

UNIBERTSITATEKO MASTERRA:

INDUSTRIA INGENIERITZAKO MASTERRA

MASTER AMAIERAKO LANA

MEDIKAMENTUEN LIBERAZIOA DUALA: KITOSANOAN OINARRITURIKO HIDROGEL TERMOSENTIKORRAK

Ikaslea: *Marin Ameztoy, Edurne*

Zuzendaria: *Lejardi Meabebasterretxea, Ainhoa
Zuza Hernandez, Ester*

Saila: *Meatze Metalurgia eta Materialen
zientzia saila*

Ikasturtea: *2017-2018*



LABURPENA

Farmakoen liberazio kontrolaturako erabiltzen diren gailu polimerikoak orain arte erabilitako sistema tradizionalen aurrean aurrerapauso garrantzitsua izan dira, izan ere, gailu hauen bidez, farmakoaren solubilitatea eta bioaktibitatea hobetzen da bere eragina denboran luzatuz eta albo kalteak gutxituz. Arlo honen barnean, izaera ezberdineko agente ezberdinen aldibereko liberazio kontrolatua oso interesgarria da optimizazio terapeutiko altuagoa lortzeko.

Hori dela eta, ondorengo ikerketa lanean, kitosanoan (CS) oinarrituriko hidrogel injektagarrien erabilera aztertu da, agente hidrofílico baten (tetraciclina hidrokloruroa (TCH)) eta hidrofobo baten (ibuprofenoa (IBU)) liberazio dual eta aldiberekorako. TCH-a hidrogelaren hiru dimentsioko egituran zuzenean gehitu da. Aldiz, IBU mikro- eta nanometro tamainako poli(laktida-glikolidazko) (PLGA) partikuletan kapsularatu da ondoren hidrogelaren egiturara gehitzeko.

TCH-a lehen orduetan askatu da, matrizearekin duen interakzio mugatu eta uretan duen solubilitate altua dela eta. IBU-ri dagokionez, bere liberazioa denboran luzatuagoa da, mikro- eta nanopartikulen degradazio hidrolitikoak mugatzen baitu.

RESUMEN

Los dispositivos poliméricos para la liberación controlada de fármacos han supuesto un importante avance con respecto a los sistemas tradicionales, mejorando la solubilidad y bioactividad de los fármacos, prolongando su efecto y reduciendo los efectos adversos. En este ámbito, son de gran interés, los sistemas que permiten la liberación simultánea y controlada de varios agentes terapéuticos de distintas naturalezas para así conseguir una optimización terapéutica elevada.

Por ello, en el presente estudio, se ha contemplado el uso de hidrogeles inyectables basados en quitosano (CS) para la liberación dual y simultánea de un agente hidrófilo (hidrocloruro de tetraciclina (TCH)) y otro hidrófobo (ibuprofeno (IBU)). La TCH se ha incorporado directamente en la matriz tridimensional del hidrogel, mientras que el IBU ha sido previamente encapsulado en partículas poliméricas bioreabsorbibles de ácido poli(láctico-co-glicólico) (PLGA) de tamaño micro- y nanométrico. Estas últimas han sido posteriormente embebidas en la estructura del hidrogel.

La TCH se libera en las primeras horas de incubación debido a su elevada solubilidad en agua y limitada interacción con la matriz polimérica. En el caso del IBU, este presenta una liberación más prolongada la cual viene determinada por la degradación hidrolítica gradual de las micro- y nanopartículas poliméricas.



ABSTRACT

Polymeric drug delivery systems have supposed an important advance in the drug administration, since they can improve the drug solubility and bioactivity, prolonging their effect and reducing the side effects that traditional delivery systems cause. In this field, systems which allows the controlled and simultaneous delivery of different therapeutic agents have become so popular.

Thus, by mean of researching work, it has been studied the use of chitosan (CS) based hydrogels for the dual and simultaneous delivery of a hydrophilic agent (tetracycline hydrochloride (TCH)) and a hydrophobic agent (ibuprofen (IBU)). TCH has been added directly to the three-dimensional hydrogel structure, while IBU has been previously encapsulated in polymeric bioresorbable poly (lactic-co-glycolic) (PLGA) nano- and micrometric sized particles. Once the particles have been made, they have been introduced in the hydrogel structure.

Because of its high-water solubility and limited interaction with the polymeric matrix, TCH has been delivered in the first hours. In the case of IBU, it shows a prolonged drug delivery which is limited by the gradual hydrolytic degradation of micro- and nanoparticles.



AURKIBIDEA

1. Taula, argazki, grafiko eta akronimo zerrenda.....	6
1.1. Irudiak.....	6
1.2. Taulak	7
1.3. Grafikoak	7
1.4. Akronimoak	7
2. MEMORIA.....	8
2.1. Sarrera	8
2.2. Testuingurua	9
2.3. Helburuak eta norainokoak	11
2.4. Proiektuaren onurak	12
2.5. Gaiaren egoera	13
2.5.1. Hidrogelak: sorkuntza eta aplikazioak.....	13
2.5.2. Mikro- eta Nanopartikulak.....	22
2.5.3. Liberazio dualeko sistemak	24
3. METODOLOGIA	28
3.1. Materiala.....	29
3.2. Ekipoak eta prozedurak.....	31
3.2.1. Partikulen prestakuntza eta karakterizazioa.....	31
3.2.2. Hidrogelen prestakuntza	35
3.2.3. Liberazioa.....	35
3.3. Emaitzak	37
3.3.1. Partikulen prestakuntza.....	37
3.3.2. Partikulen karakterizazioa	39
3.3.3. Hidrogelaren azterketa morfologikoa eta liberazioa.....	41
4. ONDORIOAK	44
5. EGINBEHARREKOEN DESKRIBAPENA ETA ARRISKUEN ANALISIA.....	46
5.1. Eginbeharrekoen deskribapena	46
5.2. Gantt diagrama	49
5.3. Arrisku analisia	50
5.3.1. Arriskuen identifikazioa eta balorazioa	50



5.3.2. Prebentziorako plana eta arriskua gertatzekotan jarraitutako prozedura 51

6. ASPEKTU EKONOMIKOAK53

6.1. Aurrekontua53

7. BIBLIOGRAFIA55



1. Taula, argazki, grafiko eta akronimo zerrenda

1.1. Irudiak

Irudia 1. PVA/CS hidrogelaren formazio prozesua (a) tenperatura baxuan dagoen soluzioa (b) tenperatura altuan sortzen den gela [4]	14
Irudia 2. Siliconaz egindako lentilla eta bere ezaugarriak.....	15
Irudia 3. Zaurien maila ezberdinak.	16
Irudia 4. Zaurien sendakuntzarako hidrogela [16]	17
Irudia 5. Hezur eta kartilago ehunen birsortzea hidrogelaren bidez[18].....	17
Irudia 6. Medikamentu liberaziorako erabiltzen diren hidrogelaren aplikazio gune ezberdinak [20].	18
Irudia 7. Urdaileko medikamentu liberazio erabilitako hidrogel aplikazioa [23].	19
Irudia 8. Medikamentu liberazioa begiko gune ezberdinetan [24]	20
Irudia 9. Hidrogelaren liberazio transdermalaren eskema [25]	21
Irudia 10. Hidrogelaren azalpeko liberazio eskema [26]	21
Irudia 11. Farmakoz betetako egitura nano-/mikrometrikoa [30]	22
Irudia 12. Hidrogela kapsularatutako farmakoarekin.....	25
Irudia 13. Doxorubizina partikulak eta dispersatutako aspirina dituen hidrogelaren eskema.	26
Irudia 14. Jarraitutako prozedura esperimentalak.	28
Irudia 15. Polibinil azetatoaren hidrolisia PVA-ren lorpenerako.	29
Irudia 16. Partikulen prestakuntzaren eskema.	31
Irudia 17. Ultra Turraxa.	32
Irudia 18. Sonikazio ekipoa.....	32
Irudia 19. Zentrifugazio makina.....	32
Irudia 20. Vortexa.	33
Irudia 21. Ultrasonu ekipoa.	33
Irudia 22. Partikulak lehortzeko erabilitako labea.....	33
Irudia 23. LDS ekipoa.	34
Irudia 24. UV espektrometroa.....	36
Irudia 25. Bi metodoen bidez lortutako nanopartikulen ezberdintasuna. (a) 2. metodoa (b) 1. metodoa.	38



Irudia 26. SEM bidez lortutako partikulen irudiak a) mikropartikulak b) Nanopartikulak bi handipen ezberdinetan.	40
Irudia 27. Hidrogelaren barrenean partikulek duten kokapenaren SEM irudia.	41
Irudia 27. Gantt diagrama.	49

1.2. Taulak

Taula 1. Partikulak egiteko erabilitako bi metodoen konparaketa taula.	37
Taula 2. Karga ahalmena eta kapsularatze efizientzien laburpen taula.	41
Taula 3. Probabilitate eragin konparaketa.	51

1.3. Grafikoak

Grafikoa 1. Diametro hidrodinamikoaren distribuzioa.	39
Grafikoa 2. Nano- eta mikropartikulen tamainen distribuzioa. Berdea: Nanopartikulak; Laranja: Mikropartikulak	40
Grafikoa 3. TCH antibiotikoaren liberazio profila.	42
Grafikoa 4. IBU nano- eta mikropartikulen liberazio profila. Urdina: Mikropartikulak; Laranja: Nanopartikulak	43

1.4. Akronimoak

- PVA: Polibinil alkohola.
- CS: Kitosanoa.
- TCH: Tetraziklina hidroklorida.
- IBU: Ibuprofenoa.
- PLGA: Poli (laktida-glikolida).
- DCM: Diklorometanoa.
- PBS: Fosfatodun gatz soluzioa.
- UV: Ultramore espektrometroa.
- DLS: Argi difusio dinamiko bidezko ekipoa.
- SEM: Ekorketazko Mikroskopia Elektronikoa.
- PLA: Poliazido laktikoak
- PGA: Poliazido glikolikoak



2. MEMORIA

2.1. Sarrera

Ondorengo ikerketa lanean, PVA eta CS egindako hidrogel termosentikorren liberazio duala aztertuko da, medikamentu hidrofilo eta hidrofoboak konbinatuz. Horretarako lehenik eta behin testuingurua eta gaiaren egoera aztertuko dira, ikerketa arlo honetan dauden aukera desberdinak ikusteko eta medikamentu egokiak aukeratzeko.

Ondoren, helburuak eta proiektuaren norainokoa finkatu dira eta aldi berean proiektu honek ekarriko lituzkeen onurak aztertuko dira. Proiektua aurrera eramateak laborategi lana dakarrenez egon daitezkeen arrisku posibleak aztertuko dira kontingentzia plan egoki bat planteatzeko.

Behin aurretiko lan guztia finkatu dela erabilitako prozedura eta horretarako beharrezkoak diren material, ekipo eta metodoak azalduko dira, bai eta esperimentuak aurrera eraman ahal izateko beharrezkoa litzatekeen aurrekontua.

Azkenik, lortutako emaitzak idatzi eta aztertuko dira egindako lan guztiaren ondorioak atera ahal izateko.

2.2. Testuingurua

Medikamentu ezberdinen administrazioa kasu askotan gatazka puntua izan daiteke, administrazio modu tradizionalak izan dezaketen efizientzia baxuagatik. Modu honetan hartutako farmakoek ez dute normalean kontzentrazio konstante bat izaten kaltetuta dagoen gunean, eta horrek dosien behin eta berrizko errepikapena eragiten du. Honek toxikotasun arazo eta albo kalte larriak eragin ditzake zenbait kasutan [1].

Arazo hauei aurre egiteko, liberazio kontrolatuko sistemak alternatiba egokia dira. Sistema hauek medikamentua modu lokalizatu eta konstanteago batean administrazteko aukera ematen dute. Gehienetan, farmako bakarreko sistemak erabili izan dira, baina zenbait gaixotasunen aurrean, medikamentu bakarraren erabilera ez da nahiko eta horregatik liberazio dualeko sistemak erabiltzea abantaila handia da optimizazio terapeutikoa lortu ahal izateko [2].

Aipatutako arazoari alternatiba bezala liberazio dualeko sistemak egokiak direla ikusita, ondorengo ikerketa lanean PVA eta CS sisteman oinarrituriko hidrogel fisiko termosentikorrek sortzea erabaki da solubilitate ezberdineko farmakoak erabiliz.

Ikerketa lan guzti hau, Bilboko Ingeniaritza eskolako Meatze eta Metalurgia eta Materialen Zientzia saileko laborategian aurrera eramango da Biomaterialen Zientzia eta Ingeniaritzari buruzko ZIBIO ikerketa taldearen barnean.

ZIBIO taldea 2012-tik Basque Research Center for Macromolecular Design and Engineering (POLYMAT) taldearen barrenean dago. ZIBIO taldea modu iraunkorrean Bilboko Ingeniaritza Eskolako (UPV/EHU), Meatze eta Metalurgia Ingeniaritza eta Materialen Zientzia sailean lanaldi osorako titularrak diren irakasle katedratiko batez eta bost irakasle doktozez osatuta dago. Gainera, gaur egun lau ikertzaile postdoktoral eta hiru doktorego aurreko ikertzaile daude lanean. Haez gain, taldea, formakuntzako bidean dauden zenbait ikasle laguntzailek ere osatzen dute.

Modu honetan, taldeak sortu zenetik gaur egun arte, hainbat proiektu ezberdin landu eta garatu ditu enpresa pribatu, UPV/EHU, Eusko Jaurlaritza edo Espainia eta Europako ministerio ezberdinek emandako diru laguntzei esker. Orain gutxi, ZIBIO taldearen plan estrategikoa Eusko Jaurlaritzako Hezkuntza eta Ikerkuntza Saileko ikerketa talde osatuen deialdian onartua izan da, eta 2016-2021 artean taldearen ikerketa lerro nagusiak honakoak izanen dira:

- Aktibitate biologikodun material biodegradagarri berrien garapena. Biologikoki aktiboak diren polimero/molekulak (Biologically Active Molecules, BAM).
- Biodegradagarriak diren kopoliester berrien sintesia eta karakterizazioa.
- Erradioopazitate eta bioaktibitate hobetuak dituzten biodegradagarriak diren



konposatu polimerikoen ikerketa.

- Injektagarriak diren hidrogelak.
- Nukleo pulposoa duten zeluletan interleucina-1 β -k sortutako hantura modelo batean, estres oxidatiboa prebenitzeko mikroerreaktore polimeriko antioxidatzaileen garapena.
- Polimeroen prozesaketa teknika berriak: 3D inpresioa eta elektro-harilketa. Ehun ingeniartzako zelula-euskarrien garapena.

Garatuko den ikerketa lana, hidrogel injektagarrien ikerketa lerroaren barne egingen da, gorago aipatu den soluzioan irakurri daitekeen moduan. Ainhoa Lejardi eta Ester Zuza izanen dira zuzendari eta zuzendari laguntzaile eta laborategiko teknikak aurrera eramateko ere, Aitor Larrañagaren laguntza izanen da.



2.3. Helburuak eta norainokoak

Proiektu honen helburu nagusia, PVA eta CS oinarritutako hidrogel termosentikor injektagarrien eraketa da, bi agente farmakologiko ezberdinen liberazioarako. Hidrogel hauen aplikazio eremua kaltetutako guneetan farmako liberazio lokalizatua eta espezifikoa egitea da gaixoaren sendakuntza azkar, efiziente eta hobeagorako.

Erabilitako farmakoak bata hidrofiloa eta bestea hidrofoboa izatea erabaki da, hori dela eta, eta ezaugarri ezberdinak dituztenez, hauen liberazio profilak aztertzea ere helburuetako bat izanen da, modu honetan terapia konbinaturako egokiak diren ikusi ahal izateko.

Medikamentuetako bat hidrofoboa izanen da, honek hidrogelaren barnean sartzeko arazoak ekarriko ditu eta hori dela eta nano- eta mikropartikulen barnean sartzea erabaki da. Beraz, beste helburuetako bat hauen fabrikazio prozesuaren ikasketa eta ondorengo aplikazioa izanen da.

Hau guztia aurrera eramateko, lehenik eta behin mikropartikulak eta nanopartikulak eginen dira eta hauen barneko farmako proportzioa kalkulatu da gelean sartuko den farmako kantitatea zein den jakin ahal izateko. Hauek egin ondoren, hidrogelak eginen dira medikamentuak gehitzean gela modu egokian sortzen dela ziurtatuz eta azkenik bi farmakoen aldibereko liberazio profila aztertuko da.

2.4. Proiektuaren onurak

Proiektu honetan eraturako liberazio dualeko hidrogel hauek, onura eta aurrerapen asko ekar ditzakete arlo ezberdinetan, hala nola, medikuntza arloan, arlo zientifikoa edo arlo ekonomikoan besteak beste.

Lehenik eta behin, hidrogel hauek egiteak, gaixo baten kaltetutako gunea sendatzeko orduan abantailak ekarriko lituzke. Gel hauek kaltetutako gunera ongi egokitzen dira, honela gaixoak ez ditu objektu mingarri edo ezatseginak izanen sendakuntza prozesuan zehar.

Aukeraturako sistemak, injektagarriak dira, suntsikortasun baxuko teknikak erabiltzeko aukera emanaz. Hau pazientearentzat onura nabarmena da, modu honetan, tratamendua xiringa baten bidez soilik egin baidaiteke. Honek bi abantaila nagusi ditu ebakuntza kirurgikoen beharra deuseztatzen baita. Alde batetik, ez da kirolan ireki behar gaixoari beharrezkoa zaion tratamendua emateko, honekin kostu ekonomikoak guztiz murriztuz. Bestetik, ebakuntzarik ez egotean gaixoak ez ditu honek ekar ditzaken trauma eta ondorioak jasango.

Liberazio dualari dagokionez, bi medikamentu erabiltzean kaltetutako edo gaixo dagoen guneko sendakuntza askoz ere azkarragoa eta eraginkorragoa da. Bi farmako konbinatzean biek dituzten onurak konbinatzen dira infekzio eta arazo posibleak ekiditeko eta gunea hobe sendatzeko.

Ikerketa lan honetan erabilitako farmakoen kasuan, bata hidrofila eta bestea hidrofoboa dira. Hidrofila hidrogelan zuzenean nahastuta dago eta hidrofoboa aldiz, partikula moduan. Modu honetan hidrofila dena denbora tarte laburrean askatzen da, sendaketa prozesuaren hasierako arazoak ekidinez. Hidrofoboa aldiz, hasieran, hidrofiloarekin batera, askatzen da lehenengoari lagunduz eta terapia konbinatuaren bidez efizientzia lortuz, baina partikula moduan egotean denbora luzera motelago askatzen doa tratamenduaren jarraipen egokia eginez eta denbora luzeagora egon daitezkeen arazoak ekidinez.

Azkenik, kaltetutako gunean bertan injekta daitezkeenez, farmakoek era zuzenago batean eragiten diote kaltetutako guneari eta honek administrazio modu tradizionalak ekartzen dituzten arazo posibleak eragozten dituzte, gaixoen sendakuntzan onurak ekarri eta efizientzia lortuz tratamenduetan.

2.5. Gaiaren egoera

Ondorengo puntuan, garatuko den ikerketa lanaren gaiaren inguruko zenbait informazio bilduko da, gaia hobeto ulertu eta zein aukera dituen ikusteko. Horretarako, lehenik eta behin, hidrogelen inguruko informazio orokorra bilduko da, ikerketa lan honetan erabiliko den gel motaren inguruko informazioa emanaz eta hidrogel konposaketa ezberdinen zenbait aplikazio aztertuz. Ondoren, nano- eta mikropartikulen inguruko informazioa garatuko da, izan ere ikerketa lan honen atal garrantzitsu bat dira. Azkenik, helburu den sistema dualaren inguruko informazioa azalduko da.

2.5.1. Hidrogelak: sorkuntza eta aplikazioak

Hidrogelak, hiru dimentsioko egitura hidrofiliakoak dira [1, 3-6]. Porotsuak, bigunak eta elastikoak dira eta bere barnean ura xurgatzeko duten gaitasunari esker, puztu egiten dira eta gorputzeko ehunen antzeko egitura lortzen dute [1, 5, 7]. Tamaina aldakorra izan dezakete eta dagokion guneko forma hartu [1, 7].

Fisikoak edo kimikoak izan daitezke dituzten elementuen interakzioaren arabera.[6, 8] Kimikoetan, gurutzaketa, lotura kobalenteen bidez ematen da eta aldiz fisikoetan, elkarrekintza fisikoen ondorioz (indar elektrostatikoak, Van der Waals-en idarrak, hidrogeno zubiak, etab) [4]. Fisikoetako kateen loturak ingurunekeo eragile edo estimuluak erabiliz lor daitezke, hala nola, pH aldaketa, indar ionikoak, eremu elektrikoak edo tenperatura [9].

Aipatutako lotura ezberdintasun hori dela eta, kimikoek egitura erresistenteagoa dute fisikoek baino. Fisikoen kasuan, erresistentzia baxuagoa izateaz gain, poro tamaina kontrolatzea zailagoa da, bai eta, funtzionalizazio kimikoa ere. Hala ere, kimikoetan ez bezala, kasu honetan ez dago gurutzatze polimero edo prozesu hori gertatzeko beharrezkoa den agente laguntzaile baten beharrik eta horrek, zenbait kasutan toxikoa izan daitekeen sustantzia baten beharra ezabatzen du [1, 5, 6].

Biomedikuntzan erabilitako zenbait hidrogelen ezaugarri edo propietate nagusienetako bat beraien injektagarritasuna da. Gorago aipatu bezala, ikerketa lan honetan injektagarriak diren hidrogelekin lan egingen da, honela kaltetutako gunea tratatzeko orduan suntsikortasun gutxiko teknika bat erabiltzeko aukera ematen du eta modu honetan, gaixoari ez zaio ebakuntza kirurgikorik egin behar. Hidrogela zuzenean kaltetutako gunean sartzen zaio ebakuntza batek ekar ditzaken trauma eta ondorioak saihestuz. Gainera, tamaina aldakorra izan dezakete eta dagokion guneko forma hartu dezakete [1, 7].

Ikerketa lan honetan, erabiliko den sistema PVA eta CS-an oinarritutakoa izanen da. PVA eta CS biodegradagarriak eta ez toxikoak diren bi polimero dira, dituzten ezaugarriengatik oso erabiliak direnak biomedikuntzako aplikazioetan. Biek elkartzean

egitura itzulgarri eta auto sendagarri bat lortzen da.[10] Honen bitartez lortzen diren hidrogelak fisikoak dira eta tenperatura aldaketaren bidez lortzen da hiru dimentsioko egituraren sorrera.

Barnean sartu zaizkion farmakoei dagokienez, solubiliate ezberdineko bi farmako erabiltzea erabaki da. Bata, hidrofilikoa da eta bestea hidrofoboa. Azkena nano- eta mikropartikulen barnean sartzea erabaki da hidrogelaren egiturara gehitu ahal izateko. Erabilitako medikamentuak, tetrziklina hidrokloruroa (TCH) eta ibuprofenoa (IBU) izan dira. Lehen hidrofilikoa den antibiotikoa da eta bigarrena hidrofoboa den antiinflamatorioa. Bien konbinaketarekin helburuetan aipatutako soluzioa bilatzen da.

Sistema honen funtzionamendua hobe ulertzeko, ondorengo lerroetan, bere egituraren sorrera aztertuko da, bai eta hidrogel mota ezberdinen aplikazioak ikusiko dira.

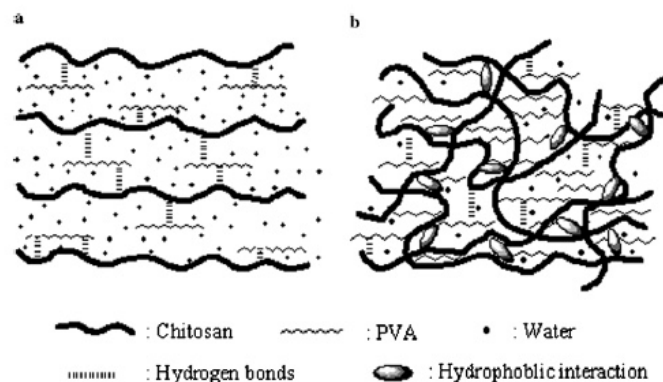
- **Hidrogelaren formazioa**

CS pH-arekiko aldakorra den polisakaridoa da. pH baxuetan, azidoetan, uretan disolbagarria bihurtzen da eta positiboki kargatu egiten da. Base ahul bat gehitzen bazaio, adibidez NaHCO_3 azidotasuna jaitsi eta basikoago bihurtzen da baina horrek prezipitatuak agertzea ekar dezake nahastutako egiturari. Horregatik, nahaste horri PVA gehitzen zaio [4].

Temperatura baxuetan CS-ri PVA eta NaHCO_3 gehitzean hidrogeno zubiak sortzen dira CS eta PVA artean, bai eta ura eta PVA artean, azken hau oso hidrofiloa baita. Temperatura baxu hauek ere CS-aren disoluzioa dakarte eta honen mugimendua eragozten dute kateen arteko lotura eragotziz [4].

Aldiz, tenperatura igotzen denean sortutako hidrogeno zubi horien indarra ahuldu egiten da eta CS-ak mugimendu ahalmena lortzen du. Ur molekula mugitu egiten dira eta CS kateak beraien artean elkartzen dira, modu honetan hidrogela sortuz. Esan daiteke, gela sortzearen eragile nagusiak elkarrekintza hidrofobikoak direla.[6]

Ondorengo irudian tenperatura aldaketarekin gertatzen den fenomeno hau ikus daiteke.



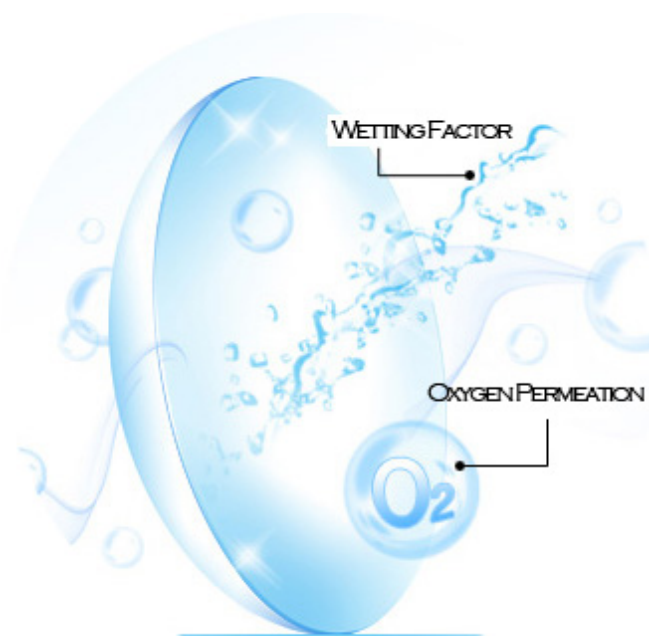
Irudia 1. PVA/CS hidrogelaren formazio prozesua (a) tenperatura baxuan dagoen soluzioa (b) tenperatura altuan sortzen den gela [4].

- **Hidrogel aplikazio orokorrak**

Aurreko paragrafoetan aipatu bezala, hidrogelek gorputzeko atal eta ehunekin bateragarriak egiten dituzten ezaugarri asko dituzte. Hori dela eta beraien aplikazio eremua oso zabala da, lentilletatik hasita, lan honetan aztertzen diren medikamentu liberazio sistemetara arte. Ondorengo lerroetan zenbait aplikazio aipatuko dira.

⇒ *Lentillak*

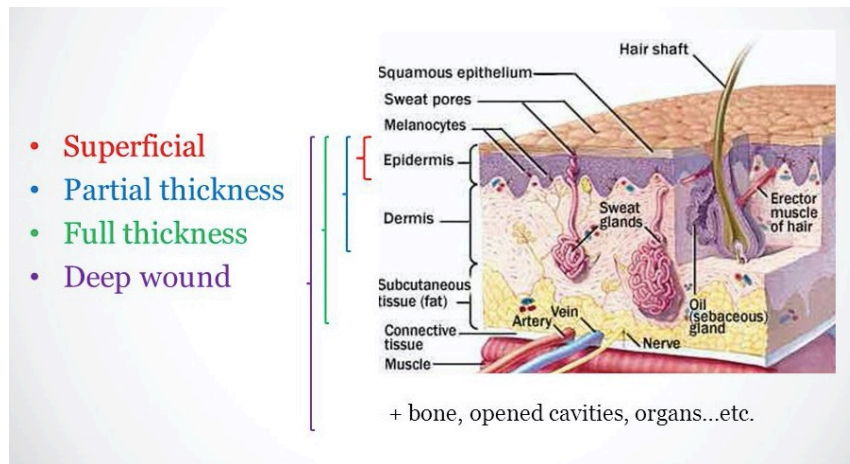
Ukipen-lenteak orokorrean bi taldetan bana daitezke, gogorak eta bigunak. Gogorrek iraupen luzeagoa dute baina zailagoa izaten da beraiek eramatea eta egokitze denbora luzeagoa dute. Bigunak aldiz, hidrogeletan oinarrituak daude eta gorputzera errazago egokitzen dira baina arazo bat dute, gasekiko iragazkortasun baxua dute eta ondorioz batzuetan ez dute oxigenoa korneara kantitate nahikoan iristen uzten [5]. Gaur egun, silikonazko hidrogelak oso erabiliak dira aipatu berri den arazoari aurre egiten diotelako eta oxigeno kantitate gehiago pasatzen uzten dutelako, begira egokitze ona izanik. Hala ere, material honetako lentillek proteinen jalkitze handiago dakarte eta honen ondorioz lentearen hondatzea ekar dezake [11]. Lentilla biguin hauek ere, bistako arazoak konpontzeaz gain, medikamentu liberaziorako erabili daitezke. Hala ere, hidrogeletan oinarritutako lentillek medikamentuz kargatuak izateko gaitasun baxua dute eta gainera, bat-bateko liberazio jasaten dute [12].



Irudia 2. Silikonaz egindako lentilla eta bere ezaugarriak.

⇒ *Bendak*

Zauriak azaleko haustura edo akatsak dira zenbait ingurune baldintzek eraginak izan daitezkeenak. Eragiten dituzten azaleko geruzen arabera sailkatzen dira; gainazalekoak, lodiera partzialekoak eta lodiera osokoak. Sailkapen honen barruan ere bi taldetan bana daitezke, iraupen gutxikoak edo kronikoak. Azken hauek, jarraipen eta zaintza handiago behar dute eta ondorioz horrek kostu bat dakar medikuntza sistemarentzat.[5]

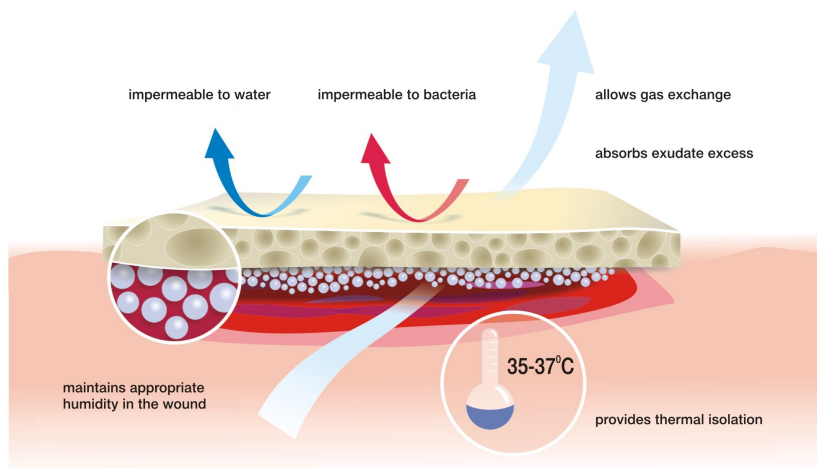


Irudia 3. Zaurien maila ezberdinak.

Zauriak sendatzeko produktu ideal batek honako ezaugarriak bete beharko lituzke: askatzen diren jariakin eta toxinen soberakina xurgatu, hezetasun egokia mantendu zauria eta bendaren artean, zauria kanpo infekzio iturrietatik babestu, zauria gehiegi berotzetik babestu, gasekiko iragazkortasun egokia izan eta zauriari inongo kalterik eragin gabe kendu ahal izatea.

Gaur egun aurki daitezkeen produktuen artean itsaskortasun gutxiko bendak, iragazkortasun ertaineko filmak, hidrokoloideak, hidrogelak, alginatoak, aparrezko bendak eta benda antimikrobianoak daude [13]. Nahiz eta aukera guzti hauek izan oraindik ohikoa da gasak erabiltzea, izan ere, produktu hau merkea, lortzeko erraza eta zaurientzat egokia da baina arazoak ekar ditzake kentzerako orduan [14].

Gorago aipatu bezala, zauriak sendatzeko bendek izan beharreko ezaugarrietako bat hezetasuna mantentzeko gaitasuna izan behar da. Horretarako hidrokoloideak eta hidrogelak oso egokiak dira dituzten ezaugarriengatik. Gainera, hildako ehunak ezabatzeko gaitasuna dute honela zauria behar den bezala sendatuz [13]. Hidrogelen kasuan, oso erabiliak dira hildako ehunak kentzeko sistema bezala, hezetasunezko bendetan eta zauriak sendatzeko erabiltzen diren pastetako osagai moduan [15]. Baita ere, zenbait benden egituran sartzen dira beste material batzuekin batera material konposatuak sortuz edozein motako zauriak sendatzeko [5].

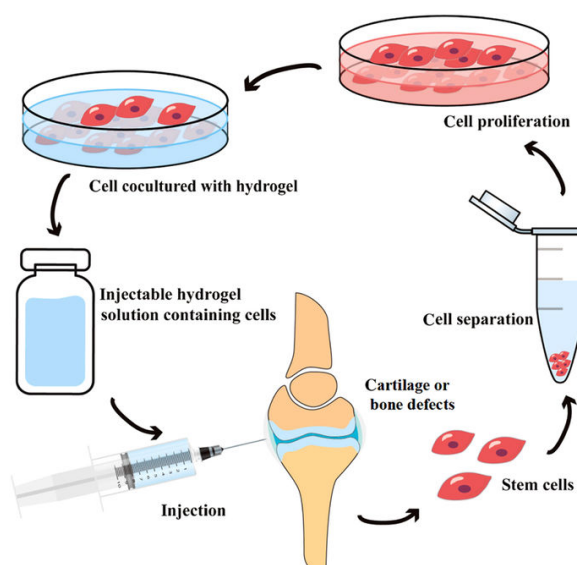


Irudia 4. Zaurien sendakuntzarako hidrogela [16].

⇒ *Ehun-ingeniaritza*

Gaur egun, pertsona askok gorputzeko organo edo ehun baten galera sufritzen dute istripu edo gaixotasun baten ondorioz. Nahiz eta gorputz atalen transplanteak aukera egokia diren arazo horiek konpontzeko, organo-emaile kantitatea oso mugatua da eta askotan ez da nahikoa dauden behar guztiak asetzeko [17].

Hau guztiagatik, azken urteetan hidrogelen aplikazio eremu nagusienetako bat ehun-ingeniaritza bihurtu da. Hutsuneak betetzeko elementu moduan, liberazio elementu moduan edo zelulak bertan kokatu eta ehunak garatzeko hiru dimentsioko elementu moduan erabili daitezke [5].



Irudia 5. Hezur eta kartilago ehunen birsortzea hidrogelen bidez[18].

⇒ *Higiene produktuak*

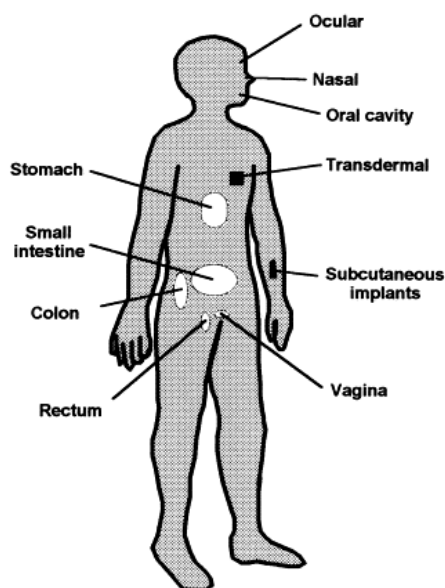
Oso xurgatzaileak diren polimeroak duela 30 urte erabiltzen hasi ziren nekazaritzan eta pixoihalen industrian eta lehenengoz 1978an Japonian produzituak izan ziren emakumeen konpresak egiteko [19]. Ondoren hidrogel oso porotsuak erabiltzen hasi ziren aplikazio hauetarako. Hasieran erabilitako polimeroekin konparatuz, erresistentzia mekaniko altuagoa eta elastikotasun altuagoa erakusten zuten, nahiz eta xurgapen egoeran egon.

Oso xurgatzaileak diren polimero hauek, oso erabiliak dira higiene produktuetan, izan ere, hezetasuna gorputzetik kentzeko gaitasuna dute, honela azalean egon daitezkeen arazo eta narriadurak eragotziz eta erabilera eroso bat eskainiz. Helduentzako konpresa eta pixoihaletan ere erabiltzen dira eta beraien erabilera asko hazi da, gorago aipatutako ezaugarriez gain, germenek kolonizazioa eragotzen baitute, honela, kutsatze fekal arriskua gutxituz eta infekzio gastrointestinalak sortzeko aukera txikituz [5].

Gaur egun, produktu hauek duten erronka handienetako bat, behin erabiltzekoak diren pixoihalak, ospitaleetako oheetako oihalak, konpresa eta antzeko produktuak birziklagarriak egitea da egon daitezkeen ingurumen arazoei aurre egin ahal izateko [5].

⇒ *Medikamentuen liberazioa*

Hidrogelak medikamentu liberaziorako oso aukera interesgarria bihurtu dira dituzten propietate fisikoak direla eta. Duten porositate altuko egiturak farmakoak beraien barnean sartu eta ondoren modu kontrolatu batean askatzeko gaitasuna ematen die, honela kontzentrazio altuak lortuz foku jakin batean [5]. Hau guztiagatik, liberazio kontrolatuko sistemak oso erabiliak dira ahoko, ondesteko, begiko eta azaleko geruza ezberdinetako aplikazioetan [5, 20].



Irudia 6. Medikamentu liberaziorako erabiltzen diren hidrogelen aplikazio gune ezberdinak [20].

-Aho bidezko farmako liberazioa

Administrazio modu hau hidrogelen aplikazio farmazeutikoetan gehien erabili izan dena da. Beraien puzte gaitasuna eta bioitsaskortasuna kontrolatuz leku zehatzetan medikamentua askatzeko aukera ematen dute, honela farmakoaren absortzioa hobetuz. Administrazio bide honen bidez, lau ingurune ezberdinetan farmakoak askatzeko aukera dago: ahoa, urdaila, heste mehea eta kolona [20].

→Farmako liberazioa aho barrunbean

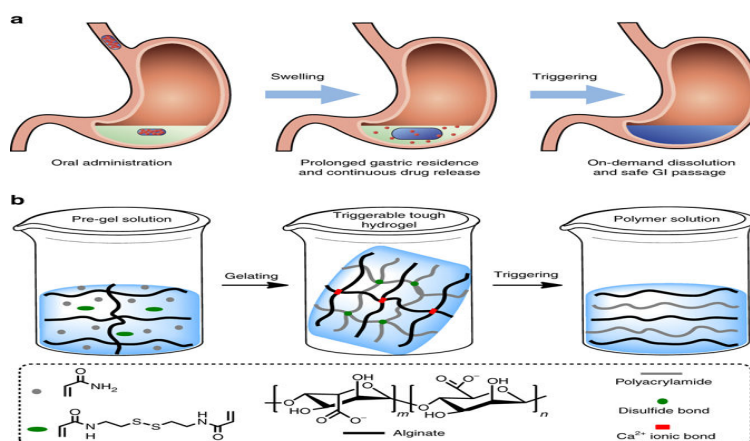
Gune honetako liberazioak aplikazio ugari izan ditzake ahoko tratamendu ugarritan, hala nola, gaixotasun periodontaletan, estomatitisetan, onddo eta birus infekzioetan eta barrunbeko kantzerretan. Honetarako, mota askotako bio itsasgarriak sortu eta erabili dira, adibidez, Nagai eta laguntzaileek ultzeren tratamendurako pilula batzuk atera zituzten Aftach[®] izen komertzialarekin [20, 21].

→Traktu gastrointestinalerako liberazioa

Duen administrazio erraztasunagatik eta absortzio sistemikorako duen azalera handiagatik, traktu gastrointestinala gehien erabiltzen den farmako administrazio bidea da, baina aldi berean administrazio bide konplexuenetakoa. Aho barrunbeko gaixotasunen kasuan bezala hidrokeletan oinarritutako elementuak erabili daitezke. Adibidez, Patel eta Amiji-k urdaileko ingurune azidoan antibiotikoak askatzeko pH-arekiko sentikorrak ziren hidrogel batzuk sortu zituzten ultzeren tratamendurako [19].

Administrazio bide honen erronka handienetako bat peptido eta proteinen liberazioa da, izan ere, digestio aparatuko entzimek proteinen funtzioak desaktibatzen dituzte. Hala ere, zenbait hidrokelek, diseinu molekular egokiarekin arazo honi aurre egin diezaiokete [20].

Beste aplikazio berri bat, intsulinararen administrazioa izan da. Lowman eta laguntzaileek pH-arekiko sentikorrak diren hidrogelak sortu zituzten medikamentu honen askapen fokalizaturako [22]



Irudia 7. Urdaileko medikamentu liberazio erabilitako hidrogel aplikazioa [23].

-Ondesteko medikamentu liberazioa

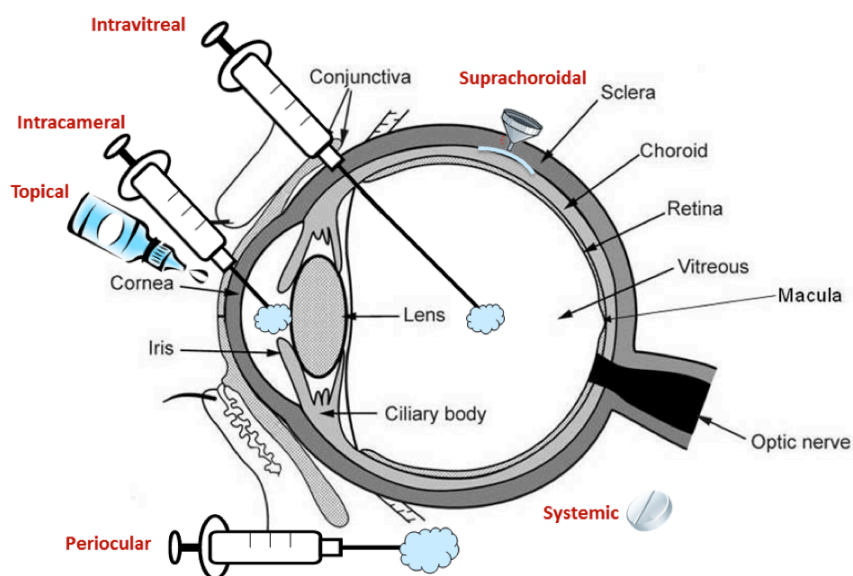
Liberazio bide hau zenbait medikamenturen banaketarako erabilia izan da, nahiz eta administrazio bideetatik pazienteen onargarritasuna nahiko aldakorra izan. Aplikazio nagusiak ondesteko gaixotasunak dira, adibidez, hemorroideak. Gainera, jakina da ondestearen beheko ataletik xurgatutako medikamentuak zuzenean zirkulazio sistemara joaten direla, hori dela eta, administrazio bide hau aukera egokia da hasierako metabolizazio oso gogorra jasaten duten medikamentuentzat [20].

Ohikoa da, ondestetik medikamentuak administratzeko supositorioak erabiltzea, baina hauek medikamentua kontrolik gabe askatzen dute eta batzuetan beste gune batzuetara hedatu daitezke eta honek arazoak ekar ditzake. Arazo hauei aurre egiteko hidrogela erabiltzea aukera ona da egoki itsasten eta kokatzen baitira administrazio gunean eta aipatu berri den liberazio arazoa eragozten baitute [20].

-Begiko medikamentu liberazioa

Begiko medikamentu liberazioaren kasuan, begiak dituen babes mekanismo ezberdinek (malkoen drenajea eta kornearen iragazkortasun baxua) askotan farmakoa era egokian liberatzea eragozten dute. Modu honetan, ohikoak diren begiko tantak azkar ezabatzen dira begitik eta farmakoaren absortzio baxua ematen da, honela dosien frekuentzia handiagoa behar izanez.[20]

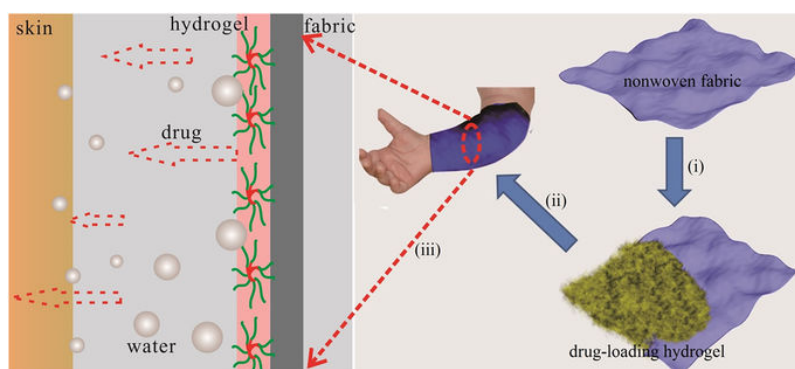
Hau guztiatik, ikertzaile askok medikamentu liberazio luzeago eta egonkorragoa izan dezaketen sistemak bilatu dituzte. Ukendu eta suspentsioak begian erretentzio altuagoa dute, baina honek batzuetan deserosotasuna ekar diezaioke pazienteari. Horregatik, hidrogelak aukera oso ona dira dituzten propietate elastikoengatik eta gaixoari erosotasun handiagoa ekartzeagatik. *In situ* sortzen diren hidrogelak batez ere, oso erakargarriak dira administratzeko erraztasunagatik. [20]



Irudia 8. Medikamentu liberazioa begiko gune ezberdinetan [24].

-Medikamentu liberazio transdermala

Tradizionalki, administrazio bide transdermala azaleko arazo eta infekzioetarako erabili izan da, baina azken urteetan medikazio bide hau liberazio sistemikorako bide posible bezala ikusi da. Azken aplikazio honen abantailak honakoak dira: medikamentua modu konstanteago eta iraupen luzeagokoan aska daiteke, liberazioa erraz eten daiteke soilik sistema kenduz eta medikamentuek hasierako metabolismo azkarra eragotzi dezakete. Gainera, ukenduek ez bezala, hidrogelak azalari erosotasun handiagoa ekartzen diote duten ur kantitate handiagatik.

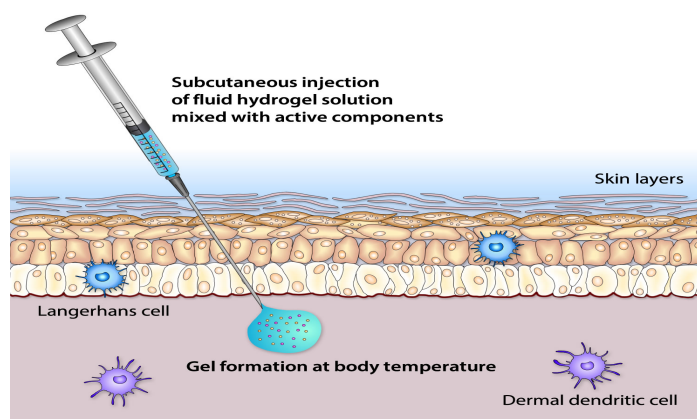


Irudia 9. Hidrogelen liberazio transdermalaren eskema [25].

-Larruazalpeko medikamentu liberazioa

Administrazio honen aplikazio eremu nagusia inplante bidezko metodo terapeutikoak dira. Azal azpian kokatutako sistemek gorputzak erantzun ez desiragarriak ekar ditzakete, hala nola, inflamazioak eta erantzun immunologikoak [20].

Duten ur kantitate handiagatik hidrogelak biobateragarriak kontsideratzen dira. Gainera, aplikazio honetarako propietate interesgarriak dituzte, hala nola, narriadura mekaniko minimoa, proteinen absortzio eta zelulen itsaspenaren eragozpena, medikamentu mota ezberdinen onargarrtasuna eta liberatzeko gaitasuna [20].



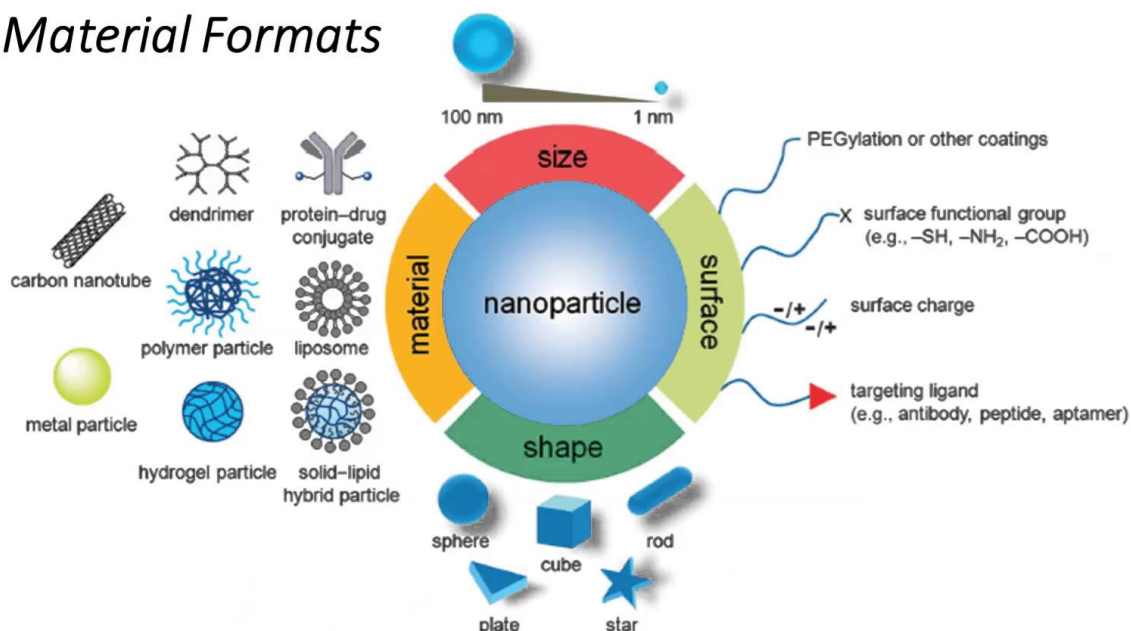
Irudia 10. Hidrogelen azalpeko liberazio eskema [26].

2.5.2. Mikro- eta Nanopartikulak

Farmako batek gorputzean sartzean, askotan arazoak izaten ditu dagokion ehun edo organoetara iristeko eta honek tratamenduen behin eta berriroko errepikapena ekartzen du honek pazienteari ekar diezaiokeen kaltearekin batera. Farmakoek odol korrontean sartzean honako arazoak izan ditzakete: solubilitate baxua, ehunen kaltetzea, bioaktibitatearen galera azkarra, zinetika ez desiragarria izatea, banaketa biologiko ez ona eta dagokion ehuna ez aukeratzea eta beste batera joatea.[27]

Aipatutako arazoei aurre egiteko eta kaltetutako gorputz atalen guztizko sendatzea bermatzeko polimeroetan oinarritutako nano- eta mikropartikulak eta lipidoak bezalako farmako liberazio sistemak alternatiba egokia dira. Modu honetan, medikamentua inguruko eragileetatik babesten da, dagokion ehunetara eta zeluletara modu zuzenagoan iristen da eragin handiagoa izanez, bioerabilgarritasuna hobetzen da, egonkortasuna handitzen da eta propietate farmakologiko eta terapeutikoak hobetzen dira. [27-29] Honela, nahi den ehunera pisu molekular baxuko farmakoak, proteinak, peptidoak eta geneak zuzenean bideratu daitezke duten tamaina dela eta.[29]

Material Formats



Irudia 11. Farmakoz betetako egitura nano-/mikrometrikoa [30].

Nano- eta mikropartikulen ikerketa arloan asko erabili izan den eta erabiltzen den polimero bat poli (laktida-glikolida) (PLGA) da. Polimero hau biodegradagarria eta toxikotasun sistemiko minimokoa da eta arrakasta handiarekin erabili da proteina, DNA, peptido, gene eta hainbat farmakoren liberazioan.[31, 32]

⇒ *Gene liberazioa*

Degradazioa saihesteko duten gaitasunagatik nano- eta mikropartikulak oso aukera egokia dira DNA-ren liberaziorako. Hedley eta laguntzaileek bere lanean, DNA babesteko gaitasun hau demostratu zuten, modu honetan nanopartikulen barruko geneak modu egonkor eta iraunkorrean liberatzen ziren geneen espresio egonkorra lorturik [29].

⇒ *Proteinen liberazioa*

Proteinen aho bidezko administrazioa, traktu gastrointestinalerako barrera epitelialek mugatua dago, izan ere honen aurrean degradatu eta denaturizatu egiten baitira. Honek proteinaren funtzioa deuseztatu edo gutxitzen du eta ondorioz ez du bere funtzioa guztiz betetzeko ahalmenik. Nano- eta mikropartikulak erabiliz, proteinaren babesa lortzen da eta modu horretan terapia arrakasta handiagoarekin bete daiteke [29, 33].

⇒ *Txertoen laguntzaileen liberazioa*

Txertoen eraginkortasunean laguntzeko, antigenoak dituzten nano- eta mikropartikulak ikertu izan dira gaur egunean erabiltzen diren laguntzaileen alternatiba bezala. Honela, liberazio konstanteago eta kontrolatuagoa lor daiteke eta immunizazio maiztasuna txikitu egiten da [29, 33].

⇒ *Minbizi medikamentuen kapsularatzea eta liberazioa*

Aplikazio mota hau minbizi farmako askorekin aztertua izan da [31]. Ohiko minbizi tratamenduetan kaltetuta dauden zelulak eta kaltetu gabekoak eraso ohi dituzte farmakoek. Honek, tratamendua optimoa ez izatea eragiten du. Nano- eta mikropartikulen bidez zehaztasun falta horri aurre egiten ahal zaio eta farmakoaren banaketa biologikoa hobeto daiteke, medikamentuaren zirkulazio denbora luzatuz eta toxikotasuna eragotziz. Honela, pazientearen bizi kalitatea hobetzea lor daiteke, bere metabolismoaren gaineko inpaktua txikitu baidateke [34].

⇒ *Diabetesa tratatzeko medikamentuen (Intsulina) kapsularatzea*

Diabetesa tratatzeko orduan, azal azpiko lau txerto inguru behar dira glukosa maila balore egokietan mantendu ahal izateko. Honi aurre egiteko zenbait ikerlarik PLGA eginiko eta intsulinez betetako nanopartikulak proposatu zituzten medikazio oralean erabiltzeko eta honela txertoen frekuentzia txikitu ahal izateko. Sistema honek efizientzia egokia erakutsi zuen [35].

⇒ *Hormonen kapsularatzea*

Estradiol farmakoa, estrogenu natural bat da, menopausia ondorengo sintomak tratatzeko. Alzheimerre izateko arriskua ere gutxi dezake. Nanopartikuletan sartuz, aho



bidezko administrazioko farmakoaren eskuragarritasuna hobete daiteke eta dosien maiztasuna txikitu, albo efektuak txikituz eta gaixoaren bizi kalitatea hobetuz [36].

2.5.3. Liberazio dualeko sistemak

Ebakuntza baten ondorengo infekzio eta mortalitatea arazo larria bihurtzen ari da. 100-etik 7 pertsonak infekzio bakterianoak izaten dituzte ebakuntza bat izan ondoren. Hori dela eta, arazo hauei aurre egiteko beharrezkoa da beste sistema batzuen planteamendua [37].

Azken hamarkadetan farmako liberazio sistema kontrolatu desberdinak garatu eta aztertu dira medikamentuen eragin sendatzailea hobetzeko asmoz. Hauek erabiliz, administrazio modu tradizionalak ekar ditzaketen arazoak gutxitzen dira eta sendatze prozesua hobetzen da [3]. Izan ere, ohiko formulazioek ez dituzte kontzentrazio terapeutikoak lortzen eta gainera lortzen dituzten kontzentrazioek toxikotasun maila oso altua dute, gaixoari arazoak ekarriz [38].

Liberazio sistema kontrolatuek, farmakoaren solubilitatea handitzen dute, medikamentua sendatzeko dagoen gunean dagoen denbora handitzen dute, bigarren mailako ondorioak gutxitzen dituzte eta farmakoaren bioaktibitatea mantentzea lortzen dute [3].

Liberazio dualeko sistemak sistema hauen barnean aurrerapauso bat izan dira, izan ere, farmako bat baino gehiagoren liberazio portaerak kontrolatzea ahalbidetzen dute eta honela emaitza terapeutiko hobekak lortzen dira, kaltetutako gunearen sendakuntzan, bai eta, ehunen berrikuntzan ere [2, 3].

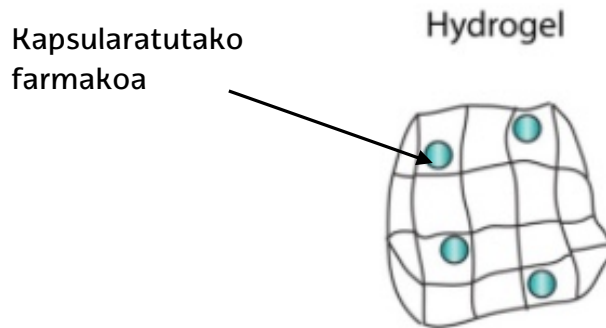
Sistema hauetan, toxikotasun eta akzio mekanismo desberdineko farmakoak konbinatuz, farmako bakarra erabiltzearen ondorioz sortutako dosi altuek eragindako albo ondorioak gutxitzea lortzen da eta gainera multi-farmakoekiko erresistentzia atzeratzen da, honela eragin terapeutikoa hobetuz eta gaixoaren bizitzeko aukerak handituz [39, 40].

Hala ere, sistema hauek sortzea erronka handia da, abantailak eskaintzeaz gain arazoak ere ekartzen baitituzte. Arazo horien artean, *in vivo* egiten diren saiakuntzetan egoten den fokalizazio baxua, gorputz atal osasuntsuen absortzio handia eta farmako-farmako interakzioa daude. Modu honetan zelula normalak kaltetuak gelditzea gerta daiteke eta honek gaixoaren osasunaren kaltetzea ekarriko luke [40].

Gainera, zelulak fase ezberdinetan aurki daitezke kaltetuta dagoen gunean. Terapia konbinatu hau erabiliz, zelularen egoera edo fase desberdin horiei aurre egiteko aukera handiagoa da [39]. Hori dela eta, kontuan hartu behar dira farmako bakoitzak dituen akzio mekanismoak, dosi ratioak eta albo ondorioak, diseinu egoki bat egin ahal izateko [37, 39].

Hau guztia lortzeko euskarri desberdinak erabiltzen dira. Horien artean, liposomak, dendrimeroak, diskoak, bastoiak, silika nanopartikulak, mikro eta nanopartikula polimerikoak eta lan honetan aztertzen diren hidrogelak [37, 41]. Liberazio dualeko

sistema hauek aplikazio eremu eta ikerketa lerro desberdinetan aztertuak izan dira, horien artean ondorengo lerroetan garatuko diren traktu gastrointestinalerako arazoetan erabilitako hidrogelak eta minbizi tratamenduan erabilitako hidrogelak.



Irudia 12. Hidrogela kapsularatutako farmakoarekin.

⇒ Traktu gastrointestinala

Gorago aipatu den bezala, liberazio dual eta kontrolatuko sistemek espezifikoki gaixo dagoen ehuna soilik tratatzeko gaitasuna dute. Honela, tratamendu zehatzagoa eginez. Traktu gastrointestinala askotan kaltetua gertatzen den gunea bat da, bai eta gehienetan erabilitako medikamentu administrazio bide bat. Sistema hauek erabiliz traktu gastrointestinalerako ehunak zuzenki trata daitezke edo farmakoak baskulazio gunetara bidali daitezke heste mehearen kapilar sareen bidez. [37]

Digestio hodia, pH aldakorreko gunea da. Honi esker, pH-arekiko aldakorrak diren hidrogelak diseina daitezke aipatutako funtzioak bete ahal izateko. Modu honetan, ahotik administratutako hidrogelak diseinuaren arabera dagokion pH gunera iristean, eta ez lehenago edo beranduago, liberatuko dute medikamentua. Sistema ezberdin hauei esker, lehenago iristezinak ziren gunetan medikamentu bat askatzea lor daiteke [37].

⇒ Minbizi terapia

Minbiziaren tratamendurako, gehien erabiltzen den tratamenduetariko bat kimioterapia da [38]. Hala ere, tratamendu mota honetan batez ere administrazioa zainen bidez egiten da. Modu honetan, zaila izaten da kontzentrazio altu eta erretentzio periodo altuak lortzea tumorea dagoen ehunean, izan ere, farmako molekulek tamaina txikiak dute eta honen ondorioz azkar kanporatuak izaten dira odol korrontetik [42]. Honek, dosien errepikapen handiagoa dakar eta berarekin batera tratamendua honela egiteak eragin ohi dituen albo kalteak .

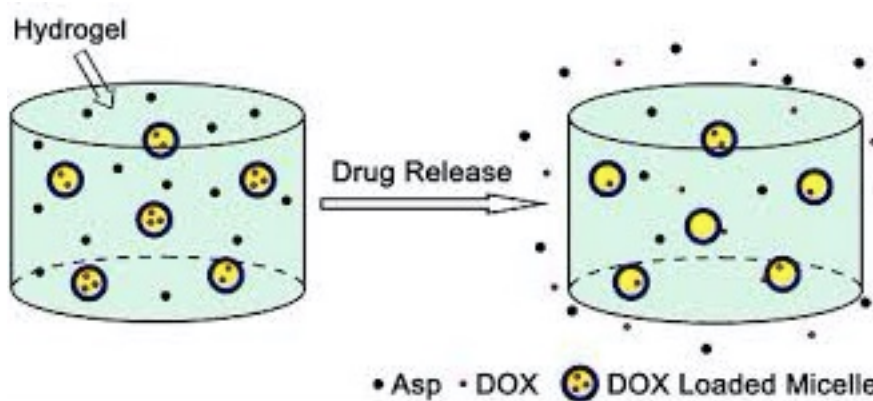
Gainera, kimioterapiak, farmakoarekiko erresistentzia ekar dezake tratamenduak dirauen bitartean. Hau bi faktore nagusik eragiten dute, lehenengoa farmakoa tumorearen gunean liberatzeko gaitasun falta da eta bigarrena minbizi zelulen alterazioa genetikoa [39].

Farmako bakarraren erabileraren arrakasta oso mugatua dago, sortzen diren kontrako eraginengatik, lortzen den tumore gutxitze txikiagatik eta farmakoaren erresistentziagatik. Horregatik, garrantzitsua da farmakoa modu eraginkorren askatzea minbizi zelulekin kaltetuta dauden ehunetan, gainontzeko ehunak eragin eta kaltetu gabe [41].

Horregatik, azken urteetan, tumoreen kontrako tratamenduetan, farmakoen konbinaketa aztertu da eta klinikoki ohikoa bihurtzen ari da oso indartsua baita gaixotasunari aurre egiteko orduan. Modu honetan, tumorearen aurkako efizientzia handitzea bilatzen da, bai eta albo eraginaren gutxipena, izan ere farmako bakarra erabiltzean dosi altuak erabili behar dira eta gainera gehienetan ez da nahikoa izaten minbizi zelula guztiak hiltzeko, tumorearen heterogeneitatea eta zelulen hazkuntza fase eta banaketa desberdinak direla eta [40, 42].

Sistema hauek orotara honako abantailak ekartzen dituzte; farmakoa lokalizatuagoa dago tumorearen inguruan, liberazioa kontrolatua da eta estimulu konkretu batek edo batzuen eraginez ematen da eta hidrogela injektagarria den kasuetan inbasio kirurgikoa gutxitu egiten da aldi berean, administrazio maiztasuna txikituz [43].

Aipatutako guztiagatik, oso ohikoa da ikerketa talde desberdinek honen inguruko ikerketa lerro desberdinak izatea. Lin J. eta laguntzaileek aspirina eta doxorubicina (minbiziaren kontrako farmako bat) medikamentuak erabiliz liberazio dualeko hidrogel bat sortu zuten [3]. Kasu honetan farmako hidrofoboa mizeletan sartuta zioan eta emaitza onak lortu ziren liberazioari dagokionez. Aspirina, hidrofila dela, azkar liberatzen zen eta doxorubizina aldiz, liberazioa periodo luzeagoa erakusten zuen.



Irudia 13. Doxorubizina partikulak eta dispertsatutako aspirina dituen hidrogelaren eskema.



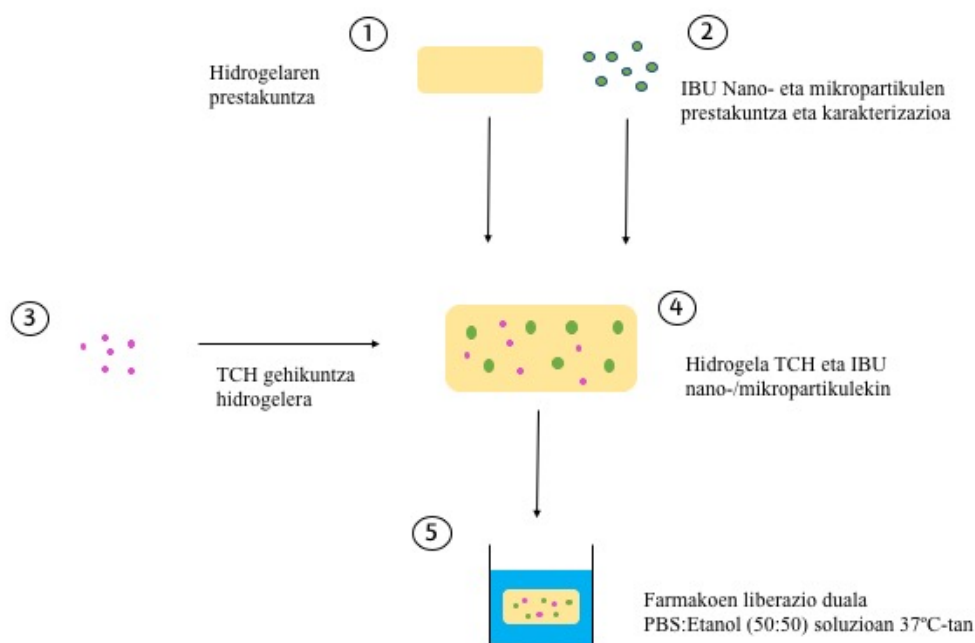
Tabata Y. eta laguntzaileek ere bi medikamentu konbinatzen dituzte beraien ikerketa lanean. Kasu honetan, minbizian kontrako bi medikamentu erabiltzen dira andriamiziana eta cisplatin. Bi farmakoak zuzenean sartuta daude hidrogelaren egituren eta andriamizina azkar liberatzen da eta cisplatina aldiz motelago, tumorearen sendakuntzan hobekuntza nabarmenak lortuz [42].

Li C. eta laguntzaileek aldiz, paklitaxela eta doxorubicina erabiltzen dituzte baina bakoitza konpartimentu desberdin batean sartuta beraien liberazio independenterako. Honela emaitza eraginkorrak lortzen dituzte tumorearen tamainaren txikitzean [40].

Hauek guztiek eta ikerketa gehiagok, hobekuntza nabarmenak erakutsi dituzte bi farmako erabiltzerakoan eta minbiziaren sendakuntza tratamendu posible eta egokia direla frogatu dute.

3. METODOLOGIA

Aurreko puntuetan aipatu bezala, helburu nagusia, bi farmako ezberdinen liberazio duala ahalbidetuko duen hidrogel baten prestakuntza da. Horretarako, hidrogelaren prestakuntzaren jakintza beharrezkoa da, bai eta partikulen sorkuntza. Ondorengo irudian (14. Irudia), jarraitutako prozedura ikus daiteke. Lehen pausoen hidrogela prestatzen ikasi da, jakintza hau ikerketa taldeko aurreko lanetatik lortu da. Ondoren partikulen prestakuntza egin da eta hauen azterketa ere aurrera eraman da, honela hidrogelaren hiru dimentsioko egituraren sartzen diren partikulen ezaugarriak ezagunak dira. Behin aurretiko prestakuntza hori bukatu dela, liberazio dualeko hidrogela sortu da TCH-a eta IBU dituzten partikulak gehituz. Honen azterketako, azken puntuan ikus daitekeen liberazio saiakuntza egin da.



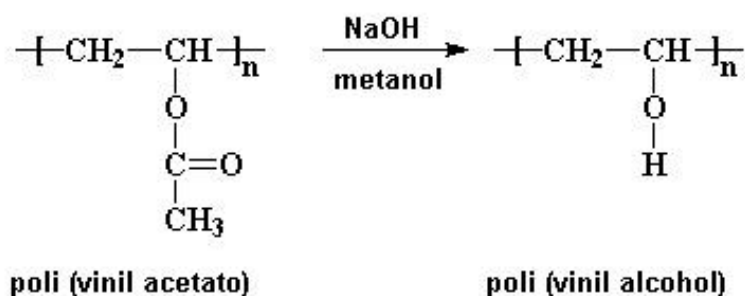
Irudia 14. Jarraitutako prozedura esperimental.

Aipatutako prozedura hau aurrera eraman ahal izateko, ondorengo bi puntuetan, erabilitako materiala eta ekipo eta prozedurak azaldu dira.

3.1. Materiala

⇒ PVA

PVA uretan disolbagarria den polimero bat da. Polibinil azetatoaren hidrolisitik lortzen da beheko irudian (15. irudia) ikus daitekeen moduan. Indar mekaniko bikaina du eta ez da toxikoa, hori dela eta egokia da medikuntza aplikazio ugaritarako, hala nola, medikamentu liberaziorako sistemetarako edo ebakuntzetarako. Bi hidrolisi gradu ezberdinetan komertzializatzen da: hidrolisi partziala edo totalarekin [5]. Ikerketa lan honetan %98-an hidrolizatutako eta 13000-23000 tarteko pisu molekularreko PVA erabili da, Sigma Aldrichek hornitua.



Irudia 15. Polibinil azetatoaren hidrolisia PVA-ren lorpenerako.

⇒ CS

CS, naturan oso ugaria den kitinatik lortzen da. Kitina naturako bigarren polisakarido ugariena da eta itsas ingurunetik lortzen da; molusku, intsektu, onddo eta krustazeo ezberdinen kanpo oskoletatik. [44, 45].

CS propitate ugari ditu biomedikuntzarako aplikazioetan interesgarria egiten dutenak, hala nola, mikrobioen eta bakterien aurkako aktibitatea, toxikotasun eza, bere egituraren aldaketa erraza eta biodegradagarritasuna. Hau guztiagatik, oso erabilia da medikamentuen liberazio kontrolatuan, ehunen sormen eta berritzean, gene terapian eta zauri ezberdinen sendakuntzan [44, 45]

Ikerketa lan honetan Sigma Aldrichek hornitutako pisu molekular baxuko CS erabili da.

⇒ NaHCO_3

Kolore zuriko base ahula. Uretan disolbagarria. Lan honetarako Sigma Aldrichek hornitutakoa erabili da.

⇒ TCH

Espektro zabaleko antibiotiko bat da, uretan disolbagarria dena [46-49]. Oso erabilia infekzio mota ezberdinetan, hala nola, akne arazoetan eta azaleko, hortzetako eta iraitz



aparatuko infekzioetan [49, 50]. Proteinasen aktibitatea eragozteko gaitasuna du minbizi metastasietan, artritis erreumatoideetan eta osteomieltis kasuetan [47]. Liberazio kontrolatuko aplikazioetan osteoblasto, fibroblasto eta beste motako zelulen birsortzean laguntzen du [49]. Penizilinari alergia dioten pertsonentzat alternatiba ona da eta antraxaren tratamenduetan ere erabilgarria da. [51] Eguzki argiarekiko sentsibilitatea du eta ondorioz babesten duen sistema baten beharra dago administraziorako [52]

Lan honetarako erabili den TCH-a Silgma Aldrich etxeak hornitua izan da.

⇒ *IBU*

IBU antiinflamatorio ez-esteroide hidrofobo bat da [53-55]. Asko aztertu da bere erabilera eredu farmako moduan, duen bizitza biologiko motzogatik, aktibitate farmakologiko onagatik eta duen molekula tamaina egokiagatik [56]. Aipatutako ezaugarriak direla eta egokia da hezurretako infekzioetako eta liberazio kontrolaturako.[54, 55]

IBU Sigma Aldrich etxeak hornitua izan da.

⇒ *DCM*

Disolbatzaile halogenatua, partikulen prestakuntzarako erabilia. Hornitzailea LabKem izan da.

⇒ *Etanola*

Disolbatzaile ez halogenatua, liberaziorako erabilia. Hornitzailea AppliChem izan da.

⇒ *PBS*

Fosfatodun gatz soluzioa, giza gorputzaren ezaugarri antzekoak dituen soluzioa da. Ikerketa lan honetan liberazioa ikasketarako erabili den PBS, pH 7.4, Sigma Aldrich-ek hornitua izan da.

⇒ *PLGA*

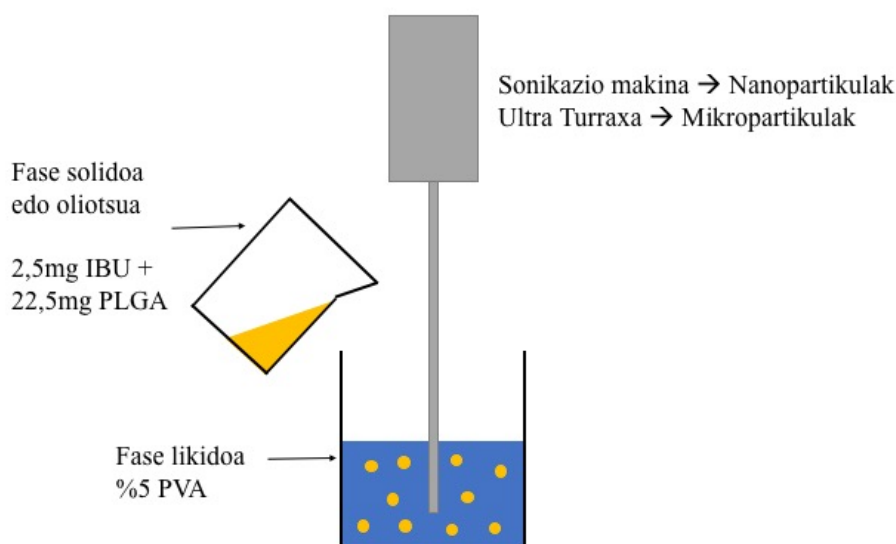
PLGA, poliazido laktikoak (PLA) eta poliazido glikolikoak (PGA) osatutako kopolimero bat da. Biobateragarria eta biodegradagarria da eta oso aztertua izan da farmako, proteina eta makromolekula ezberdinen liberaziorako [57].

Ikerketa honeta 50:50 proportzioko eta 38000-54000 tarteko pisu molekularreko PLGA erabili da Sigma Aldrich-ek hornitua.

3.2. Ekipoak eta prozedurak

3.2.1. *Partikulen prestakuntza eta karakterizazioa*

Mikro- eta nanopartikulen prestakuntzarako lehenik eta behin 2,5mg IBU eta 22,5mg PLGA diklorometanoan (DCM) disolbatu dira. Polimeroa eta farmakoa guztiz disolbatuta daudela lortutako soluzio hau (fase solidoa edo oliotsua) %5 PVA-ko kontzentrazioa duen disoluziora (fase likidoa) botatzen da. Lortutako nahaste hau, homogeneizatu egiten da partikulak modu egoki batean lortu ahal izateko.



Irudia 16. Partikulen prestakuntzaren eskema.

Nanopartikulen kasuan sonikadorea (18. irudia) erabiltzen da %70-eko anplitudean eta segundo bateko pultsuak eraginez bi minutuz. Mikropartikulei dagokionez, homogeneizazio prozesua Ultra Turrax (17. irudia) makinaren bitartez egiten da 25 kr/min-ko biraketa abiadurarekin 3 minutu mantenduz. Behin hasierako soluzioa homogeneizatu dela kanpian uzten da fase organikoa (DCM) guztiz lurruntzeko.



Irudia 17. Ultra Turraxa.



Irudia 18. Sonikazio ekipoa.

Lurrundu ondoren partikulak garbitu egiten dira. Partikulak dituen soluzioa 1,5 ml-ko eppendorf ezberdinetan botatzen da eta zentrifugazio makinan (19. Irudia) partikulak bereizi egiten dira gehiegizko fase likidotik. Nanopartikulak 10 minutu edukitzen dira 12000 bira/min-eko biratze abiaduran eta mikropartikulak 10 minutu 6000 bira/min-eko abiaduran. Gehiegizko fase likidoa kendu egiten da eta ondoren partikulak ur distilatu garbian birsuspenditu egiten dira, horretarako vortexa (20. Irudia) eta ultrasoinu ekipoa (21. Irudia) erabiltzen dira. Prozesua hiru aldiz errepikatzen da partikulen garbikuntza totala ziurtatzeko.



Irudia 19. Zentrifugazio makina.



Irudia 20. Vortexa.



Irudia 21. Ultrasoinu ekipoa.

Garbiketa bukatzean lortutako azken suspentsioa aurretik pisatutako eppendorfetan banatzen da ondoren labean sartzeko hutsune atmosfera batean. Modu honetan, guztiz lehortu ondoren, partikula *pellet* bat lortuko da, ondoren hidrogeletan gehituko dena.



Irudia 22. Partikulak lehortzeko erabilitako labea.

⇒ *Partikulen karga ahalmena eta kapsularatze efizientziaren neurketa*

Kapsularatze efizientziarekin partikuletan guztira sartzea lortu den medikamentu kantitatea neurtzen da, hasieran sartutako IBU kantitate totalarekiko. Karga ahalmenarekin aldiz partikulen barnean sartzea lortu den kantitatea neurtzen da.

Horretarako, partikulen nukleoan dagoen IBU kantitatea neurtu behar da. Hau lortzeko, partikulen pelleta duen eppendorfari edo eppendorfei DCM mililitro bat gehitzen zaio, honela, farmakoa inguratzen duten PLGA geruza disolbatuko da eta barnean dagoen farmako guztia askatuko da. Ongi disolbatu ondoren, eppendorf hauetatik lagin txiki bat hartzen da (60µl) eta 3,5ml DCM dituen flaskora gehitzen da. Horrelako hiru lagin hartzen dira, ultramore espektroskopioan (UV) neurtu ahal izateko.

Hiru laginak UV espektroskopioan neurtzen dira, aurretik prestatutako kalibrazio lerroa oinarritzat hartuz. Absorbantzia gailurra 230nm-etan neurtu da. Lortutako balio hauekin eta ondoren idatzitako ekuazioak erabiliz, karga ahalmena eta kapsularatze efizientzia kalkulatu dira.

$$\%LC = \frac{IBU \text{ kantitatea soluzioan}}{Sartutako mikropartikula kantitatea} \times 100$$

$$\%EE = \frac{\%LC \text{ erreala}}{\%LC \text{ teorikoa}} \times 100$$

⇒ *Argi difusio dinamiko bidezko neurketa (DLS)*

Ekipo honekin, partikulen diametro hidrodinamikoaren distribuzioa neur daiteke. Soilik nanopartikulekin erabili daiteke. Neurketak egiteko, partikulen garbiketa prozesuan, behin nanopartikulak garbi daudela, bukaeran dagoen suspentsiotik lagin txiki bat hartzen da eta ur distilatuan diluitzen da. Diluitutako lagin hau, neurketako kubetara botatzen da.



Irudia 23. LDS ekipoa.

⇒ *Ekorketazko Mikroskopia Elektroniko (SEM) bidez lortutako irudien karakterizazioa*

Ekipo honen bidez, partikulen irudiak lortu dira ondoren Image J programa erabiliz partikulen diametroak kalkulatu eta diametro hauen banaketa egin ahal izateko. Horretarako, laginak urrearekin metalizatu dira eta ondoren 5kV-eko boltaia aplikatu zaie irudiak lortu ahal izateko. Irudiak tratatzeko aipatu bezala Image J programa erabili da. Bertan 150 nanopartikulen diametroak neurtu dira eta hemendik tamainen distribuzioa lortu da.

Hidrogelaren ikasketa morfologikoa egiteko ere erabili da, honela, hidrogelen barneko partikulen kokapena aztertu ahal izan da. Kasu honetan aplikatutako boltaia 10kV izan dira.

3.2.2. Hidrogelen prestakuntza

Hidrogelen prestakuntzarako, %0,5 PVA, 1M NaHCO₃ eta %2 CS kontzentrazioko soluzioa erabili dira. CS disolbatzeko 0,1M HCl-ko soluzioa erabili da. Lehenik eta behin 3ml PVA eta 0,6ml NaHCO₃ nahasten dira irabiagailu magnetiko baten bidez izotzezko bainu batean sartuta daudela. Soluzio honetatik 1ml ateratzen da eta partikulak dituen eppendorfera botatzen da hauek ongi nahasteko PVA eta NaHCO₃-rekin. Partikulen dispersioa berriro bueltatu egiten da hasierako ontzira. Beste flasko batean, PVA-en proportzio berean (1:1), CS botatzen da eta PVA eta partikulak dituen dispersioa tantaz tanta gehitzen zaio. Guztia ongi nahastuta dagoenean, 1,35mg farmako hidrofilo (TCH) gehitzen zaizkio eta ongi nahasten uzten da. Nahaste hau, 2ml-ko moldeetan banatzen da eta 24h birzirkulazio bortxatuko labeaz uzten dira 37°C-ra.

Farmako hidrofilikoa, TCH, argiarekiko sentikorra denez, prestakuntza guztian hidrogela argitik babestu da.

3.2.3. Liberazioa

Liberazio saiakuntzetarako, labeaz 24 orduz egondako hidrogelak moldeetatik atera eta PBS:Etanol (50:50) soluzioko ontzi ezberdinetan sartzen dira. Askatutako kantitatea neurtzeko hidrogela murgilduta dagoen ingurunetik gainjalkinaren laginak 15min, 30min, 1h, 2h, 4h, 6h, 8h eta 24h denbora tartean atera dira. IBU-ri dagokionez, bere liberazioa denboran 24 ordu baino gehiago luzatzen denez ondorengo egunetan 2 eguneko tartean atera dira laginak jarraipen egoki bat egin ahal izateko.

Ateratako lagin hauek UV ekipoaren bidez neurtu dira. IBU 224nm absorbantzia gailurrean neurtu da eta TCH 365nm-ko gailurrean.



Irudia 24. UV espektrometroa.

3.3. Emaizak

3.3.1. Partikulen prestakuntza

Partikulen prestakuntzarako bi metodo ezberdin erabili eta frogatu dira. Hasiera batean metodo jakin bat erabiltzen zen, baldintza jakin batzuk zituena baina beste metodo baten ezagutza zegoen eta bien arteko konparaketa egin ondoren egokiena aukeratu zen ikerketa lana aurrera eramateko. Bi metodoen xehetasunak ondorengo taulan azalduta daude.

	1 METODOA	2 METODOA
FASE SOLIDOA		
IBU kantitatea	5mg	2,5mg
PLGA kantitatea	45mg	22,5mg
Disolbatzaile kantitatea	2,5ml etil azetato	1ml DCM
FASE LIKIDOA	10ml %5 PVA	10ml %5 PVA
PROZEDURA	Fase solidoa likidoari tantaz tanta gehitu eta homogeneizatu ondoren 27,5ml ur dituen ontzira gehitu lurruntzen uzteko	Fase solidoa zuzenean gehitu eta homogeneizatu ondoren lurruntzen uzteko.

Taula 1. Partikulak egiteko erabilitako bi metodoen konparaketa taula.

Bi metodoen prozedurako pausoetan ez dago ezberdintasun handirik. Jarraitutako pausoak oso antzekoak dira. Erabilitako materialaren kantitatean aldiz, ezberdintasun nabarmena dago, izan ere, lehen metodoarekin fase solidoa prestatzeko orduan material kantitate bikoitza behar da eta gainera, bukaerako pausoan ur kantitate konkretu baten beharra ere dago, 2. Metodoan ez dagoena.

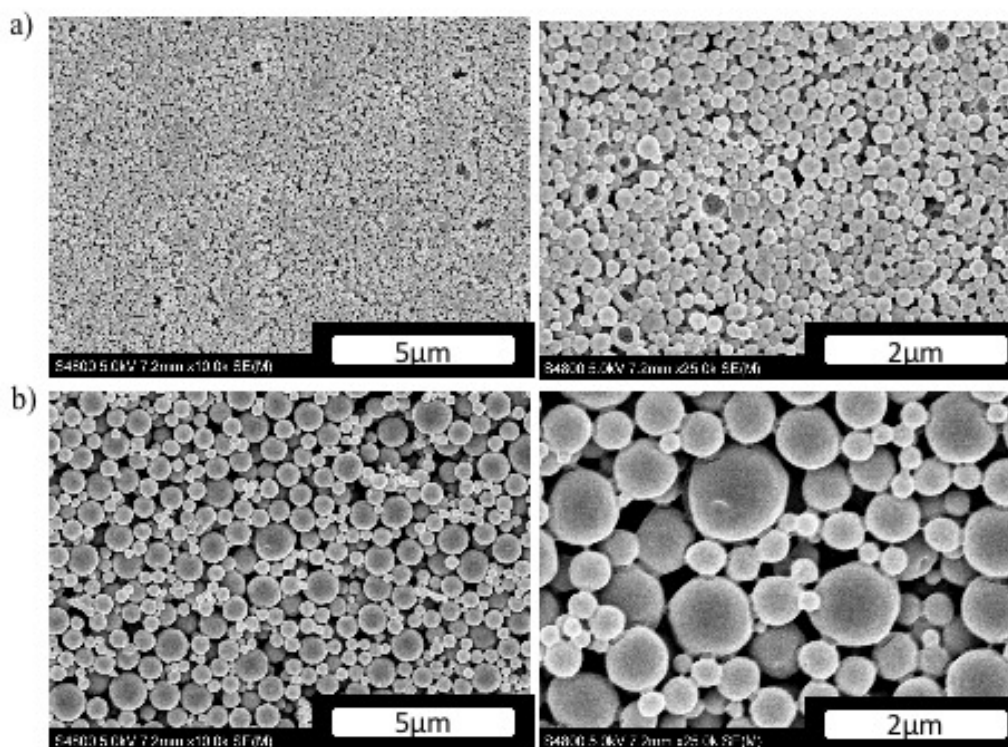
Hasiera batean, lehenengo metodoak egokia zela zirudien baina arazoak ematen hasi zen birsuspentsio eta garbikuntza prozesuan, zailagoa egiten baitzen partikulak tratatzea eta hauen galdutako kantitatea oso handia baitzen.

Gainera, SEM-era eramanda, partikulen homogeneotasunean ezberdintasun nabarmena ikusi zen. 25. irudian ikus daiteke, 2. Metodoa erabilia lortutako partikulek

banaketa uniformeagoa dutela eta aldiz lehenengo metodokoetan ezberdintasun handia dagoela partikula handiago eta txikiagoen artean. Honez gain, nanopartikulen tamaina bigarren metodoko prozedura erabilita txikiagoa da. Partikulen tamaina txikiagoak eta banaketa uniformeagoak, ondorengo aplikazioan abantailak ekarri ditzake.

Zenbait liberazio saiakuntza froga ere egin ziren lehen metodo bidez lortutako partikulak erabiliz, baina lortutako emaitzak ez ziren batere errepikakorrek beraien artean eta arazoak ematen zituzten. Hau ikusita prestakuntza metodoan arazoak egon zitezkeela pentsatu zen.

Karga ahalmena eta kapsularatze efizientziari dagokionez, bi metodoetan ez da ezberdintasun handirik lortu, guztietan %4 eta %7 arteko karga ahalmenak lortu dira eta %40 eta %70-eko kapsularatze efizientziak.



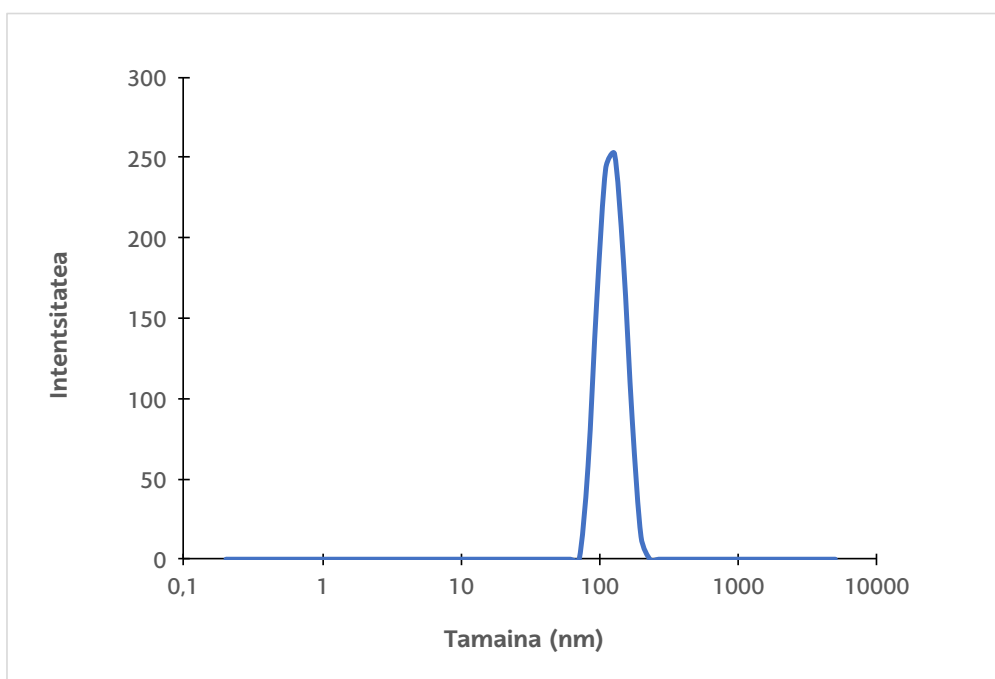
Irudia 25. Bi metodoen bidez lortutako nanopartikulen ezberdintasuna. (a) 2. metodoa (b) 1. metodoa.

Beraz, arazoak ematen zituela ikusirik eta prestakuntza prozeduran sinpletasuna lortzen zela ikusirik 2. Metodoa erabiltzea erabaki zen. Honela partikulen uniformetasun handiagoa lortu da material kantitate gutxiago erabiliz eta hidrogelera gehikuntzan arazorik izan gabe.

Ondorengo puntuan partikulei egin zaion azterketan, bigarren metodoa erabiliz lortutako nano- eta mikropartikulak aztertu dira, hauek izan baitira azkenean liberazio saiakuntzetarako erabili direnak.

3.3.2. Partikulen karakterizazioa

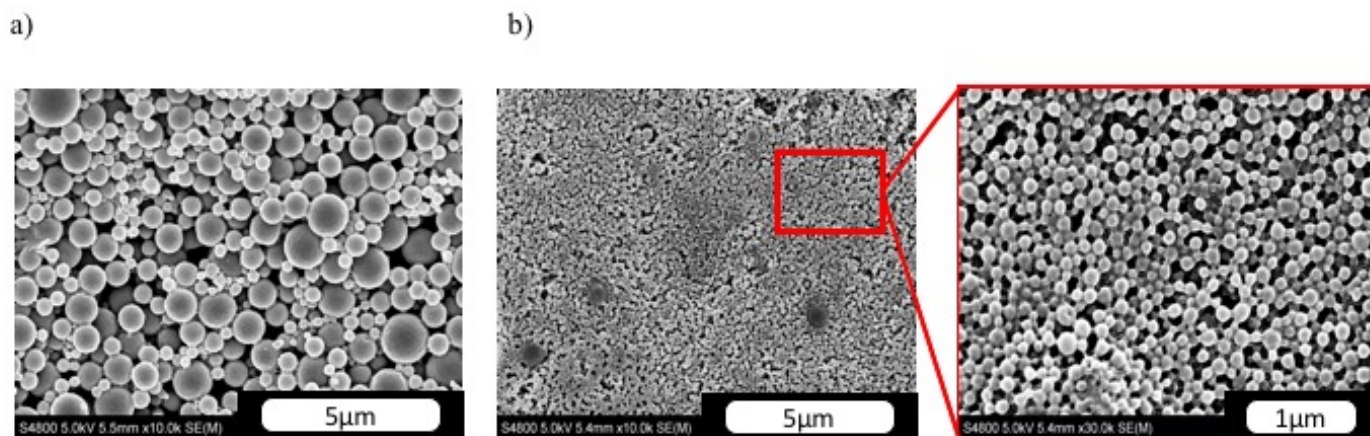
Gorago aipatu bezala, DLS metodo erabiliz diametro hidrodinamikoaren distribuzioa lortu daiteke. Dagokion prozedura aplikatu ondoren lortutako grafikoan (26. irudia) gailur bakarra lortu da. Honek tamainaren distribuzioa unimodala dela adierazten du. Metodo honen bitartez lortutako diametro hidrodinamikoa 229nm-koa izan da.



Grafikoa 1.Diametro hidrodinamikoaren distribuzioa.

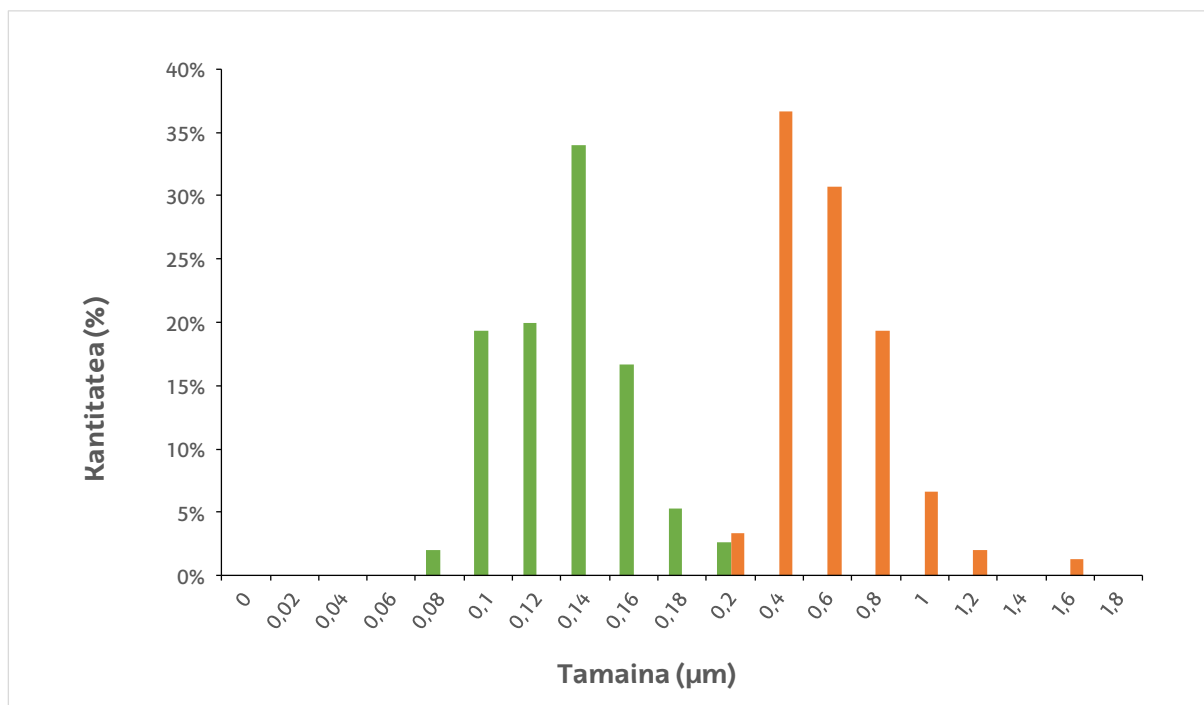
SEM bidez lortutako irudiei dagokienez (26. irudia) partikulen tamainen banaketa nahiko uniformea dela ikus daiteke. Mikropartikulei dagokionez, partikulen arteko tamaina ezberdintasuna nahiko ezberdina dela ikusten da nanopartikulekin konparatzen bada, izan ere azken hauetan uniformetasun nahiko handia lortu da gorago aipatu den metodo aldaketari esker.

Irudi hauen bidez, diametroen distribuzioa kalkulatu da Image J programa informatikoa erabiliz eta ondorengo grafikoan irudikatu da (Grafikoa 2). Bertan ikus daitekeen moduan, mikropartikulek batez ere 0,4 eta 0,6 μm inguruko tamainako diametroak dituzte. Batezbesteko tamainari dagokionez, 0,498 μm -koa izan da eta balio minimo eta maximoak 0,137 μm eta 1,412 μm izan dira hurrenez hurren.



Irudia 26. SEM bidez lortutako partikulen irudiak a) mikropartikulak b) Nanopartikulak bi handipen ezberdinetan.

Nanopartikulei dagokionez, lortutako grafikoko distribuzioa aztertzen bada, batez ere 140nm-ko partikulak lortu direla ikus daiteke. Kasu honetan batezbestekoa, 125nm izan da eta diametro minimo eta maximoari dagokionez, 74nm eta 199nm izan dira hurrenez hurren.



Grafikoa 2. Nano- eta mikropartikulen tamainen distribuzioa. Berdea: Nanopartikulak; Laranja: Mikropartikulak

Partikulen barnean dagoen IBU kantitatearen kalkulurako metodologian aipatutako pausoak jarraitu dira. Bertan lehortutako pellet-ari 1ml DCM gehitu zaio, ondoren

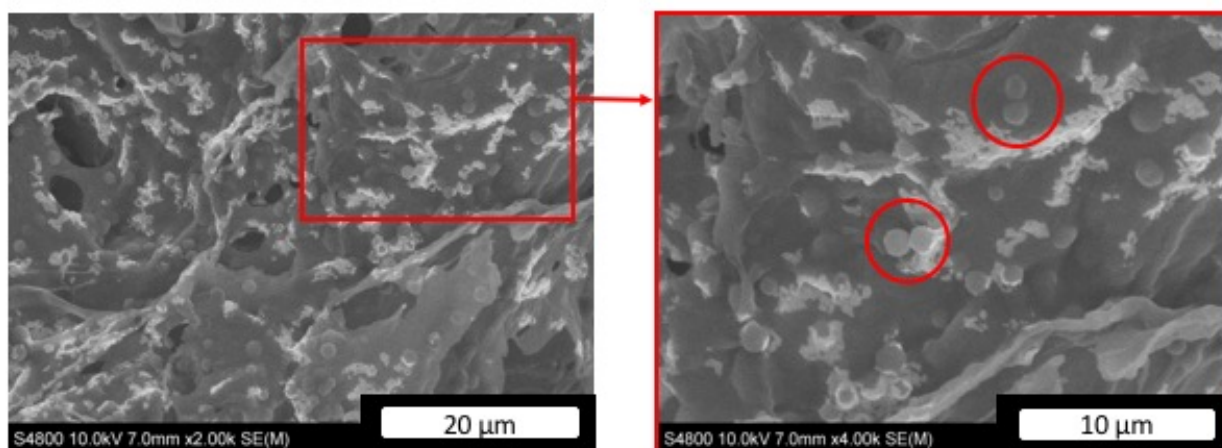
diluitu eta UV espektroskopiaon neurtzeko. Modu honetan, nanopartikulei dagokienez karga ahalmena %7,99-koa izan da eta kapsularatze efizientzia %79,9-koa. Mikropartikulen karga ahalmenari dagokionez %3,66 izan da eta kapsularatze efizientzia %36,55. Ondorengo taulan honako emaitza hauen laburpena ikus daiteke.

	%LC	%LC desbiderapena	%EE	%EE desbiderapena
MIKROPARTIKULAK	%3,66	%0,4	%36,55	%3,97
NANOPARTIKULAK	%7,99	%1,9	%79,9	%9,87

Taula 2.Karga ahalmena eta kapsularatze efizientzien laburpen taula.

3.3.3. Hidrogelaren azterketa morfologikoa eta liberazioa

Atal honetan, gorago aipatu bezala, alde batetik partikulen hidrogelerako gehikuntza aztertu da eta bestetik bi farmakoen aldibereko liberazioa. 27. Irudian, handipen ezberdinetan, partikulen gehikuntza hidrogelera egokia izan dela ikus daiteke eta partikulen identifikazioa erraza da..



Irudia 27.Hidrogelaren barrenean partikulek duten kokapenaren SEM irudia.

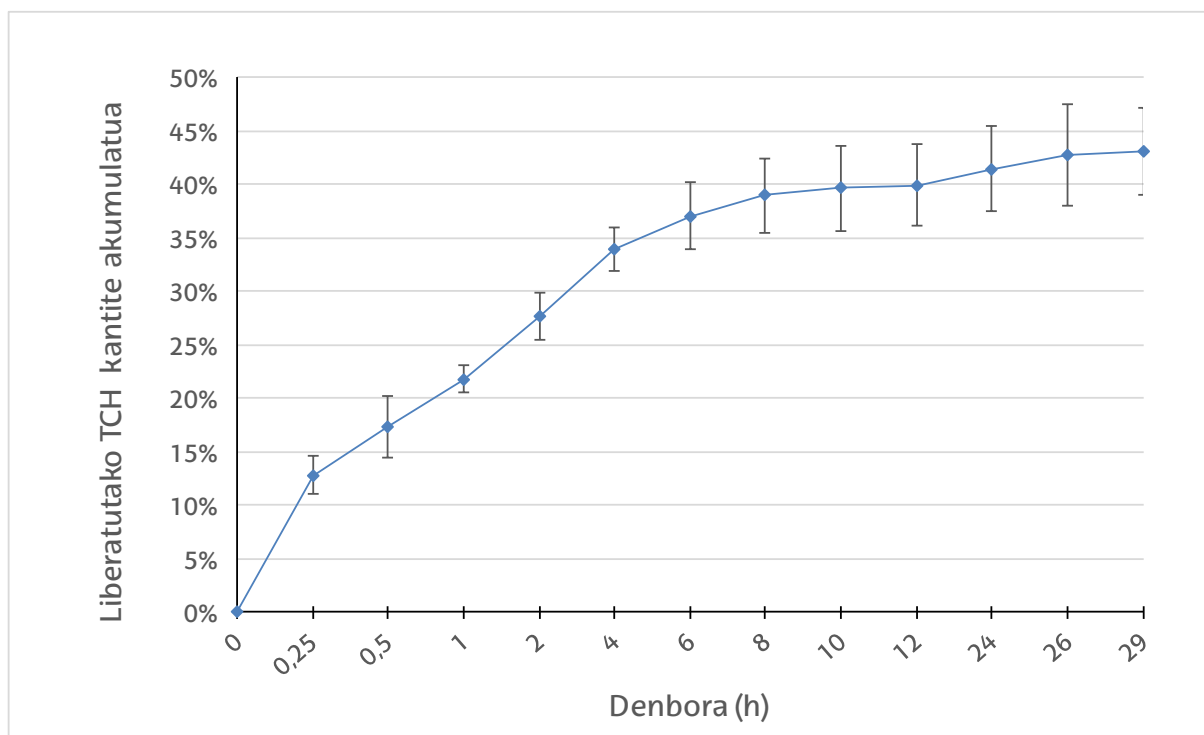
Liberazio saiakuntzak, metodologian aipatu bezala, PBS:Etanol (50:50) soluzioan egin dira. PBS-ak gorputzeko baldintzak simulatzen ditu eta kantitate handian ura da, baina

IBU-k ez daukanez uretako solubilitate handia PBS-ari etanola gehitu zaio farmako honen guztizko liberazioa ziurtatzeko.

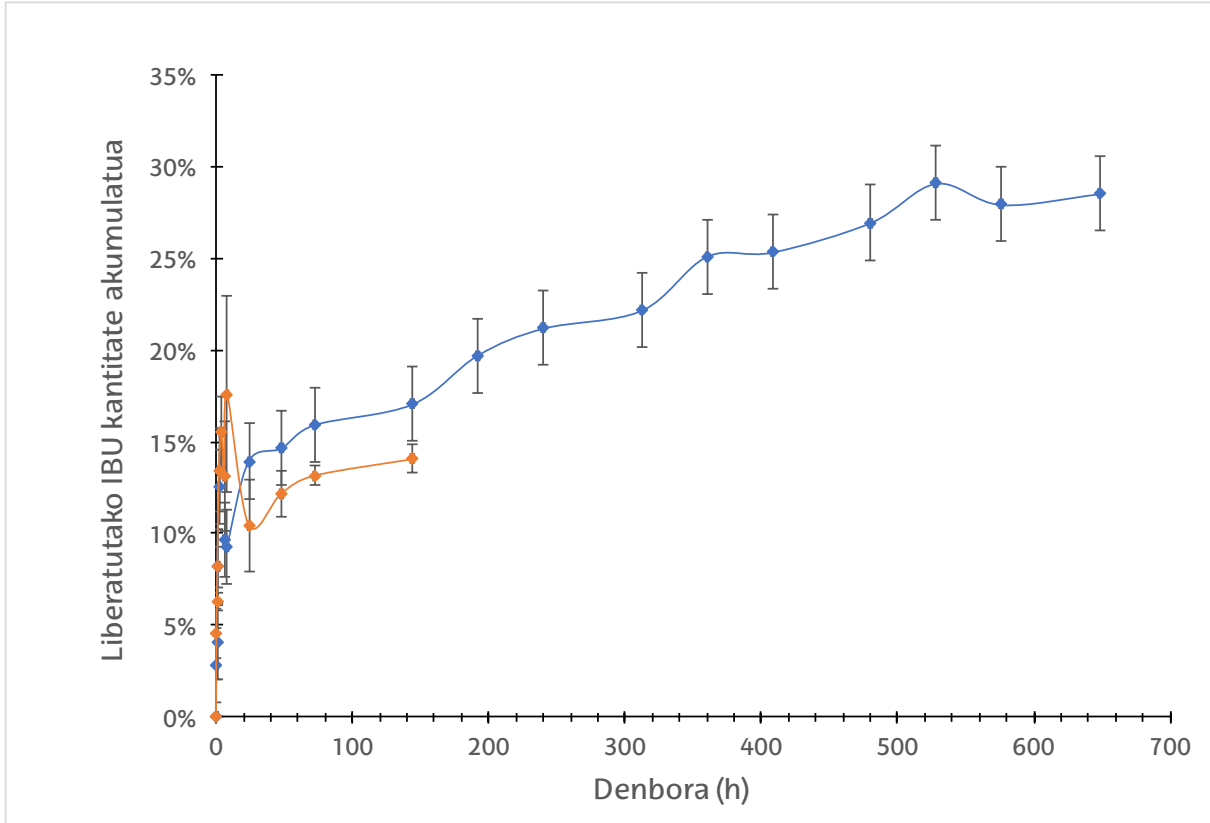
Medikamentuaren liberazioari dagokionez, farmako hidrofilikoa (TCH) lehenengo 24 orduetan %40 inguru askatu da (30. Irudia). Guztizko liberazioa ezin izan da ikusi bigarren egunetik aurrera, TCH degradatzen hasten delako eta ondorioz UV espektrometroan ezin delako gailurraren kokapena egoki azertu.

IBU-ri dagokionez, nano- eta mikropartikulen liberazio profila azertu da. Modu honetan tamaina ezberdintasunak farmako liberazioan duen eragina azter daiteke. Mikropartikulei dagokionez, hasierako orduetan bat-bateko liberazio azkarra ematen da eta ondorengo egunetan egonkortu eta pixkana liberatzen doala ikus daiteke.

Bi sistema ezberdinak konparatzen badira, oraindik ezinezkoa da zehatz mehatz bi profil ezberdinen zinetikaren inguruko emaitza nabarmenik ateratzea, izan ere denbora arazoak direla eta, aztertutako denbora tarteak ezberdinak dira eta oraindik ezin izan dira entseguak guztiz burutu.



Grafikoa 3. TCH antibiotikoaren liberazio profila.



Grafikoa 4. IBU nano- eta mikropartikulen liberazio profila. Urdina: Mikropartikulak; Laranja: Nanopartikulak

4. ONDORIOAK

Lortutako emaitzak aztertu ondoren planteatutako sistemaren ondorioak atera ahal izan dira. Lehenik eta behin, partikulen prozeuraren inguruko ondorio nabarmen bat atera daiteke. 2. Metodoa aukeratu denean, partikulen fabrikazioa eta ondorengo karakterizazioa hobea izan da, beraz, aukeratutako metodoa egokia izan da.

2. metodo bidez lortutako nano- eta mikropartikulak ikusiz, hauen prestakuntzan emaitza onak lortu direla esan daiteke. Irudiak aztertuta tamaina banaketa oso uniformeak lortu da honek, sisteman integratzean homogeneousotasun bat ematen dio. Homogeneousotasun hau batez ere, nanopartikulen kasuan eman da.

Mikropartikulen batzbesteko tamaina $0,498\mu\text{m}$ -koa izan da. Nanopartikulei dagokionez, DLS metodoaren bidez 229nm -ko batezbesteko diametro hidrodinamikoa lortu da eta SEM-a erabiliz berriz, 125nm -ko diametroa. Bi metodoen bidez emaitza ezberdinak lortu dira, izan ere, bi metodoek propietate ezberdinak neurtzen dituzte. DLS metodoak diametro hidrodinamikoa kalkulatu du eta SEM iruditik berriz partikularen diametro zuzena kalkulatu da. SEM bidezko metodoa zuzenagoa da partikularen distribuzioa, forma eta tamaina kalkulatzeko orduan, aldiz DLS metodoa zeharkako metodo bat da eta horregatik diametro handiagoak lortzen dira.

Partikulen karga ahalmen eta kapsularatze efizientziari dagokionez lortutako emaitzak nahiko ezberdinak izan dira, bi partikula tamainen artean. Nanopartikulen kasuan IBU kantitate gehiago sartzea (%7,99-ko LC) lortu da, mikropartikuletan ez bezala (%3,55-ko LC). Hau prozeduran egon daitezkeen erroreengatik izan daiteke, hala nola, ebaporazioan eta erresuspentsioan liberatua izan daitezkeen IBU kantitateagatik, izan ere, prozesu honetan IBU kantitate pixka bat aska daiteke eta hori dela eta partikulen barnean farmako kantitate gutxiago egon daiteke. Beraz, bi prozesu hauetan partikulak nano- eta mikropartikulak denbora ezberdinean eduki badira (txikia bada ere ezberdintasuna) emaitza ezberdinak lor daitezke.

Partikula hauen gehitzea egokia izan dela ikusi da eta ondorioz, morfologia eta egitura aldetik bateragarritasuna lortu dela ondoriozta daiteke eta beraz, alde horretatik sistema egokia izan daitekeela ikus daiteke.

Liberazio dualeko profiei dagokionez, TCH-aren liberazioa ez da guztizkoa izan eta gainera 2. egunetik aurrera degradatzen hasten da. Honek arazoak ekar ditzake izan ere, degradatzen hasten den unean farmakoaren egitura aldatu egiten da eta ez du gorputzean eragin berdina izanen.

IBU-ri dagokionez, ezin izan den guztizko azterketa bat egin. Hori dela eta, ezin dira ondorio nabarmenik atera. Mikropartikulen kasuan, aztertutako egunetan, liberazio profila esperotakoa izan da. Lehen orduetan bat-bateko liberazioa eman da eta ondoren egonkortu eta pixkana askatzen ari da. Hala ere, nanopartikulen azterketa tartea laburragoa denez ezin dira bi profilak konparatu. Ondorioz, ez da bi sistemen profilen zinetikaren inguruko ondoriorik atera.



Hala ere, bi sistema ezberdinek dituzten ezaugarriak kontuan hartuz polimeroaren degradazioan nanopartikulak azkarrago degradatzea espero da azalera espezifikoki handiagoa baitute eta honen ondorioz degradatzeko orduan abiadura azkarragoa baitute. Hori dela eta, partikulen tamaina kontrolatuz liberazio zinetikaren kontrola posible izanen dela uste da.

Orokorrean esan daiteke, proposatutako sistema hau egokia izan daitekeela aipatutako aplikaziorako. Nahiz eta ezin izan den guztizko liberazio azterketa bat egin, oraingoz izandako eboluzioa egokia izan da eta hemendik aurrera polimeroa degradatzen den heinean horrela jarraitzea espero da. Egon daitekeen arazo bakarra, farmako hidrofilikoen (TCH) liberazioan egon daiteke, izan ere aipatu bezala guztiz ez liberatzeak eta gainera bi egunetara degradatzeak toxikotasun arazoak ekar ditzake.

Hori dela eta, etorkizuneko proiektuei begira, farmakoaren analisi sakon bat egitea aukera egokia izan daitekeela uste da, arazoa non egon daitekeen ikusteko. Ez bada inongo erantzunik lortzen, antzeko absorbantzia daukan farmakoa bila daiteke sistemaren bideragarritasuna frogatzeko. Arazo hau konpondurik IBU-rekin daukan konbinaketaren onurak aztertzea aukera egokia izan daiteke eta sistemaren azterketa zelulekin egitea aurrerapauso handia izan daiteke.

.

5. EGINBEHARREKOEN DESKRIBAPENA ETA ARRISKUEN ANALISIA

5.1. Eginbeharrekoen deskribapena

Atal honetan, ikerketa proiektua hau aurrera eramateko jarraitutako faseak aztertu dira, bakoitzean jarraitutako prozeduraren deskribapen txiki bat azalduz. Ondoren, erabilitako materiala eta hornitzaileak zehaztu dira eta azkenik, lana aurrera eramateko erabilitako metodoak sakonago azaldu eta deskribatu dira.

Proiektu honen iraupena lau hilabetekoa izan da. Hasiera data 2018-ko urtarrilaren 29a izan da ta bukaera data 2018ko ekainaren 1ean. 5 fase ezberdinetan banatu da bakoitzean kontrol puntu eta mugarri ezberdinak zehaztuz, lanaren jarraipen egokirako. Ondorengo lerroetan jarraitutako atazen zerrenda azaltzen da eta atal bakoitzaren deskribapen txiki bat ematen da.

1. Proiektuaren hasiera

Hasiera data: 2018-01-29

2. Aurretiko lana

Hasiera data: 2018-01-29 Amaiera data: 2018-03-09

2.1. Ikasketa bibliografikoa

Atal honetan proiektua hasi aurretiko informazioa bildu da ondorengo lan esperimentalean modu zehatzago eta antolatutago batean lan egin ahal izateko.

Hasiera data: 2018-01-29 Amaiera data: 2018-02-23

2.1.1. Farmako egokien aukeraketa

Absorbantzia puntu ezberdinak dituzten farmakoak bilatu dira liberazio neurketak egiterako orduan arazorik ez izateko farmakoek askatutako identifikatzen.

Eskainitako denbora: 20 egun

Hasiera data: 2018-01-29 Amaiera data: 2018-02-23

2.1.2. Hidrogelen eta liberazio sistemen informazio bilaketa

Data honetara arteko ikerketa lan eta prozeduren informazio bilaketa prozedura egokia aukeratzeko eta pausu egokiak jarraitu ahal izateko.

Eskainitako denbora: 20 egun

Hasiera data: 2018-01-29 Amaiera data: 2018-02-23

2.2. Ekipo eta prozesuen ikasketa eta trebakuntza



Ikasketa bibliografikoan finkatutako prozesuen eta erabiliko diren ekipoen trebakuntza.

Eskainitako denbora: 5 egun

Hasiera data: 2018-02-26 Amaiera data: 2018-03-02

2.3. Materialen eskuraketa

Erabiliko diren material ezberdinen eskuraketa eta prestakuntza ondorengo lan esperimenterako.

Eskainitako denbora: 5 egun

Hasiera data: 2018-03-05 Amaiera data: 2018-03-09

2.4. Aurretiko lana atazaren amaiera

Prozedurak, materialak eta ekipoak ikasi eta hauetan trebatu denean, hasierako atal hau bukatutzat emanen da. Bertan mugarri bat ezarriko da ikasketa aurrera ongi eraman dela eta materialak egokiak direla ziurtatzeko. Behin ongi finkatu dela, hurrengo ataza hasi daiteke.

3. Atal esperimentalak

3.1. Nano- eta mikropartikulen prestakuntza

Ataza honetan, aurretik trebatutako prozedurak praktikan jarriko dira eta nano- eta mikro partikulak prestatuko dira.

Eskainitako denbora: 20 egun

Hasiera data: 2018-03-12 Amaiera data: 2018-04-06

3.2. Partikulen karakterizazioa

Ataza hau aurrera eraman ahal izateko aurreko ataza arazo teknikorik gabe aurrera eraman behar izan da. Atal honetan, metodo ezberdinak erabiliko dira partikulen morfologia eta diametroen distribuzioa aztertzeko.

Eskainitako denbora: 3 egun

Hasiera data: 2018-04-09 Amaiera data: 2018-04-11

Kontrol puntua: ataza honen bukaeran mugarri bat ezarriko da prozeduren egokitasuna ziurtatu eta kontrolatzeko, honela, hurrengo ataletara partikulak egoki sortu direla ziurtatuz pasako da, honek ekar ditzakeen arazo posibleak eragotziz. Guztia egoki atera dela ongi ziurtatu arte, ez da hurrengo atazara pasako.

3.3. Hidrogenen prestakuntza eta farmakoen liberazioa

3.3.1. Farmakoen liberazioa

Aukeratutako bi medikamentuen liberazioaren saiakuntzak eta hauen joeraren azterketa.

Eskainitako denbora: 35 egun

Hasiera data: 2018-04-12 Amaiera data: 2018-05-30

3.3.2. Hidrogenaren karakterizazioa morfologikoa



Ekorketazko Mikroskopia Elektroniko bidez, partikulen gehitzea aztertuko da hidrogelaren barrenean.

Eskainitako denbora: 1 egun

Hasiera data: 2018-05-31 Amaiera data: 2018-05-31

3.4. Ataza esperimentalaren amaiera

Farmakoen liberazioa egoki ematen dela aztertuta eta partikulen banaketa hidrogelaren barnean egokia dela ikusita ataza honen amaiera emanen da. Arazoren bat ikusten bada aipatutako bi kasuetan prozeduran arazorik dagoen konprobatuko da eta beharrezkoa bada aldatu egingen da hobetzeko asmoz.

4. Lortutako emaitzen analisia eta ondorioak ateratzea

4.1. Emaitzen interpretazioa

Esperimentuetan lortutako emaitzak aztertuko dira ondorioak atera ahal izateko. Ataza hau aurrera eraman ahal izateko, 3. Atazak bukatua egon behar du.

Eskainitako denbora: 1 egun

Hasiera data: 2018-06-01 Amaiera data: 2018-06-01

4.2. Emaitzen eta ondorioaren idazketaren amaiera

Behin emaitzak interpretatu direla, entregatu beharreko txostenaren azken atala burutu daiteke eta lana bukatutzat eman.

→Proiektuaren idazketa

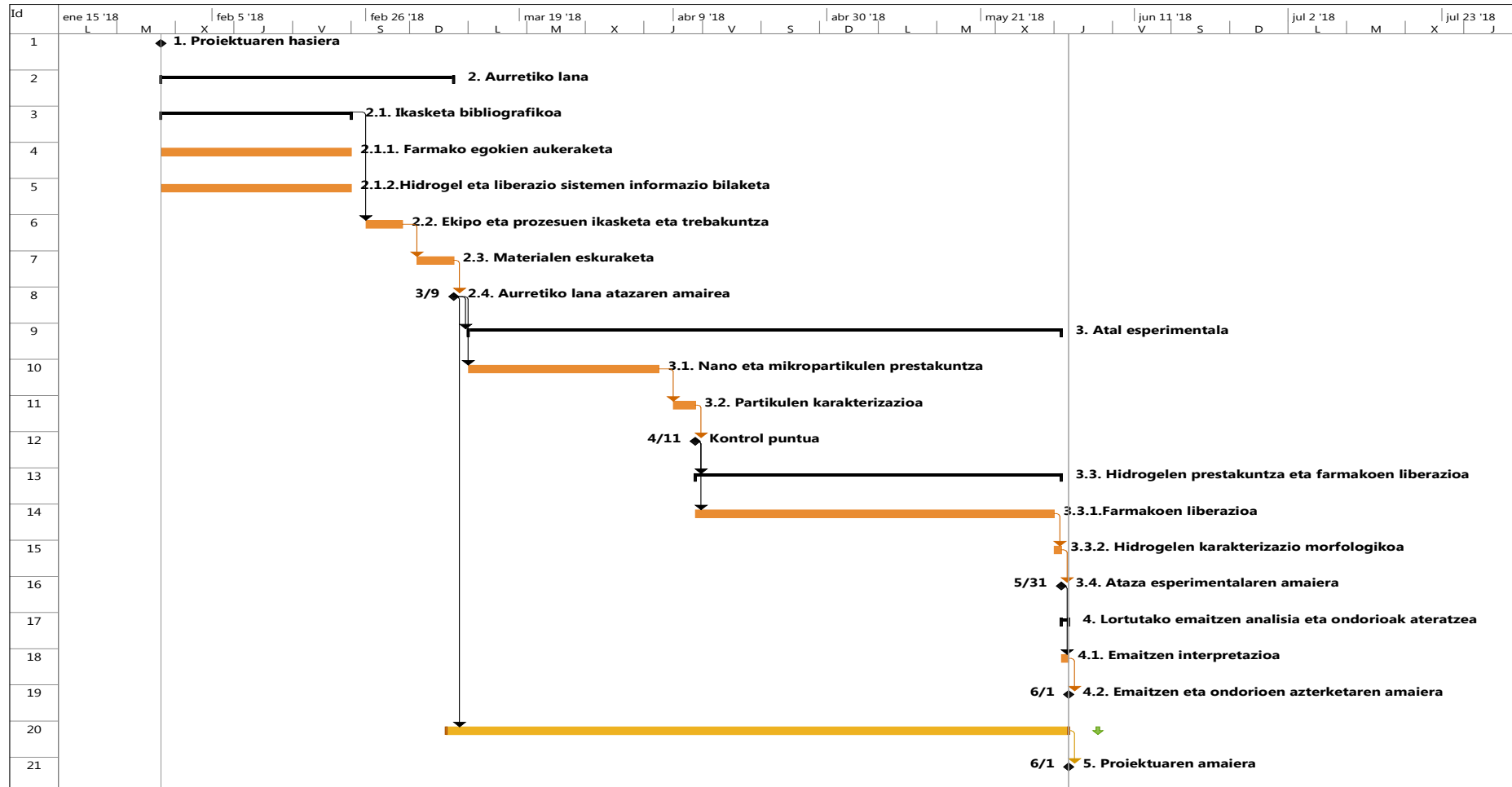
Eskainitako denbora: 61 egun

Hasiera data: 2018-03-09 Amaiera data: 2018-06-01

5. Proiektuaren amaiera

Oharra: proiektuaren txosten idatzia ekainak 5a baino lehen entregatu behar denez, mugako data bezala ekainak 5a finkatu da Gantt diagrama eratu denean. (Gezi berdez adierazi da diagraman)

5.2. Gantt diagrama



Irudia 28. Gantt diagrama.

5.3. Arrisku analisia

Mota honetako ikerketa lanetan normalean arrisku ezberdinak izateko aukera handia dago, izan ere, saiakuntza bat egiteko orduan faktore askok eragin dezakete. Garrantzitsua da arrisku hauek identifikatuak izatea horrela beharrezko prebentzio mekanismoak ezartzeko edo arazo bat gertatzekotan honi aurre egiten jakiteko. Ondorengo lerroetan egon daitezkeen arrisku posibleak identifikatuko dira eta ondoren hauek aurreikusteko eta arazoa gertatzekotan jarraitu beharreko prozedurak aztertuko dira.

5.3.1. Arriskuen identifikazioa eta balorazioa

A. Ekipoen matxura

Zati esperimentala aurrera eramán ahal izateko erabilitako ekipoak apurtzeak ondorio larriak ekarriko lituzke lanaren programazioan, izan ere, hilabeteak pasa daiteke konpondu bitartean, eta lana aurrera eramateko epea askotan ez da hain luzea. Honek esperimentuak egin ahal izatea eragotzi eta atzeratzen du. Hala ere, matxura bat gertatzeko probabilitatea oso txikia da.

Probabilitatea: 2/5 Eragina: 4/5

B. Saiakuntzak egiteko materiala zikin egotea

Zati esperimentalean erabilitako ontzi eta material ezberdinak beste esperimentu askotarako erabiltzen dira. Hauek egin ondoren ez badira behar bezala garbitzen ondoren esperimentuetan erabilitako produktuak kutsatu ditzake eta aldaketak sor ditzake emaitzetan, honela saiakuntza berriro errepikatu behar izanez.

Probabilitatea: 4/5 Eragina: 5/5

C. Lehengaiak garaiz ez iristea

Lehengai bat bukatu eta hurrengo iritsi bitartean denbora pasa daiteke. Honek, proiektuaren plangintza atzeratu dezake eta ondorioz azken emaitzetan aldaketak nabari daitezke proiektua aurrera eramateko denbora laburra bada. Hala ere, normalean atzerapenak ez dira ohikoak eta lehengaiak ez dira asko atzeratzen.

Probabilitatea: 2/5 Eragina: 3/5

D. Esperimentuak ez ateratzea

Ikerketa lanetan oso ohikoa da emaitzak eta esperimentuak ez ateratzea edo denboran luzatzea. Honek, alde batetik proiektuaren amaiera atzera dezake eta bestetik helburuen lorpena bertan behera utzi dezake, birplanteaketa baten beharra izanik.

Probabilitatea: 4/5 Eragina: 5/5

E. Sutea

Laborategian sute bat gertatzen bada, dauden ekipoak hondatu daitezke eta lortutako entseguen emaitzak, bai eta materiala gal daitezke. Hau gertatzeko probabilitatea oso baxua da honen prebentziorako mekanismoak oso kontrolatuak eta garatuak baitaude.

Probabilitatea: 1/5 **Eragina:**5/5

F. Argia joatea

Argia joanen balitz, momentu horretan martxan dauden entsegu eta frogak bertan behera geldituko lirateke eta berriro errepikatu beharko litzateke hasitako guztia. Honek planifikazioan denbora atzerapenak ekarriko lituzke.

Probabilitatea: 2/5 **Eragina:** 3/5

		ERAGINA				
		1	2	3	4	5
PROBABILITATEA	1					E
	2			C, F	A	
	3					
	4					B, D
	5					

Taula 3. Probabilitate eragin konparaketa.

5.3.2. Prebentziorako plana eta arriskua gertatzekotan jarraitutako prozedura

A. Ekipoen matxura

Makinen matxura eragozteko eta aurreikusteko modurik hoberena aldizkako berrikuspenak egitea da, horrela, dena ongi dagoela egiazta daiteke eta arazorik egotekotan berehala konpontzera eraman daiteke.

Matxura bat gertatzen bada egin beharrekoa laborategiko teknikariari edo arduradunen bati lehen bait lehen abisatzea da.

B. Saiakuntzak egiteko materiala zikin egotea

Ongi garbitu gabeko ontziekin arazorik ez izateko, erabili aurretik ongi berrikusi eta beharrezkoa dela ikusten bada berriro garbituko da ongi garbituta dagoela ziurtatzeko.

C. Lehengaiak garaiz ez iristea



Lehengaien falta ez izateko eta hauen falta denboran ez luzatzeko biltegian beti kantitate minimo bat dagoela ziurtatuko da eta produktuari

D. Esperimentuak ez ateratzea

Kasu honetan prebentziorako ez dago aukera handirik, aurretik ongi planifikatzea soluzio ona izan daiteke baina nahiz eta ongi planifikatu arazoak gertatzeko probabilitatea beti oso handia da. Esperimentu bat ateratzen ez bada arazoa non egon daitekeen pentsatu eta frogak egin ziurtatzeko eta beharrezkoa bada birplanteatu.

E. Sutea

Sute bat gertatzea ekiditeko materialak eta makinak behar bezala erabiltzen saiatuko da.

Sutea gertatuz gero unibertsitateak berak eskolatik irteteko plan bat du pasabideetan azaldua. Su itzalgailuak ere eskuragarri daude.

F. Argia joatea

Argia joatea ekiditeko larrialdietako sorgailuak instala daitezke unibertsitatean, honela edozein arazo dagoela hauek erabil daitezke eta ez da egiten ari den lana bertan behera utzi behar.



6. ASPEKTU EKONOMIKOAK

6.1. Aurrekontua

Ondorengo tauletan proiektua aurrera eraman ahal izateko erabilitako giza baliabide eta baliabide materialen erabilera denbora eta kostua azaltzen dira hiru atal ezberdinetan azalduta. Lehenengo atala barne orduen atala da, bertan giza baliabide ezberdinen lan tasa azaltzen da. Ondorengo puntua amortizazioen puntua da. Bertan erabilitako ekipoen denbora eta kostua azaltzen da. Azkenik, azken atalean material suntsikorren zerrenda, kantitatea eta kostua kalkulatu da.

BARNE ORDUAK			
	Denbora unitateko kostua (€/h)	Denbora (h)	Kostu totala (€)
Ikaslea	7	665	4655
Turorea 1	17	80	1360
Tutorea 2	17	20	340
Laborategiko laguntzailea	15	100	1500
GUZTIRA			6.015,00 €

AMORTIZAZIOAK						
	Kantitatea	Bizitza erabilgarria (urteak)	Prezioa (€)	Amortizazioa (€/h)	Erabilitako denbora (h)	kostu totala (€)
Birzirkulazio bortxatuko labea	1	15	7000	0,107	3192	340,09
Labea	1	15	7000	0,107	648	69,04
Agitazio/Berogailu plaka	1	15	680	0,010	68	0,70
Vortexa	1	15	156	0,002	30	0,07
Sonikazio ekipoa	1	15	4041	0,062	1,06	0,07
Ultra Turraxa	1	15	1600	0,024	2,8	0,07
Ultrsoinu ekipoa	1	15	640	0,010	6	0,06
Zentrifugazio ekipoa	1	15	1007,95	0,015	10	0,15
UV	1	15	6000	0,091	450	41,10
Mikropipeta	2	10	520	0,012	450	5,34
Balantza	1	15	420	0,006	2,5	0,02
GUZTIRA					456,71 €	



MATERIAL SUNTSIKORRA

	Kantitatea	Aurkezpena	Prezioa (€)	Prezioa unitateko, gramoko edo litroko	Kostua (€)
Beirazko flasko handiak (26ml)	75 unitate	121 unitate	47,97	0,40	29,73
Beirazko flasko txikiak (10ml)	50 unitate	195 unitate	30,12	0,15	7,72
Ambar beirazko flaskoak (15ml)	21 unitate	156 unitate	20,34	0,13	2,74
Tapoiak	20 unitate	20 unitate	2,98	0,15	2,98
Plastikozko flasko opakoak	8 unitate	12 unitate	9,62	0,80	6,41
Mikropipetaren plastikozko puntak	510 unitate	1000 unitate	17,4	0,02	8,87
PVA	110 g	500g botea	30	0,06	6,6
PLGA	1,62 g	5g botea	184	36,8	59,62
CS	6 g	500g botea	60	0,12	0,72
NaHCO ₃	6,72 g	500g botea	20	0,04	0,27
PBS	8 unitate	100 unitate	141	1,41	11,28
HCl	0,00164 L	1L botila	10	10	0,02
DCM	0,2 L	5L botila	27	5,4	1,08
Etanola	0,5 L	5L botila	90	18	9
Probetak	3 unitate			10	30
TCH	0,05 g	5g botea	44	1	0,05
IBU	0,25 g	10g botea	332	33,2	8,3
Guanteak	206 unitate	100 unitate	4,54	0,0454	9,35

GUZTIRA 185,39 €

Aipatu bezala, barne orduetan proiektuan parte hartu duten giza baliabideak kontuan hartu dira. Kasu honetan, proiektuak 2 zuzendari izan ditu lana proportzio ezberdinean banatu dutenak. Laborategiko lanetan lagundu duen pertsona bat ere egon da. Ikaslearen lan egunak 7 ordukoak izan dira. Hauek guztiak kontuan hartuz, 6015€-ko kostua atera da atal honetan.

Amortizazioen atalari dagokionez, kasu honetan, erabilitako ekipoen ordu kopuruak aldakorrak izan dira proiektuak dituen beharren arabera. Ekipo batzuk 24 orduz martxan egon dira proiektuak iraun duen denboran zehar eta beste batzuk ordu kopuru konkretu batean soilik egon dira martxan. Guzti hori kontuan hartu ondoren 456,71€-ko kostua izan du bigarren atal honek.

Azkenik, material suntsikorraren atalean, proiektua aurrera eramateko erabilitako materialak kontuan hartuta, 185,39€-ko kostua atera da.

TOTALA

BARNE ORDUAK	6.015,00 €
AMORTIZAZIOAK	456,71 €
MATERIAL SUNTSIKORRA	185,39 €

GUZTIRA 6.657,10 €

Guzti hau kontuan izanik, proiektuaren kostu totala 6657,1€-koa izan da.

7. BIBLIOGRAFIA

- [1] N. Bhattarai, J. Gunn, M. Zhang, Chitosan-based hydrogels for controlled, localized drug delivery, *Advanced Drug Delivery Reviews* 62 (2010) 83-99.
- [2] K. Numata, S. Yamazaki, N. Naga, Biocompatible and biodegradable dual-drug release system based on silk hydrogel containing silk nanoparticles, *Biomacromolecules* 13 (2012) 1383-1389.
- [3] L. Wei, C. Cai, J. Lin, T. Chen, Dual-drug delivery system based on hydrogel/micelle composites, *Biomaterials* 30 (2009) 2606-2613.
- [4] Y. Tang, Y. Du, X. Hu, X. Shi, J.F. Kennedy, Rheological characterisation of a novel thermosensitive chitosan/poly(vinyl alcohol) blend hydrogel, *Carbohydrate Polymers* 67 (2007) 491-499.
- [5] E. Caló, V.V. Khutoryanskiy, Biomedical applications of hydrogels: A review of patents and commercial products, *European Polymer Journal* 65 (2015) 252-267.
- [6] Y. Tang, Y. Du, Y. Li, X. Wang, X. Hu, A thermosensitive chitosan/poly(vinyl alcohol) hydrogel containing hydroxyapatite for protein delivery, *J. Biomed. Mater. Res. A* 91 (2009) 953-963.
- [7] L. Klouda, Thermoresponsive hydrogels in biomedical applications: A seven-year update, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 97 (2015) 338-349.
- [8] I. Katime, O. Katime, D. Katime, Materiales inteligentes: Hidrogeles macromoleculares. Algunas aplicaciones biomédicas, *Anales de la Real Sociedad Española de Química* 4 (2005) 35-50.
- [9] T.R. Hoare, D.S. Kohane, Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges, *Polymer* 49 (2008) 1993-2007.
- [10] G. Chang, Y. Chen, Y. Li, S. Li, F. Huang, Y. Shen, A. Xie, Self-healable hydrogel on tumor cell as drug delivery system for localized and effective therapy, *Carbohydrate Polymers* 122 (2015) 336-342.
- [11] J.J. Nichols, Contact lenses 2012, *Contact Lens Spectrum* 28 (2013) 24-29.
- [12] S. Venkatesh, S.P. Sizemore, M.E. Byrne, Biomimetic hydrogels for enhanced loading and extended release of ocular therapeutics, *Biomaterials* 28 (2007) 717-724.
- [13] T.D. Turner, Hospital usage of absorbent dressings, *Pharm J* 222 (1979) 421-426.
- [14] T.S. Stashak, E. Farstvedt, A. Othic, Update on wound dressings: Indications and best use, *Clin. Tech. Equine Pract.* 3 (2004) 148-163.
- [15] P.S. Murphy, G.R.D. Evans, *Advances in Wound Healing: A Review of Current Wound Healing Products*, *Plast.Surg.Int.J.* (2012) 1-8.



- [16] Wound Treatment. <http://en.matopat-global.com/our-solutions-view/wound-treatment/>.
- [17] Y.L. Lee, D.J. Mooney, Hydrogels for Tissue Engineering, Chem. Rev. 101 (2001) 1869-1880.
- [18] M. Liu, X. Zeng, C. Ma, H. Yi, Z. Ali, X. Mou, S. Li, Y. Deng, N. He, Injectable hydrogels for cartilage and bone tissue engineering, Bone Research 5 (2017) 17014.
- [19] F. Masuda, Trends in a development of superabsorbent polymers for diapers, in: Anonymous in: Superabsorbent polymers: science and technology, 1994, pp. 88-98.
- [20] N.A. Peppas, P. Bures, W. Leobandung, H. Ichikawa, Hydrogels in pharmaceutical formulations, European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 50 (2000) 27-46.
- [21] T. Nagai, Y. Machida, Y. Suzuki, H. Ikura, U.S. Patent, (1980).
- [22] V.R. Patel, M.M. Amiji, Preparation and characterization of freeze-dried chitosan-poly(ethylene oxide) hydrogels for site-specific antibiotic delivery in the stomach, Pharm. Res. 13 (1996) 588-593.
- [23] j. Liu, Y. Pang, S. Zhang, C. Cleveland, X. Yin, L. Booth, J. Lin, Y.L. Lee, H. Mazdiasni, S. Saxton, A.R. Kirtane, T. von Erlach, J. Rogner, R. Langer, G. Traverso, Triggerable tough hydrogels for gastric resident dosage forms, -Nature Communications (2017) 124-134.
- [24] Ophthalmic Drug Delivery, <http://ocularpharmacology.alliedacademies.com/events-list/ophthalmic-drug-delivery>.
- [25] W. Wang, Wat, E. Hui, Patrick C.L, B. Chan, F.S.F. Ng, C. Kan, X. Wang, H. Hu, E.C.W. Wong, C.B.S. Lau, P. Leung, Dual-functional transdermal drug delivery systems with controllable drug loading based on thermosensitive poloxamer hydrogel for atopic dermatitis treatment, (2016).
- [26] Hydrogel technology, <https://tolerogenics.lu/home/technology/hydrogel-technology/>.
- [27] T.M. Allen, P.R. Cullis, Drug Delivery Systems: Entering the Mainstream, Science 303 (2004) 1818-1822.
- [28] K.S. Soppimath, T.M. Aminabhavi, A.R. Kulkarni, W.E. Rudzinski, Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices, Journal of Controlled Release 70 (2001) 1-20.
- [29] J. Panyam, V. Labhasetwar, Biodegradable nanoparticles for drug and gene delivery to cells and tissue, Advanced Drug Delivery Reviews 55 (2003) 329-347.
- [30] Nanoparticles for Cancer Drug Delivery, <https://www.google.com/url?sa=i&source=images&cd=&ved=2ahUKEwj27Yztw7rbAhUI1RQKHwseAxAkQjhx6BAGBEAM&url=https%3A%2F%2Fwww.youtube.com%2Fwatch>

[%3Fv%3DvVhVSXxnjw&psig=AOvVaw0f6hdxa6DubSI5UMFgd4IL&ust=1528219616160811.](#)

- [31] A. Kumari, S.K. Yadav, S.C. Yadav, Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 75 (2010) 1-18.
- [32] J. Panyam, M.M. Dali, S.K. Sahoo, W. Ma, S.S. Chakravarthi, G.L. Amidon, R.J. Levy, V. Labhasetwar, Polymer degradation and in vitro release of a model protein from poly(d,l-lactide-co-glycolide) nano- and microparticles, *Journal of Controlled Release* 92 (2003) 173-187.
- [33] F. Danhier, E. Ansorena, J.M. Silva, R. Coco, A. Le Breton, V. Préat, PLGA-based nanoparticles: An overview of biomedical applications, *Journal of Controlled Release* 161 (2012) 505-522.
- [34] K. Cho, X. Wang, S. Nie, Z. Chen, D.M. Shin, Therapeutic Nanoparticles for Drug Delivery in Cancer, *Clin. Cancer Res.* 14 (2008) 1310-1316.
- [35] S. Podaralla, R. Sistla, T. Saini, P.V.D. Diwan, Influence of microencapsulation method and peptide loading on formulaion of poly (lactide-co-glycolide) insulin nanoparticles, 61 (2006) 613-617.
- [36] G. Mittal, D.K. Sahana, V. Bhardwaj, Ravi Kumar, M N V, Estradiol loaded PLGA nanoparticles for oral administration: Effect of polymer molecular weight and copolymer composition on release behavior in vitro and in vivo, *Journal of Controlled Release* 119 (2007) 77-85.
- [37] T.S. Anirudhan, J. Parvathy, A.S. Nair, A novel composite matrix based on polymeric micelle and hydrogel as a drug carrier for the controlled release of dual drugs, *Carbohydrate Polymers* 136 (2016) 1118-1127.
- [38] Z. Wu, X. Zou, L. Yang, S. Lin, J. Fan, B. Yang, X. Sun, Q. Wan, Y. Chen, S. Fu, Thermosensitive hydrogel used in dual drug delivery system with paclitaxel-loaded micelles for in situ treatment of lung cancer, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 122 (2014) 90-98.
- [39] W. Scarano, P. de Souza, M.H. Stenzel, Dual-drug delivery of curcumin and platinum drugs in polymeric micelles enhances the synergistic effects: a double act for the treatment of multidrug-resistant cancer, *Biomater. Sci.* 3 (2015) 163-174.
- [40] W. Wang, H. Song, J. Zhang, P. Li, C. Li, C. Wang, D. Kong, Q. Zhao, An injectable, thermosensitive and multicompartement hydrogel for simultaneous encapsulation and independent release of a drug cocktail as an effective combination therapy platform, *Journal of Controlled Release* 203 (2015) 57-66.
- [41] M. Sheu, H. Jhan, C. Su, L. Chen, C. Chang, D. Liu, H. Ho, Codelivery of doxorubicin-containing thermosensitive hydrogels incorporated with docetaxel-loaded mixed micelles enhances local cancer therapy, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 143 (2016) 260-270.



- [42] M. Konishi, Y. Tabata, M. Kariya, H. Hosseinkhani, A. Suzuki, K. Fukuhara, M. Mandai, K. Takakura, S. Fujii, In vivo anti-tumor effect of dual release of cisplatin and adriamycin from biodegradable gelatin hydrogel, *Journal of Controlled Release* 103 (2005) 7-19.
- [43] L. Zhao, L. Zhu, F. Liu, C. Liu, Shan-Dan, Q. Wang, C. Zhang, J. Li, J. Liu, X. Qu, Z. Yang, pH triggered injectable amphiphilic hydrogel containing doxorubicin and paclitaxel, *International Journal of Pharmaceutics* 410 (2011) 83-91.
- [44] A. Muxika, A. Etxabide, J. Uranga, P. Guerrero, K. de la Caba, Chitosan as a bioactive polymer: Processing, properties and applications, *International Journal of Biological Macromolecules* (2017) .
- [45] S.M. Ahsan, M. Thomas, K.K. Reddy, S.G. Sooraparaju, A. Asthana, I. Bhatnagar, Chitosan as biomaterial in drug delivery and tissue engineering, *International Journal of Biological Macromolecules* (2017) .
- [46] H. Wang, C. Chu, L. Hao, Y. She, Y. Li, L. Zhai, S. Jiang, Synthesis, antimicrobial, and release behaviors of tetracycline hydrochloride loaded poly (Vinyl alcohol)/chitosan/ZrO₂ nanofibers, 2015.
- [47] G.R. Bardajee, A. Pourjavadi, R. Soleyman, Novel nano-porous hydrogel as a carrier matrix for oral delivery of tetracycline hydrochloride, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 392 (2011) 16-24.
- [48] P. Niamlang, T. Tongrain, P. Ekabutr, P. Chuysinuan, P. Supaphol, Preparation, characterization and biocompatibility of poly(vinyl alcohol) films containing tetracycline hydrochloride-loaded quaternized chitosan nanoparticles, *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 38 (2017) 36-44.
- [49] W. Shao, H. Liu, S. Wang, J. Wu, M. Huang, H. Min, X. Liu, Controlled release and antibacterial activity of tetracycline hydrochloride-loaded bacterial cellulose composite membranes, *Carbohydrate Polymers* 145 (2016) 114-120.
- [50] A.C. Alavarse, de Oliveira Silva, Fernanda Waitman, J.T. Colque, V.M. da Silva, T. Prieto, E.C. Venancio, J. Bonvent, Tetracycline hydrochloride-loaded electrospun nanofibers mats based on PVA and chitosan for wound dressing, *Materials Science and Engineering: C* 77 (2017) 271-281.
- [51] F. Trotta, C. Baggiani, M.P. Luda, E. Drioli, T. Massari, A molecular imprinted membrane for molecular discrimination of tetracycline hydrochloride, *Journal of Membrane Science* 254 (2005) 13-19.
- [52] S. Xu, R. Zeng, J. Cheng, Z. Cai, X. Wen, P. Pi, Preparation of Antimicrobial Polycarboxybetaine-Based Hydrogels for Studies of Drug Loading and Release, 2014.
- [53] X. Qiu, S. Leporatti, E. Donath, H. Möhwald, Studies on the Drug Release Properties of Polysaccharide Multilayers Encapsulated Ibuprofen Microparticles, *Langmuir* (2001) 5375-5380- .



- [54] B. Arica, S. Çaliş, P. Atilla, N.T. Durlu, N. Çakar, H.S. Kaş, A.A. Hincal, In vitro and in vivo studies of ibuprofen-loaded biodegradable alginate beads, *J. Microencapsul.* 22 (2005) 153-165.
- [55] M. Öner, E. Yetiz, E. Ay, U. Uysal, Ibuprofen release from porous hydroxyapatite tablets, *Ceramics International* 37 (2011) 2117-2125.
- [56] M. Öner, E. Yetiz, E. Ay, U. Uysal, Ibuprofen release from porous hydroxyapatite tablets, *Ceramics International* 37 (2011) 2117-2125.
- [57] H.K. Makadia, S.J. Siegel, Poly Lactic-co-Glycolic Acid (PLGA) as Biodegradable Controlled Drug Delivery Carrier, - *Polymers* (2012) 1377-1396- .