

Nano-arcillas de Al-Mg: Método de Síntesis versus Capacidad de Incorporación de Fármacos Antiinflamatorios

Silvia N. Mendieta^{1*}, Emilio L. Nardon, Celso F. Pérez y Mónica E. Crivello

1: CITEQ – Centro de Investigación y Tecnología Química – Universidad Tecnológica Nacional – Facultad Regional Córdoba.

*e-mail: smendieta@scdt.frc.utn.edu.ar

web: www.investigacion.frc.utn.edu.ar/citeq

Resumen: Se sintetizaron Hidróxidos de Doble Capa (HDC) incorporando Indometacina e Indometacina Sódica por vía directa e indirecta. Para esta última se parte de diferentes sólidos anfitriones, sintetizados por coprecipitación con distintos tiempos de envejecimiento (de 20 minutos y 4 horas). La incorporación por vía directa se obtuvo por coprecipitación del fármaco seleccionado conjuntamente con los cloruros de Mg y Al. Por difracción de rayos X se detectó la correcta incorporación del fármaco, independientemente del método de síntesis utilizado. Por Microscopía electrónica de barrido (SEM) se observó el aspecto interlamilar característico de los HDC; mientras que en aquellos materiales en los que se les incorporó el fármaco, presentan granos mas grandes y amorfos. El contenido del fármaco incorporado en los sólidos anfitriones se determinó por espectroscopía ultravioleta, obteniéndose mayores valores de incorporación en aquellos materiales sintetizados por el método de coprecipitación

Palabras claves: Nanoarcillas, Liberación de fármacos, Antiinflamatorios

Al-Mg Nano-clay: Method of Synthesis Versus Incorporation Capacity of Anti-Inflammatory Drugs

Abstract: Layered double hydroxides (LDH) were synthesized with the incorporating Indomethacin and Sodium Indomethacin by direct and indirect route. Three types of incorporated LDH were obtained, with Indomethacin and Sodium Indomethacin. By the indirect way, two of them from two different host solids were synthesized. The difference between them was the aging time (20 minutes and 4 hours). Then, by the indirect method the drug selected was incorporated. The third built-in type of HDC was obtained by direct coprecipitation with the selected drug. By X-ray diffraction the correct incorporation of the drug was observed. By electronic microscopy the interlayer aspect characteristic of the HDC was observed; those materials with the drug incorporated showed large and amorphous grains. The loading of drugs incorporated in the HDC was determined by ultraviolet spectroscopy, obtaining the best values of incorporation in those materials synthesized by the coprecipitation method.

Keywords: Nano clays, Drug delivery, Anti-inflammatory

INTRODUCCIÓN

Las estructuras tipo hidrotalcitas (HT) o hidróxidos de doble capa (HDC) son sólidos laminares con posibilidad de intercalar entre sus capas diferentes aniones (Cavani et al., 1991). Las mismas pueden ser fácilmente sintetizadas y su fórmula general es $[M^{II}_{(1-x)}M^{III}_x(OH)_2]^{x+}[(An^-)_{x/n}]^{x-}$ y H_2O donde M^{II} es un catión divalente, generalmente Mg^{2+} ; M^{III} es un catión trivalente, normalmente Al^{3+} ; los mismos se encuentran octaédricamente coordinados, formando estructuras

tipo brucita. Mientras que An^- es un anión orgánico o inorgánico, intercambiable, que compensa la carga positiva generada por el reemplazo de cationes trivalentes por los divalentes.

Un anión intercalado en la síntesis de la HT puede ser reemplazado por otro, vía intercambio aniónico, con la consecuente variación de la distancia entre las capas, la que depende del tamaño y ubicación del anión intercalado.

Estos materiales han sido ampliamente utilizados como catalizadores, precursores catalíticos, aniones

de absorción, intercambiadores de aniones, adsorbentes y aditivos (Crivello et al., 2008; Rives et al., 2003). Por otra parte, alguno de estos compuestos (HT de Mg-Al) son biocompatibles y tienen aplicaciones dentro del campo farmacéutico como antiácidos. Esta propiedad sumada a su capacidad de intercambio iónico, es por lo que en los últimos años se han comenzado a utilizar en el campo de la biomedicina. Muchos tipos de HDC han sido intercalados exitosamente con aniones orgánicos. En el área de la medicina se utilizaron compuestos tales como: ácido fólico (Qin et al., 2008; Choy et al., 2004), antihipertensivos (Xia et al., 2008), antiinflamatorios (Arco et al., 2004; Ambrogi et al., 2002); tales como: diclofenac (Ambrogi et al., 2008; Dupin et al., 2004), ibuprofeno (Ambrogi et al., 2001), ácido salicílico (Arco et al., 2004). También han sido empleados para la liberación controlada de compuestos en agricultura (pesticidas) (Bin Hussein et al., 2005; Cardoso and Valim, 2006), en medicina como antibacteriales (Ryu et al., 2010), antibióticos (Wang et al., 2009), entre otros. En química ambiental para la remoción de cloro en aguas residuales (Lv et al. 2009), etc. La inserción de aniones o compuestos aniónicos entre las láminas inorgánicas se puede lograr mediante dos rutas: una directa, en la que el anión se inserta por auto ensamblaje o coprecipitación y la indirecta en la que se prepara, en primer lugar, el sólido laminar anfitrión (HDC) y a continuación, se introduce el compuesto a intercalar. Esta segunda forma, a su vez, se puede realizar de dos maneras diferentes: utilizando el efecto memoria que presentan estos materiales (forma indirecta) o por intercambio directo del anión.

El objetivo del presente trabajo consiste en estudiar HDC para ser utilizados como sólidos anfitriones. La droga a intercalar es Indometacina (ácida y sódica). Se analizaron dos métodos de síntesis: directo e indirecto. Por último, se estudió la influencia del método de síntesis utilizado en la capacidad para la incorporación del fármaco.

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Síntesis del sólido anfitrión con envejecimiento de 20 minutos HDC-CI-S

Las muestras se sintetizaron utilizando el método de coprecipitación; partiendo de dos soluciones A y B, ambas en agua destilada y decarbonatada (H₂O dd). La solución A contiene AlCl₃.6H₂O y MgCl₂.6H₂O con una relación de cationes Mg²⁺/Al³⁺ de 3, mientras

que la solución B contiene NaOH 2 M. Bajo vigorosa agitación, ambas soluciones se ponen en contacto sobre 50 ml de H₂O dd a temperatura ambiente con corriente de nitrógeno. El pH se mantiene constante en 10 (Cavani et al., 1991). Finalizado el goteo se dejó la solución agitando durante 20 minutos. El precipitado se filtró, se lavó reiteradamente y por último se secó durante 10 horas a 70°C.

Síntesis del sólido anfitrión con envejecimiento de 4 horas HDC-CI-L

Se sintetizó similar a la anterior (HDC-CI-S), pero variando el tiempo de envejecimiento, en este caso se utilizaron 4 h, se dejó en reposo durante 18 h. Finalmente se lavó hasta pH 7 y se secó a 90°C en estufa.

Intercalación de los fármacos en los sólidos anfitriones HDC-CI

Una solución de 1,001 g de Indo o Indo Na se solubiliza en 50 ml de H₂O dd, la misma se adiciona a una suspensión conteniendo 0,67 g del sólido anfitrión en 50 ml H₂O dd. Se adiciona NaOH 0,1 M para mantener el pH en 8. Dicha mezcla se coloca en un baño a 70 °C, con corriente de N₂ y agitación, durante 3 días (Ambrogi et al., 2002). La mezcla obtenida se coloca en un baño a 70 °C, con corriente de N₂ y agitación. El producto es lavado y separado del agua madre por filtración al vacío, para luego secarlo a temperatura ambiente. Las muestras se denominan HDC-I-S y HDC-I-L respectivamente.

Incorporación directa del fármaco por coprecipitación. HDC-I-C

Las muestras fueron obtenidas por la coprecipitación de los cloruros metálicos y los fármacos deseados (Indometacina e Indometacina Sódica). La coprecipitación se realizó en forma similar a lo planteado por Dupin et al. (2004). Una mezcla de AlCl₃.6H₂O y MgCl₂.6H₂O se disolvió en 100 ml de H₂O dd manteniendo una relación de cationes Mg²⁺/Al³⁺ de 2, la solución fue lentamente adicionada a 50 ml de H₂O dd conteniendo el fármaco deseado. El pH=10 se mantuvo constante mediante la adición de NaOH 0,1 M. Dicha coprecipitación se llevó a cabo a 35°C, con flujo de N₂ y agitación magnética. Finalizado el goteo se colocó en un baño a 60°C, con agitación permanente durante 20 h. El material final se lavó utilizando H₂O destilada a 60°C, luego se filtró y se secó a temperatura ambiente.

Las muestras se denominaron HDC-I-C. Se sintetizó por el método de coprecipitación, el sólido anfitrión sin fármaco incorporado, el cual se realizó

de manera de obtener un patrón del mismo. Este se realizó en las mismas condiciones: coprecipitación a 35°C, luego agitación durante 20 h a 60 °C, el mismo se denomina HDC-Cl-C.

**Caracterización de las muestras
Difracción de rayos X (DRX)**

Los sólidos anfitriones y las muestras intercaladas, utilizando los diferentes métodos, fueron caracterizados por difracción de rayos X (DRX), en un difractómetro Philips PW 3838 de radiación CuK_α a una velocidad de corrido de ¼ min. en 2θ.

Microscopía de Barrido Electrónico (SEM)

Se utilizó un equipo JEOL JSM-6380 LV, trabajando con un voltaje de aceleración de 20 Kev. Las muestras fueron metalizadas con oro para crear el contraste necesario.

Microscopía de Transmisión Electrónica (TEM)

Se utilizó en un equipo JOEL JEM-1200 EX II. Las muestras fueron suspendidas en una solución etanol-agua 50% y luego se colocaron en grillas de Cu. El voltaje de trabajo fue de 120 Kv.

Contenido del fármaco

Se llevó a cabo por absorción UV, en un espectrofotómetro Jasco 7800 a λ=320 nm. A una cantidad determina de HDC- incorporado se agregó 10 ml de HCl 1M, luego se dejó agitando durante 2 h. y por último se llevó a 500 ml de buffer fosfato 7,4 (Berber et al., 2008).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Difracción de rayos X (DRX)

El parámetro de celda a estudiar en estas estructuras es “c”. El mismo indica el espaciamiento basal de estos materiales, el cual varía con el tamaño y disposición de los aniones intercalados. Por lo que el estudio se centró en la reflexión producida por el plano 003. El valor de la reflexión d₀₀₃ representa una capa de brucita conjuntamente con la intercapa. Asumiendo un empaquetamiento hexagonal, para los HDC-Cl, el d₀₀₃ es de aproximadamente 7,66 Å (Cavani et al., 1991), lo que representa un valor en 2θ de 11,54. En aquellas muestras en las que se incorporó el fármaco, la reflexión d₀₀₃ se observa a menores valores en 2θ, lo que estaría indicando un mayor espaciamiento basal.

En la Figura 1 se observan los difractogramas obtenidos para los sólidos anfitriones sintetizados

mediante las técnicas descriptas. Todas las muestras presentan reflexiones correspondientes a la fase hidrotalcita. En los sólidos sintetizados utilizando la técnica con envejecimiento de 4 horas (HDC-Cl-L) y HDC-Cl-C, se obtuvieron estructuras más cristalinas que la sintetizada con menor tiempo de agitación y reposo (HDC-Cl-S).

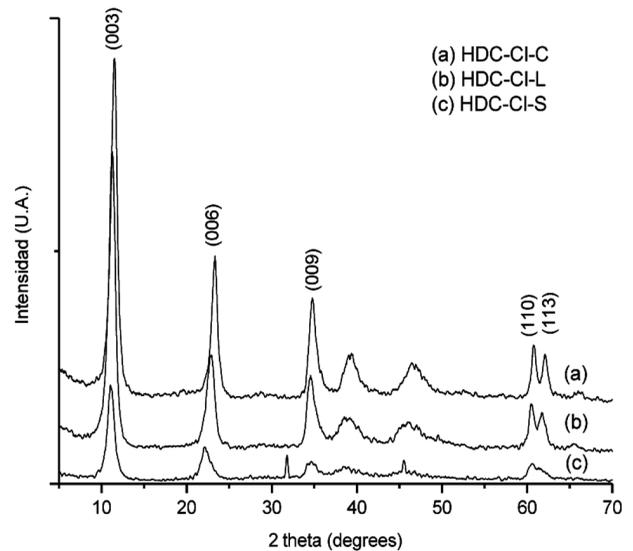


Figura 1: DRX – Sólidos Anfitriones

En las figuras 2 y 3 se observan los difractogramas obtenidos para las muestras incorporadas con Indometacina e Indometacina Sódica respectivamente.

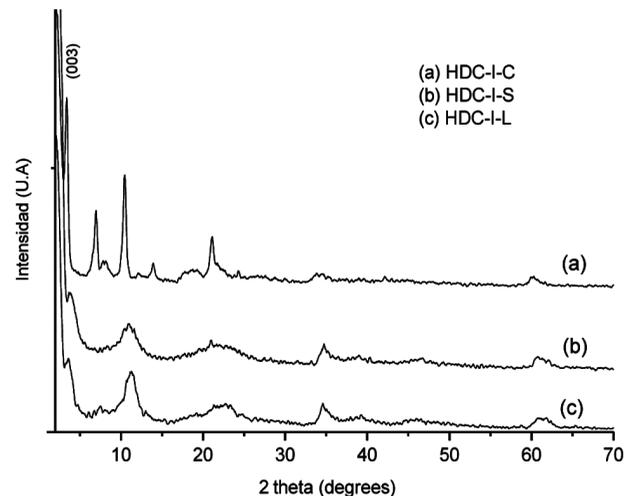


Figura 2: DRX – Muestras Incorporadas con Indometacina

Como se puede observar en las gráficas con la técnica de incorporación directa por coprecipitación, se obtiene un mayor ordenamiento cristalino. En las muestras incorporadas por el método de intercambio indirecto se observa menor estructura, siendo los picos más anchos e indefinidos. En las muestras inter-

cambiadas sobre el sólido con menor tiempo de envejecimiento (HDC-I-S) se observa el pico a menores valores de 2θ mas ancho, lo que indicaría que el fármaco se incorpora con diferentes orientaciones (en Tabla I) (Mohanmbe and Vasudevan, 2005). En las muestras intercambiadas sobre el sólido con mayor tiempo de envejecimiento (HDC-I-L) se observa un pico más agudo que en la muestra anterior, revelando mayor ordenamiento de la estructura. En los sólidos sintetizados con Indometacina Sódica se observa un comportamiento similar comparando las síntesis entre sí, siendo menor el ancho del pico en la HDC-I-S y mayor en la muestra HDC-I-L.

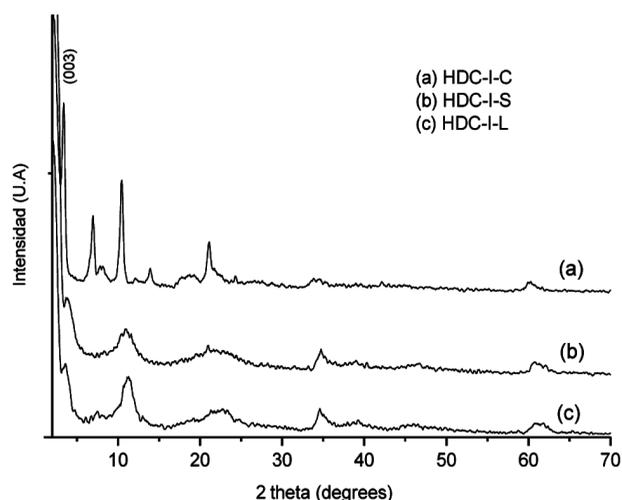


Figura 3: DRX – Muestras Incorporadas con Indometacina Sódica

Microscopía de Barrido Electrónico (SEM)

En la Figura 4 se observan las micrografías de las muestras sintetizadas con Indometacina. Los sólidos presentan morfologías características laminares, similares a los hidróxidos de doble capa [21]. Las Figuras a) y b) corresponden a las muestras sintetizadas por el método indirecto. Éstos presentan láminas grandes y amorfas. En cambio la figura c) corresponde a la síntesis por coprecipitación directa del fármaco.

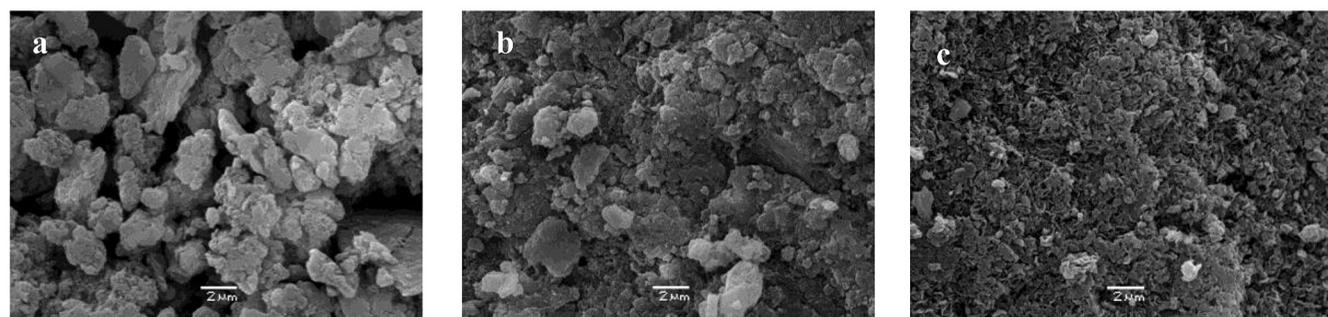


Figura 4: SEM sintetizadas con Indometacina: a) HDC-I-L, b) HDC-I-S, c) HDC-I-C.

maco. La estructura laminar se mantiene siendo más uniforme y pequeña; lo que indicaría mayor ordenamiento estructural.

Microscopía de Transmisión Electrónica (TEM)

En la Figura 5 se observan las micrografías de dos sólidos anfitriones, a) HDC-Cl-C, sólido anfitrión sintetizado por el método directo. En la figura b) se observa el sólido anfitrión HDC-Cl-S, método de corto envejecimiento.

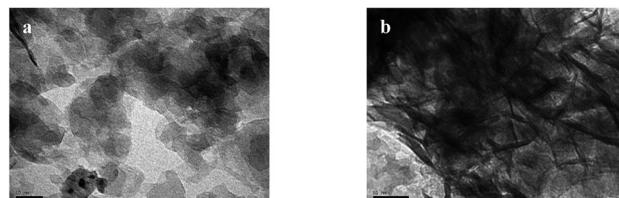


Figura 5: TEM Sólido Anfitrión, a) HDC-Cl-C, b) HDC-Cl-S

La figura a) muestra láminas más gruesas, indicando mayor grado de sinterización. Este tipo de construcción sugiere una mejor estructura cristalina. En cambio en la Figura b) se observan láminas más finas, que indicarían la menor estructura con respecto a la sintetizada por coprecipitación con temperatura.

En la Figura 6 se observan los TEM de las muestras incorporadas con Indometacina. Como se puede observar en la Figura c) las láminas gruesas se mantienen en las muestras sintetizadas por el método directo, con respecto a las otras técnicas. En la Figura a) y b) se pueden ver láminas mas finas y sin el ordenamiento que presenta la muestra HDC-Coprecipitada

Contenido de fármaco

En la Tabla I se muestran los valores de espaciamiento basal de cada una de las muestras y el contenido total de droga incorporada (observado por espectroscopía UV) para cada una de las síntesis

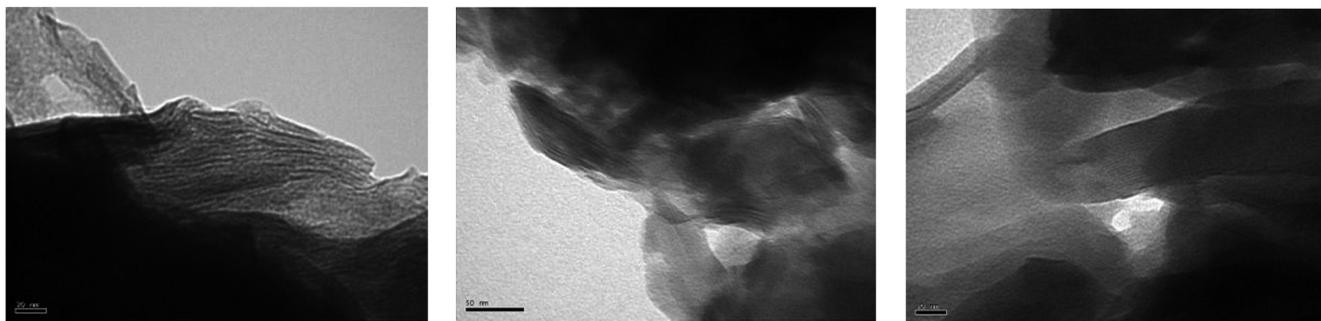


Figura 6: TEM Muestras incorporadas con Indometacina, a) HDC-I-L, b) HDC-I-S, c) HDC-I-C.

Fármaco Incorporado	Muestra	d [Å]	% Indo
Indometacina	HDC-I-C	25,21	56,44
	HDC-I-S	32,68-18,01	24,59
	HDC-I-L	24,11-22,06	13,12
Indometacina Sódica	HDC-I-C	24,18	48,40
	HDC-I-S	29,42-18,39	5,00
	HDC-I-L	25,95-18,78	13,98

Tabla I: Espaciamiento basal y porcentaje de droga incorporada

utilizadas. Dicho análisis se realiza luego de la destrucción del HDC. Como se puede observar la mayor incorporación se obtiene con el método por incorporación directa por coprecipitación, tanto para la Indometacina en su forma ácida como en su forma sódica. En cuanto al método de intercalación indirecta, para la Indometacina, se observa que obtener un sólido anfitrión con mayor estructura cristalina, HDC-I-L, no mejora la incorporación del fármaco, ya que el HDC-I-S incorpora un 10% más que la anterior. La menor incorporación se obtuvo con el sólido anfitrión HDC-I-S-Indo Na y la mayor incorporación de fármaco, independientemente de la técnica utilizada, se obtiene con la Indometacina ácida.

CONCLUSIONES

En todos los sólidos anfitriones sintetizados se obtuvo la fase tipo hidrotalcita, teniendo mayor estructura cristalina la sintetizada por coprecipitación y a temperatura (HDC-Coprecipitada). Del análisis de todas las técnicas utilizadas se pudo observar que se incorporó la Indometacina en sus dos formas (ácida y sódica). La muestra sintetizada por el método directo por coprecipitación presentó mayor ordenamiento en su estructura. Se observó, utilizando el método indirecto, que no es necesario un sólido con mayor

estructura cristalina para la intercalación de Indometacina. Por micrografías SEM y TEM se observó el aspecto laminar y el espesor que poseen dichas láminas, los cuales se corresponden con su estructura cristalina y laminar.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue soportado por el Programa de Becas de Postgrado de la UTN-FONCyT

Los autores agradecen al MINCyT-CONICYT por las misiones financiadas en el Programa de Cooperación, al Dr. Patricio Reyes Nuñez y Marcelo Oportus por su colaboración durante la estadía y mediciones realizadas en Concepción- Chile.

REFERENCIAS

Ambrogi, V., Fardella, G., Grandolini, G. and Pieroli, L. (2001). “Intercalation compounds of hydrocalcite-like anionic clays with antiinflammatory agents — I. Intercalation and in vitro release of ibuprofen” *International Journal Pharmaceutics*, 220, 23.

Ambrogi, V., Fardella, G., Grandolini, G., Perioli, L. and Tiralti, M. (2002). “Intercalation compounds of hydrocalcite-like anionic clays with anti-inflammatory agents. II: Uptake of diclofenac for controlled release formulation”. *AAPS Pharmaceutical Science Technologies*, 3.

Ambrogi, V., Perioli, L., Ricci, M., Pulcini, L., Nocchetti, M., Giovagnoli, S. and Rossi, S. (2008). "Eudragit_® and hydrotalcite-like anionic clay composite system for diclofenac colonic delivery". *Microporous and Mesoporous Materials*, 115, 415.

Arco, M., Gutierrez, S., Martín, C., Rives, V. and Rocha, J. (2004). "Synthesis and characterization of layered double hydroxides (LDH) intercalated with non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAID)". *Journal of Solid State Chemistry*, 177, 3954

Berber, M., Minagawa, K., Katoh, M., Mori, T. and Tanaka, M. (2008). "Nanocomposites of 2-arylpropionic acid drugs based on Mg-Al layered double hydroxide for dissolution enhancement". *European Journal Pharmaceutical Sciences*, 35, 354.

Bin Hussein, M. Z., Yahaya, A. H., Zainal, Z. and Kian, L. H. (2005). "Nanocomposite based controlled release formulation of an herbicide, 2,4-dichlorophenoxyacetate encapsulated in zinc-aluminium-layered double hydroxide". *Science and Technology Advanced Materials*, 6, 956.

Cardoso, L. P., and Valim, J. B. (2006). "Study of acids herbicides removal by calcined Mg-Al-CO₃-LDH". *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, 67, 987.

Cavani, F., Trifiró, F. and Vaccari, A. (1991) "Hydrotalcite-type anionic clays: preparation, properties and applications". *Catalysis Today*, 11, 173.

Choy, J., Jung, J., Oh, J., Park, M., Jeong, J., Kang, Y. and Han, O. (2004). "Layered double hydroxides as an efficient drug reservoir for folate derivatives". *Biomaterials* 25, 3059.

Crivello, M., Pérez, C., Mendieta, S., Casuscelli, S., Eimer, G. and Elías, V., Herrero, E. (2008) "n-Octyl alcohol dehydrogenation over copper catalysts". *Catalysis Today*, 133 - 135, 787.

Dupin, J., Martinez, H., Guimon, C., Dumitriu, E. and Fechete, I. (2004). "Intercalation compounds of

Mg-Al layered double hydroxides with dichlophenac: different methods of preparation and physico-chemical characterization". *Applied Clay Science*, 27, 95.

Lv, L., Sun, P., Gu, Z., Du, H., Pong, X., Tao, X., Xu, R. and Xu, L. (2009). "Removal of chloride ion from aqueous solution by ZnAl-NO₃ layered double hydroxides as anion-exchanger". *Journal of Hazardous Material*, 161, 1444.

Mohanmbe, L. and Vasudevan, S. (2005). "Anionic Clays Containing Anti-Inflammatory Drug Molecules: Comparison of Molecular Dynamics Simulation and Measurements" *Journal Physical and Chemistry B*, 109, 1565.

Qin, L., Wang, S., Zhang, R., Zhu, R., Sun, X. and Yao, S. (2008). "Two different approaches to synthesizing Mg-Al-layered double hydroxides as folic acid carriers". *Journal Physical and Chemical of Solids*, 69 2779.

Rives, V., Prieto, O., Dubey, A. and Kannan, S. (2003). "Synergistic effect in the hydroxylation of phenol over CoNiAl ternary hydrotalcites". *Journal of Catalysis*, 220, 161.

Ryu, S., Jung, H., Oh, J., Lee, J. and Choy, J. J. (2010). "Layered double hydroxide as novel antibacterial drug delivery system". *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, 71, 685.

Wang, J., Liu, Q., Zhang, G., Li, Z., Yang, P., Jing, X., Zhang, M., Liu, T. and Jianng, Z. (2009). "Synthesis, sustained release properties of magnetically functionalized organic-inorganic materials: Amoxicillin anions intercalated magnetic layered double hydroxides via calcined precursors at room temperature". *Solid State Science*, 11, 159.

Xia, S., Ni, Z., Xu, Q., Hu, B. and Hu, J. (2008). "Layered double hydroxides as supports for intercalation and sustained release of antihypertensive drugs". *Journal of Solid State Chemistry*, 181, 2610.