

## Scaffolds 3D con perfiles de cesión modulables de carvacrol

Concheiro Ángel <sup>\*1</sup>, Farto Vaamonde Xián<sup>1</sup>, Álvarez Lorenzo Carmen<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Farmacología, Farmacia y Tecnología Farmacéutica, I+D Farma (GI-1645), Facultad de Farmacia e Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela (IDIS) (IDIS), Universidade de Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, Spain.

\*Correspondencia: angel.concheiro@usc.es

### 1. Introducción

Uno de los principales riesgos de fracaso de los scaffolds utilizados en medicina regenerativa es la colonización por bacterias. En el momento de la implantación el scaffold se puede contaminar al entrar en contacto con la piel del paciente o puede atraer microorganismos desde focos de infección activos en el paciente aunque cursen en tejidos relativamente alejados. La incorporación de antibióticos como medida profiláctica no resulta aconsejable al poder desencadenar mecanismos de multirresistencia. Esto hace que el uso de antisépticos y sustancias que interfieran en la formación de biofilm esté cobrando un interés creciente [1].

El carvacrol (2-metil-5-(1-metiletil) fenol) es un fenol monoterpénoide natural que se encuentra en los aceites esenciales de especies de orégano, entre otras plantas. Se utiliza como conservante de alimentos, aprobado por la FDA y el Consejo de Europa, dada su capacidad para inhibir el crecimiento de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas [2].

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la posibilidad de incorporar carvacrol en scaffolds de ácido poliláctico (PLA) preparados por impresión 3D y de regular su perfil de cesión. Para ello, se ensayaron dos modos de incorporación de carvacrol: (i) en el filamento antes de la impresión; y (ii) en el scaffold tras la impresión. Se evaluó el efecto de la incorporación de carvacrol en la fidelidad de impresión, en el grado de cristalinidad del PLA y en la velocidad de cesión en medio biorrelevante.

### 2. Materiales y métodos

#### 2.1. Materiales

Filamento de PLA (181 kDa; 1.75 mm diámetro) de Createc3D (Granada, España), carvacrol (Sigma-Aldrich; St. Louis MO, USA).

#### 2.2. Impresión 3D

Se prepararon scaffolds mediante extrusión de filamento fundido utilizando una impresora Regemat3D (Granada, España) y el siguiente diseño: diámetro 10 mm, altura 5 mm, tamaño de poro 0.6 mm, altura de capa 0.35 mm, total de capas 14, y perímetro 1. La temperatura de extrusión fue 220 °C, la velocidad de impresión 1.20 mm/s y el diámetro de boquilla 0.40 mm.

#### 2.3. Incorporación de carvacrol

Porciones de filamento de PLA (12 cm) o de scaffolds se sumergieron en disoluciones de carvacrol al 5 ó 10 % en mezcla metanol:acetato de etilo 50:50 v/v. Se mantuvieron bajo agitación oscilatoria a 37 °C durante 72 h. A continuación, los filamentos y los scaffolds se llevaron a una estufa a 50 °C durante 24 h. El contenido en carvacrol se cuantificó mediante extracción en mezcla metanol:acetato de etilo 50:50 v/v a 37 °C durante dos semanas, y medida de absorbancia a 273 nm (Agilent 8453, Alemania).

#### 2.4. Caracterización de los scaffolds

Se registraron los pesos y las dimensiones de los scaffolds y se tomaron fotos de microscopía electrónica de barrido (FESEM Ultra Plus, Zeiss, Alemania). Las propiedades mecánicas se

evaluaron en ciclos de compresión hasta 20 Kg (TA.XT Plus Texture Analyzer, Surrey, UK). Se registraron los perfiles de cesión de carvacrol en etanol:agua 50:50 v/v (5 mL, 37 °C) bajo agitación, y la cantidad de carvacrol cedido se cuantificó a partir de medidas de absorbancia a 273 nm.

### 3. Resultados y Discusión

#### 3.1. Incorporación de carvacrol

La mezcla metanol:acetato de etilo 50:50 v/v resultó útil para disolver el carvacrol y para provocar el hinchamiento reversible de los filamentos y scaffolds de PLA [3]. De esta manera se pudo incorporar carvacrol tanto en los filamentos antes de imprimir (F.PLA-CAR) como después de obtener los scaffolds (PLA-CAR). Las cantidades cargadas más altas se obtuvieron por inmersión de los scaffolds preformados (Tabla 1), lo que se puede atribuir a la mayor superficie expuesta, en comparación con los filamentos [3].

**Tabla 1.** Carvacrol incorporado en los scaffolds preparados utilizando filamentos de PLA precargados (F.PLA-CAR 10 %) y en los scaffolds que fueron cargados por inmersión en disoluciones de carvacrol al 5 ó al 10 %.

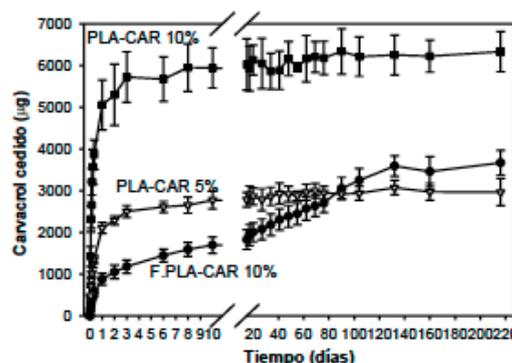
Scaffold	Carvacrol incorporado (mg/g)
F.PLA-CAR 10 %	25.09 ± 0.10
PLA-CAR 5 %	30.00 ± 3.03
PLA-CAR 10 %	45.18 ± 3.88

#### 3.2. Caracterización de los scaffolds

La incorporación de carvacrol en los filamentos no alteró el patrón de impresión y, en todos los casos se obtuvieron scaffolds de dimensiones similares. Las propiedades mecánicas tampoco resultaron afectadas por la incorporación de carvacrol y sólo se observó un ligero aumento del módulo de Young de los scaffolds conteniendo carvacrol en el primer ciclo de compresión con

respecto a los scaffolds no cargados.

Los scaffolds mostraron perfiles de cesión muy diferentes (Fig. 1). Los scaffolds obtenidos por impresión de filamentos precargados sostuvieron la cesión durante 3 meses, mientras que la cesión a partir de los scaffolds cargados después de la impresión fue más rápida y se completó en una semana.



**Fig. 1.** Perfiles de cesión de carvacrol en medio etanol:agua 50:50 v/v a 37 °C.

### 4. Conclusiones

El modo de incorporación de carvacrol en los scaffolds permite modular el perfil de cesión, lo que puede resultar útil para abordar distintos objetivos terapéuticos. Incorporando cantidades similares de carvacrol, los scaffolds preparados a partir de filamentos precargados prolongan la cesión al quedar el carvacrol encapsulado en el PLA durante la impresión. En cambio, los scaffolds cargados post-impresión incorporan el carvacrol en la superficie lo que permite conseguir cesiones más rápidas.

#### Agradecimientos

MINECO [PID2020-113881RB-I00], AEI, Xunta de Galicia [ED431C 2020/17], FEDER. Xíán Farto-Vaamonde agradece un contrato predoctoral de la Xunta de Galicia [ED481A-2018/073].

### References

- Sadowska JM, Genoud KJ, Kelly DJ, O'Brien FJ. Bone biomaterials for overcoming antimicrobial resistance: Advances in non-antibiotic antimicrobial approaches for regeneration of infected osseous tissue. *Materials*. 2021;46:136-54.
- Ahmad A, Elisha IL, van Vuuren S, Viljoen A. Volatile phenolics: A comprehensive review of the anti-infective properties of an important class of essential oil constituents. *Phytochem*. 2021;190:112864.

3. Farto-Vaamonde X, Auriemma G, Aquino RP, Concheiro A, Álvarez-Lorenzo C. Post-manufacture loading of filaments and 3D printed PLA scaffolds with prednisolone and dexamethasone for tissue regeneration applications. *Eur J Pharm Biopharm.* 2019;141:100-10.

Este trabajo debe ser citado como:

Concheiro A, Farto Vaamonde X, Álvarez Lorenzo C. Scaffolds 3D con perfiles de cesión modulables de carvacrol. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):136-8.