

Síntesis y caracterización de un film compuesto por caseína micelar y monoclórhidrato del ácido 4-(butilamino)benzoico 2-(dimetilamino)etil éster.

Synthesis and characterization of a film composed of micellar casein and 4-(butylamino)benzoic acid 2-(dimethylamino)ethyl ester monohydrochloride.

Presentación: 08/09/2023

Yamile Soledad Aon

Grupo Productos Naturales y Materiales (Universidad Tecnológica Nacional Facultad Regional San Francisco). Argentina.
yamiaon@gmail.com

María Candela Acuña

Grupo Productos Naturales y Materiales (Universidad Tecnológica Nacional Facultad Regional San Francisco). Argentina.
candela.acu47@gmail.com

Leandro Gabriel Gutierrez

Grupo de Síntesis Orgánica y Materiales (Instituto de Química Aplicada del Litoral). Argentina.
lgutierrez@fiq.unl.edu.ar

Candela Borello

Grupo Productos Naturales y Materiales (Universidad Tecnológica Nacional Facultad Regional San Francisco). Argentina.
cande.borello@gmail.com

Resumen

En el presente estudio se planteó sintetizar un film que tenga incorporado monoclórhidrato del ácido 4-(butilamino)benzoico 2-(dimetilamino)etil éster (THC) como compuesto activo, dado que éste es ampliamente utilizado en medicina por su propiedad anestésica. En las formulaciones planteadas se utilizó un polímero natural, la caseína y, además, se agregaron compuestos como glicerol y alginato de potasio con objeto de modificar determinadas propiedades mecánicas y físicas. De esta forma, se realizaron diversas experiencias variando las cantidades de cada componente hasta encontrar el film que posee las características buscadas. El film denominado F3 fue aquel cuyos rasgos eran aceptables, por lo que fue sometido a una serie de ensayos para caracterizarlo. Entre los ensayos realizados se encuentran la determinación del espesor, contenido de humedad, material soluble total y sólidos insolubles. Los resultados obtenidos fueron óptimos para estudiar la posibilidad de su aplicación como anestésico local en odontología.

Palabras clave: film, caseína micelar, monoclórhidrato del ácido 4-(butilamino) benzoico 2-(dimetilamino)etil éster, anestesia local, odontología.

Abstract

In the present study, it was proposed to synthesize a film that incorporates 4-(butylamino)benzoic acid 2-(dimethylamino)ethyl monohydrochloride as an active compound, since it is widely used in medicine for its anesthetic property. In the proposed formulations was used a natural polymer, casein, and in addition, compounds such as glycerol and potassium alginate were added in order to modify certain mechanical and physical properties. In this way, various experiments were carried out, varying the amounts of each component until the film reached the desired characteristics. The film F3 was acceptable, so it was subjected to a series of tests to characterize it. Among the tests carried out are the determination of thickness, moisture content, total soluble material and insoluble solid. The results obtained were optimal to study the possibility of its application as a local anesthetic in dentistry.

Keywords: film, casein, 4-(butylamino)benzoic acid 2-(dimethylamino)ethyl monohydrochloride, local anesthetic, dentistry.

Introducción

Es común que las prácticas odontológicas conlleven dolor, miedo y desconfianza. Por eso, el uso de anestesia es algo necesario y común. En este sentido, se conoce que existen dos tipos de anestesia local dental, una puede ser administrada en forma de gel, crema, loción, o aerosol y el otro tipo es suministrada mediante infiltración. El primer grupo corresponde a la anestesia tópica, donde su papel es disminuir y atenuar estímulos dolorosos como puede ser la infiltración de anestesia local, la cual se aplica a través de una aguja en alguna zona de la cavidad oral (Mundiya & Woodbine, 2022). Contradictoriamente, si bien la anestesia es aplicada para que el tratamiento dental sea indoloro y cómodo para el paciente, en algunos casos la administración mediante inyección genera el efecto contrario (Brunton et al., 2022). A su vez, existen distintos anestésicos tópicos tales como, 4-aminobenzoato de etilo, monoclóhidrato del ácido 4-(butilamino) benzoico 2-(dimetilamino)etil éster (THC), 2-(Dietilamino)-N-(2,6-dimetilfenil)acetamida y la combinación de algunos ellos. En especial, la THC es un éster etílico del ácido p-aminobenzoico muy utilizado como un agente anestésico local (Hassan et al., 2017).

Por otro lado, existe un creciente interés en utilizar biopolímeros para el desarrollo de diversas aplicaciones en medicina. Polímeros naturales tales como la caseína, el almidón y pectinas, ofrecen muy buenas oportunidades para el desarrollo y síntesis de films debido a su biodegradabilidad y biocompatibilidad (Chambi & Grosso, 2006). Particularmente los films de caseína son solubles en agua y muestran una buena barrera al oxígeno (Picchio et al., 2018).

La caseína micelar (CM) es una proteína que constituye uno de los principales componentes de las proteínas de la leche. Está compuesta por cuatro subunidades, α 1-, α 2-, β - y k-caseína. Es una proteína altamente estructurada, que tiende a mostrar características de autoensamblaje, permitiendo que sus subunidades se combinen espontáneamente para formar micelas. Las micelas de caseína son vehículos naturales y se utilizan potencialmente como sistema de administración de fármacos y sustancias bioactivas (Mao et al., 2022).

En la preparación de un film, la incorporación de plastificantes mejora la flexibilidad de la película, beneficiando así las propiedades mecánicas del mismo (Souza et al., 2012). Dado que se busca utilizar films para aplicación

odontológica, se deben elegir aquellos que sean biocompatibles tales como el agua, sorbitol y glicerol (Pellá et al., 2020). También suele ser necesario la incorporación de un agente entrecruzante para lo cual se utilizó el alginato de potasio. El alginato es un biopolímero hidrofílico que se utiliza para la formulación de films y recubrimientos debido a sus propiedades coloidales, que incluyen su uso para espesar soluciones, formar geles y estabilizar emulsiones (Acevedo et al., 2012).

Como se mencionó anteriormente, la anestesia local puede causar efectos incómodos en el paciente por lo que, en este trabajo, se evalúa el desarrollo de un film de caseína micelar que contenga el anestésico THC como componente activo. Así, en esta primera etapa se estudiaron diversas formulaciones a las que, posteriormente a su síntesis, se les realizó su caracterización.

Metodología

Materiales

Caseína micelar comercial, glicerol ($C_3H_8O_3$), alginato de potasio $[(C_{12}H_{14}CaO_{12})_n]$, buffer de pH 10,64 (preparado con carbonato de potasio anhidro, K_2CO_3 , y agua destilada), THC ($C_{15}H_{24}N_2O_2-HCl$).

Preparación de las formulaciones

Para la síntesis del film, se siguió la metodología planteada por Picchio, 2018, a la cual se le realizaron modificaciones. Se preparó una solución de caseína (10 %p/p) en el buffer de carbonato de potasio (CK) a 60 °C bajo agitación magnética. Transcurrido 10 min, se agregaron las cantidades de los demás componentes (Tabla 1) refiriéndolas al %p/p de la caseína: glicerol (Gli) (25 y 50 %p/p), alginato de potasio (AP) (1, 2 y 4 %p/p) y, por último, se agregó THC (20 %p/p). Se agitó durante 10 min manteniendo la temperatura a 50 °C. Para finalizar se vertió la solución en una placa de mármol y se dejó secar a temperatura ambiente durante 7 días.

Formulación	THC (g)	CM (g)	CK (g)	Gli (g)	AP (g)
Control	-	2	18	1	0,08
F1	0,4	2	18	1	0,08
F2	0,4	2	18	1	0,04
F3	0,4	2	18	0,5	0,02

Tabla 1. Formulaciones planteadas

Caracterización de las formulaciones

1. Espesor

El espesor medio se midió siguiendo la metodología propuesta por Pellá, 2020. Se usó un micrómetro Schwys con una precisión de 0,01 mm. Las medidas se realizaron por triplicado en puntos elegidos al azar. Luego, se calculó el valor promedio y su correspondiente desvío.

2. Contenido de humedad (MC)

Para determinar la solubilidad en el agua se siguió la técnica propuesta por Khedri, 2021. Se midió la masa de muestras cuadradas de 4 cm² de superficie y, luego, se colocaron en estufa a 105 °C. Se determinó la masa luego de

18 h en la estufa. Usando la ecuación (1) se determinó el MC. Los datos a registrar fueron: m_o , que se refiere a la masa de la muestra inicial antes de colocarla en la estufa y m_f que corresponde a la masa seca después de 18 h en estufa.

$$MC = \frac{m_f - m_o}{m_o} \quad (1)$$

3. Material soluble total (TSM)

Se pesaron muestras de 4 cm² de superficie y luego se sumergieron en vasos de precipitado con 50 ml de agua destilada durante 24 h. Pasado ese tiempo se retiraron las muestras y se secaron en estufa a 75 °C hasta llegar a masa constante. La materia solubilizada se calculó de la siguiente manera:

$$TSM = \frac{m_f - m_o}{m_o} \quad (2)$$

donde m_f es la masa final después del secado y m_o la masa inicial antes de ser sumergida.

4. Determinación de sólidos insolubles (%SIns)

Se dejó la muestra en contacto con el agua y se filtró. El papel de filtro se pesó antes de la filtración y se registró su masa, luego del filtrado se volvió a medir su masa para determinar la cantidad de materia insoluble que quedó en el papel. Utilizando la ecuación (3), donde m_f es la masa final del filtro y m_o la masa inicial, m la masa de la muestra antes de disolverla, se obtuvo el porcentaje de sólidos insolubles.

$$\%SIns = \frac{m_f - m_o}{m_o} \quad (3)$$

Resultados y discusión

Se prepararon distintas formulaciones de films de caseína funcionalizados con THC. En base al aspecto homogéneo a la vista y flexibilidad que presentaron, se seleccionó la composición de F3 con una cantidad de compuesto activo del 20% p/p en base a la masa de caseína. De manera que los ensayos de caracterización posteriores se realizaron para dicho film.

Dentro de las propiedades se midió el espesor del film para asegurar que sea uniforme, obteniendo un valor de 0,23±0,08 mm. También se determinó el contenido de humedad, ya que puede afectar las propiedades estructurales, mecánicas y de barrera del film (Khedri et al., 2021), el cual fue del 17,9±4,9%.

De los ensayos relacionados con la potencial aplicación buscada, la determinación de materia soluble total indicó que el 51,4±0,5 % del film se solubilizó en agua, siendo este resultado coherente con el alcanzado en la determinación de sólidos insolubles que fue del 50,7±2,6 %.

Conclusiones

En el desarrollo de un film a base de caseína e implementando tetracaína clorhidrato como componente activo se plantearon diversas formulaciones de las cuales la formulación F3 fue aquella que presentó características potenciales para la aplicación que se pretende dar al film. Esta formulación presentó resultados coherentes en cuanto a su porcentaje de materia soluble e insoluble, como así también de su contenido de humedad, lo que resulta de interés para realizar nuevos ensayos y seguir caracterizando al film.

Agradecimientos

Se agradece a la Dra. Vanina Guntero, directora del grupo Productos Naturales y Materiales (ProNaM) (UTN - FRSFco) y al Dr. Cristián Ferretti director del Grupo de Síntesis Orgánica y Materiales (GSOM) (IQAL-UNL-CONICET) por su guía y acompañamiento durante la realización del trabajo.

Referencias bibliográficas

- Acevedo, C. A., López, D. A., Tapia, M. J., Enrione, J., Skurtys, O., Pedreschi, F., Brown, D. I., Creixell, W., & Osorio, F. (2012). "Using RGB Image Processing for Designing an Alginate Edible Film". *Food and Bioprocess Technology*, 5(5), 1511–1520. <https://doi.org/10.1007/s11947-010-0453-y>
- Brunton, P. A., McLean, M., Vedagiri, S., McKeage, J., Ruddy, B., Weatherly, K., White, D., Taberner, A., & Loch, C. (2022). "Jet injection needle-free dental anaesthesia: Initial findings". *Journal of Dentistry*, 122(March), 104165. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2022.104165>
- Chambi, H., & Grosso, C. (2006). "Edible films produced with gelatin and casein cross-linked with transglutaminase". *Food Research International*, 39(4), 458–466. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2005.09.009>
- Hassan, A. K., Ameen, S. T., & Saad, B. (2017). "Tetracaine – selective electrodes with polymer membranes and their application in pharmaceutical formulation control". *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S1484–S1491. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.04.029>
- Khedri, S., Sadeghi, E., Rouhi, M., Delshadian, Z., Mortazavian, A. M., de Toledo Guimarães, J., fallah, M., & Mohammadi, R. (2021). "Bioactive edible films: Development and characterization of gelatin edible films incorporated with casein phosphopeptides". *Lwt*, 138, 110649. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110649>
- Mao, M., Ni, D., Ma, L., Chen, F., Hu, X., & Ji, J. (2022). "Impact of high hydrostatic pressure on the micellar structures and physicochemical stability of casein nanoemulsion loading quercetin". *Food Chemistry: X*, 14(March), 100356. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100356>
- Mundiya, J., & Woodbine, E. (2022). "Updates on Topical and Local Anesthesia Agents". *Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America*, 34(1), 147-155. <https://doi.org/10.1016/j.coms.2021.08.003>
- Pellá, M. C. G., Silva, O. A., Pellá, M. G., Beneton, A. G., Caetano, J., Simões, M. R., & Dragunski, D. C. (2020). "Effect of gelatin and casein additions on starch edible biodegradable films for fruit surface coating". *Food Chemistry*, 309, 125764. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125764>
- Picchio, M. L., Linck, Y. G., Monti, G. A., Gugliotta, L. M., Minari, R. J., & Alvarez Igarzabal, C. I. (2018). "Casein films crosslinked by tannic acid for food packaging applications". *Food Hydrocolloids*, 84, 424–434. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.06.028>
- Souza, A. C., Benze, R., Ferrão, E. S., Ditchfield, C., Coelho, A. C. V., & Tadini, C. C. (2012). "Cassava starch biodegradable films: Influence of glycerol and clay nanoparticles content on tensile and barrier properties and glass transition temperature". *LWT - Food Science and Technology*, 46(1), 110–117. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.10.018>