

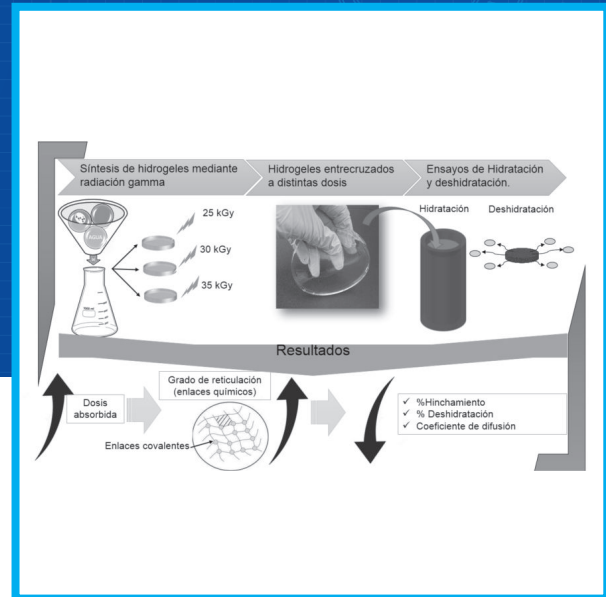
Análisis de la Cinética de Difusión en Hidrogeles sintetizados mediante Radiación Gamma

Paola Andrea Bustamante¹, Natalia Santoro², Nazarena Ciavaro², María Carolina Anessi¹

1. Laboratorio de Biotecnología. Departamento Procesos por Radiación. Centro Atómico Ezeiza. CP (B1802AYA).

2. Laboratorio de Materiales Poliméricos. Departamento Procesos por Radiación. Centro Atómico Ezeiza. CP (B1802AYA).

Contacto: pbustamante@cnea.gob.ar



RESUMEN

Los hidrogeles son redes poliméricas entrecruzadas que tienen la capacidad de modificar su volumen dependiendo de su entorno. Tienen una gran variedad de aplicaciones, una de ellas es como sistema de liberación de drogas el cual involucra la hidratación y deshidratación del material. Por ello, en este trabajo se realizó un análisis de la cinética y de los mecanismos de difusión que ocurren en los hidrogeles durante estos procesos. Los hidrogeles fueron elaborados mediante el uso de radiación gamma a distintas dosis absorbidas. Luego, se realizaron ensayos de hinchamiento y deshidratación, mediante los cuales se calcularon los porcentajes de hinchamiento y deshidratación, respectivamente, así como también el coeficiente de difusión y el exponente difusional. Los resultados mostraron que a medida que la dosis necesaria para obtener los entrecruzamientos se incrementaba, la capacidad de hinchamiento y deshidratación de la matriz como así también el coeficiente de difusión se reducía. El análisis cinético mostró que a dosis de 25 kGy se obtienen geles con mecanismo de difusión anómalo mientras que a 30 kGy y a 35 kGy la difusión presenta un comportamiento Fickiano. En conclusión, estos ensayos permitieron comprender el funcionamiento cinético del sistema matriz polimérica/solvente a distintas dosis absorbidas de manera de considerar estos mecanismos cuando se utilicen distintos principios activos.

ABSTRACT

Hydrogels are cross-linked polymeric networks, which have the ability to change their volume depending on their environment. They have several applications; one of them is as a drug delivery system, which involves the hydration and dehydration of the material. Therefore, in this work we carried out a kinetics and diffusion mechanisms analysis, which occur in hydrogels during these processes. The hydrogels were made by using gamma radiation at several absorbed doses. Then, we performed swelling and dehydration tests that were used to calculate the swelling and dehydration percentages, respectively, as well as the diffusion coefficient and the diffusional exponent. The results showed that as the dose necessary to obtain the crosslinks increased, the swelling and dehydration capacity of the matrix as well as the diffusion coefficient decreased. The kinetic analysis showed the hydrogels of 25 kGy have anomalous diffusion mechanism, while those 30 kGy and 35 kGy show the diffusion Fickian mechanism. In conclusion, these assays allowed us to understand the kinetic performance of the polymeric matrix / solvent system at different absorbed doses in order to consider these mechanisms when different active ingredients are used.

Palabras clave: hidrogel, hinchamiento, mecanismos de difusión, radiación gamma.

INTRODUCCIÓN

Los hidrogeles se describen como redes poliméricas entrecruzadas con estructura tridimensional que contienen 70-90% de agua y que tienen la capacidad de modificar su volumen de acuerdo al entorno debido a fenómenos de fuerzas de capilaridad, ósmosis e interacciones moleculares entre el polímero y el disolvente [1]. Estos materiales poseen excelentes propiedades de biocompatibilidad, por ello son de gran interés en aplicaciones biomédicas como en la construcción de andamios para crecimiento celular, apósitos para heridas y en liberación controlada de drogas [2].

De acuerdo a la naturaleza de las uniones químicas que conforman la red, los hidrogeles se pueden clasificar como geles físicos o químicos. Los primeros presentan uniones débiles como puentes de hidrógeno, fuerzas de Van de Waals o interacciones iónicas, además son reversibles cuando se los somete a altas temperaturas [3]. Los hidrogeles químicos constan de uniones fuertes del tipo covalente cuya ruptura conduce a la degradación del gel, por lo tanto se los considera como polímeros termoestables. Los geles físicos son sintetizados mediante el proceso de congelamiento/ calentamiento mientras que los geles químicos son generados por iniciadores iónicos, luz ultravioleta, sistemas redox o por radiaciones ionizantes [1], [4].

La síntesis de hidrogeles mediante la radiación ionizante implica un proceso en el cual la energía de esta radiación se transfiere a la materia generando la liberación de radicales libres los cuales inducen sitios activos en las cadenas poliméricas dando lugar a la formación de macroradicales que se recombinan a macromoléculas que son las que conforman la red de polímeros entrecruzados [5], [6]. Es importante considerar que durante la irradiación de la solución polimérica para la generación del hidrogel ocurren dos procesos simultáneos, uno conduce a aumentar el peso molecular mediante el entrecruzamiento de las cadenas y el otro lo reduce a través de la degradación del polímero [2]. Uno de ellos siempre prevalece y esto dependerá de diversos factores tales como la concentración del soluto, el grado de polimerización del material y la dosis de irradiación [7].

Una de las aplicaciones con gran auge y progreso en los últimos años es el uso de los hidrogeles para la administración controlada de fármacos cuya liberación es el resultado de un mecanismo de difusión gobernado por el hinchamiento que sufre el material polimérico [8]. Este proceso implica dos acciones que ocurren en forma simultánea, una de ellas es la absorción de agua o fluido biológico por parte de la matriz polimérica y la otra es la desorción del fármaco. Cuando el agua penetra en

la matriz hidrófila, el hidrogel en estado vítreo se hincha y su temperatura de transición vítrea puede alcanzar valores inferiores a la temperatura del medio que lo rodea. De tal manera, el gel pasa a un estado del tipo elastomérico en el cual se produce una relajación de sus cadenas poliméricas que genera una apertura de la red [6], [8]. En esta condición, el soluto difunde hacia el exterior y el proceso estará controlado por el coeficiente de difusión (C_d) del agua y del principio activo en el hidrogel, del porcentaje de hinchamiento, del tamaño de la malla del gel y de la tasa de relajación de las cadenas polimérica [9]. Por ello, es de fundamental importancia comprender el mecanismo de difusión (MD) que se genera en el hidrogel durante los procesos de hinchamiento y deshidratación del mismo, así como también evaluar las modificaciones que el grado de entrecruzamiento puede generar en dichos procesos.

La cinética de liberación del principio activo ha sido analizada mediante varios modelos que se basan en las soluciones de la ecuación de difusión de Fick [10]. La teoría matemática de esta ecuación para sustancias isotrópicas se fundamenta en que la velocidad de transferencia de masa que difunde a través de la unidad de área de una sección sea proporcional al gradiente de concentración que se mide normal a dicha sección.

En 1986 Peppas y Ritger introducen una ecuación exponencial simple tal como se muestra en (1), que describe el MD de un sistema polimérico teniendo en cuenta la geometría del dispositivo, la cual puede ser plana, cilíndrica o esférica y además considera la posible no uniformidad en el tamaño del soluto [11]. Actualmente, esta ecuación es ampliamente usada en el análisis cinético de la liberación de fármacos en matrices poliméricas como así también, en el estudio de los mecanismos de hinchamiento de los hidrogeles [10], [12].

$$M_s = kt^n \quad (1)$$

Donde n es el exponente difusional, k es una constante que depende del C_d y del espesor del material, t es el tiempo y M_s equivale a $H(i)$ mostrada en (2) que es el hinchamiento del hidrogel en función del tiempo.

$$H(i) = \frac{w(i) - w_0}{w_0} * 100 = kt_i^n \quad (2)$$

Aquí, $w(i)$ es el peso incrementado en un tiempo t_i y w_0 es el peso del xerogel (hidrogel en estado seco).

Mientras que para el cálculo del porcentaje de deshidratación D_h se emplea la expresión mostrada en (3) obtenida de [13].

$$Dh = \frac{w_i - w_f}{w_i} * 100 \quad (3)$$

Donde la w_f representa el peso final del hidrogel transcurrido el proceso de deshidratación y w_i corresponde al peso del hidrogel al iniciar el ensayo en estado hidratado.

El exponente difusional n que corresponde a la pendiente de la curva de $\ln(H(i))$ en función del $\ln(t)$ mostrado en (4) se obtiene aplicando el logaritmo natural a (2).

$$\ln(H) = \ln(k) + n \ln(t) \quad (4)$$

El análisis de n para una geometría planar nos permite evaluar los tipos de MD que son representativos en hidrogeles [14] y que se describen a continuación:

La Difusión Fickiana (DF) ocurre cuando la velocidad de difusión de las moléculas del solvente o principio activo es mucho menor que la relajación de la matriz del gel. En este tipo de mecanismos, n toma el valor de 0,5 [12]. La Difusión caso II (CII) implica un mecanismo de transporte que es controlado únicamente por la difusión la cual es más rápida en comparación con los procesos de relajación de la red polimérica. El n que se obtiene es de 1 [14]. Mientras que la Difusión no Fickiana (DNF) también llamada anómala surge de la contribución simultánea y comparable del fenómeno de difusión de las moléculas del agente bioactivo y de la relajación de las cadenas poliméricas. El valor de n en este caso se encuentra entre 0,5 y 1 [15].

El objetivo de este trabajo consiste en evaluar la cinética y los MD de las moléculas de agua en la matriz de los hidrogeles entrecruzados a distintas dosis de radiación gamma a fin de conocer los mecanismos de transporte que se generan durante los procesos de hinchamiento y deshidratación para una futura aplicación en liberación controlada de drogas. Para ello, se realizaron ensayos de hinchamiento y deshidratación bajo los lineamientos de la norma ASTM 570 y con los datos obtenidos se calcularon el Cd, el porcentaje de hinchamiento, el porcentaje de deshidratación y el exponente difusional para cada tipo de hidrogel.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los hidrogeles fueron elaborados utilizando polivinilpirrolidona (PVP k-90) de Solkem y polivinilalcohol (PVA) con grado de hidrólisis del 99% de Sigma Aldrich. Se preparó una solución de PVA/PVP con relación %v/v de 1:1 al 10% p/v. Los polímeros se disolvieron en agua desionizada a 90 °C con agita-

ción durante 2 horas. La mezcla se colocó en los moldes correspondientes dentro de bolsas multilaminadas. Posteriormente, las muestras fueron irradiadas con una fuente de Co60 de la Planta de Irradiación Semiindustrial del Centro Atómico Ezeiza a tres diferentes dosis: 25 kGy, 30 kGy y 35 kGy. Los hidrogeles resultantes fueron sometidos a un ensayo de hinchamiento y de deshidratación.

La primera etapa del ensayo de hinchamiento consistió en obtener xerogeles. Esto se realizó colocando los hidrogeles en una estufa a 50 °C durante 24hs. Transcurrido ese tiempo, las muestras fueron pesadas y posteriormente colocadas en un recipiente con agua destilada estéril. Durante ciertos intervalos de tiempo las muestras se extraían del recipiente, se secaban con un papel de filtro y luego eran pesadas. Estas mediciones de masa se realizaron durante 48 hs. Con los datos obtenidos se calculó el porcentaje de hinchamiento, el Cd y el exponente difusional. El Cd se calcula como la pendiente del primer segmento de la curva de peso incrementado del hidrogel en función de la raíz cuadrada del tiempo que se especifica en la misma norma bajo la cual se realizó el ensayo de hinchamiento.

El ensayo de deshidratación se llevó a cabo en los hidrogeles en estado hidratado. Al iniciar el mismo los geles fueron pesados y posteriormente ubicados en placas de vidrio a temperatura ambiente. A ciertos periodos de tiempo durante 48 hs. estos geles se pesaron y se registró la medición.

RESULTADOS

Se elaboraron hidrogeles entrecruzados mediante el uso de radiación gamma a tres diferentes dosis absorbidas. En la Figura 1 se muestra un hidrogel reticulado a 30kGy previo a ser ensayado.

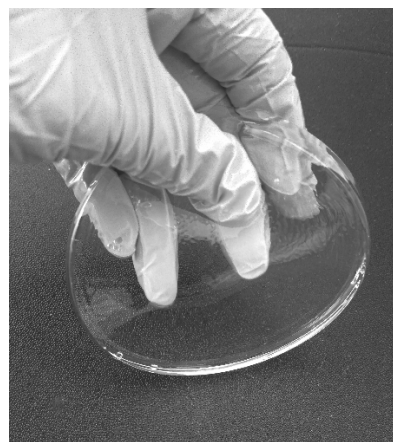


Figura 1: Hidrogel entrecruzado a 30 kGy.

En la Figura 2 se exhibe la gráfica de las curvas de porcentaje de hinchamiento en función del tiempo de los hidrogeles entrecruzados a las tres

dosis mencionadas. Los valores máximos son obtenidos a las 48 hs que corresponde a 2880 min. En la gráfica se puede observar que los hidrogeles de 30 kGy alcanzaron un porcentaje de hinchamiento levemente superior al resto. Mientras que los hidrogeles de 35 kGy presentaron la menor capacidad para hidratarse.

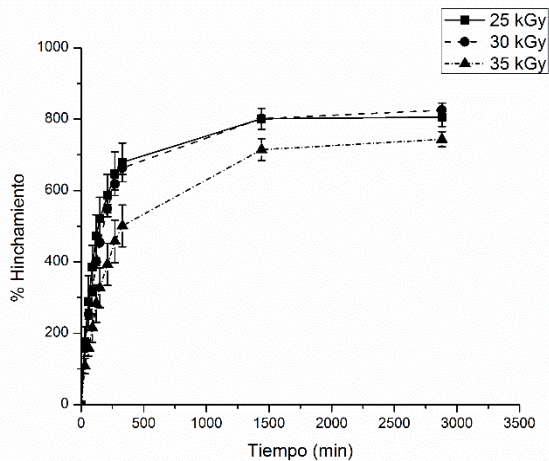


Figura 2: Porcentaje de hinchamiento de los hidrogeles de 25 kGy, 30 kGy y 35 kGy.

Los resultados obtenidos de este ensayo de hinchamiento son mostrados en la tabla 1.

Tabla 1: Resultados obtenidos del ensayo de hinchamiento.

Dosis / kGy	% H	Cd	n	MD
25	631,46 ± 78,57	0,41 ± 0,02	0,6	DNF
30	652,46 ± 18,69	0,32 ± 0,00	0,5	DF
35	578,16 ± 19,24	0,24 ± 0,00	0,47	DF

El porcentaje de hinchamiento de los hidrogeles irradiados a 25 kGy y 30 kGy presentan una diferencia menor al 3,5 %, evidenciándose un hinchamiento superior para los hidrogeles de 30 kGy. Mientras que a 35 kGy el hinchamiento se reduce un 11,4 % respecto de los obtenidos a 30 kGy y un 8,4 % respecto de los hidrogeles de 25 kGy. Es evidente que el incremento de la dosis a 35 kGy redujo el porcentaje de hinchamiento y esto se debe a que el aumento de la energía absorbida durante el proceso de síntesis de los hidrogeles permitió la formación de enlaces covalentes que contribuyeron a reducir el volumen libre de la malla polimérica con la consecuente disminución de la capacidad de absorción tal como fue demostrado por Sakurada [5].

Los resultados del Cd indican que a medida que la dosis aumenta la capacidad de difusión de las moléculas de agua se reduce lo cual está estrecha-

mente ligado con el grado de entrecruzamiento. Mientras mayor es la dosis de irradiación el grado de entrecruzamiento aumenta y la difusión se reduce en un 41,46 %.

Los valores obtenidos de n muestran que a 25 kGy el comportamiento de difusión de las moléculas de agua tiende a ser anómalo, esto implica que la tasa de difusión del agua se asimila a la tasa de relajación de las cadenas poliméricas. Sin embargo, cuando la dosis aumenta a 30 kGy y a 35 kGy las moléculas de agua presentan una mayor dificultad para difundir, por ello la tasa de difusión es menor comparada con la tasa de relajación de las cadenas poliméricas.

En la figura 3 se exhiben las curvas de porcentaje de deshidratación de los hidrogeles irradiados a las tres dosis de evaluación. Se puede observar aquí que la deshidratación de los hidrogeles de 25 y 30 kGy sigue una curva similar, con porcentajes de deshidratación de 87,57 % y 87,51 %, respectivamente. Mientras que la deshidratación de los gels de 35 kGy resultó en 85,38 %. Estos resultados muestran por un lado que estos materiales tienen un porcentaje de deshidratación elevado a las 48hs, esto puede o no ser una ventaja dependiendo de la aplicación en la que se pretenda usar. Por otro lado, tal como se mostró en el ensayo de hinchamiento, los hidrogeles con mayor dosis absorbida al presentar una menor capacidad de hinchamiento por tener un mayor número de entrecruzamientos, su porcentaje de pérdida de moléculas de agua a las 48 hs es inferior que aquellos con dosis absorbidas más bajas y esto es simplemente porque presentan un menor contenido de agua. Los parámetros Cd y n no fueron evaluados en este ensayo porque las ecuaciones anteriormente mencionadas que permiten obtener los mismos no están descriptas para el proceso de deshidratación.

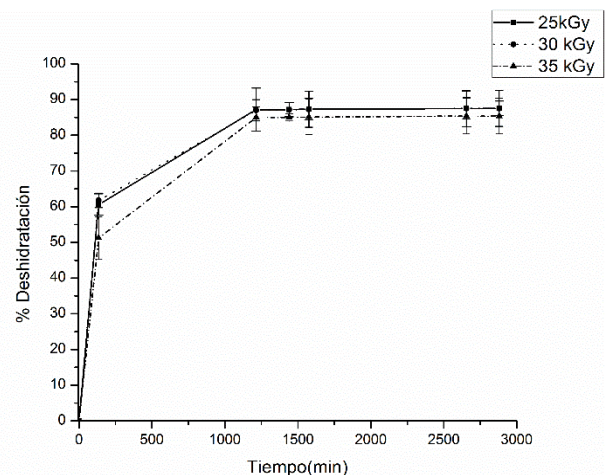


Figura 3: Porcentaje de deshidratación en hidrogeles entrecruzados a distintas dosis.

DISCUSION

El uso de la radiación gamma como agente entrecruzante para la formación de hidrogeles es una alternativa que ha ido creciendo en los últimos años por las ventajas que ofrece la técnica las cual están relacionadas con la síntesis y esterilización en un solo paso [16], versatilidad de materiales usados, la simplicidad en la elaboración evitando el uso de iniciadores iónicos o agentes entrecruzantes químicos que pueden ser tóxicos (ej glutaraldehído) y además prescindiendo de la etapa de purificación [17].

Tal como se observó en los resultados, a mayor dosis absorbida los parámetros de la cinética de hinchamiento tales como el porcentaje de hinchamiento, el coeficiente de difusión y el exponente difusional se reducen, por tanto puede decirse que presentan dependencia con la misma. Esto resulta una ventaja a la hora de evaluar un proceso de control que permita administrar fármacos en forma efectiva.

Los parámetros que permiten evaluar la cinética de hinchamiento han sido ampliamente utilizados en el estudio de la liberación de principios activos de mallas poliméricas ya que existe una correlación intrínseca entre la capacidad de hinchamiento de estos materiales y los mecanismos de transporte que se generan en la liberación de principios activos [8]. El uso de la ecuación semiempírica para el análisis de los mecanismos de difusión resulta ser apropiada ya que simplifica el proceso de clasificación, sin embargo se debe considerar cuales son las condiciones de contorno que debe presentar el sistema de experimentación para que puedan ser aplicables [11].

Actualmente los sistemas que permiten el almacenamiento y liberación controlada de drogas se encuentran en controversia ya que en la mayoría de los casos el control en la desorción del fármaco es limitado [18]. Los intentos por mejorar esta situación han llevado a buscar materiales poliméricos inteligentes incluso hidrogeles que puedan modificar su capacidad de hinchamiento o desorción según las condiciones ambientales, tales como la temperatura o el pH [19]. El inconveniente que presentan estos sistemas es que al llegar a la temperatura umbral la liberación del fármaco no es controlada y puede generar niveles tóxicos para el organismo. Por este motivo, consideramos que es de gran importancia conocer la cinética de hinchamiento y cómo se puede modificar por variables controlables como es el caso de la dosis utilizada para la generación de entrecruzamientos

CONCLUSIONES

En este trabajo se desarrollaron hidrogeles mediante el uso de radiación ionizante a fin de evaluar el comportamiento cinético y los mecanismos de difusión en los procesos de hidratación y deshidratación de estos materiales cuando variamos la energía para la síntesis de los mismos. Para ello, se llevaron a cabo ensayos de hidratación y deshidratación los cuales nos permitieron conocer el comportamiento intrínseco del sistema malla polimérica/ solvente a diferentes dosis de irradiación y además evidenciaron la dependencia de estos parámetros con la dosis absorbida. Esto nos permitiría en el futuro desarrollar hidrogeles con características de difusión controladas por la dosis e inferir el comportamiento de un bioactivo cuando es incorporado en hidrogeles para una aplicación en liberación controlada de drogas.

REFERENCIAS

- [1] Hoffman, A. (2012). Hydrogels for biomedical applications," *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 64, 18–23.
- [2] Rosiak, J. M. (2002). Radiation formation of hydrogels for biomedical application. *Radiation synthesis and modification of polymers for biomedical applications. IAEA TECDOC-1324*, 5. 47.
- [3] Echeverri, C. E. (2009). Síntesis y caracterización de hidrogeles de alcohol poli vinílico por la técnica de congelamiento/descongelamiento para aplicaciones médicas. *Rev. EIA*, vol. 12.
- [4] Crescenzi, V. (2007). Novel hydrogels via click chemistry: synthesis and potential biomedical applications. *Biomacromolecules*, 8(6), 1844-1850.
- [5] Sakurada, Y; Ikada, I. (1961). Effects of cobalt-60 gamma radiation on poly (vinyl alcohol) (III): Effects of gamma radiation on water-swollen films and aqueous solutions. *Special issue on physical, chemical and biological effects of gamma radiation*, II.
- [6] Rosiak, P; Ulański, J. (1999). Synthesis of hydrogels by irradiation of polymers in aqueous solution. *Radiat. Phys. Chem.*, 55(2), 139–151.
- [7] Danno, A. (1958). Gel formation of aqueous solution of polyvinyl alcohol irradiated by gamma rays from cobalt-60. *J. Phys. Soc. Japan*, 13(7), 722–727.
- [8] Vashist, S.; Vashist, A.; Gupta, A.; Ahmad Y.; Ahmad K. (2014). Recent advances in hydrogel based drug delivery systems for the human body. *J. Mater. Chem. B*, 2(2), 147–166.
- [9] Peppas, R.; Korsmeyer, N. (1987). Dynamically swelling hydrogels in controlled release applications. *Hydrogels Med. Pharm*, 3, 109–136.
- [10] Sáez, A.; Hernández, V.; Sanz. (2004) Mecanismos de

- liberación de fármacos desde materiales polímeros. *Rev. Iberoam. Polímeros*, 5(1), 55–70.
- [11] Ritger, N; Peppas, P. (1987). A simple equation for description of solute release I. Fickian and non fickian release from non swellable devices in the form of slabs, spheres, cylinders or discs. *J. Control. Release*, 5(1), 23–36.
- [12] Singh, S.; Chauhan, B. Kumar, N. (2008). Radiation crosslinked psyllium and polyacrylic acid based hydrogels for use in colon specific drug delivery. *Carbohydr. Polym*, 73(3), 446–455.
- [13] Jones, L.; May, C.; Nazar, L.; Simpson, T. (2002). In vitro evaluation of the dehydration characteristics of silicone hydrogel and conventional hydrogel contact lens materials. *Contact Lens and Anterior Eye*, 25(3), 147-156.
- [14] Ritger, N.; Peppas, P. (1987). A simple equation for description of solute release II. Fickian and anomalous release from swellable devices. *J. Control. release*, 5(1), 37- 42.
- [15] Benítez, B.; Lárez Velásquez, J.; Rojas de Gáscue, C. (2015). Cinética de absorción y transporte del agua en hidrogeles sintetizados a partir de acrilamida y anhídrido maleico. *Rev. Latinoam. Metal. y Mater.*, 35(2), 242–253.
- [16] Irmukhametova, V.; Mun, G.; Khutoryanskiy, G. (2020). Hydrogel Dressings, *Ther. Dressings Wound Heal. Appl.*, 185–207.
- [17] Caló, V.; Khutoryanskiy, V. (2015) Biomedical applications of hydrogels: A review of patents and commercial products. *Eur. Polym. J.*, 65, 252–267.
- [18] Brandl, F. (2010). Hydrogel based drug delivery systems: comparison of drug diffusivity and release kinetics. *J. Control. Release*, 142(2), 221–228.
- [19] Peppas, N. (1997). Hydrogels and drug delivery," *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, 2(5), 531–537.