

Azido hialuronikoko nanogelak

(*Hyaluronic acid nanogels*)

Sheila Maiz Fernández¹, Leyre Pérez Álvarez^{1*}

¹ Kimika Makromolekularreko Laborategia.
Kimika Fisiko Saila, Zientzia eta Teknologia Fakultatea (UPV/EHU)

* leyre.perez@ehu.eus

DOI: 10.1387/ekaia.17857

Jasoa: 2017-05-15

Onartua: 2017-07-18

Laburpena: Azido hialuronikoa (AH) izaki bizidun guztien zelulaz kanpoko matrizean (ECM) aurkitzen den polisakarido lineala da. Naturan dauden polimeroen artean aplikazio gehien dituena da. Biobateragarria, ez-zitotoxikoa eta biodegradagarria den makromolekula honek eskala nanometrikoan sintetizatzen denean, ezaugarri ezin hobekak aurkezten dituzten nanogelak garatzeko aukera paregabea eskaintzen du. Lan honetan azido hialuronikoaren eta bere nanogelen sintesi-metodoak, ezaugarriak eta erabilerak laburki deskribatuko dira, nanogel hauen potentziala biomedikuntzaren arloan jakinarazteko asmotan.

Hitz gakoak: Azido hialuronikoa, hidrogel, nanogel, mikroemulsio.

Abstract: Hyaluronic acid (AH) is a linear polysaccharide found in the extracellular matrix of all living organisms (ECM). Among all the polymers found in nature AH is the biopolymer which presents the largest number of applications. When this macromolecule that is biocompatible, non-cytotoxic and biodegradable is synthesized on the nanometric scale, it offers the fascinating possibility of developing nanogels with excellent properties. In this paper we will briefly describe hyaluronic acid and its nanogels, their synthesis methods, properties and applications, with the intention of making known their potential applications in the field of biomedicine.

Keywords: Hyaluronic acid, hydrogel, nanogel, microemulsion.

1. SARRERA

Material berriei buruzko ikerketak azken urte hauetan izugarri handitu dira nanoteknologiaren agerpenari esker. Nanoteknologia materiaren disei-

nuan eta manipulazioan eskala nanometrikoan oinarritzen da. Horrek kontrol atomikoaren eta molekularren bitartez propietate desberdinak izango duten nanoegiturak sintetizatzeko aukera ematen du [1]. Beraz, teknologia arruntarekin alderatuz, teknologia berri honen desberdintasun garrantzitsuena aztertzen diren substantziak mikrometro bat baino neurri txikiagoak izatea da, eta ondorioz, eskala atomikoan edota azpiatomikoan materialen portaera aztertzeko aukera ematen du. Eskala honetan materiaren propietate fisiko-kimiko berriak behatzen dira efektu kuantiko eta gainazal/bolumen erlazioaren igoeraren ondorioz. Naturan oinarritutako material polimerikoak nanoeskalen ezinbesteko material bihurtu dira dituzten propietate anitz eta aldakorrek direla eta.

Bestalde, material berrien arloan aipatzekoa da azken urteotan material adimendunak bereganatutako arreta gero eta handiago dela. Material adimendun deritze haien propietateak kanpo-kinada baten eraginez alda ditzaketelako. Material berri hauen artean polimeroen hidrogelak [2] aurkitzen dira. Hauek asko erabili dira azken hamarkadetan biomedikuntza eta industria arloan. Hidrogelak sare polimeriko hidrofilo eta tridimentsional modura definitzen dira, uraren presentziaren aurrean xurgatzeko gaitasuna aurkezten baitute, eta ondorioz, bolumen-aldaketa pairatzen dute hasierako forma galdu barik. Nanoteknologiak dituen beharrianak asetzeko, eskala nanometrikoan dauden hidrogenen azterketa bermatu da. Hidrogel horiei nanogel deritze.

2. NANOGELAK

Nanogelak gurutzamendu fisiko zein kimiko osatutako hiru dimentsioko partikula nanometrikoak dira. Hauen propietateak aurrean azaldutako hidrogenen berdinak dira, baina hauei nanoeskalen egoteagatik bereganatzen dituzten propietate berriak gehitzen zaizkie [3], hala nola, modifikazio kimikorako erraztasun handia edota eskuragarritasun topokimikoa. Nanogelek disolbatzaile egokietan makroskopikoki disolbagarriak dirudite, baina mikroskopikoki, ordea, disolbaezinak dira. Izan ere, gel nanometrikoak disolbatzeko gaitasuna daukate, katea osatzen duten talde hidrofiliakoak (alkohola edota talde azidoa, besteak beste) direla eta. Disolbagaitzak izatea, ordea, gertatzen da sarea osatzen duten kateen arteko gurutzamenduak direla eta, hau da, askotan kanpo gurutzatzaileak eragiten dituen loturengatik.

Urarekin kontaktuan jartzean, nanogelek ere, bolumen-handipena jasaten dute haien hasierako forma galdu gabe, baina hauek hidrogelak baino abiadura handiagoetan erantzuten dute, beraien gainazal/bolumen erlazioa handiagoa dutelako [4]. Nanogelek duten tamainari esker, garrantzi berezia hartu dute biomedikuntza arloan [5]. Farmakoen dosifikaziorako baliaga-

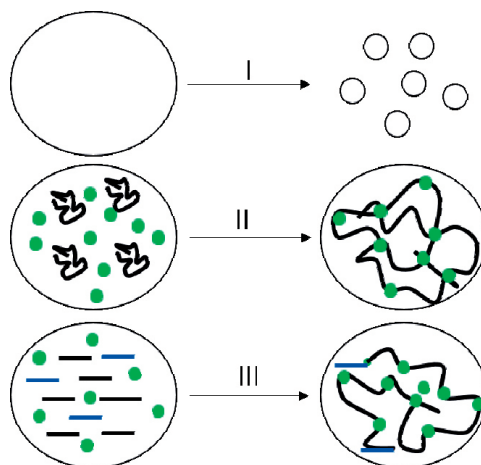
rriak diren sistema berrien garapena zientziaren erronka nagusi bilakatu da ohiko bideek hainbat muga dituztelako, hala nola, egonkortasun-eza, plas-mako mailen gorabeherak, edo intolerantzia. Muga horiek gaintitu nahian, nanogelak sendagai garraiatzaile modura erabiltzen hasi dira askapen kontrolatutako dosifikaziorako. Gainera, kanpo-kinada bati erantzuteko gai diren nanogelen eskutik, gaixotasunaren edota ehun motaren araberako farmakoen dosifikazio espezifikoa eta lokalizaturako aukera berriak garatu dira.

Kanpo-kinada horien barnean, pH edo indar ionikoaren aldaketak aipatzekoak dira, eta horien ondorioz, nanogel batzuek bere propietate fisiko-kimikoak aldatzen dituzte. pH-sentikortasuna nanogel mota desberdinetan aztertu da, hala nola, AHan [6], kitosanoan [7], azido polimetakrilikoan [8], besteak beste. Horietan, kanpoko pH-aldaketa baten ondorioz, kateetako talde ionizagarrien ionizazioa aldatzen da, eta hori dela eta, molekulen arteko elkarrekintzak aldatzen dira. Ionizazioak sare polimerikoan karga berdina duten ioien eraketa dakar, eta ondoren, aldarapen elektrostatikoak sortzen dira. Aldarapen horiek minimizatzeko, sarearen dimentsioak handitzen dira, eta ondorioz, sarea puzten da eta nanogelen tamaina handitzen da.

2.1. Sintesi-metodoak

Nanogelak sintetizatzeko metodo orokorrak [9] ondoren azaltzen diren hiru taldeetan banatu daitezke (1. irudia):

- I. *Makrogelen eraldaketa*: teknologia desberdinak garatu dira makrogeletik nanogelera eraldatzeko, birrinketa, ehoketa eta baheketan oinarriturikoak. Horiek guztiak aurrera eramateko denbora eta energia ugari erabili behar da eta lortzen diren nanogelen tamainaren dispersioa handia da. Horregatik, gaur egun nanogelak eratzeko, ondoren azaltzen diren metodoak sarriago erabiltzen dira partikula-tamainaren kontrol handiagoa ahalbidetzen dutelako.
- II. *Aldibereko polimerizazioa eta gurutzamendua*: hiru dimentsioko sareak pauso bakar batean sintetizatzeko aukera ematen du, eta monomeroen polimerizazioaren eta kate makromolekularraren arteko gurutzamenduak aldi berean gertatzen dira. Metodologia hau nagusia da abiapuntu sintetikoa jatorrizko monomeroak direnean; horregatik, biopolimeroen kasuan ez da erabiltzen.
- III. *Polimeroaren gurutzamendua*: polimero-kate eratuetatik abiatzen da, eta ondoren, errektibo multifuntzional batekin gurutzatzen da. Metodo hau aurrera eramateko, beharrezkoa da inguru oso diluituan lan egitea edota, ondoren azalduko den moduan, partikularen tamainaren hazkuntza kontrolatzen duen metodo berezi bati jarraitzea. Metodologia hau oso erabilia da biopolimeroetan, batez ere.



1. irudia. Nanogelen sintesi-metodoak: I) makrogelen eraldaketa. II) polimeroen gurutzamendua. III) aldebereko polimerizazioa eta gurutzamendua.

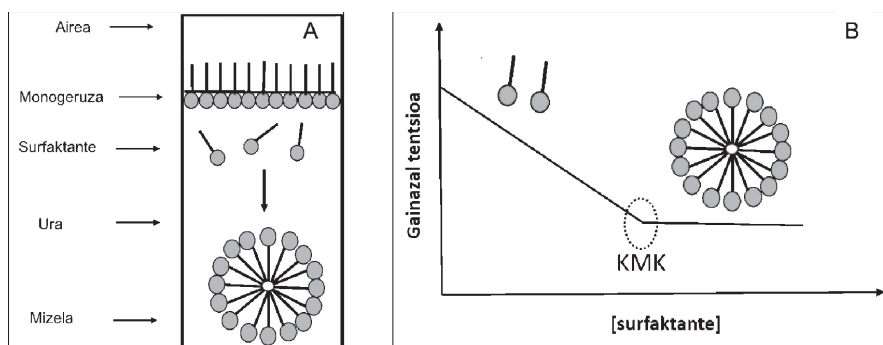
2.2. Partikula-tamainaren kontrola

Partikula-tamainaren kontrola ezinbesteko baldintza da tamaina koloidal duten gelen sintesia egiteko orduan; horretarako, erreakzio heterogeneoak erabiltzen dira. Metodo hauen barnean prezipitazioa, suspentsioa eta mikroemultsioa desberdintzen dira [10].

Prezipitazio bidezko metodoetan, erreakzioa gertatzen den ingurunea monomeroa disolbatzeko gai da, baina eratzen den polimeroa, ordea, ez. Horrela eratzen diren polimero-partikulak prezipitatu dira, eta neurri koloidalak hartzen dituzte. Dispersio bidezko metodoan, ostera, erreakzio-toki koloidal bereziak sortzen dira. Polimerizazioa edota gurutzamendu-erreakzioa gertatu ahala, polimero-partikulak sortzen dira eta dispersio ez homogenoak eratzen dituzte, eta ondorioz, polimero-partikula horiek erreakzio-gune bihurtzen dira. Izan ere, dispersioa prezipitazio bidezko metodo bat da [11].

Suspentsio bidezko erreakzioetan, monomeroaren edo polimeroaren tantak erreakzio-ingurunean esekita daude eta horiek emultsifikatzaile baten bidez egonkortzen dira. Metodo honetan ez dira mizelak eratzen, eta beraz, lortzen diren produktuek neurri nanometrikoak baino handiagoak aurkeztuko dituzte. Alabaina, suspentsio bidezko erreakzioen artean aipatzekoak dira mikroemultsio deritzenak, non mizelak eratzen diren eta hauek nanoerreaktore modura erabiltzen diren, nanogelak tamaina-banaketa estuarekin eta era eraginkor batean lortzeko.

Mikroemultsioak 1943. urtean aurkitu ziren Hoar eta Schulmanh-en eskutik [12]. Hauek behatu zuten ura, surfaktante, kosurfaktante eta disolbatzaile organikoen konbinazioak nahaste gardenak ematen zituztela, zeintzuk homogeenak eta termodinamikoki egonkorak ziren eta agregatu esferikoz osatuta zeuden. Mikroemultsioak, beraz, sakabanaketa isotropo, mikroegituratu, termodinamikoki egonkor eta optikoki garden edo zeharrargi moduan defini daitezke. Sistema hauek faseartean dagoen monogeruza baten bidez egonkortzen dira. Monogeruza hori, agente aktibatuz osatuta dago, surfaktantez hain zuzen. Surfaktanteak molekula anfifilikoak dira gainazal-tentsioa murrizteko gaitasun berezia dutenak. Horri esker, surfaktanteek nahastezin diren bi likido nahasgarri bihurtzen dituzte [13]. Surfaktanteak gainazalaren bidez adsorbatuak izaten dira aire/disolbatzaile faseartean eta, osatzen duten monogeruza saturatzen denean, hau da, gainazal-tentsioa minimora heltzen denean (ikus 2. irudia), surfaktanteak disolbatzailearen barnealderantz joaten dira, eta tamaina koloidalak duten egiturak eratzen dituzte, mizelak hain zuzen. Surfaktantearen kontzentrazio mizelar kritikoak (KMK) mizelizazio prozesua mugatzen du [14].

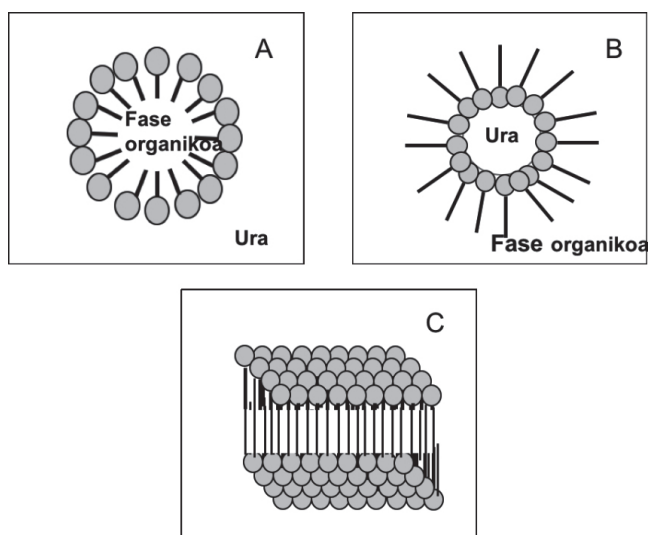


2. irudia. A) Mizelen eraketa monogeruzaren saturazioaren ondorioz B) KMKaren determinazioa gainazal-tentsioaren aldaketa surfaktantearekiko irudikapenaren bitartez.

Mikroemultsioak mota desberdinetan sailka daitezke (3. irudia) [15]:

- I. *Mikroemultsio zuzenak edo mikroemultsioak olio-uretan (O/U)*: mikroemultsio mota honetan, fase urtsu batean likido ez polar baten tanta koloidalak sakabanatzen dira, eta bi fase horien artean surfaktantea ezartzen da, eta mizelak eratzen dira, non buztan hidrofobikoa mizelaren barnean kokatzen den, hau da, fase organikoarekin kontaktuan, eta buru hidrofilikoa kanpoalderantz zuzenduta egongo den.

- II. *Alderantzizko mikroemultsioak edo mikroemultsioak ur-oliotan (U/O):* mikroemultsio mota honetan, surfaktanteak alderantzizko portaera dauka. Hauetan buztan hidrofoboa mizelaren kanpoalderantz zuzenduta egongo da eta buru hidrofilikoa, urarekin kontaktuan, hau da, barnealderantz. Mikroemultsio mota honetan, surfaktantea disolbatzaile organikoetan disolbatzen da.
- III. *Mikroemultsio bijarraituak:* olio-uretan edota ur-oliotan dispersatuta dauden tantak ez ezik, mikroemultsioak, zorizko nahaste bijarraituak ere izan daitezke, non tantak horien artean dagoen oreka desberdinengatik ordenatzen diren. Mikroemultsio mota hau aurrera eramateko fase urtsua eta fase organikoa soberan erabiltzen dira eta lortzen den produktuak egitura tridimentsionala du.

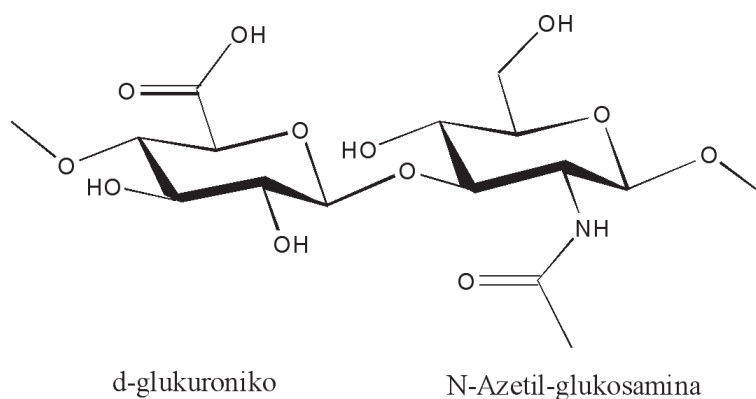


3. irudia. Mikroemultsio mota desberdinak: A) O/U mizela B) U/O mizela C) Mikroemultsio bijarraitua.

3. AZIDO HIALURONIKOA

3.1. Azido hialuronikoa: definizioa eta propietateak

Azido hialuronikoa (AH) gorputzean hyaluronidasa entzimak eta oxigeno espezie errektiboek arin degradatu ahal duten biopolimero lineala da. AHa glikosaminoglikano motako polisakaridoa da, hain zuzen, *d*-glukuroniko eta *N*-azetil-glukosamina diren unitate disakaridoz osatuta dagoena (4. irudia) [16].



4. irudia. AHaren egitura kimikoa.

AH-kateak disoluzio fisiologikoan (pH 7,4) gogortzen dira, kateen arteko eta AHaren eta disolbatzailearen arteko interakzio intermolekularrak direla eta, hala nola, hidrogeno loturak. AHaren egitura osatzen duten hidrogeno axialek aurpegi apolarra osatzen dute eta albo-kateek, hau da, plano ekuatoriala osatzen duten taldeek, aurpegi polarragoa osatzen dute, hidrofilikoa dena [16]. Bi aurpegi horien sorkuntzak AHaren egitura espirala osatzen du. AH kontzentrazio baxuko disoluzioetan, kateak gurutatu egiten dira, eta disoluzioari izaera likatsua ematen diote. Zenbat eta kontzentrazioa handiagoa izan, hialuronikoaren egitura gehiago kiribiltzen da, eta ondorioz, disoluzioaren likatasuna handiagoa da [17]. Hala ere, biskosite handia duen disoluzio batean zizailadura edota indar mekaniko bat aplikatzean, likatasuna murrizten da, eta horregatik, AHari material pseudoplastiko deritzo.

AH talde karboxilikoak pH egokian ionizatzen direnean, karga negatibo antizak sortzen dira eta horregatik polianioi bezala jokatzen du. Karga horiek direla eta AHak ura xurgatzeko gaitasun izugarria dauka, eta horregatik, bere bolumena baino 1000 aldiz gehiago handiagotu ahal da. Horregatik, AH lubrikatzaile, matrize estrazelularren (ECM) tanpoi osmotiko modura eta betegarri modura erabiltzen da. Egia esan, AH biopolimeroa bizidun guztietan aurkitzen da, ECMaren osagai nagusi bezala eta bestelako ehun bitreotan, mintz sinobialetan eta dermisean ere aurki dezakegu [18]. AHak naturan aurkitzen diren makromolekulen artean aplikazio gehien dituen biopolimero biobateragarria eta hidrofilikoa denez, gaur egun interes handia piztu du.

3.2. Azido hialuronikoaren erabilerak

Goian azaldu den moduan, AHA organismo bizidun guztietan aurkitzen da, eta horrek prozesu biologiko anitzetan parte hartzeko aukera ematen du.

ten dio. Prozesu biologiko horien artean zelulen ugaltze, desberdintze eta konpontze prozesuak aurkitzen dira. Gainera, AHak duen propietate hidrofiliikoagatik, zelulen ureztatze prozesuetan ere parte hartzen du, eta horrela, zelulen zahartzapen eta orbaintze prozesuan eragin zuzena dauka. [19] AHaren aplikazio gehienak biomedikuntza arloan aurkitzen dira, ez-zitotoxikoa eta biobateragarria delako. Biomedikuntza arloan dituen aplikazio adierazgarrien artean, dermatologian [20], farmakologian [21] eta kosmetika [22] arloan bereizten dira.

- *Dermatologia*: denbora aurrera joan ahala, gizakiok gorputzean daukagun AH kontzentrazioa murrizten doa, eta ondorioz, falta hori gaindituko duen baliabideak sintetizatu dira, hala nola, produktu kosmetikoak. AHa produktu kosmetikoetan oso erabilia da bere propietate hidrofiliikoengatik eta biobateragarritasun onagatik. Izan ere, AHa duten produktu kosmetikoak, azala hidratatzeko ez ezik, zimurrak gutxitzeko ere erabiltzen dira. Gainera, AHak zirujia plastikoen ere egin ditu bere hastapenak. Adibidez, inplanteak egiteko erabiltzen da, silikona-gela ordezkatzuz, protesien eta betegarrien itxura hobea dela behatu delako [23]. Horretaz gain, AHak zaurien orbaintze prozesua arintzen du, izaera hidrofiliikoagatik ingurune oso hidratatuak eta ez-immunogenikoak eskaintzen dituelako, eta horiek orbaintze prozesuari laguntzen diote.
- *Aplikazio oftalmologikoak*: AHak oftalmologian aplikazio ugari ditu, hala nola, kornearen edota epitelio-zelulen birsorkuntza prozesuan CD44 errezeptoreekin dituen interakzioei esker; izan ere, errezeptore hori, gizakion kornean eta zelula konjuntiboetan aurkitzen da. Horretaz gain, AHa lubrikatzaile moduan erabiltzen da bere propietate hidrofiliikoak direla eta [24].
- *Minbiziaren aurkako agentea*: AHak garrantzi handia du fisiologia tumoralean, batez ere CD44 eta RHAMM errezeptoreekin egiten duen loturengatik. Errezeptore horiek zelulen ugaltzean eta bizirau-penean eragina daukate eta, gaixotuta dauden zeluletan gainadierazita daudenez, AHa zelula horietara selektiboki bideratzen da [25]. Beste aldetik, prozesu angiogenesikoa [26] ere faboratzen dute, zeinek bizirautea sustatzen duen.
- *Atxikidura ekiditeko aplikazioak*: oso hidrofiliakoa denez, oso aproposa da atxikidura murrizteko eta helburu horrekin aplikazio biomedikoetan asko erabili da. Adibidez, AHko hesiak oso ohikoak dira ebakuntza ostean sortzen diren ehunen arteko atxikidurak ekiditeko, horiek zaurien sendaketa oztopatzen baitute. Gainera, AHak eragiten duen hidratazioak bakterioen atxikidura ere ekiditen du, eta horrela, albo-infekzioak ere murriztu ahal dira, eta bakterioen aurkako materialak garatzeko erabiltzen hasi da [16].
- *Aplikazio ortopedikoak*: AHa likido sinobialean eta kartilago articularrean modu naturalean agertzen denez, aplikazio ortopedikoe-

tarako asko erabiltzen da, osteoarthritis edo arthritis erreumatoide deritzen artikulazio-gaixotasunetan [27]. Kasu hauetan, AHak duen natura likatsuagatik eta hidratatzeko gaitasunagatik, labaingarri eta indargetzaile moduan erabiltzen da hezurren artikulazioetan [28].

4. AZIDO HIALURONIKOKO NANOGELAK

AHak gorputzean duen presentziagatik, biomedikuntzarako aplikazio oparotsuak izango dituen material modura sailkatzen da. Hala ere, AHa mugatuta dago; alde batetik, AHaren disoluzioek biskositate altua izan dezakete, eta bestetik, AHaren eliminazio azkarra hialuronidasa entzimaren degradazioaren ondorioz gerta daiteke. Nanoteknologiak muga horiek gainditzeko aukera berriak proposatu ditu. AHko nanogelek gurutzatu barietate dagoen AH polimeroak baino denbora gehiago irauten dute odolean, degradazio entzimatikokoarekiko erresistentzia handiago dutelako [29]. Horrela, AHko nanogelak sintetizatzeke, ahalik eta tamaina-dispersioa txikiagoa izateko, partikula-tamaina kontrolatzea komeni da, eta horregatik, AHko nanopartikulak sintetizatzeke gehien erabiltzen den metodoa alde-erantzizko mikroemulsiok dira, nanoerreaktore moduan erabiliko direnak.

4.1. Sintesi metodoa

Nahiz eta AHko nanogelak prestatzeko metodo desberdinak egon, hala nola, prezipitazioa edota suspentsioa, gehien erabiltzen den metodoa alde-erantzizko mikroemulsiok (U/O) da.

AHaren alde-erantzizko mikroemulsioketan, fase urtsuan AHa disolbatzen da, eta horretaz gain, beste aldetik, fase organiko bat dago, non disolbatzaile apolar bat surfaktante kontzentrazio altuak disolbatzeko gai izango den. Gainera, kosurfaktanteak ere erabiltzen dira, zeintzuk mizelizazio prozesuari lagunduko dioten; normalean kate motzeko alkoholak izaten dira.

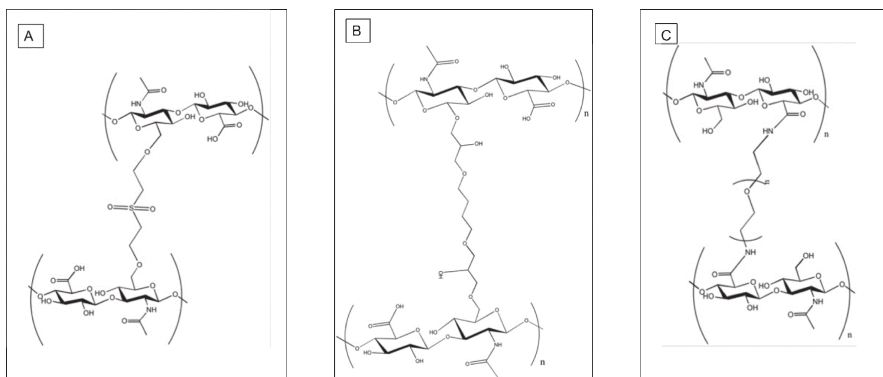
AHaren U/O mikroemulsioketan gehien erabiltzen den formulazioa ondorengoa da: ura, fase urtsuaren disolbatzailea, eta sodio bis(etilhexil) sulfosuccinatoa (AOT) surfaktante modura; hala ere, bestelako tentsioaktiboak erabili dira, hala nola, Tween 80 eta Span 20 [30,31] surfaktante-nahastea. Gainera, 1-heptanol kosurfaktante bezala erabiltzea ere oso ohikoa da eta isooktanoa fase organikoaren disolbatzaile modura. Agente erretikulatzaileari dagokionez, gehien erabiltzen diren gurutzatzaileak dibinil sulfona [30,31] (DVS) eta 1,4-butanediol diglizil etera (BDDE) [34,35] dira, FDAk (*Food and Drug Administration*) gainditutako gurutzatzaileak baitira. Hala ere, ezaugarri desberdinak eragiten dituzten bestelako guru-

tzatzaile berriak erabili nahian, molekula gehiago aztertzen ari dira, hala nola polietilenglikolaren (PEG) deribatuak [36].

AHak, eraldaketa kimikorako proposak diren zenbait funtzio-talde aurkezten ditu (4. irudia): karboxilato taldeak, azetamido taldeak, kate amaierako talde erreduktoreak eta hidroxilo taldeak [37].

AHko ohiko gurutzamendu-erreakzioak DVS [38, 39] eta BDDE gurutzatzaileak erabiliz gertatzen dira (5. irudia, A eta B). Bi agente gurutzatzaile horiek erabiliz, eraso alkohol taldeetan gertatzen da, eta horregatik, erreakzioak inguru basikoan gauzatzen dira, alkoxi erradikala eratzeko. Mekanismoaren lehenengo pausoa, hidroxiloaren desprotonazioa gertatzen da ingurune basikoan. Behin karga negatiboa talde alkoxidoan eratu dela, hauek, DVSak duen lotura bikoitzarekin edota BDDEaren talde epoxidoekin erreakzionatuko dute elektroiz urriak direlako; horrela, sulfonil-*bis*-etilo eta 1,4-butanodiol di-(propan-2,3-diolil) eter loturak eraten dira, hurrenez hurren. Ondoren, berriro ere, mekanismo berdina errepikatuko da AHko zenbait unitaterekin eta sarea eratuko da deskribatutako Oxa-Michael adizio-erreakzioaren bitartez [38].

PEGaren deribatuen artean, azken urteotan PEG diaminoa etorkizun handiko gurutzatzaile bezala ezagutzen ari da (5. irudia, C). Dena den, gurutzapen-erreakzio horrek desabantaila bezala du PEG diaminoaren eta AHaren arteko gurutzamendua aurrera eramateko lehenik eta behin AHaren karboxilo taldeak aktibatu behar direla. Horretarako, AHaren karboxilo taldeen modifikazioa amidazioaren bitartez egiten da, 1-(3-dimetilamino-propil)-3-etilkarbodiimida (EDC) uretan disolbagarritasun handia duena, eta halako erreakzioan ere oso ohikoa da *N*-hydroxisuccinimida (NHS) erabiltzea, azken honi esker albo-erreakzioen sorrera minimizatzen delako [35,40].



5. irudia. Gurutzatzaile desberdinekin lortutako nanogelaren egitura kimikoa: A) AH-DVS, B) AH-BDDE, C) AH-PEGBNH₂

4.2. Azido hialuronikoko nanogelen erabilerak

AHko nanogelen aplikazioen barnean, aipagarrienak biomedikuntzan dituen aplikazioak dira. Medikuntzaren arlo honen barnean, nanogelak, oso interesgarri bihurtu dira farmakoen garraioan gaixotasunak sendatzeko bidean. AHko nanogelak hain interesgarri bihurtu dira, biobateragarriak, ez-toxikoak eta biodegradagarriak izateaz gain, zelula interesgarri (minbizia dutenak, begietako korneakoak, besteak beste) askotan AHarekin lotura bereziak eratzen dituen errezeptoreak gainespresatzen direlako. Horrek sendagileen askapen zuzendurako aukera paregabea eskaintzen du. Hori dela eta, hamaika lan plazaratu dira azken urteotan terapia mota berri hauetan AHko nanogelen eraginkortasuna balioztatzeko.

Choi *et al.*ek [41] AHko nanopartikulak prestatu zituzten tumoreak zituzten saguetan injektatzeko, nanopartikula horien *in vitro* jokaera aztertzeko asmotan. Horretarako, AHko nanopartikula fluoreszenteak sintetizatu ziren eta ikerlariak seinale adierazgarriak zelulen zitosolean behatzen zirela ikusi zuten. Seinale horiek adierazten zuten, zelulek AHko nanopartikulak bereganatu zituztela zelula horiek zituzten errezeptoreei esker. Saguetan barneratutako AHko nanopartikulak odolean bi egunez egon ziren eta selektiboki tumorean pilatu egin zirela frogatzea lortu zen.

Beste aldetik, terapia genikoak aukera paregabea eskaintzen du begien gaixotasunen tratamenduetarako. Hala ere, terapia honen inplantazioa mugatuta dago garraiatzaile eraginkorren eza dagoelako. de la Fuente *et al.*ek AHko eta kitosanoko nanopartikulek terapia genikoan dituzten aplikazioak begietarako aztertu zuten genez kargatu ondoren. AHko eta kitosanoko nanopartikula hauek gene-transferentzia maila handiak transferitzeko gai zirela behatu zen ikerketa honetan. Transferentzia prozesu hau egin ahal izan zen AHak eta kitosanoak jasaten duten endozitosi [42] prozesuari esker barneratu zirelako, CD44 errezeptoreek zuzendu baitzuten [43].

5. ESKER ONAK

Egileek laguntza ekonomikoa (FRONTIERS, ELKARTEK programa, Ikerkuntza taldeak IT718-13) eta SGIkerrek (UPV/EHU, MICINN, GV/EJ, EGEF eta EGIF) emandako laguntza teknikoa eta gizatiarra eskertzen dute.

6. BIBLIOGRAFIA

- [1] E. LINDQUIST eta K. N. MOSHER-HOWE. 2010. «Nanotechnology. What Is It Good For?». *Rev. Policy Res.* 27, 255-272.
- [2] E. M. AHMED. 2015. «Hydrogel: Preparation, characterization, eta applications: A review». *J. Adv. Res.* 6, 105-121.

- [3] F. SULTANA, MANIRUJJAMAN, IMRAN-UL-HAQUE, M. ARAFAT, eta S. SHARMIN. 2013. «An overview of nanogel drug delivery system». *J. Appl. Pharm. Sci*, 3, 95-105.
- [4] K. KARL eta W. EIMER. 1998. «Swelling properties of colloidal poly(N-Isopropylacrylamide) microgels in solution». *Berichte der Bunsengesellschaft für Phys. Chemie*, 102, 848-854.
- [5] L. ZHA, B. BANIK, eta F. ALEXIS. 2011. «Stimulus responsive nanogels for drug delivery». *Soft Matter*, 7, 5908.
- [6] J. T. KIM, D. Y. LEE, Y. H. KIM, I. K. LEE, eta Y. S. SONG. 2012. «Effect of pH on Swelling Property of Hyaluronic Acid Hydrogels for Smart Drug Delivery Systems». *J. Sens. Sci. Technol.*, 21, 256-262.
- [7] D. R. BHUMKAR eta V. B. POKHARKAR. 2006. «Studies on effect of pH on cross-linking of chitosan with sodium tripolyphosphate: a technical note AAPS». *PharmSciTech*, 7, E50.
- [8] N. SCHÜWER eta H. A. KLOK. 2011. «Tuning the pH sensitivity of poly(methacrylic acid) brushes». *Langmuir*, 27, 4789-4796.
- [9] L. PÉREZ-ÁLVAREZ, J.M. LAZA eta A. ÁLVAREZ-BAUTISTA. 2016. «Covalently and Ionically Crosslinked Chitosan Nanogels for Drug Delivery» *Current Pharmaceutical Desing*, 22, 3380-3398.
- [10] J. K. OH, R. DRUMRIGHT, D. J. SIEGWART, eta K. MATYJASZEWSKI. 2008. «The development of microgels/nanogels for drug delivery applications». *Prog. Polym. Sci*, 33, 448-477.
- [11] JUNWU ZHU, DAN LI, HAIQUN CHEN, XUJIE YANG, LUDE LU eta XIN WANG. 2004. «Highly dispersed CuO nanoparticles prepared by a novel quick-precipitation method». *Mat. Let.*, 58, 3324-3327.
- [12] T. HOAR eta J. SCHULMAN. 1943. «Transparent water-in-oil dispersions: the oleopathic hydro-micelle». *Nature*, 152, 102-103.
- [13] L. L. SCHRAMM, E. N. STASIUK, eta D. G. MARANGONI. 2003. «Surfactants and their applications». *Physical Chem.*, 99, 3.
- [14] T. F. TADROS. 2005. «Adsorption of Surfactants at the Air/Liquid and Liquid/Liquid Interfaces». *Applied Surfactants: Principles eta Applications*, 4, 73-84.
- [15] B. K. PAUL eta S. P. MOULIK. 2001. «Applications and Use of Microemulsions». *Curr. Sci*, 80, 990-1001.
- [16] J. NECAS, L. BARTOSIKOVA, P. BRAUNER eta J. KOLAR. 2008. «Hyaluronic acid (hyaluronan): A review». *Vet. Med. (Praha)*, 53, 397-411.
- [17] M. K. COWMAN eta S. MATSUOKA. 2005. «Experimental approaches to hyaluronan structure». *Carbohydr. Res.*, 340, 791-809.
- [18] S. R. COLEMAN. 2006. «Cross-linked hyaluronic acid fillers». *Plast. Reconstr. Surg.*, 117, 661-665.
- [19] G. KONAN, L. SOLTÉ, R. STERN eta P. GEMEINER. 2006. «Hyaluronic acid: a natural biopolymer with a broad range of biomedical and industrial applications». *Biotechnol. Lett.*, 29, 17-25.
- [20] P. J. ERAZO, A. C. DE CARVALHO, T. ALEXETAER, M. RAMOS eta P. VIANNA. 2009. «Relleno facial con ácido hialurónico: Técnica de pilares

- y malla de sustentación. Principios básicos para obtener una remodelación facial». *Cir. Plast. Ibero-Latinoamericana*, 35, 181-194.
- [21] Y. LUO, K. R. KIRKER eta G. D. PRESTWICH. 2000. «Cross-linked hyaluronic acid hydrogel films: New biomaterials for drug delivery». *J. Control. Release*, 69, 169-184.
- [22] S. J. FALCONE eta R. A. BERG. 2008. «Crosslinked hyaluronic acid dermal fillers: A comparison of rheological properties». *J. Biomed. Mater. Res.*, 87, 264-271.
- [23] M. B. BROWN eta S. A. JONES. 2005. «Hyaluronic acid: A unique topical vehicle for the localized delivery of drugs to the skin». *J. Eur. Acad. Dermatology Venereol*, 19, 308-318.
- [24] A. MALTESE, A. BORZACCHIELLO, L. MAYOL, C. BUCOLO, F. MAUGERI, L. NICOLAIS eta L. AMBROSIO. 2006. «Novel polysaccharides-based viscoelastic formulations for ophthalmic surgery: Rheological characterization». *Biomaterials*, 27, 5134-5142.
- [25] A. KULTTI, X. LI, P. JIANG, C. B. THOMPSON, G. I. FROST eta H. MICHAEL SHEPARD. 2012. «Therapeutic targeting of hyaluronan in the tumor stroma». *Cancers (Basel)*, 4, 873-903.
- [26] P. K. SHAHI, A. D. E. L. C. RUEDA eta G. P. MANGA. 2008. «Angiogenesis neoplásica». *An. Med. interna*, 25, 366-369.
- [27] N. M. SALWOWSKA, K. A. BEBENEK, D. A. ŻADŁO eta D. L. WCISŁO-DZIADECKA. 2016. «Physicochemical properties and application of hyaluronic acid: a systematic review». *J. Cosmet. Dermatol.*, 1-7.
- [28] J. B. LEACH, K. A. BIVENS, C. N. COLLINS eta C. E. SCHMIDT. 2004. «Development of photocrosslinkable hyaluronic acid-polyethylene glycol-peptide composite hydrogels for soft tissue engineering». *J. Biomed. Mater. Res.*, 70A, 74-82.
- [29] M. GOLD. 2009. «The science eta art of hyaluronic acid dermal filler use in esthetic applications». *J. Cosmet. Dermatol.*, 8, 301-307.
- [30] A. K. JHA, M. S. MALIK, M. C. FARACH-CARSON, R. L. DUNCAN eta X. JIA. 2010. «Hierarchically structured, hyaluronic acid-based hydrogel matrices via the covalent integration of microgels into macroscopic networks». *Soft Matter*, 6, 5045-5055.
- [31] M. KONG eta H. J. PARK. 2011. «Stability investigation of hyaluronic acid based nanoemulsion eta its potential as transdermal carrier». *Carbohydr. Polym.*, 83, 1303-1310.
- [32] M. N. COLLINS eta C. BIRKINSHAW. 2013. «Hyaluronic acid based scaffolds for tissue engineering - A review». *Carbohydr. Polym.*, 92, 1262-1279.
- [33] Y. YU eta Y. CHAU. 2012. «One-Step 'Click' Method for Generating Vinyl Sulfone Groups on Hydroxyl-Containing Water-Soluble Polymers». *Biomacromolecules*, 13, 3, 937-942.
- [34] L. KENNE, S. GOHIL, E. M. NILSON, A. KARLSSON, D. ERICSSON, A. HELANDER KENNE eta I. L. NORD. 2013. «Modification eta cross-

- linking parameters in hyaluronic acid hydrogels - Definitions eta analytical methods». *Carbohydr. Polym.*, 91, 410-418.
- [35] C. E. SCHANTÉ, G. ZUBER, C. HERLIN eta T. F. VETAAMME. 2011. «Chemical modifications of hyaluronic acid for the synthesis of derivatives for a broad range of biomedical applications». *Carbohydr. Polym.*, 85, 469-489.
- [36] K. Y. CHOI, K. H. MIN, H. Y. YOON, K. KIM, J. H. PARK, I. C. KNOW, K. CHOI, S. Y. CHOI eta S. Y. JEONG. 2011. «PEGylation of hyaluronic acid nanoparticles improves tumor targetability in vivo». *Biomaterials*, 32, 1880-1889.
- [37] F. BONAFÈ, M. GOVONI, E. GIORDANO, C. CALDARERA, C. GUARNIERI eta C. MUSCARI. 2014. «Hyaluronan and cardiac regeneration». *J. Biomed. Sci.*, 21, 100.
- [38] S. STRASSER eta C. SLUGOVIC. 2015. «Nucleophile-mediated oxo-Michael addition reactions of divinyl sulfone – a thiol-free option for step-growth polymerisations». *Catal. Sci. Technol.*, 5, 091-5094.
- [39] A. A. M. SHIMOJO, A. M. B. PIRES, R. LICHY eta M. H. A. SANTANA. 2015. «The performance of crosslinking with divinyl sulfone as controlled by the interplay between the chemical modification eta conformation of hyaluronic acid». *J. Braz. Chem. Soc.*, 26, 506-512.
- [40] G. D. PRESTWICH, D. M. MARECAK, J. F. MARECEK, K. P. VERCRUYSSSE eta M. R. ZIEBELL. 1998. «Controlled chemical modification of hyaluronic acid: Synthesis, applications, eta biodegradation of hydrazide derivatives». *J. Control. Release*, 53, 93-103.
- [41] K. Y. CHOI eta K. H. MIN. 2009. «Self-assembled hyaluronic acid nanoparticles as a potential drug carrier for cancer therapy: synthesis, characterization, and in vivo biodistribution». *J. Mater. Chem.*, 19, 4102-7.
- [42] E. N. HARRIS, S. V. KYOSSEVA, J. A. WEIGEL eta P. H. WEIGEL. 2007. «Expression, processing, and glycosaminoglycan binding activity of the recombinant human 315-kDa Hyaluronic Acid Receptor for Endocytosis (HARE) ». *J. Biol. Chem.*, **282**, 2785-2797.
- [43] M. DE LA FUENTE, B. SEIJO eta M. J. ALONSO. 2008. «Novel hyaluronic acid-chitosan nanoparticles for ocular gene therapy». *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **49**, 2016-2024.