

# MICROESFERAS DE ETILCELULOSA CARGADAS CON NIMESULIDA

*Tanja Mudresa, María del Rosario Aberturas, Jesús Molpeceres*

*Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Universidad de Alcalá. Alcalá de Henares 28871.*

## Resumen / Abstract

El objetivo del trabajo ha sido la preparación y caracterización de microesferas (MS) de etilcelulosa (EC) cargadas con nimesulida (NS). Se obtuvieron MS esféricas de superficie porosa con un tamaño medio de 50  $\mu\text{m}$ , una eficacia de encapsulación de  $85,97 \pm 5,88\%$  y un rendimiento próximo al 75%. El fármaco encapsulado se encuentra parcialmente disperso a nivel molecular o en estado amorfo en la matriz polimérica de las MS y una pequeña parte en estado cristalino. No se produjo una liberación significativa hasta transcurridas cuatro horas del ensayo de disolución lo que sugiere una probable vectorización colónica tras administración oral.

The objective of the present work has been the development and characterisation of nimesulide(NS)-loaded microspheres (MS). MS exhibited spherical shape and a porous matrix with a mean size around 50  $\mu\text{m}$ . Encapsulation efficiency was  $85.97 \pm 5.88\%$  and the yield approached to 75%. Part of the entrapped NS was molecularly dispersed or in the amorphous state within the polymeric matrix of MS but also a crystalline portion was identified. Drug release under sink conditions was negligible in the first four hours suggesting drug delivery to the colon after oral dosing.

## Introducción

La nimesulida es un fármaco antiinflamatorio con acción inhibitoria preferente sobre COX-2. En la actualidad, a pesar de su potente acción

farmacológica, ha sido retirado del mercado por presentar hepatotoxicidad severa e independiente de la dosificación como principal efecto adverso (1,2). No obstante, los resultados de estudios epidemiológicos retrospectivos, preclínicos e in vitro demuestran la aplicación de los inhibidores de COX-2 en la prevención y tratamiento coadyuvante de distintos tipos de cáncer epitelial entre los que cabe mencionar el de colon (3). Por tanto, la encapsulación del principio activo en MS podría representar una ventaja si se consigue una vectorización colónica del principio activo a fin de permitir un contacto óptimo entre la NS y las lesiones cancerosas o precancerosas del colon evitando la absorción sistémica del fármaco y su principal efecto adverso. Así, el objetivo del trabajo ha sido la microencapsulación de NS con etilcelulosa para conseguir un perfil de liberación del fármaco compatible con su vectorización colónica tras administración por vía oral.

## Materiales y Métodos

### *Materiales*

Nimesulida, polivinil alcohol (PVA, MW = 30,000 - 70,000) y etilcelulosa tipo B fueron obtenidos de Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemania). Los disolventes eran calidad HPLC de Scharlab (Barcelona, España).

### *Preparación de las microesferas*

Las MS se elaboraron por evaporación del disolvente. La fase orgánica consistió en una disolución de 100 mg de etilcelulosa y 10 mg de NS en acetato de etilo que se inyectaron en una

disolución acuosa de PVA al 1% bajo homogeneización a 8000 rpm durante 2 min (Ultra-Turrax, Junke Kunkel, IKA-Labortechnik, Staufen, Alemania). Las MS se aislaron mediante filtración a vacío a través de papel. Posteriormente se lavaron con agua ultrapura y se dejaron secar a temperatura ambiente.

#### *Encapsulación de NS*

La cantidad de NS asociada a las MS se determinó por espectrofotometría (UV-VIS scanning spectrophotometer UV-210PC, Shimadzu Scientific Instruments Inc. Columbia, EEUU), a 230 nm tras disolver 2,5 mg del producto seco en 500  $\mu$ l de metanol y posterior dilución con una mezcla acetonitrilo/agua 1:1. La eficacia de encapsulación se expresa como porcentaje de fármaco retenido en las MS respecto a la cantidad inicialmente añadida en la preparación.

#### *Tamaño de partícula y morfología*

El tamaño de partícula se estimó por difracción de rayo láser (Microtrac, Leeds and Northrup, St. Petersburg, EEUU). La morfología de las MS se evaluó con microscopía electrónica de barrido tras recubrimiento en vacío con oro coloidal (Carl Zeiss, DSM 950, Jena, Alemania).

#### *Análisis térmico*

La calorimetría diferencial de barrido (DSC-30, TA-400, Mettler-Toledo, Switzerland) se utilizó para determinar el estado físico-químico y la estabilidad de cada componente en la formulación final. Las materias primas, mezclas al 50% y la formulación de MS fueron analizadas. Se utilizaron aproximadamente 3 mg de muestra comenzando el barrido a 0° hasta 350°C a una velocidad de 10°C/min bajo una corriente de nitrógeno (20 ml/min).

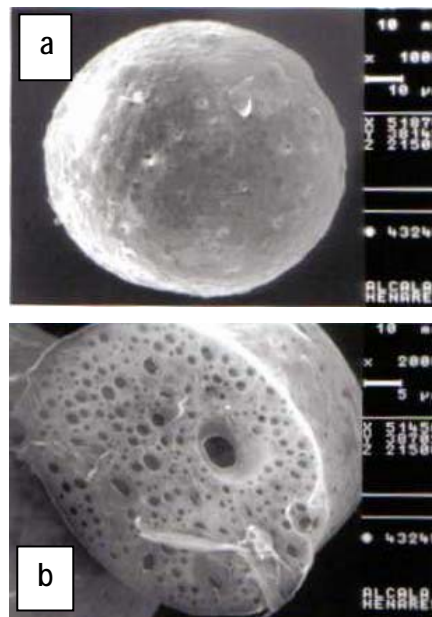
#### *Estudios de disolución*

La liberación de la NS se determinó en condiciones "sink" a partir de 2-3 mg de producto seco en 25 ml de medio. En las dos primeras horas el medio fue un tampón de pH=2 que se sustituyó posteriormente por un medio de pH 7,4. Se tomaron muestras de 3 ml a intervalos de tiempo preestablecidos que eran sustituidas por

tampón fresco. El fármaco liberado se determinó por espectrofotometría UV-Vis a 303 nm y 402 nm para pH 2 y pH 7,4, respectivamente.

## Resultados y Discusión

En estudios preliminares se ajustaron las condiciones experimentales para evitar la presencia de cristales de fármaco en las MS finales. En este sentido resulta crítico que la etapa de aislamiento de las MS sea rápida. En las condiciones experimentales seleccionadas para elaborar las MS se obtienen partículas esféricas, matriciales y porosas tal como muestra la figura 1 y no se observaron cristales de fármaco no encapsulado en la preparación (figura 2). La captación media de NS resulta elevada ( $85,97\pm 5,88\%$ ) y el rendimiento medio cercano al 75% ( $73,52\pm 8,01\%$ ).



**Figura 1.** Microfotografías de MSEC-NS. a) Morfología externa; b) Morfología interna.

El tamaño medio de partícula se sitúa en torno a las 50 $\mu$ m ( $47,64\pm 7,08 \mu$ m y  $49,16\pm 11,35 \mu$ m para MSEC y MSEC-NS, respectivamente) con una dispersión relativamente amplia como muestran los percentiles 10, 50 y 90 (tabla 1). Se comprueba que la incorporación del fármaco no modifica ningún aspecto morfológico de las partículas.

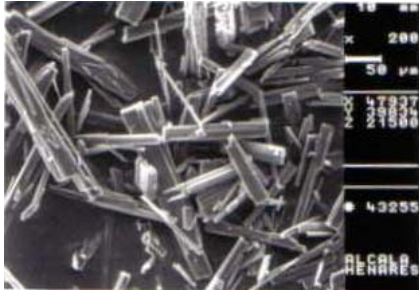


Figura 2. Microfotografía de cristales de NS.

Tabla 1. Distribución de tamaño de las MS. Media y (desviación estándar) n=3.

	Percentil		
	10	50	90
MSEC-NS	16,26 (3,79)	45,47 (10,62)	85,66 (18,39)
MSEC	15,14 (2,25)	42,20 (8,56)	80,40 (13,92)

Con respecto a los estudios calorimétricos se observa que la endoterma correspondiente a la NS se desplaza ligeramente a valores de temperatura mas bajos (desde 150°C hasta 146°C y 142°C) al mezclarse con EC o en las MS, respectivamente, sugiriendo algún tipo de interacción con el polímero (figura 3).

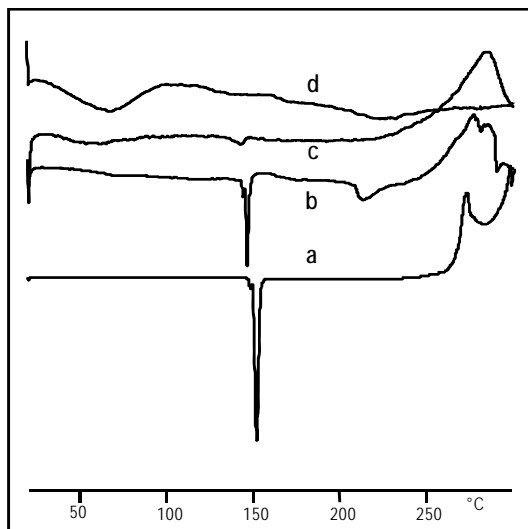


Figura 3. Perfiles calorimétricos obtenidos para a) NS, b) mezcla física NS:EC 1:10, c) MS cargadas con NS y d) EC

Además, aunque la entalpía de fusión de la NS en la mezcla física coincide con la obtenida para la materia prima, la correspondiente en las MSEC-NS muestra una disminución considerable. Estos datos junto a los obtenidos por espectrofotometría permiten establecer que una parte del fármaco captado se encuentra en estado cristalino.

Para establecer condiciones "sink" en los estudios de disolución, se determinó la solubilidad de NS en los tampones de pH 2 y 7,4, alcanzándose valores medios de 40 y 60 µg/ml, respectivamente. Los resultados mostraron que el fármaco no comienza a liberarse de las MS hasta transcurridas 4 horas de contacto con el medio. Por tanto, se evitaría su absorción tras una administración por vía oral minimizando su hepatotoxicidad. Se obtiene un buen ajuste de la curva de disolución mediante la función de Weibull con valores  $\beta=0,8$  y  $t_d = 77$  h (figura 4).

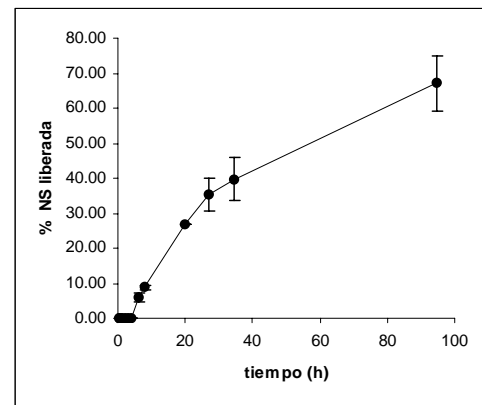


Figura 4. Perfil de disolución de NS en MSEC (n=3).

Como conclusión general, en este trabajo se muestran resultados sobre la viabilidad de preparar MS cargadas con NS por el método de evaporación del disolvente utilizando etilcelulosa como polímero. El perfil de disolución obtenido puede resultar adecuado para la liberación colónica del fármaco, sin embargo son necesarios mas estudios experimentales que permitan evaluar la actividad in vivo de esta formulación y así identificar aspectos críticos que conduzcan a su optimización.

## **Bibliografía**

1. Traversa G. et al. Cohort study of hepatotoxicity associated with nimesulide and other non-steroidal anti-inflammatory drugs. *BMJ* 327, 18, (2003).
2. Boelsterli UA. Mechanisms of NSAIDs-induced hepatotoxicity: focus on nimesulide. *Drug Saf.* 25(9), 633, (2002).
3. Fukutake et al. Suppressive effects of nimesulide, a selective inhibitor of cyclooxygenase-2 on azoxymethane-induced colon carcinogenesis in mice. *Carcinogenesis* 19, 1939, (1998).

Este trabajo ha sido financiado con cargo al proyecto de Investigación ref UAH PI2003/034.

### ***Autor de contacto:***

*Jesús Molpeceres*

*jesus.molpeceres@uah.es*

*Departamento Farmacia y Tecnología Farmacéutica*

*Universidad de Alcalá*

*Campus Universitario. Ctra. N-II P.K. 33,600*

*28871 Alcalá de Henares*

*Tfno: 0034 91 885 47 80*

*Fax: 0034 91 885 46 58*