

LIBERACION CONTROLADA DE 5-FLUOROURACILO A TRAVES DE HIDROGELES DE POLIACRILAMIDA CO -ACIDO METACRILICO SINTETIZADA POR TECNICAS DE IRRADIACION GAMMA.

Rapado M¹, Prado S², Padrón S⁵, Salivar D³,
Chong. B.⁴, Sainz D¹, Altanés. S¹.

¹Centro de Estudios Aplicados al Desarrollo Nuclear.

²Instituto Superior de Ciencias y Tecnologías Nucleares.

³Centro de Biomateriales Universidad de La Habana

⁴Facultad de Química. Universidad de La Habana.

⁵*Centro de Investigaciones para el Desarrollo de Medicamentos*

RESUMEN

En el presente trabajo se describen los resultados obtenidos en la inclusión de un citostático (5-Fluorouracilo) en matrices poliméricas (hidrogeles) de poliacrilamida co -Acido metacrílico reticuladas mediante radiación gamma con dosis de 10, 30 y 50 kGy respectivamente a 25 °C. La liberación del fármaco fue seguida mediante HPLC. El comportamiento de la migración del 5-FU desde la matriz polimérica fue analizado mediante la ecuación propuesta por Higuchi para sistemas que tienen estructura planar. Fueron determinados los coeficientes de difusión para estos sistemas; los cuales demostraron tener un comportamiento fickiano.

CONTROLLED 5-FLUOROURACIL RELEASE FROM HYDROGELS OF POLY (ACRYLAMIDE-CO-METACRYLIC ACID) CROSSLINKED BY MEANS OF GAMMA IRRADIATION TECHNIQUES.

ABSTRACT

This report presents the results on entrapped a cytostatic 5-Fluorouracil (5-F) in polymeric matrixes named hydrogels of polyacrilamide co -metacrylic acid crosslinked by means of gamma radiation with doses of 10, 30, and 50 kGy at 25 °C. The drug delivery was followed by HPLC. The behavior of 5-FU migration from polymeric network was analyzed by Higuchi equation for plain structure systems. The diffusion coefficients were obtained and drug release was in accordance with Fickian behavior.

INTRODUCCIÓN.

Los preparados farmacéuticos de liberación convencional se caracterizan por dejar disponible para la absorción una gran cantidad de fármaco en un corto tiempo, generando concentraciones plasmáticas elevadas en los primeros momentos después de su administración, ello puede resultar conveniente cuando lo que se persigue es un inicio rápido de la acción, pero presenta problemas cuando el fármaco tiene un estrecho margen terapéutico, por lo que concentraciones plasmáticas altas, que pueden llegar a concentraciones tóxicas, posibilitando la aparición de efectos adversos. Además, fármacos que tienen una permanencia corta en el organismo son eliminados rápidamente cuando se administran en este tipo de preparados y, en consecuencia, la duración de la acción también es breve¹.

Actualmente se ha puesto atención en el desarrollo de formas de liberación, las cuales modifican la biodisponibilidad de los fármacos en matrices poliméricas denominadas hidrogéles², permitiendo que su liberación sea sostenida o continua durante períodos más prolongados y facilitando el empleo de dosis menores.

El término **hidrogel** se utiliza para denominar a un tipo de material de base polimérica caracterizado por su extraordinaria capacidad para absorber agua sin disolverse en ella. La hidrofiliidad de estos geles es debido a grupos como: -OH, -COOH, -CONH₂, y -SO₃H.³ La utilidad de los hidrogeles como biomaterial radica en la similitud de sus propiedades físicas con las de los tejidos vivos, como son: contenido de agua, consistencia blanda y elástica así como su baja tensión de la interface con el agua o los fluidos biológicos.

Existen diferentes métodos de obtención de los hidrogeles, uno de ellos es la polimerización y reticulación mediante el uso de las radiaciones ionizantes⁴. El empleo de este novedoso método se justifica por una serie de ventajas, en primer lugar la eliminación de sustancias contaminantes usadas en los métodos químicos tradicionales, lo que redundará en una mayor pureza y biocompatibilidad, pueden ser modificados permitiendo variar la velocidad de liberación de los compuestos incluidos, este procedimiento permite inmovilizar enzimas y anticuerpos⁵, hongos, levaduras y células animales permite obtener hidrogeles de diferentes formas y tamaños y como último aspecto, la posibilidad de realizar en un acto simultáneamente la obtención y la esterilización del producto en su envase primario.

El objetivo del presente trabajo consiste en el uso de este nuevo hidrogel basado en copolímeros de acrilamida y ácido metacrílico en la liberación controlada. El fármaco utilizado en este caso es el 5-fluorouracilo. Este último es un fármaco antimetabólico extensivamente empleado en la quimioterapia del cáncer⁵, el cual ha sido objeto de varios estudios de liberación en diferentes hidrogeles⁶, debido a su alta toxicidad lo que provoca un gran número de reacciones secundarias las cuales pueden ser minimizadas a través de este tipo de suministro.

MATERIALES Y MÉTODOS

El fármaco antineoplástico 5-FU (C₄H₃N₂O₂F) fue cedida por el CIDEM en forma de un polvo cristalino con un alto grado de pureza. Se empleó un cromatógrafo líquido de alta resolución KNAUER con software EUROCHRON, para el procesamiento de datos. Como fase móvil se utilizó agua bidestilada y filtrada a través de un filtro con ayuda de vacío, las condiciones fijadas del cromatograma fueron: flujo de fase móvil: 1,0 mL/min. Detector UV a: 266 nm. La sensibilidad del detector: 20 µL. Volumen de inyección: 20 µL. Se empleó el método del estándar externo con una sustancia de referencia. Muestra de referencia: 10 mg de 5-FU, la misma se transfirió a un matraz aforado de 100 mL, se disolvió y se llevó a volumen con agua destilada, de esta solución se pipetearon 5 mL, se transfirieron a un matraz aforado de 50 mL, se disolvió y se llevó a volumen con agua destilada (solución 1).

De esta solución 1 se tomaron las alícuotas necesarias para preparar soluciones comprendidas entre 0,2 y 2 µg/mL.

Para la preparación de la solución de ensayo se tomó una alícuota de la muestra de partida y se inyectó directamente.

La linealidad y el rango se estudiaron de forma simultánea, se prepararon muestras con diferentes niveles de concentración de 5-FU que se comprenden entre 0,5 y 40

µg/mL. Para el estudio de la exactitud se empleó el método de la recuperación, preparando muestras con diferentes concentraciones de 5-FU: 7,5; 9; 10; 11 y 12,5 µL.

Los límites de detección y cuantificación se estimaron a partir de la curva de regresión considerando concentraciones bajas del analito por extrapolación a concentración cero.

Preparación del conjunto polímero - fármaco.

Se tomaron discos de 10, 30 y 50 (kGy) y se embebieron con una solución de 40 mg de 5 - FU disueltos en 10 ml de agua destilada. Se secaron en estufa al vacío a 40°C hasta llevarlos a peso constante.

Estudio de liberación sostenida del 5 - FU por cromatografía de HPLC.

Las matrices embebidas en el citostático se introdujeron en un recipiente de 50 ml llevando a volumen con suero fisiológico (pH = 7,4). De los mismos se extrajeron alicuotas de 1 ml y se llevaron a un volumétricos de 50 ml ,llevando a volumen con suero fisiológico.

El estudio de liberación se realizó durante las primeras 8 horas. En la primera hora se extrajeron alicuotas de 0,8 ml; en la segunda hora de 0,5 ml y a partir de la tercera hora 0,3 ml llevándose a cabo las correspondientes mediciones en el cromatógrafo de HPLC previamente calibrado .

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estudio cinético de la liberación " in vitro " del 5-FU.

El hinchamiento de los discos fue examinado por la influencia tan significativa que tiene este sobre la liberación del fármaco⁷. Para estos estudios se utilizó solución salina como medio fisiológico para poder estudiar el comportamiento del hidrogel en condiciones cercanas a los sistemas *in vivo*.

La figura 1 muestra la curva de calibración del 5-FU obtenida por cromatografía de HPLC.

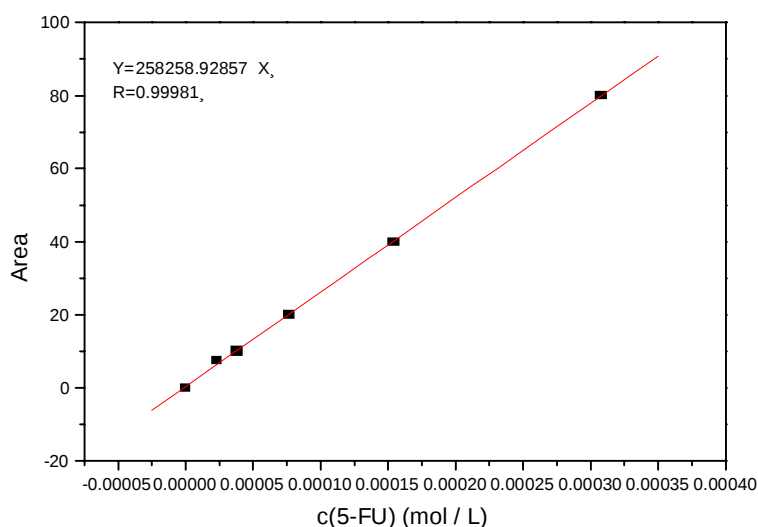


Fig.1 Curva de calibración para el estudio de la cinética de liberación "in vitro" del 5-flúorouracilo.

El perfil de liberación del 5 FU a partir de AA-AM, se muestra en la figura 2 donde la concentración de fármaco acumulado es liberado en función del tiempo .observándose un aumento gradual de la liberación de la droga; con valores que tienden a ser sostenidos para el sistema con valor de dosis adsorbida de 50 kGy.

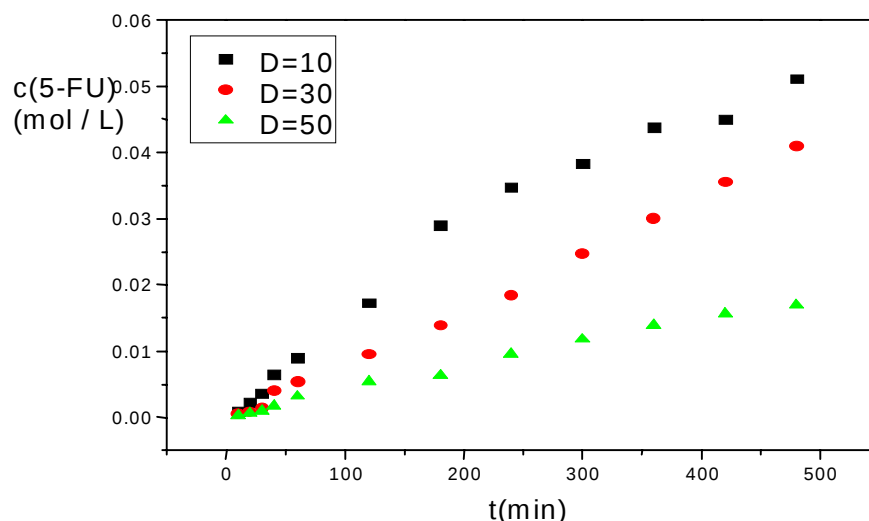


Fig.2 Perfil de liberación del 5-FU en el tiempo para las diferentes dosis de irradiación

El coeficiente de difusión es función de la movilidad de la cadena polimérica, de los tamaños medios de los poros y de la movilidad del solvente en el interior de los geles. La reducción de la movilidad de la cadena polimérica causada por el entrecruzamiento reduce el rango de los tamaños de los poros según reporta Teijón⁷. Nótese que a medida que aumenta el grado de entrecruzamiento, disminuye la liberación del fármaco las cuales resultaron de 16 %, 13 % y 5,6 % para las matrices irradiadas a 10 30 y 50 kGy respectivamente. Estos resultados concuerdan con los valores calculados para los coeficientes de difusión según la tabla 1, observándose que la muestra que más principio activo libera en función del tiempo es la de mayor coeficiente de difusión es decir la matriz reticulada a menor dosis adsorbida (10 kG) a la cual le corresponde un mayor coeficiente de difusión ($D = 1.54 \pm 0.04 \times 10^{-9} \text{ cm}^2/\text{s}$). Comportamientos similares se obtuvieron en trabajos recientes de Saldivar^{8,9} y colaboradores en matrices con la misma composición reticulados por vía térmica empleando iniciadores redox,

Tabla 2 Coeficientes de difusión calculados según la ecuación de Fick.¹⁰

.pH / Dosis (kGy)	Coeficientes de difusión (cm^2/s) $\times 10^9$		
	10	30	50
7.4	1.54 ± 0.04	0.37 ± 0.08	0.27 ± 0.04

El comportamiento de la migración del 5-FU desde la matriz polimérica puede ser analizado mediante la ecuación propuesta por Higuchi¹¹ para sistemas que tienen estructura planar y que tienen en cuenta las siguientes consideraciones:

Contenido de fármaco relativamente bajo ($\leq 5\%$).

Que el agente bioactivo sólido que se encuentra en la capa superficial se disuelve en la matriz polimérica y de esta forma migra al exterior.

Una vez que la capa superficial queda sin soluto comienza la migración a partir del soluto que se encuentra en las capas más profundas. De esta forma la separación que existe entre la región que contiene sólo agente disuelto y la región con el agente dispersado se mueve hacia el interior del sistema como fuente de separación. Con estas consideraciones Higuchi dedujo una ecuación para sistemas que tienen estructura planar :

$$M_t = A (2 D_t C_s C_o)^{1/2} \quad (1)$$

Donde :

M_t : cantidad de soluto que ha migrado en el tiempo t .

A : superficie total de la lámina.

C_s : solubilidad del agente en el polímero.

C_o : concentración total del producto.

La figura muestra la variación de M_t con la raíz cuadrada del tiempo.

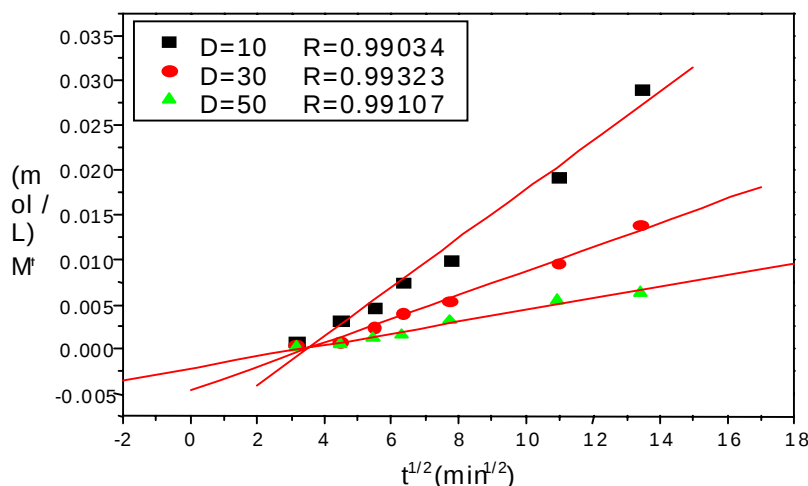


Fig.3 Variación de la concentración del 5-FU contra $t^{1/2}$ según el tratamiento propuesto por Higuchi para las diferentes dosis de irradiación.

Si la difusión es el valor determinante de la velocidad del proceso de liberación, de acuerdo con dicha ecuación la variación de la concentración del fármaco resulta linealmente proporcional a la raíz cuadrada del tiempo. De la gráfica anterior se puede apreciar que la variación de la concentración del fármaco liberado con la raíz cuadrada del tiempo es lineal, lo que demuestra que el proceso está controlado por la difusión.

CONCLUSIONES

1. A medida que aumenta el grado de entrecruzamiento, disminuye la liberación del fármaco en el tiempo.
2. Se demostró que el proceso de liberación del 5 - FU desde hidrogeles de acrilamida y ácido metacrílico, se ajusta al modelo propuesto por Higuchi para superficies planas, lo que indica que el proceso de liberación está gobernado por la difusión.
3. Considerando estos resultados podemos decir que : el haber sintetizado un nuevo copolímero para liberar 5- FU en varios rangos de velocidad regulados por la dosis adsorbida lo hace un sistema candidato para la liberación del 5-FU en implantes *in vivo*.

BIBLIOGRAFÍA

1. P.De Haan P y C.F Lerk., Pharm Weekbl Sci. 6, 57-67 (1984).
2. N. Gonzáles, I. Vadillo Rev. Iberoamericana de Polímeros 1(1): 79-92.sep 1992.
3. M.B. Huglin, M.M.A. Rehab,Polymer, 28, 2200 (1987).
4. J.M. Rosiak Interregional Training course on the applications of the electrons beams on Industry and environment. Warsaw Poland. (1997).
5. SommadosiJ.P.Rapid Catabolism of 5-F I freshly isolated rat hapatocytes as analysed by HPLC.Biol.Chem 1982; 257:8171- 8176.

6. García O. et Ali Influence of degree of crosslinking on 5- fluorouracil release from poly(2 hidroxyetyl metacrylate) Biomaterials 1994 ; 15:618-694.
7. J. M Teijón Cytarabine trapping in poly 9 2-hydroxiethyl methacrylate) Hydrogels:drug delivery studies. Biomaterials 383-387 1997.
8. D. Zaldivar, C. Peniche, A. Gallardo, J. San Román, Biomaterial, Vol 14, # 14 (1993)
9. J. L. Escobar. Tesis de Diploma. La Habana 1997.
10. M Rapado., S Prado, B Chong., D Salivar “Síntesis de hidrogeles de Poliacrilamida Co-Acido metacrílico mediante técnica de irradiación gamma: influencia de la dosis de irradiación sobre el proceso de hinchamiento En.proceso de publicación.
11. T. Higuchi., J. Pharm. Sci 50, 874 (1961).