas de 2 y 4 toneladas durante un minuto.

Se observa en la figura 3 que para un mismo valor de carga de dopado, incrementa el valor de la penetración con el incremento de la porosidad en los discos B1. Siendo este incremento mayor con el aumento de la carga de dopado de 4 toneladas. Se observa que las porosidades de 12 y 20 % tienen penetraciones similares para las cargas 2 y 4 toneladas, produciéndose un incremento en la penetración con el aumento de la carga de dopado de 4 toneladas para el 40 % porosidad aparente. Con un incremento de casi tres veces en comparación con la penetración obtenida con 2 toneladas. En estos discos los tamaños de poros para las porosidades de 12 y 20 % son similares, sólo los diferencia el volumen de estos. Para la porosidad del 40 % que es el volumen más alto de poros analizados, tiene mayor tamaño de poros y en este caso están influyendo tanto el tamaño de los poros como el volumen de estos en la penetración del polímero.

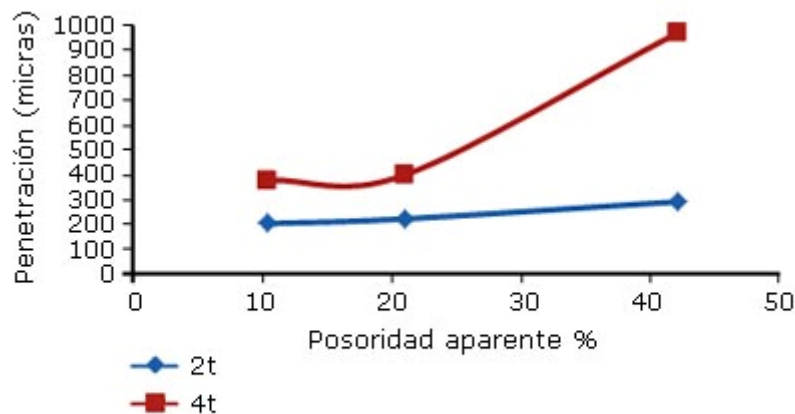


Fig. 3. Relación de la penetración del polímero con la porosidad aparente de los discos B1.

Y en los discos SC a pesar que las porosidades del 12 y 20 % presentan tamaños de poros semejantes la profundidad de penetración es ligeramente mayor en el 20 % por el aumento de la porosidad aparente.

La penetración en caso del 20 y 40 % de PA es similar debido a la influencia del tamaño y volumen de poros. Teniendo que el 20 % tiene mayores tamaños de poros y el 40 % un volumen mayor.

Al variar la carga de dopado para la porosidad del 40% en estos discos, no varía mucho la penetración del polímero, lo que debe estar influenciado porque los poros son más pequeños para estos discos (figura 4).

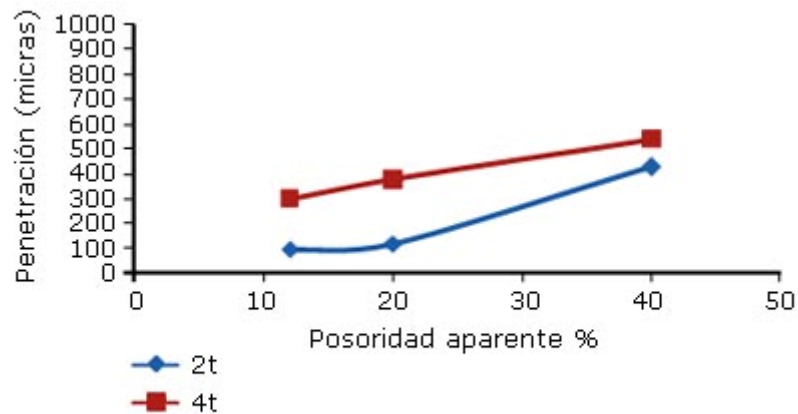


Fig. 4. Relación de la penetración del polímero con la porosidad aparente de los discos SC.

Análisis de la liberación en los discos B1 y SC

Los resultados en la liberación de la Ceftazidima en los discos B1 y SC en función de la porosidad están en correspondencia con la morfología, tamaño y volúmenes de poros de estos para las porosidades de 12, 20 y 40 %, análisis realizado anteriormente en el estudio de la penetración del polímero. Esto demuestra las posibilidades de estos sistemas porosos para ser empleados en sistemas de liberación de drogas al controlar la morfología y porosidad de estos discos de hidroxiapatita.

En los discos B1 se evidencia como el material es capaz de controlar la liberación del medicamento remanente ocluido por un método de dopaje a sobre presión. El perfil indica que en un periodo de siete días se libera controladamente el medicamento. Con un aumento de la liberación de la masa para iguales tiempos con el aumento de la porosidad aparente.

En el material B1 los niveles de liberación están por encima los valores del 12 % con respecto al del 20 % entre las 7 y 72 horas, aunque coinciden los valores para el mínimo de los errores del 20 % con el promedio del 12 %, lo que hace que coincidan los valores de masa liberada para ambas porosidades. Presentando el mismo perfil de liberación y en las siete primeras horas coinciden los valores de masa liberada (figura 5).

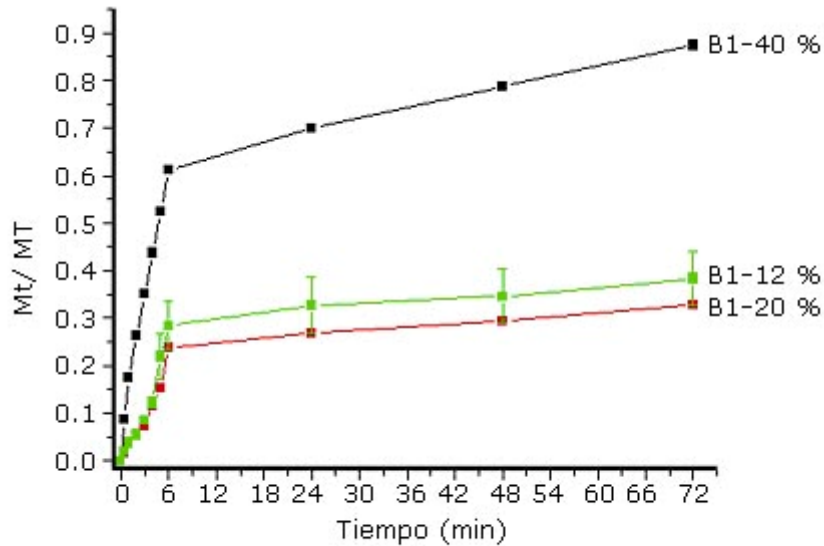


Fig. 5. Liberación de ceftazidima en discos B1.

En el material SC se observa que la masa liberada aumenta para las tres porosidades analizadas con el aumento de la porosidad aparente. Para las porosidades del 12 y 20 % tienen valores de masa liberada muy próximos que coinciden en los valores mínimos del 20 % PA con los valores promedios del 12 % PA (figura 6).

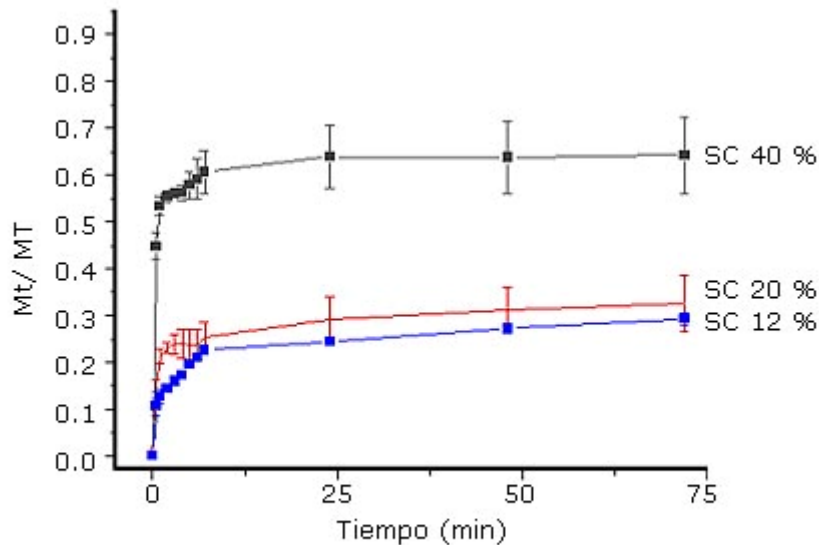


Fig. 6. Liberación de ceftazidima en discos SC.

Relación entre la penetración y la liberación del fármaco

Para un mismo valor de carga de dopado, incrementa el valor de la penetración con el incremento de la porosidad en los discos. Se observa que las porosidades de 12 y 20 % tienen penetraciones similares, produciéndose un incremento en la penetración para el 40 % porosidad aparente. Este comportamiento se observa en la liberación del fármaco liberado. Lo que nos demuestra la relación que existe entre la porosidad aparente, la penetración del polímero y la liberación del fármaco en estos discos.

DISCUSIÓN

Comparando la penetración en los discos de ambos materiales para las porosidades del 12 y 20 % bajo las cargas de 2 y 4 toneladas, se observa que se obtienen valores próximos de penetración, siendo mayores en los discos B1. Para el 40 % de PA tiene mayor penetración para los discos B1. Este comportamiento entre los discos B1 y SC debe estar motivado por el tamaño de los poros para los mismos volúmenes de poros, que para el 12 y 20 % son semejantes, mientras que para el 40 % son diferentes, teniendo los discos B1 mayores tamaños de poros que los SC.

Debemos analizar que normalmente, el tamaño de poros y su conectividad determinan si el sólido tiene o no buena permeabilidad. El líquido o solución fluiría fácilmente a través del cuerpo con poros de grandes tamaños con una conectividad entre ellos. Los poros más pequeños con el mismo grado de conectividad, tiene baja permeabilidad, ya que el líquido fluiría a través del cuerpo más lentamente.⁵

Para ambos materiales para el 12 y 20 % PA tienen valores de masa liberada muy próximos, no teniendo diferencias notables para ambas porosidades entre los dos materiales.

El material B1 tiene ligeramente niveles de masa liberada más altos que el SC. Acentuándose en el 40 % PA.

Para el 40 % PA la masa liberada es de mayor del 60% y en el material B1 después de las siete horas se diferencia el nivel de liberación con respecto al SC, alcanzando un 80 % de masa liberada para las 72 horas, lo que nos demuestra una liberación mayor para el mismo tiempo.

En las curvas de liberación obtenidas se observa que los discos pueden ser un potencial material para soportar medicamentos porque se evidencia como el material es capaz de controlar la liberación del medicamento remanente ocluido por un método de dopaje a sobre presión.

El perfil indica que en un periodo de siete días se libera controladamente el medicamento.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Federal de Rio Grande del Norte de Natal, Brasil; a la CAPES de Brasil por su financiamiento; al Departamento de química del centro de investigaciones de Cuba, en especial al MSc. Javier Aragón Fernández y al Instituto Superior Politécnico José Antonio Echeverría, Ciudad Habana, Cuba.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Vallet-Regi, M. Liberación de fármacos en matrices biocerámicas: avances y perspectivas. Biblioteca Virtual de la Real Academia Nacional de Farmacia. [consultado: 15 de marzo de 2013] Disponible en: <http://www.eionet.europa.eu/gemet/concept/6181>

2. Fernández Abreu, Maria Elena. Tesis de Maestría «Obtención y caracterización de las placas cerámicas impregnadas con polímero--medicamento». Instituto de Ciencia y tecnología de Materiales, La Habana, Abril del 2008.
3. Aragón Fernández Javier, González Santos Ramón, Brizuela Guerra Nayrim, Oliver Valdés Lisy. ESTUDIO CINÉTICO DE LIBERACIÓN IN VITRO EN UN BIOMATERIAL COMPUESTO POR HAP-200/POVIAC/CaCO₃. Rev. Iberoamer. Polím.2009[citado: 7 de octubre de 2012]; 10(2): 119-130.
4. Gutiérrez Sandelis, Alain. Tesis de diploma «Evaluación de la penetración de un polímero en placas de hidroxiapatita porosa». Instituto Superior Politécnico José Antonio Echeverría. La Habana, 2012.
5. ISO 23317: 2007. Implantas Implants for surgery - in vitro evaluation for apatite-forming ability of implant materials.
6. Yaima campos mora Campos Mora, Gastón fuentes Fuentes Estévez, Jove A. delgado Delgado, Eduardo Peón. Propiedades físico-químicas y mecánicas de materiales compuestos hidrófilicos. VII Congreso de la Sociedad cubana Sociedad Cubana de Bioingeniería. Bioingeniería. Habana 2007.
7. Castro Fernández H, Ledea Lozano OE. Determinación de la bioactividad y la resistencia a la compresión de bloques de Poliapatita. Quím. Nova. 2010 [citado: 7 de octubre de 2012]; 33(4).
Disponibile en: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422010000400024>

Recibido: 8 de enero 2013.
Aprobado 30 de enero 2013.

Ing. MeyliValin Fernández. Programa de Pós-graduação em Mecânica. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil. meyli80@gmail.com