

## EVALUACIÓN MEDIANTE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DEL RIESGO ASOCIADO AL EMPLEO DE HALOYSITA COMO MATERIA PRIMA EN LA ELABORACIÓN DE MEDICAMENTOS

C. Aguzzi<sup>1</sup>, P. Cerezo<sup>2</sup>, J.C. Lazo<sup>2</sup> & C. Viseras<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Chimica Farmaceutica. Università degli studi di Pavia.

<sup>2</sup> Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Universidad de Granada.

### Introducción

El empleo de minerales y en particular de fibras minerales en formulaciones farmacéuticas presupone su inocuidad. El polvo susceptible de llegar hasta los alveolos pulmonares, denominado «polvo respirable», cuando se refiere a partículas esféricas y de densidad 1, incluye el 98% de las partículas de una micra de diámetro, el 75% de las de 3,5 micrómetros de diámetro, el 50% de las de 5 micrómetros y ninguna de las que tengan un diámetro superior a 7 micrómetros (1).

La halloysita es un polimorfo de la caolinita que ha sido recientemente propuesto como soporte para la liberación controlada de fármacos (2, 3). En base a sus características estructurales y químicas, tanto la caolinita como la halloysita presentan una mínima carga superficial y una baja capacidad de intercambio catiónico (10-20 meq/100g). La diferencia sustancial entre ambos minerales reside en su morfología. La caolinita aparece formando agregados de partículas planas, mientras que los agregados de halloysita están formados por partículas tubulares.

Las monografías de la Agencia Internacional para Investigación sobre el Cáncer (IARC, OMS) son una fuente de información en cuanto al riesgo carcinogénico para el hombre de sustancias químicas, mezclas complejas y procesos industriales (4). Dichas monografías proveen revisiones científicas detalladas de la información epidemiológica y datos experimentales disponibles y distinguen los agentes usados en la industria que han sido

evaluados como carcinógenos para el hombre (Grupo 1) de otras sustancias consideradas como posibles/probables carcinógenos para el hombre y que requieren evaluación posterior (Grupos 2A y 2B), de aquellos materiales no clasificados como carcinogénicos para el hombre o los animales (Grupos 3 y 4).

Recientemente se ha evidenciado la actividad biológica de los materiales fibrosos libres de asbesto. Excepto por un número muy limitado de materiales, el escrutinio epidemiológico no se ha iniciado para poder respaldar los posibles riesgos para la salud humana. Por otra parte, se han publicado resultados recientes acerca de células, tejidos y experimentos con animales que indican que los materiales bajo observación en esta sección demuestran tener algún grado de actividad biológica. Los resultados sugieren que su producción y amplio uso deberían estar gobernados por controles adecuados de supervisión con relación a la exposición de nubes inhalables, especialmente para aquellos materiales que son largos y delgados y los cuales despliegan una larga durabilidad "in vivo" (5).

El objetivo de este trabajo es evaluar, en base a la información obtenida por microscopía electrónica, la posibilidad de que exista un riesgo asociado al tamaño de los tubos del mineral, comparando los resultados con los obtenidos para dos muestras de filosilicatos fibrosos de empleo en farmacia (atapulgita y trisilicato magnésico).

## Materiales y Métodos

Fibrosos:

- Trisilicato di Mg (Sepiolita de Yuncuillos, Toledo, E);
- Atapulgita (Pharmasorb® Colloidal, Engelhard Co., Edison, NJ, USA).

Tubular:

- Halosita grado Premium (New Zealand China Clays Ltd., Auckland, NZ).

Las muestras fueron tamizadas ( $< 90\mu\text{m}$ ) y conservadas en estufa a  $40^\circ\text{C}$  durante al menos 24 horas antes de ser analizadas. El análisis morfológico de los agregados de arcilla se llevo a cabo mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) (Zeiss DSM 950, Zeiss Co., Göttingen, G). Por último, los detalles de los microtúbulos de halosita se obtuvieron empleando un microscopio electrónico de transmisión (Zeiss Co., Göttingen, G).

## Resultados

El análisis de las microfotografías obtenidas permitió determinar las dimensiones de los agregados y de las partículas individuales de cada muestra mineral, así como la forma de las partículas individuales.

Como puede apreciarse en la microfotografía correspondiente a la muestra de sepiolita de Yuncuillos (Figura 1), las partículas de mineral aparecen formando agregados de forma plana o redondeada (en forma de husillos), de dimensiones en torno a 3-4 micras. Las partículas individuales presentan dimensiones mucho menores, como se aprecia a mayores aumentos (Figura 2). La longitud de las fibras individuales ronda los 300-600 nm, como se ha señalado en la imagen.

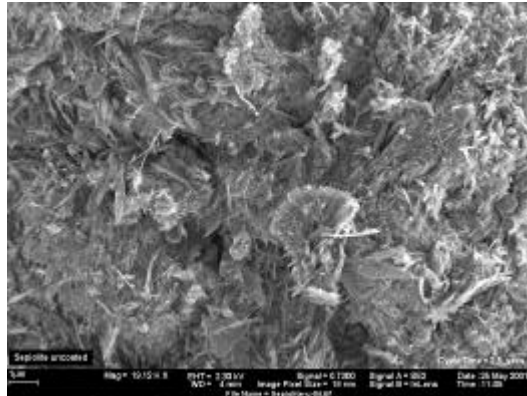


Figura 1. Microfotografía SEM del trisilicato de Mg (sepiolita), (aumento x19120).

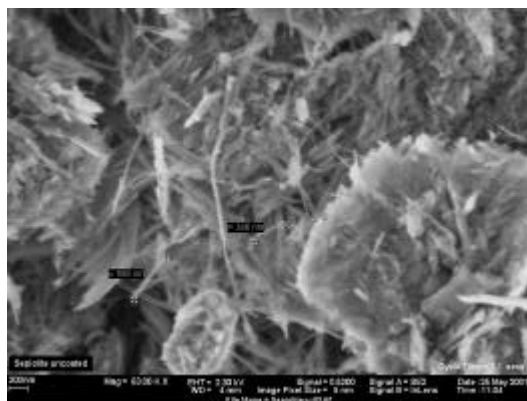


Figura 2. Microfotografía SEM del trisilicato de Mg (sepiolita), (aumento x63000).

Por lo que respecta a la muestra de Pharmasorb® Colloidal, el análisis de las microfotografías reveló la presencia de agregados en forma de haces de fibras (Figura 3), de dimensiones en torno a 2 micras de longitud y una anchura aproximada de unos 400 nm. A mayores aumentos es posible individualizar las fibras o partículas, y determinar su longitud, que ronda los 200 nm (Figura 4).

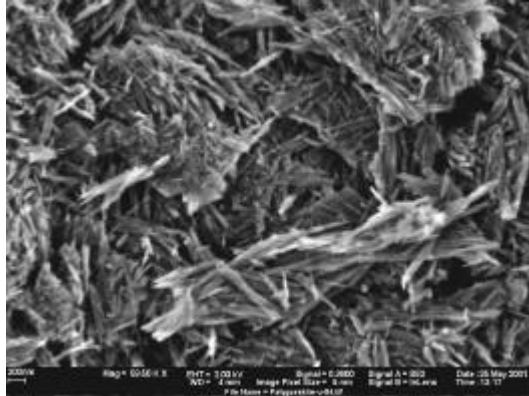


Figura 3. Microfotografía SEM del Pharmasorb® (aumento x 59500)

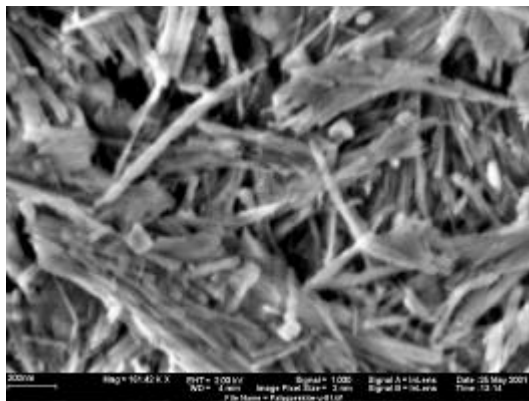


Figura 4. Microfotografía SEM del Pharmasorb® (aumento x161420)

Por último, la halloysita aparece formando agregados poco cohesionados de partículas de diferente geometría, algunas con un hábito redondeado, mientras que aquellas que presentan una morfología tubular aparecen separadas del resto, y presentan unas dimensiones que rondan las 3 micras de longitud (Figura 5). El análisis de las microfotografías de TEM, permitió determinar con exactitud las dimensiones de estos tubos, así como conocer el diámetro de los mismos (Figura 6). De acuerdo con el análisis de las microfotografías la longitud máxima de los tubos de halloysita es de 3 micras, mientras que el diámetro externo de unos 300 nm y el interno de unos 100 nm.

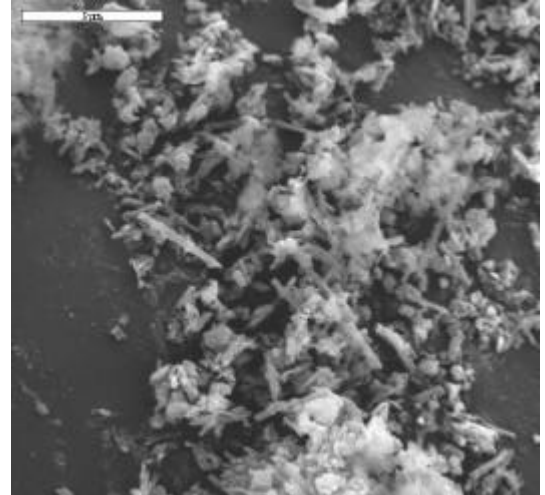


Figura 5. Microfotografía SEM de la Halloysita (aumento x12400)

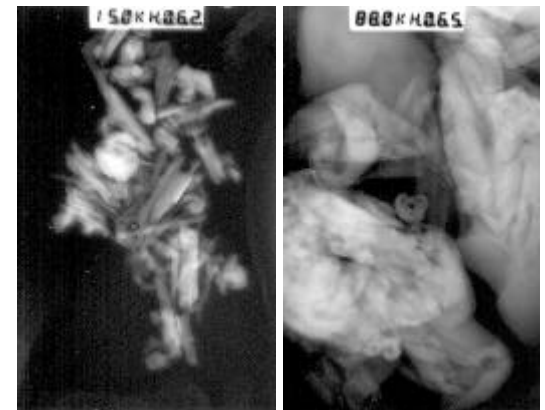


Figura 6. Microfotografía TEM de la Halloysita, (aumentos: izquierda x15000; derecha x88000).

## Discusión

De acuerdo con la monografía oficial de la IARC correspondiente a la atapulgita, se clasifican sus fibras de acuerdo a la longitud de las mismas en fibras largas (>5  $\mu\text{m}$ ) y cortas (<5  $\mu\text{m}$ ). Las primeras se incluyen en el grupo 2B, mientras que las segundas en el grupo 3 (6). Por lo que respecta a la sepiolita, no existe evidencia de su riesgo en el hombre, estando clasificada en el grupo 3, con independencia de la longitud de sus fibras (7).

## 200 VI Congreso SEFIG y 3<sup>as</sup> Jornadas TF

De acuerdo con el análisis de las texturas y tamaños de fibras individuales, las fibras de Pharmasorb® Colloidal y Sepiolita de Yuncillos se pueden clasificar como fibras cortas (<5 µm), y por tanto sin poder carcinogénico. En el caso de la haloysita, aunque no exista una monografía IARC que indique requisitos específicos, el control de las dimensiones de las partículas evidencia la presencia de tubos <3 µm, lo que sugiere, en analogía con las monografías de los otros minerales, su inocuidad y por tanto, la posibilidad de su empleo en farmacia.

### Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Grupo de Investigación CTS121 de la Junta de Andalucía y por el Proyecto de Investigación BTE2000-0777.

### Bibliografía

1. Pearce N., Matos E., Vainio H., Boffetta P. y Kogevinas M., Occupational Cancer in Developing Countries, IARC Scientific Publication 129, IARC Scientific publications, Lyon, 1994.
2. Price R.R., Gaber B.P. y Lvov Y., J. Microencapsulation, 18 (6), 713, (2001).
3. Levis S.R. y Deasy P.B., Int. J. Pharm., 243, 125, (2002).
4. Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to humans, IARC Scientific publications, Lyon, 1972-1994.
5. Pisani P., Burden of Cancer in Developing Countries. En: Occupational Cancer in Developing Countries, Pearce N., Matos E., Vainio H., Boffetta P. y Kogevinas M. (eds.), IARC Scientific Publication 129, IARC Scientific publications, Lyon, 1994.
6. Palygorskite (attapulgite), En: IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, Vol. 68, IARC Scientific publications, Lyon, 1997.
7. Sepiolite, En: IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, Vol. 68, IARC Scientific publications, Lyon, 1997.

### *Autor de contacto:*

*Cesar Viseras Iborra*

*cviseras@ugr.es*

*Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica*

*Dirección: Campus de Cartuja, s/n, Granada.*

*Tel: 958-249551*

*Fax: 958-248958*