

# Apósitos de polímeros naturales para la liberación dual de antiinflamatorios y antibióticos

Sandra Concepción Díaz

5º Grado en Farmacia

Curso 2019- 2020

*Tutora:* Patricia Díaz Rodríguez

*Co-tutora:* Patricia García García

Departamento de Ingeniería Química y Tecnología Farmacéutica

*Área de conocimiento:* Farmacia y Tecnología Farmacéutica

# *Índice*

<b>Agradecimientos</b> .....	<b>3</b>
<b>Abreviaturas</b> .....	<b>4</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>5</b>
<b>Resumen</b> .....	<b>6</b>
<b>1. Introducción</b> .....	<b>7</b>
<b>2. Objetivos</b> .....	<b>10</b>
<b>3. Materiales y métodos</b> .....	<b>11</b>
3.1 Materiales.....	11
3.2 Preparación de tampón fosfato .....	11
3.3 Preparación de las microesferas.....	11
3.4 Validación del método de cuantificación de fármacos .....	12
3.5 Evaluación de la eficacia de encapsulación .....	13
3.6 Ensayo de liberación .....	13
<b>4. Resultados y discusión</b> .....	<b>14</b>
4.1 Validación del método de cuantificación de fármacos .....	14
4.1.1 Cuantificación de ciprofloxacino .....	14
4.1.2 Cuantificación de indometacina .....	15
4.2 Evaluación de la capacidad de incorporación de fármaco en las microesferas ....	15
4.2.1 Microesferas cargadas con ciprofloxacino .....	16
4.2.2 Microesferas cargadas con indometacina .....	16
4.3 Ensayo de liberación de los principios activos .....	17
4.3.1 Microesferas de ciprofloxacino .....	17
4.3.2 Microesferas de indometacina .....	18
<b>5. Conclusiones</b> .....	<b>21</b>
<b>6. Bibliografía</b> .....	<b>22</b>

## **Agradecimientos**

Quiero agradecer profundamente a la Dra. Patricia Díaz Rodríguez por su implicación y cercanía, que ha hecho posible la realización de este trabajo, además de por su orientación y disponibilidad en todo momento en estas circunstancias tan excepcionales. También por su gran ayuda en el laboratorio al igual que Patricia García García.

Al Dr. Edgar Pérez Herrero por ofrecerme su ayuda en el laboratorio, así como resolver mis dudas acerca del proyecto.

Y a la Dra. Carmen Évora García y la Dra. Araceli Delgado Hernández por ofrecerme una visión más amplia del mundo de la Tecnología Farmacéutica.

## **Abreviaturas**

DCM: diclorometano

PCL: poli-ε-caprolactona

PLGA: poli (D,L-láctico-co-glicólico)

PLLA: poli (ácido l-láctico)

## **Abstract**

Chronic wounds are characterized by alterations in the healing process and a perpetuated inflammation. For this reason, these wounds should be properly managed with antibiotics and anti-inflammatory drugs to prevent infections, revert the established inflammatory environment and promote wound healing.

The main objective of the present study is to obtain microspheres capable of incorporating an antibiotic or an anti-inflammatory serving as controlled release systems. Microspheres were prepared using copolymers of different nature in order to evaluate the polymers effect on drug encapsulation efficiency and therapeutic molecules release profiles. The results showed the encapsulation efficiency is high for both drugs (> 80%) and independent of the selected copolymer. However, regarding drug release profile, significant differences were found depending on the polymer used. The release rate is slower when high molecular weight polymers are used (ciprofloxacin microspheres), unlike low molecular weight polymers (indomethacin microspheres), which presented more of a burst release phenomenon. The combination of both types of microspheres would make possible to obtain dual-release wound dressings for anti-inflammatory drugs and antibiotics with different release profiles.

## Resumen

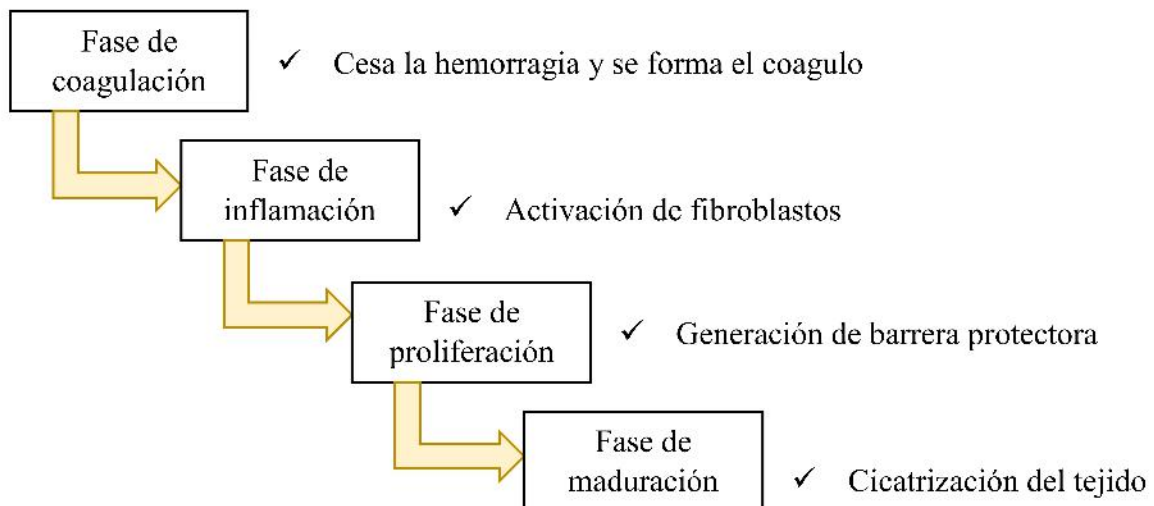
Las heridas crónicas se caracterizan por alteraciones en el proceso de cicatrización e inflamación perpetuada en el tiempo. Por ello se requiere un adecuado manejo, donde antibióticos y antiinflamatorios jugarán un papel importante para prevenir infecciones, revertir el proceso inflamatorio establecido y promover la cicatrización.

El principal objetivo del presente estudio es obtener microesferas capaces de incorporar un antibiótico o un antiinflamatorio que sirvan como sistemas de liberación controlada de dichos fármacos. Estas microesferas fueron preparadas empleando copolímeros de diferente naturaleza con el fin de evaluar su efecto sobre la capacidad de encapsulación del principio activo y los perfiles de liberación. Los resultados mostraron que la capacidad de encapsulación es elevada para ambos principios activos (> 80%) e independiente al copolímero seleccionado. No obstante, respecto al perfil de liberación del fármaco se encontraron diferencias notorias en función del polímero utilizado. La velocidad de liberación se ralentiza cuando se utilizan polímeros de alto peso molecular (microesferas de ciprofloxacino), a diferencia de los de bajo peso molecular, que sufrirán en mayor medida un efecto “burst” (microesferas de indometacina). La combinación de ambos tipos de microesferas permitiría fabricar apósitos con liberación dual de antiinflamatorios y antibióticos con perfiles de cesión diferentes.

# 1. Introducción

Daños físicos o térmicos pueden causar lesiones en la epidermis o las membranas mucosas formando una herida. Estas se clasifican como agudas o crónicas. La diferencia entre ambas es el tiempo de curación, ya que las heridas agudas se curan en poco tiempo mientras que las crónicas se caracterizan por un largo periodo de curación, además de la ausencia de crecimiento de tejido nuevo y sano. Generalmente, también se asocian con una excesiva inflamación y/o pobre perfusión de oxígeno [1].

El proceso normal de curación consta de cuatro fases. La primera es la fase de coagulación, teniendo una duración corta (15 minutos) y su objetivo es cesar la hemorragia producida para evitar la pérdida de sangre, formando un coagulo, encargado de promover la fase de inflamación y regeneración de tejido. En esa segunda fase, tiene lugar la destrucción o aislamiento de los agentes que puedan causar algún peligro para el tejido, activándose los fibroblastos e iniciando la siguiente fase, la de proliferación celular, donde se genera una barrera protectora, promoviendo la regeneración y evitando el acceso al organismo de agentes nocivos. Por último, en la fase de maduración se produce la cicatrización del tejido [2].



**Figura 1.** Esquema del proceso normal de curación de heridas

Sin embargo, en las heridas crónicas este proceso presenta algún tipo de alteración y la cicatrización se ve ralentizada por un aumento del proceso proteolítico que produce una degradación no controlada del tejido. Estas heridas se detienen en la etapa inflamatoria debido al daño tisular y permanecen incurables. Además, existen factores

asociados con el retraso en la cicatrización de heridas como son las enfermedades crónicas (como la diabetes), insuficiencia vascular o presión mantenida en la piel sobre prominencias óseas [2, 3].

El abordaje general de las heridas crónicas comienza con la eliminación de los tejidos no viables, mediante cirugía o agentes desbridantes. Posteriormente, se requiere de antibióticos, puesto que eliminar los tejidos no viables no siempre es suficiente para controlar el crecimiento bacteriano. Además, es común recurrir a agentes antiinflamatorios, ya que el proceso de cicatrización está estancado en la etapa inflamatoria. También, se debe corregir el desequilibrio de la humedad por medio de apósitos, y finalmente, promover la formación de nuevo tejido [3, 4].

Así, un apósito se define como *“un producto sanitario empleado para cubrir y proteger una herida. Su función consiste en proporcionar alivio del dolor, actuar de barrera frente a la infección, absorber el exudado, permitir una adecuada circulación sanguínea y optimizar el proceso de cicatrización”* [5].

Existen una gran variedad de materiales con los que preparar apósitos, como los hidrogeles, hidrocoloides, alginatos, películas de espuma de poliuretano y geles de silicona útiles para el tratamiento de heridas crónicas como el pie diabético o úlceras por presión. La administración local de agentes terapéuticos incluidos en apósitos permite reducir dosis y evitar efectos secundarios sistémicos. La liberación local proporciona un control espacio-temporal sobre la dosificación del fármaco en el sitio de la herida, lo protege de la desactivación metabólica y mantiene la concentración del mismo durante un período prolongado de tiempo. En la actualidad en España se encuentran comercializados apósitos cargados con povidona iodada [6 – 8].

Una alternativa a los apósitos ya existentes es el desarrollo de sistemas capaces de incluir una combinación de antibióticos y antiinflamatorios, como el ciprofloxacino y la indometacina. El ciprofloxacino inhibe las topoisomerasas de tipo II y IV necesarias para la replicación, transcripción, reparación y recombinación del ADN bacteriano. Presenta actividad frente grampositivos y gramnegativos, sin embargo, actualmente en España no hay ninguna presentación aprobada para su uso por vía tópica [8, 9].

La indometacina es un antiinflamatorio no esteroideo con propiedades analgésicas, antipiréticas y antiinflamatorias, pero su uso se reduce a su utilidad como



antiinflamatorio. Su mecanismo de acción se basa en una potente inhibición de la síntesis de las prostanglandinas, responsables de la inflamación [8,10].

Los sistemas convencionales de liberación prolongada de fármacos generalmente dan lugar a concentraciones iniciales superiores a las esperadas, pudiendo ocasionar toxicidad. Las microesferas son sistemas micrométricos desarrollados a partir de diversas técnicas de encapsulación capaces de solventar este problema, adaptando los perfiles de liberación a las necesidades de cada caso mediante la modificación de su composición. Algunas ventajas de estos sistemas de liberación son la biocompatibilidad (dependiente de los polímeros empleados), y la liberación sostenida local empleando dosis y frecuencia de administración reducidas con respecto a los sistemas convencionales. Este control de la liberación se consigue modulando sus propiedades físicas y químicas tales como el peso molecular del polímero utilizado, tamaño de las microesferas, distribución del fármaco en la matriz polimérica o porosidad de las microesferas [11].

## **2. Objetivos**

El objetivo de este trabajo es obtener microesferas capaces de incorporar ciprofloxacino o indometacina, para servir de vehículo en la liberación de dichos fármacos, las cuales podrían ser posteriormente incorporadas en apósitos adaptados para el tratamiento local de heridas cutáneas crónicas. Los objetivos específicos a abordar se describen a continuación:

1. Puesta a punto de los métodos de valoración de indometacina y ciprofloxacino.
2. Puesta a punto del método de elaboración de microesferas por la técnica de emulsión simple.
3. Determinación de la eficiencia de encapsulación de ambos fármacos.
4. Determinación del perfil de liberación de los fármacos desde las microesferas elaboradas.

### 3. Materiales y métodos

#### 3.1 Materiales

Los materiales empleados son los siguientes: PLLA:PCL 70:30 (Resomer<sup>®</sup> LC703S; viscosidad 1,3 – 1,8 dL/g; Evonik, Alemania), PLGA 75:25 (Resomer<sup>®</sup> 755S; viscosidad 0,50 – 0,70 dL/g; Evonik, Alemania), PLGA 50:50 (Resomer<sup>®</sup> RG 502; Evonik, Alemania, peso molecular 12 kDa), PLGA 50:50 (Resomer<sup>®</sup> Condensated RG; Evonik, Alemania, peso molecular 2,2 kDa), indometacina (Acros Organics, Estados Unidos), ciprofloxacino (Acofarma, España), diclorometano (DCM; Sigma–Aldrich, Estados Unidos), ácido acético (Merk, Alemania), alcohol polivinílico (PVA; Sigma–Aldrich, Estados Unidos), hidrogeno fosfato de sodio dihidratado ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; Merk, Alemania), Di hidrógeno fosfato de potasio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ; Merk, Alemania) metanol (Sigma–Aldrich, Estados Unidos), agua destilada.

#### 3.2 Preparación de tampón fosfato

Se preparó a partir de soluciones de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  en las proporciones especificadas de acuerdo a “Documenta Geigy Tablas Científicas” [12]. El pH de esta disolución fue evaluado empleando un pHmetro (Crison, España) y ajustado a pH 7,4 con soluciones ácidas o básicas, según fuera necesario.

#### 3.3 Preparación de las microesferas

Para la preparación de las microesferas se empleó el método de emulsión simple, diseñado para fármacos solubles en disolventes orgánicos. Se preparó una emulsión o/w (aceite en agua), donde el fármaco y el polímero se disolvieron en la fase orgánica (DCM) y la fase externa acuosa consistió en una disolución de PVA (tensoactivo) al 1%.

Se prepararon dos formulaciones de micropartículas por cada fármaco, variando el polímero utilizado (**Tabla 1**). Las microesferas de ciprofloxacino se elaboraron con un solo copolímero, PLLA:PCL (formulación 1) o PLGA (formulación 2), mientras que las de indometacina fueron preparadas con una mezcla de PLGAs con peso molecular diferente.

Ciprofloxacino	Formulación 1	Resomer <sup>®</sup> LC 703S PLLA:PCL (70:30)
	Formulación 2	Resomer RG 755S PLGA (75:25)
Indometacina	Formulación 3	Resomer <sup>®</sup> RG 502 (95%) + Resomer <sup>®</sup> Condensated RG (5%)
	Formulación 4	Resomer <sup>®</sup> RG 502 (90%) + Resomer <sup>®</sup> Condensated RG (10%)

**Tabla 1.** Polímeros utilizados para la preparación de las microesferas

Primero se preparó la fase orgánica disolviendo los principios activos en DCM a las concentraciones seleccionadas, 44 µg/ml para el ciprofloxacino y 24 mg/ml para la indometacina. Una vez disueltos, se hicieron alícuotas de 1 ml y se añadió 200 mg de polímero o de la mezcla de ellos a cada una. Para preparar la emulsión, se vertió la fase acuosa, 4 mL de PVA al 1%, sobre la fase oleosa y se agitó en vórtex durante 1 minuto a alta velocidad. Posteriormente, la emulsión se vertió sobre 96 mL de una disolución de PVA al 0,16 % y se mantuvo en agitación magnética durante 1 hora en campana de extracción para favorecer la evaporación del DCM. Las microesferas se filtraron a vacío empleando un filtro de 0,45µm de diámetro de poro (Sigma–Aldrich, Estados Unidos), se lavaron con agua destilada empleando el mismo sistema de filtrado, y se liofilizaron. Posteriormente se mantuvieron a 4°C hasta su uso.

### 3.4 Validación del método de cuantificación de fármacos

Para la validación del método de cuantificación de la indometacina y del ciprofloxacino por espectrofotometría UV-visible, se realizaron rectas de calibrado para cada uno de los fármacos. Previamente se realizó un barrido de longitudes de onda para evaluar a qué longitud de onda se obtenía el pico máximo de absorción en cada caso.

Debido a la baja hidrosolubilidad de los principios activos se emplearon cosolventes. En el caso del ciprofloxacino se empleó ácido acético como cosolvente para la recta de calibrado en tampón fosfato. Paralelamente se preparó otra recta de calibrado del ciprofloxacino en DCM para poder evaluar la eficacia de encapsulación. Su absorbancia se midió en un espectrofotómetro (Amersham Biosciences, Reino Unido) a la longitud de onda de 276 nm en tampón fosfato, o a 283 nm en DCM. Para la indometacina se empleó como cosolvente metanol y su absorbancia se midió a una longitud de onda de 320 nm.

### 3.5 Evaluación de la eficacia de encapsulación

Para evaluar la eficacia de encapsulación en el caso de la indometacina se cuantificó la cantidad de fármaco no incorporada en las microesferas. Para ello, se recogió una muestra de la fase acuosa durante el proceso de filtrado de las microesferas, y la concentración de fármaco fue evaluada mediante espectrofotometría UV-visible. En el caso del ciprofloxacino, las microesferas se disolvieron en 1,5 ml de DCM y posteriormente se midió la absorbancia de la solución resultante.

### 3.6 Ensayo de liberación

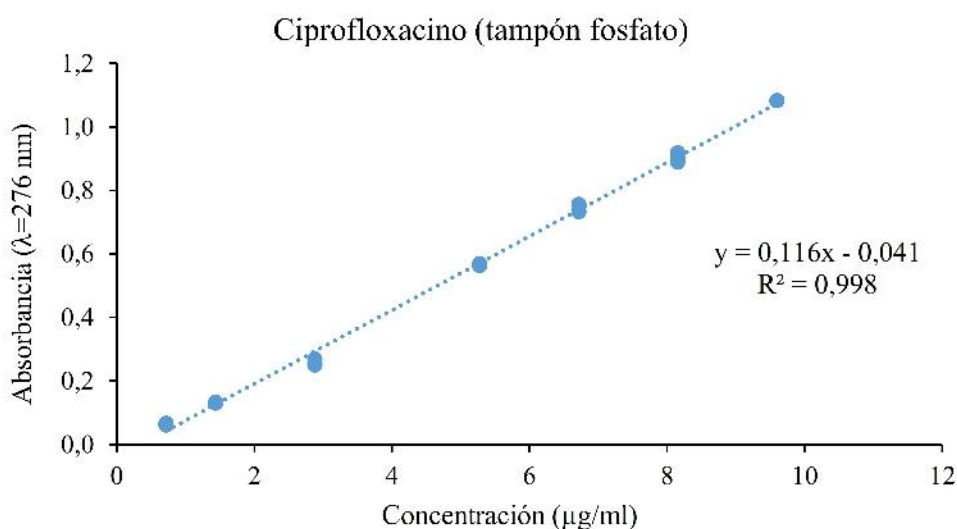
El ensayo de liberación se realizó tomando cantidades conocidas de microesferas e incubándolas en 3 ml de tampón fosfato a 37°C (bajo agitación constante; 25 rpm) en un baño oscilante (JP Selecta, España). Cada 24 horas las muestras se centrifugaron a 4.000 rpm durante 5 minutos para sedimentar las microesferas y se retiró el sobrenadante. A continuación, se añadieron 3 ml de tampón fosfato para continuar con el ensayo. La concentración de fármaco liberado en el sobrenadante fue evaluada empleando diluciones apropiadas mediante el método validado descrito anteriormente.

## 4. Resultados y discusión

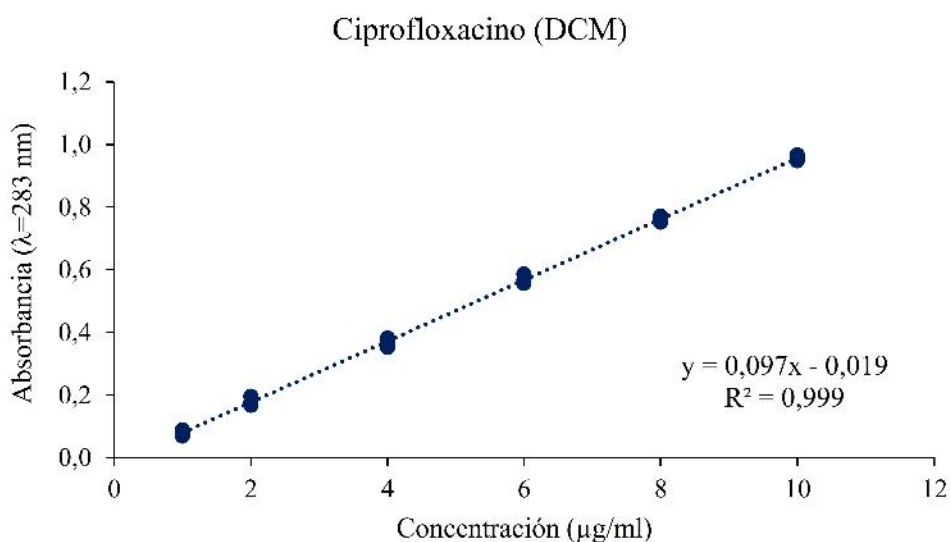
### 4.1 Validación del método de cuantificación de fármacos

#### 4.1.1 Cuantificación de ciprofloxacino

La recta de calibrado del ciprofloxacino en tampón fosfato se muestra en la **Gráfica 1** mientras que la **Gráfica 2** muestra la correspondiente recta en diclorometano.



**Gráfica 1.** Recta patrón de ciprofloxacino en tampón fosfato pH 7,4



**Gráfica 2.** Recta patrón de ciprofloxacino en diclorometano

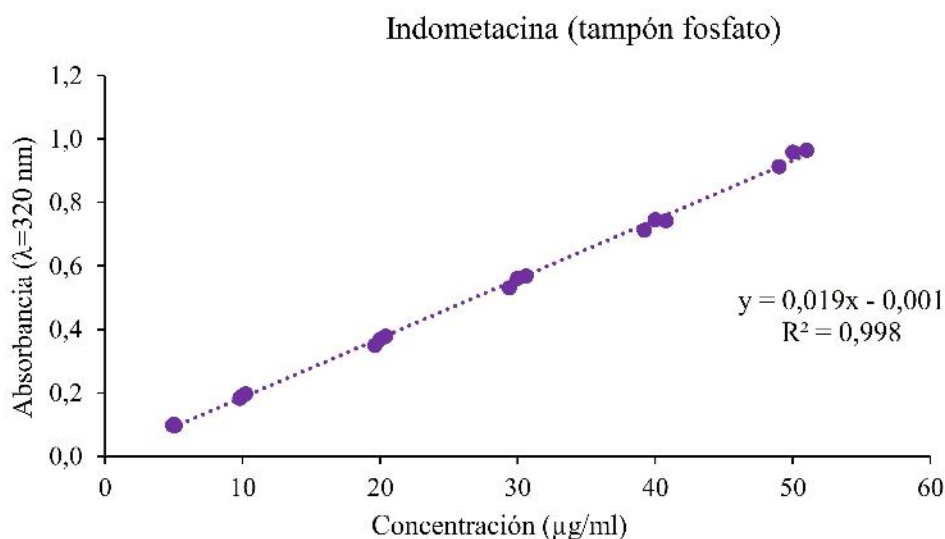
La concentración de ciprofloxacino es directamente proporcional a la absorbancia, de manera que se cumple la ley de Beer para ambos solventes en el intervalo de concentraciones estudiado.



Los parámetros de validación tomaron el valor de 0,998 y 0,999 para el coeficiente de correlación (linealidad ( $R^2$ )), 102,405% y 99,983% para la exactitud y 1,430% y 5,033% para la precisión para la recta en tampón fosfato y DCM respectivamente. Según los criterios de aceptación para un método analítico, en el caso de principios activos los valores deben aproximarse a 0,997 en caso de la linealidad ( $R^2$ ), exactitud  $100 \pm 2\%$  y precisión 5% aceptándose hasta un máximo del 10%. Si comparamos los resultados recogidos con los criterios de aceptación expuestos, podemos dar por válido el método [13].

#### 4.1.2 Cuantificación de indometacina

El **Gráfico 3** muestra la recta de calibrado de la indometacina en tampón fosfato pH 7,4.



**Gráfica 3.** Recta patrón de indometacina en tampón fosfato pH 7,4

Los parámetros de validación correspondientes adquirieron valores de 0,998, 101,245 % y 3,165 % para linealidad ( $R^2$ ), exactitud y precisión respectivamente. Analizando los criterios de aceptación expuestos anteriormente, podemos dar por válido el método analítico [13].

#### 4.2 Evaluación de la capacidad de incorporación de fármaco en las microesferas

En la selección de la dosis de fármaco necesaria en las microesferas se tuvo en cuenta las concentraciones terapéuticas siendo para la indometacina 36 μg/ml, y para el ciprofloxacino 0,5 μg/ml [14, 15].

#### 4.2.1 Microesferas cargadas con ciprofloxacino

Empleando la ecuación de la recta de calibrado de la **Gráfica 2**, se estimaron las respectivas concentraciones de ciprofloxacino tras disolver las microesferas en DCM. Sabiendo el volumen total en el que se disolvieron las microesferas y teniendo en cuenta los pesos de las muestras empleadas, las cantidades encapsuladas por peso de microesferas son:

		Cantidad encapsulada/mg de microesferas	
Ciprofloxacino	Formulación 1	Replicado 1	0,194 $\mu\text{g}/\text{mg}$
		Replicado 2	0,207 $\mu\text{g}/\text{mg}$
	Formulación 2	Replicado 1	0,176 $\mu\text{g}/\text{mg}$
		Replicado 2	0,217 $\mu\text{g}/\text{mg}$

**Tabla 2.** Cantidad de ciprofloxacino encapsulado por peso de microesferas

Para cada lote de microesferas se usó 44  $\mu\text{g}$  de ciprofloxacino y 200 mg de polímero dando lugar a una carga teórica de 0,220  $\mu\text{g}/\text{mg}$  de ciprofloxacino por peso de microesferas. Empleando la cantidad real de fármaco encapsulado (**Tabla 2**) podemos calcular el porcentaje de encapsulación correspondiente, obteniendo los valores:

- Formulación 1:  $91,225 \pm 4,066 \%$
- Formulación 2:  $89,135 \pm 13,117 \%$

El porcentaje de encapsulación ha sido elevado en ambas formulaciones obteniéndose valores superiores al 85%, indicativos de una adecuada eficiencia de encapsulación del principio activo.

#### 4.2.2 Microesferas cargadas con indometacina

La cantidad de indometacina encapsulada se obtuvo restando la cantidad de principio activo no encapsulado a la cantidad teórica de fármaco empleada. Los resultados obtenidos fueron:

		Cantidad encapsulada/mg de microesferas
Indometacina	Formulación 3	0,101 mg/mg
	Formulación 4	0,097 mg/mg

**Tabla 3.** Cantidad de indometacina encapsulada por peso de microesferas

Para cada lote de microesferas cargadas con indometacina se emplearon 24 mg de fármaco y 200 mg de las mezclas de polímero. Teniendo en cuenta la cantidad de fármaco



encapsulada que se muestra en la **Tabla 3** se calculó el porcentaje de encapsulación correspondiente:

- Formulación 3: 84,596 %
- Formulación 4: 81,642 %

El porcentaje de encapsulación del fármaco es elevado (> 80%), aunque no alcanzó los niveles observados con el ciprofloxacino. Esto podría derivarse de la solubilidad de ambos principios activos en medios acuosos donde la indometacina presenta una mayor solubilidad y de la elevada dosis de indometacina empleada en comparación con la de ciprofloxacino. Ello evita la pérdida de ciprofloxacino hacia la fase acuosa durante la formación de las microesferas. Además, la formulación 4 mostró unos niveles de encapsulación ligeramente inferiores a la formulación 3, que podrían estar asociados con el empleo de una mayor proporción de polímero de menor peso molecular (Resomer Condensated RG).

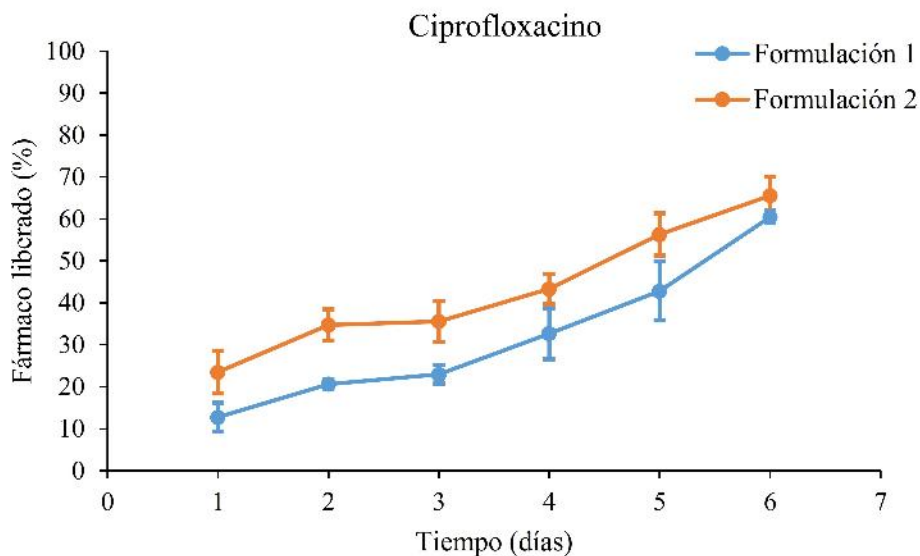
### 4.3 Ensayo de liberación de los principios activos

#### 4.3.1 Microesferas de ciprofloxacino

La **Tabla 4** muestra la cantidad acumulada de ciprofloxacino liberada en ambas formulaciones a cada tiempo. La **Gráfica 4** muestra el porcentaje de fármaco liberado en función del fármaco total cargado.

Tiempo (días)	Cantidad de Ciprofloxacino liberado (µg)				
	Formulación 1		Formulación 2		
	Replicado 1	Replicado 2	Replicado 1	Replicado 2	Replicado 3
1	0,575	0,409	0,874	0,940	1,305
2	0,751	0,850	1,349	1,581	1,681
3	0,927	0,850	1,349	1,581	1,791
4	1,402	1,126	1,758	1,890	2,100
5	1,810	1,501	2,266	2,465	2,741
6	2,253	2,442	2,741	2,807	3,150

**Tabla 4.** Cantidad acumulada de ciprofloxacino liberada a cada tiempo en tampón fosfato pH 7,4



**Gráfica 4.** Perfil de liberación de las microesferas de ciprofloxacino en tampón fosfato pH 7,4

Los resultados indican que, a tiempos cortos, la formulación 2 muestra una mayor liberación del fármaco que en la formulación 1. Sin embargo, el porcentaje de fármaco liberado tras 6 días de ensayo fue similar para ambas formulaciones. Esto podría deberse al peso molecular de los copolímeros, menor en el caso del PLGA con viscosidad 0.50 - 0.70 dl/g (formulación 2) que en el PLLA:PCL con viscosidad 1.3 - 1.8 dl/g (formulación 1) y a la estructura química del copolímero empleado. Las microesferas de PLGA, por tanto, presentarán una matriz menos compacta que las de la formulación 1, lo que facilita la liberación de principio activo.

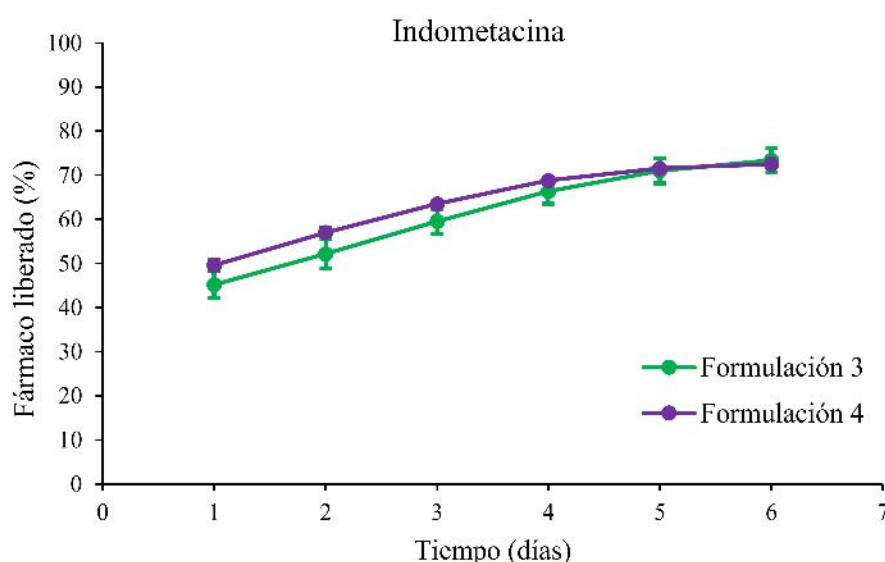
Además, la selección de un copolímero de PCL, que presenta una degradación más lenta y una mayor hidrofobicidad que el PLLA o PLGA, permite un mejor control sobre el proceso de liberación del principio activo [16]. Combinando ambas características, la formulación 1 muestra una mayor capacidad para evitar el efecto “burst”.

#### 4.3.2 Microesferas de indometacina

La siguiente tabla (**Tabla 5**) muestra los resultados del ensayo de liberación de la indometacina, a partir de las microesferas obtenidas a base de los mismos polímeros, pero a distintas proporciones (**Tabla 1**). Dichos resultados se ven reflejados en la **Gráfica 5**.

Tiempo (días)	Cantidad de Indometacina liberada (mg)					
	Formulación 3			Formulación 4		
	Replicado 1	Replicado 2	Replicado 3	Replicado 1	Replicado 2	Replicado 3
1	1,676	1,728	1,934	1,799	1,799	1,770
2	1,925	2,021	2,219	2,058	2,058	2,051
3	2,239	2,304	2,493	2,285	2,285	2,302
4	2,508	2,568	2,760	2,471	2,471	2,500
5	2,688	2,754	2,949	2,559	2,559	2,624
6	2,783	2,848	3,042	2,595	2,595	2,658

**Tabla 5.** Cantidad acumulada de indometacina liberada a cada tiempo



**Gráfica 5.** Perfil de liberación de las microesferas de indometacina en tampón fosfato pH 7,4

El perfil de liberación de indometacina en ambas formulaciones se asemeja bastante, tal y como cabría esperar ya que se han utilizado los mismos polímeros, pero variando las proporciones.

Comparando los perfiles de liberación obtenidos para los dos principios activos, aunque el porcentaje final de fármaco liberado es similar en ambos casos ( $\approx 70\%$ ), existe una clara diferencia en el perfil de cesión inicial de las microesferas. En el caso de las microesferas cargadas con ciprofloxacino, preparadas con polímeros de alto peso molecular, la liberación inicial es más lenta, con una liberación de  $\approx 20\%$  del fármaco tras las primeras 24 horas, seguido de una liberación más controlada. Esto es debido a dos procesos, difusión del fármaco y degradación paulatina del polímero. Por otro lado, las

microesferas cargadas con indometacina muestran un marcado efecto “burst”,  $\approx 50\%$  del fármaco liberado en el primer día, seguido de una liberación gradual debido probablemente al uso de polímeros de menor peso molecular y más hidrofílicos [11]. Además, este efecto se ve favorecido por la elevada cantidad de fármaco incorporada en las microesferas muy superior a la cantidad seleccionada para el ciprofloxacino y a la mayor solubilidad acuosa de la indometacina.

La combinación de ambos tipos de microesferas en un apósito daría lugar por tanto a perfiles de liberación diferentes para el antiinflamatorio y el antibiótico. Así, se consigue una dosis de ataque de antiinflamatorio, clave para el tratamiento de la inflamación instaurada en las heridas crónicas, mientras que el antibiótico se libera más lentamente, asegurando alcanzar la concentración terapéutica por un periodo prolongado de tiempo. Los mejores resultados fueron los obtenidos en las formulaciones 1 (de ciprofloxacino) y 4 (de indometacina), que serían las microesferas adecuadas para su incorporación en apósitos. Sin embargo, debido al estado de alarma decretado no se pudo realizar esta incorporación. Además, tampoco pudimos repetir los experimentos con otros dos nuevos lotes de microesferas para cada formulación para comprobar los resultados preliminares obtenidos.

## 5. Conclusiones

El trabajo experimental realizado ha permitido llegar a las siguientes conclusiones:

- ✓ La preparación de microesferas por emulsión simple permite una adecuada encapsulación de ciprofloxacino e indometacina.
- ✓ El empleo de copolímeros con características diferentes permite obtener microesferas con perfiles de liberación variables.
- ✓ Las microesferas obtenidas empleando polímeros de bajo peso molecular sufren un efecto “burst” inicial.
- ✓ La combinación de ambos tipos de microesferas permitiría fabricar apósitos con liberación dual de antiinflamatorios y antibióticos con perfiles de cesión diferentes.



## 6. Bibliografía

- [1] Esteva Espinosa E. El tratamiento de las heridas. *OFFARM (Barc. Internet)*. 2006; 25 (8): 54–60.
- [2] Guarín-Corredor C, Quiroga-Santamaría P, Landínez-Parra NS. Proceso de Cicatrización de heridas de piel, campos endógenos y su relación con las heridas crónicas. *Rev Fac Med*. 2013; 61(4): 441-448.
- [3] Zhao R, Liang H, Clarke E, Jackson C, Xue M. Inflammation in Chronic Wounds. *Int. J. Mol. Sci*. 2016; 17 (12): 2085.
- [4] Demidova-Rice TN, Hamblin M, Herman IM. Acute and Impaired Wound Healing. *Adv skin wound care*. 2012; 25(7): 304–314.
- [5] Benedi J, Romero C. Apósitos Revisión. *Farm Prof*. 2006; 20(6): 52–56.
- [6] Shi C, Wang C, Liu H, Li Q, Li R, Zhang Y, Liu Y, Shao Y, Wang J. Selection of Appropriate Wound Dressing for Various Wounds. *Front Bioeng Biotech*. 2020; 8: 182
- [7] Saghadzadeh S, Rinoldi C, Schot M, Kashaf SS, Sharifi F, Jalilian E, Nuutila K, Giatsidis G, Mostafalu P, Derakhshandeh H, Yuc K, Swieszkowski W, Memic A, Tamayol A, Khademhosseini A. Drug Delivery Systems and Materials for Wound Healing Applications. *Adv Drug Deliv Rev*. 2018; 127: 138–166.
- [8] Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios [Internet]. [consultado 24 de mayo de 2020]. Disponible en: <https://cima.aemps.es/cima/publico/buscadoravanzado.html>
- [9] Roc E, Dalmau J, García X, Corella F, Puig L. Antibioterapia. *Farm Prof*. 2016; 20(7): 51–55.
- [10] Lorenzo Fernández P, Moreno González A, Leza Cerro J, Lizasoain Hernández I, Moro Sánchez M, Portolés Pérez A, Velázquez. *Farmacología Básica y Clínica*. Madrid: Editorial Médica Panamericana S.A; 2015
- [11] Freiberg S, Zhu XX. Polymer Microspheres for Controlled Drug Release. *Int J Pharm*. 2004; 282 (1-2): 1-18.

- [12] Geigy JR. Documenta Geigy Tablas Científicas. Sexta edición. Barcelona: Sociedad Alianza de Artes Gráficas; 1965.
- [13] Shabir GA. Step-by-step analytical methods validation and protocol in the quality system compliance industry. *J Valid Technol.* 2014; 10: 314-324.
- [14] Mensa J, Gatell JM, García-Sánchez JE, Letang E, López-Suñé E, Marco F. Guía de terapéutica antimicrobiana. Barcelona: Antares; 2013.
- [15] Diaz-Rodriguez P, Landin M. Controlled release of indomethacin from alginate-poloxamer-silicon carbide composites decrease in-vitro inflammation. *Int J Pharm.* 2015; 480 (1-2): 92-100.
- [16] Abid Z, Mosgaard MD, Manfroni G, Petersen RS, Nielsen LH, Müllertz A, Boisen A, Keller SS. Investigation of mucoadhesion and degradation of PCL and PLGA microcontainers for oral drug delivery. *Polymers.* 2019; 11 (11): 1828.