

HIDROGELES BIODEGRADABLES A BASE DE CASEÍNA COMO PORTADORES INTELIGENTES DE FÁRMACOS

Julieta Maggi⁽¹⁾, Matias Picchio⁽²⁾, Valeria Garcia⁽³⁾, Roque Minari⁽³⁾, Luis Gugliotta⁽³⁾, Cecilia Alvarez Igarzabal⁽²⁾, Veronica Nicolau^{1*}, Julio C. Cuggino^{1,3*}

Afiliación de los autores:

- 1) Grupo de Polímeros (Gpol), Departamento de Ingeniería Química, Facultad Regional San Francisco, Universidad Tecnológica Nacional, Avda. de la universidad 501, San Francisco (2400), Córdoba, Argentina.
- 2) IPQA-CONICET, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Haya de la Torre y Medina Allende. Ciudad Universitaria. Córdoba (X5000HUA). Argentina
- 3) Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química (INTEC), CONICET-UNL. Güemes 3450. Santa Fe (3000) Argentina.

Mail de contacto: vnicolau@sanfrancisco.utn.edu.ar / juliocuggino@gmail.com

INTRODUCCIÓN

Los hidrogeles son estructuras poliméricas tridimensionales que contienen grupos altamente hidrofílicos que le confieren al material la capacidad de absorber agua u otros fluidos biológicos [1]. Pueden absorber cantidades de entre un 10-20% a miles de veces su peso seco. Normalmente, las redes de hidrogeles son hinchables en agua o fluidos biológicos pero insolubles, debido a la presencia de entrecruzamientos físicos y/o químicos de naturaleza elástica que mantienen las cadenas poliméricas unidas entre sí. La gran capacidad de retención de agua les confiere excelentes propiedades de transporte de moléculas o fármacos y biocompatibilidad con seres vivos, mientras que los entrecruzamientos les dan estabilidad dimensional. Actualmente, los hidrogeles son ampliamente utilizados gracias a su biocompatibilidad, naturaleza inerte, buenas propiedades mecánicas y resistencia química y térmica, siendo particularmente útiles para la liberación modificada de agentes activos. La Farmacopea de los Estados Unidos describe a los sistemas de liberación modificada (SLM) de fármacos como: “aquellos en las cuales se eligen las características de la liberación en el curso del tiempo y/o en la localización para lograr objetivos terapéuticos o de conveniencia que no ofrecen las formas farmacéuticas convencionales”. La ubicación espacial se relaciona con la orientación del fármaco hacia un órgano o tejido específico, mientras que el suministro temporal hace referencia al control de la velocidad con la que se hace llegar al tejido blanco. En otras palabras, una forma farmacéutica convencional, por ejemplo, una cápsula de gelatina rígida o un comprimido, al ser ingeridos, liberan el principio activo en el tracto gastrointestinal en un tiempo corto. Entonces, si se cambia la velocidad, el lugar o el momento de liberación del fármaco una vez administrada la forma farmacéutica, para lograr ventajas terapéuticas o comodidad en la administración, nos encontramos ante un SLM. Por otro lado, en un sistema de liberación inteligente, el fármaco dispersado en el hidrogel sensible, es liberado debido a la

respuesta a un estímulo determinado como pH, temperatura, presencia de enzimas, entre otros. Cambios en la conformación estructural del polímero, como en su volumen de hinchamiento, conducen a una liberación más rápida o más lenta del fármaco. Así, el objetivo de este trabajo fue preparar hidrogeles basados en caseína que tengan un bajo hinchamiento en el estómago pero que se hinchen o degraden inmediatamente después al atravesar al intestino y así liberar el fármaco solo en el sitio deseado.

MÉTODOS

Los siguientes productos químicos se utilizaron como se adquirieron comercialmente: caseína (CAS); carbonato de sodio (Na_2CO_3); agua destilada (H_2O); metacrilato de glicidilo (GMA), persulfato de potasio (KPS), y tetrametiletilendiamina (TEMED).

Para preparar los hidrogeles, primero la caseína fue funcionalizada con dobles enlaces para luego poder ser polimerizada. Así, se disolvió 1 gramo de caseína en 13 mL de agua conteniendo 53 mg Na_2CO_3 , se agitó la mezcla a 200 rpm por una hora a temperatura ambiente. Luego, se adicionó GMA para comenzar el proceso de metacrilación y se dejó reaccionar por 24 horas a temperatura ambiente. Se efectuaron cuatro funcionalizaciones en total, dos con 20% de funcionalización con GMA (0,1 mL de GMA a 25 o 45 °C) y otras dos con 40% de funcionalización con GMA (0,185 mL de GMA a 25 o 45°C). La metacrilación de caseína se verificó por H-RMN.

Para la síntesis de los hidrogeles se pesaron 15 mg de KPS en un tubo de ensayo y se le agregaron 10 ml de la caseína metacrilada obtenida de las diferentes funcionalizaciones; la solución fue agitada para obtener una preparación homogénea. Posteriormente, se agregó 0,1 mL de una solución de TEMED (0,415ml en 5ml de agua destilada) a cada funcionalización y se agitó nuevamente vigorosamente. Inmediatamente después, se tomó esa solución son jeringas previamente identificadas usadas

como reactor y se lo dejó reaccionar por 24 horas a temperatura ambiente. Se sintetizaron 4 hidrogeles nombrados como HG CAS7,5 FUN20-25, HG CAS7,5 FUNC20-45, HG CAS7,5 FUN40-25 y HG CAS7,5 FUN40-45. Posteriormente, se sacaron los HGs de las jeringas para luego cortarlos en discos de 3-5 mm de espesor y lavarlos por 48 h con agua destilada (4 cambios de solvente). Una vez realizado este paso, se procedió a secarlos a temperatura ambiente por una semana. Luego, los hidrogeles fueron caracterizados en base a su grado de hinchamiento en fluido gástrico simulado, SGF; y en fluido intestinal simulado, SIF. El SGF se obtuvo disolviendo cloruro de sodio y ácido clorhídrico concentrado en medio acuoso, obteniendo una solución de pH 1,2. Por otro lado, el SIF se preparó con fosfato monobásico de potasio en agua, agregando hidróxido de sodio o ácido clorhídrico hasta obtener un pH de 6,8. Para determinar los hinchamientos, se pesó aproximadamente 100 mg de hidrogel seco y se colocó en un tubo de centrifuga graduado de plástico. Se adicionaron 10 ml de SGF y se dejó hinchar por 24 horas a 37 °C para simular medio gástrico del estómago, y observar posteriormente el hinchamiento obtenido. De la misma manera, se adicionaron 10 ml de SIF a cada funcionalización simulando el intestino humano. Luego de 24 horas, se pesó el gel hinchado para calcular el peso de la masa hinchada sobre la masa seca (qw). Las mediciones se realizaron por duplicado obteniendo así un promedio de las distintas muestras realizadas. Los valores obtenidos se muestran en la Tabla 1.

RESULTADOS Y DISCUSION

En una primera etapa se realizó la metacrilación de caseína con GMA. La metacrilación fue efectiva como se determinó mediante resonancia magnética nuclear de protones (¹H-RMN). Posteriormente se realizó una polimerización radicalaria en solución de las caseínas metacriladas para obtener los hidrogeles. Todos los hidrogeles preparados se obtuvieron en forma de barra lo que confirmó la efectividad de la reacción de polimerización. La Figura 1 muestra la apariencia de los HG luego de cortados en discos.

Luego de secar los hidrogeles a temperatura ambiente, se determinó el grado de hinchamiento qw en diferentes fluidos simulando las condiciones estomacales (pH 1,2) e intestinales (pH 6,8). Como puede observarse los valores de qw no tuvieron variaciones significativas entre un fluido y otro (Tabla 1). Sin embargo, el hecho que los valores de hinchamiento sean bajos permitiría retardar la liberación de un fármaco desde los hidrogeles en el estómago, aunque posteriormente podría activarse la liberación en el intestino donde la enzima tripsina podría degradar al material basado en caseína, lo cual es altamente deseable.



Figura 1. Imagen de los hidrogeles HG CAS7,5 FUN20-45 en su estado hinchado.

Tabla 1. Valores del qw determinados en diferentes fluidos simulados.

Hidrogel (HG)	qw pH=1,2	qw pH 6,8
HG CAS7,5 FUN20-25	1,5209	1,5925
HG CAS7,5 FUN20-45	2,3146	3,4493
HG CAS7,5 FUN40-25	1,4309	1,5053
HG CAS7,5 FUN40-45	1,3901	1,4635

CONCLUSIONES

Se prepararon hidrogeles biodegradables basados en caseína mediante una metodología simple de polimerización radicalaria en solución previa funcionalización de caseína con doble enlaces. Se pudieron obtener hidrogeles macroscópicos fácilmente manipulables. Los valores de hinchamiento resultaron bajos tanto en SGF como SFI por lo cual los hidrogeles podrían retardar la liberación del fármaco encapsulado en el estómago, pero activar la liberación luego en intestino debido a su degradación por las enzimas intestinales como tripsina. Los hidrogeles preparados tienen potencial para ser utilizados en formulaciones donde se necesite proteger al fármaco del pH estomacal y sea solo absorbido en el intestino. Sin embargo, se continuará estudiando la degradación de estos hidrogeles con enzimas que se encuentren presentes en el estómago como pepsina y en el intestino como pancreatina para poder controlar la liberación de fármacos modelos.

REFERENCIAS

Todd R. Hoare and Daniel S. Kohane. Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges. *Polymer* 2008; 49:1993-2007.