

EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES VISCOELÁSTICAS DE IMPLANTES LAMINARES BIODEGRADABLES DE POLI(D,L-LACTIDA-CO-GLICOLIDA).

A. Santoveña¹, C. Álvarez-Lorenzo², A. Concheiro², M. Llabrés¹, J.B. Fariña¹.

¹Departamento de Ingeniería Química y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de La Laguna, 38200, S/C de Tenerife.

²Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Santiago de Compostela, 15782, Santiago de Compostela..

Introducción

La liberación de principios activos desde implantes biodegradables elaborados con copolímeros de poli(D,L-lactida-co-glicolida) (PLGA) está directamente condicionada por factores tales como el peso molecular y la composición del polímero, la forma física, las dimensiones y la consistencia del implante, y la carga del principio activo (1). Hasta la fecha, apenas se ha prestado atención a las propiedades físico-mecánicas del implante y a los efectos que se derivan para ellas de la incorporación del principio activo (2) y no se han estudiado los potenciales efectos de la degradación del polímero sobre las propiedades viscoelásticas de los implantes, y la repercusión de ésta sobre los procesos de liberación del fármaco.

Para predecir el comportamiento de los implantes e interpretar los perfiles de cesión del principio activo desde este tipo de sistemas, puede resultar muy útil registrar sus propiedades físico-mecánicas iniciales y seguir su evolución una vez que entran en contacto con el medio biológico. En esta comunicación se recogen los resultados de un estudio dirigido a evaluar, por reometría de cizalla oscilatoria, las propiedades mecánicas de implantes laminares de PLGA placebo y cargados de péptido sintético SPf66 y a hacer un seguimiento de su evolución en el tiempo cuando se mantienen en medio acuoso en condiciones de pH fisiológico. El objetivo último es obtener información que permita relacionar las propiedades reológicas de estos

sistemas con los procesos de degradación del polímero y de cesión del péptido.

Materiales y Métodos

Se preparó un copolímero de PLGA mediante polimerización por apertura del anillo de los correspondientes dímeros cíclicos (D,L-lactida/glicolida 75/25), utilizando el método propuesto por Gilding y Reed (3).

El peso molecular del polímero se determinó mediante cromatografía de permeación en gel (GPC), previo calibrado con patrones de poliestireno (2.800-355.000 Da), utilizando tetrahidrofurano (THF) como fase móvil a una velocidad de flujo de 0.9 mL/min. La composición del polímero se determinó por resonancia magnética nuclear de protón (RMN-¹H), en un espectrómetro Bruker AMX-400 y usando cloroformo deuterado como disolvente. Las proporciones relativas de los enlaces láctico-glicólico (LA-GA) y glicólico-glicólico (GA-GA) se determinaron mediante RMN-¹³C a 100.61 MHz, utilizando como disolvente dimetilsulfóxido deuterado (4). Se obtuvo un valor de peso molecular de 48 KDa (polidispersión de 1,25). Las relaciones lactida/glicolida y de enlaces glicólico-glicólico/láctico-glicólico resultaron ser de 67/33 y de 2/1, respectivamente.

Los implantes laminares sin carga de péptido se prepararon por un método de evaporación de disolvente (5) a partir de dispersiones al 25% p/v en diclorometano (DCM) que se extendieron sobre una superficie de cloruro de polivinilo (PVC). El disolvente se evaporó, a 5°C, durante 24 horas. Las láminas resultantes mostraron un

espesor comprendido entre 0,5 y 0,6 mm necesario para su caracterización.

Los implantes laminares con carga de péptido sintético SPf66 se elaboraron situando un liofilizado de principio activo y 2-hidroxipropil-β-ciclodextrina (Janssen Pharmac.), en una proporción 1/16, entre dos láminas de polímero de 1,5 mm de diámetro, sellándolas a continuación con otras dos láminas de polímero de dimensiones 1,5 mm de largo x 1,0 mm de ancho y aplicando una fuerza de 1 Tm durante 1 minuto para conseguir su consolidación. El espesor de los implantes resultantes fue de aproximadamente 0,5 mm.

La caracterización reológica de los implantes (placebo y cargados con péptido SPf66) se llevó a cabo en un reómetro Rheolyst AR-1000 N (TA Instruments) equipado con un accesorio de torsión para sólidos (ref. L543014/2), una cámara termostaticada y un sistema AR2500 para el análisis de los datos. La distancia entre los elementos de fijación fue, en todos los casos, de 9,5±0,5 mm.

Los valores de los módulos elástico (G') y viscoso (G'') se determinaron mediante reometría de cizalla oscilatoria dentro de un intervalo de viscoelasticidad lineal. Para delimitar este intervalo, se efectuaron barridos de fuerzas de oscilación, fijando la frecuencia angular en 1 rad/s. A la vista de los resultados obtenidos, para la realización de los ensayos se seleccionó el intervalo de frecuencias angulares comprendido entre 0,05 y 50 rad/s, y se aplicó una fuerza de cizalla en 0,1 Pa, de acuerdo con la función sinusoidal:

$$t = \tau_0 * \text{sen}(\omega * t + \delta) \quad (2)$$

en la que τ representa la tensión aplicada, τ_0 su amplitud, ω la frecuencia angular y δ el ángulo de desfase entre el máximo de tensión aplicada y el máximo de deformación resultante. Para calcular los módulos elástico y viscoso se utilizaron las expresiones:

$$G' = \tau_0 / \gamma_0 * \cos \delta \quad (3)$$

$$G'' = \tau_0 / \gamma_0 * \text{sen} \delta \quad (4)$$

en las que τ_0 representa la amplitud de la tensión aplicada, γ_0 la amplitud de la deformación resultante, y δ el ángulo de desfase (6).

Para estudiar el efecto de la temperatura, se evaluó la evolución de ambos módulos, medidos a una frecuencia angular fija de 0,1 rad/s, en un intervalo comprendido entre 25 y 37°C.

A continuación, las muestras se sumergieron en 10 mL de tampón fosfato pH 7,4 durante 1 semana (implantes vacíos) o 6 semanas (implantes con carga), y se procedió a su caracterización reológica, a intervalos de tiempo preestablecidos, aplicando el mismo procedimiento.

Resultados y Discusión

En la figura 1 se muestran los valores de G' y G'' obtenidos en los ensayos llevados a cabo con un implante laminar sin carga, antes de su hidratación (a 25 y 37°C) y una vez hidratados (1 semana a 25°C).

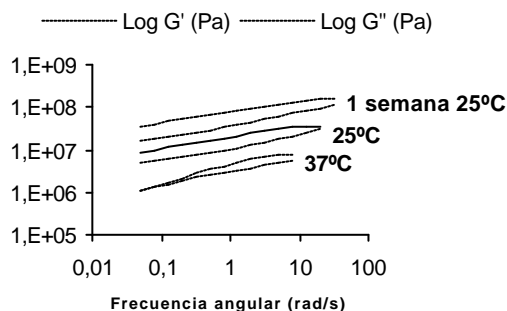


Figura 1. Reogramas de cizalla oscilatoria obtenidos con un implante laminar sin carga.

En todas las condiciones ensayadas, los valores de G' y de G'' mostraron una ligera dependencia respecto a la frecuencia angular aplicada, situándose los valores del primero por encima del segundo. Estos resultados indican que los sistemas que se obtienen tras la evaporación del DCM se comportan como densos entramados poliméricos de

propiedades mecánicas que los hacen adecuados para su uso como implantes (7).

La reducción en los valores de G' y G'' que se produce a 37°C es consecuencia del ligero reblandecimiento que se produce en estas condiciones. Este efecto se puso de manifiesto con mayor nitidez al realizar los barridos de temperatura a una frecuencia angular fija. En la *figura 2* se observa un paulatino descenso en los módulos elástico y viscoso y en la viscosidad dinámica (n') del implante.

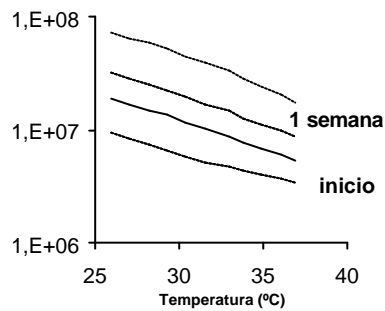


Figura 2. Dependencia de los módulos elástico y viscoso y de la viscosidad dinámica ($0,1 \text{ rad/s}$) respecto de la temperatura ——— $\text{Log } G'(\text{Pa})$, - - - $\text{Log } G''(\text{Pa})$, - - - $\text{Log } n'(\text{Pa.s})$.

Cuando el implante se mantuvo en tampón fosfato pH 7,4 durante 1 semana a 25°C , se produjo un aumento importante en el valor de los módulos, lo que indica un aumento en la rigidez del implante, que además cambia su aspecto de traslúcido a blanuzco y opaco.

En el caso de los ensayos realizados con implantes laminares cargados de péptido sintético, antes de introducirlos en tampón fosfato también se observó una disminución en los valores de G' y G'' al aumentar la temperatura de 25 a 37°C (*figura 3*).

Aunque los valores iniciales de ambos módulos fueron ligeramente inferiores a los obtenidos para los implantes laminares vacíos, no se observaron diferencias significativas en su comportamiento respecto a la frecuencia angular o al aumento de la temperatura.

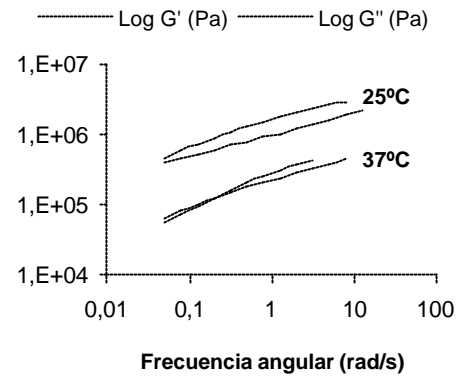
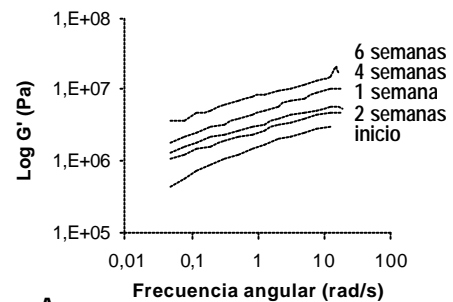
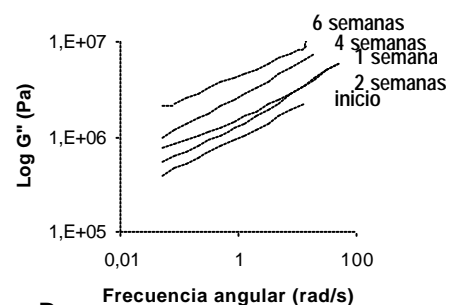


Figura 3. Reogramas de cizalla oscilatoria obtenidos con el implante laminar cargado de péptido SPf66.

A continuación, se evaluó el efecto de la hidratación en las características del implante cuando se conservó en tampón fosfato pH 7,4 durante 6 semanas, *figura 4*. Al igual que en el implante sin carga, la hidratación provoca un aumento progresivo en el valor de ambos módulos.



A



B

Figura 4. Evolución en el tiempo del $\text{Log } G'$ (A) y del $\text{Log } G''$ (B) en el implante cargado de péptido sintético cuando se mantuvo en tampón pH 7,4.

En conclusión, los implantes laminares con carga de principio activo (2,5% p/p), muestran un comportamiento característico de un sólido viscoelástico, similar al que presentan los implantes placebo. En el intervalo de frecuencias angulares considerado, el valor del módulo elástico (G') fue superior al del módulo viscoso (G''). El tiempo de relajación de los enlaces del entramado polimérico, calculado como el inverso de la frecuencia angular en el que ambos módulos presentan el mismo valor, es por lo tanto superior a 20 segundos. La incorporación de la mezcla principio activo/2-hidroxipropil- β -ciclodextrina (2,5% respecto de la masa total) para preparar implantes cargados, no afecta a la evolución de las propiedades reológicas de los implantes durante su hidratación. Este comportamiento contrasta con el descrito previamente para implantes poliméricos hidrofílicos, en los que se observa una progresiva reducción en su viscosidad y en su elasticidad (8).

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Gobierno Autónomo de Canarias (PI-082/2000), La Xunta de Galicia (PGIDT 00PX120303PR) y el Ministerio de Ciencia y Tecnología, España (RYC 2001/8).

Bibliografía

1. Conti, S., Polonelli, L., Frazzi, R., Artusi, M., Bettini, R., Cocconi, D., Colombo, P., "Controlled Delivery of Biotechnological Products", *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 313-323 (2000).
2. Kranz, H., Ubrich, N., Maincent, P., Bodmeier, R., "Physicomechanical Properties of Biodegradable Poly(D,L-lactide) and Poly(D,L-lactide-co-glycolide) Films in the Dry and Wet States", *J. Pharm. Sciences*, 1558-1566 (2000).
3. Gilding, P.A.R., Reed, A.M., "Biodegradable polymers for use in surgery polyglycolic/polylactic homo and copolymers: 2. In vitro degradation", *Polymer* 22, 467-479 (1981).
4. Dorta, M.J., Munguía, O., Llabrés, M., "Effects of polymerization variables on PLGA properties: molecular weight, composition and chain structure", *Int. J. Pharmaceutics* 100, 9-14 (1993).
5. Dorta, M.J., Santoveña, A., Llabrés, M., Fariña, J.B., "Potential applications of PLGA film-implants in modulating in vitro drug release", *Int. J. Pharm.* (aceptado) (2002).
6. Shah, S.S., Cha, Y., Pitt, C.G., "Poly(glycolic acid-co-DL-lactic acid): diffusion of degradation controlled drug delivery?", *J. Control. Release* 18, 261-270 (1992).
7. Schramm, G., "A practical approach to rheology and rheometry", HAAKE, Karlsruhe (1994).
8. Meyvis, T., De Smedt, Demeester, J., Hennink, W., "Rheological monitoring of long-term degrading polymer hydrogels", *J. Rheol.* 43, 933-950 (1999).