

Diseño de una formulación parenteral para la liberación prolongada de risperidona basada en un sistema de gelificación *in situ*

Design of a parenteral formulation for prolonged risperidone release based on an *in situ* gelification system

Carlos Julio Peniche,^I Hazel Peniche,^I Nancy Bada,^I Vivian Sáez,^I Niuris Acosta,^{II} Carlos Andrés Peniche^{I,III}

^I Centro de Biomateriales (BIOMAT). Universidad de La Habana. La Habana, Cuba.

^{II} Instituto de Estudios Biofuncionales. Facultad Farmacia. Universidad Complutense de Madrid. España.

^{III} Facultad de Química. Universidad de La Habana. La Habana, Cuba.

RESUMEN

Introducción: los sistemas de administración parenteral a base de formulaciones líquidas que gelifican *in situ* que forman implantes semisólidos de liberación sostenida de fármacos después de la inyección, son muy atractivos por varias razones. Su aplicación es menos invasiva y dolorosa en comparación con los implantes sólidos, que requieren anestesia local y una pequeña intervención quirúrgica. Además, se puede alcanzar una liberación sistémica del fármaco de manera sostenida por períodos prolongados.

Objetivo: preparar una formulación para la liberación prolongada de risperidona, basada en micropartículas poliméricas formadas *in situ*. El sistema consiste en una emulsión compuesta por una disolución de un polímero biodegradable conteniéndose el fármaco (fase A) y una fase oleosa externa (fase B). Los microglóbulos de la fase A solidifican en el sitio de inyección y el fármaco se libera de manera controlada por las micropartículas de polímero.

Métodos: se empleó un sistema de dos jeringas acopladas mediante un conector para preparar la emulsión de la fase A en la fase B. Como componentes de la fase B se evaluaron los aceites de maní, sésamo y algodón. Como disolvente del polímero se utilizó la N-metil-2-pirrolidona. Se probaron dos polímeros biodegradables como componentes de la fase A, la poli(D,L-lactida), y la poli(D,L-lactida-co-glicolida), para comparar su influencia sobre el perfil de liberación de la risperidona.

Resultados: no se observaron diferencias importantes en los perfiles de liberación de risperidona al variar el aceite de la fase oleosa. El sistema preparado con poli(D,L-lactida) exhibe una menor liberación de risperidona después de los primeros diez días del ensayo, debido a su mayor carácter hidrofóbico y más lenta velocidad de degradación en comparación con la poli(D,L-lactida-co-glicolida). Con poli(D,L-lactida-co-glicolida) y aceite de maní se logró un sistema que mantuvo una liberación controlada durante 60 días.

Conclusiones: los resultados indican que este es un sistema prometedor para el desarrollo de una formulación de liberación controlada de risperidona de larga duración.

Palabras clave: liberación controlada; micropartículas formadas *in situ*; risperidona; PLA; PLGA.

ABSTRACT

Introduction: Parenteral administration systems based on *in situ* gelifying liquid formulations forming semi-solid implants for sustained drug release after injection, are very attractive for a number of reasons. Their application is less invasive and painful in comparison with solid implants, for the latter require local anesthesia and a minor surgical procedure. On the other hand, sustained systemic release of the drug may be achieved for prolonged periods.

Objective: Prepare a formulation for prolonged release of risperidone based on polymeric microparticles formed *in situ*. The system consists in an emulsion composed of a solution of a biodegradable polymer containing the drug (phase A) and an external oily stage (phase B). Microglobules in phase A solidify at the injection site, and the drug is released by the polymeric microparticles in a controlled manner.

Methods: The system used consisted in two syringes coupled by a connector to prepare the phase A emulsion in phase B. The phase B components evaluated were peanut, sesame and cottonseed oils. The polymer solvent used was N-Methyl-2-pyrrolidone. Two biodegradable polymers were tested as components of phase A: poly(D, L-lactide and poly(D, L-lactide-co-glycolide, to compare their influence on the release profile of risperidone.

Results: No important differences were found in the release profiles of risperidone when different oils were used in the oily phase. In the system prepared with poly(D, L-lactide), risperidone release is smaller after the first ten days of the assay, due to its greater hydrophobic nature and slower degradation rate in comparison with the poly(D, L-lactide-co-glycolide) system. With poly(D, L-lactide-co-glycolide) and peanut oil, a system was achieved which provided controlled release for 60 days.

Conclusions: Results show that this is a promising system for the development of a formulation for prolonged controlled release of risperidone.

Key words: controlled release; microparticles formed *in situ*; risperidone; PLA; PLGA.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad la demanda de sistemas inyectables biocompatibles de liberación controlada de fármacos está aumentando debido a las enormes ventajas que estos ofrecen. Algunos de ellos son de forma relativa fáciles de preparar, son baratos y disminuyen de forma considerable la frecuencia de administración, lo que lleva a una mayor aceptación por parte del paciente. Además, estos sistemas pueden aumentar el beneficio terapéutico, debido a la eliminación de las fluctuaciones en los niveles séricos del fármaco. De manera potencial pueden disminuir la dosis total requerida para un tratamiento, debido a una mayor eficiencia en el aprovechamiento de la dosis administrada y también pueden reducir los efectos adversos, ya que disminuye la cantidad de principio activo liberado en el organismo en el momento de la aplicación.¹

Entre los biopolímeros utilizados en el desarrollo de sistemas de micropartículas para la liberación controlada de fármacos se destacan los poliésteres alifáticos, formados por unidades monoméricas de ácido láctico y de ácido glicólico (poli(D,L-lactida-co-glicolida)), conocidos por el acrónimo PLGA.^{2,3} Estos polímeros son biocompatibles, biodegradables y presentan gran fortaleza mecánica.²

El poli(D,L-lactida-co-glicolida) (PLGA) se degrada a ácidos láctico y glicólico.⁴ Ambos ácidos se eliminan del organismo en forma de dióxido de carbono y agua después de haber entrado en el ciclo del ácido tricarboxílico.³ Estos biopolímeros están disponibles de manera comercial para uso médico y han sido aprobados por la FDA (Food and Drug Administration) para elaborar sistemas para la administración de sustancias activas por vía parenteral.⁵

Sin embargo, las micropartículas presentan algunas limitaciones asociadas al proceso de fabricación a escala industrial, tales como la necesidad de diseñar un proceso en condiciones asépticas que asegure la obtención de partículas estériles⁶ y el aprovechamiento limitado del fármaco ya que la cantidad incorporada de este en las partículas es menor que la cantidad inicial introducida en el proceso de microencapsulación. Este último inconveniente hace que las primeras etapas del desarrollo de un proceso de microencapsulación sean muy complejas, demoradas y costosas debido a la gran cantidad de factores involucrados⁷ y que la búsqueda de procesos de encapsulación eficientes conlleven al diseño de procedimientos más complejos y difíciles de llevar a la industria.⁸ El sistema basado en la formación *in situ* de las micropartículas garantiza la administración en el organismo de todo el fármaco utilizado para obtener el sistema. Por otro lado, los implantes sólidos pueden requerir cirugía para su inserción o retirada del cuerpo. Los sistemas de micropartículas formadas *in situ* (ISM) fueron desarrollados por primera vez por Kranz y Bodmeier como alternativa a las suspensiones de micropartículas y los implantes *in situ*.^{9,10}

Estos sistemas (ISM) se forman a partir de una fase interna compuesta por una disolución de polímero en un disolvente biocompatible y el fármaco (Fase A) que se emulsiona en una fase externa oleosa (Fase B). Luego de la inyección, el polímero gelifica por la disminución de la cantidad de disolvente en las microgotas como consecuencia de su difusión hacia medio exterior al entrar en contacto con los fluidos corporales. Como resultado de este proceso, las micropartículas son formadas *in situ* y el fármaco encapsulado se libera de manera controlada.¹¹ Estos sistemas son muy simples de preparar en comparación con las técnicas clásicas de obtención de micropartículas. Además, los ISM presentan una citotoxicidad reducida, son más fáciles de inyectar y resultan menos dolorosos que las inyecciones de suspensiones poliméricas. Esto se debe a que la viscosidad de los ISM es menor por estar primariamente controlada por la fase oleosa externa y no por la disolución de polímero de la fase interna.^{11,12}

El presente estudio se lleva a cabo con un fármaco modelo, la risperidona. Este fármaco tiene propiedades antipsicóticas y es empleado en el tratamiento contra la esquizofrenia.¹² Hoy por hoy se pueden encontrar en el mercado internacional, formulaciones orales de risperidona como Risperidal® y un producto inyectable (Risperidal Consta®) constituido por microesferas de PLGA que se resuspenden en un vehículo líquido en el momento de su aplicación al paciente [Prospecto del medicamento].¹³ Reciente se reportó un estudio aleatorizado en fase II de una formulación de risperidona para su administración intramuscular una vez por mes basado en microesferas formadas *in situ*.¹⁴ Por otra parte, existen varios reportes de investigaciones encaminadas a obtener microesferas biodegradables para la administración parenteral de risperidona por los métodos de microencapsulación convencionales o algunas variantes de ellos.¹⁵⁻¹⁷ Sin embargo, no se han encontrado trabajos que describan el desarrollo farmacéutico de las formulaciones de tipo ISM con este fármaco. Una de las características principales a evaluar en estos sistemas es el perfil de liberación que, como otras propiedades, depende en gran medida de las condiciones experimentales.¹⁸ Aunque es posible hacer algunas generalizaciones, cada fármaco puede proporcionar comportamientos específicos. De acuerdo con lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue obtener un sistema de tipo ISM para la liberación prolongada de risperidona con un perfil de liberación adecuado, ajustado mediante la selección apropiada de las condiciones experimentales utilizadas.

MÉTODOS

PREPARACIÓN DEL SISTEMA DE MICROPARTÍCULAS FORMADAS *IN SITU* (ISM)

Se disolvió el PLGA en N-metil-2-pirrolidona (NMP) a concentraciones de 10 y 30 % (m/m). La risperidona fue disuelta al 2,5 % (m/v) en las disoluciones poliméricas (fase A).

La fase A se emulsionó en una fase oleosa (fase B) compuesta por aceite de maní, sésamo o algodón y Span 20 al 2,5 % (v/v) en la proporción fase A/fase B de 1:2, 2:1 y 2:3, utilizándose un sistema de dos jeringas acopladas. La jeringa conteniendo a la fase A se acopló mediante un conector a la jeringa conteniendo la fase B y la emulsión se obtuvo a partir de verter todo el contenido de la jeringa A en la B y viceversa en un ciclo de 50 repeticiones.

ESTUDIO DE LIBERACIÓN DEL FÁRMACO

La emulsión obtenida según se describe en el acápite anterior fue depositada dentro de bolsa de diálisis (tamaño de corte (MWCO) 12-14 kDa) y colocada en 50 mL de tampón fosfato a pH 7,4 a 37 °C en un baño térmico horizontal. Se colectaron muestras de 4 mL a intervalos predeterminados que fueron remplazadas con 4 mL de medio fresco.

La concentración de risperidona liberada se evaluó a partir de la medición de la absorbancia de la disolución a 240 nm en un espectrofotómetro ultravioleta-visible, luego de haber determinado la curva de calibración correspondiente.

RESULTADOS

La emulsión obtenida mediante la técnica empleada presentó una turbidez característica y las gotículas fueron visibles bajo un microscopio óptico (Fig. 1).

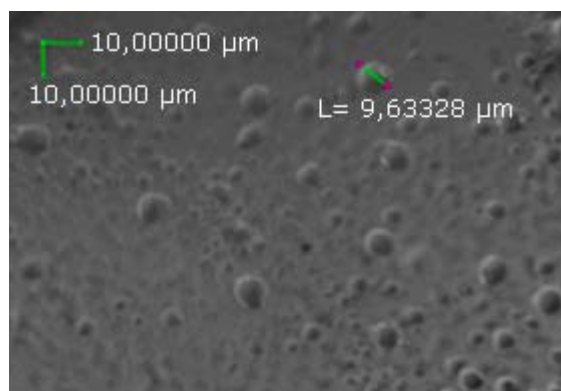
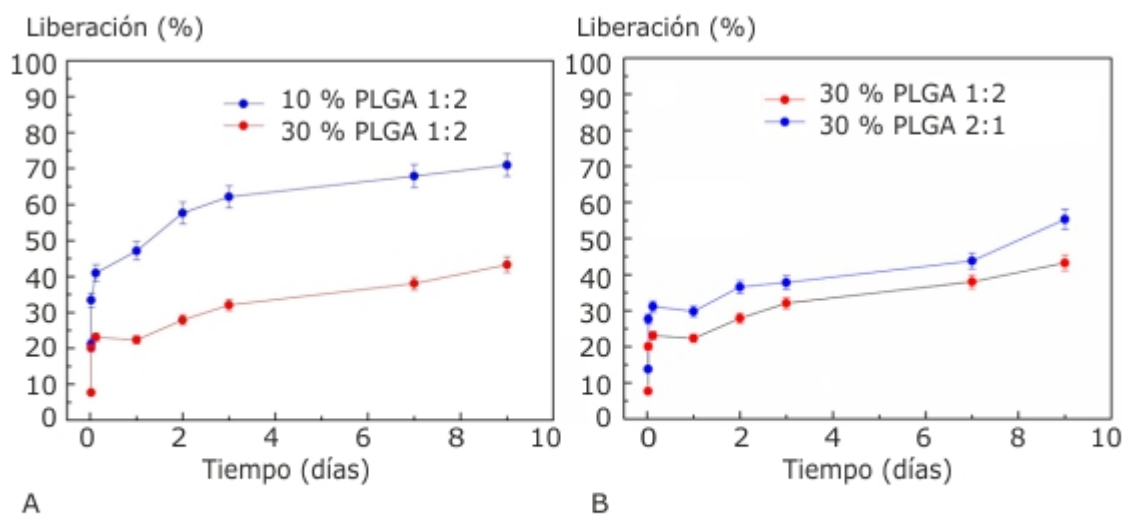


Fig. 1. Fotografía de una emulsión de ISM preparada al 30 % de PLGA en NMP con la proporción fase A/fase B de 2:3.

En la figura 2 (A) se aprecia que para una misma relación entre los volúmenes de disolución polimérica y la fase oleosa, la liberación inicial de risperidona es menor en el sistema que tiene una mayor concentración del polímero. Por otro lado, para una misma concentración de la disolución del polímero (Fig. 2 (B)), a mayor volumen relativo de la fase oleosa, menor es la liberación inicial del fármaco.



Los perfiles de liberación obtenidos para los ISM preparados con los tres aceites diferentes se muestran en la figura 3.

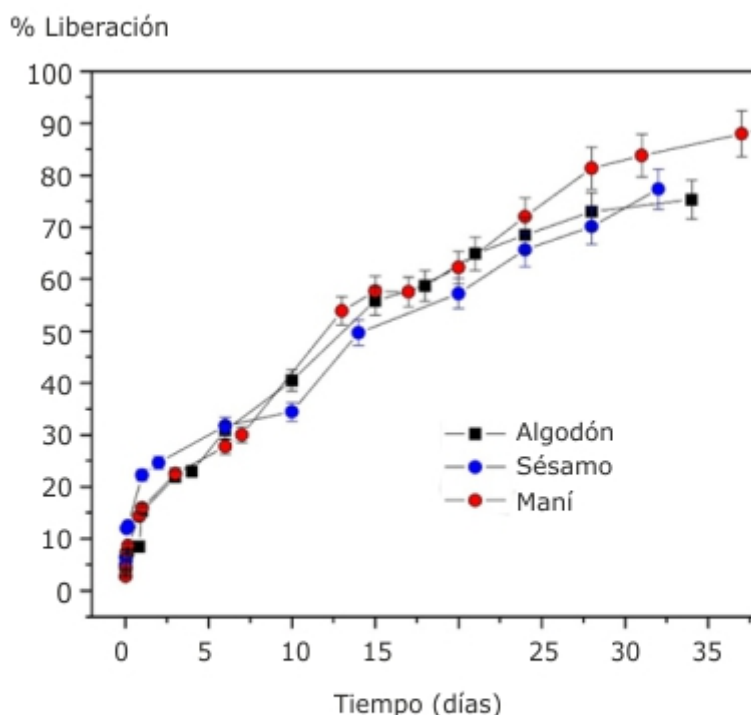


Fig. 3. Perfil de liberación de la risperidona para los ISM obtenido empleándose aceite de algodón, aceite de sésamo y aceite de maní respectivamente como fase oleosa y PLGA al 30 % en NMP como fase polimérica. Proporción fase A/fase B de 2:3.

Para los tres casos ensayados los perfiles se caracterizaron por una pequeña y rápida liberación inicial, seguida de un período de liberación más lento y de velocidad constante. No se observaron grandes diferencias entre los perfiles de liberación obtenidos para los ISM, empleándose cada uno de los tres aceites. Se liberó cerca del 30 % de la risperidona en los primeros diez días del ensayo, alcanzándose alrededor del 70 % de liberación luego de los 30 días de la aplicación *in vitro*.

En la [figura 4](#) se observa que el sistema preparado con PLA exhibe una liberación de risperidona similar al sistema con PLGA durante los primeros 10 días del ensayo. Sin embargo, a tiempos mayores, la liberación por parte del sistema con PLA se produce más lentamente.

En la [figura 5](#) se observa que la liberación de risperidona de un ISM con fase oleosa aceite de maní y como fase polimérica la disolución de PLGA 30 % en NMP, se produce de forma sostenida durante 60 días, en los que se alcanza prácticamente el 100 por ciento de liberación.

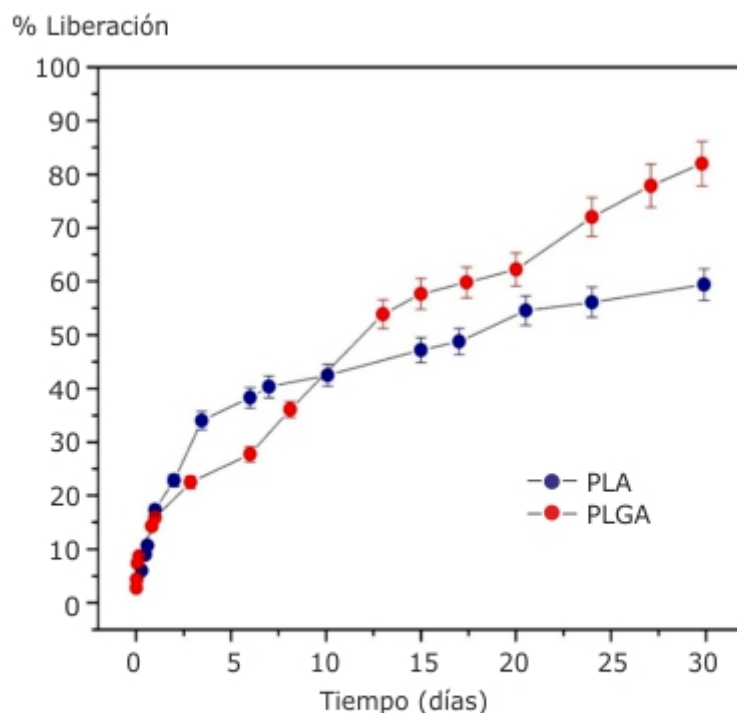


Fig. 4. Perfil de liberación de la risperidona para los ISM obtenido empleando aceite de algodón como fase oleosa y PLGA y PLA al 30 % en N-metil pirrolidona como fase polimérica respectivamente. Proporción fase A/fase B de 2:3.

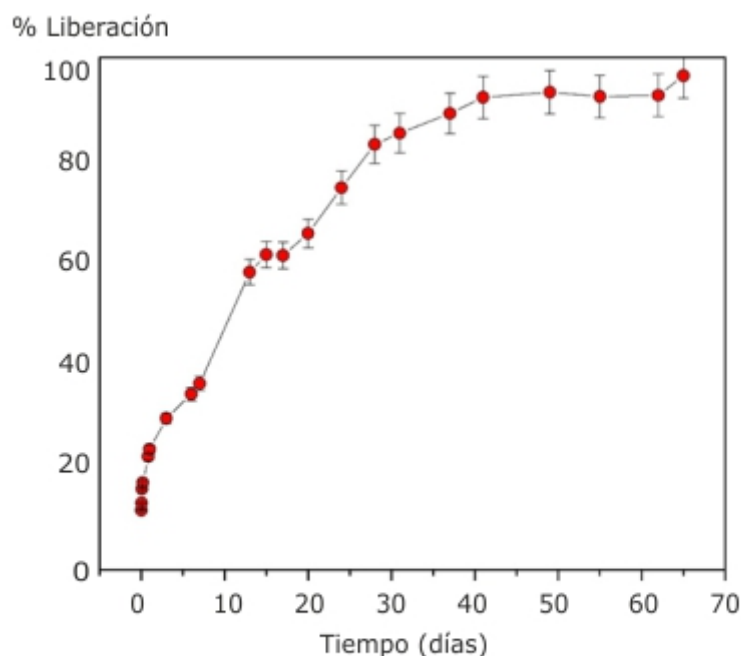


Fig. 5. Perfil de liberación de la risperidona para el ISM obtenido empleándose aceite de maní como fase oleosa y PLGA al 30 % en NMP como fase polimérica. Proporción fase A/fase B de 2:3.

DISCUSIÓN

El sistema de dos jeringas interconectadas empleado para producir la emulsión de la fase polimérica en la fase oleosa permite obtener una buena dispersión, que se manifiesta en la formación de las gotículas de disolución de polímero como se observa en la [figura 1](#). De esta manera, el aceite forma una barrera entre la disolución polimérica donde se encuentra el fármaco y el medio externo. La baja solubilidad del fármaco en el aceite hace que este quede confinado a la fase polimérica interna cuando resulte encapsulado dentro de las micropartículas precipitadas luego de la inyección.¹¹

En la [figura 2](#) se pusieron de manifiesto dos factores importantes a tener en cuenta en la preparación de los ISM. En primer lugar, mientras mayor es la cantidad de polímero empleado para encapsular el fármaco, menor es su liberación inicial (efecto "burst"), debido a que aumenta el tiempo de difusión del fármaco a través de la matriz. Por otro lado, para una misma concentración de polímero en la disolución, al aumentar la proporción de la fase oleosa, también disminuye la velocidad de liberación. Esto se explica porque al solidificar las partículas, el aceite que la rodea constituye una barrera para la difusión del fármaco. Al aumentar la cantidad de aceite aumenta el grosor de esta barrera, con la consecuente disminución de la velocidad de liberación del fármaco al medio.

A partir de estos resultados se decidió continuar trabajando con disoluciones de polímero al 30 % y una relación fase A/fase B de 2:3.

Se pudo apreciar ([Fig. 3](#)) que la naturaleza del aceite empleado no tuvo gran influencia en la liberación de risperidona, aunque sí se observa que en el caso del aceite de sésamo se obtuvo una fase rápida inicial mayor que en los otros dos, mientras que después de los 25 días, el sistema preparado con aceite de maní es el que libera a una mayor velocidad. Entre los factores que pueden incidir en este comportamiento están la porosidad de la superficie de las micropartículas endurecidas y el efecto barrera que produce la fase oleosa externa. Una mayor porosidad de las partículas explicaría la mayor velocidad inicial del sistema con aceite de sésamo, mientras que una mayor difusión del aceite de maní al medio podría justificar la más rápida liberación del fármaco en la etapa final.

El efecto del polímero empleado se aprecia en la [figura 4](#), donde la liberación del fármaco difiere poco en los primeros diez días, a partir de entonces el sistema preparado con PLGA presenta una menor liberación. Esto se explica porque en estos sistemas la liberación del fármaco se produce por dos vías: difusión y degradación del polímero. Debido a su menor hidrofilia, el PLA se degrada por hidrólisis más lentamente que el PLGA,³ lo que trae como consecuencia que a mayores tiempos, la matriz más erosionada del PLGA presente una mayor liberación que la del PLA.

La liberación prolongada de risperidona durante 60 días mostrada en la [figura 5](#) fue alcanzada con PLGA 50:50 (MM 7-17 g/mol). Su y colaboradores prepararon microesferas con risperidona, por la técnica de simple emulsión - evaporación del disolvente utilizando este mismo polímero.¹⁹ El sistema obtenido por estos autores liberó todo el fármaco en un período de 20 días. El hecho de que la formulación preparada en este trabajo consiga una liberación prolongada de risperidona por un período mayor de tiempo puede estar relacionado con el efecto de barrera que ejerce la fase oleosa que rodea a las partículas poliméricas.

Con esta formulación también se logró disminuir la liberación inicial del fármaco, lo cual resulta positivo si se tiene en cuenta que una concentración elevada del fármaco durante las primeras 24 h es perjudicial.²⁰ En este sentido la formulación final evaluada presentó una liberación inicial 2,8 %, similar a la del producto comercial Risperdal Consta[®] que es de 3,5 %. Otra característica importante de esta formulación es que no presenta el período de latencia. Otros autores han obtenido resultados similares y destacan esta característica como una fortaleza con respecto al producto comercial, que debido a esta limitación requiere de la administración oral del fármaco durante este.^{15,20}

Los resultados de este trabajo constituyen un punto de partida para lograr un control adecuado de las diferentes etapas del perfil de liberación de risperidona encapsulada en un sistema de liberación de microesferas formadas *in situ* a partir de la selección adecuada de las principales variables experimentales. Las características de liberación del fármaco alcanzadas con las mejores condiciones evaluadas aquí:

Baja liberación durante las primeras 24 h.
Ausencia de período de latencia y iii) liberación continua de la casi toda la risperidona encapsulada en un período de 60 días, en conjunto con las ventajas que presenta este procedimiento de encapsulación con respecto a la técnica de emulsión - evaporación del disolvente permite concluir que el sistema resulta promisorio para el desarrollo de una formulación de liberación controlada de risperidona de larga duración con potenciales ventajas respecto a la formulación comercial existente.

APOYO FINANCIERO

Centro de Biomateriales de la Universidad de La Habana.

DECLARACIÓN DE CONFLICTOS DE INTERESES

No existen conflictos de intereses.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Niu CH, Chiu YY. FDA perspective on peptide formulation and stability issues. J Pharm Sci. 1998;87:1331.
2. Jain RA. The manufacturing techniques of various drug loaded biodegradable poly(lactide-co-glycolide)(PLGA) devices. Biomaterials. 2000;21(23):2475-90.
3. Makadia HK, Siegel SJ. Poly lactic-co-glycolic acid (PLGA) as biodegradable controlled drug delivery carrier. Polymers (Basel). 2011;3:1377-97.
4. Jalil R, Nixon JR. Microencapsulation using poly(DL-lactic acid)II: Effect of polymer molecular weight on the microcapsule properties. Journal of Microencapsulation. 7(2):245-54.

5. Versypt ANF. Mathematical modeling of drug delivery from autocatalytically degradable PLGA Microspheres - A review. *The AAPS Journal*. 2010;12:27-32.
6. Freitas S, Rudolf B, Merkle HP, Gander B. Flow-through ultrasonic emulsification combined with static micromixing for aseptic production of microspheres by solvent extraction. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2005;61:181-7.
7. Dhakar RC, Maurya SD, Saluja V. From Formulation Variables to Drug Entrapment Efficiency of Microspheres: A Technical Review. *Journal of Drug Delivery & Therapeutics*. 2012;2:128-33.
8. Bao W, Zhou J, Luo J, Wu D. PLGA microspheres with high drug loading and high encapsulation efficiency prepared by a novel solvent evaporation technique. *Journal of Microencapsulation*. 2006;23:471-9.
9. Bodmeier R. *InventorVerfahren zur in-situ Herstellung von Partikeln. Offenlegungsschrift*; 1997.
10. Kranz H, Bodmeier R. A biodegradable in situ forming system for controlled drug release. *Pharm Sci Suppl*. 1998;1:414.
11. Kranz H, Bodmeier R. A novel in situ forming drug delivery system for controlled parenteral drug delivery. *Int J Pharm*. 2007;332:107-14.
12. Jyothi NVN, Prasanna PM, Sakarkar SN, Prabha KS, Ramaiah PS, Srawan GY, et al. Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency. *Journal of microencapsulation*. 2010;27(3):187-97.
13. Prospecto del medicamento. 2016 [citado 17 de Nov de 2016]. Disponible en: http://www.janssencom/argentina/sites/www_janssen_com_argentina/files/product/pdf/risperdal_constar-ccds_feb2009_bipolar_set2010pdf
14. Anta L, Llaudó J, Ayani I, Gorostidi B, Monreal M, Martínez-González J, et al. Pharmacokinetics, safety, and tolerability of four 28-day cycle intramuscular injections for risperidone-ISM 75 mg in patients with schizophrenia: A phase-2 randomized study (PRISMA-2). 24th European Congress of Psychiatry / European Psychiatry. 2016;33S:S114-S289.
15. Su ZX, Shi YN, Teng LS, Li X, Wang LX, Meng QFI. Biodegradable poly(D, L-lactide-co-glycolide) (PLGA) microspheres for sustained release of risperidone: Zero-order release formulation. *Pharmaceutical Development and Technology*. 2011;16:377-84.
16. D'Souza S, Faraj JA, Giovagnoli S, DeLuca. PP. Development of Risperidone PLGA Microspheres. *Journal of Drug Delivery*. 2014;Article ID 620464.
17. An T, Choi J, Kim A, Lee JH, Nam Y, Park J, et al. Sustained release of risperidone from biodegradable microspheres prepared by in-situ suspension-evaporation process. *International Journal of Pharmaceutics*. 2016 [citado 13 de octubre de 2016]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.02.023>

18. Yapar EA, İnal Ö, Özkan Y, Baykara T. Injectable In Situ Forming Microparticles: A Novel Drug Delivery System.. Tropical Journal of Pharmaceutical Research. 2012;11:307-18.
19. Su ZX, Shi YN, Teng LS, Li X, Wang LX, Meng QF, et al. Biodegradable poly(D, L-lactide-co-glycolide) (PLGA) microspheres for sustained release of risperidone: Zero-order release formulation Pharmaceutical Development and Technology. 2011;16:377-84.
20. An T, Choi J, Kim A, Lee J, Ho N, Yoonjin P, et al. Sustained release of risperidone from biodegradable microspheres prepared by in-situ suspension-evaporation process. International Journal of Pharmaceutics. 2016 [citado 3 de junio de 2016]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.02.023>

Recibido: 10 de noviembre de 2016.

Aprobado: 12 de diciembre de 2016.

Carlos Julio Peniche. Centro de Biomateriales (BIOMAT). Universidad de La Habana. La Habana, Cuba.
Correo electrónico: peniche@fq.uh.cu