

ANÁLISIS COMPUTACIONAL DEL PROCESO DE LIBERACIÓN DE EMBELINA EN MATRICES DE POLICAPROLACTONA

COMPUTATIONAL ANALYSIS OF EMBELIN RELEASE PROCESS IN POLYCAPROLACTONE MATRICES

Irene T. Seoane, Pablo R. Cortez Tornello, Gustavo A. Abraham y Adrián Cisilino

*Instituto de Investigaciones en Ciencia y Tecnología de Materiales (INTEMA), UNMDP-CONICET,
Facultad de Ingeniería, Av. Juan B Justo 4302, 7600 Mar del Plata, Argentina,
intema@fi.mdp.edu.ar, <http://www.intema.gob.ar>*

Palabras clave: Modelo mecanístico, Liberación de drogas, Policaprolactona, Embelina.

Resumen. El modelado matemático de la cinética de liberación de drogas y su predicción cobran cada vez más relevancia a nivel académico e industrial. En particular, los modelos mecanísticos se basan en los fenómenos involucrados y permiten determinar los parámetros específicos del sistema y realizar predicciones cuantitativas de la cinética de liberación en función de estos parámetros. El trabajo contempla el modelado de la liberación controlada de embelina, a partir de matrices de policaprolactona (PCL), un poliéster biorreabsorbible y biocompatible, usando un método de diferencias finitas unidimensional. La embelina es un agente terapéutico de origen natural que presenta diversas propiedades biológicas y aplicaciones, como el tratamiento externo de enfermedades cutáneas. Para verificar el modelo, se realizaron ensayos de liberación en películas delgadas de PCL cargadas con distintos contenidos de embelina. El modelado de la liberación se basó en procesos de difusión y disolución del fármaco; el hinchamiento y la erosión de la matriz se consideraron despreciables durante el tiempo de liberación. El sistema de ecuaciones diferenciales fue resuelto mediante la rutina “pdepe” de Matlab dadas las condiciones iniciales y de contorno del modelo. El modelado del proceso permitió ajustar las curvas de liberación e identificar los mecanismos involucrados, incluyendo entre los fenómenos más importantes la difusión del solvente y la disolución.

Keywords: Mechanistic Model, Drug Release, Polycaprolactone, Embelin.

Abstract. The modeling of the drug release kinetics and its prediction are becoming more and more important at academic and industrial fields, with enormous potential. In particular, mechanistic models, which are based on the involved phenomena, allow us to determine specific parameters of the system and make quantitative predictions of the release kinetics as a function of these parameters. This work contemplates the modeling of embelin release from bioresorbable and biocompatible matrices of the polyester polycaprolactone (PCL), using a one-dimensional finite difference method. Embelin is a therapeutic agent of natural origin and presents various biological properties and applications, highlighting external treatment of skin diseases. In order to validate the model, drug delivery studies were performed in thin films of PCL loaded with different embelin contents. Release modeling was based on diffusion and dissolution processes of the drug; swelling and erosion of the matrix were considered negligible during the release time. The system of differential equations was solved by the routine “pdepe” of Matlab, given the initial and contour boundaries of the model. The model obtained allowed to adjust the release behavior and identify the involved mechanisms, including solvent diffusion and drug dissolution among the most important phenomena.

1 INTRODUCCIÓN

El modelado matemático de la cinética de liberación de drogas y su predicción es un campo que cobra cada vez más relevancia a nivel académico e industrial con un enorme potencial.

A partir del modelo matemático de Higuchi (1961), se han propuesto numerosos modelos empíricos, semiempíricos y mecanísticos. Sin embargo, gran parte de ellos carecen de suficiente precisión o son de difícil aplicación. Además, los modelos empíricos y semiempíricos son puramente descriptivos, no entienden los fenómenos físicos, químicos y/o biológicos involucrados, y por lo tanto su poder predictivo es bajo. Por otro lado, los modelos mecanísticos incorporan los fenómenos involucrados y permiten determinar parámetros específicos del sistema y realizar predicciones cuantitativas de la cinética de liberación (Siepmann y Siepmann, 2008). Los mecanismos más importantes que regulan la velocidad de liberación de un agente terapéutico son la difusión, el hinchamiento y la erosión de la matriz. Además, las características de la dispersión del agente en la matriz influyen sobre la tasa de liberación (Grassi y Grassi, 2005). En todos los casos, el sistema debe ser diseñado para controlar la entrega del agente terapéutico de forma consistente con la terapia, eliminar la posibilidad de intoxicación por sobredosis, mantener el nivel de liberación dentro del rango deseado y hacer una utilización óptima del agente terapéutico.

En nuestro grupo se han obtenido y caracterizado diferentes películas basadas en poli(ϵ -caprolactona) (PCL), un poliéster biorreabsorbible y biocompatible, con distintos contenidos de embelina. La embelina es un agente terapéutico de origen natural, poco soluble en agua. Presenta diversas propiedades biológicas y aplicaciones, de las que se destaca el tratamiento externo de enfermedades cutáneas (Cortez Tornello, 2015). Además, se han estudiado y ajustado modelos matemáticos de la cinética de liberación de embelina en soluciones reguladoras con diferente pH (Cortez Tornello et al., 2012).

El presente trabajo propone el modelado de la liberación controlada de embelina a partir de películas de PCL, considerando las difusiones del agente y del solvente, y la disolución del agente en el solvente.

2 EXPERIMENTAL

2.1 Materiales

La embelina se obtuvo a partir de la especie *Oxalis erythrorhiza* Gillies ex Hooker et Arnott (Oxalidaceae) colectada en la provincia de San Juan, Argentina. La PCL con peso molecular promedio de $80 \text{ kg}\cdot\text{mol}^{-1}$ (M_w) y los solventes, diclorometano (DCM) y N,N-dimetilformamida (DMF), fueron adquiridos en Aldrich Chemical Co. (St Louis, MO, USA).

2.2 Métodos

Las matrices de PCL se prepararon por "casting", a partir de la disolución de pellets de PCL en 5 ml en la mezcla de solventes DCM:DMF (1:1 en volumen) bajo agitación continua, para obtener una solución del polímero de concentración 10% en peso. Para la preparación de las películas cargadas con embelina (muestras PCLE3f y PCLE18f), se adicionaron a la solución 3 y 18 % en peso de embelina respecto al peso de PCL, respectivamente. Cada solución se vertió en una caja de Petri de 4.6 cm de diámetro y se secó bajo campana extractora durante 24 h, a temperatura ambiente. Luego, se secó en estufa de vacío con el fin de remover el solvente residual.

Los ensayos de liberación de embelina a partir de las películas de PCL, se realizaron en solución acuosa reguladora (buffer) fosfato (PBS, pH=7,4). Se cortaron 10 discos de diámetro

$d=10$ mm y espesor $e=0.085$ mm de cada muestra y se colocaron en frascos de vidrio, conteniendo 200 ml de solución reguladora a 37 °C y agitación de 150 rpm con agitador orbital (Figura 1). El número de extracciones no superó el 15 % del volumen total, y se efectuaron 30 extracciones de 1 ml con reposición de 1 ml de medio fresco cada una hora durante las primeras 12 h y cada 24 hs, durante los 18 días posteriores. La concentración de embelina liberada se determinó mediante espectroscopía ultravioleta-visible mediante la evaluación de la intensidad de la banda de absorción $\lambda = 330$ nm. El porcentaje de embelina liberada se determinó al dividir la cantidad de embelina liberada acumulada en cada tiempo de muestreo por la cantidad inicial de embelina.

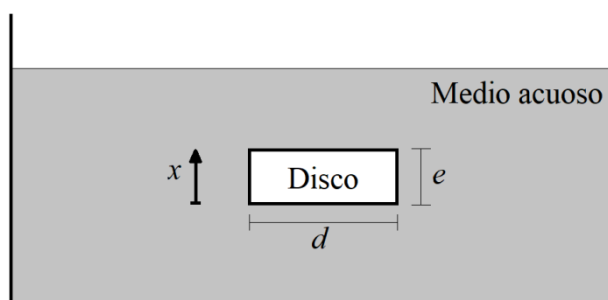


Figura 1. Esquema de una muestra en el medio de liberación.

La capacidad de saturación de la matriz en embelina se determinó según el porcentaje de embelina liberada de la muestra PCLE18f, que resultó ser 6.1% en peso de embelina respecto a la matriz de PCL. Por lo tanto, parte de la embelina presente en la muestra PCLEf18 permaneció retenida, correspondiéndose con la fracción cristalizada que no participa en la liberación.

3 DESARROLLO DEL MODELO COMPUTACIONAL

El modelo presenta una geometría unidimensional en la dirección del espesor de la pastilla, según la Figura 1. Además, se asume que: existen distintos grados de agregación de la embelina amorfa; es posible especificar las distribuciones de embelina amorfa dispersa en la matriz y aglomerada; la liberación de embelina a partir de la película de PCL está gobernada por mecanismos de difusión del agente en el interior de la matriz y de disolución en el disolvente cuando éste se encuentra aglomerado; los mecanismos de difusión pueden ser descriptos con la segunda ley de Fick (Lao et al., 2011); el coeficiente de difusividad de la embelina depende de la concentración de solvente (Sevim y Pan, 2016); la embelina es poco soluble en medio acuoso; la disolución de la droga se describe mediante una ecuación basada en la de Noyes-Whitney (McGinty y Pontrelli, 2015); la resistencia al transporte de masa externo no es despreciable; el coeficiente de masa externo y la constante de disolución son constantes; el hinchamiento con el ingreso del fluido es despreciable; la matriz de PCL se considera inerte, no sufre degradación, ni erosión durante la liberación de embelina, dado a que el tiempo de degradación hidrolítica de la PCL es mayor que la duración del estudio de liberación in vitro; y se cumple la condición *sink* durante la liberación del agente, esto es, la concentración de embelina en el medio de liberación no supera el 20% del valor de solubilidad.

Se sabe que la embelina debe encontrarse en estado amorfo para poder difundir a la fase acuosa. En sistemas donde la matriz no se degrada ni se hincha, la liberación considera que el principal mecanismo de transferencia de masa es la difusión de la droga en el interior de la matriz polimérica. En este trabajo se asume que la fracción de embelina dispersa que se

encuentra en estado amorfo (E) puede difundir a través de la matriz en ausencia de agua – aunque con una difusividad menor que en presencia de agua–, y es capaz de disolverse instantáneamente en contacto con la fase acuosa, al no encontrarse aglomerada. Además, se incluye el aporte de embelina sólida aglomerada (EA) mediante el proceso de disolución de forma no instantánea, ya que EA debe disolverse en presencia de agua para poder difundir a través de la matriz. Por lo anterior, este proceso se encuentra íntimamente ligado a la presencia de agua en el interior de la matriz de PCL. Como se trata de un polímero hidrofóbico, debe incluirse en el modelo la evaluación de la tasa de ingreso de agua (W) con el tiempo (Siepmann y Siepmann, 2008).

Las consideraciones anteriores resultan en el modelo matemático del problema, el que consiste en un sistema de tres ecuaciones diferenciales (adimensionalizado) que corresponden a los balances de masa de E , W y EA , respectivamente:

$$\frac{\partial C'_E}{\partial t'} = \frac{D_E}{D_{E0}} \cdot \frac{\partial^2 C'_E}{\partial x'^2} + \frac{k_{dis} \cdot a \cdot e^2}{D_{E0}} \cdot (1 - C'_E), \quad (1)$$

$$\frac{\partial C'_W}{\partial t'} = \frac{D_W}{D_{E0}} \cdot \frac{\partial^2 C'_W}{\partial x'^2}, \quad (2)$$

$$\frac{\partial C'_{EA}}{\partial t'} = - \frac{k_{dis} \cdot a \cdot e^2}{D_{E0}} \cdot (1 - C'_E) \quad \text{si } C'_{EA} > 0 \wedge C'_W > 0, \quad (3)$$

donde $x' = \frac{x}{e}$ y $t' = \frac{t \cdot D_{E0}}{e^2}$ son las variables adimensionales asociadas al tiempo t y la posición en el espesor del disco x , respectivamente. $C'_E = \frac{C_E}{C_{Esat}}$, $C'_{EA} = \frac{C_{EA}}{C_{Esat}}$ y $C'_W = \frac{C_W}{C_{WB}}$ son las concentraciones adimensionales de cada especie; para adimensionalizar las concentraciones de E y EA se utilizó la concentración de saturación de embelina en el medio acuoso ($C_{Esat} = 0.13 \text{ mg} \cdot \text{cm}^{-3}$) (Cortez Tornello, 2015) y para la concentración de agua en la matriz, la concentración de agua en el seno de la fase acuosa (C_{WB}). k_{dis} es la constante de disolución de los aglomerados de embelina y a , el área de los mismos. D_i es la difusividad efectiva de cada especie en la matriz de PCL. Además, se consideró que la difusividad de la droga en la matriz con los poros llenos de líquido (D_{E0}) es de tres órdenes de magnitud mayor a la correspondiente con la matriz sin suficiente líquido (Sevim y Pan, 2016), empleando como concentración relativa límite de agua a $1 \cdot 10^{-4}$ respecto a la concentración del agua en el seno de la fase acuosa.

Según la Ec. (3), la tasa de disolución de la droga sólida depende de la concentración de la droga disuelta. Sin embargo, ésta se disolverá en contacto con el medio acuoso hasta que se agote. Es por ello que se adiciona la condición de disolución si, y solo si, las concentraciones de EA y de W son distintas de cero.

Generalmente, las películas obtenidas por “casting” presentan variaciones de concentración con el espesor, dado a que la matriz sufre un proceso de contracción durante la evaporación del solvente y a la vez, presenta el espacio suficiente para formar aglomeraciones del fármaco (Abraham y Cuadrado, 1998). Esta diferencia de concentración se pudo comprobar en las muestras obtenidas a simple vista, debido a que la embelina posee una coloración rojiza y la matriz de PCL es de color blanco. La superficie expuesta al ambiente durante el proceso de elaboración de todas las muestras presentó un tono rojizo luego del secado cada vez más oscuro para muestras con mayor relación droga/matriz. En cambio, la superficie en contacto con la caja de Petri de todas las películas resultó ser de un color semejante al de la matriz de PCL sin embelina. Por lo tanto, en el modelo se propusieron perfiles iniciales de embelina

dispersa y aglomerada que concentran la mayor cantidad de droga en una zona cercana a una de las caras superficiales del film.

Para resolver el sistema de ecuaciones adimensionalizadas (Ec. (1)-(3)) se dieron las siguientes condiciones iniciales para $t'=0$ a lo largo del espesor de la matriz ($0 < x' < 1$): perfiles monótonamente crecientes con x' para las concentraciones de E y EA y un perfil nulo para el agua, dado a que la matriz se encuentra seca al inicio de la liberación:

$$C'_E = \frac{cE}{1 + \exp[-A \cdot (x' - B)]}, \quad (4)$$

$$C'_{EA} = \frac{cEA}{1 + \exp[-A2 \cdot (x' - B2)]}, \quad (5)$$

$$C'_W = 0, \quad (6)$$

donde A , B , $A2$ y $B2$ son constantes a ajustar con el modelo. cE y cEA son constantes relacionadas con la masa inicial de embelina (m_{Eo}) y la fracción de embelina dispersa y aglomerada, respectivamente, según la siguiente ecuación:

$$f_i(\%) = \frac{\int_0^1 C'_i dx'}{\frac{m_{Eo}}{V_{SN} \cdot C_{Esat}}} \cdot f_E \cdot 100, \quad (7)$$

donde f_i es la fracción en peso de embelina dispersa o aglomerada en relación a la muestra, V_{SN} , el volumen de solución y f_E , la fracción de embelina de cada muestra.

En cuanto a las condiciones de contorno, se impone sobre ambas caras de la matriz ($x'=0 \wedge x'=1$) que el flujo de E es igual al transporte de masa externo, caracterizado por la constante k_m y la fuerza impulsora correspondiente a la diferencia de concentración de E en la superficie de la matriz y en el seno de la fase acuosa ($C_{Eb}=0$):

$$-\frac{dC'_E}{dx'} = \frac{k_m \cdot e}{D_E} \left(C'_E - \frac{C_{Eb}}{C_{Esat}} \right) = \frac{k_m \cdot e}{D_E} \cdot C'_E, \quad (7)$$

$$\frac{dC'_E}{dx'} = \frac{k_m \cdot e}{D_E} \cdot C'_E. \quad (8)$$

En el caso de EA , se consideró que ésta no se libera al medio, por lo que en $x'=0$ y $x'=1$ se impone:

$$\frac{dC'_{EA}}{dx'} = 0. \quad (9)$$

En cuanto al agua, se supone que la concentración en ambas superficies se mantiene igual a la del seno:

$$C'_W = 1. \quad (10)$$

Con el fin de encontrar el mecanismo de liberación de embelina se resolvió el sistema de Ec. (1)-(3) mediante la rutina "pdepe" de Matlab. Para su implementación, se discretizó el espesor de la matriz con 400 elementos, con una discretización más fina en la región vecina a la superficie más concentrada en embelina donde se colocó el 75% de los elementos.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A partir de la resolución del modelo, se hallaron los valores aproximados de los parámetros

del sistema (la fracción de embelina aglomerada, f_{EA} ; la constante de disolución afectada por el área de aglomerados, $k_{dis.a}$; y la difusividad efectiva de la embelina en presencia de agua, D_{Eo}) que mejor ajusten los datos experimentales. Para esto, se procedió a variar sucesivamente cada uno de los parámetros mientras se dejaban el resto fijos. Primero, se halló el valor de f_{EA} que generaba un cambio marcado de pendiente de la curva de liberación luego de la salida del 40% de la masa de embelina total al seno del líquido (Figura 2), que se fijó en 1.5% (con $c_{EA}=6$). Luego, se determinó el valor aproximado de $k_{dis.a}$ que ajustaba la etapa de liberación inicial (Figura 3). Su valor aproximado resultó $k_{dis.a}=0.0135 \text{ h}^{-1}$. Luego, se analizó el valor que debía tomar D_{Eo} (Figura 4), que resultó $D_{Eo}=0.0006 \text{ cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$.

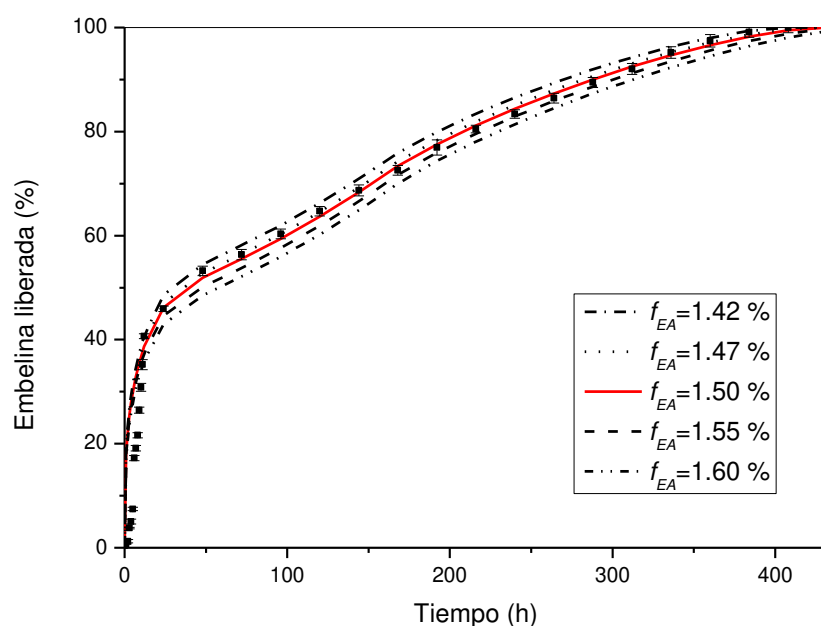


Figura 2. Comparación de la tasa de liberación acumulada en muestras de PCLE3f al variar la fracción de embelina aglomerada (f_{EA}), dejando fijos los valores de $D_{Eo}=0.0006 \text{ cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$ y $k_{dis.a}=0.0135 \text{ h}^{-1}$.

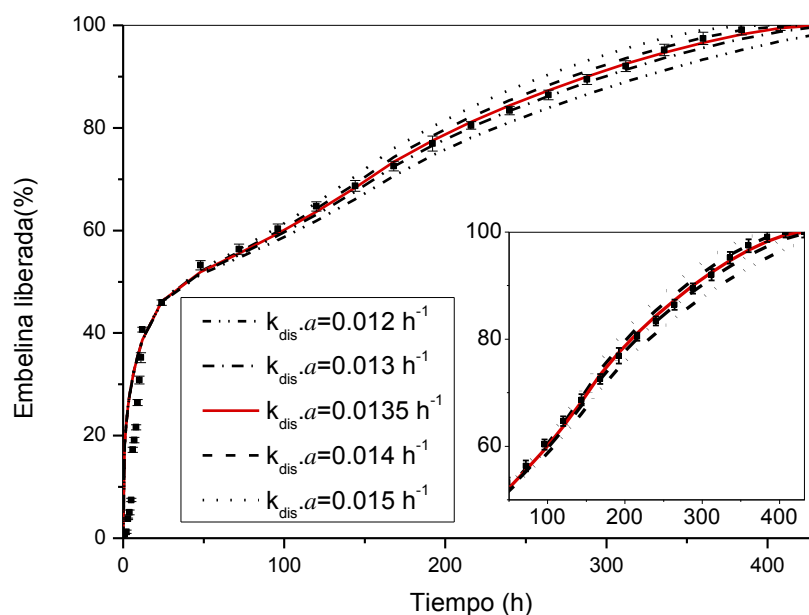


Figura 3. Comparación de la tasa de liberación acumulada en muestras de PCLE3f al variar la constante de disolución afectada por el área de aglomerados ($k_{dis.a}$) y su ampliación en el intervalo de liberación de 50 a 100 %, dejando fijos los valores de $D_{Eo}=0.0006 \text{ cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$ y $f_{EA}=1.50\%$.

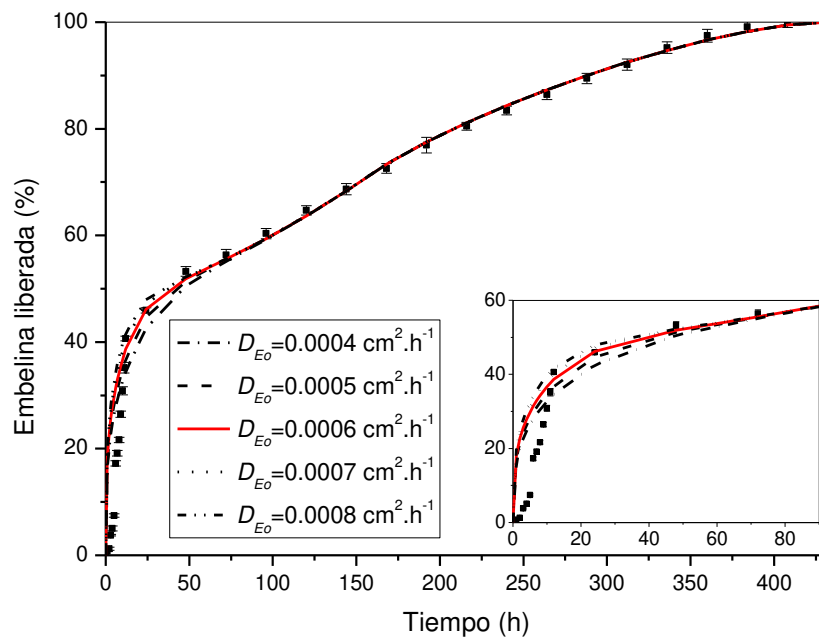


Figura 4. Comparación de la tasa de liberación acumulada en muestras de PCLE3f al variar la difusividad efectiva de la embelina (D_{Eo}) y su ampliación en el intervalo de tiempo de 0 a 90 h, dejando fijos los valores de $k_{dis,a}=0.0135h^{-1}$ y $f_{EA}=1.50\%$.

Además, se comprobó que la resistencia al transporte de masa externo es despreciable, ya que la constante de transferencia k_m toma valores muy altos y su variación no incide en la tasa de liberación. En cuanto a la difusividad del agua en la matriz (D_w), se fijó en el valor $8 \cdot 10^{-13} \text{ cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$, dado que esta difusividad permite el mojado completo de todos los aglomerados de embelina (que se ubican en la región cercana a la superficie) y un ingreso de agua a la matriz no mayor al experimental (Cortez Tornello, 2015).

La resolución del modelo también permitió encontrar la evolución de los perfiles de concentración de E y EA con el avance en el tiempo de liberación, Figura 5. La zona oscura de cada gráfico corresponde a donde se aplicó la discretización más fina, debido a la presencia de embelina sólida. A partir del análisis de las figuras, se observa que la fracción de embelina dispersa E se libera en una primera etapa de liberación rápida, y la aglomerada EA , se libera en una segunda etapa, aunque se encuentre prácticamente en superficie.

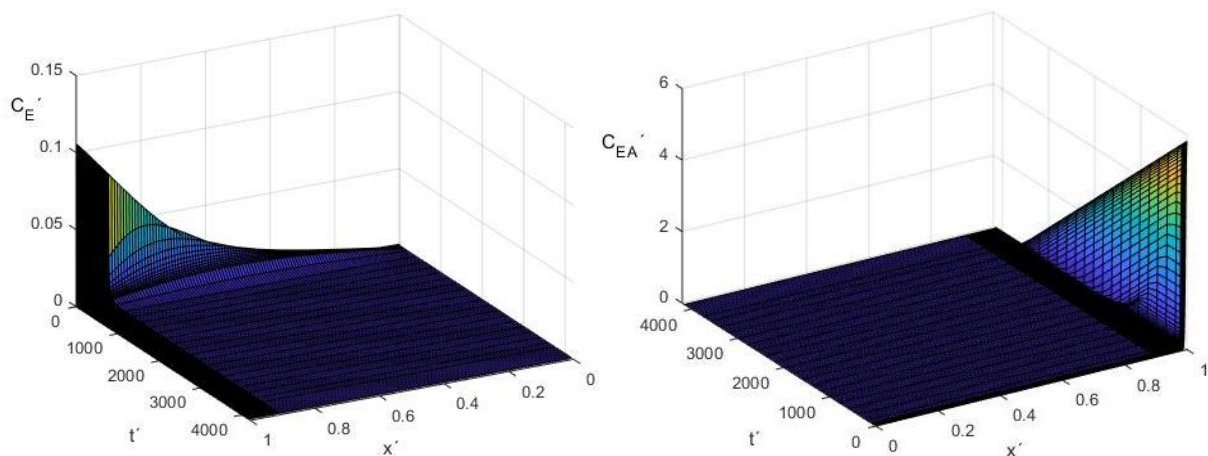


Figura 5. Evolución de los perfiles de concentración de E (a) y EA (b), con el avance del tiempo de liberación.

Finalmente, se aplicó el modelo a la muestra PCLE18f para su verificación. La diferencia

en la relación embelina/matriz de cada muestra puede representar un cambio en f_{EA} . Además, se espera que las difusividades de la embelina y del agua no se modifiquen ya que no cambia la estructura de la matriz, ni las especies presentes. Los parámetros de ajuste obtenidos para la nueva muestra presentaron los siguientes valores aproximados: $f_{EA}=2.27\%$ ($c_{EA}=3.6$), $k_{dis}\cdot a=0.0125\text{ h}^{-1}$, $D_w=8.10\cdot 10^{-13}\text{ cm}^2\cdot\text{h}^{-1}$ y $D_{Eo}=0.0006\text{ cm}^2\cdot\text{h}^{-1}$. Efectivamente, la fracción aglomerada resultó mayor a la de la muestra PCLE3f, y las difusividades de las especies no presentaron cambio significativo. El valor de $k_{dis}\cdot a$ es levemente menor al de la muestra anterior, debido al posible cambio en el área de aglomerados (a). En la Figura 6 se muestra la comparación de las curvas de liberación de las muestras analizadas y sus respectivos ajustes.

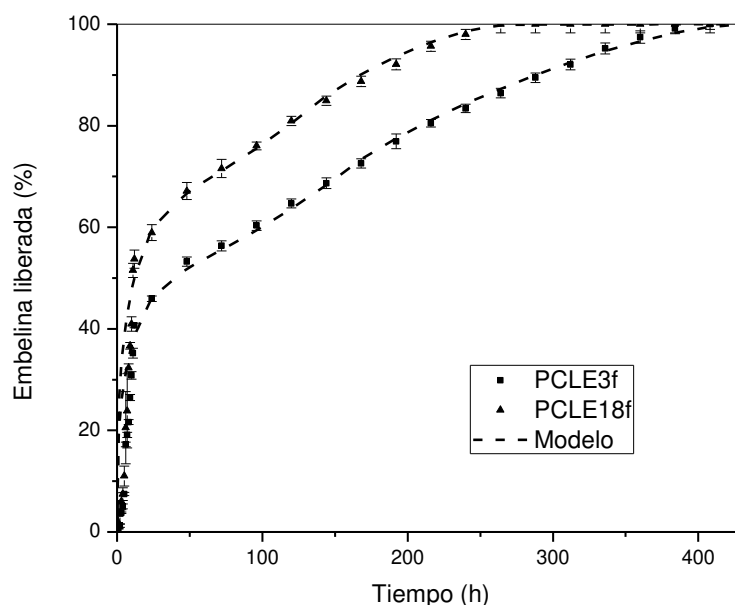


Figura 6. Curva de liberación de embelina de las muestras PCLEf18 y PCLEf3 y sus respectivos ajustes.

5 CONCLUSIONES

Se desarrolló un modelo mecánico de la liberación de embelina a partir de una película porosa de PCL. Se encontró que el mecanismo propuesto puede predecir el grado de liberación en los distintos tiempos de liberación, con una gran exactitud en la segunda etapa de liberación y encontrándose las mayores desviaciones en la etapa inicial. Aun así, fue posible ajustar el porcentaje de liberación de embelina en la etapa de liberación rápida. Por lo tanto, se observa que la cinética de liberación puede estar controlada por procesos de difusión de embelina en la primera etapa, y por procesos de disolución, en la segunda etapa. Esta conclusión es acorde con la condición de que es un fármaco poco soluble en agua, y por ende, existe una mayor resistencia a la disolución de los aglomerados que a la difusión de la droga dispersa. Finalmente, se observó que al variar la concentración inicial de embelina, hasta concentraciones de saturación de la matriz, no se modifica el mecanismo de liberación.

REFERENCIAS

- Abraham, G. A., and Cuadrado, T. R., Modeling of Segmented Polyurethane Drying Process. *International Polymer Processing*, 13:369-378, 1998.
- Cortez Tornello, P.R., Sistemas poliméricos biocompatibles para liberación controlada de Embelina. Universidad Nacional de Mar del Plata. 2015.
- Cortez Tornello, P.R., Feresin, G.E., Tapia, A., Veiga, I.G., Moraes, Â.M., Abraham, G.A. and Cuadrado, T.R., Dispersion and release of embelin from electrospun, biodegradable,

- polymeric membranes. *Polymer Journal*, 44:1105–1111, 2012.
- Grassi, M., and Grassi, G., Mathematical modelling and controlled drug delivery: matrix systems. *Current Drug Delivery*, 2: 97–116, 2005.
- Higuchi, T., Rate of release of medicaments from ointment bases containing drugs in suspension. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 50:874–875, 1961.
- Lao, L.L., Peppas, N.A., Boey, F.Y.C., and Venkatraman, S.S., Modeling of drug release from bulk-degrading polymers. *International Journal of Pharmaceutics*, 418:28–41, 2011.
- McGinty, S., and Pontrelli, G., A general model of coupled drug release and tissue absorption for drug delivery devices. *Journal of Controlled Release*, 217:327–336, 2015.
- Sevim, K., and Pan, J., A Mechanistic Model for Acidic Drug Release Using Microspheres Made of PLGA 50:50. *Molecular Pharmaceutics*, 13:2729–2735, 2016.
- Siepmann, J., and Siepmann, F., Mathematical modeling of drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 364:328–343, 2008.