

Tesista: Pablo Roberto Cortez Tornello
Bioingeniero, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de San Juan

Título al que aspira: Doctor en Ciencia de Materiales, UNMdP

Tema: “Sistemas poliméricos biocompatibles para liberación controlada de embelina”

Director de tesis: Dr. Gustavo A. Abraham

Co-director: Dra. Teresita R. Cuadrado

Lugar de Trabajo: Facultad de Ingeniería, UNMdP

Fecha de Defensa: 20 de febrero de 2015

Jurados: Dra. Laura Hermida (INTI Centro Química, San Martín)
Dr. Matías Jobbágy (INQUIMAE, UBA-CONICET)
Dr. Adrián Cisilino (Fac. Ingeniería, UNMdP)

Resumen

En los últimos años la ciencia e ingeniería de biomateriales ha realizado importantes avances en el desarrollo de biomateriales poliméricos y compuestos con estructuras y morfologías micro- y/o nanométricas para su empleo como sistemas de liberación controlada y vectorizada de agentes terapéuticos y en la obtención de matrices extracelulares artificiales para ingeniería de tejidos.

Las micro y nanofibras electrohiladas presentan características funcionales de gran atractivo para su uso como vectores para administración de agentes terapéuticos. Su estructura porosa con poros interconectados de alta superficie específica y el pequeño espesor de la matriz producen un aumento de la velocidad de difusión del agente bioactivo mejorando la transferencia de masa y en consecuencia conduciendo a un proceso de liberación más eficiente. Dependiendo de la morfología de las fibras, porosidad y composición de la matriz, es posible diseñar la forma de dosificación del agente terapéutico, de modo tal, que posea una cinética de liberación rápida, retardada o modificada.

En el Capítulo 1 se introduce y define la ingeniería de tejidos y la liberación controlada de drogas, como tecnologías interdisciplinarias, modernas y alternativas emergentes para el tratamiento de numerosas situaciones que requieren regeneración de tejidos y órganos. Además, se describe la embelina, agente terapéutico natural, sus propiedades y aplicaciones.

En el Capítulo 2 se presenta la obtención, caracterización y análisis de una serie de matrices micro y nanofibras de poli(ϵ -caprolactona) (PCL) con diámetro medio de fibra comprendido en el rango de 0,4 a 7 μm . La caracterización se centra en la medición del diámetro medio de fibra a partir del análisis de imágenes de microscopía electrónica de barrido (SEM), el diámetro medio de poro y su distribución a partir de mediciones por porosimetría de extrusión de líquidos (LEP), la porosidad de las matrices determinada mediante un conjunto de técnicas que incluyen mediciones gravimétricas, intrusión de líquido, análisis de imágenes SEM, y mediciones por LEP. Los resultados de porosidad se analizan comparativamente, considerando la precisión de cada técnica empleada. Por último,

y a fin de comparar los datos empíricos de tamaño de poro obtenidos a partir de LEP, se aplica un modelo teórico multiplanar para matrices estocásticas fibrosas desarrollado por Eichhorn y Sampson. La porosimetría LEP demostró un alto potencial para el estudio de las características de porosidad de las matrices electrohiladas en comparación con otras técnicas de análisis no instrumentales.

En el Capítulo 3 se preparan matrices electrohiladas y filmes de PCL incorporando distintas cantidades de embelina y utilizando diferentes solventes. Los sistemas se caracterizan empleando una amplia variedad de técnicas experimentales para estudiar la influencia de la embelina en las propiedades fisicoquímicas, térmicas y superficiales. Asimismo, se analiza la calidad de la dispersión de embelina en las matrices poliméricas obtenidas mediante diferentes técnicas. El análisis de la superficie de los sistemas permitió determinar la presencia embelina en la región superficial. La embelina debe encontrarse en forma de agregados amorfos dado que no se observaron evidencias de una fracción cristalina.

En el Capítulo 4 se estudian los procesos de liberación de embelina en medios con diferente pH a partir de sistemas preparados con distintos solventes y contenido de embelina. Se proponen algunas estrategias para modular los perfiles de liberación *in vitro* de embelina y al mismo tiempo disminuir el efecto de liberación inicial rápida en matrices electrohiladas de PCL con embelina. Con este objetivo se preparan distintos sistemas multicapa que actúen como barreras nanofibrosas a los procesos de disolución rápida de embelina superficial. Los resultados evidenciaron que es posible modular el perfil de liberación del sistema dependiendo del número y espesor de capas introducidas en la matriz base que actúa como reservorio de embelina. La cinética de liberación de todos los sistemas matriciales se analiza efectuando el ajuste de las curvas de liberación con los modelos de orden cero, Higuchi y Korsmeyer-Peppas, a partir de los cuales se determinan y analizan los parámetros de ajuste y su relación con los mecanismos de difusión operantes. Por lo anteriormente expuesto, puede concluirse que los sistemas nanofibrosos preparados presentan valores de concentración de embelina en el rango de la ventana terapéutica y por lo tanto poseen una importante potencialidad como sistemas de liberación controlada de embelina.

Finalmente en el capítulo 5 se aborda el estudio de otro tipo de sistemas poliméricos para liberación de embelina. Se describe la preparación de micropartículas de PCL con embelina mediante la técnica convencional de emulsión/liofilización y la técnica de atomización electrohidrodinámica (EHDA). Esta última es una técnica de vanguardia para la obtención de micro/nanopartículas que no requiere las etapas de emulsión y evaporación de las técnicas clásicas, dado que se secan instantáneamente en el proceso. Se presenta la caracterización fisicoquímica, térmica y morfológica. Se estudia la cinética de liberación de las micropartículas en dos medios de pH diferente, efectuando el ajuste de las curvas de liberación con los modelos de orden cero, Higuchi y Korsmeyer-Peppas, a partir de los cuales se determinan y analizan los parámetros de ajuste y su relación con los mecanismos de difusión y transporte que tienen lugar durante el proceso. Las micropartículas obtenidas por EHDA presentaron perfiles de liberación que combinan una liberación inicial rápida que proporciona una dosis elevada (dosis de ataque) seguida por una etapa de liberación controlada. Esta última está asociada al mayor tamaño y área superficial de partícula y la mayor eficiencia de encapsulación. Estas micropartículas resultan altamente atractivas como vectores de administración de embelina por vía inhalatoria para aplicaciones en terapias pulmonares.

Por último, en el Capítulo 6, se presentan las conclusiones más importantes del presente trabajo y las perspectivas futuras del mismo, tendientes a complementar algunos estudios y ampliar la variedad de sistemas poliméricos con embelina.

Abstract

In the last years, biomaterials science and engineering has demonstrated relevant advances in the development of polymeric and composite biomaterials with structures and morphologies in the micro and nanometric range. These scaffolds were explored as controlled and targeted drug delivery systems and artificial extracellular matrix for tissue engineering applications.

Electrospun micro and nanofibers present functional features very attractive for applications in the field of therapeutic agent administration. The porous structure, with interconnected pores and high specific surface area, as well as low thickness, lead to an increase in diffusion rate of bioactive agents that allow improving mass transfer and delivery. Depending of fiber morphology, porosity and matrix composition it is possible to design a dosage form for each specific release kinetics: fast, delayed or modified.

In Chapter 1, tissue engineering and controlled drug delivery systems are defined and introduced as modern interdisciplinary technologies and emerging alternatives for numerous situations where tissue and organ regeneration is required.

In Chapter 2, preparation, characterization and analysis of a series of micro/nanofibrous matrices based on poly(ϵ -caprolactone) (PCL) with fiber mean diameter in the range of 0,4 to 7 μm is presented. Characterization is focused on the measurement of fiber mean diameter by electron scanning microscopy (SEM) analysis, pore mean diameter and its distribution by liquid exclusion porosimetry (LEP), porosity as determined by several techniques that include gravimetric measurements, liquid intrusion, SEM image analysis and LEP. Results are comparatively analyzed by considering the accuracy of each technique. Finally, in order to compare the empiric data of pore size obtained by LEP, a theoretical multiplanar model for stochastic fibrous matrices developed by Eichhorn and Sampson was applied. LEP demonstrated a high potential for the study of porosity characteristics of electrospun matrices in comparison to other no instrumental available techniques.

In Chapter 3, PCL electrospun matrices and films were prepared by incorporating different amounts of embelina and using different solvents. The resulting systems were characterized by using a wide variety of experimental techniques, in order to study the influence of embelin in physicochemical, thermal and surface properties. Moreover, the quality of embelin dispersion in the polymeric matrix is analyzed by using different techniques. The surface analysis allowed the determination of embelin, which was present with the form of amorphous clusters.

In Chapter 4, embelin release behavior in buffer solutions with different pH of all the systems were studied. Some strategies for modulating the embelin in vitro release profiles and at the same time to decrease the burst effect that occur in electrospun matrices of PCL with embelin, are proposed. To this goal, different multilayer systems are prepared to introduce nanofibrous barriers to the fast dissolution process associated to surface dispersed embelin. The results indicate that it is possible to modulate the release profiles depending on the number a thickness of each layer added to the matrix base, which acts as a drug reservoir. The release kinetics is analyzed by fitting the release curves with zero-order, Higuchi and

Korsmeyer-Peppas models. From this, fitting parameters and its relationship with the operating diffusion mechanisms are analyzed. Based on these studies, it can be concluded that embelin-loaded nanofibrous systems have a huge potential as controlled drug delivery system.

Finally, in Chapter 5, other kind of polymeric system for embelin release is studied. Embelin-loaded PCL microparticles are prepared by means of a emulsion/freeze drying as conventional technique, and electrohydrodynamic atomization (EHDA). EHDA is a cutting-edge technology for fabrication of micro/nanoparticles without using emulsion and evaporation steps. Physicochemical, thermal and morphological characterization is presented. Release kinetics is studied in two different pH. As in the case of electrospun matrices, release curves are fitted with zero-order, Higuchi and Korsmeyer-Peppas, to determine the fitting parameters and its relationship this the transport and diffusion mechanisms that take place during the process. Microparticles obtained by EHDA present release profiles that combine a high initial release (burst effect) useful for early attack treatment, followed by a controlled release stage. This can be due to the higher size, surface area, and encapsulation efficiency of the particles. These microparticles are very attractive as targeted administration of embelin by inhalation therapy for pulmonary diseases.

Last, in Chapter 6, the main conclusions of the thesis as well as the future perspectives of this work are presented.