

Influencia del pH en la disolución de ketoprofeno soportado en MCM-41

Serrano, Melisa R.¹, Aramayo, Ignacio R.^{1,2}, Gonzo Elio E.^{1,2} y Parentis, Mónica L.^{1,2}

(1) *Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Salta*
roserrano1988@gmail.com

(2) *Instituto de Investigaciones para la Industria Química, INIQUI.*
aramayoignacio@gmail.com; eliogonzo1945@gmail.com; monicaparentis@gmail.com

RESUMEN

Se propone la utilización de una matriz mesoporosa a base de sílice, de tipo MCM-41, como vehículo para el transporte de ketoprofeno, un antiinflamatorio no esteroide. La carga del fármaco se realizó utilizando el método de impregnación con evaporación del solvente en vacío. La caracterización de las muestras se realizó por adsorción-desorción de N₂, dispersión de rayos X a bajos ángulos (SAXS) y espectroscopia infrarroja (FTIR), encontrándose que el soporte conserva la estructura mesoporosa aún luego de la incorporación del fármaco. Los ensayos de liberación *in vitro* se llevaron a cabo empleando soluciones buffer de diferentes pH: ácido clorhídrico (pH 1,2), acetato (pH 4,5) y fosfato (pH 6,8). Los datos obtenidos fueron satisfactoriamente ajustados mediante el modelo cinético de segundo orden "Lumped". Se encontró que la velocidad de liberación inicial y la cantidad de ketoprofeno total liberada es dependiente del pH del medio de disolución.

ABSTRACT

The use of a silica-based mesoporous matrix, of the MCM-41 type, is proposed as a vehicle for the transport of ketoprofen, a non-steroidal anti-inflammatory drug. Drug loading was performed using the vacuum solvent evaporation impregnation method. Samples characterization was carried out by adsorption-desorption of N₂, small-angle X-ray scattering (SAXS) and infrared spectroscopy (FTIR) finding that the support retains the mesoporous structure even after the incorporation of the drug. The *in vitro* release tests were carried out using buffer solutions of different pH: hydrochloric acid (pH 1.2), acetate (pH 4.5) and phosphate (pH 6.8). The results obtained were well interpreted using the "Lumped" second order kinetic model. It was found that the initial release rate and the amount of total ketoprofen released is dependent on the pH of the dissolution medium.

Palabras claves: MCM-41- ketoprofeno - liberación *in vitro* - pH

Keywords: MCM-41- ketoprofen – *in vitro* release - pH

1 INTRODUCCIÓN

Una estrategia para mejorar las limitaciones intrínsecas de los fármacos con características biofarmacéuticas inadecuadas, como ser su escasa solubilidad o inestabilidad fisicoquímica, es el empleo de vehículos o vectores que mejoren sus perfiles biofarmacéutico y farmacocinético. Alberdi (2016) plantea que una vez que el principio activo se encuentra incorporado o conjugado al vehículo, su farmacocinética y biodistribución dejarán de depender exclusivamente de su propia estructura molecular,

para ser función del tamaño, composición, carga y estructura superficial del soporte.

Vallet-Regi (2001) propuso por primera vez la utilización de los materiales mesoporosos de sílice como soporte de fármacos. Desde ese momento, el interés de la comunidad científica en estos materiales como sistemas de entrega de fármacos ha crecido notablemente. Los materiales mesoporosos de sílice tienen características que los convierten en excelentes candidatos para su utilización como soportes en sistemas de liberación de fármacos; entre las que pueden

mencionarse el tamaño de poro uniforme y ajustable, el elevado volumen de poro y área superficial que permiten lograr grandes cargas de fármaco además de ser biocompatibles.

El ketoprofeno (KT) es un antiinflamatorio no esteroide (AINE) derivado del ácido propiónico. Posee un efecto anti-inflamatorio más potente que el del ibuprofeno, la fenilbutazona y la aspirina. Se utiliza para el tratamiento de artritis reumatoide, osteoartritis y para aliviar el dolor leve a moderado (Shohin,2012). Exhibe baja solubilidad en agua y alta permeabilidad intestinal, perteneciendo a las sustancias de Clase II, de acuerdo al sistema de clasificación biofarmacéutica (BSC). En estas drogas, la disolución constituye la etapa limitante de la velocidad de absorción de la droga. Así, uno de los principales desafíos reside en encontrar formas de mejorar su solubilidad.

El objetivo de este trabajo es realizar la adsorción de ketoprofeno en una matriz mesoporosa de sílice de tipo MCM-41, caracterizar la muestra obtenida y evaluar, mediante ensayos de disolución *in vitro* como afecta el pH del medio de disolución a la velocidad de disolución del fármaco. Así mismo, se busca ajustar los resultados obtenidos experimentalmente mediante un modelo matemático, con el fin de interpretar la cinética de liberación del KT.

2 METODOLOGÍA

2.1 Síntesis de MCM-41

El procedimiento empleado para la síntesis fue previamente reportado por Grün (1999), empleando bromuro de n-hexadeciltrimetilamonio (CTAB) (MERCK, > 97%) como surfactante y tetraetoxisilano (TEOS) (MERCK > 98%) como fuente de sílice. Para obtener aproximadamente 10 g de SiO₂, primeramente, se añadió 9,706 g de CTAB en 407,8 ml de agua destilada. Se trabajó a temperatura ambiente y se mantuvo el sistema con agitación magnética hasta que todo el surfactante se disolvió y la solución se tornó transparente. Luego se agregó 36 ml de hidróxido de amonio (Anebra, 25%p/p) y se agitó durante 10 minutos. Posteriormente se añadió lentamente por goteo 38,1 ml de TEOS. La composición molar fue 1TEOS:0,15CTAB:2,8NH₃:141,2H₂O. El material se filtró, lavó con etanol y agua destilada y secó a 90°C durante 12 horas. El

surfactante se removió mediante calcinación progresiva hasta llegar a 550°C, manteniéndose a esta temperatura durante 4 horas. El material obtenido se denominó C16.

2.2 Incorporación del ketoprofeno

Se impregnó 1 g de sílice con 6,67 ml de una solución de ketoprofeno (Sigma, grado BP93) disuelto en etanol con una concentración de solución 150 mg/ml a temperatura ambiente. El agregado de la solución se realizó añadiendo pequeñas porciones y con agitación a fin de homogeneizar la mezcla. Luego el sistema se sometió a vacío para evaporar el solvente. La muestra se secó a 85°C durante 24 horas. El porcentaje en peso de ketoprofeno cargado en el soporte se determinó mediante pérdida de peso por calcinación. Primeramente, se secó la muestra a 150°C en una estufa de vacío durante dos horas para eliminar el agua fisisorbida. Luego se elevó la temperatura hasta 550°C y se mantuvo durante 3 horas. La pérdida de peso en esta etapa es la que corresponde al porcentaje de fármaco incorporado ya que, en este rango de temperaturas, ocurre la descomposición del mismo de acuerdo a lo reportado por Bannach (2010). La muestra se denominó C16:KT.

2.3 Ensayos de liberación *in vitro*

Los ensayos de disolución se llevaron a cabo a tres pH, los cuales abarcan el rango que puede presentar el tracto gastrointestinal: 1,2, para simular el fluido gástrico, y 4,5 y 6,8 para simular el fluido intestinal. La temperatura de trabajo fue de 37 ± 0,5°C, que corresponde a la temperatura del organismo, con una agitación constante de 120 rpm. Los medios de disolución empleados fueron: buffer de ácido clorhídrico (pH 1,2), buffer de acetato (pH 4,5) y buffer de fosfato (pH 6,8), preparados de acuerdo a lo establecido en la FARMACOPEA Argentina. Se pusieron en contacto 400 ml del medio de disolución con aproximadamente 100 mg de muestra en formato polvo. Se tomaron alícuotas de 0,5 ml a intervalos de tiempo predeterminado. La cuantificación del ketoprofeno se realizó mediante espectroscopia UV-Vis a una longitud de onda de 261 nm, utilizando un espectrofotómetro JEWAY 7315.

Los datos obtenidos en los ensayos de disolución se analizaron mediante un modelo cinético de segundo orden "Lumped", desarrollado por Fernández-Colino (2016) y validado por Romero

(2018). Este modelo ajusta los datos experimentales desde $t=0$ a $t \rightarrow \infty$. Se representa mediante la ecuación 1:

$$M_t = \frac{M_\infty^2 \cdot k_L \cdot t}{[1 + M_\infty \cdot k_L \cdot t]} \quad (1)$$

Donde M_t es la masa de fármaco liberada a un tiempo t , M_∞ es la masa total factible de ser liberada en el equilibrio y k_L es la constante cinética que agrupa todos los coeficientes de transporte de los pasos involucrados en el proceso.

El modelo Lumped puede expresarse como porcentaje de fármaco liberado en función del tiempo de acuerdo a la ecuación 2:

$$M_t\% = \frac{100 \cdot k_L \cdot M_\infty \cdot t}{1 + k_L \cdot M_\infty \cdot t} = \frac{a \cdot t}{1 + b \cdot t} \quad (2)$$

A fin de comparar perfiles de disolución diferentes, se emplean parámetros farmacéuticos pre-establecidos, los cuales deben aplicarse al modelo empleado y se presentan a continuación:

- Velocidad de disolución inicial (VDI), que resulta igual a "a", uno de los parámetros del modelo.
- Tiempo de disolución ($t_{X\%}$): Es el tiempo necesario para que se disuelva un porcentaje determinado del fármaco:

$$t_{X\%} = \frac{M\%(t_{X\%})}{(a - b \cdot M\%(t_{X\%}))} \quad (3)$$

- Eficiencia de disolución: Está definida como el área debajo de la curva de disolución para un dado tiempo t_f , y es representado como un porcentaje de del área rectangular suponiendo 100% de liberación hasta el tiempo t_f .

$$ED = \frac{\int_0^{t_f} M_t\% dt}{100 \cdot t_f} \cdot 100 \quad (4)$$

Donde t_f es el tiempo final considerado. Se calculó a los 180 minutos.

Para el modelo Lumped, la ED para un tiempo final t_f , viene dada por la ecuación 5:

$$ED = \frac{a}{b^2} \cdot \frac{[b \cdot t_f - \ln(1 + b \cdot t_f)]}{100 \cdot t_f} \cdot 100 \quad (5)$$

- Tiempo medio de disolución: Es el tiempo promedio de residencia del principio activo en la forma farmacéutica:

$$TMD_{X\%} = \frac{\sum_{j=1}^n t_{jm} \cdot \Delta M_t\%}{\sum_{j=1}^n \Delta M_t\%} \quad (6)$$

Siendo $t_{jm} = (t_j + t_{j-1})/2$ el tiempo medio entre dos muestras y $\Delta M_t\%$ es la cantidad adicional de fármaco liberado entre t_j y t_{j-1} . Se calculó para $t_{50\%}$.

$TMD_{X\%}$ se puede calcular como:

$$TMD_{X\%} = \frac{\int_0^{M\%_j} t \cdot dM\%_j}{\int_0^{M\%_j} dM\%_j} \quad (7)$$

Teniendo en cuenta la ecuación 2:

$$TMD_{X\%} = \frac{a}{b^2} \cdot \frac{[\ln(1 + b \cdot t_{X\%})] - \frac{b \cdot t_{X\%}}{(1 + b \cdot t_{X\%})}}{M\%(t_{X\%})} \quad (8)$$

2.4 Técnicas de caracterización

Las experiencias de adsorción-desorción de N_2 se realizaron en un sortómetro Micromeritics ASAP-2020, empleando los métodos BET y VBS para la determinación de las superficies específicas y distribución de tamaños de poros respectivamente. El volumen de poro fue determinado utilizando la regla de Gurvich a una presión relativa de 0,98. Los difractogramas fueron obtenidos a partir de un equipo de dispersión de rayos X sistema SAXS/WAXS, XENOCs modelo Xeuss 2.0 UHR HP200 ($CuK\alpha$). Los espectros de IR fueron obtenidos con un espectrofotómetro Perkin Elmer Spectrum GX-FTIR. Las muestras fueron diluidas en KBr y prensadas a 2 tn/cm².

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Estudios de caracterización

En la Fig. 1 se muestran las isothermas de adsorción-desorción de N_2 de la matriz mesoporosa antes y después de la incorporación del ketoprofeno. El soporte puro presenta una isoterma del tipo IV de acuerdo a la clasificación de la IUPAC, característica de los materiales mesoporosos. Luego de la incorporación del KT se mantiene el tipo de isoterma lo que indica que no se modificó la estructura ordenada del soporte, sin embargo, se observa una notable disminución en la capacidad de adsorción del mismo. La distribución del tamaño de poros (insertada en la Fig. 1) es estrecha para la muestra de MCM-41 puro mientras que para la muestra cargada con KT, la misma se ensancha y disminuye su intensidad.

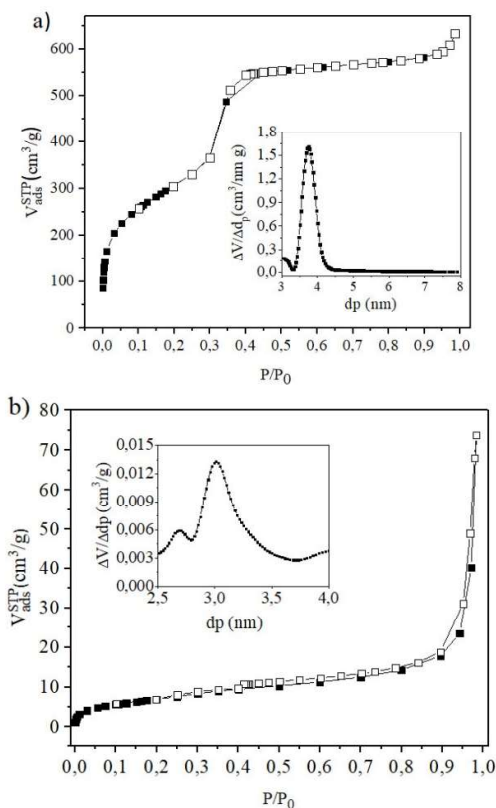


Figura 1: Isothermas de adsorción y desorción de N₂ de las muestras a) C16 y b) C16:KT. Inserto distribución de tamaño de poros.

En la tabla 1 se presentan las propiedades texturales de las muestras. Es notable la caída brusca del área superficial del soporte luego de la incorporación del ketoprofeno (38% en peso KT). Algo similar ocurre con el volumen de poros, lo cual podría atribuirse a que los mismos fueron casi completamente llenados por el fármaco.

Tabla 1. Propiedades texturales de MCM-41 puro y con ketoprofeno incorporado.

Muestra	Sup. BET (m ² /g)	Dp (nm)	Vp (cm ³ /g)
C16	1120	3,8	0,97
C16:KT	59	3,1	0,11

En la Fig. 2 se presentan los patrones de SAXS para la muestra C16 y C16:KT. El difractograma de C16 puro muestra un pico bien definido a un valor de 2θ de 2,25° asignado a las reflexiones (1 0 0) y dos picos adicionales con valores de 2θ de 3,90° y 4,52° correspondientes a los planos (1 1

0) y (2 0 0) respectivamente, característicos de los materiales mesoporosos con simetría hexagonal p6mm en 2D (Vartulli,1994). Posterior a la incorporación del ketoprofeno se observa que los tres picos se mantienen intactos lo que confirmaría la preservación de la matriz mesoestructurada. Además, la alta intensidad del pico (1 0 0) en ambas muestras indica que son estructuras porosas altamente ordenadas.

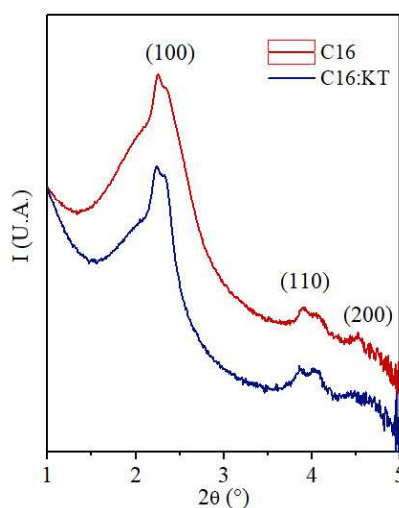


Figura 2: Patrones de SAXS para las muestras C16 y C16:KT.

En la Fig. 3 se presentan los espectros de FTIR de las muestras del fármaco puro y del soporte mesoporoso antes y después de la adsorción del KT.

El espectro b, correspondiente a la matriz mesoporosa pura, muestra las bandas características de sílice a 1086 cm⁻¹, atribuida a vibraciones de estiramiento asimétrico de enlaces Si-O-Si, la banda a 965 cm⁻¹, que corresponde a vibraciones del enlace Si-OH y el pico a 802 cm⁻¹ que se asigna a las vibraciones de estiramiento simétrico de enlaces Si-O-Si.

Luego de la incorporación del ketoprofeno, se observa la aparición de dos bandas, a 1654 y 1703 cm⁻¹, asignadas a las vibraciones de estiramiento del enlace C=O del grupo carbonilo de la cetona y del grupo carboxilo respectivamente. Para el KT puro (espectro a), la banda asociada a ν (OC=O) del grupo carbonilo del ácido aparece a 1695 cm⁻¹. Este pequeño desplazamiento observado puede

atribuirse a la interacción entre el KT y el soporte, a través de las uniones puente hidrógeno. Por otra parte, no se observa desplazamiento de la banda correspondiente al grupo carbonilo, lo que sugiere que las mayores interacciones con el soporte se producen a través del grupo ácido.

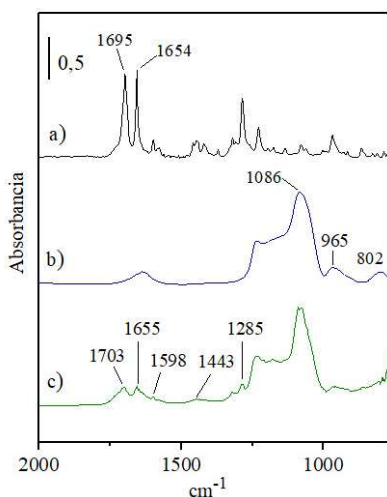


Figura 3: Espectroscopia de Infrarrojo de las muestras a) KT puro, b) C16, c) C16:KT.

A los 1443 cm^{-1} se observa una banda asociada a las vibraciones de estiramiento de los enlaces C-C característico de los anillos aromáticos. Las bandas que se encuentran a los 1598 cm^{-1} y en el rango entre los 1450 y 1200 cm^{-1} pueden asociarse a las vibraciones de estiramiento simétricas y asimétricas del carboxilato respectivamente.

3.2 Perfiles de disolución y modelado

Los perfiles del porcentaje de ketoprofeno liberado acumulado desde la matriz mesoporosa, determinados a tres valores de pH diferentes, se muestran en la Fig. 4. Se observa que un incremento del pH del medio de disolución produce un aumento en la cantidad de KT disuelto. Así, a los 30 minutos se logró liberar el 36,48% de KT a pH 1,2, mientras que el valor aumentó 1,9 y 2,4 veces para pH 4,5 y 6,8 respectivamente. Esta diferencia en los valores obtenidos se debe a que la solubilidad del ketoprofeno depende fuertemente del pH

mostrando una baja solubilidad acuosa a valores de pH ácido y cercanos a su pKa cuyo valor

es 4,2. El aumento del pH da como resultado la ionización de los grupos carboxílicos del ketoprofeno y, en consecuencia, un aumento de su solubilidad. Charnay (2004) llegó a resultados similares en la liberación de ibuprofeno soportado en MCM-41 a pH 1,2 y 7,4 y Moritz (2012) en la liberación de ketoprofeno adsorbido en SBA-15, en varios medios de liberación.

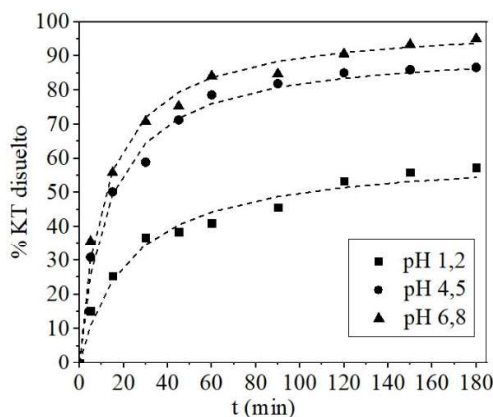


Figura 4. Perfiles de disolución acumulado de ketoprofeno a diferentes pH y $T=37^{\circ}\text{C}$.

Para evaluar la cinética de liberación del fármaco se utilizó el modelo “Lumped”. Este modelo describe satisfactoriamente los procesos en los que están presentes los fenómenos de difusión y transferencia al medio de disolución, o cuando solo existe una transferencia externa a un medio fluido en el que la concentración del fármaco aumenta constantemente.

En la tabla 2, se presentan los valores de estos parámetros para la muestra C16:KT a diferentes pH. Los valores obtenidos para el coeficiente de correlación R^2 indican que los datos experimentales se ajustan satisfactoriamente al modelo “Lumped”. Por otro lado, la velocidad inicial de disolución (parámetro a) es 10,8 veces superior para la muestra que se libera a pH 6,8 con respecto a la de pH 1,2.

Tabla 2: Parámetros del modelo y de importancia farmacéutica para C16: KT a diferentes pH.

Muestra	Parámetros del modelo			t _{30min} (%)	t _{50%} (min)	t _{80%} (min)	TMD (min)	ED (%)
	a (% min ⁻¹)	b (min ⁻¹)	R ²					
C16:KT pH 1,2	2,889	0,046	0,987	36,48	83,89	-	13,47	46,02
C16:KT pH 4,5	7,708	0,080	0,993	68,21	13,43	59,98	3,20	78,32
C16:KT pH 6,8	31,338	0,320	0,990	88,64	3,26	13,98	0,78	90,96

La comparación de los perfiles obtenidos a partir del cálculo de parámetros de importancia farmacéutica (modelo independiente) conduce a que todos los perfiles son diferentes obteniéndose mejores resultados a pH 6,8. El tiempo necesario para que se disuelva el 50% del KT es 25,7 veces superior para pH 1,2 comparado con el pH 6,8. Con respecto al t_{80%}, no fue posible su cálculo a pH 1,2 ya que no se alcanzó disolver el 80% del KT en el tiempo que duró el ensayo. El mayor valor de eficiencia de disolución (ED) se obtuvo para la muestra liberada a pH 6,8, y fue de 90,96%, indicando una rápida disolución del KT mientras que disminuyó a un 78,32% y 46,02% para pH de 4,5 y 1,2 respectivamente. Por otro lado, el tiempo medio de disolución (TMD) fue de dos órdenes mayor para la muestra liberada al menor pH, mostrando así que el tiempo promedio requerido para que se disuelva el 50% del KT aumenta con la disminución del pH.

velocidad de disolución inicial intrínseca (VDII), para los diferentes pH estudiados. Se observa una tendencia al incremento de la VDII a medida que aumenta el pH del medio de disolución.

4 CONCLUSIONES

El ketoprofeno fue exitosamente incorporado dentro de los poros de la sílice mesoestructurada, manteniendo dicha estructura luego de la incorporación. Los ensayos de liberación *in vitro* mostraron que la cantidad de ketoprofeno total liberada y la velocidad de disolución inicial dependen del pH del medio de disolución, viéndose favorecidas con el incremento del pH. El modelo “Lumped” ajusta satisfactoriamente los resultados obtenidos en los perfiles de disolución

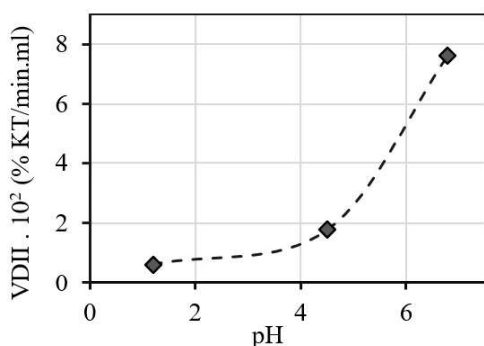


Figura 5. Velocidad de disolución intrínseca inicial en función del pH.

La Fig. 5 muestra la velocidad de disolución inicial (% KT/min.ml) intensificada con el volumen del medio de disolución, conocida como

5 REFERENCIAS

- Alberdi E., A. Talevi, *Procesos Biofarmacéuticos: Su relación con el diseño de formas farmacéuticas y el éxito de la farmacoterapia*, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, 2016.
- Bannach, G, R. Arcaro, D. Ferroni, A. Siqueira, O. Treu-Filho, M. Ionashiro, E. Schnitzler, Thermoanalytical study of some anti-inflammatory analgesic agents, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 102, 163-170, 2010.
- Charnay, C., S. Bégu, C. Tourné-Péteilh, L. Nicole, D. A. Lerner, J. M. Devoisselle, Inclusion of ibuprofen in mesoporous templated silica: drug loading and release property, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 57, 533-540, 2004.
- Fernández-Colino, A., J.M. Bermudez, F.J. Arias,

- D. Quinteros, E.E. Gonzo, Development of a mechanism and an accurate and simple mathematical model for the description of drug release: Application to a relevant example of acetazolamide-controlled release from a bio-inspired elastin-based hydrogel, *Materials Science and Engineering*, 61, 286-292, 2016.
- Grün, M., K. Unger, A. Matsumoto, K. Tsutsumi, Novel pathways for the preparation of mesoporous MCM-41 materials: control of porosity and morphology, *Microporous and Mesoporous Materials*. 27, 207–216, 1999.
1. Moritz M., M. Łaniecki, SBA-15 mesoporous material modified with APTES as the carrier for 2-(3-benzoylphenyl) propionic acid, *Applied Surface Science*, 258, 7523–7529, 2012.
 2. Romero, A.I., M. Villegas, A.G. Cid, M.L. Parentis, E.E. Gonzo, J.M. Bermúdez, Validation of kinetic modeling of progesterone release from polymeric membranes, *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13, 54–62, 2018.
 3. Shohin I.E., J.I. Kulinich, G.V. Ramenskaya, B. Abrahamsson, S. Kopp, P. Langguth, J.E. Polli, V.P. Shah, D.W. Groot, D.M. Barends, J.B. Dressman, Biowaiver monographs for immediate-release solid oral dosage forms: ketoprofen, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 101, 3593-603, 2012.
 4. Vallet-Regi, M., A. Rámila, R.P. del Real, J. Pérez-Pariente, A New Property of MCM-41: Drug Delivery System, *Chemistry of Materials*, 13, 308-311, 2001.
 5. Vartuli J.C., K.D. Schmitt, C.T. Kresge, W.J. Roth, M.E. Leonowicz, S.B. McCullen, S.D. Hellring, J.S. Beck, J.L. Schlenker, Effect of Surfactant/Silica Molar Ratios on the Formation of Mesoporous Molecular Sieves: Inorganic Mimicry of Surfactant Liquid-Crystal Phases and Mechanistic Implications, *Chemistry of Materials*, 6, 2317-2326, 1994.