

Influencia de la radiación gamma como método de esterilización sobre el polímero poli VPAVG (Valina-Prolina-Alanina-Valina-Glicina)

Influence of gamma radiation as a sterilization method on polymer poli VPAVG (Valine- Proline- Alanine-Valine-Glicine)

Adriana C Rincón A¹, Rocío Herrero V², José Rodríguez C³, Matilde Alonso⁴, Irene Molina M²

RESUMEN

El polímero poli (VPAVG) pertenece a la familia de materiales bioelásticos derivados de la elastina y ha demostrado poseer cualidades óptimas para la formación de sistemas de cesión controlada, así como una biocompatibilidad aceptable en determinados tejidos. Las formulaciones preparadas a partir del biomaterial deben ser estériles, si se pretende administrar por una vía que implique ruptura de barreras biológicas. Por lo anterior, resulta esencial conocer el comportamiento del polímero y sus formulaciones frente al proceso de esterilización empleado. El objetivo de este trabajo fue, por tanto, evaluar la influencia de la radiación gamma como método de esterilización sobre las características físicas del poli (VPAVG) y de las partículas formadas con éste. En cuanto al polímero, no se apreciaron diferencias en su apariencia física antes y después de la esterilización. Sin embargo, las partículas obtenidas a partir del poli (VPAVG) y posteriormente esterilizadas experimentaban cambios en su morfología. En cuanto al tamaño de las partículas, se determinó que las obtenidas con polímero esterilizado presentaban cierta tendencia a formar agregados de menor tamaño que los encontrados con el polímero sin esterilizar. Se concluyó que el biomaterial ensayado y las formulaciones eran susceptibles a las radiaciones gamma como método de esterilización final, proponiéndose recurrir a otro tratamiento que garantice su esterilidad final.

Palabras clave: Método de esterilización, polímero poli VPAVG (valina-prolina-alanina-valina-glicina), radiación gamma, valina, prolina, alanina, glicina, materiales bioelásticos.

ABSTRACT

The poli polymer (VPAVG) belongs to the family of bio-elastic materials derived from elastin, and it has showed the best qualities for the creation of systems of controlled cession, as well as an acceptable biocompatibility in certain tissues. If any preparation made from this biomaterial has to be administered in any way that implies the rupture of biological barriers, the preparation must be sterile. By this means, it is essential to know the behaviour of this polymer and its formulations, facing the sterilization process being used.

The objective of this research was learn the influence of gamma radiation as a sterilization method over the physical characteristics of poli (VPAVG) and the particles formed by it.

As the polymer, we did not observe any differences in physical appearance before and after sterilization. Particles formed by the polymer (VPAVG) and sterilized after, experimented changes in their morphology.

As the size of the particles, we observed that those obtained with the sterilized polymer showed a tendency to form smaller aggregates than those found with the non-sterilized polymer.

We concluded that the essayed biomaterial and its formulations were susceptible to gamma radiations as final sterilization method, proposing to use another treatment to guarantee the final sterile condition.

Key words: Sterilization Method, Polymer Poli (VPAVG) (Valine-Proline-Alanine-Valine-Glicine), Gamma Radiation, Valine, Proline, Alanine, Glicine, Bioelastic Materials.

¹ Dpto. Farmacia Galénica, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida - Venezuela. Teléfonos: (0274) 240353 adrianar@ula.ve.

² Dpto. Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, Madrid - España. rociohv@farm.ucm.es.

³ Dpto. Física de la Materia Condensada, E.T.S.I.I., Universidad de Valladolid, Valladolid-España.

⁴ Dpto. Química Analítica, E.U.P., Universidad de Valladolid, Valladolid-España.

INTRODUCCIÓN

La elastina es la proteína extracelular responsable de la elasticidad de diversos tejidos, debido a su capacidad de extenderse y contraerse¹. Posee una estructura primaria caracterizada por la secuencia repetitiva de aminoácidos (Aa), entre los que se incluyen valina-prolina-glicina-valina-glicina (VPGVG), alanina-prolina-glicina-valina-glicina-valina (APGVGV), valina-prolina – glicina – fenilalanina – glicina – valina – glicina – alanina – glicina (VPGFVGAG) y valina-prolina-glicina-glicina (VPGG)^{2,3}, siendo la secuencia más frecuente la correspondiente al pentapéptido VPGVG, que puede repetirse hasta cincuenta veces en una simple molécula⁴.

La capacidad de esta proteína de autoagregarse, junto con las magníficas propiedades físicas y mecánicas que presenta, han permitido la búsqueda y el desarrollo de materiales bioelásticos basados en la elastina¹. En virtud de ello surgen materiales que constituyen familias de copolímeros proteicos sintéticos, basados en los modelos de las propiedades estructurales de las proteínas⁵. Estos polímeros sintéticos son susceptibles de responder a determinados estímulos y han sido diseñados para modular su respuesta de tal forma que sufran disolución o agregación en función de las condiciones del entorno. Inicialmente se les denominó "sensibles a estímulos", pero pronto se utilizó el término "inteligentes" con el fin de equipararlos en propiedades con su equivalente natural que les había servido de inspiración⁶.

POLÍMEROS SEMEJANTES A LA ELASTINA: POLI (VPAVG)

Los polímeros derivados de la elastina (ELPs) se caracterizan por estar constituidos de secuencias repetidas de monómeros integrantes de ésta, que son consideradas "bloques de construcción" debido a su sorprendente repetición, con poca o ninguna variación². Urry y sus colaboradores han sido los pioneros en la síntesis y aplicación de este nuevo grupo de polímeros, que se caracterizan por presentar la llamada "temperatura inversa de transición" (T_{ti})⁷. En virtud de esta propiedad, cuando el polímero se encuentra en presencia de agua y a una temperatura por debajo de la temperatura crítica (temperatura de transición T_{ti}), sus cadenas permanecen desordenadas o relativamente extendidas,

es decir completamente hidratadas⁸. De hecho, se considera que por debajo de la T_{ti} , el polímero es soluble en medio acuoso. Por el contrario, cuando el polímero se encuentra expuesto a temperaturas superiores a la T_{ti} , sus cadenas hidrofóbicas se pliegan y se agregan mediante un proceso de ordenación intramolecular, por el que adoptan una estructura secundaria helicoidal ordenada, denominada hélice β , seguida de un proceso de autoorganización intermolecular⁷.

En esta contracción dirigida por el aumento de la temperatura del entorno, el material es capaz de realizar un trabajo mecánico, que puede ser aprovechado cuando el sistema está adecuadamente diseñado. Por lo tanto, esta captación de agua podría ser aprovechada para incluir fármacos en solución, antes del proceso de autoagregación.

La naturaleza de los agregados resultantes puede variar, desde discretas nanopartículas hasta fibras poliméricas, en función de la arquitectura del copolímero¹⁰. En virtud de lo anterior, es importante resaltar que la adecuada sustitución de los monómeros de aminoácidos, por otros naturales o modificados, puede ser utilizada para magnificar la respuesta natural de esta familia de polímeros, obteniéndose así un mejor aprovechamiento de esta propiedad¹¹.

Hasta el momento se han sintetizado una gran variedad de polímeros de este tipo, sin embargo, el más representativo de esta familia lo constituye el poli (VPGVG) [valina-prolina-glicina-valina-glicina], propuesto por Urry¹² como material cabeza de serie para explicar sus propiedades elásticas^{13,14}. Además, estos polímeros presentan importantes características termorreversibles^{15,16}, y un gran potencial para convertir energía térmica en provechoso trabajo mecánico¹⁷. Estos pentapéptidos se caracterizan también por ser solubles en agua en todas las proporciones por debajo de su temperatura de transición y cuando son expuestos a la radiación g (dosis de 20 Mrad)¹⁸, las cadenas se entrecruzan y tiene lugar la formación de una matriz elastómera, que exhibe propiedades mecánicas muy semejantes a las de la propia elastina natural¹⁹.

Dentro de esta familia de polímeros se encuentra el polímero utilizado en esta investigación, denominado poli (VPAVG) (valina - prolina – alanina - valina – glicina). La diferencia con respecto al monómero cabeza de serie

[poli (VPGVG)] estriba en la sustitución del tercer aminoácido del pentapéptido por alanina. Esta sustitución de glicina por alanina no modifica las propiedades termomecánicas y de biocompatibilidad, que caracterizan a esta familia. El poli (VPAVG) es un polipéptido que puede ser considerado predominantemente hidrofóbico, debido a las características que presentan sus aminoácidos constituyentes, principalmente la valina y la prolina²⁰. Además, resulta de gran importancia destacar que, en estudios realizados acerca de la sustitución de la alanina (A) por la glicina (G) en la tercera posición de la secuencia peptídica, se observa una variación en la respuesta mecánica del material, que va desde un comportamiento elástico a una deformación plástica. La síntesis del polímero poli (VPAVG) utilizado en el desarrollo de este trabajo, ha sido química. Su caracterización se ha realizado mediante resonancia magnética nuclear (RMN), análisis de aminoácidos y métodos cromatográficos. Presenta un peso molecular (M_w) de 86.249 Da y una polidispersión (n) de 1,15. La distribución del peso molecular aparente queda reflejada en la figura 1²¹.

Con este material, al igual que con los derivados pertenecientes a esta familia de polímeros, se pueden construir sistemas sólidos, basándose en las propiedades termomecánicas que los caracterizan y anteriormente comentadas.

El método de preparación de las matrices o agregados, a partir de estos polímeros se lleva a cabo por en-

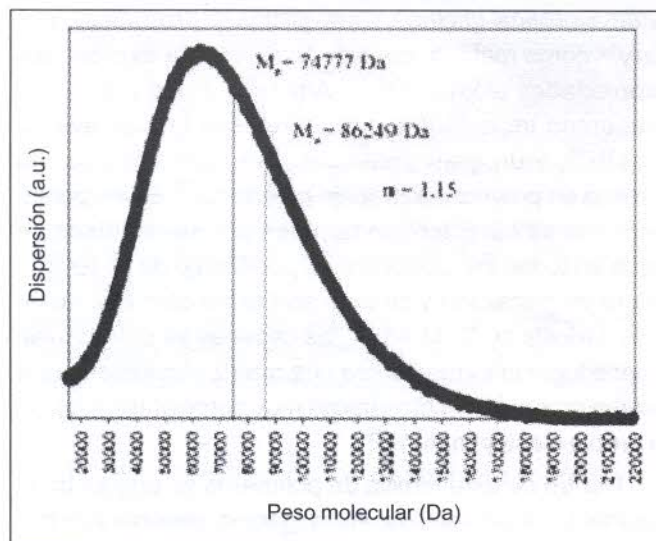


Figura 1.- Distribución del peso molecular aparente para el poli (VPAVG)

friamiento ($T_c < T_{ti}$) y posterior calentamiento ($T_c > T_{ti}$) de soluciones acuosas del material. En efecto, mediante la adecuada elección de concentración del polímero, temperatura y tiempo, es posible obtener nano y micropartículas, que no son otra cosa que agregados de tamaños definidos⁹. Estos agregados formados tienen suficiente masa o volumen para ser separados del solvente por centrifugación²² y, debido a que el proceso de transición es reversible, el polímero puede ser completamente redissuelto, cuando la temperatura sea inferior a su temperatura de transición²³.

Estas partículas o agregados también pueden ser cargadas con sustancia activa. Teóricamente, cualquier clase de fármaco puede ser incorporado en la matriz de los polímeros. En general, el peso molecular de los polímeros, el tamaño de las micro o nanopartículas obtenidas y las propiedades hidrofílicas o hidrofóbicas del fármaco, determinarán la velocidad y el período de liberación de éste, desde el sistema²⁴.

Recientemente, este polímero ha sido caracterizado como formador de partículas de cesión controlada de fármacos⁷ y se ha comprobado su tolerancia *in vitro* e *in vivo*, por vía subcutánea e intraocular²⁵, vías éstas que necesitan indispensablemente condición de esterilidad.

La esterilidad es un factor crítico para los sistemas de administración parenteral, prefiriéndose un proceso de esterilización final del producto, a la fabricación en condiciones asépticas²⁶. La adecuada selección de un método de esterilización es fundamental para garantizar la estabilidad del producto. Hace algunos años aparecieron los primeros trabajos referentes a la utilización del método basado en la radiación ionizante con rayos gamma, para la esterilización de microesferas preparadas a partir de polímeros derivados del ácido láctico y glicólico destinadas a uso parenteral²⁷. Los rayos gamma tienen una alta capacidad de penetración y la dosis necesaria para lograr la esterilización se encuentra comprendida entre 25 y 40 kGy. Una gran cantidad de materiales son compatibles con la esterilización por radiaciones gamma, por lo que es ampliamente aceptado como método de esterilización para materiales poliméricos, dentro de los que se incluyen polietileno, poliésteres, poliestirenos, polisulfóxidos y policarbonatos²⁸. Este tipo de esterilización es el método utilizado habitualmente para productos sanitarios termolábiles y el más

