



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

TRABAJO FIN DE GRADO

TÍTULO: Nuevos sistemas de administración de fármacos sobre la superficie ocular II: “Hidrogeles termosensibles para la administración de fármacos en la superficie ocular”

Autor: Paloma Sánchez Villafranca

Tutor: Irene Bravo Osuna

Convocatoria: Junio 2018

Abstract

El interés de este trabajo, surge por la necesidad de nuevas formas de aplicación sobre la superficie ocular. Las formas de aplicación convencionales, como son las gotas oculares, tienen una serie de inconvenientes tales como por ejemplo la dilución por lagrimeo en el mismo momento de la aplicación que provocan un corto periodo sobre la superficie ocular, el acto reflejo del parpadeo o la baja permeabilidad a través de la córnea que llevan a que la biodisponibilidad ocular de los fármacos por esta vía alcance como máximo un 5%.¹

Además, es una vía de aplicación muy exigente puesto que toda formulación oftálmica debe cumplir una serie de requisitos como son la esterilidad y la biocompatibilidad de los materiales empleados.

Los hidrogeles desde hace ya varias décadas se vienen investigando en distintos campos biomédicos ya que presentan un serie de características óptimas. No en balde, son cada vez más las composiciones basadas en hidrogeles como sistemas de liberación de fármacos que hay comercializados. El sector farmacéutico ha patentado y comercializado distintas composiciones basadas en hidrogeles con aplicaciones como lentes de contacto, apósitos para heridas, sistemas de liberación de fármacos, ingeniería tisular y productos de higiene (pañales, compresas, etc.). Se estima que para 2022 el mercado mundial de los hidrogeles alcanzará un volumen de 27.200 millones de dólares. El I+D es la estrategia clave de las empresas farmacéuticas para expandir su cartera de productos basados en hidrogel.²

Vemos por tanto la elevadísima versatilidad en cuanto a aplicaciones que presentan. Esta versatilidad se debe a sus propiedades ya que se pueden modificar en función del tipo de entrecruzamiento (físico o químico), naturaleza del polímero, agente entrecruzante, tamaño del sistema (hidrogeles, microgeles, nanogeles), etc. Cada vez más, se desarrollan los llamados hidrogeles inteligentes en los que se emplean materiales que a distintos estímulos, como pueden ser cambios de pH, concentración salina o de temperatura experimentan cambios.³

En este trabajo, haremos especial hincapié en los hidrogeles termosensibles, cuyos polímeros responden de forma reversible a cambios sutiles en la temperatura de su alrededor, provocando estos cambios en sus propiedades.

1. Introducción

1.1 El ojo y sus limitaciones en la administración

El ojo, es un órgano muy particular y tiene una anatomía, fisiología y bioquímica compleja que hace que las sustancias activas tengan difícil la penetración en él. Para entender mejor esto, estudiamos la fisiología del ojo, en especial nos fijaremos en la parte anterior del ojo, pues es ahí donde se van a depositar nuestros hidrogeles.

1.2 Anatomía ocular:

En el ojo diferenciamos dos segmentos el anterior y el posterior (*figura 1*).

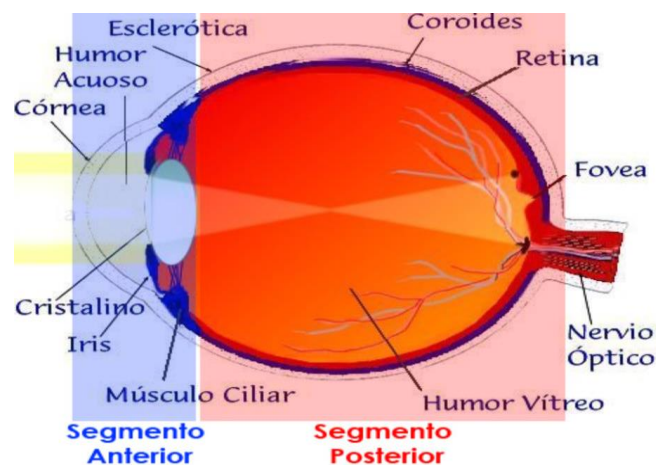


Figura 1. Anatomía del ojo

Fuente: Adler, Fisiología del ojo: aplicación clínica, 9ª ed. Madrid,

A su vez diferenciamos 3 capas concéntricas: la llamada *capa externa* (que incluye a la córnea y la esclera anterior), la *capa media* (incluye iris, cuerpo ciliar y coroides) y *capa interna* (formada por la retina que es la que transforma las señales luminosas en impulsos nervios que nos permiten ver).

La capa externa tiene como fin proteger al ojo y será uno de los retos a los que nos enfrentaremos con la aplicación ocular. Hay que recordar que la córnea, es avascular y que se subdivide en 5 capas (destacamos la estromal, epitelial y endotelial).

La siguiente capa que nos encontramos es la conjuntiva, esta capa produce moco y sustancias lubricantes. Esto lleva a que sea importante su acción en cuanto que provoca una limitación de la penetración del fármaco y favorecerá por tanto la eliminación de la formulación.

Las glándulas lagrimales (*figura 2*) son responsables de producir lágrimas y de que el ojo se drene, a su vez cobran un papel importante en la eliminación de fármacos sobre la superficie ocular.

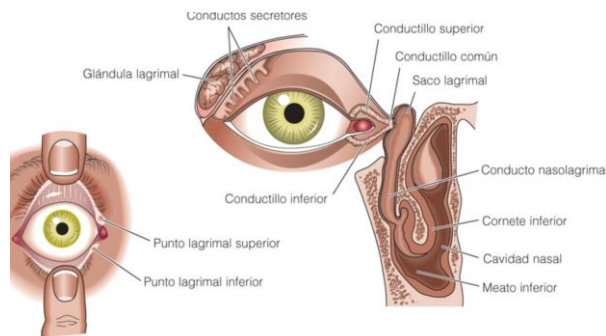


Figura 2. Glándulas lagrimales
 Fuente: P. Riordan E. Cunningham. Oftalmología general McGraw-Hill Education.

1.3 Limitaciones de la administración de fármacos por vía ocular y sus causas:

Sin duda el gran caballo de batalla en estas formulaciones se sitúa en la baja biodisponibilidad por vía tópica ocular, nos encontramos con:

-Secreción de lágrimas que aunque son imprescindibles entre otras cosas para la hidratación y protección del ojo, a la hora de aplicar un fármaco llevan a la dilución de este en un volumen aproximado de 7 μ L (por ojo). Esto hay que tenerlo por tanto en cuenta a la hora de formular y dosificar.

-Drenaje lagrimal, cada 2-3 minutos el contenido lagrimal se renueva esto hace que el tiempo de residencia del fármaco sea muy corto y por tanto se limite su tiempo de penetración. Muchas veces esto se ve influenciado por las características del principio activo y excipientes que queramos administrar. Tenemos que intentar que la formulación no produzca irritación que vamos a administrar porque esto llevaría a una mayor secreción de lágrimas y con ello una mayor dilución. Para evitarlo una estrategia es emplear un pH similar al de las lágrimas, alrededor de 7,4.

-Sistemas tampón que modifican la cantidad de fármaco ionizado y con ello su biodisponibilidad.

-Las secreciones de la conjuntiva (descritas en el apartado 1.1)

-Los impedimentos que provoca la córnea, la capa epi- y endotelial con lípidos y uniones estrechas limitan el paso de moléculas hidrófilas e ionizadas, pero en la capa del estroma corre todo lo contrario, es impermeable a sustancias lipídicas por su alto contenido en agua. Solo moléculas inferiores a 50,000 g/mol van a ser capaces de difundir por esta capa.

-Las uniones estrechas existentes en el epitelio del cuerpo ciliar, en el tejido del iris y en sus vasos sanguíneos van a hacer de barrera limitante al paso de sustancias activas al segmento anterior del ojo.

Hay que tener en cuenta la exigencia en cuanto a requisitos técnicos de estas formulaciones así como la tolerancia por vía ocular, lo que hace que sean necesarios estudios de tolerancia “*in vivo*” o “*in vitro*”. Volvemos a remarcar en este punto por tanto que cualquier producto que vayamos a depositar en la superficie ocular tiene que ser estéril y que esto conlleva trabajar en condiciones asépticas para mantener la formulación en su uso estéril.

2. Objetivos

Los objetivos que perseguimos con este trabajo son:

- a. Exponer las causas de la baja biodisponibilidad ocular y como pueden contribuir los hidrogeles para mejorarla
- b. Analizar las propiedades de los diversos hidrogeles
- c. Valorar la utilidad de los hidrogeles termosensibles

3. Metodología

Para llevar a cabo este trabajo, se ha hecho una revisión bibliográfica durante el periodo de tiempo entre 2002 y 2017 y solo se han aceptado solo aquellas referencias que han sido publicadas durante ese periodo. La información la hemos obtenido de diversas Fuentes científicas: bases de datos online como son PubMed, ResearchGate y Medline y de libros de la biblioteca de las facultades de Farmacia y Medicina de la UCM.

Para facilitar la búsqueda online y obtener resultados concretos que no se desvíen del tema de estudio, se emplearon "palabras clave" como “*Hydrogels*”, “*thermosensitive hydrogels*”, “*chitosan*”, “*in situ forming hydrogels*”, “*ocular delivery*” entre otros.

Una vez consultada toda la bibliografía relacionada con el tema, se procedió a organizarla en función de su contenido con la finalidad de cubrir los objetivos del estudio.

4. Resultados y discusión

4.1 Concepto de hidrogel:

Los hidrogeles se definen como redes poliméricas tridimensionales obtenidas a partir de polímeros hidrófilos, naturales o sintéticos, que pueden absorber y retener una cantidad significativa de agua, es decir, se pueden hinchar los polímeros pero gracias al entrecruzamiento nunca llegan a disolverse.⁴

Se pueden seguir distintas estrategias para obtener hidrogeles con variedad de características y aplicaciones. Una de las principales clasificaciones de los hidrogeles se basa en el tipo de

entrecruzamiento de la red polimérica: distinguimos entre hidrogeles químicos con enlaces covalentes o hidrogeles físicos reticulados por distintos tipos de interacciones más o menos débiles o fuertes (iónicas, hidrofóbicas, enlaces de hidrógeno, etc.).⁵

Es interesante destacar que en estos casos no usamos solventes orgánicos o co-solventes para la reticulación, solo agua. Esto permite que el hidrogel de por sí tenga menor toxicidad y además ni la estructura ni la funcionalidad de los fármacos o macromoléculas que queramos embeber en ellas se vea afectada. Además gracias a eso el proceso de obtención del hidrogel con el cargado del mismo se puede dar a la par.

Uno de los pilares fundamentales del hidrogel son los polímeros que vayamos a emplear. Podemos usar polímeros naturales o polímeros sintéticos. En la siguiente *tabla 1* se recogen las características de cada uno de ellos.

<i>Tabla 1</i>	Polímero natural (tipo polisacárido)	Polímero sintético	Polímero semisintético
Ventaja	formación de hidrogeles biocompatibles, biodegradable y no tóxica	estructura bien definida	biocompatibilidad, baja toxicidad, biodegradables, fáciles de modificar para mejorar sus propiedades
Desventaja	-según la fuente pueden contener patógenos -pueden provocar reacciones inflamatorias	-hay que modificarlos para llegar a una adecuada biodegradación	-modificar para evitar reacciones inflamatorias y mejorar la solubilidad

Nos vamos a enfocar en 2 de estos polímeros⁶ por su relevancia en el campo de aplicación que buscamos uno semisintético, el Quitosano y otro sintético el Polietilenglicol (PEG).

4.2 Quitosano

El quitosano es un aminopolisacárido obtenido por N-desacetilación (en medio básico) de la quitina, que es el segundo polímero más abundante en la naturaleza y forma parte del exoesqueleto de crustáceos, insectos y también aparece en algunos tipos de hongos. Se distingue de otros polisacáridos por la presencia de nitrógeno en su estructura molecular y su carácter catiónico.

Como propiedades generales podríamos decir que el quitosano es una base débil, cuyo pK_a ronda entre 6,2-7. Sólo es soluble en medios acuosos ácidos (pH<6), como soluciones ácidas diluidas de

acético, fórmico, clorhídrico, glutámico y láctico, entre otras, debido a la protonación de los grupos amino del polímero.

Se trata de un polímero lineal compuesto por unidades de D-glucosamina (será la unidad desacetilada D) y N-acetil-D-glucosamina (unidad acetilada A), distribuidas aleatoriamente y unidas por enlaces β - (1-4) (figura 3). El grado de desacetilación se puede expresar en porcentaje como $D/(A+D)$. De este dato sacamos el porcentaje de grupos amino libres en la molécula de quitosano. Este dato nos importa puesto que los grupos aminos libres en medio acuoso ácido se protonan y esto lleva a una mayor hidrofilia y solubilidad y un carácter altamente reactivo. ⁷

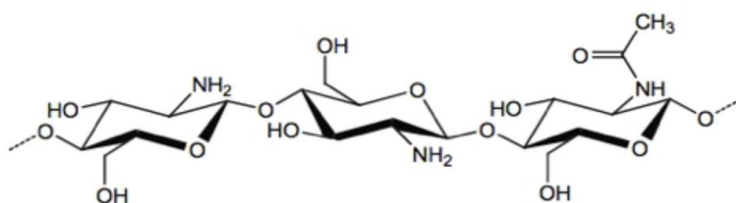


Figura 3 - Estructura química de la unidad de repetición del quitosano

Fuente: Rev. Iberoamericana de Polímero (4), 2003

La importancia del quitosano en este campo biomédico radica en la versatilidad que ofrece su estructura química. Posee un grupo amino, un hidroxilo primario y un hidroxilo secundario. El grupo amino participa en reacciones específicas como la *N*-carboxialquilación, formación de bases de Schiff, sustitución enzimática, cuaternización del grupo amino, aminación reductora (reacción con un aldehído), etc. Así se pueden introducir diversos grupos para diseñar derivados de quitosano con propiedades mejoradas de solubilidad, mucoadhesividad, aumentar la permeabilidad de fármacos, inhibición de la bomba de secreción (como la glicoproteína P), dirigirse a dianas celulares, etc.) ⁸

Concluimos por tanto que presenta propiedades biológicas que lo hacen idóneo para aplicaciones biomédicas, entre las que destacan su biocompatibilidad, biodegradabilidad, baja toxicidad ⁹, citocompatibilidad, mucoadhesividad ¹⁰, actividad hemostática, actividad antiinflamatoria ¹¹, actividad antibacteriana ¹², actividad antifúngica, immunoestimulación, actividad antitumoral, actividad hipolipidémica, actividad cicatrizante de heridas, capacidad para facilitar la absorción de macromoléculas biológicas a través de barreras epiteliales por la apertura transitoria de las uniones estrechas celulares; incluso se le han atribuido propiedades analgésicas.

4.3 Polietilenglicol (PEG)

Este polímero es de amplio uso en biotecnología, y es útil en diversas aplicaciones para administración de fármacos. Es atóxico y no tiende a estimular la respuesta inmune es por ello que es de los pocos polímeros sintéticos que la *Food and Drug Administración* (FDA) admite para su inclusión en productos que van desde alimentos hasta productos farmacéuticos y biomateriales. Es soluble en agua y en muchos disolventes orgánicos.¹³

Desde el punto de vista molecular el PEG es un polímero lineal finalizado en cada extremo con grupos hidroxílicos de forma abreviada ponemos HO-PEG-OH (*figura 4*).

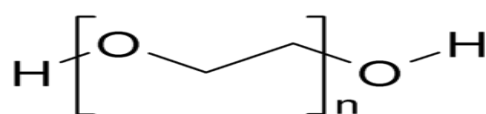


Figura 4-Unidad de repetición del PEG
Fuente: www.polysciences.com

Además, hay que destacar en el que se puede unir de forma covalente a moléculas insolubles haciendo en muchos casos que el conjugado sea soluble. Para poder unir el PEG a una molécula se necesita usar un derivado activado. El grupo hidroxilo situado en el extremo del PEG es activado modificando o reemplazando el grupo con un grupo funcional adecuado para reaccionar con un grupo u otra molécula, que incluye proteínas, superficies, enzimas, y otros.

Un ejemplo de gran interés farmacéutico es por ejemplo el caso del paclitaxel (insoluble en agua) que combinado con PEG pasa a ser soluble en agua.¹⁴

El PEG se usa comúnmente como metoxi-PEG-OH, o mPEG en forma abreviada, en el que un extremo es el grupo metoxi relativamente inerte, mientras que el otro extremo es un grupo hidroxilo susceptible de modificaciones químicas sencillas. $\text{CH}_3\text{O}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_N-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{OH} = \text{mPEG}$

Es de gran interés para este trabajo el desarrollo del mPEG-g-quitosano puesto que responde a los cambios de temperatura, concentración de sal, concentración de solutos y pH.

No podemos olvidar tampoco que el PEG puede ser usado también en sus formas ramificadas preparadas por adición por ejemplo de óxido de etileno a diversos polialcoholes (glicerol, pentaeritritol y sorbitol). En este caso se representarse en forma general como $\text{R}(-\text{PEG}-\text{OH})_N$ en la que R representa la molécula central, que puede incluir glicerol o pentaeritritol, y n representa el número de ramas.

4.3 Tipos de hidrogeles

La clasificación de los hidrogeles atiende a múltiples criterios: tipo de entrecruzamiento, tamaño, sensibilidad a estímulos, carga iónica, degradabilidad, origen de los polímeros y síntesis. A continuación, se describen brevemente las distintas clasificaciones:

Según el tipo de entrecruzamiento, se distinguen hidrogeles reticulados físicamente e hidrogeles reticulados químicamente.

Los hidrogeles físicos son reversibles y están formados por enlaces no covalentes. En cambio, los hidrogeles químicos son más estables e irreversibles y se forman por enlaces covalentes entre las cadenas de polímero.

En función de su tamaño, se pueden distinguir hidrogeles macroscópicos, microgeles o nanohidrogeles.

En función de su sensibilidad a los estímulos, existen hidrogeles no sensibles a estímulos, que se hinchan por absorción de agua sin responder a cambios del ambiente, e hidrogeles sensibles a estímulos o hidrogeles inteligentes que se hinchan en respuesta a alteraciones sutiles del medio ambiente como temperatura, pH, fuerza iónica, luz, campo eléctrico o presencia de biomoléculas.

Atendiendo a la carga, los hidrogeles pueden ser no iónicos, catiónicos, aniónicos y anfóteros, según los grupos funcionales presentes en los polímeros que los constituyen.

Según su degradabilidad, existen hidrogeles biodegradables o no biodegradables. En el campo de la biomedicina los materiales biodegradables son muy útiles ya que no requieren cirugía para su extracción.

En función del origen de los polímeros, como ya se ha explicado, pueden ser naturales o sintéticos. Algunos ejemplos de polímeros naturales son gelatina, quitosano, ácido hialurónico, colágeno, dextrano, alginato, etc.; y de polímeros sintéticos, el ácido metacrílico y sus derivados, ácido acrílico, vinil acetato, N-vinilpirrolidona, etcétera.

Dependiendo del método de preparación, pueden ser homopolímeros, copolímeros o hidrogeles interpenetrados.

Asimismo, la reticulación puede tener lugar en dos condiciones:

- a) “*in vitro*” durante la preparación del hidrogel
- b) “*in vivo*”/ “*in situ*” tras la aplicación en una ubicación precisa en el organismo. ¹⁵

En nuestro caso nos interesara también saber cómo se carga de fármaco en el hidrogel: esto puede darse por atrapamiento posterior a la formación del hidrogel o un cargado “*in situ*”.

4.4 Polímeros termosensibles:

Actualmente se está investigando en la llamada “nueva generación de polímeros” o “polímeros inteligentes” que cambian su estructura y función, en respuesta a estímulos ambientales. Estos estímulos a los que responden son: cambios de temperatura, pH, sustancias químicas y otros estímulos externos.

Nos vamos a centrar en aquellos que responden a cambios con la temperatura , es decir, los hidrogeles termosensibles que no son más que: **formulaciones líquidas de polímeros que “*in situ*” tienen capacidad de gelificar ante cambios de temperatura, lo cual y teniendo en cuenta la biodegradabilidad de los materiales que se emplean, nos hace ver que si cargamos dichos hidrogeles con fármacos podemos obtener una liberación modificada del mismo pero en un sitio de aplicación concreto (como puede ser el ojo).** Estos hidrogeles son capaces de hincharse o deshincharse como resultado de un cambio en la temperatura del fluido circundante.¹⁶

Un sistema ideal termosensible podría ser descrito como una solución con propiedades de flujo similares a las de un líquido a temperatura ambiente que sin embargo debe gelificar a la temperatura corporal con mínima sinéresis. Por otro lado, la carga de fármaco debe lograrse mediante simple mezcla. En caso de estar diseñados para administrarse por vía ocular o parenteral, estos sistemas deberían exhibir un pH cercano a la neutralidad y ser bioabsorbibles y esterilizables.

Dentro de este grupo de materiales encontramos algunos que son de especial interés como son, aquellos que exhiben cambios dramáticos en su comportamiento en solución acuosa a temperaturas próximas a la temperatura del cuerpo. Un ejemplo de estos serían los copolímeros tribloque (que se presentan con el Polaxamer más adelante) puesto que presentan propiedades únicas en solución acuosa como son la biodegradabilidad y biocompatibilidad y pueden ser utilizados como potenciales sistemas portadores de fármacos, especialmente aquellos de naturaleza proteica o poco solubles en agua.

4.5 Ventajas de las matrices poliméricas de formación “*in situ*” para su uso en formulaciones oftálmicas:

-respecto a otros sistemas evitan procesos quirúrgicos de implante que a veces tienen que ser retirados al final del tratamiento

-varios agentes terapéuticos pueden ser incorporados en estos polímeros por simple mezcla

-permiten una aplicación sencilla mejorando la adherencia

-distribución localizada → acción sitio-específica ¹⁷

Son posibles sistemas de liberación para sustancias complejas como son péptidos farmacéuticos, fármacos basados en el ADN. (Gracias a la biotecnología, moléculas como estas están ya disponibles en otras rutas convencionales (no oculares) de administración pero para conseguir una concentración a veces necesitan una dosificación incómoda que lleva al incumplimiento por parte del paciente por eso se investiga en este campo con el objetivo de poder reducir la frecuencia de administración)

-como ventaja comercial e incentivo para la investigación pueden verse como sistemas que ofrecen la posibilidad de extender la validez de patentes de fármacos próximas a caducar

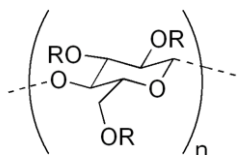
4.6 Tipos de polímeros termosensibles

Al igual que en los hidrogeles convencionales estudiamos los principales polímeros, que nos ayudan a entender las características del hidrogel, en este apartado abordamos los polímeros termosensibles más empleados como son: copolímeros de N-isopropilacrilamida (pNiPAAm) y poli(óxido de etileno)_x poli(óxido de propileno)_y-poli(óxido de etileno)_x (POE-POP- POE)_x y sus copolímeros respectivos. También hay que citar a los polímeros naturales y derivados termosensibles que se han empleado en este campo.

a. Polímeros derivados de la celulosa:

Algunos derivados de la celulosa son una excepción en lo relacionado a los mecanismos de gelificación. A bajas concentraciones (1-10% p/v) dan soluciones estables a bajas temperaturas pero gelifican cuando se empieza a calentar. Metilcelulosa (MC) e Hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) (figura 5) son clásicos ejemplos de este comportamiento. ¹⁸

MC forma un gel entre 40 y 50°C mientras que para HPMC la fase de transición está entre 75 y 90°C, si se realizan modificaciones, como por ejemplo incorporar NaCl a la solución de MC la temperatura de transición se puede disminuir a 32-34°C. A medida que la temperatura se eleva, estos polímeros gradualmente pierden la hidratación, lo cual se ve reflejado en una disminución de la viscosidad relativa. Por el contrario a medida que se va produciendo la deshidratación completa de la macromolécula se observa un aumento de la viscosidad relativa. Este fenómeno de transición sol-gel se ha utilizado para el diseño de los sistemas de gelificación “*in situ*”.



R = H or CH₃ or CH₂CH(OH)CH₃

Figura 5-Hidroxipropilmetilcelulosa

Fuente: www.parmentier.de/gpfneu/english/hpmc.php

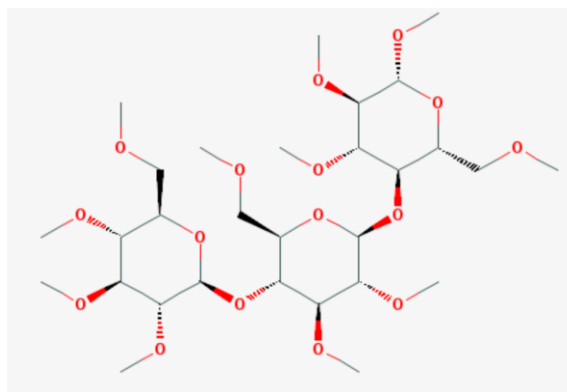


Figura 6-Metilcelulosa

Fuente: www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov

MC (figura 6) forma hidrogeles cuyas propiedades mecánicas, como la rigidez, pueden ser modificadas variando la concentración de la solución, la fuerza iónica y/o peso molecular.

b. Quitosano

De este polímero hemos hablado extensamente en el apartado 4.2 exponiendo sus características entre otras la de alta biodegradabilidad y la baja toxicidad. Solamente recordamos lo ya expuesto que son los últimos avances a los que se han llegado con este polímero en medicina y farmacia. Dichos avances se refieren al diseño membranas termosensibles formadas por quitosano y poli(lactido-co-glicólido) (PLGA) y otros poli(α -hidroxi ácidos), tal como poli(láctido) (PLA) o poli(glicólido) (PGA)¹⁹. La combinación de estos polímeros ha sido utilizada como portador de fármacos, con la posibilidad de liberación prolongada del agente activo. Las moléculas tales como hormonas, esteroides, antibióticos y agentes anticancerígenos han sido las más utilizadas.

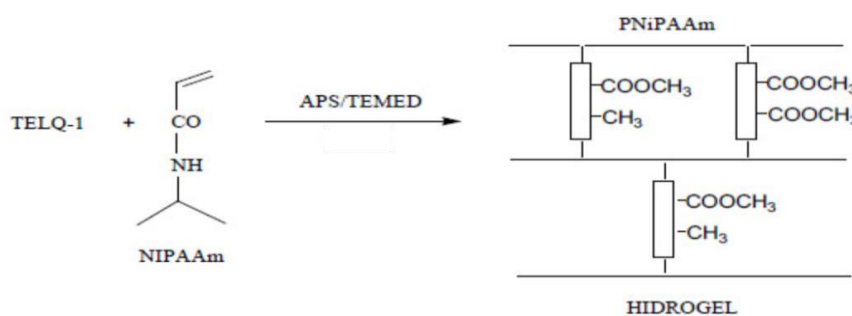


Figura 7-Síntesis del Hidrogel de N-isopropilacrilamida

Fuente: Rev. Sociedad química de Perú (83)

c. Sistemas basados en N-isopropilacrilamida (NIPAAm) (figura 7):

Se trata de un polímero típicamente termosensible cuya temperatura de transición sol-gel esta alrededor de los 32°C, en esta transición se rompen los puentes de Hidrógeno entre el polímero y el

agua y los grupos isopropilo quedan más expuestos. Se trata de una transición de fase reversible, que se da en un margen estrecho de temperatura. Durante la transición se da un cambio de volumen significativo. Por encima de los 33°C la solución acuosa se vuelve opalescente (brillante y translúcida), debido al reordenamiento de las cadenas de pNIPAAm. Podemos con esto decir, que por debajo de los 32°C, presenta un comportamiento hidrófilo que cambia a un comportamiento hidrofobo por encima de 33°C.

La copolimerización de pNIPAAm con monómeros más hidrófilos, como por ejemplo con ácido acrílico (AAC) o acrilamida (AAM), permite obtener un valor temperatura de gelificación (Tgel) cercano a la temperatura fisiológica. La Tgel del polímero debe ser ligeramente inferior a la temperatura corporal para alcanzar las propiedades requeridas como sistema portador de fármacos. Esto puede lograrse monitorizando la copolimerización de pNIPAAm con monómeros hidrófilos. Existen diversas aplicaciones de acuerdo a las combinaciones de pNIPAAm con diferentes monómeros hidrófilos, tales como AAC, AAM, *N*-vinil-2,2-pirrolidona y *N*-metil acrilamida.²⁰

Entre los avances más destacables en el campo que nos interesa, no podemos pasar por alto el desarrollo de un nuevo gel termosensible preparado "in situ" que consiste en la copolimerización de pNIPAAm con quitosano (pNIPAAm/ CH). Este copolímero tiene una Tgel de 32°C, correspondiente a la temperatura de la superficie ocular. A esta solución se le ha añadido maleato de timolol consiguiéndose una concentración de 11,2 µg/ml en el humor acuoso lo que supone una concentración dos veces mayor que la se consigue con la misma dosis de maleato timolol con una preparación convencional. Por tanto estos geles de pNIPAAm/CH con maleato de presentan mayor biodisponibilidad que las formulas convencionales. Además, tiene una mayor capacidad para reducir la presión intraocular (PIO) que el de la formulación comercial, con ello permite disminuir la administración del fármaco en el tratamiento del glaucoma a 1 aplicación diaria. Recientemente fue comercializado en los EEUU bajo el nombre de Timoptic-XE®.²¹

d. Poloxamer (Pluronic®):

Los polímeros sintéticos también son materiales ampliamente utilizados en sistemas de administración de fármacos y otras moléculas bioactivas como fragmentos de ADN.

Un ejemplo importante y prometedor de este tipo de materiales son los copolímeros tribloque también conocidos como Pluronic® o Poloxamer, que tienen un comportamiento termorreversible en soluciones acuosas.

Estos copolímeros están formados por bloques de óxido de etileno (OE) y óxido de propileno (OP) dispuestos en una estructura básica A-B-A: OEx-OPy-OEx. (Figura 8)

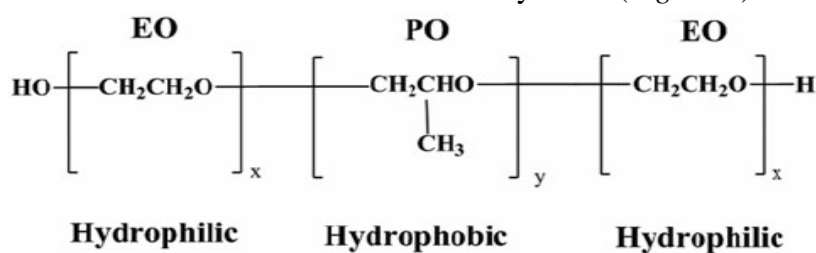


Figura 8-Poloxamer
Fuente: www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov

Esta disposición da lugar a un copolímero anfifílico, donde el número de unidades hidrófilas OE (x) y las unidades hidrófobas OP (y) puede ser modificado. Vemos por tanto que puede presentar variaciones en su composición sin embargo, haciendo ajustes en la composición, PM y la concentración de componentes, la gelificación reversible se puede dar a temperatura y pH fisiológicos.²²

Lo que distingue a este Poloxamer de otros polímeros sintéticos es la capacidad de que cada molécula de copolímero se puede autoensamblar y formar micelas en solución acuosa. Las micelas de Poloxamer son comúnmente representadas como esferas compuestas de un núcleo de OP y una corona de OE. El proceso de transferencia de compuestos insolubles en agua al núcleo de OP en la solución micelar es conocido como “solubilización”. El núcleo formado por las cadenas de OP es un compartimento incompatible con el agua, que está separado desde el exterior por la corona acuosa hidrófila de las cadenas de OE, formando un “compartimento de carga” capaz de incorporar muchos agentes biológicos.

En los últimos años, las micelas de Poloxamer, cargadas con fármacos solubilizados de bajo peso molecular y polipéptidos, han sido activamente investigadas como posibles sistemas de administración de fármacos. Tras las investigaciones hechas con las micelas de Poloxamer (figura

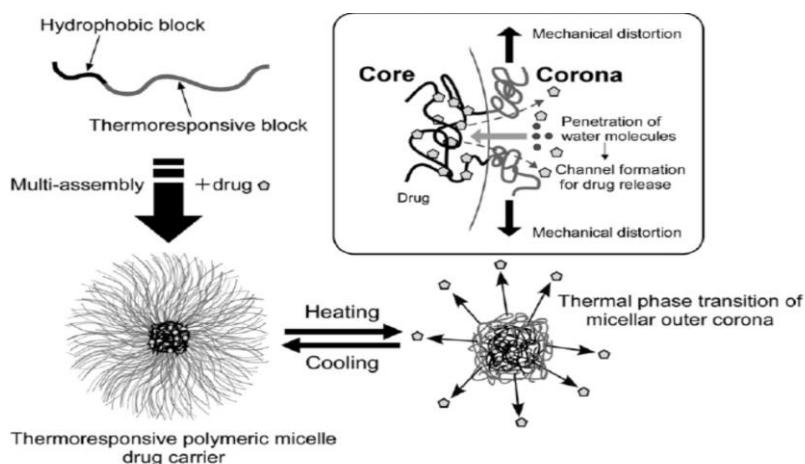


Figura 9-Formación de las micelas de Poloxamer, carga de fármacos y liberación de estos
Fuente: www.researchgate.net

9) cargadas con fármacos y polipéptidos, se ha llegado a la conclusión de que se pueden utilizar como portadores eficaces de compuestos con baja solubilidad, farmacocinética indeseable y baja estabilidad en un entorno fisiológico. Se ha investigado con estos copolímeros en las vías: ocular²³ vaginal, rectal, transdérmica y parenteral.

A temperatura ambiente (25°C), sus soluciones se comportan como un líquido viscoso móvil, mientras que se ven como un gel transparente semi-sólido a temperatura corporal (37°C). Las desventajas potenciales de los geles de Poloxamer son su baja resistencia mecánica y la rápida erosión (es decir, la disolución de la superficie).

4.7 Estudios sobre los avances y usos de estos materiales en materia ocular

-Estudios con el Poloxamer:

1. Destacamos el estudio realizado en 2008 por Mansour M. en colaboración con Mansour S, Mortada ND, en la universidad del Cairo Ain Shams²⁴

En dicho estudio, se desarrollaron formulaciones de gelificación "*in situ*" con poloxamer de hidrocloreto de ciprofloxacino, antibiótico típicamente usado en colirios para el tratamiento de conjuntivitis y úlceras corneales. El objetivo de estas nuevas investigaciones era encontrar fórmulas que aumentaran el tiempo de contacto con la córnea, permitieran un mejor control de la liberación del fármaco, una mayor biodisponibilidad ocular y aumentar el cumplimiento del paciente.

Las formulaciones se desarrollaron a partir de diferentes concentraciones de poloxámero 407 (P407) y poloxámero 188 (P188) a estos se adicionaron otros polímeros con capacidad mucoadhesiva como HPMC o hidroxietil celulosa (HEC). Dichas formulaciones fueron evaluadas en los siguientes aspectos: liberación del fármaco "*in vitro*", temperatura de transición sol-gel, comportamiento reológico y fuerza de mucoadhesión. La eficacia antimicrobiana de estas formulaciones gelificantes "*in situ*" se evaluó "*in vivo*" en ojos de conejo infectados y se comparó con las gotas convencionales comercializadas.

Resultados obtenidos: Se observaron temperaturas de gelificación según las formulaciones de entre 28-34 °C. A medida que se aumentaban las concentraciones de P407, HPMC y HEC aumentaban la viscosidad y la fuerza de mucoadhesión de las preparaciones y disminuía la velocidad de liberación de fármaco *in-vitro*. Se evidenció que el hidrocloreto de ciprofloxacino en formulaciones de gel compuestas de P407 / P188 / HPMC (18/13 / 1.5%, peso / peso), y P407 / P188 / HEC (18/13 / 0.5%, peso / peso) mostraba una liberación y mucoadhesión óptimas propiedades y

biodisponibilidad ocular mejorada y por tanto se obtendría una respuesta terapéutica mejorada en comparación con las gotas oculares convencionales comercializadas.

2. Los laboratorios Thea también han desarrollado varios productos de higiene ocular con Polaxamer tales como Lephagel®, que es un gel estéril indicado para una limpieza mecánica y suave de los párpados sensibles y/o con una tendencia atópica, irritados y/o lesionados. Gracias a su contenido en Polaxamer 188 emulsifica, solubiliza y elimina suavemente las serosidades mucosas de los párpados (mucosidades, costras y escamas en la raíz de las pestañas) permitiendo una mejor adherencia del gel pero sin dejar residuos pegajosos o grasos y respetando el pH y la hidratación oculares.
3. Angela Fabiano junto con Ranieri Bizzarri e Ylenia Zambito investigadoras de la facultad de farmacia de Pisa y junto con el Instituto de Nanociencia CNR (CNR-NANO) Italiano han llevado a cabo un estudio sobre hidrogeles termosensibles basados en quitosano y derivados que contienen nanopartículas para la administración transcorneal de 5-fluorouracilo (5-FU).

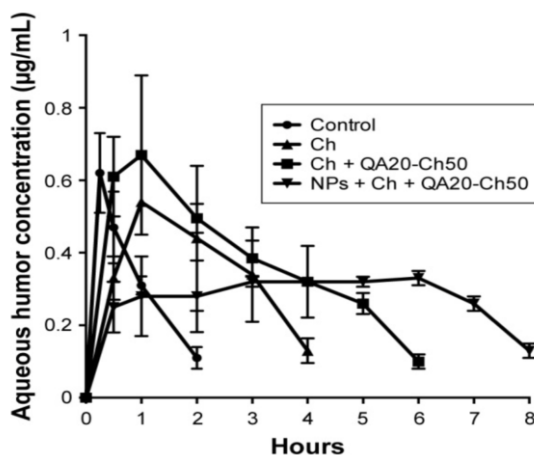
Es interesante el enfoque de este estudio ya que combina las características de un hidrogel termosensible con las de las nanopartículas (NP) para promover la penetración transcorneal de 5-fluorouracilo (5-FU).²⁶ Antes de abordar el contenido del estudio es conveniente aclarar que la retina no posee ningún sistema linfático o angiogénesis, por lo que esta parte del ojo tiene características similares a un tumor sólido con mayor permeabilidad y efectos de retención. Siempre que se administra un medicamento a través de la nanotecnología los objetivos que se persiguen son a) mejorar permeación del fármaco, b) controlar la liberación del fármaco, y c) dirigir el fármaco.

Además hemos visto a lo largo del trabajo desarrollado que el uso de hidrogeles que se forman “*in situ*” que se administran como colirios y gelifican de forma inmediata cuando están en contacto con el ojo evitan gran parte de los problemas “típicos” de la administración ocular y que con esto se consigue mejorar la biodisponibilidad ocular. En este estudio los hidrogeles empleados sufren la transición de fase en el fondo de saco ocular para formar geles viscoelásticos. Aclarado esto se llega a la conclusión de que dicho sistema tenía que ser líquido a temperaturas manejablemente bajas, experimentar una gelificación inmediata cuando estaba en contacto con la temperatura fisiológica del ojo, y ser adecuado para la administración *in vivo* a conejos por ello antes de llevar a cabo estos estudios “*in vivo*”, se llevaron a cabo estudios “*in vitro*”. Se escogió este fármaco como modelo ya que es el fármaco más usado en cánceres oculares.

Se consiguieron desarrollar hidrogeles termosensibles fluidos partir de una temperatura de 4°C y que gelificaban a temperaturas oculares de 35°C .Estas formulaciones se prepararon por gelificación de una solución de hidrocloreto de quitosano (ChHCl) a una concentración de 27.8 mg/mL a la que se le incluía 5-FU a una concentración de 1.25 mg/mL y β-glicerofosfato 0.8 mg/mL. A lo largo del estudio el quitosano fue reemplazando parcialmente (10%, 15% o 20%) por conjugados de amonio cuaternario-quitosano (QA-Ch) o derivados tiolados de los mismos para ver como conseguían modularse así las propiedades de liberación de 5-FU. Además en estos hidrogeles termosensibles, se adicionaron las nanopartículas basadas en quitosano (NPs adquirieron tamaños 341.5 ± 15.2 nm tras los procesos de liofilización y redispersión), dichas nanopartículas fueron cargadas con 1.25 mg/ml de 5-FU preparado por entrecruzamiento ionotrópico de quitosano con hialuronano.

Los resultados mostraron que la unión de 5-FU a los polímeros de hidrogel termosensible en el estado sol fue máxima con quitosano simple (31,4%) y que a medida a medida que aumentaba la presencia de amonio cuaternario en la mezcla de polímeros el grado de unión disminuía. La liberación de 5-FU(con o sin nanopartículas) respecto a \sqrt{t} en estos hidrogeles se controlaba por difusión lineal .

Los polímeros se compararon en base a su difusividad mediante la comparación de las pendientes de las parcelas \sqrt{t} . Se mostró que a medida que contenían NP disminuía la difusividad, el caso más marcado fue el del hidrogel en el cual el quitosano se reemplazó en un 20% el derivado de amonio cuaternario quitosano50 (QA-Ch50). Esta formulación y la que no contiene NP se dosificaron en ojos de conejos en los que se midió la penetración transcorneal de 5-FU analizando el humor acuoso. Ambas soluciones de hidrogel termosensible aumentaron el área bajo la curva (AUC o biodisponibilidad en magnitud) (tomando como referencia los tiempos entre las 0-8h), 3,5 veces en



Pharmacokinetic data obtained in vivo in rabbit eyes

Formulation	C _{max} , µg/mL	T _{max} , hours	AUC ₀₋₈ , µg-h/mL	AUC _{rel}
Control	0.62±0.11	0.25	0.62±0.1	–
Ch	0.54±0.01	1	1.42±0.38*	2.3
Ch + QA20-Ch50	0.67±0.22	1	2.32±0.36*	3.7
NPs + Ch + QA20-Ch50	–	–	2.23±0.39*	3.6

Note:
*P<0.05.

Figura 10 - Comparación de las distintas farmacocinéticas obtenidas de las formulaciones experimentales en relación a la fórmula convencional, marcada como control. Obtención de datos en el humor acuoso tras la administración in-vivo en ojos de conejo. Fuente: Int. Journal of nanomedicine 2017;12:633–643 ²⁵

comparación con las gotas oculares simples. También mostraron diferencias en cuanto a la concentración máxima (biodisponibilidad en velocidad) que alcanzaban: en la formulación sin nanopartículas la concentración máxima fue de aproximadamente $0,65 \mu\text{g} / \text{ml}$, este pico de concentración mostraba una disminución lenta posteriormente; sin embargo, la que sí contenía NP mostraba una meseta de concentración sostenida desde las 0,5h-7h con un valor $0.25-0.3\mu\text{g} / \text{mL}$. (figura 10)

Finalmente se concluye que las variaciones son atribuibles a que el hidrogel controla la liberación del fármaco siguiendo una cinética de orden cero y las NP tienen que ser internalizadas por las células de la córnea para permitir la liberación. El aumento de la biodisponibilidad en el humor acuoso de 5-FU de estas nuevas formulaciones queda demostrado tras los experimentos “*in vivo*” en ojos de conejo. Esto lleva a abrir nuevas líneas de investigación, por la unión favorable de las NP con los hidrogeles termosensibles, con las que se pretende obtener formulaciones de liberación sostenida eficaces para aplicación oftálmica.

5-Conclusiones finales:

Los sistemas convencionales de liberación de fármacos a nivel ocular son en muchos casos ineficaces debido a la estructura única que presenta el ojo, esto supone un desafío en el ámbito científico. Más del 90% de las formulaciones oftálmicas comercializadas se producen en forma de colirios, que se eliminan del ojo por varios mecanismos, como lagrimeo, dilución de lágrimas y renovación, lo que resulta en una baja biodisponibilidad ocular de los fármacos.

Se está investigado en este campo, con el objetivo de obtener liberaciones sostenidas de las moléculas activas en el sitio deseado que se puedan administrar tanto en el tratamiento de enfermedades que afectan los segmentos anteriores como posterior del ojo.

Como se mostró, los hidrogeles se pueden obtener a partir de una gran variedad de polímeros y copolímeros combinando así propiedades que resulten en hidrogeles con mejores propiedades para aplicaciones particulares. Desde la síntesis se pueden determinar los factores más influyentes en una liberación controlada de fármacos: la velocidad de difusión, el volumen que se administra, el tiempo que dura y el estímulo que inicia la liberación. Estos cuatro puntos adecuadamente controlados en un hidrogel, prácticamente pueden garantizar que el fármaco sea administrado en la cantidad que se necesita (por el volumen cargado en la matriz polimérica), en el punto específico (por la respuesta ante un estímulo químico, físico o eléctrico), en las concentraciones óptimas de

eficacia (por la velocidad de difusión) y por el tiempo del tratamiento (al considerar las tres características anteriores: estímulo, velocidad y volumen).

La experiencia de más de cuatro décadas de investigación en el área de los hidrogeles, desde los pioneros descubrimientos de Wichterle y Limm (1960), hasta los trabajos actuales, han demostrado repetidamente que los hidrogeles son uno de los materiales más atractivos en el campo médico por su alta biocompatibilidad, su insolubilidad en agua, su carácter hidrófilo, su capacidad de hinchamiento y estado de equilibrio hinchado. Estas características sumadas al descubrimiento de su capacidad para cambiar su conformación (y por tanto sus propiedades físico- químicas) al ser estimulados externamente, manifiestan una gran potencialidad de estos materiales para ser empleados como sistemas de liberación controlada de fármacos en los diferentes tejidos del cuerpo humano.

Los avances próximos que esperamos en este área son la combinación de las nuevas técnicas en hidrogeles unidos a los avances en bionanotecnología. Ya se empiezan a ver los primeros estudios en este área y parecen mostrar que serán una de las áreas biomédicas de mayor promoción. Más allá de estos avances, los hidrogeles y en especial los “inteligentes” parecen ser útiles para formular una amplia variedad de agentes terapéuticos difíciles de vehiculizar en sistemas tradicionales, tales como ADN, proteínas y fármacos insolubles en agua o altamente tóxicos.

Referencias bibliográficas

1-R.Herrero-Vanrell, M.Vicario de la Torre, V. Andrés -Guerrero, D.Barbosa-Alfaro, I.Bravo Osuna. Nano and microtechnologies for ophthalmic administration, an overview. J.Drug.Del. Sci.Tech.2013, 23(2)75-102

2-Caló E., Khutoryanskiy V.V. Biomedical applications of hydrogels: A review of patents and commercial products. Eur. Polym.J. 2015; 65: 252- 267

3-Tsao CT, Hsiao MH, Zhang MY, Levengood SL, Zhang M. Chitosan-PEG Hydrogel with Sol–Gel Transition by Multiple External Stimuli. Macromol Rapid Commun 2015(36): 332–338

4,5-Ramón Matinez Pacheco.Tratado de Tecnología Farmacéutica Vol.1 , ed.España: Síntesis;2016 p.219 -222

6-Escalona Rayo O., Quintanar Guerrero D.; Nanogeles poliméricos: una nueva alternativa para la administración de fármacos. Mex. Cienc. Farm. 2014; 45: 17- 38.

7,8-Rinaudo M. Chitin and chitosan: Properties and applications. Prog Polym Sci 2006(31): 603- 632.

- 9-Vande Vord P.J., Matthew H.W., De Silva S.P., Mayton L., Wu B., Wooley P.H; Evaluation of the biocompatibility of a chitosan scaffold in mice. *J. Biomed. Mater. Res.* 2002; 59 (3): 585- 590.
- 10-Kean T., Thanou M. Biodegradation, biodistribution and toxicity of chitosan. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2010; 62 (1): 3- 11.
- 11-Sogias I.A., Williams A.C., Khutoryanskiy V.V. Why is chitosan mucoadhesive? *Biomacromol.* 2008,9 (7): 1837- 1842.
- 12-Jan S.S., Liu D.C., Dong X.Y., Hu Y.M., Chen J.D. Effects of chitosan and its derivative added to water on immunological enhancement and disease control. *Immunotherapy* 2012, 4 (7): 697- 701.
- 13- Harris, J., Milton. Traducción de patente europea Hidrogeles de polietilenglicol degradables con semivida controlada y precursores de los mismos. Oficina española de Marcas y patentes (Internet) 2017 (2) 281 925 disponible en: http://www.espatentes.com/pdf/2281925_t3.pdf
- 14-Greenwald, Pendri y Bolikal; *J. Org. Chem.*, 1995, 60, 331-336
- 15- Zavan B., Cortivo R., Abatangelo G. Hydrogels and Tissue Engineering. *Hydrogels. Biological properties and Applications.* ed. Mailand: Springer- Verlag, 2009, 1- 8
- 16-Almeida H, Amaral MH, Lobão P, Sousa Lobo JM .Applications of poloxamers in ophthalmic pharmaceutical formulations: an overview. *Expert Opin Drug Deliv.* 2013, 1223-37
- 17-Tipton, A.J.; Dunn, R.L. In situ gelling systems, in: *Sustained Release Injectable Products.* J.H. Senior, M. Radomsky ,(eds). Ed: Denver Interpharm Press, 2000, 71–102
- 18-Sarkar, N. Thermal gelation properties of methyl and hydroxypropyl methylcellulose. *J. Appl. Polym. Sci.*, 1979, 24, 1073-1087
- 19-Muzzarelli, R.A.A. Chitins and chitosans for the repair of wounded skin, nerve, cartilage and bone. *Carbohyd. Polym.*, 2009, 76, 167-182.
- 20-José M. Bermudez, Daniela Quinteros, Maria V. Virgili, Daniel Allemandi y Santiago Palma *Pharmaceutical Technology.* Edición Sudamericana 2012 N.119,23
- 21-Álvarez Lorenzo C, Conchero Nine A. Hidrogeles y Polímeros sensibles a estímulos. Una herramienta eficaz en la terapéutica ocular. (Internet) *Soc Esp oftalmología* 2002 (1) disponible en: <http://www.oftalmo.com/seo/archivos/articulo.php?idSolicitud=959&numR=1&mesR=1&anioR=2002&idR=54>
- 22-Kwon, G.S.; Okano, T. Soluble self-assembled block copolymers for drug delivery, *Pharm Res*, 1999, 16 (5) 597–600.
- 23-El-Kamel, A.H. In vitro and in vivo evaluation of Pluronic based ocular delivery system for timolol maleate. *Int J Pharm*, 2002, 241, 47–55
- 24-(Abstract) Mansour M., Mansour S, Mortada ND, Abd Elhady SS. Ocular poloxamer-based ciprofloxacin hydrochloride in situ forming gels. *Drug Dev Ind Pharm.* 2008, 744-752
- 25-Angela F., Ranieri B., and Y. Zambito. Thermosensitive hydrogel based on chitosan and its derivatives containing medicated nanoparticles for transcorneal administration of 5-fluorouracil. *Int J nanomedicine.* (Internet) 2017; 12:633–643; disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25522283>