

BIOSENSORES, BIORREACTORES Y VEHÍCULOS DE FÁRMACOS A PARTIR DE ENZIMAS Y PRINCIPIOS ACTIVOS INMOVILIZADOS EN MICROGELES Y NANOPARTÍCULAS HÍBRIDAS

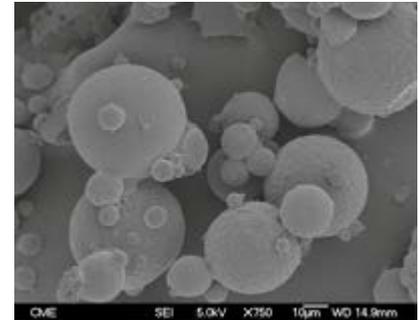
Descripción

Los **sistemas gelificados** son de interés en la industria biomédica para la preparación de productos blandos que pueden ser tanto de uso externo como interno. Ejemplo de uso externo podrían ser biosensores y biorreactores, cremas y geles para cosmética, etc., mientras que de uso interno podría ser la encapsulación de medicamentos para su dispensación oral o en sueros. Podemos preparar geles, con gran variedad de polímeros. Variando la concentración de entrecruzante se puede controlar el tamaño de poro de estos materiales y la difusión de sustratos a través de la matriz polimérica.

La utilización de partículas poliméricas (tipo micro- y nanogel) permite obtener sistemas con una gran relación superficie/volumen donde se pueden unir o atrapar enzimas que pueden reaccionar con un sustrato. Estos sistemas son posteriormente recuperados y reutilizados debido a que el enzima está protegido por la matriz polimérica, preservando su actividad durante largos periodos de tiempo. Aunque en los últimos años se han descrito varias técnicas de inmovilización, el método de polimerizaciones desde emulsiones concentradas resulta idóneo para gran variedad de enzimas debido a su alto rendimiento de encapsulación. Este método consiste en realizar una emulsión con una fase acuosa superior al 75% del volumen total de la emulsión donde las gotas dispersadas forman estructuras poliédricas separadas por una pequeña película de fase oleosa. En el interior de estas estructuras poliédricas se produce la polimerización al añadir el agente iniciador, encapsulando durante este proceso cualquier enzima que hubiera sido disuelta previamente en la fase acuosa.

Otra posibilidad es la de utilizar nanopartículas híbridas con estructura de núcleo y corteza. Por ejemplo, se pueden sintetizar partículas cuyo núcleo está formado por partículas magnéticas recubiertas por una capa de sílice. La capa de sílice puede funcionalizarse y crecer sobre ella polímeros biocompatibles como el polietilenglicol (PEG) y la policaprolactona (PCL) que permiten utilizar estos sistemas para transportar sustancias hidrofóbicas (dispersadas en la PCL) en medios acuosos en donde se podrían dispersar las nanopartículas gracias a su cubierta de PEG. El núcleo magnético permitiría la fácil recuperación del sistema híbrido simplemente utilizando un campo magnético.

[El Grupo de Investigación Materiales Nanoestructurados Bioactivos MATNABIO](#), del Departamento de Física-Química Farmacéutica de Facultad de Farmacia, ha desarrollado métodos de síntesis de micro y nanopartículas poliméricas tipo microgeles y nanogeles y también nanopartículas inorgánicas de óxido de hierro, oro, plata, etc. Además, posee técnicas de síntesis y caracterización de nanopartículas híbridas con estructura de núcleo y corteza donde el núcleo puede ser una nanopartícula inorgánica y la corteza puede ser un polímero o un gel. Estos sistemas híbridos combinan las propiedades magnéticas o luminiscentes del núcleo con las propiedades de la cubierta polimérica donde se pueden encapsular principios activos o enzimas.



Microgeles de poliacrilato de magnesio obtenidos mediante el método de polimerización en emulsión concentrada y que han sido cargados con glucosa oxidasa.

Cómo funciona

1. Síntesis de microgeles, nanogeles y nanopartículas poliméricas. i) Preparación de micro y nanogeles monodispersos por el método de polimerización radical en solución acuosa de N-isopropilacrilamida; ii) Preparación de micropartículas polidispersas de látex por el método de polimerización en emulsión concentrada utilizando una amplia variedad de polímeros iii) Utilización de técnicas para la determinación del tamaño y estructura de las partículas sintetizadas.

2. Síntesis de nanopartículas inorgánicas. Se utilizan diversos métodos para preparar nanopartículas: i) con propiedades magnéticas como Fe_2O_3 y Fe_3O_4 ; ii) con propiedades ópticas como nanocristales de Au, Ag; y iii) con propiedades de conversión ascendente de fotones infrarrojos a fotones visibles y ultravioleta como nanocristales de $\text{NaYF}_4: \text{Yb, Er}$, también de $\text{NaYF}_4: \text{Yb, Tm}$ y $\text{NaYF}_4: \text{Yb, Tm}@ \text{SiO}_2$; iv) de fácil funcionalización como SiO_2 .

3. Síntesis de nanopartículas híbridas multirrespuesta con estructura núcleo@corteza. Se utilizan como núcleo las nanopartículas inorgánicas mencionadas anteriormente y se recubren de una corteza polimérica o de gel. Las partículas resultantes combinan las propiedades del material del núcleo y del material de la corteza. Por ejemplo, nanopartículas magnéticas recubiertas de un gel termosensible resultan en un sistema que es a la vez magnético y que se puede hinchar y deshinchar siguiendo la pauta marcada por el gel de la corteza.

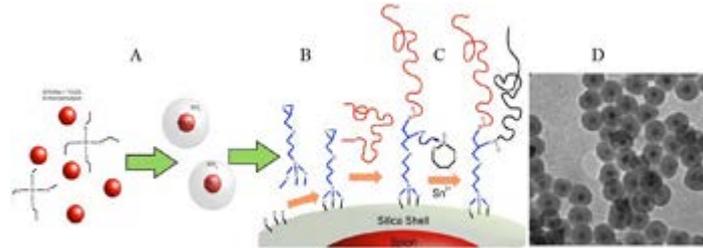
4. Caracterización de micro y nanopartículas. Se utilizan distintas técnicas para la caracterización y la determinación del tamaño y estructura de las partículas sintetizadas.

5. Inmovilización de enzimas y principios activos en micro y nanogeles y en micro y nanopartículas híbridas. Para la inmovilización de enzimas y/o principios activos en micro y nanogeles se utiliza el método de polimerización en emulsión concentrada que presenta un alto rendimiento de inmovilización enzimática.

También se dispone de métodos para la inmovilización de enzimas y principios activos en la superficie de nanopartículas inorgánicas e híbridas y se han desarrollado técnicas específicas para casos particulares. Por ejemplo, las nanopartículas $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Tm}@\text{SiO}_2$ se han recubierto de una capa de ADN de una sola hebra para poder fabricar un sensor específico de ADN.

6.- Funcionalización de superficies. Hemos desarrollado un método que nos permite recubrir nanopartículas inorgánicas con cubiertas de sílice de un espesor que se puede controlar hasta el nanómetro. La cubierta de sílice permite funcionalizar la superficie fácilmente lo que posibilita la unión covalente de enzimas y principios activos.

7.- Fabricación de sensores y biosensores. La inmovilización de enzimas redox en microgeles nos permite utilizar este nuevo material como componente biológico de biosensores amperométricos muy específicos. Por ejemplo, si la enzima inmovilizada es la glucosa oxidasa, podemos fabricar sensores y microsensores de glucosa. También podemos utilizar propiedades como el amortiguamiento de la fluorescencia por ciertas sustancias para fabricar sensores ópticos.



Esquema de la ruta seguida para obtener nanopartículas magnéticas con cubierta polimérica. A) Síntesis de nanopartículas magnéticas recubiertas de sílice utilizando el método de la microemulsión inversa. B) Funcionalización de la superficie de sílice. C) Unión del PEG y polimerización de la PCL. D) Nanopartículas resultantes con núcleo magnético, cubierta de sílice y película polimérica (PEG y PCL) en la parte exterior.

Ventajas

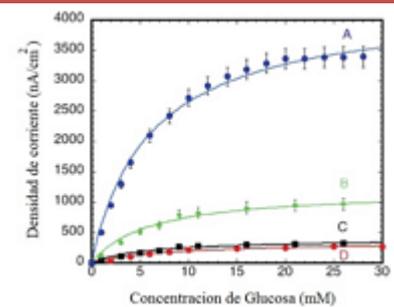
La rentabilidad de obtener sistemas de aplicación biomédica estables, homogéneos y de solubilidad controlada en medios acuosos permite:

La **disminución de costes de producción** mediante:

- 1) Principios activos que aseguren la biodisponibilidad con tiempos de caducidad largos.
- 2) El bajo impacto ambiental debido al empleo de productos biocompatibles y biodegradables.
- 3) La recuperación y reutilización de algunos de estos sistemas basados en micro-nanopartículas con propiedades magnéticas.

En relación con la distribución:

- 1) La facilidad de manejo y aplicación.
- 2) La facilidad de almacenamiento.
- 3) La repercusión positiva sobre un porcentaje elevado de la población.



Respuesta de un biosensor de glucosa basado en microgeles en donde se ha inmovilizado glucosa oxidasa.

¿Dónde se ha desarrollado?

[El grupo de Materiales Nanoestructurados Bioactivos](#) del departamento de Físico-Química Farmacéutica de la Facultad de Farmacia lleva más de diez años trabajando en problemas relacionados con la estructura, caracterización y propiedades de sistemas coloidales y polímeros de interés biomédico. Hemos desarrollado métodos para la obtención de partículas orgánicas, inorgánicas e híbridas de baja polidispersidad y tamaños que pueden variar entre 5 nm y 1000µm.

Y además

[El grupo de investigación](#) tiene experiencia en colaboraciones con empresas privadas de la industria de polímeros, biomateriales y materiales para odontología, habiendo obtenido dentro de este campo las siguientes patentes: [Microgeles biocompatibles estables para inmovilización de enzimas y su uso en biosensores amperométricos.](#) [Partículas de microgel polimérico con glucosa oxidasa inmovilizada y su uso como biosensor de glucosa.](#)

Investigadores responsables

Nombre: Enrique López Cabarcos: cabarcos@ucm.es

Jorge Rubio Retama: bjrubio@farm.ucm.es

Marco Laurenti: mllaurent@ucm.es

Departamento: Química en Ciencias Farmacéuticas.

Facultad de Farmacia