

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA

MAESTRIA Y DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA SALUD



**“Nanogeles de metacrilato de ácido salicílico: Estudio de la hidrólisis
del fármaco”**

TESIS

Para obtener el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS DE LA SALUD

Presenta

Q.F.B. Jesús Iván Rodríguez Vásquez

Director de tesis

Dra. Aracely Serrano Medina

Co-Director de tesis

Dr. José Manuel Cornejo Bravo

TIJUANA, B.C., AGOSTO DEL 2018

HOJA DE APROBACIÓN

Universidad Autónoma de Baja California FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA

FOLIO No. 259

Tijuana, B. C., a 10 de agosto de 2018

C. Jesús Iván Rodríguez Vázquez
Pasante de: Maestro en Ciencias de la Salud
Presente

El tema de trabajo y/o tesis para su examen profesional, en la
Opción TESIS

Es propuesto, por los C. Dres. José Manuel Cornejo Bravo y Aracely Serrano Medina

Quien será el responsable de la calidad de trabajo que usted presente, referido al
tema "Nanogeles de metacrilato de ácido salicílico: Estudio de la hidrólisis del fármaco"

el cual deberá usted desarrollar, de acuerdo con el siguiente orden:

- I.- INTRODUCCIÓN
- II.- TEORÍA GENERAL
- III.- EXPERIMENTAL
- IV.- RESULTADOS Y DISCUSIONES
- V.- CONCLUSIONES

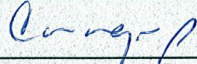
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE BAJA CALIFORNIA

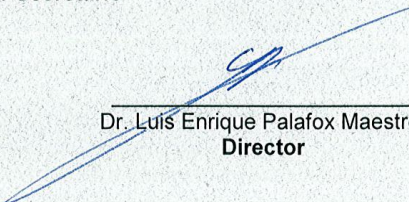


FACULTAD DE CIENCIAS
QUÍMICAS E INGENIERÍA


Dra. Aracely Serrano Medina
Directora de Tesis


Dr. José Luis González Vázquez
Sub-Director Secretario


Dr. José Manuel Cornejo Bravo
Co-Director de Tesis


Dr. Luis Enrique Palafox Maestre
Director

AGRADECIMIENTOS

Agradezco mucho a la Dra. Aracely Serrano Medina, por su confianza, tiempo, apoyo, profesionalismo, consejos, sus clases, revisiones, su interés en mi desarrollo como alumno y su gran amistad. Así mismo, estoy muy agradecido con el Dr. José Manuel Cornejo Bravo, por todos sus consejos profesionales, su paciencia, confianza, y la oportunidad de trabajar en el laboratorio de Biofarmacia, el conocimiento transmitido será por siempre agradecido. Agradezco también al Dr. Héctor Alfonso Magaña Badilla, por su apoyo, enseñanzas, y consejos en las técnicas de síntesis y caracterización, agradezco que me asistió en todo momento cuando así lo requerí. También, agradezco mucho a la Dra. Kenia Palomino Vizcaino, por su tiempo y disposición para instruirme en las técnicas de síntesis de nanogeles y el uso del laboratorio.

En especial quiero agradecer profundamente a la Q.F.B. Hever Yuritzky Vargas Molinero, por su gran ayuda en todo momento para el desarrollo de este proyecto, agradezco mucho su compañía y la motivación que me inspiro para seguir adelante.

Agradezco a mis compañeros del laboratorio de Biofarmacia, Claudia, Alondra, Kenia, Héctor, Paola, Ala, Mimi, y José Daniel, por haber trabajado en conjunto, platicado y convivido siempre con respeto.

También, agradezco a mi familia, mi madre Hortencia Vásquez, a mi padre Jesus Rodriguez, mis abuelos Rodolfo Rodriguez, Loli Rodriguez, Seferina Vásquez y a mi hermana Michelle Rodriguez.

A todo el personal académico y administrativo de la Universidad Autónoma de Baja California, que contribuyó a la realización de este proyecto.

RECONOCIMIENTOS INSTITUCIONALES

Me encuentro agradecido con la Universidad Autónoma de Baja California, por brindarme la oportunidad de estudiar en su momento la licenciatura y ahora por el apoyo para poder cursar mis estudios de posgrados. Agradeciendo a la Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería de la Universidad Autónoma de Baja California, reconociendo al laboratorio de biofarmacia, donde se desarrolló el presente proyecto de investigación bajo la dirección de la **Dra. Aracely Serrano Medina** y el **Dr. José Manuel Cornejo Bravo**, en el programa de Maestría y doctorado en ciencias de la salud. Gracias al Centro de graduados del Instituto Tecnológico de Tijuana por la colaboración del Dr, Ignacio Alfredo Rivero Espejel en la etapa de caracterización.

Finalmente agradezco, a todo el personal académico y administrativo de la Universidad Autónoma de Baja California. Así mismo, se agradece el apoyo obtenido del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) para la realización de estudios de posgrado y el desarrollo de esta investigación a través de la beca CONACyT.

ÍNDICE

Contenido	Página
Hoja de aprobación	1
Agradecimientos	2
Reconocimientos institucionales	4
Lista de figuras	8
Lista de tablas	9
Lista de abreviaturas	11
Resumen	12
CAPÍTULO I INTRODUCCIÓN	13
I.1 Antecedentes	14
I.1.1 Inflamación crónica	15
I.2 Objetivo general	17
I.3 Objetivos específicos	18
I.4 Justificación	19
I.5 Hipótesis	20
CAPÍTULO II TEORÍA GENERAL	21
II.1 nanotecnología	22
II.2 nanomedicina	22
II.3 nanosistemas de liberación de fármacos	24
II.4 aplicaciones de nanosistemas de liberación de fármacos	26
II.4.1 Entrega de fármacos	26

II.4.2 Diagnóstico in vitro	26
II.4.3 Imagen in vivo	27
II.4.4 Técnicas de terapia	27
II.4.5 Biomateriales	28
II.4.6 Ingeniería de tejidos	28
II.5 Nanogeles/microgeles	28
II.6 Métodos de síntesis de nano/microgeles	31
II.6.1 Polimerización por dispersión	32
II.6.2 Polimerización por precipitación	32
II.6.3 Polimerización por mini-emulsión inversa	32
II.6.4 Polimerización por micro-emulsión inversa	33
II.6.5 Polimerización por emulsión sin detergente	33
II.7 Ácido salicílico incorporado en sistemas de liberación de fármacos	34
CAPÍTULO III EXPERIMENTAL	37
III.1 Generalidades	38
III.2 Purificación de EGDMA	40
III.3 Síntesis de monómero ácido metacriloiloxi-o-benzoico (MAOB)	40
III.4 Caracterización de monómero ácido metacriloiloxi-o-benzoico (MAOB)	41
III.4.1 Cromatografía de capa fina	41
III.4.2 Espectrofotometría de infrarrojo	41
III.5 Síntesis de nanogeles PEGMA:MAOB	42
III.6 Purificación de nanogeles por filtración	44

III.7 Liofilización de nanogeles	44
III.8 Técnicas de caracterización de nanogeles PEGMA:MAOB	45
III.8.1 Determinación del tamaño de partícula mediante dispersión de luz dinámica (DLS)	45
III.8.1.1 Medición de diámetro hidrodinámico en nanogeles purificados	45
III.8.1.2 Medición de diámetro hidrodinámico en nanogeles purificados en diferentes ph	45
III.8.2 Espectrofotometría de infrarrojo	45
III.8.3 Determinación de contenido de ácido mediante titulación acido-base	46
III.8.4 Microscopia Electrónica de Barrido de Emisión de Campo (FESEM)	46
III.9 Estudio de hidrólisis-liberación del fármaco ácido salicílico	47
III.9.1 Evaluación de ácido salicílico liberado por espectrometría de masas acoplado a gases (GC/MS).	48
CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIONES	49
IV.1 Síntesis y caracterización del monómero ácido metacriloiloxi-o-benzoico (MAOB)	50
IV.1.1 Síntesis de monómero ácido metacriloiloxi-o-benzoico (MAOB)	50
IV.1.2 Caracterización de monómero ácido metacriloiloxi-o-benzoico (MAOB)	51
IV.2 Síntesis de nanogeles PEGMA:MAOB	52
IV.2.1 Caracterización de los nanogeles de PEGMA:MAOB mediante dispersión de luz dinámica (DLS)	53
IV.2.2 Liofilización de nanogeles de PEGMA:MAOB	58
IV.2.3 Estudio de efecto de ph sobre el diámetro hidrodinámico de los nanogeles PEGMA:MAOB	58
IV.2.4 Espectrofotometría de infrarrojo	60
IV.2.5 Determinación de contenido de ácido mediante titulación acido-base	62

IV.2.6 Microscopia Electrónica de Barrido de Emisión de Campo (FESEM)	63
IV.3 Estudio de hidrólisis-liberación del fármaco ácido salicílico	65
IV.3.1 Caracterización por Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas (GC/MS)	67
CAPITULO V CONCLUSIONES	69
REFERENCIAS	72

LISTA DE FIGURAS

CONTENIDO	Pag.
Figura 1 Estructura química de Polietilenglicol Metiléter metacrilato y Acido Metacriloiloxi-o-benzoico (MAOB)	19
Figura 2 Representación de nanosistemas orgánicos (a) e inorgánicos (b) para el transporte y liberación de fármacos.	25
Figura 3 Enfermedades correlacionadas con la inflamación crónica	35
Figura 4 Ruta de síntesis de Ácido Metacriloiloxi-o-benzoico (MAOB)	40
Figura 5 Diagrama general de síntesis de nanogeles MAOB:PEGMA, por polimerización por emulsión sin detergente	44
Figura 6 Hidrólisis de nanogeles MAOB	48
Figura 7 Estructura química del monómero MAOB y aspecto del monómero sintetizado	50
Figura 8 Espectro de infrarrojo de MAOB (ácido metacriloiloxi-o-benzoico)	51
Figura 9 Ruta de síntesis de nanogeles MAOB:PEGMA, por polimerización por emulsión sin detergente	53
Figura 10 Diámetro hidrodinámico de nanogeles PEGMA:MAOB (60:40), entrecruzados con EGDMA o DVA	55

Figura 11	Diámetro hidrodinámico de nanogeles PEGMA:MAOB (70:30), entrecruzados con EGDMA o DVA	56
Figura 12	Diámetro hidrodinámico de nanogeles PEGMA:MAOB (80:20), entrecruzados con EGDMA o DVA	57
Figura 13	Efecto del pH sobre el diámetro hidrodinámico de los nanogeles PEGMA:MAOB (80:20), con diferentes porcentajes de entrecruzantes	59
Figura 14	Espectros de IR de nanogeles PEGMA:MAOB (60:40), entrecruzados con EGDMA y DVA.	61
Figura 15	FESEM-Micrografías de nanogeles MAOB-PEGMA (80:20)/EGDMA _{3%mol}	64
Figura 16	FESEM-Micrografías de nanogeles MAOB-PEGMA (80:20)/DVA _{3%mol}	64
Figura 17	FESEM-Micrografías de nanogeles EGDMA _{5%} /MAOB _{20%}	64
Figura 18	Liberación de los nanogeles PEGMA:MAOB (80:20)/EGDMA _{5%mol} , a 37° C.	66
Figura 19	Cromatograma de los nanogeles liberados PEGMA:MAOB (80:20)/EGDMA _{5%mol} , a pH 7.4 a 37 °C - (GC/MS)	68

LISTA DE TABLAS

CONTENIDO		Pag.
Tabla 1	Porcentajes utilizados de PEGMA, MAOB, EGDMA, DVA y APS para la síntesis de nanogeles	42
Tabla 2	Asignación de bandas espectroscópicas de infrarrojo para monómero MAOB	51
Tabla 3	Dh de los nanogeles entrecruzados con EGDMA y DVA a 25° C	54
Tabla 4	Rendimiento de los nanogeles PEGMA:MAOB	58

Tabla 5	Porcentaje de MAOB incorporado a los nanogeles.	62
Tabla 6	Estudio de Liberación en nanogeles y su Dh en pH 7.4 y 6.0	65

LISTA DE ECUACIONES

CONTENIDO		Pag.
Ecuación 1	Ecuación para obtener el contenido de ácido	62

LISTA DE ABREVIATURAS

APS	Persulfato de Amonio
Dh	Diámetro hidrodinámico
DLS	Dispersión de Luz Dinámica
DVA	3,9-Divinil-2,4,8,10-tetraoxaspiro[5.5]undecano
EGDMA	Etilenglicol dimetacrilato
EM	Microscopía Electrónica
LD	Difracción de Láser
MAOB	Ácido Metacriloiloxi- <i>o</i> -benzoico
MPS	Sistema Fagocítico Mononuclear
Nm	Nanómetros
PEG	Polietilenglicol
PEGMA	Poli(etilenglicol) metil éter metacrilato
PEGMA ₁₁₀₀	Poli(etilenglicol) metil éter metacrilato (1,100 g/mol)
FESEM	Microscopia Electrónica de Barrido de Emisión de Campo
GC/MS	Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas
UV-Vis	Espectrofotometría de ultravioleta-visible
MWCO	Molecular weight cut off (peso molecular limite)

RESUMEN

En este proyecto se estudió la síntesis y propiedades de nanogeles constituidos de un núcleo entrecruzado por un copolímero de PEGMA y ácido metacriloiloxi-*o*-benzoico (MAOB).

El ácido metacriloiloxi-*o*-benzoico (MAOB), se sintetizó mediante un método previamente reportado. Para la síntesis de nanogeles de MAOB-PEGMA se utilizó un método de polimerización en emulsión sin detergente con diferentes proporciones de entrecruzantes EGDMA o DVA. En un experimento típico, MAOB, PEGMA, y el entrecruzante se mezclaron con las cantidades apropiadas. Se obtuvieron nanogeles monodispersos con diámetro hidrodinámico entre los 160-350 nm, todas con una sola distribución de tamaños. Para la caracterización de las nanopartículas, se midió el diámetro hidrodinámico de las nanopartículas mediante DLS utilizando un Zetasizer Nano NS. El contenido del MAOB incorporado en las nanopartículas de MAOB se determinó mediante titulaciones ácido-base. Se utilizaron técnicas de caracterización para identificar las propiedades y morfología de los nanogeles. Así como, el estudio de hidrolisis de los nanogeles.

CAPÍTULO I.

INTRODUCCIÓN

I.1 ANTECEDENTES

La terapia farmacológica a través de medicamentos ha sido durante las últimas décadas la primera medida de control para prevenir el desarrollo de muchas enfermedades y trastornos complejos que incluyen enfermedades, cardiovasculares, autoinmunes, síndromes metabólicos, neurodegenerativas y cáncer. Sin embargo, se presentan limitaciones en esta terapia debido a que existen fármacos con alta toxicidad, reacciones adversas, efectos secundarios, así como inespecificidad de entrega del fármaco en el sitio de acción. La deserción de estas limitaciones se ha propuesto mediante el desarrollo de sistemas de liberación de fármacos, a través de nanoacarreadores de fármacos como medio de entrega de fármacos en el sitio de acción. Las ventajas de utilizar nanopartículas como medio de liberación de fármacos son entre algunas, la fácil manipulación del tamaño de partícula y las características superficiales, esto a fin de conseguir tanto la fijación de fármacos activa y pasiva después de la administración parenteral; controlar y sostener la liberación del fármaco durante el transporte y en el lugar de localización, alterando la distribución de órganos del fármaco y posterior eliminación del fármaco para conseguir un aumento en la eficacia terapéutica del fármaco y la reducción de los efectos secundarios; la liberación controlada y las características de degradación de las partículas se pueden modular fácilmente mediante la elección de los constituyentes de la matriz. La carga del fármaco es relativamente alta y se pueden incorporar fármacos en los sistemas sin ninguna reacción química; este es un factor importante

para preservar la actividad del fármaco; el sistema puede usarse para diversas vías de administración incluyendo oral, nasal, parenteral, intra-ocular, entre otras (Nikam, Ratnaparkhiand, and Chaudhari 2014).

I.1.1 Inflamación crónica

Una amplia investigación en las últimas dos décadas ha puesto en manifiesto que la mayoría de enfermedades crónicas, entre ellas cáncer, diabetes y enfermedades cardiovasculares y pulmonares, están mediadas a través de la inflamación crónica. (Nair et al. 2010)

Algunas revisiones recientes han discutido la relación íntima entre la inflamación y el cáncer(Balkwill and Mantovani 2010; Grivennikov and Karin 2010).

Se sabe que la inflamación contribuye a procesos fisiológicos y patológicos tales como cicatrización de heridas e infección por la activación y migración dirigida de leucocitos desde el sistema venoso a sitios de daño (Coussens and Werb 2002).

La inflamación funciona en las tres etapas del desarrollo tumoral: iniciación, progresión y metástasis. Las células tumorales producen diversas citoquinas y quimiocinas que atraen a los leucocitos. El componente inflamatorio de una neoplasia en desarrollo puede incluir una

diversa población de leucocitos que incluye neutrófilos, células dendríticas, macrófagos, eosinófilos y mastocitos (Eming et al. 2007).

Se cree que los macrófagos asociados a tumores son un componente significativo de infiltrados inflamatorios en tejidos neoplásicos y se derivan de monocitos que son reclutados en gran parte por quimiocinas de proteína quimiotáctica de monocitos (MCP). Las citoquinas proinflamatorias, incluyendo el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y la interleucina-6 (IL-6), inducen efectos directos sobre las células estromales y neoplásicas, además de sus papeles en la regulación del reclutamiento de leucocitos. La evidencia directa de la asociación de la inflamación crónica con enfermedades malignas es en la carcinogénesis del colon en individuos con enfermedades inflamatorias intestinales (Itzkowitz et al. 2012; Danese and Mantovani 2010).

La inflamación también juega un papel clave en la fisiología de la artritis, diabetes, enfermedades del corazón, síndrome del intestino irritable, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson y muchas otras enfermedades. En la diabetes tipo I, el sistema inmunitario ataca a las células que producen insulina.

Por lo tanto, la supresión de las vías pro inflamatorias tiene el potencial de retrasar, prevenir, e incluso promover el tratamiento de diversas enfermedades crónicas, incluyendo el cáncer (Nair et al. 2010).

En los últimos años se han desarrollado nanomateriales como vehículos acarreadores de ácido salicílico, tales como, dendrímeros, esteres polianhídridos, y como ester colgante de poli (alcohol vinílico). Los estudios *in vivo* de ésteres polianhídridos en el modelo animal de ratones demostraron que el ácido salicílico liberado indujo nueva formación ósea debido a la degradación polimérica. Se ha demostrado que la liberación *in vivo* de ácido salicílico en el modelo de rata mejora la regeneración ósea en condiciones diabéticas, donde la respuesta inflamatoria a la lesión se prolonga y también aceleró la regeneración ósea.(Erdmann, Macedo, & Urich, 2000; Erdmann & Urich, 2000; Jantas, Draczyński, Herczyńska, & Stawski, 2012; Schmeltzer, Anastasiou, & Urich, 2013; Schmeltzer, Schmalenberg, & Urich, 2005; Erdmann et al., 2000) ; Wada et al., 2013)

I.2 OBJETIVO GENERAL

Sintetizar nanogeles utilizando MAOB y PEGMA mediante la técnica de polimerización por emulsión sin detergente, para evaluar el efecto de la concentración de monómeros, el efecto del entrecruzante y estudiar la hidrólisis de las nanogeles para la liberación de ácido salicílico.

I.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Sintetizar nanogeles de PEGMA/MAOB, mediante la técnica de polimerización por emulsión sin detergente.
2. Sintetizar nanogeles de PEGMA/MAOB, menores a 200 nm.
3. Evaluar la proporción ideal entre el monómero y comonómero, para obtener las nanogeles de PEGMA/MAOB con un tamaño menor a 200 nm.
4. Evaluar el efecto del entrecruzante EDGDMA en la reacción para obtener nanogeles de PEGMA/MAOB con un tamaño menor a 200 nm.
5. Evaluar el efecto del entrecruzante DVA en la reacción para obtener nanogeles de PEGMA/MAOB con un tamaño menor a 200 nm.
6. Evaluar el efecto dos concentraciones de los entrecruzantes, en la reacción para obtener nanogeles de PEGMA/MAOB con un tamaño menor a 200 nm.
7. Preparar un 1 gramo de nanopartículas de PEGMA/MAOB de menos de 200 nm.
8. Evaluar la cinética de hidrólisis de los grupos colgantes de ácido salicílico.

I.5 HIPÓTESIS

Es posible preparar nanopartículas de MAOB por polimerización por emulsión sin detergente, las cuales se hidrolizan para liberar ácido salicílico.

CAPÍTULO II.

TEORÍA GENERAL

II.1 NANOTECNOLOGÍA

La nanotecnología es la manipulación de materiales a escala nanométrica y emplea el conocimiento de los campos de la física, la química, la biología, la ciencia de los materiales, las ciencias de la salud y la ingeniería. Tiene aplicaciones inmensas en casi todos los campos de la ciencia y la vida humana. Actualmente la Organización Internacional de estandarización (ISO) y la Sociedad Americana de prueba de materiales (ASTM), han definido el concepto de nanopartícula como un nano-objeto con todas las tres dimensiones, en el rango de 1 nm a 100 nm (ISO/TS 27687:2008, ASTM, 2456-06). Por otro lado, la IUPAC define a una nanopartícula como una partícula de cualquier forma con una dimensión entre el rango de 1 nm a 100 nm (Vert et al. 2012). Así mismo, un nanomaterial, ha sido definido por la *European Comission Recommendation*, como un material natural, accidental o manufacturado que contiene partículas donde una o más dimensiones externas están en el intervalo de tamaño de 1 nm a 100 nm y con frecuencia cuentan con propiedades específicas debido a su tamaño, es decir, propiedades que materiales con tamaños superiores no poseen.

II.2 NANOMEDICINA

La convergencia de la nanotecnología y la medicina ha llevado al campo interdisciplinario de la nanomedicina. La nanomedicina puede

comprenderse como la aplicación de la nanotecnología en el sector de la salud. Según la definición de la Fundación Europea de la Ciencia (ESF, European Science Foundation), la nanomedicina utiliza las ventajas de tamaños nanométricos para el diagnóstico, prevención y tratamiento de enfermedades, y obtener una mayor comprensión de la compleja fisiopatología subyacente de la enfermedad (ESF et al., 2005). Los Avances en genética, biología molecular y celular, ciencias de los materiales y la bioingeniería han contribuido a este campo de desarrollo, que se ocupa de procesos fisiológicos a nivel de nanoescala. Muchos de los mecanismos internos de una célula ocurren naturalmente en el nivel de nanoescala, ya que las dimensiones de muchas moléculas biológicamente significativas como agua, glucosa, anticuerpos, proteínas, enzimas, receptores y hemoglobina ya están dentro del rango de nanoescala (Bhaskar et al. 2010) (Godin et al. 2010).

Actualmente muchas de las investigaciones están trabajando en el desarrollo de tratamientos médicos, dispositivos e instrumentos que utilizan la nanotecnología para aumentar la eficacia, seguridad, sensibilidad y personalización de un tratamiento. Potencialmente propiedades beneficiosas de la nanoterapéutica incluyen mejoras de biodisponibilidad, toxicidad reducida, mayor respuesta a la dosis y mayor solubilidad en comparación con los medicamentos convencionales (Ventola 2012).

II.3 NANOSISTEMAS DE LIBERACIÓN DE FÁRMACOS

Entre los primeros sistemas de administración de fármacos en el área de la nanotecnología se encuentran las vesículas lipídicas, que se describieron en la década de 1960 y más tarde se conocieron como liposomas (Bangham and Horne 1964). Posteriormente, se desarrollaron una variedad de otros nanomateriales orgánicos e inorgánicos para la administración de fármacos. El primer sistema polimérico de liberación controlada para el suministro de macromoléculas se describió en 1976 (LANGER and FOLKMAN 1976). Se así como el primer ejemplo de localización celular específica de liposomas 1980. El primer liposoma de circulación larga se describió en 1987, y el concepto se denominó más tarde "liposomas sigilosos". Se describieron por primera vez sistemas de administración de fármacos más complejos capaces de responder a cambios en el pH para desencadenar la liberación del fármaco (Hoffman 1991). Posteriormente, se demostró que el uso de polietilenglicol (PEG) aumenta los tiempos de circulación para liposomas y nanopartículas poliméricas en 1990 y 1994, respectivamente (Bozzuto 2015). Desde la década de 1960 hasta la actualidad, una gran variedad de nanomateriales y dispositivos orgánicos e inorgánicos se han utilizado como vehículos acarreadores de fármacos para desarrollar alternativas terapéuticas efectivas. Hasta ahora, hay más de dos docenas de productos terapéuticos basados en la nanotecnología aprobados por la *Food and Drug Administration* (FDA) para uso clínico, y hay más en ensayos

clínicos.(Wagner et al. 2006; Davis, Chen, and Shin 2008). De estos productos, la mayoría se componen de un suministro no objetivo sistema (p. ej., liposomas y polímeros) y un fármaco, y por lo tanto se consideran nanoterapéuticos de primera generación.(Riehemann et al. 2009)

En general los nanomateriales más utilizados en la nanomedicina se encuentran los liposomas, las nanopartículas poliméricas, los puntos cuánticos, los dendrimeros, los nanotubos de carbono, y las nanopartículas inorgánicas.

Las nanomateriales y los métodos para su desarrollo son muy diversos, sin embargo pueden ser clasificados de acuerdo con su composición de manera general, en nanopartículas orgánicas (poliméricas, dendrimeros, liposomas, micelas y conjugados polímero-fármaco) y en nanopartículas inorgánicas (de oro, óxido de hierro, de sílice mesoporosa y en nanotubos de carbono) (Torchilin 2014). Ver figura 2.

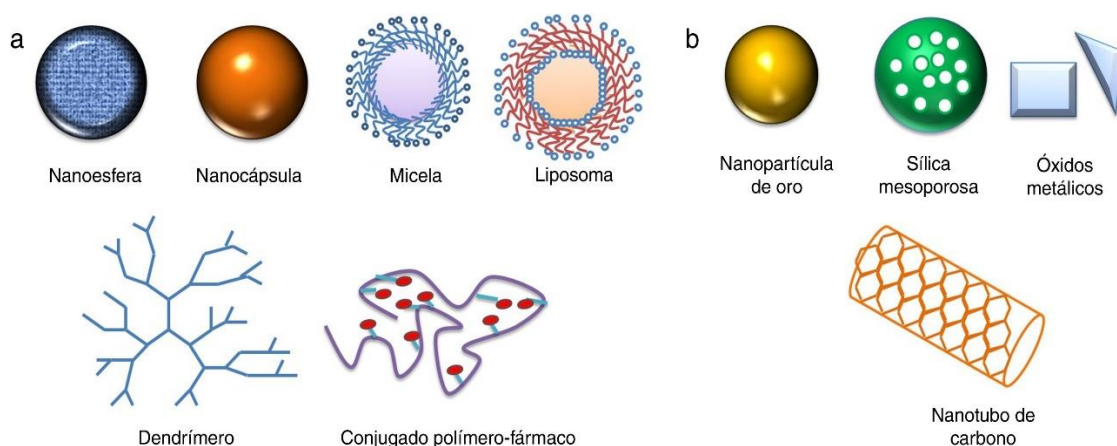


Figura 2. Representación de nanosistemas orgánicos (a) e inorgánicos (b) para el transporte y liberación de fármacos.

II.4 APLICACIONES DE NANOSISTEMAS DE LIBERACIÓN DE FÁRMACOS

Las distintas aplicaciones de estos nanomateriales en el área de la nanomedicina pueden ser clasificados en sistemas de liberación de fármacos, sistemas terapéuticos, sistemas para diagnóstico y biomateriales. (Wagner et al. 2006).

La aplicación de los nanosistemas para liberación de fármacos es una alternativa para cambiar el panorama de la industria farmacéutica y las industrias biotecnológicas en el futuro previsible. El desarrollo de nanosistemas puede jugar un importante papel en la adición de una nueva plataforma de la terapéutica, derivada de los productos farmacéuticos que las compañías puedan desarrollar. Utilizando nanosistemas, puede ser posible lograr las siguientes aplicaciones en la medicina:

II.4.1 Entrega de fármacos

Los vehículos acarreadores de fármacos en nanoescala pueden (1) mejorar la eficacia terapéutica y minimizar las reacciones adversas a los medicamentos disponibles; (2) establecer nuevas alternativas terapéuticas. (Kook, Hee, and Park 2015)

II.4.2 Diagnóstico *in vitro*

Los sensores basados en nanotecnología (por ejemplo, nanocables, nanotubos, nanopartículas, y micro/nanoarrays) pueden permitir la detección rápida y de alto rendimiento de biomarcadores de

enfermedades, con una mayor sensibilidad y menor volumen de muestra. La nanotecnología también ofrece esperanzas para la detección temprana de virus, bacterias y células tumorales circulantes, así como para el análisis de células individuales. (Huang et al. 2017)

II.4.3 Imagen *in vivo*

Las nanoprobos de formación de imágenes dirigidas (por ejemplo, nanopartículas magnéticas, puntos cuánticos y nanotubos de carbono) podrían proporcionar una forma más rápida, menos invasiva y más precisa para diagnosticar enfermedades (por ejemplo, cáncer) en sus etapas más tempranas y controlar la progresión de la enfermedad. Algunas otras oportunidades posibles incluyen informar la eficacia *in vivo* de la terapéutica, rastrear la biodistribución del nanovehículo en el cuerpo y ayudar a los cirujanos a localizar tumores y sus márgenes, identificar estructuras adyacentes importantes y mapear los ganglios linfáticos centinela. (Walling, Novak, and Shepard 2009; John et al. 2010)

II.4.4 Técnicas de terapia

Ciertos nanomateriales tienen propiedades terapéuticas únicas que difieren de los medicamentos convencionales y, por lo tanto, pueden usarse directamente para tratar enfermedades. Por ejemplo, las nanopartículas basadas en óxido de hafnio y oro pueden mejorar en gran medida la terapia con rayos X (Retif et al. 2015). nanocápsulas de oro, nanotubos de carbono, nanopartículas magnéticas pueden inducir

hipertermia para destruir las células cancerosas (Ba, Teijeiro, and Rivas 2013); y plata nanocristalina se está utilizando como un agente antimicrobiano. (Melaiye et al. 2005)

II.4.5 Biomateriales

Los nanomateriales biocompatibles que tienen propiedades mecánicas óptimas se pueden usar como implantes médicos (por ejemplo, restauradores dentales y sustitutos óseos). Los nanorecubrimientos o las superficies nanoestructuradas también pueden mejorar la biocompatibilidad y la adhesión de los biomateriales. (Sheikh et al. 2017)

II.4.6 Ingeniería de tejidos

La nanotecnología puede permitir el diseño y la fabricación de andamios biocompatibles a escala nanométrica y controlar la liberación espacio-temporal de factores biológicos -que se asemejan a la matriz extracelular nativa- para dirigir los comportamientos celulares y conducir finalmente a la creación de tejidos implantables (Mohamed and Xing 2012).

II.5 NANOGELES/MICROGELES

Los nanogeles suelen definirse como dispersiones acuosas de partículas de hidrogel formadas por redes poliméricas entrecruzadas física o químicamente de tamaño nanométrico (Kabanov and Vinogradov 2009). Los cuales abarcan la escala de 1 a 100 nm, establecida para materiales nanométricos. No obstante, los nanogeles también pueden ser

desarrollados a microescala 10-1000 nm, y sus aplicaciones son relevantes para el área de la biomedicina. (Sahoo and Labhasetwar 2003)

De manera general, los nanogeles/microgeles pueden ser clasificados en función a la variedad de características que poseen, incluida la naturaleza de los grupos laterales (neutros o iónicos), características mecánicas y estructurales, método de preparación (homo o copolímero), estructura física (amorfa, semicristalina, ligada a hidrógeno, supermolecular e hidrocoloidal) y capacidad de respuesta a estímulos microambientales fisiológicos (pH, fuerza iónica, temperatura, electromagnético radiación, etc.) (Hamidi, Azadi, and Ra 2008).

Los polímeros comúnmente utilizados en la preparación de hidrogeles para aplicaciones biológicas y farmacéuticas provienen de orígenes naturales o sintéticos. Algunos ejemplos representativos de los polímeros naturales, sintéticos y semisintéticos usados en las preparaciones de hidrogeles, se describen a continuación:

Polímeros naturales y sus derivados

- a) Polímeros aniónicos: ácido Hialurónico, ácido alginico, pectina, carragenina, condroitin sulfato, sulfato de dextrano.
- b) Polímeros catiónicos: Quitosano, polilisina.
- c) Polímeros anfipáticos: colágeno (y gelatina), carboximetilquitina, fibrina
- d) Polímeros neutrales: dextrano, agarosa, pululano

Polímeros sintéticos

- a) Polyesters: PEG–PLA–PEG, PEG–PLGA–PEG, PEG–PCL–PEG, PLA–PEG–PLA, PHB, P(PEG/PBO tereftalato).
- b) Otros polimeros: PEG-bis-(PLA-acrilato), PEG6CDs, PEG-g-P(AAm-co-Vamine), PAAm, P (NIPAAm-co-AAc), P(NIPAAm-co-EMA), PVAc/PVA, PNVP, P(MMA-co-HEMA), P(AN-coallylsulfonato), P(biscarboxi-fenoxi-fosfaceno), P(GEMA-sulfato).

Combinación de polimeros naturales y sintéticos:

P(PEG-co-péptidos), alginato-g-(PEO–PPO–PEO), P(PLGA-co-serine), collagen-acrylate, alginate-acrylate, P(HPMA-g-peptide), P(HEMA/Matrigel®), HA-g-NIPAAm.

Al igual que los hidrogeles, los nanogeles son materiales tridimensionales biocompatibles con alto contenido de agua. Para aplicaciones en administración de fármacos, las características más importantes de los nanogeles son su alto contenido de agua, capacidad de hinchamiento, biocompatibilidad y la capacidad de ajustar propiedades. Además, estos nanosistemas pueden ser capaces de alcanzar tamaños submicromicos a decenas de nanómetros, permitiendo ajustarse a un diámetro óptimo para aumentar el tiempo de circulación sanguínea in vivo después de la administración intravenosa. Otra ventaja de los nanogeles, es alcanzar un diámetro menor a 200 nm, el cual permite una mejor difusión hacia las células y un menor reconocimiento por el sistema de fagocitos mononucleares (Owens and Peppas 2006).

II.6 MÉTODOS DE SÍNTESIS DE NANO/MICROGELES

Los nanogeles se han preparado usando varios métodos, que se pueden clasificar en dos categorías según el entrecruzamiento de su estructura: nanogeles entrecruzados químicamente (covalentes) que forman puntos de entrecruzamiento por enlaces covalentes, y nanogeles entrecruzados físicamente con enlaces no covalentes, tales como enlaces de hidrógeno, interacciones electrostáticas e hidrofóbicas.

Entre los métodos de entrecruzamiento físicos para la síntesis de nanogeles se encuentran: a) Autoensamblado de nanogeles formados por asociación de polímeros, b) Autoensamblado de nanogeles formados por asociación de varios polímeros. En los métodos de entrecruzamiento químicos para la síntesis de nanogeles se encuentran: a) Polimerización heterogénea por radicales libres b) entrecruzamiento químico de bloques de copolímeros anfífilos, c) método de nanomoldeo (*nano template*), d) Fotolitográficos (Sasaki and Akiyoshi 2010).

Dentro de los métodos de polimerización heterogéneos por radicales libres, se encuentran los métodos de dispersión, precipitación, miniemulsión inversa, microemulsión inversa, y polimerización por emulsión sin detergente, la cual se utilizó para la síntesis de nanogeles de este proyecto. A continuación, se describe brevemente cada uno de los métodos.

II.6.1 Polimerización por dispersión

En este método, la mayoría de los componentes de la mezcla de reacción que incluyen monómeros, estabilizadores poliméricos e iniciadores son solubles en un disolvente orgánico como una fase continua. Al comienzo, la polimerización ocurre en una mezcla de reacción homogénea; sin embargo, los polímeros formados se vuelven insolubles en el medio continuo, lo que finalmente conduce a la formación de dispersión estable de partículas poliméricas con la ayuda de estabilizadores coloidales. (Sultana, Arafat, and Sharmin 2013)

II.6.2 Polimerización por precipitación

La polimerización por precipitación implica la formación de una mezcla homogénea en su etapa inicial, la iniciación y polimerización en la solución homogénea. Como los polímeros formados no son hinchables sino solubles en el medio, es necesario el uso de un entrecruzante para entrecruzar las cadenas de polímeros para que suceda el aislamiento entre las partículas. Como consecuencia, las partículas entrecruzadas resultantes, a menudo tienen una forma irregular con alta polidispersidad (PDI). (Mishra 2015)

II.6.3 Polimerización por mini-emulsión inversa

La polimerización inversa (mini) en emulsión es uno de los procesos de polimerización W/O en el que las gotas de monómeros solubles en agua se dispersan de manera estable en un medio orgánico continuo mediante

el uso de surfactantes solubles en aceite. En este método, dependiendo de las fuerzas mecánicas aplicadas, se forman dispersiones estables con diferentes tamaños de partículas por un proceso de emulsión inversa. Posterior a la adición de iniciadores de radicales, se forman partículas poliméricas coloidales a través de la polimerización dentro de las gotitas acuosas. En general, las miniemulsiones son emulsiones cinéticamente estables. (Sultana, Arafat, and Sharmin 2013)

II.6.4 Polimerización por micro-emulsión inversa

Este método es similar al método de mini-emulsión inversa, también implica una dispersión W/O; sin embargo, se utiliza una cantidad relativamente grande de tensioactivos solubles en aceite para formar una solución micelar termodinámicamente estable que consiste en gotitas acuosas dispersas en la fase oleosa continua. Las gotitas micelares resultantes tienen un tamaño que oscila entre 50 a 100 nm. (Sultana, Arafat, and Sharmin 2013)

II.6.5 Polimerización por emulsión sin detergente

Una técnica muy utilizada para preparar nanopartículas es la polimerización por emulsión sin detergente. En esta técnica se utilizan macrómeros anfifílico para emulsionar monómeros hidrofóbicos. Las nanogotas de monómero en solución acuosa, estabilizados por los macromeros, sirven como semilla para formar nanopartículas entrecruzadas o nanogeles. Uno de esos macromeros más utilizado es el

metacrilato de polietilenglicol monometil éter; el cual, además de estabilizar las nanopartículas, confiere propiedades de camuflaje a los nanomateriales para evitar los mecanismos de eliminación del organismo tales como el sistema retículo endotelial (Serrano-Medina, Cornejo-Bravo, and Licea-Claveríe 2012).

II.7 ÁCIDO SALICÍLICO INCORPORADO EN SISTEMAS DE LIBERACIÓN DE FÁRMACOS

En las últimas décadas el ácido salicílico ha sido utilizado mayormente como fármaco antiinflamatorio. Sin embargo, estudios recientes demuestran que el ácido salicílico puede ser utilizado para tratar el cáncer (Bastiaannet et al. 2012), artritis (Yamazaki, Kusunoki, and Matsuzaki 2002), e infecciones fúngicas (Amborabé, Fleurat-lessard, and Chollet 2002). Otros estudios, han puesto en manifiesto que la inflamación exacerba la diabetes tipo 2 y que los salicilatos pueden reducir la resistencia a la insulina (Goldfine, Fonseca, and Shoelson 2011; Hundal et al. 2002; Nixon et al. 2012; Raghavan, Laight, and Cummings 2014; Shoelson, Lee, and Goldfine 2006), y sugieren que el ácido salicílico afecta el estrés oxidativo, resistencia a insulina y la inflamación vascular (Raghavan, Laight, and Cummings 2014).

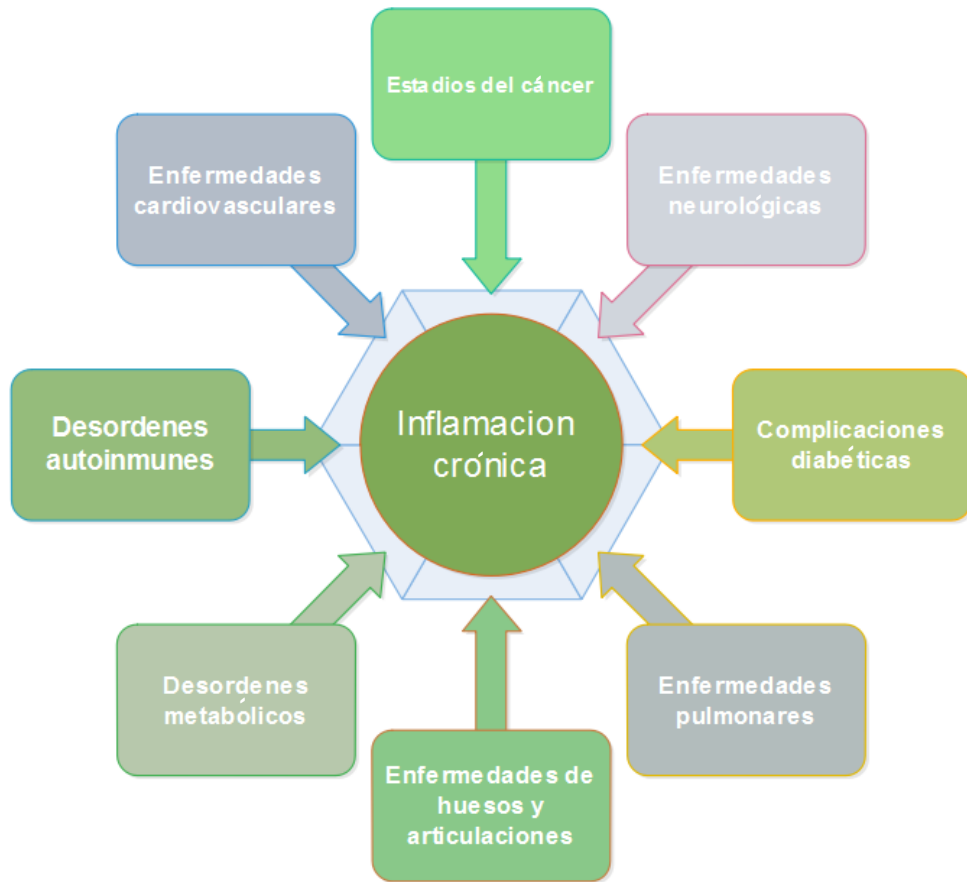


Figura 3. Enfermedades correlacionadas con la inflamación crónica

Los derivados del ácido salicílico son comúnmente utilizados como fármacos de bajo costo, y son fármacos considerados AINES. Se ha demostrado la incorporación química del ácido salicílico en esteres polianhidridos alcanzado un alto cargado de fármaco (Anastasiou and Uhrich 2003; Schmeltzer, Schmalenberg, and Uhrich 2005). En seguimiento, se desarrolló un sistema de administración oral, a partir de hidrogeles entrecruzados físicamente sensibles al pH, cargados con esteres polianhidridos e insulina, demostrando que en la simulación de pH del intestino (pH 6.8), libero un 90% de ácido salicílico y un 70% de

insulina a las 24 horas (Demirdirek and Uhrich 2015). En otro estudio, se desarrollaron hidrogeles entrecruzados químicamente, en los cuales, incorporaron un monómero a base de ácido salicílico utilizando ácido itacónico como enlazador, ácido acrílico, y poli etilenglicol diacrilato como agente entrecruzante, mediante polimerización por radicales libres iniciada por UV. El estudio demostró un perfil de liberación dependiente al pH en condiciones fisiológicas y gastrointestinales, a un pH de 7.4, el sistema liberó un 100% de ácido salicílico. Por otro lado demostró capacidad mucoadhesiva, con potencial aplicación como sistema de administración oral (Demirdirek and Uhrich 2017). Otro ejemplo, de un derivado del ácido salicílico, es el ácido metacriloiloxi-o-benzoico (MAOB), un monómero anfifílico, producido a partir de una técnica sintética previamente desarrollada (Claverie Licea et al. 2003). A partir de este monómero, previamente se ha desarrollado hidrogeles estabilizados con PEGMA (Serrano-Medina, Cornejo-Bravo, and Licea-Claverie 2012); en otro estudio se ha recubierto polipropileno utilizando irradiación gamma para generar los radicales libres que inician la polimerización del injerto (Magaña Badilla et al. 2016). En ambos estudios realizados se ha demostrado que los materiales formados se hidrolizan en soluciones que simulan las condiciones fisiológicas para generar ácido salicílico.

CAPÍTULO III.

EXPERIMENTAL

III.1 GENERALIDADES

a) REACTIVOS Y MATERIALES

- 3,9-Divinil-2,4,8,10-tetraoxaspiro[5.5]undecano (DVA)
- Acetato de uranilo 1%
- Ácido Clorhídrico
- Ácido salicílico (Sigma-Aldrich Inc.)
- Agua destilada
- Anhídrido metacrílico (Sigma-Aldrich Inc.)
- Diclorometano
- Dimetacrilato de etilenglicol (EGDMA)
- Éter etílico (Sigma-Aldrich Inc.)
- Fosfato monobásico de Potasio ($\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)
- Fosfato monobásico de Sodio ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)
- Hidróxido de sodio (NaOH)
- Metanol (Sigma-Aldrich Inc.)
- Membrana para diálisis, Spectra/Por MWCO: 15,000
- Membrana para diálisis, Spectra/Por MWCO: 12-14,000
- Persulfato de amonio (APS)
- Poli(etilenglicol) metil éter metacrilato (1,100 g/mol) (PEGMA₁₁₀₀)
- Removedor del inhibidor hidroquinona (Sigma-Aldrich Inc.)
- Sulfato de Magnesio anhidro, 99% (MgSO_4)
- Trietilamina (Sigma-Aldrich Inc.)

b) EQUIPOS

- Balanza analítica Denver Instrument M-200
- Bomba de adición, RAZEL, Model R-99
- Dispersión de Luz Dinámica (DLS), Equipo ZetaSizer Nano-ZS series, de marca Malvern Instruments, modelo ZEN3500 con láser verde de 532 nm, serie MAC5000833
- Espectrofotómetro de infrarrojo con transformadas de Fourier (FTIR)
- Cromatógrafo de gases acoplado a espectrometría de masas (GC-MS)
- Espectrofotómetro UV/Vis Beckman Coulter DU 520
- Estufa de vacío WVR
- Liofilizador, Labcono, Equipo Freeze Dry System/Freezone 4.5, cat. No. 7751000
- Microscopio electrónico de barrido de emisión de campo (FESEM) JSM-7800F, Prime.
- Parrilla con agitación magnética, WVR, Dyla-Dual
- Potenciómetro HANNA Modelo HI 2210
- Recirculador LAUDA Brinkmann, Ecoline RE106
- Ultracentrifuga, Beckman Coulter, Avanti-JE, modelo J-E, 208/240 v, 24 A, 60Hz

c) GASES

- Nitrógeno, grado ultra alta pureza (UHP), de INFRA S.A. de C.V.

III.2 PURIFICACIÓN DE EGDMA

Se corrió el entrecruzante por una columna empacada con removedor del inhibidor de hidroquinona.

III.3 SÍNTESIS DE MÓNOMERO ÁCIDO METACRILILOXI-O-BENZOICO (MAOB)

La síntesis del monómero (MAOB) se sintetizo mediante un método previamente reportado (Licea-Claveríe, Rogel-Hernández, and López-Sanchez 2003). Ver figura 4.

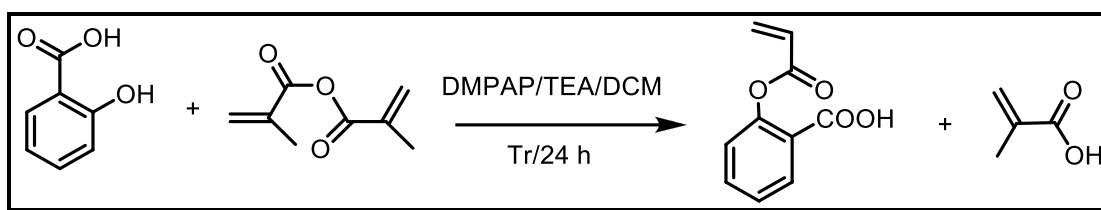


Figura 4. Ruta de síntesis de Ácido Metacriloiloxi-o-benzoico (MAOB)

El procedimiento se realizó de la siguiente manera:

En un matraz bola de 100 mL se disolvió 6.91 g de ácido salicílico (50 mmol) y 0.49 g (4mmol) de 4-dimetilaminopiridina (DMAP), en 8.42 mL de tretilamina y 20 mL de diclorometano. La solución se colocó en un baño de hielo a 0 °C y se mantuvo con agitación constante, hasta disolver los reactivos sólidos. Posteriormente, se agregó gota a gota 7.50 g de anhídrido metacrílico (50 mmol), por un tiempo controlado de 3 horas, mediante el uso de una bomba de adición. Se agito la solución durante 24 horas a temperatura ambiente. La solución se transfirió a un vaso de precipitado de 250 mL y se acidifico hasta un pH=3.0, con HCL,

manteniendo la mezcla a 0 °C y con agitación constante. El precipitado obtenido se extrajo con éter etílico, utilizando un embudo de separación de 250 mL; la fase orgánica se lavó con 20 mL de una dilución y 20 mL de agua destilada. La fase orgánica fue secada utilizando MgSO_4 anhidrido, se filtró a vacío y se dejó a cristalizar. El sólido obtenido se lavó con 30 mL de agua a temperatura ambiente y 30 mL a 40 °C, repitiendo tres veces de manera intercalada. El producto se purificó por recristalización utilizando metanol.

III.4 CARACTERIZACIÓN DE MONÓMERO ÁCIDO METACRILÓILOXI-O-BENZOICO (MAOB)

Antes de incorporar el monómero en la síntesis de nanogeles, se realizó la caracterización del monómero MAOB, para identificarlo y asegurar que el material se encuentra en estado puro.

III.4.1 Cromatografía de capa fina

La pureza del producto fue evaluada por cromatografía de capa fina (TLC), con una mezcla de éter de petróleo/éter etílico (30:70).

III.4.2 Espectrofotometría de infrarrojo con reflectancia total atenuada (FTIR-ATR)

El análisis de espectroscopia de infrarrojo se realizó con el equipo Fourier Transform Infrared spectrophotometer de iDS, con reflectancia total atenuada (ATR).

III.5 SÍNTESIS DE NANOGELES PEGMA:MAOB

Se utilizó un método de polimerización por emulsión sin detergente para preparar los nanogeles de PEGMA:MAOB, variando diferentes concentraciones del monómero MAOB y PEGMA, utilizando EGDMA o DVA como entrecruzante. En todas las reacciones de síntesis de nanogeles se utilizó un peso total de 0.50 gramos entre el monómero y comonómero, y utilizando porcentaje (%) molar para el entrecruzante y el iniciador. Todo en un volumen total de 50 mL de agua grado miliQ. Las proporciones (% w/w) de los monómeros utilizados, así como el % molar del entrecruzante e iniciador pueden ser observados en la tabla 1.

Tabla.1 Porcentajes utilizados de PEGMA, MAOB, EGDMA, DVA y APS para la síntesis de nanogeles

PEGMA: MAOB (%W/W)	Entrecruzante	Entrecruzante (% mol)	APS (% mol)
50:50	EGDMA	3%	2%
60:40	EGDMA	3%	2%
60:40	DVA	3%	2%
60:40	EGDMA	5%	2%
60:40	DVA	5%	2%
60:40	EGDMA	3%	4%
60:40	DVA	3%	4%
70:30	EGDMA	3%	2%
70:30	DVA	3%	2%
70:30	EGDMA	5%	2%
70:30	DVA	5%	2%
80:20	EGDMA	3%	2%
80:20	DVA	3%	2%
80:20	EGDMA	5%	2%
80:20	DVA	5%	2%

El procedimiento general para la síntesis de los nanogeles PEGMA:MAOB, se describe a continuación:

1. El monómero MAOB, PEGMA, y el entrecruzante (EGDMA o DVA) se mezclaron en las cantidades mencionadas en la tabla 1. y se disolvió en 50 ml de agua destilada a temperatura ambiente para formar un 1% w/w solución acuosa.
2. Se eliminó cualquier oxígeno disuelto en la mezcla mediante burbujeó con nitrógeno durante 30 minutos.
3. Después la mezcla de reacción se calentó a 85° C en un baño de temperatura de aceite lubricante y se agito de manera constante durante 30 minutos.
4. Posteriormente se añadió persulfato de amonio al sistema para actuar como un iniciador térmico. Se dejó que la reacción de polimerización continúe durante 45 min (ver figura 5).
5. Una vez terminados los 45 min de la reacción de polimerización, se coloca la solución de nanogeles en un matraz Erlenmeyer en un baño maría, para bajar la temperatura de la reacción. Posteriormente la solución de nanogeles es sometida al proceso de purificación.

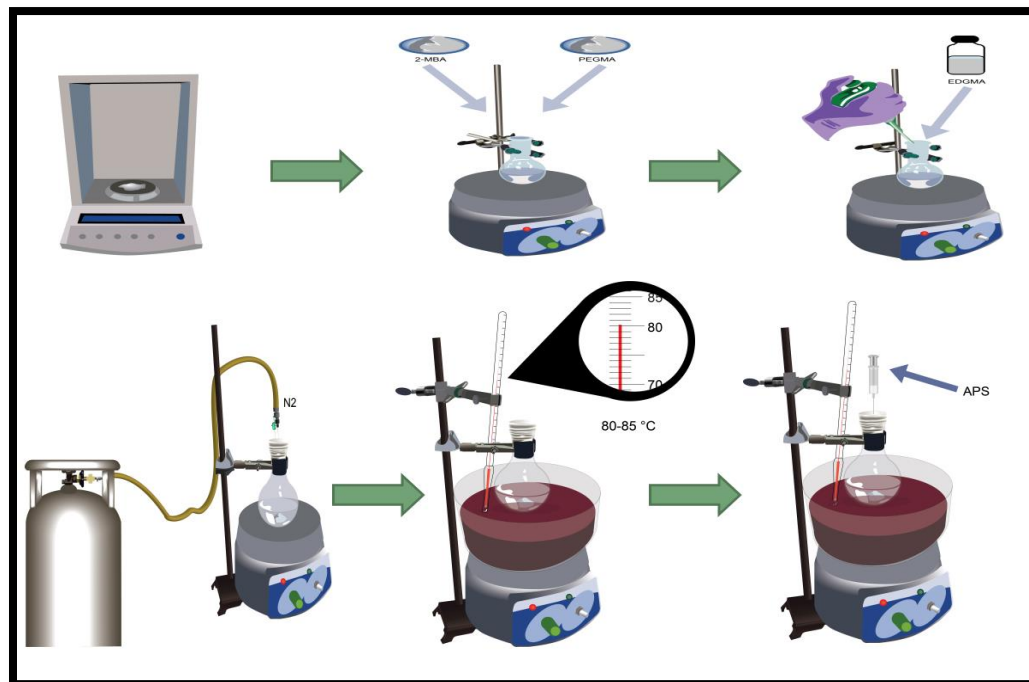


Figura 5. Diagrama general de síntesis de nanogeles MAOB:PEGMA, por polimerización por emulsión sin detergente.

III.6 PURIFICACIÓN DE NANOGELES POR FILTRACIÓN

Una vez sintetizadas los nanogeles, estos se filtraron con tubos pall de filtración con membrana de corte de peso molecular de 100 kd, a 3,700 RPM en ultracentrífuga Beckman Coulter, Avanti-JE, modelo J-E. El precipitado se descarta, y el producto concentrado en membrana es recuperado para los estudios posteriores.

III.7 LIOFILIZACIÓN DE NANOGELES

Los nanogeles purificados mediante filtración, se congelaron en viales y se colocaron en portamuestras del equipo liofilizador Labcono, Equipo Freeze Dry System/Freezone 4.5. El tiempo de liofilización para las muestras fue

de 48 horas. Mediante esta técnica fue posible determinar el % de rendimiento de los nanogeles.

III.8 TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN DE NANOGELES PEGMA:MAOB

III.8.1 Determinación del tamaño de partícula mediante dispersión de luz dinámica (DLS)

III.8.1.1 Medición de diámetro hidrodinámico en nanogeles purificados

El diámetro hidrodinámico los de nanogeles purificados se evaluó mediante DLS utilizando un Zetasizer Nano NS, equipado con un láser verde de 532 nm, con un ángulo de medición es 173 (retrodispersión). Las muestras se diluyeron utilizando 20 µl de nanogeles y 980 µl de agua grado miliQ.

III.8.1.2 Medición de diámetro hidrodinámico en nanogeles purificados en diferentes pH

El efecto del pH sobre el diámetro hidrodinámico de los nanogeles se evaluó mediante el mismo equipo de dispersión de luz dinámica. Se utilizaron soluciones buffer de pH= 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 7.4, 8.0, y 9.0.

III.8.2 Espectrofotometría de infrarrojo con reflectancia total atenuada (FTIR-ATR)

Se obtuvieron espectros de infrarrojo de nanogeles PEGMA:MAOB liofilizados, utilizando el equipo Fourier Transform Infrared spectrophotometer de iDS, con reflectancia total atenuada (ATR).

III.8.3 Determinación de contenido de ácido mediante titulación ácido-base

La determinación del MAOB incorporado en los nanogeles, se realizó mediante titulaciones ácido-base. Con la finalidad de cuantificar la cantidad de ácido incorporado en el núcleo de los nanogeles, se utilizó el método de retro titulación ácido-base. En donde se pesaron 50 mg del producto liofilizado de nanogeles y se colocaron en 5 ml de agua miliQ, que se dejaron en agitación durante cuatro horas. Una vez disuelto el material se alcanza el pH a 11.0, con NaOH 0.05 M valorado. Después, se agrega lentamente 25 μ l de HCL 0.05 M valorado, hasta llegar a pH 3.0.

III.8.4 Microscopia Electrónica de Barrido de Emisión de Campo (FESEM)

Se caracterizaron los nanogeles PEGMA:MAOB mediante microscopio JEOL JSM-7800F Prime a 25 Kv.

La preparación de la muestra se realizó mediante este procedimiento:

1. Con una micropipeta se tomaron 2 μ l de nanogeles purificados de PEGMA:MAOB.

2. Se toma con una pinza un portamuestra, la cual consiste en una rejilla de carbono con cobre tipo lazy, con un mesh de 400.
3. La muestra de 2 μ l es colocada en la parte opaca de una rejilla y se seca con toalla kimwipe.
4. Se toma con micropipeta 2 μ l de acetato de uranilo a una concentración de 1%, se coloca sobre la parte opaca donde se colocaron los nanogeles, y se seca nuevamente con toalla kimwipe. Este paso se repite dos veces.
5. Por último, la rejilla fue colocada en tubo eppendorf, y este a su vez colocado en una estufa de secado con el tapón abierto, sin utilizar vacío a temperatura ambiente por un día.

III.9 ESTUDIO DE HIDRÓLISIS-LIBERACIÓN DEL FÁRMACO ÁCIDO SALICÍLICO

El estudio se realizó depositando 5 ml de nanogeles dentro de membranas de diálisis con corte limite (MWCO) de 15,000 kDA, colocadas en un vaso con 50 mL de medio buffer de pH 7.4 y otra membrana del mismo modo a pH 6.0, con agitación y temperatura controlada a 37° C con ayuda de un equipo recirculador. Esto a fin de simular las condiciones fisiológicas normales de circulación sanguínea y condiciones neoplásicas en un microambiente celular. Una vez que se sumergió la membrana al medio, se empezó a tomar el tiempo de liberación, se tomaron alícuotas de 5 mL de muestra a las 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 48 y 72 horas, y se reemplazó el mismo volumen del medio con nueva solución de buffer, esto para cada

uno de los medios de pH 7.4 y 6.0. Las muestras obtenidas se leyeron por UV-Vis a una longitud de 296 nm, midiendo absorbancia. Se obtuvieron las concentraciones de las alícuotas por medio de las gráficas estándares correspondientes (Anexo 1 al 12).

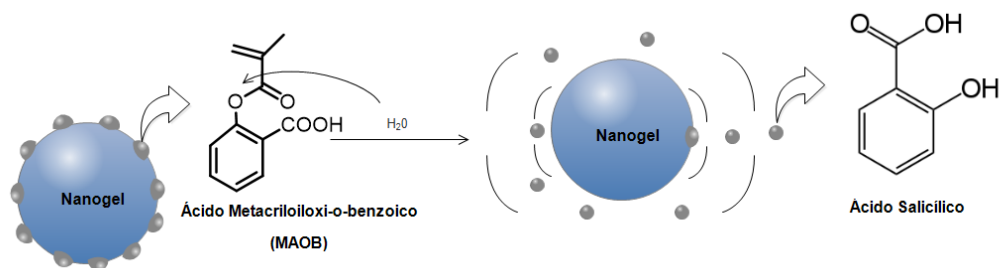


Figura 6. Hidrólisis de nanogeles MAOB

III.9.1 Evaluación de ácido salicílico liberado por espectrometría de masas acoplado a gases (GC/MS).

A fin de evaluar la presencia de ácido salicílico liberado, se analizaron diferentes muestras provenientes del medio buffer 7.4 y 6.0, a las 72 horas posterior al inicio de la liberación, en el equipo de espectrometría de masas acoplado a gases (GC/MS). Las muestras previo a su análisis, fueron filtradas con filtro de membrana de 0.45 μ m para jeringa, se les bajo el pH a 3.0 con HCL 0.1 M, se extrajeron con diclorometano, se volatilizo en campana, y se realizó una dilución de 500 μ g/mL con metanol.

CAPÍTULO IV.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV.1 SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DEL MONÓMERO ÁCIDO METACRILILOLOXI-O-BENZOICO (MAOB)

IV.1.1 Síntesis de monómero ácido metacrililoixi-o-benzoico (MAOB)

El monómero MAOB logro ser sintetizado mediante el procedimiento de síntesis descrito en el punto III.3. Posterior al proceso de síntesis, extracción y purificación del monómero MAOB, se obtuvo un sólido blanco esponjoso, del cual se logró obtener un rendimiento de 54%. Como se observa en la figura 7, la estructura química del monómero MAOB, consiste en la unión de ácido salicílico con el anhídrido metacrílico, el cual contiene grupos característicos que aseguran la formación del monómero, como lo es el grupo ester, anillo aromático y acido carboxílico.

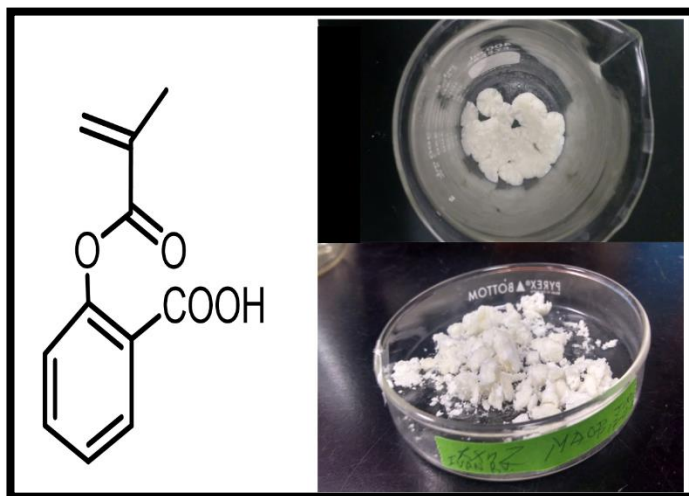


Figura 7. Estructura química del monómero MAOB y aspecto del monómero sintetizado

IV.1.2 Caracterización de monómero ácido metacrililoiloxi-o-benzoico (MAOB)

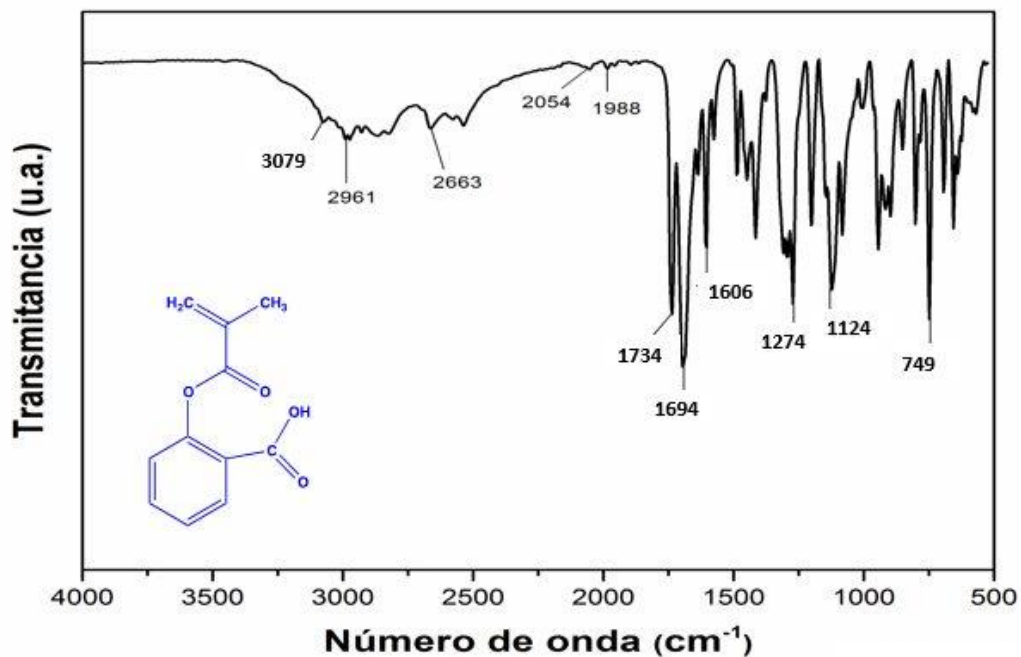


Figura 8. Espectro de infrarrojo de MAOB (ácido metacrililoiloxi-o-benzoico)

Tabla 2. Asignación de bandas espectroscópicas de infrarrojo para monómero MAOB

Grupo Funcional	FT-IR (cm^{-1})
=C-H (aromático)	3079
C=O (éster)	1734
C=O (ácido)	1694
H ₂ C=C	1606
C-O	1274 y 1124
Orto di sustitución	749

Como se observa en la figura 8 y la tabla 2, se lograron observar bandas características del MAOB de acuerdo a la literatura (claverie Licea et al. 2003); a 3079 cm^{-1} se observó una banda correspondiente al estiramiento $=\text{C-H}$ de la región aromática del monómero, a 1734 cm^{-1} indicando la vibración del estiramiento C=O del carbonilo del ester, a 1694 cm^{-1} una banda relativa al estiramiento C=O del carbonilo del ácido carboxílico, a 1606 cm^{-1} se observa el estiramiento correspondiente a $\text{H}_2\text{C}=\text{C}$ de la zona vinílica, y así mismo, a 749 cm^{-1} se observa el estiramiento correspondiente a la otro di sustitución de nuestra molécula el MAOB.

IV.2 SÍNTESIS DE NANOGELES PEGMA:MAOB

Estos experimentos se llevaron a cabo con la finalidad de analizar la formación de nanogeles con coraza de polietilenglicol, variando las relaciones de PEGMA:MAOB; al igual que el iniciador de la reacción de polimerización el cual fue el APS y sus proporciones al 2 y 4%, así como, los entrecruzantes y sus proporciones molares al 3, y 5%. Estos experimentos se caracterizaron vía DLS para determinar el tamaño (D_h) y número de distribuciones en el % de tamaños en volumen.

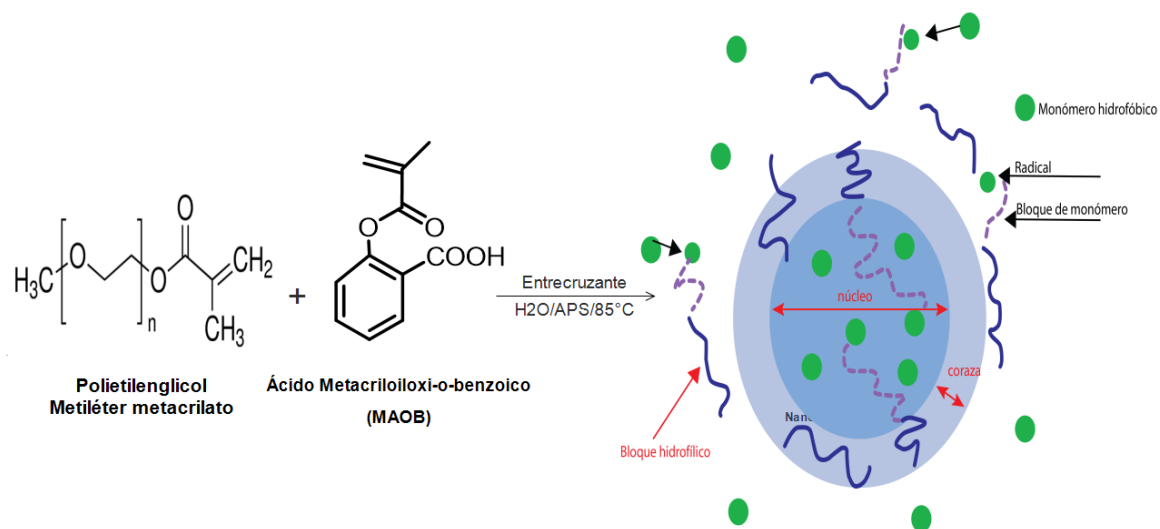


Figura 9. Ruta de síntesis de nanogeles MAOB:PEGMA, por polimerización por emulsión sin detergente

IV.2.1 Caracterización de los nanogeles de PEGMA:MAOB mediante dispersión de luz dinámica (DLS)

Los nanogeles obtenidos en los experimentos, se caracterizaron vía DLS, obteniendo los tamaños de partícula (D_h) de las distribuciones; estos resultados se pueden observar en la tabla.

Tabla 3. Dh de los nanogeles entrecruzados con EGDMA y DVA a 25° C

CÓDIGO	PEGMA ₁₁₀₀ : MAOB (%W/W)	Entrecruzante	Entrecruzante (% mol)	APS (% mol)	Dh (nm)	PDI
001	50:50	EGDMA	3%	2%	350.4	0.212
003	60:40	EGDMA	3%	2%	242.4	0.061
004	60:40	DVA	3%	2%	255.5	0.087
014	60:40	EGDMA	5%	2%	338.2	0.177
019	60:40	DVA	5%	2%	167.1	0.050
009-1	60:40	EGDMA	3%	4%	259.5	0.068
009-2	60:40	DVA	3%	4%	314.2	0.167
008-2	70:30	EGDMA	3%	2%	279.4	0.137
017	70:30	DVA	3%	2%	353.5	0.210
018	70:30	EGDMA	5%	2%	337.9	0.125
020	70:30	DVA	5%	2%	275.2	0.195
022	80:20	EGDMA	3%	2%	173.9	0.006
023	80:20	DVA	3%	2%	254.6	0.094
015	80:20	EGDMA	5%	2%	227.3	0.218
021	80:20	DVA	5%	2%	286.8	0.051

Como se puede observar en la tabla 3. al aumentar la proporción de estabilizante PEGMA₁₁₀₀, el tamaño de los nanogeles no cambia significativamente en relación a los que tienen menor concentración; en la proporción PEGMA: MAOB (60:40)/DVA_{5%}, se obtuvieron tamaños más pequeños, siendo de Dh 167.1 nm, seguido de la proporción PEGMA: MAOB (80:20)/EGDMA_{3%}, con un Dh de 173.9 nm, y la proporción PEGMA: MAOB (80:20)/EGDMA_{5%}, con un Dh de 227.3 nm. Así mismo se observó que no hay cambios significativos al aumentar el % del iniciador al doble. Por otro lado, se observa una tendencia a la disminución del

tamaño en los nanogeles, al utilizar una concentración al 5% de entrecruzante.

En los siguientes gráficos se observa la distribución de tamaños de los nanogeles, respecto a las proporciones, PEGMA:MAOB (60:40), PEGMA:MAOB (70:30), y PEGMA:MAOB (80:20), comparando los entrecruzantes EGDMA y DVA a un 3% y 5%.

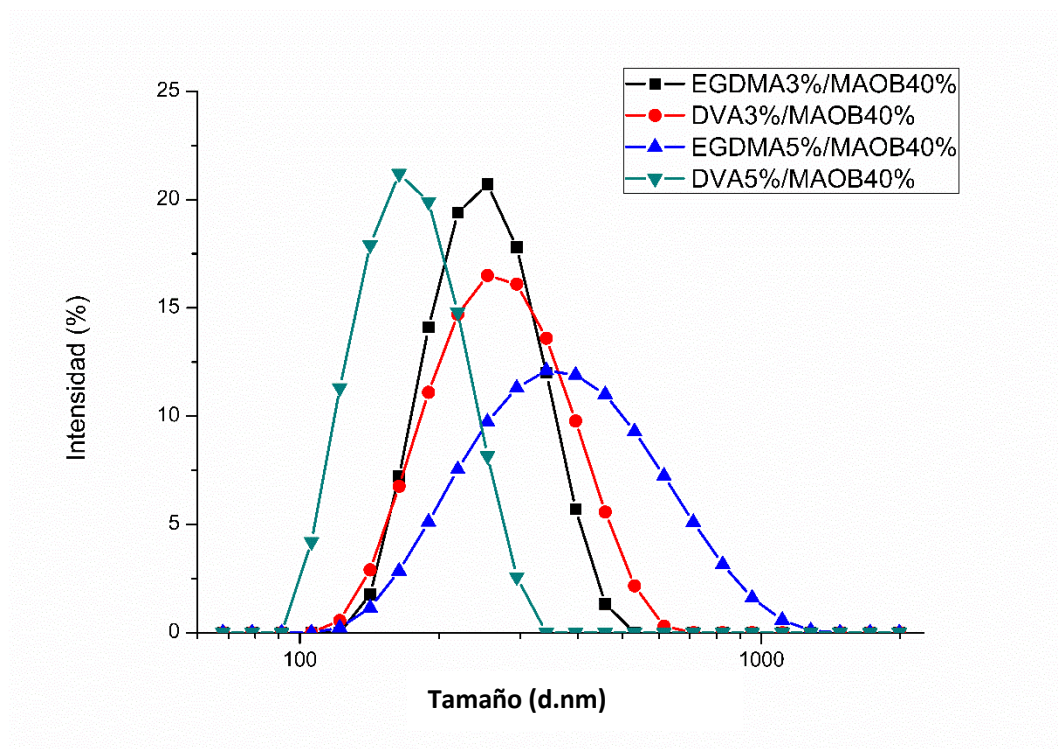


Figura 10. Diámetro hidrodinámico de nanogeles PEGMA:MAOB (60:40), entrecruzados con EGDMA o DVA

En la gráfica anterior se observa que al comparar las distribuciones de tamaños de los nanogeles con entrecruzantes al 3% no hay un cambio significativo entre EGDMA y DVA; Sin embargo, al aumentar a un 5% el

entrecruzante DVA se logra obtener un tamaño de partícula (D_h) de 167.1 nm y una distribución con PDI de 0.050, siendo la reacción con mejores resultados en la proporción PEGMA:MAOB (60:40).

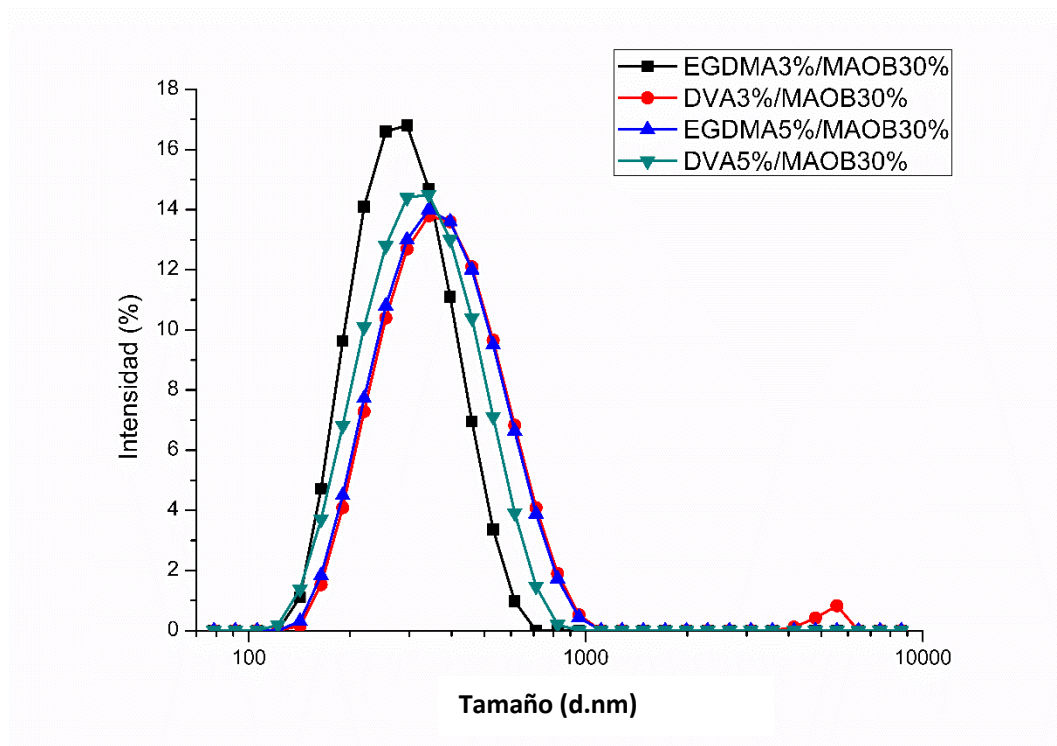


Figura 11. Diámetro hidrodinámico de nanogeles PEGMA:MAOB (70:30), entrecruzados con EGDMA o DVA

En la gráfica 11, se puede apreciar que al aumentar la concentración del comonomero PEGMA, no existe un efecto sobre el tamaños de partícula (D_h) respecto a la proporción anterior PEGMA:MAOB (60:40). Así mismo no se observó cambio significativo al utilizar 3% y 5% de los entrecruzantes EGDMA o DVA.

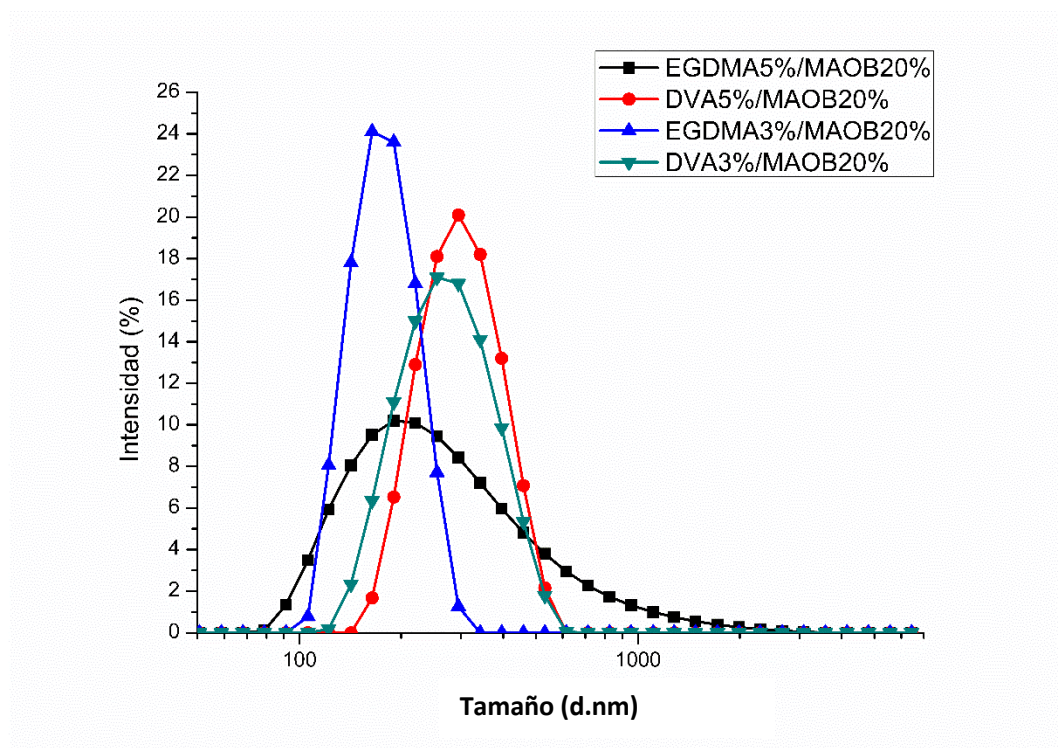


Figura 12. Diámetro hidrodinámico de nanogeles PEGMA:MAOB (80:20), entrecruzados con EGDMA o DVA

Como se puede observar en la gráfica anterior, la proporción PEGMA:MAOB (80:20), entrecruzada al 3% con DVA obtuvo tamaños de partícula (D_h) menores al resto, siendo su D_h de 173.9 nm con un PDI de 0.006. Por otro lado, en la reacción utilizando EGDMA al 5%, se logró obtener el tamaño más pequeño (D_h . 227.2 nm) utilizando este entrecruzante con respecto a las demás proporciones de PEGMA:MAOB estudiadas.

IV.2.2 Liofilización de nanogeles de PEGMA:MAOB

Los nanogeles purificados fueron liofilizados transcurridas las 48 horas, obteniendo un material blanco esponjoso. A partir de este procedimiento, se logró obtener el rendimiento de los nanogeles, el cual se puede observar en la siguiente tabla 4.

Tabla 4. Rendimiento de los nanogeles PEGMA:MAOB

CÓDIGO	Nanogeles	APS (% mol)	Rendimiento %
001	EGDMA _{3%} /MAOB _{50%}	2%	24.04
003	EGDMA _{3%} /MAOB _{40%}	2%	33.29
004	DVA _{3%} /MAOB _{40%}	2%	36.81
014	EGDMA _{5%} /MAOB _{40%}	2%	31,37
019	DVA _{5%} /MAOB _{40%}	2%	35.11
009-1	EGDMA _{3%} /MAOB _{40%}	4%	26.27
009-2	DVA _{3%} /MAOB _{40%}	4%	24.67
008-2	EGDMA _{3%} /MAOB _{30%}	2%	22.83
017	DVA _{3%} /MAOB _{30%}	2%	19.77
018	EGDMA _{5%} /MAOB _{30%}	2%	26.95
020	DVA _{5%} /MAOB _{30%}	2%	18.63
022	EGDMA _{3%} /MAOB _{20%}	2%	24.57
023	DVA _{3%} /MAOB _{20%}	2%	18.95
015	EGDMA _{5%} /MAOB _{20%}	2%	17.12
021	DVA _{5%} /MAOB _{20%}	2%	19.34

IV.2.3 Estudio de efecto de pH sobre el diámetro hidrodinámico de los nanogeles PEGMA:MAOB

Los nanogeles señalados previamente en la tabla 4, fueron expuestos a diferentes pH (3 al 9) para evaluar el efecto sobre el diámetro hidrodinámico de los nanogeles al ser expuestos a un ambiente diferente.

Esto con la finalidad de conocer el potencial para ser aplicados en sistemas biológicos, circulación sanguínea y células tumorales. Para este estudio se utilizaron 20 μL de nanogeles en 980 μL del buffer, y fueron leídas mediante dispersión de luz dinámica (DLS) para obtener el diámetro hidrodinámico (D_h) y PDI.

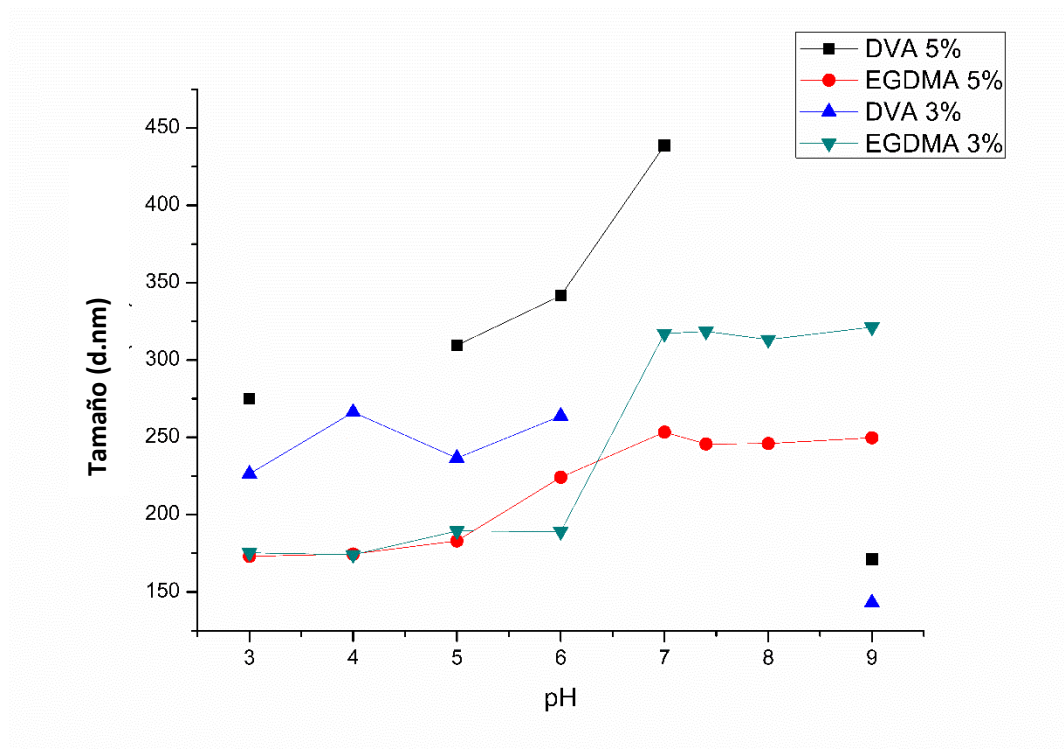


Figura 13. Efecto del pH sobre el diámetro hidrodinámico de los nanogeles PEGMA:MAOB (80:20), con diferentes porcentajes de entrecruzantes

En la figura 13. se observa tanto en el grupo de nanogeles con EGDMA/MAOB, y DVA/MAOB, que el efecto con pH ácidos hay una disminución en el tamaño de los nanogeles, esto es por el colapso de las

partículas por efecto del núcleo ácido (MAOB) no ionizado. Por otro lado, el efecto con pH básicos 8 a 9 y pH neutros 7.0 y 7.4, se puede observar un hinchamiento de los nanogeles debido a la ionización de las cargas del MAOB.

En el estudio del efecto de pH en los nanogeles MAOB:PEGMA, se observó que a medida que se entrecruzan con mayor porcentaje los nanogeles tienen mayor estabilidad en el tamaño (dh.nm). Los nanogeles entrecruzados con EGDMA mostraron mayor estabilidad en el tamaño que los nanogeles entrecruzados con DVA. El efecto del tamaño en general se mostró un cambio significativo al entrar en el rango de pH 7.0, 7.4, 8.0 y 9.0, en la mayoría de las reacciones sintetizadas al ser leídas en el equipo de DLS mostraron más de una distribución. Sin embargo, se observó que en los nanogeles PEGMA:MAOB (80:20)/EGDMA_{5%mol}, dentro del de pH 7.0, 7.4, 8.0, y 9.0, aumento ligeramente el tamaño (dh.nm), y no colapsaron por el cambio de pH; teniendo mayor potencial para estudios de liberación.

IV.2.4 Espectrofotometría de infrarrojo

Se tomaron muestras liofilizadas de nanogeles PEGMA:MAOB en la proporción 60:40 (%w/w), entrecruzadas al 3% con DVA y EGDMA independientemente, a fin de obtener espectros de infrarrojo, comparar, y asegurar la co-polimerización entre los monómeros.

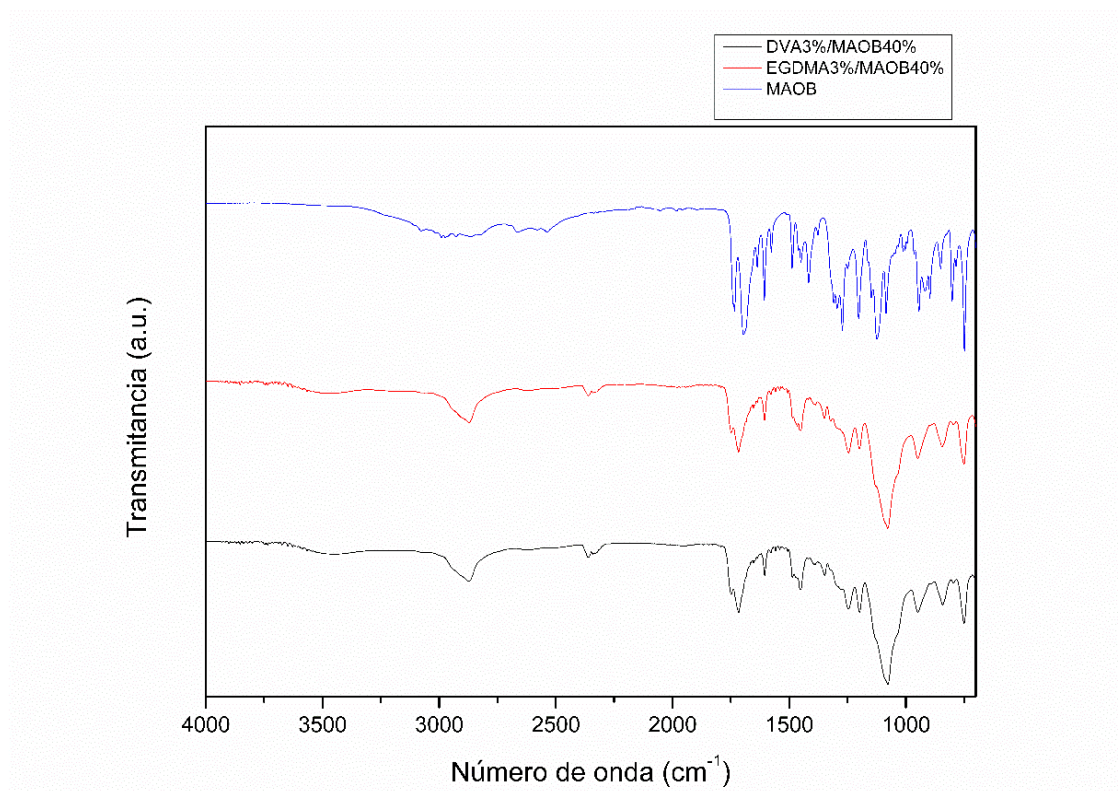


Figura 14. Espectros de IR de nanogeles PEGMA:MAOB (60:40),
entrecruzados con EGDMA y DVA.

Como se observa en la figura 14, se observan los espectros de IR del monómero MAOB, los nanogeles PEGMA:MAOB (60:40)/EGDMA_{3%mol}, y los nanogeles PEGMA:MAOB (60:40)/DVA_{3%mol}. En ambos espectros de IR de los nanogeles se observaron bandas características del PEGMA de acuerdo al espectro IR de referencia (Sigma-Aldrich), a 2872 cm⁻¹ se observa una banda correspondiente al estiramiento C-H, a 1749 cm⁻¹ indicando la vibración del estiramiento C=O. En relación con el MAOB, a 1716.89 cm⁻¹, observamos una banda relativa al estiramiento C=O del

carbonilo del ácido carboxílico, a $1605\text{-}1606\text{ cm}^{-1}$ se observa el estiramiento correspondiente a $\text{H}_2\text{C}=\text{C}$ de la zona vinílica, a $749\text{-}751\text{ cm}^{-1}$ se observa el estiramiento correspondiente a la otro di sustitución de nuestra molécula el MAOB.

IV.2.5 Determinación de contenido de ácido mediante titulación ácido-base

Con la finalidad de cuantificar la cantidad de ácido incorporado en el núcleo de los nanogeles, se utilizó el método de retro titulación ácido-base. En el anexo 48 y 49 puede observarse las curvas de titulación y la curvas de la derivada del pH utilizadas para desarrollar el cálculo de porcentaje de ácido contenido en los nanogeles estudiados. El contenido de MAOB, fue calculado mediante la ecuación 1. En la tabla 5, se presentan los resultados obtenidos.

$$\% \text{ ácido} = \frac{\Delta \text{Vol tit} * M \text{ tit} * PM \text{ ácido}}{W \text{ muestra (mg)}} \times 100$$

Ecuación 1. Ecuación para obtener el contenido de ácido

Tabla 5. Porcentaje de MAOB incorporado a los nanogeles.

CÓDIGO	Nanogeles	APS (% mol)	% Teórico	% Experimental
001	EGDMA _{3%} /MAOB _{50%}	2%	50	24.04
003	EGDMA _{3%} /MAOB _{40%}	2%	40	33.29
004	DVA _{3%} /MAOB _{40%}	2%	40	36.81
014	EGDMA _{5%} /MAOB _{40%}	2%	40	31.37
019	DVA _{5%} /MAOB _{40%}	2%	40	35.11
009-1	EGDMA _{3%} /MAOB _{40%}	4%	40	26.27
009-2	DVA _{3%} /MAOB _{40%}	4%	40	22.88
008-2	EGDMA _{3%} /MAOB _{30%}	2%	30	47.67
017	DVA _{3%} /MAOB _{30%}	2%	30	19.77
018	EGDMA _{5%} /MAOB _{30%}	2%	30	26.93
020	DVA _{5%} /MAOB _{30%}	2%	30	18.63
022	EGDMA _{3%} /MAOB _{20%}	2%	20	24.57
023	DVA _{3%} /MAOB _{20%}	2%	20	18.95
015	EGDMA _{5%} /MAOB _{20%}	2%	20	17.12
021	DVA _{5%} /MAOB _{20%}	2%	20	19.34

IV.2.6 Microscopia Electrónica de Barrido de Emisión de Campo (FESEM)

Se realizó la microscopia electrónica de barrido en las muestras en las muestras EGDMA_{3%}/MAOB_{20%}, y DVA_{3%}/MAOB_{20%}, para realizar comparación. Así mismo se obtuvieron micrografías para la muestra EGDMA_{5%}/MAOB_{20%}, la cual obtuvo mejores resultados en los estudios de liberación y mayor estabilidad en su diámetro hidrodinámico en pH 7.4 y 6.0.

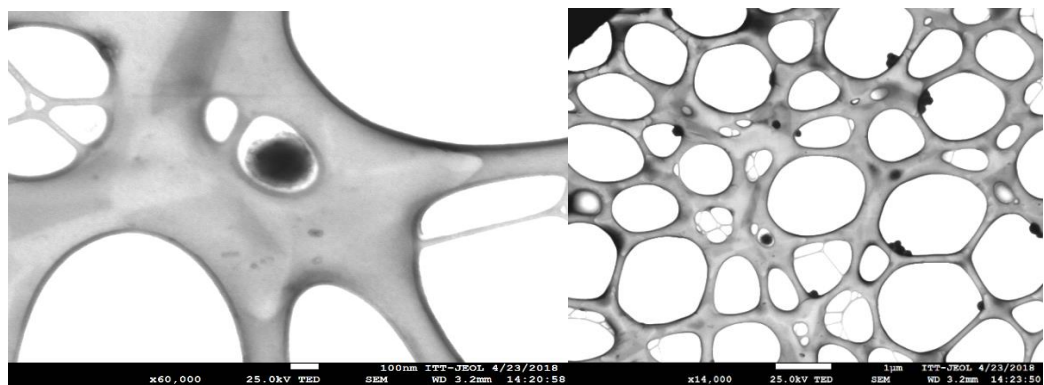


Figura 15. FESEM-Micrográficas de nanogeles MAOB-PEGMA
(80:20)/EGDMA_{3%mol}

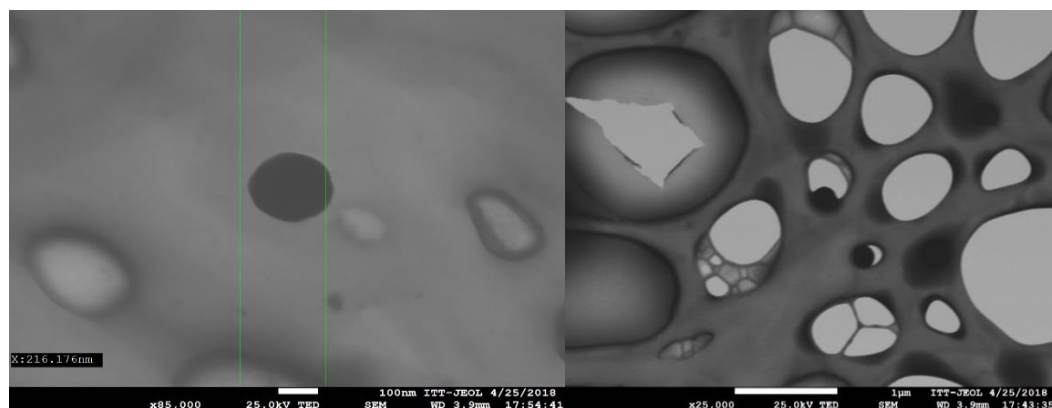


Figura 16. FESEM-Micrográficas de nanogeles MAOB-PEGMA
(80:20)/DVA_{3%mol}

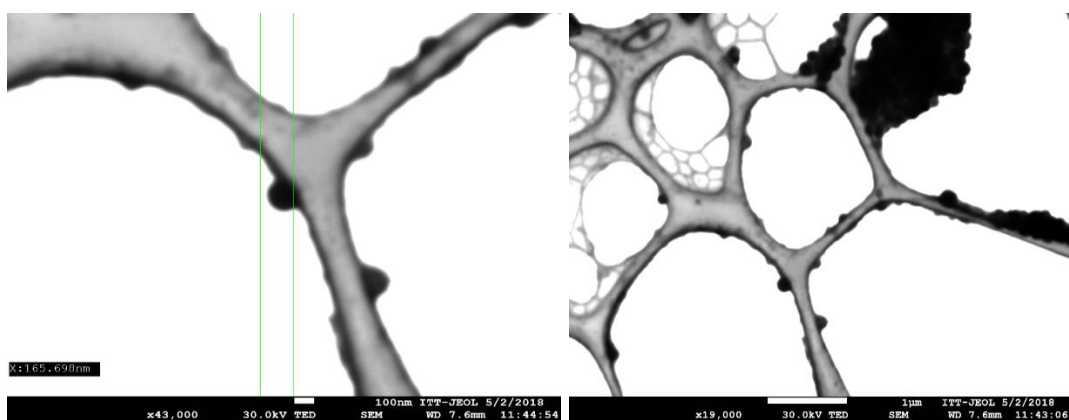


Figura 17. FESEM-Micrográficas de nanogeles EGDMA_{5%}/MAOB_{20%}

IV.3 ESTUDIO DE HIDRÓLISIS-LIBERACIÓN DEL FÁRMACO ÁCIDO SALICÍLICO

Con el fin de evaluar la liberación de ácido salicílico en los nanogeles se realizó el estudio de hidrólisis descrito en el punto III.9.; se obtuvieron muestras de 5 mL a las 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 48 y 72 horas, provenientes de los 50 mL de medio buffer de pH 7.4/6.0 y se leyeron por UV-Vis a una longitud de 296 nm, midiendo absorbancia. La concentración del ácido salicílico liberado fue calculado por extrapolación de datos de la curva de calibración (Anexo 1 al 12). Para obtener la fracción liberada/ porcentaje del fármaco liberado con respecto al tiempo, se utilizaron los cálculos que se muestran en los anexos 13 al 37. Los estudios de liberación se realizaron para los nanogeles mencionados en la tabla 6. La figura 18, se muestran los resultados obtenidos en la liberación de los nanogeles PEGMA:MAOB (80:20)/EGDMA_{5%mol}, mismos que tuvieron mejores resultados en el estudio de efecto de pH sobre el diámetro hidrodinámico en los nanogeles.

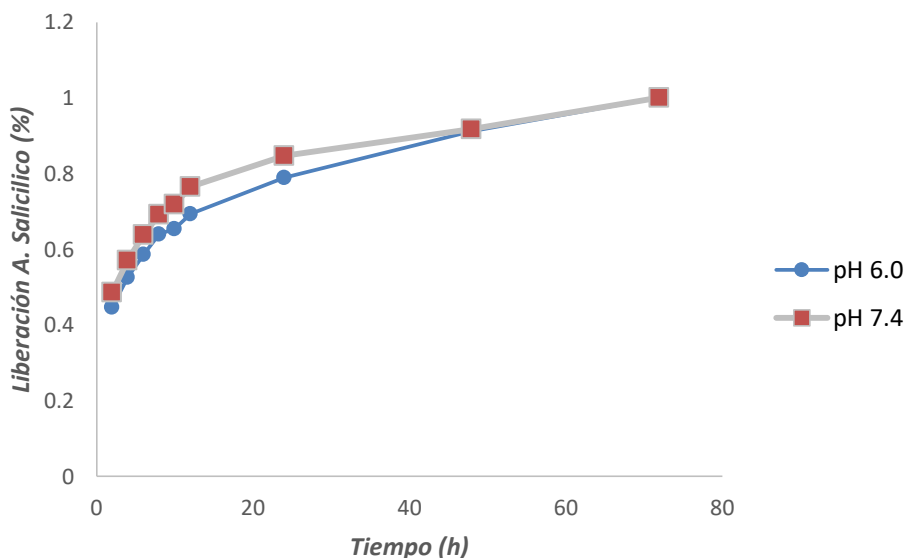


Figura 18. Liberación de los nanogeles PEGMA:MAOB

(80:20)/EGDMA_{5%mol}, a 37° C.

En la figura 18, se puede apreciar que, en ambos pH, se obtuvo una respuesta rápida, debido a que en la primera medición a las 2 horas se obtuvieron absorbancias altas, y después fue aumentando progresivamente hasta las 24 horas. En las ultimas dos mediciones a las 48 y 72 horas, no se observa un aumento significativo en la absorbancia, y se observa una liberación total del 91% a las 48 horas en ambos pH. El estudio detallado para cada uno de los nanogeles estudiados puede ser observado del anexo 13 al 36.

Tabla 6. Estudio de Liberación en nanogeles y su Dh en pH 7.4 y 6.0

CÓDIGO	Nanogeles	APS (% mol)	Tamaño	Tamaño pH 7.4	Tamaño pH 6.0
003	EGDMA _{3%} /MAOB _{40%}	2%	242.4	574.0	274.5
004	DVA _{3%} /MAOB _{40%}	2%	255.5	RQR*	389.2
014	EGDMA _{5%} /MAOB _{40%}	2%	338.2	526.8	369.8
019	DVA _{5%} /MAOB _{40%}	2%	167.1	RQR*	194.3
008-2	EGDMA _{3%} /MAOB _{30%}	2%	279.4	367.0	263.3
017	DVA _{3%} /MAOB _{30%}	2%	353.5	RQR*	351.4
018	EGDMA _{5%} /MAOB _{30%}	2%	337.9	445.7	348.5
020	DVA _{5%} /MAOB _{30%}	2%	275.2	RQR*	300.8
022	EGDMA _{3%} /MAOB _{20%}	2%	173.9	318.5	189.1
023	DVA _{3%} /MAOB _{20%}	2%	254.6	RQR*	263.8
015	EGDMA _{5%} /MAOB _{20%}	2%	227.3	264.7	224.2
021	DVA _{5%} /MAOB _{20%}	2%	286.2	RQR*	341.6

IV.3.1 Caracterización por Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas (GC/MS)

Las muestras correspondían a un volumen aproximado de 50 ml, a las cuales se le bajo el pH a 2.0 con HCL 1.0 N, y extraídas con el disolvente diclorometano o éter etílico. Las muestras se dejaron volatilizarse por 24 horas y se diluyeron en metanol, para obtener una concentración de 500 microgramos/ml. Las muestras fueron colocadas en viales de 1.5 mL, para su posterior análisis en el equipo de cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC/MS).

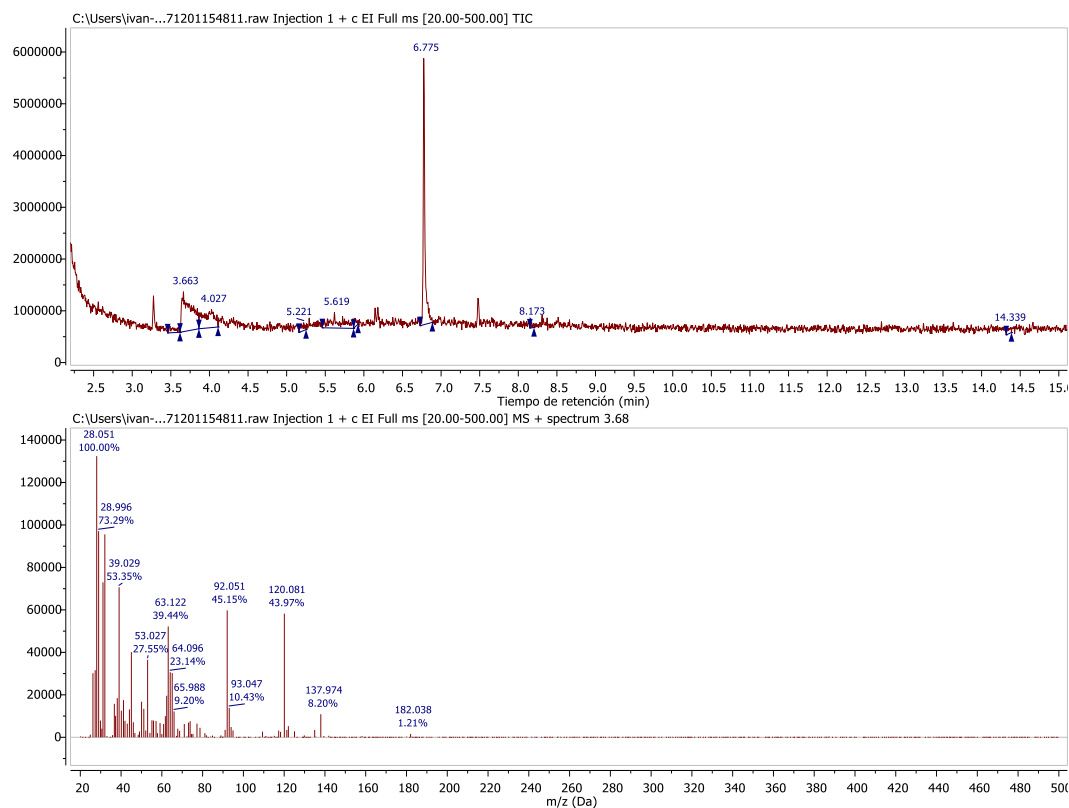


Figura 19. Cromatograma de los nanogeles liberados PEGMA:MAOB
(80:20)/EGDMA_{5%mol}, a pH 7.4 a 37 °C - (GC/MS)

En la figura 19, se observa Las muestras correspondían a las liberación de la reacción de PEGMA:MAOB (80:20)/EGDMA_{5%mol}, a pH 7.4 a 37 °C - (GC/MS). El espectro de masas mostro el ion molecular correspondiente al acido salicílico (137.97 m/z), así mismo se observó el ion m/z 120.08, ion m/z 92.05, entre otras que demuestran perdidas lógicas hacia masas bajas que conforman la molécula.

CAPÍTULO V.

CONCLUSIONES

En este proyecto se logró sintetizar y evaluar las propiedades de nanogeles constituidos de un núcleo entrecruzado por un copolímero de PEGMA y ácido metacriloiloxi-*o*-benzoico (MAOB).

El ácido metacriloiloxi-*o*-benzoico (MAOB), sintetizado se logró incorporar al nanogel, mediante la técnica de polimerización en emulsión sin detergente con diferentes concentraciones de entrecruzantes EGDMA o DVA. Fue posible lograr nanogeles menores a 200 nanómetros utilizando ambos entrecruzantes. Los nanogeles demuestran mayor estabilidad al efecto de pH a medida que el macromero PEGMA aumenta en la proporción y el entrecruzante es agregado en mayor porcentaje. Los estudios de liberación demostraron que en un medio de pH 6.0 y pH 7.4, simulando las condiciones fisiológicas, el profármaco polimérico es hidrolizable en su grupo éster, para formar ácido salicílico, el cual pudo ser cuantificado mediante rectas de calibración de ácido salicílico, utilizando espectrofotometría de ultravioleta visible a una longitud de onda de 296 nm. Los resultados del estudio en los nanogeles demuestran la característica de ser menores a 200 nm, de tal forma que pueden facilitarse la entrada de los nanogeles hacia las células mediado por endocitosis para incorporarse al interior de la célula; así mismo, poseen la característica de ser biocompatibles al contener cadenas de polietilenglicol en su superficie, lo cual le confiere propiedades de camuflaje ante el sistema fagocítico mononuclear y así aumentar su circulación en el torrente sanguíneo. El estudio de hidrólisis de fármaco demuestra que los

nanogeles responden al pH, y son candidatos para futuras aplicaciones biomédicas, considerando que diferentes microambientes en tejidos tumorales, endosomas, lisosomas, y piel tienen un pH más ácido en comparación al tejido normal (7.4).

CAPITULO VI.

REFERENCIAS

- Amborabé, Bénigne-ernest, Pierrette Fleurat-lessard, and Jean-françois Chollet. 2002. "Antifungal Effects of Salicylic Acid and Other Benzoic Acid Derivatives towards *Eutypa Lata* : Structure – Activity Relationship" 40: 1051–60.
- Anastasiou, Theodore J, and Kathryn E Uhrich. 2003. "Optimized Synthesis of Salicylate-Based Poly (Anhydride-Esters)" 448.
- Ba, Manuel, Antonio Teijeiro, and Jose Rivas. 2013. "Magnetic Nanoparticle-Based Hyperthermia For" 8: 397–400.
<https://doi.org/10.1016/j.rpor.2013.09.011>.
- Balkwill, F, and A Mantovani. 2010. "Cancer and Inflammation : Implications for Pharmacology and Therapeutics" 87 (4): 401–6.
<https://doi.org/10.1038/clpt.2009.312>.
- Bangham, A D, and R W Horne. 1964. "Negative Staining of Phospholipids and Their Structural Modification by Surface-Active Agents as Observed In." *Journal of Molecular Biology* 8 (5): 660–68, IN2-IN10.
[https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(64\)80115-7](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(64)80115-7).
- Bastiaannet, E, K Sampieri, O M Dekkers, A J M De Craen, M P P Van Herk-sukel, and V Lemmens. 2012. "Use of Aspirin Postdiagnosis Improves Survival for Colon Cancer Patients." *British Journal of Cancer* 106 (9): 1564–70. <https://doi.org/10.1038/bjc.2012.101>.

- Bhaskar, Sonu, Furong Tian, Tobias Stoeger, Wolfgang Kreyling, Jesús M De Fuente, Valeria Grazú, Paul Borm, Giovani Estrada, Vasilis Ntziachristos, and Daniel Razansky. 2010. "Multifunctional Nanocarriers for Diagnostics , Drug Delivery and Targeted Treatment across Blood-Brain Barrier : Perspectives on Tracking and Neuroimaging," 1–25.
- Bozzuto, Giuseppina. 2015. "Liposomes as Nanomedical Devices," 975–99.
- claverie Licea, Angel, Eduardo Rogel Hernandez, J.E. Lopez snchez, L. Arambula Castillo, Jose manuel Cornejo Bravo, and K.F. ARNDT. 2003. "A Facile Synthesis Route for Carboxyaryl-Methacrylates: A Way to Obtain Aromatic Polyelectrolytes." *Designed Monomers and Polymers*, 67–80. <https://doi.org/10.1163/156855503321127547>.
- Coussens, Lisa M, and Zena Werb. 2002. "Inflammation and Cancer" 420 (December).
- Danese, S, and A Mantovani. 2010. "Inflammatory Bowel Disease and Intestinal Cancer : A Paradigm of the Yin – Yang Interplay between Inflammation and Cancer." *Oncogene*, 3313–23. <https://doi.org/10.1038/onc.2010.109>.
- Davis, Mark E, Zhuo Georgia Chen, and Dong M Shin. 2008. "Nanoparticle Therapeutics : An Emerging Treatment Modality for Cancer" 7 (SEPTEMBER): 771–82. <https://doi.org/10.1038/nrd2614>.

Demirdirek, Bahar, and Kathryn E Uhrich. 2015. "Salicylic Acid-Based PH-Sensitive Hydrogels as Potential Oral Insulin Delivery Systems" 2330 (October).

<https://doi.org/10.3109/1061186X.2015.1073293>.

———. 2017. "NOVEL SALICYLIC ACID-BASED CHEMICALLY CROSSLINKED PH-SENSITIVE HYDROGELS AS POTENTIAL DRUG DELIVERY SYSTEMS." *International Journal of Pharmaceutics*. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.05.047>.

Eming, Sabine A, Thomas Krieg, Jeffrey M Davidson, and Russell P Hall. 2007. "Inflammation in Wound Repair : Molecular and Cellular Mechanisms" 127 (June 2006). <https://doi.org/10.1038/sj.jid.5700701>.

Erdmann, L, B Macedo, and K E Uhrich. 2000. "Degradable Poly (Anhydride Ester) Implants : Effects of Localized Salicylic Acid Release on Bone" 21: 2507–12.

Erdmann, L, and K E Uhrich. 2000. "Synthesis and Degradation Characteristics of Salicylic Acid-Derived Poly (Anhydride-Esters)" 21: 1941–46.

Godin, Biana, Jason H Sakamoto, Rita E Serda, Alessandro Grattoni, Ali Bouamrani, and Mauro Ferrari. 2010. "Emerging Applications of Nanomedicine for the Diagnosis and Treatment of Cardiovascular Diseases." *Trends in Pharmacological Sciences* 31 (5): 199–205. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2010.01.003>.

Goldfine, Allison B, Vivian Fonseca, and Steven E Shoelson. 2011.

“Therapeutic Approaches to Target Inflammation in Type 2 Diabetes.”

Clinical Chemistry 57: 162–67.

<https://doi.org/10.1373/clinchem.2010.148833>.

Grivennikov, Sergei I, and Michael Karin. 2010. “Inflammation and

Oncogenesis : A Vicious Connection,” 65–71.

<https://doi.org/10.1016/j.gde.2009.11.004>.

Hamidi, Mehrdad, Amir Azadi, and Pedram Ra. 2008. “Hydrogel

Nanoparticles in Drug Delivery” 60: 1638–49.

<https://doi.org/10.1016/j.addr.2008.08.002>.

Hoffman, Allan S. 1991. “A Novel Approach for Preparation of PH-

Sensitive Hydrogels for Enteric Drug Delivery” 5: 141–52.

Huang, Xiaolin, Yijing Liu, Bryant Yung, Yonghua Xiong, and Xiaoyuan

Chen. 2017. “Nanotechnology-Enhanced No-Wash Biosensors for in Vitro Diagnostics of Cancer.”

<https://doi.org/10.1021/acsnano.7b02618>.

Hundal, Ripudaman S, Kitt F Petersen, Adam B Mayerson, Pritpal S

Randhawa, Silvio Inzucchi, Steven E Shoelson, and Gerald I

Shulman. 2002. “Mechanism by Which High-Dose Aspirin Improves Glucose Metabolism in Type 2 Diabetes.” *The Journal of Clinical Investigation* 109 (10): 1321–26.

<https://doi.org/10.1172/JCI200214955>.Introduction.

- Itzkowitz, Steven H, Xianyang Yio, Mojgan Najafzadeh, Adolf Baumgartner, Rajendran Gopalan, Justin B Davies, Andrew Wright, et al. 2012. "Inflammation and Cancer IV . Colorectal Cancer in Inflammatory Bowel Disease : The Role of Inflammation Inflammation and Cancer." <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00079.2004>.
- Jantas, Roman, Zbigniew Draczyński, Lucyna Herczyńska, and Dawid Stawski. 2012. "Poly (Vinyl Alcohol) -Salicylic Acid Conjugate : Synthesis and Characterization" 2 (5): 79–84. <https://doi.org/10.5923/j.ajps.20120205.01>.
- John, Renu, Robabeh Rezaeipoor, Steven G Adie, Eric J Chaney, Amy L Oldenburg, and Marina Marjanovic. 2010. "In Vivo Magnetomotive Optical Molecular Imaging Using Targeted Magnetic Nanoprobes." <https://doi.org/10.1073/pnas.0913679107>.
- Kabanov, Alexander V, and Serguei V Vinogradov. 2009. "Nanogels as Pharmaceutical Carriers : Finite Networks of Infinite Capabilities Angewandte," 5418–29. <https://doi.org/10.1002/anie.200900441>.
- Kook, Byung, Yeon Hee, and Kinam Park. 2015. "Smart Nanoparticles for Drug Delivery : Boundaries and Opportunities." *Chemical Engineering Science* 125: 158–64. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2014.06.042>.
- LANGER, ROBERT, and JUDAH FOLKMAN. 1976. "Polymers for the Sustained Release of Proteins and Other Macromolecules." *Nature* 263: 797–800.

Lee, Byung Kook, Yeon Hee Yun, and Kinam Park. 2014. "Author ' s
Accepted Manuscript." *Chemical Engineering Science*.
<https://doi.org/10.1016/j.ces.2014.06.042>.

Magaña Badilla, Hector, Kenia Palomino Vizcaino, Jose manuel Cornejo
Braco, Luis Gomez Diaz, Angel Concheiro, Edgar Zavala Lagunes,
Carmen Alvarez lorenzo, and Emilio Bucio. 2016. "Polymeric Prodrug-
Functionalized Polypropylene Films for Sustained Release of Salicylic
Acid." *International Journal of Pharmaceutics*.
<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.07.044>.

Melaiye, Abdulkareem, Wiley J Youngs, Abdulkareem Melaiye, and Wiley J
Youngs. 2005. "Silver and Its Application as an Antimicrobial Agent."
Expert Opinion on Therapeutic Patents 3776.
<https://doi.org/10.1517/13543776.15.2.125>.

Mishra, Munmaya. 2015. "Handbook of Encapsulation and Controlled
Release." *CRC Press Taylor and Francis Group* chapter 54: 1287–90.

Mohamed, Aezeden, and Malcolm Mengqiu Xing. 2012. "Nanomaterials
and Nanotechnology for Skin Tissue Engineering." *International
Journal of Burns and Trauma* 2 (1): 29–41.
[http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3415966&to
ol=pmcentrez&rendertype=abstract](http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3415966&tool=pmcentrez&rendertype=abstract).

Nair, Hareesh B, Bokyoung Sung, Vivek R Yadav, Ramaswamy
Kannappan, Madan M Chaturvedi, and Bharat B Aggarwal. 2010.

“Delivery of Antiinflammatory Nutraceuticals by Nanoparticles for the Prevention and Treatment of Cancer.” *Biochemical Pharmacology* 80 (12): 1833–43. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2010.07.021>.

Nikam, Aarti P, Mukesh P Ratnaparkhiand, and Shilpa P Chaudhari. 2014. “Nanoparticles - An Overview.” *International Journal of Research and Development in Pharmacy and Life Sciences* 3 (5): 1121–27.

Nixon, Mark, Deborah J Wake, Dawn E Livingstone, Roland H Stimson, Cristina L Esteves, Jonathan R Seckl, Karen E Chapman, Ruth Andrew, and Brian R Walker. 2012. “Salicylate Downregulates 11 b - HSD1 Expression in Adipose Tissue in Obese Mice and in Humans, Mediating Insulin Sensitization.” *Diabetes* 61: 790–96. <https://doi.org/10.2337/db11-0931>.

Owens, Donald E, and Nicholas A Peppas. 2006. “Of Polymeric Nanoparticles” 307: 93–102. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2005.10.010>.

Raghavan, R P, D W Laight, and M H Cummings. 2014. “Aspirin in Type 2 Diabetes , a Randomised Controlled Study : Effect of Different Doses on Inflammation , Oxidative Stress , Insulin Resistance and Endothelial Function.” *The International Journal of Clinical Practice* 68: 271–77. <https://doi.org/10.1111/ijcp.12310>.

Retif, Paul, Sophie Pinel, Magali Toussaint, Céline Frochot, and Rima Chouikrat. 2015. “T h e r a n o s t i c s Nanoparticles for Radiation

Therapy Enhancement : The Key Parameters” 5 (9).

<https://doi.org/10.7150/thno.11642>.

Riehemann, Kristina, Stefan W Schneider, Thomas A Luger, Biana Godin, Mauro Ferrari, and Harald Fuchs. 2009. “Diagnostics and Drug Delivery Nanomedicine — Challenge and Perspectives Angewandte,” 872–97. <https://doi.org/10.1002/anie.200802585>.

Sahoo, Sanjeeb K, and Vinod Labhasetwar. 2003. “Nanotech Approaches to Drug Delivery and Imaging” 8 (24): 1112–20.

Sasaki, Yoshihiro, and Kazunari Akiyoshi. 2010. “Nanogel Engineering for New Nanobiomaterials : From Chaperoning Engineering to Biomedical Applications” 10: 366–76. <https://doi.org/10.1002/tcr.201000008>.

Schmeltzer, Robert C, Theodore J Anastasiou, and Kathryn E Uhrich. 2013. “NIH Public Access” 49 (6): 441–48. <https://doi.org/10.1007/s00289-003-0123-6>.Optimized.

Schmeltzer, Robert C, Kristine E Schmalenberg, and Kathryn E Uhrich. 2005. “Synthesis and Cytotoxicity of Salicylate-Based Poly (Anhydride Esters),” 359–67.

Serrano-Medina, A., J. M. Cornejo-Bravo, and A. Licea-Claveríe. 2012. “Synthesis of PH and Temperature Sensitive, Core-Shell Nano/Microgels, by One Pot, Soap-Free Emulsion Polymerization.” *Journal of Colloid and Interface Science* 369 (1): 82–90.

<https://doi.org/10.1016/j.jcis.2011.12.045>.

Sheikh, Zeeshan, Nader Hamdan, Yuichi Ikeda, Marc Grynpas, Bernhard Ganss, and Michael Glogauer. 2017. "Natural Graft Tissues and Synthetic Biomaterials for Periodontal and Alveolar Bone Reconstructive Applications: A Review." *Biomaterials Research* 21 (1): 1–20. <https://doi.org/10.1186/s40824-017-0095-5>.

Shoelson, Steven E, Jongsoon Lee, and Allison B Goldfine. 2006. "Inflammation and Insulin Resistance." *The Journal of Clinical Investigation* 116 (7): 1793–1801. <https://doi.org/10.1172/JCI29069>.

Sultana, Farhana, Mohammad Arafat, and Sanjida Sharmin. 2013. "An Overview of Nanogel Drug Delivery System" 3: 95–105. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2013.38.S15>.

Tang, Shengzhuang, Stephen M June, Bob A Howell, and Minghui Chai. 2006. "Synthesis of Salicylate Dendritic Prodrugs" 47 (August): 7671–75. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2006.08.110>.

Torchilin, Vladimir P. 2014. "Nanoparticulate Systems for Drug Delivery." *Nature Publishing Group*, no. October. <https://doi.org/10.1038/nrd4333>.

Ventola, C Lee. 2012. "The Nanomedicine Revolution Part 1 : Emerging Concepts" 37 (9): 512–18.

Vert, Michel, Yoshiharu Doi, Karl-heinz Hellwich, Michael Hess, Philip

Hodge, Przemyslaw Kubisa, Marguerite Rinaudo, and François Schué. 2012. "Terminology for Biorelated Polymers and Applications (IUPAC Recommendations 2012)" 84 (2): 377–410.

Wada, Keisuke, Weiling Yu, Mohamad Elazizi, Sandrine Barakat, Michelle A Ouimet, Roselin Rosario-meléndez, Joseph P Fiorellini, Dana T Graves, and Kathryn E Uhrich. 2013. "Locally Delivered Salicylic Acid from a Poly (Anhydride-Ester): Impact on Diabetic Bone Regeneration." *Journal of Controlled Release* 171 (1): 33–37.
<https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2013.06.024>.

Wagner, Volker, Anwyn Dullaart, Anne-katrin Bock, and Axel Zweck. 2006. "The Emerging Nanomedicine Landscape" 24 (10): 1211–17.

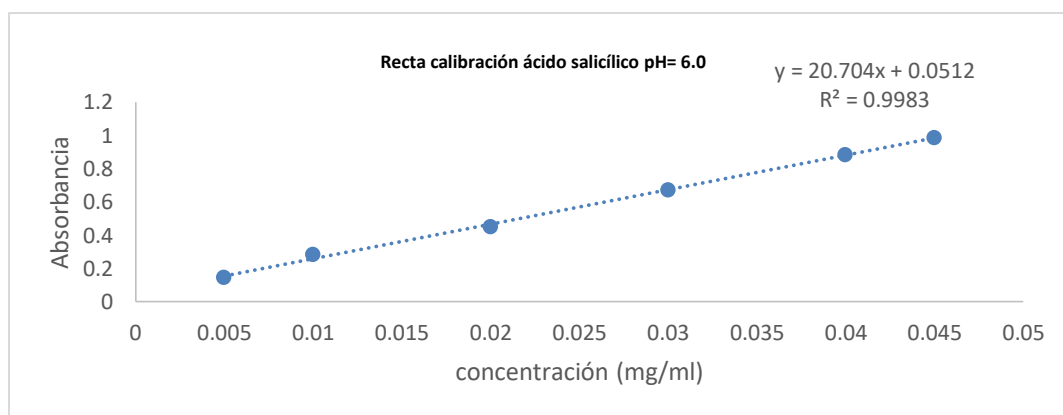
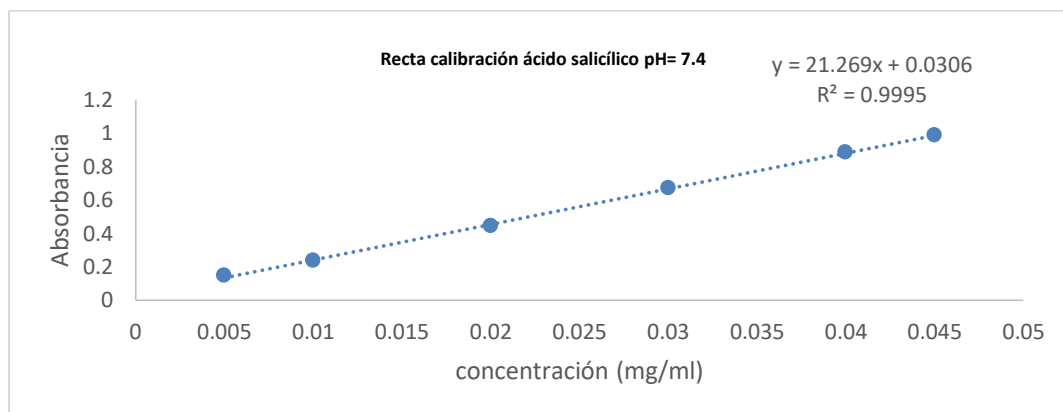
Walling, Maureen A, Jennifer A Novak, and Jason R E Shepard. 2009. "Quantum Dots for Live Cell and In Vivo Imaging," 441–91.
<https://doi.org/10.3390/ijms10020441>.

Yamazaki, Ryuta, Natsuko Kusunoki, and Takeshi Matsuzaki. 2002. "Aspirin and Sodium Salicylate Inhibit Proliferation and Induce Apoptosis in Rheumatoid Synovial Cells," 1675–79.
<https://doi.org/10.1211/002235702261>.

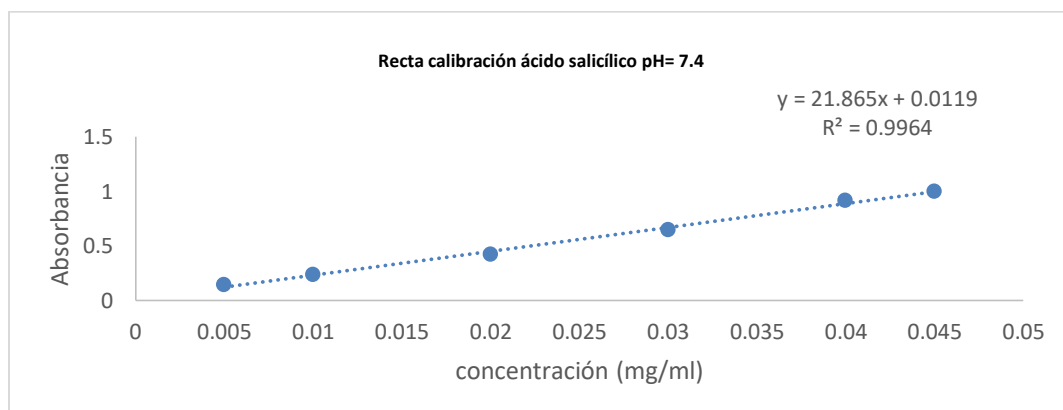
CAPITULO VII.

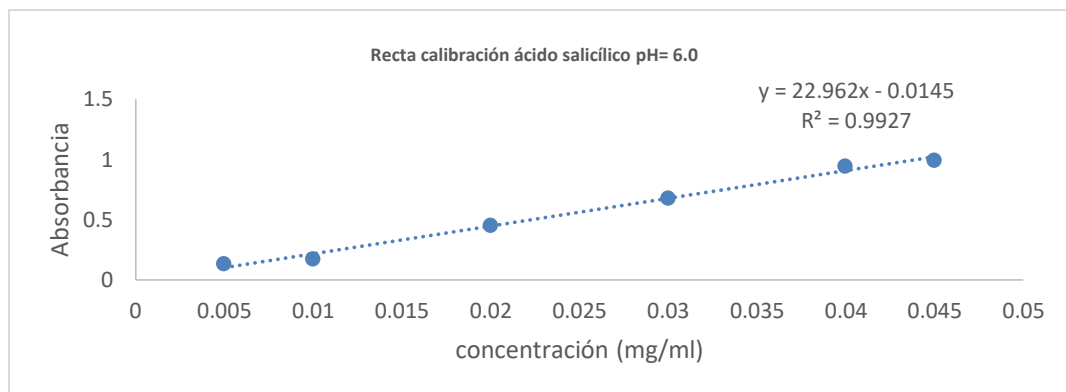
ANEXOS

Anexo 1. Rectas de calibración para cuantificación de ácido salicílico a pH 7.4 y 6.0, para Liberación de nanogeles PEGMA:MAOB (60:40)/EDGMA_{3%mol}

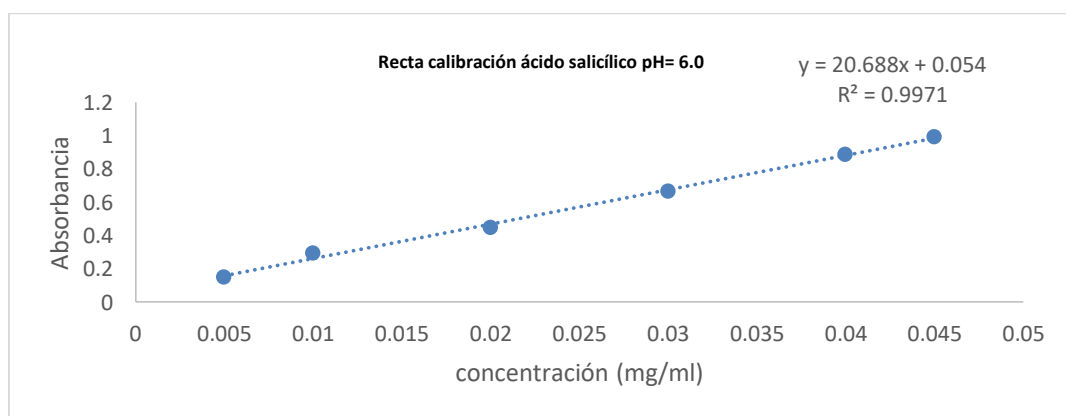
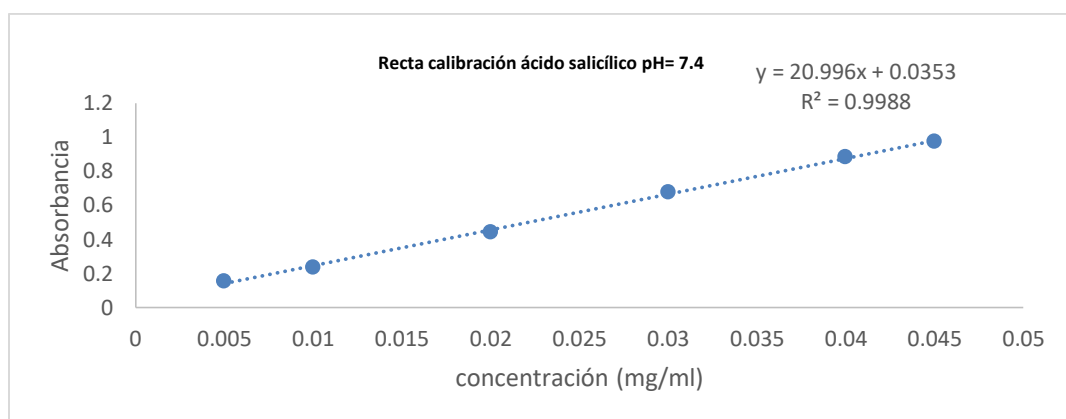


Anexo 2. Rectas de calibración para cuantificación de ácido salicílico a pH 7.4 y 6.0, para Liberación de nanogeles PEGMA:MAOB (60:40)/DVA_{3%mol}

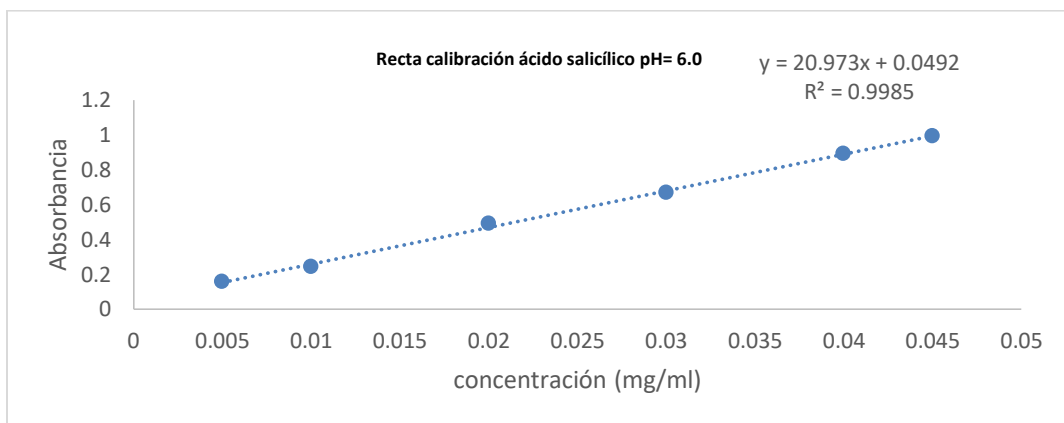
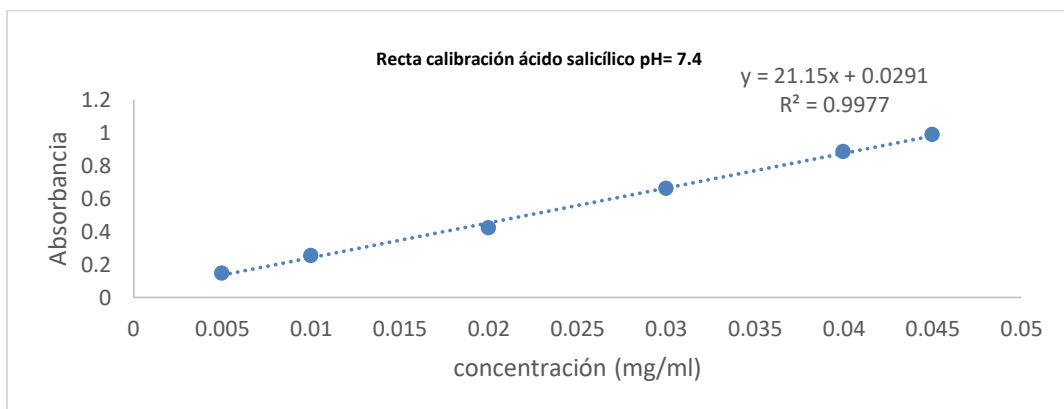




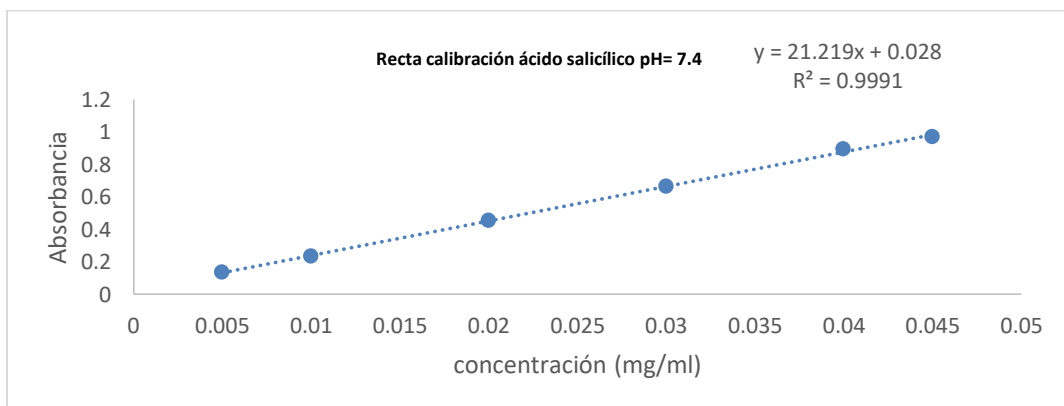
Anexo 3. Rectas de calibración para cuantificación de ácido salicílico a pH 7.4 y 6.0, para Liberación de nanogeles PEGMA:MAOB (60:40)/EDGMA_{5%mol}

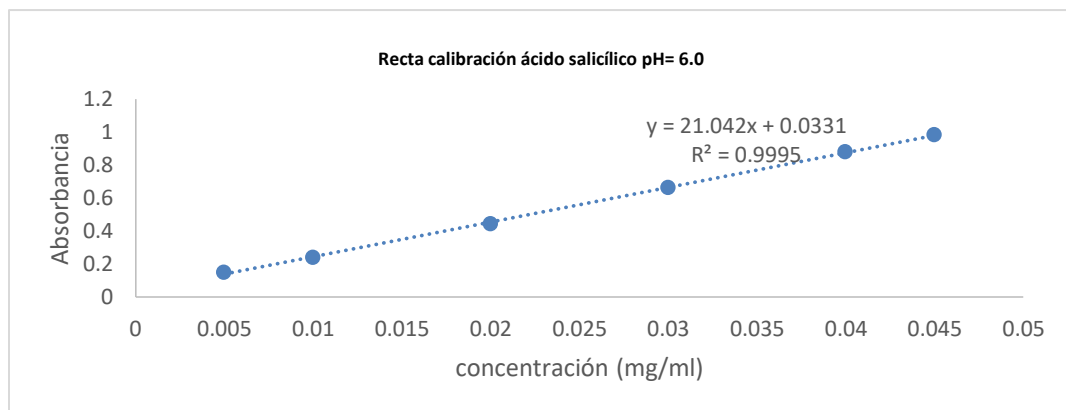


Anexo 4. Rectas de calibración para cuantificación de ácido salicílico a pH 7.4 y 6.0, para Liberación de nanogeles PEGMA:MAOB (60:40)/DVA_{5%mol}

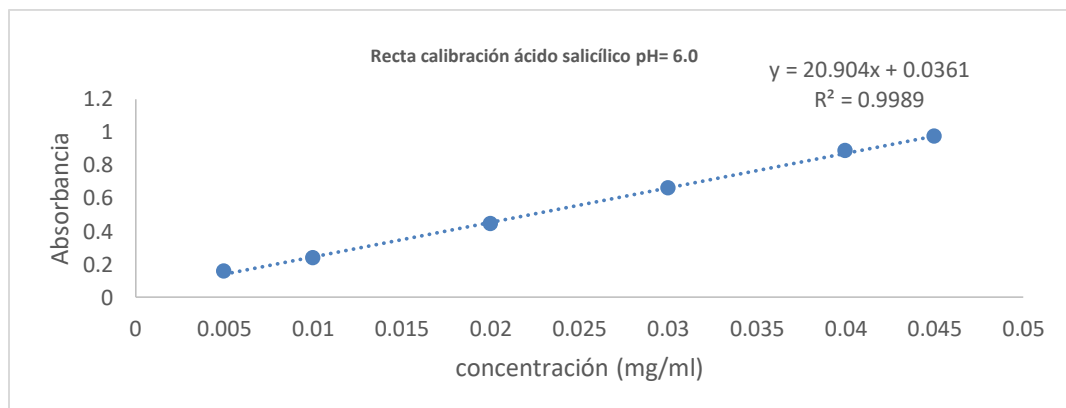
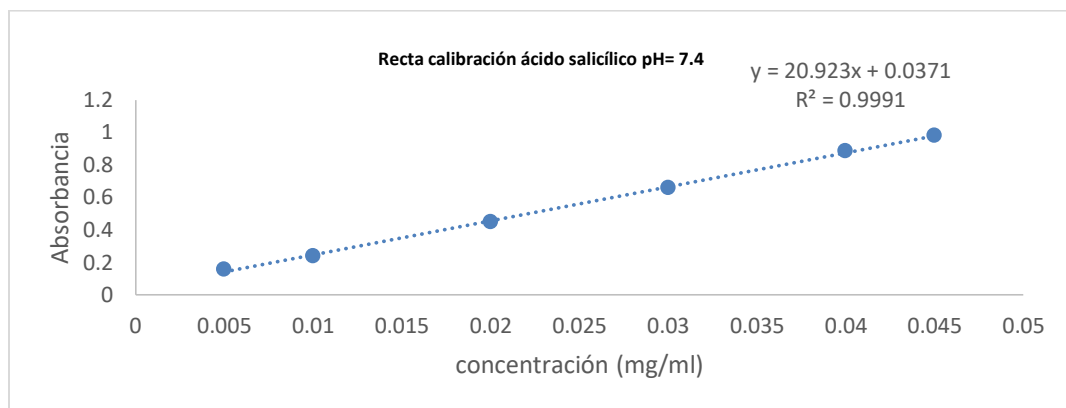


Anexo 5. Rectas de calibración para cuantificación de ácido salicílico a pH 7.4 y 6.0, para Liberación de nanogeles PEGMA:MAOB (70:30)/EGDMA_{3%mol}

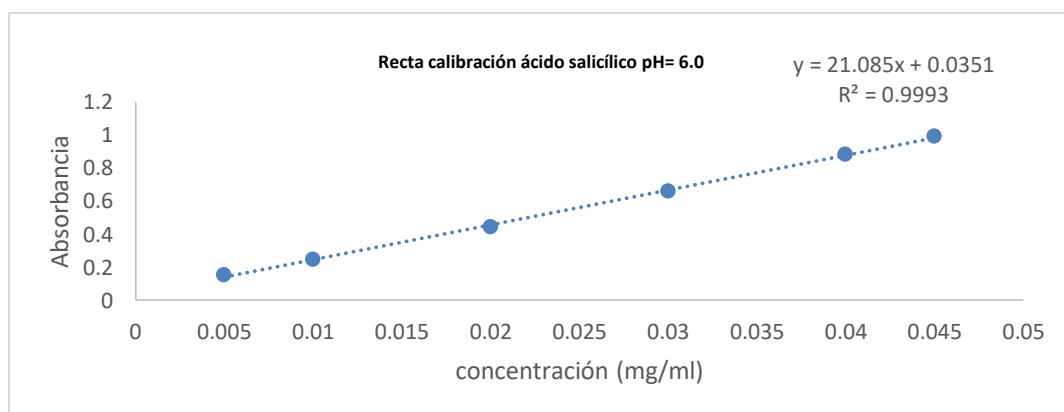
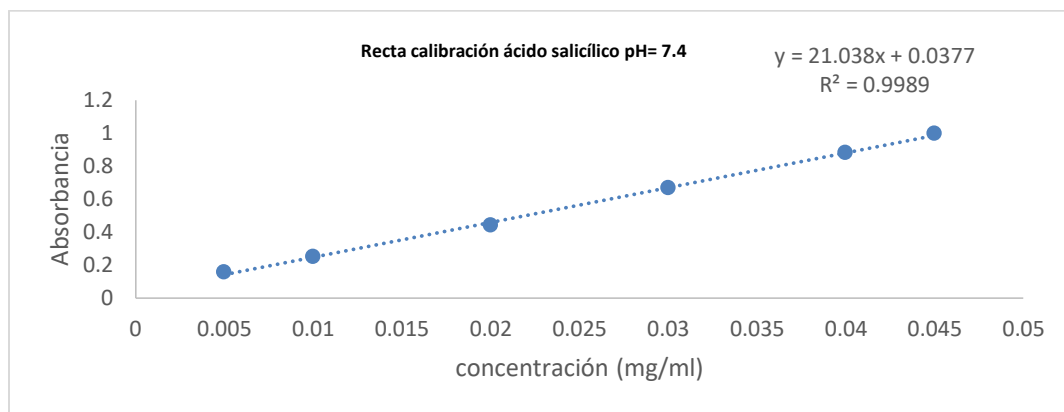




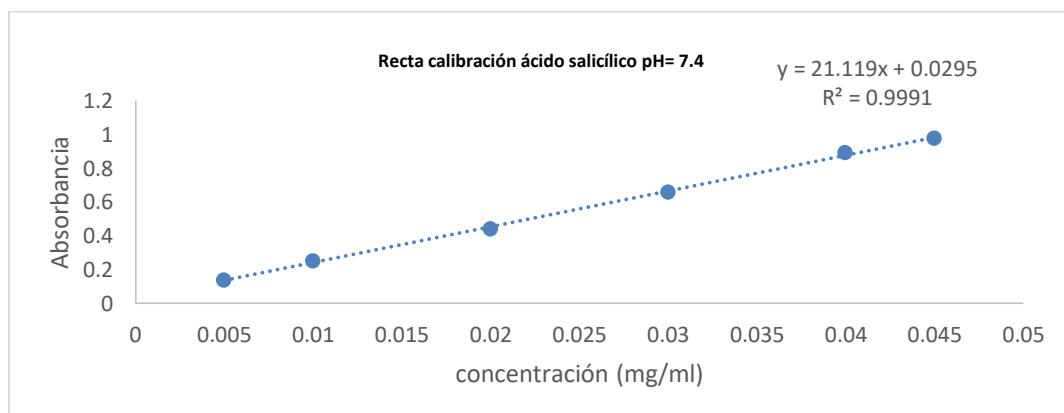
Anexo 6. Rectas de calibración para cuantificación de ácido salicílico a pH 7.4 y 6.0, para Liberación de nanogeles PEGMA:MAOB (70:30)/DVA_{3%mol}

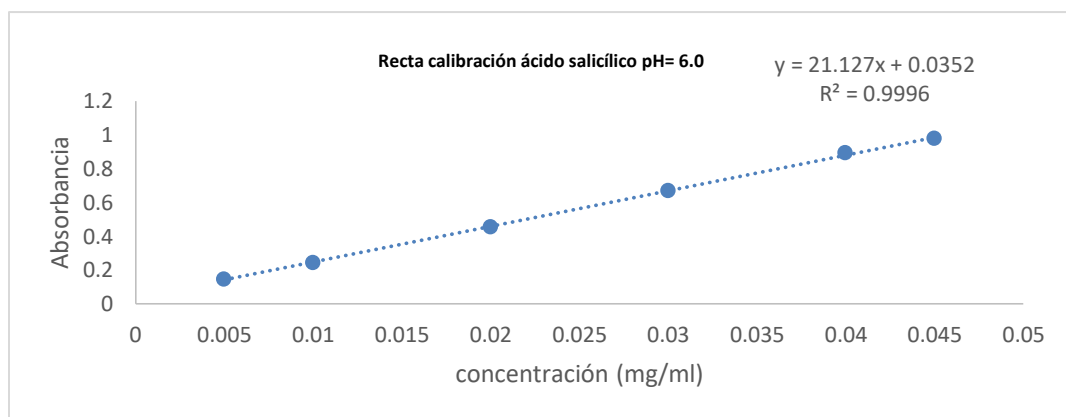


Anexo 7. Rectas de calibración para cuantificación de ácido salicílico a pH 7.4 y 6.0, para Liberación de nanogeles PEGMA:MAOB (70:30)/EGDMA_{5%mol}

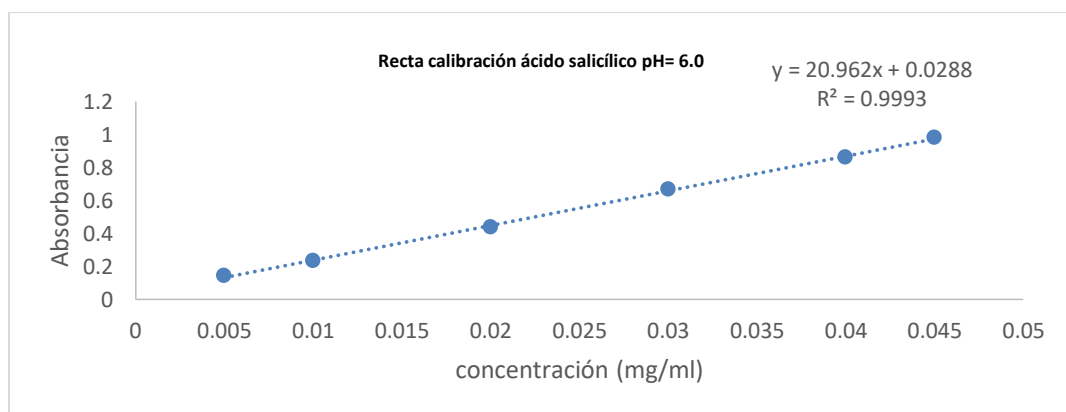
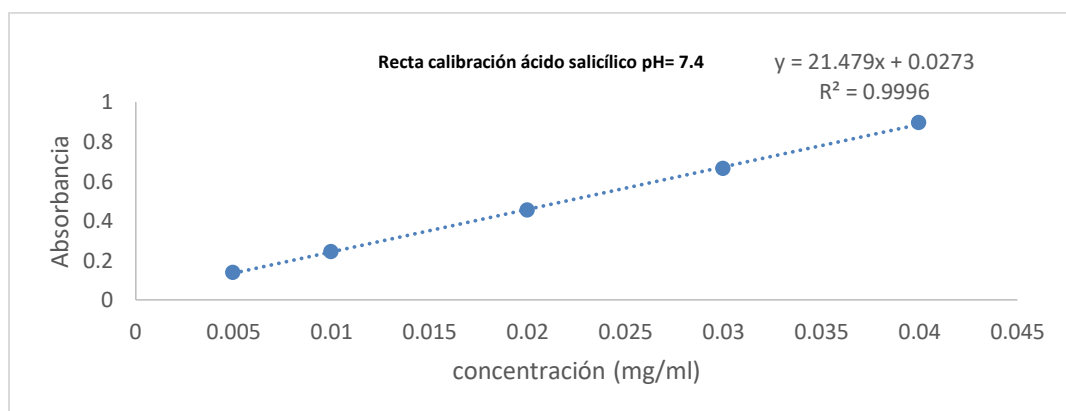


Anexo 8. Rectas de calibración para cuantificación de ácido salicílico a pH 7.4 y 6.0, para Liberación de nanogeles PEGMA:MAOB (70:30)/DVA_{5%mol}

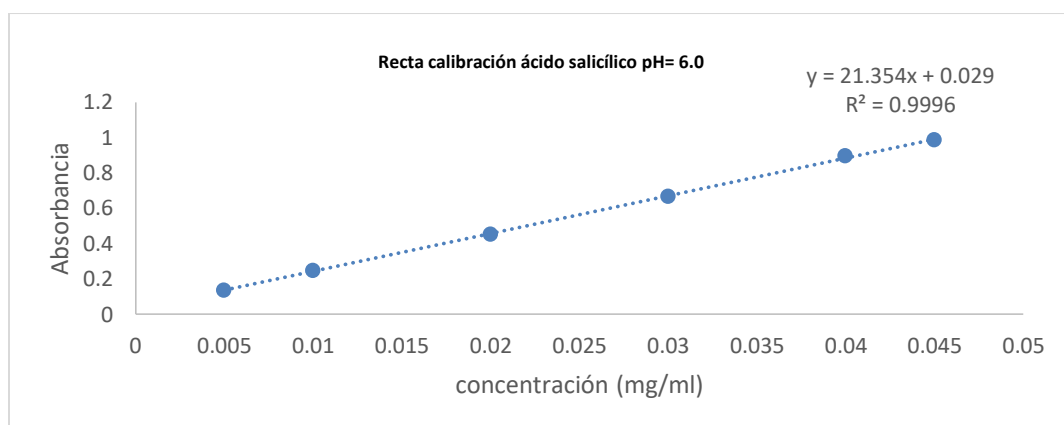
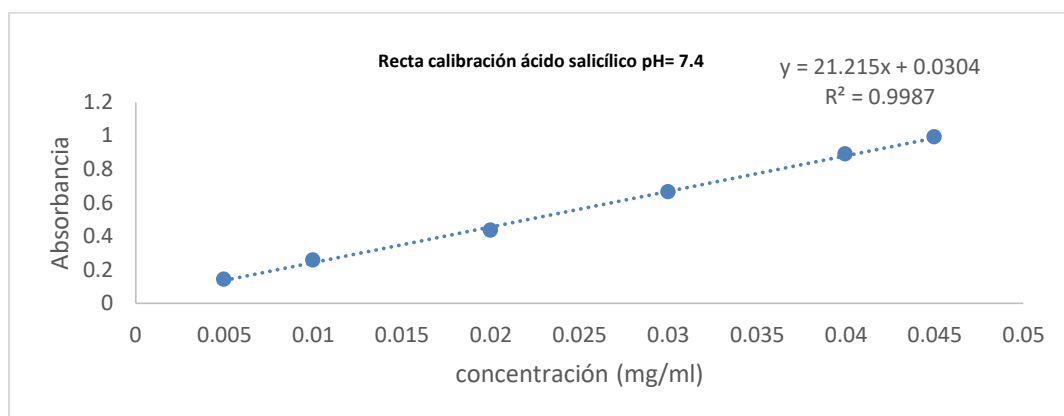




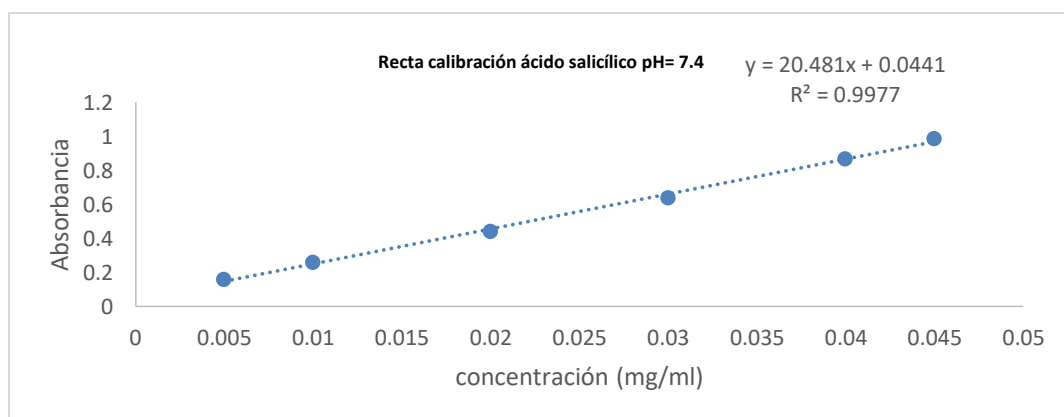
Anexo 9. Rectas de calibración para cuantificación de ácido salicílico a pH 7.4 y 6.0, para Liberación de nanogeles PEGMA:MAOB (80:20)/EGDMA_{3%mol}

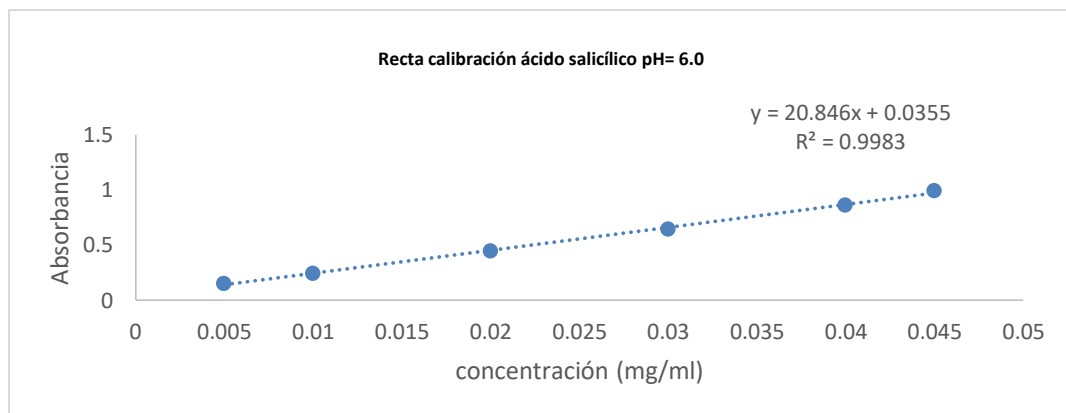


Anexo 10. Rectas de calibración para cuantificación de ácido salicílico a pH 7.4 y 6.0, para Liberación de nanogeles PEGMA:MAOB (80:20)/DVA_{3%mol}

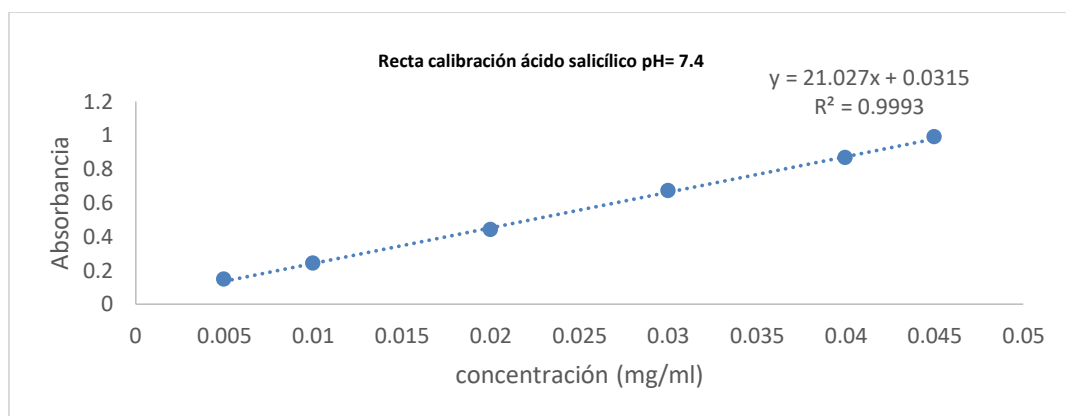
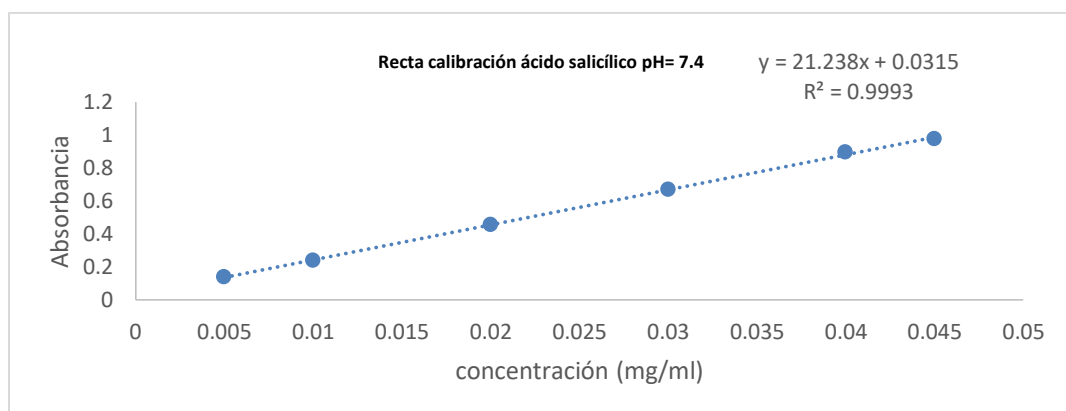


Anexo 11. Rectas de calibración para cuantificación de ácido salicílico a pH 7.4 y 6.0, para Liberación de nanogeles PEGMA:MAOB (80:20)/EGDMA_{5%mol}





Anexo 12. Rectas de calibración para cuantificación de ácido salicílico a pH 7.4 y 6.0, para Liberación de nanogeles PEGMA:MAOB (80:20)/DVA_{5%mol}



Anexo 13. Análisis para cuantificar la liberación de ácido salicílico, pH 7.4 a 37 °C, para Liberación de nanogeles PEGMA:MAOB (60:40)/EDGMA_{3%mol}.

Tiempo	ABS	ABS	concentración	Peso W (mg) alícuota (5 ml)	Peso W (mg) Medio 50 ml	Peso W(mg) extraído	Fracción libre
Horas	lectura	muestra diluida (1:2)	(mg/ml), $x=ABS-b/m$				
2	0.171	-	0.009478602	0.047393008	0.52132309	0.52132309	0.1064546
4	0.201	-	0.01088909	0.054445449	0.59889994	0.64629295	0.13197355
6	0.206	-	0.011124171	0.055620856	0.61182942	0.71366787	0.14573157
8	0.25	-	0.013192887	0.065964436	0.7256088	0.88306811	0.18032324
10	0.302	-	0.015637734	0.078188668	0.86007535	1.0834991	0.22125141
12	0.362	-	0.01845871	0.09229355	1.01522905	1.31684147	0.26890012
24	0.793	-	0.038722725	0.193613623	2.12974985	2.52365582	0.5153326
48	1.219	0.615	0.060707655	0.303538276	3.33892104	3.92644063	0.80178242
72	1.389	0.744	0.072837854	0.364189271	4.00608198	4.89713984	

Anexo 14. Análisis para cuantificar la liberación de ácido salicílico, pH 6.0 a 37 °C, para Liberación de nanogeles PEGMA:MAOB (60:40)/EDGMA_{3%mol}.

Tiempo	ABS	ABS	concentración	Peso W (mg) alícuota (5 ml)	Peso W (mg) Medio 50 ml	Peso W(mg) extraído	Fracción libre
Horas	lectura	muestra diluida (1:2)	(mg/ml), $x=ABS-b/m$				
2	0.678	0.204	0.036984024	0.184920119	2.03412131	2.03412131	0.19003064
4	0.778	0.25	0.043649452	0.21824726	2.40071986	2.58563998	0.24155434
6	0.873	0.311	0.052488389	0.262441947	2.88686142	3.29002879	0.30735939
8	1.334	0.325	0.054516998	0.27258499	2.99843489	3.66404421	0.34230047
10	1.265	0.256	0.044518856	0.222594278	2.44853706	3.38673138	0.31639349
12	1.291	0.268	0.046257663	0.231288315	2.54417147	3.70496006	0.34612289
24	1.587	0.509	0.081178711	0.405893554	4.46482909	5.856906	0.54716089
48	1.951	0.887	0.135951142	0.679755712	7.47731284	9.2752833	0.86651079
72	2.151	0.981	0.1495718	0.747859001	8.22644901	10.7041752	

Anexo 15. Análisis para cuantificar la liberación de ácido salicílico, pH 7.4 a 37 °C, para Liberación de nanogeles PEGMA:MAOB (60:40)/DVA_{3%mol}.

Tiempo	ABS	ABS	concentración	Peso W (mg) alícuota (5 ml)	Peso W (mg) Medio 50 ml	Peso W(mg) extraído	Fracción libre
Horas	lectura	muestra diluida (1:2)	(mg/ml), $x=ABS-b/m$				
2	0.425	0.226	0.021757256	0.10878628	1.19664908	1.19664908	0.18314701
4	0.552	0.301	0.028617414	0.143087071	1.57395778	1.68274406	0.2575438
6	0.615	0.303	0.028800352	0.144001759	1.58401935	1.8358927	0.28098318
8	0.67	0.325	0.030812665	0.154063325	1.69469657	2.09057168	0.31996177
10	0.705	0.348	0.032916447	0.164582234	1.81040457	2.36034301	0.36125024
12	0.73	0.362	0.03419701	0.170985048	1.88083553	2.5953562	0.39721899
24	1.016	0.508	0.047551451	0.237757256	2.61532982	3.50083553	0.5358025
48	1.519	0.776	0.072065084	0.360325418	3.9635796	5.08684257	0.77854071
72	1.94	0.992	0.091822339	0.459111697	5.05022867	6.53381706	

Anexo 16. Análisis para cuantificar la liberación de ácido salicílico, pH 6.0 a 37 °C, para Liberación de nanogeles PEGMA:MAOB (60:40)/DVA_{3%mol}.

Tiempo	ABS	ABS	ABS	concentración	Peso W (mg) alícuota (5 ml)	Peso W (mg) Medio 50 ml	Peso W(mg) extraído	Fracción libre
Horas	lectura	muestra diluida (1:2)	muestra diluida (1:3)	(mg/ml), $x=ABS-b/m$				
2	0.292	-	-	0.012083752	0.06041876	0.66460637	0.66460637	0.07716754
4	0.484	-	-	0.020445561	0.102227806	1.12450586	1.18492462	0.13758176
6	0.552	-	-	0.023407035	0.117035176	1.28738693	1.4500335	0.16836359
8	0.655	-	-	0.027892797	0.139463987	1.53410385	1.81378559	0.21059889
10	0.736	-	-	0.031420436	0.157102178	1.72812395	2.14726968	0.24931977
12	0.822	-	-	0.035165829	0.175829146	1.9341206	2.51036851	0.29147923
24	1.396	0.844	-	0.072247906	0.361239531	3.97363484	4.72571189	0.54870305
48	2.156	1.283	0.929	0.119477387	0.597386935	6.57125628	7.68457286	0.8922568
72	2.311	1.688	0.975	0.125487437	0.627437186	6.90180905	8.61251256	

Anexo 17. Análisis para cuantificar la liberación de ácido salicílico, pH 7.4 a 37 °C, para Liberación de nanogeles PEGMA:MAOB (60:40)/EDGMA_{5%mol}.

Tiempo	ABS	ABS	concentración	Peso W (mg) alícuota (5 ml)	Peso W (mg) Medio 50 ml	Peso W(mg) extraído	Fracción libre
Horas	Lectura	muestra diluida (1:2)	(mg/ml), $x=ABS-b/m$				
2	0.163	-	0.009442816	0.047214081	0.51935489	0.51935489	0.11031233
4	0.215	-	0.01191946	0.059597301	0.65557031	0.70278439	0.14927323
6	0.226	-	0.012443366	0.062216828	0.68438511	0.7911965	0.16805219
8	0.268	-	0.014443732	0.07221866	0.79440526	0.96343347	0.20463578
10	0.312	-	0.016539354	0.08269677	0.90966447	1.15091134	0.24445656
12	0.382	-	0.019873298	0.09936649	1.09303139	1.41697503	0.30096918
24	0.783	-	0.038972034	0.19486017	2.14346187	2.566772	0.54518905
48	1.302	0.673	0.067465958	0.337329792	3.71062771	4.32879801	0.91944796
72	1.357	0.681	0.068228003	0.341140013	3.75254015	4.70804024	

Anexo 18. Análisis para cuantificar la liberación de ácido salicílico, pH 6.0 a 37 °C, para Liberación de nanogeles PEGMA:MAOB (60:40)/EDGMA_{5%mol}.

Tiempo	ABS	ABS	concentración	Peso W (mg) alícuota (5 ml)	Peso W (mg) Medio 50 ml	Peso W(mg) extraído	Fracción libre
Horas	lectura	muestra diluida (1:2)	(mg/ml), $x=ABS-b/m$				
2	0.654	-	0.034219805	0.171099027	1.8820893	1.8820893	0.26277571
4	0.774	-	0.04002014	0.2001007	2.2011077	2.37220673	0.33120549
6	0.883	-	0.045288777	0.226443887	2.49088275	2.86208248	0.39960153
8	0.944	-	0.048237281	0.241186404	2.65305044	3.25069406	0.45385915
10	0.884	-	0.045337113	0.226685567	2.49354124	3.33237126	0.46526285
12	0.864	-	0.044370391	0.221851955	2.44037151	3.50588709	0.48948898
24	1.264	0.784	0.081007003	0.405035013	4.45538514	5.74275268	0.80179826
48	1.493	0.857	0.088064076	0.440320382	4.8435242	6.53592675	0.91254055
72	1.537	0.892	0.091447605	0.457238024	5.02961827	7.1623412	

Anexo 19. Análisis para cuantificar la liberación de ácido salicílico, pH 7.4 a 37 °C, para Liberación de nanogeles PEGMA:MAOB (60:40)/DVA_{5%mol}.

Tiempo	ABS	ABS	concentración	Peso W (mg) alícuota (5 ml)	Peso W (mg) Medio 50 ml	Peso W(mg) extraído	Fracción libre
Horas	lectura	muestra diluida (1:2)	(mg/ml), $x=ABS-b/m$				
2	1.11	0.38	0.038684003	0.193420016	2.12762017	2.12762017	0.44200971
4	1.129	0.382	0.038873128	0.194365642	2.13802206	2.33144208	0.48435339
6	1.065	0.356	0.0364145	0.182072498	2.00279748	2.39058314	0.49663985
8	1.124	0.379	0.038589441	0.192947203	2.12241923	2.69227738	0.55931635
10	1.05	0.36	0.03679275	0.183963751	2.02360126	2.78640662	0.57887154
12	1.43	0.495	0.049558708	0.247793538	2.72572892	3.67249803	0.76295563
24	1.478	0.499	0.049936958	0.249684791	2.7465327	3.94109535	0.81875629
48	1.628	0.562	0.055894405	0.279472025	3.07419228	4.51843972	0.93869867
72	1.664	0.565	0.056178093	0.280890465	3.08979511	4.81351458	

Anexo 20. Análisis para cuantificar la liberación de ácido salicílico, pH 6.0 a 37 °C, para Liberación de nanogeles PEGMA:MAOB (60:40)/DVA_{5%mol}.

Tiempo	ABS	ABS	concentración	Peso W (mg) alícuota (5 ml)	Peso W (mg) Medio 50 ml	Peso W(mg) extraído	Fracción libre
Horas	lectura	muestra diluida (1:2)	(mg/ml), $x=ABS-b/m$				
2	1.081	0.533	0.05551623	0.277581148	3.05339263	3.05339263	0.5234818
4	1.121	0.589	0.060856409	0.304282047	3.34710251	3.62468366	0.62142546
6	1.079	0.526	0.054848707	0.274243536	3.01667889	3.59854209	0.61694368
8	1.025	0.505	0.05284614	0.264230699	2.90653769	3.76264442	0.64507782
10	0.973	0.495	0.051892536	0.259462681	2.85408949	3.97442692	0.68138638
12	0.917	0.447	0.047315239	0.236576197	2.60233816	3.98213827	0.68270844
24	0.978	0.494	0.051797176	0.258985879	2.84884467	4.46522098	0.76552943
48	1.07	0.549	0.057041995	0.285209976	3.13730974	5.01267192	0.85938588
72	1.277	0.651	0.066768751	0.333843756	3.67228131	5.83285348	

Anexo 21. Análisis para cuantificar la liberación de ácido salicílico, pH 7.4 a 37 °C, para Liberación de nanogeles PEGMA:MAOB (70:30)/EDGMA_{3%mol}.

Tiempo	ABS	concentración	Peso W (mg) alícuota (5 ml)	Peso W (mg) Medio 50 ml	Peso W(mg) extraído	Fracción libre
Horas	lectura	(mg/ml), $x=ABS-b/m$				
2	0.24	0.012630959	0.063154794	0.69470274	0.69470274	0.29439824
4	0.251	0.013149357	0.065746783	0.72321461	0.7863694	0.33324436
6	0.269	0.013997644	0.069988218	0.7698704	0.89877198	0.38087785
8	0.272	0.014139025	0.070695124	0.77764637	0.97653616	0.41383244
10	0.275	0.014280406	0.07140203	0.78542233	1.05500725	0.44708659
12	0.31	0.015929853	0.079649266	0.87614192	1.21712887	0.51578982
24	0.33	0.016872394	0.084361972	0.92798169	1.34861791	0.57151169
48	0.517	0.025685155	0.128425775	1.41268352	1.91768171	0.81266719
72	0.638	0.031387529	0.156937647	1.72631412	2.35973808	

Anexo 22. Análisis para cuantificar la liberación de ácido salicílico, pH 6.0 a 37 °C, para Liberación de nanogeles PEGMA:MAOB (70:30)/EDGMA_{3%mol}.

Tiempo	ABS	concentración	Peso W (mg) alícuota (5 ml)	Peso W (mg) Medio 50 ml	Peso W(mg) extraído	Fracción libre
Horas	lectura	(mg/ml), $x=ABS-b/m$				
2	0.106	0.006610918	0.033054591	0.3636005	0.3636005	0.24905292
4	0.145	0.008464327	0.042321635	0.46553799	0.49859258	0.34151751
6	0.158	0.00908213	0.04541065	0.49951715	0.57489338	0.39378075
8	0.202	0.011173155	0.055865777	0.61452355	0.73531042	0.5036605
10	0.242	0.013074088	0.065370438	0.71907482	0.89572747	0.61354026
12	0.306	0.016115579	0.080577896	0.88635685	1.12837994	0.77289861
24	0.467	0.023766831	0.118834156	1.30717571	1.6297767	1.11633689
48	0.237	0.012836471	0.064182355	0.70600591	1.14744105	0.78595477
72	0.332	0.017351185	0.086755925	0.95431518	1.45993268	

Anexo 23. Análisis para cuantificar la liberación de ácido salicílico, pH 7.4 a 37 °C, para Liberación de nanogeles PEGMA:MAOB (70:30)/DVA_{3%mol}.

Tiempo	ABS	ABS	concentración	Peso W (mg) alícuota (5 ml)	Peso W (mg) Medio 50 ml	Peso W(mg) extraído	Fracción libre
Horas	lectura	muestra diluida (1:2)	(mg/ml), x=ABS- b/m				
2	0.938	0.457	0.047229167	0.236145833	2.59760417	2.59760417	0.97036237
4	1.017	0.511	0.052390931	0.261954657	2.88150123	3.11764706	1.16462986
6	1.06	0.535	0.054685049	0.273425245	3.0076777	3.50577819	1.30962033
8	0.177	-	0.01023223	0.051161152	0.56277267	1.33429841	0.49844121
10	0.148	-	0.008846201	0.044231005	0.48654105	1.30922794	0.48907587
12	0.172	-	0.00999326	0.049966299	0.54962929	1.41654718	0.5291661
24	0.227	-	0.012621936	0.063109681	0.6942065	1.61109069	0.60183988
48	0.573	-	0.029158701	0.145793505	1.60372855	2.58372243	0.9651767
72	0.553	-	0.028202819	0.141014093	1.55115502	2.6769424	

Anexo 24. Análisis para cuantificar la liberación de ácido salicílico, pH 6.0 a 37 °C, para Liberación de nanogeles PEGMA:MAOB (70:30)/DVA_{3%mol}.

Tiempo	ABS	ABS	concentración	Peso W (mg) alícuota (5 ml)	Peso W (mg) Medio 50 ml	Peso W(mg) extraído	Fracción libre
Horas	lectura	muestra diluida (1:2)	(mg/ml), x=ABS-b/m				
2	0.924	0.466	0.048036185	0.240180926	2.64199019	2.64199019	0.32514955
4	0.994	0.492	0.050523766	0.252618829	2.77880711	3.01898804	0.37154665
6	1.027	0.503	0.051576204	0.257881018	2.8366912	3.32949095	0.40976023
8	1.169	0.582	0.059134621	0.295673106	3.25240417	4.00308494	0.49265939
10	1.223	0.608	0.061622202	0.308111009	3.3892211	4.43557498	0.54588591
12	1.285	0.647	0.065353573	0.326767863	3.59444649	4.94891138	0.60906219
24	2.206	1.103	0.108981907	0.544909537	5.99400491	7.67523766	0.94459098
48	1.975	0.987	0.097883471	0.489417357	5.38359092	7.60973321	0.93652935
72	1.988	0.992	0.098361852	0.491809261	5.40990187	8.12546151	

Anexo 25. Análisis para cuantificar la liberación de ácido salicílico, pH 7.4 a 37 °C, para Liberación de nanogeles PEGMA:MAOB (70:30)/EGDMA_{5%mol}.

Tiempo	ABS	ABS	concentración	Peso W (mg) alícuota (5 ml)	Peso W (mg) Medio 50 ml	Peso W(mg) extraído	Fracción libre
Horas	lectura	muestra diluida (1:3)	(mg/ml), $x=ABS-b/m$				
2	0.82	0.28	0.030202316	0.151011578	1.66112736	1.66112736	0.33574041
4	0.93	0.298	0.031913467	0.159567337	1.75524071	1.90625229	0.38528408
6	0.983	0.313	0.033339427	0.166697136	1.83366849	2.14424741	0.43338671
8	0.98	0.31	0.033054235	0.165271176	1.81798294	2.29525899	0.46390856
10	0.996	0.323	0.034290067	0.171450335	1.88595369	2.52850091	0.51105049
12	1.01	0.331	0.035050579	0.175252895	1.92778184	2.7417794	0.55415748
24	1.159	0.39	0.040659354	0.406593541	2.23626447	3.22551493	0.65192817
48	1.491	0.508	0.051876904	0.259384522	2.85322974	4.24907374	0.85880578
72	1.696	0.592	0.059862279	0.299311395	3.29242535	4.94765387	

Anexo 26. Análisis para cuantificar la liberación de ácido salicílico, pH 6.0 a 37 °C, para Liberación de nanogeles PEGMA:MAOB (70:30)/EGDMA_{5%mol}.

Tiempo	ABS	ABS	concentración	Peso W (mg) alícuota (5 ml)	Peso W (mg) Medio 50 ml	Peso W(mg) extraído	Fracción libre
Horas	lectura	muestra diluida (1:2)	(mg/ml), $x=ABS-b/m$				
2	0.985	0.489	0.049709352	0.248546759	2.73401435	2.73401435	0.37190798
4	1.136	0.561	0.056538976	0.28269488	3.10964368	3.35819044	0.45681465
6	1.195	0.612	0.061376627	0.306883133	3.37571446	3.9069561	0.53146324
8	1.222	0.618	0.061945762	0.309728809	3.4070169	4.24514168	0.57746663
10	1.249	0.629	0.062989177	0.314945883	3.46440472	4.6122583	0.6274055
12	1.258	0.633	0.0633686	0.316843001	3.48527301	4.94807248	0.67308631
24	1.632	0.811	0.080252949	0.401264745	4.4139122	6.19355466	0.84250925
48	1.704	0.867	0.085564879	0.427824395	4.70606834	6.88697556	0.9368353
72	1.753	0.874	0.08622887	0.431144351	4.74258786	7.35131947	

Anexo 27. Análisis para cuantificar la liberación de ácido salicílico, pH 7.4 a 37 °C, para Liberación de nanogeles PEGMA:MAOB (70:30)/DVA_{5%mol}.

Tiempo	ABS	ABS	concentración	Peso W (mg) alícuota (5 ml)	Peso W (mg) Medio 50 ml	Peso W(mg) extraído	Fracción libre
Horas	lectura	muestra diluida (1:3)	(mg/ml), $x=ABS-b/m$				
2	0.872	0.288	0.045103806	0.225519031	2.48070934	2.48070934	0.36627106
4	1.055	0.347	0.053484793	0.267423966	2.94166363	3.16718266	0.46762728
6	1.054	0.356	0.054763249	0.273816245	3.01197869	3.50492169	0.51749367
8	1.058	0.358	0.05504735	0.275236751	3.02760426	3.7943635	0.56022909
10	1.034	0.352	0.054195046	0.270975232	2.98072755	4.02272355	0.59394593
12	1.1	0.359	0.055189401	0.275947004	3.03541705	4.34838827	0.64202958
24	1.298	0.431	0.065417046	0.32708523	3.59793753	5.18685576	0.76582739
48	1.541	0.522	0.078343653	0.391718266	4.30890093	6.22490439	0.9190929
72	1.548	0.542	0.081184666	0.405923329	4.46515662	6.77287835	

Anexo 28. Análisis para cuantificar la liberación de ácido salicílico, pH 6.0 a 37 °C, para Liberación de nanogeles PEGMA:MAOB (70:30)/DVA_{5%mol}.

Tiempo	ABS	ABS	concentración	Peso W (mg) alícuota (5 ml)	Peso W (mg) Medio 50 ml	Peso W(mg) extraído	Fracción libre
Horas	lectura	muestra diluida (1:3)	(mg/ml), $x=ABS-b/m$				
2	1.029	0.345	0.053982341	0.269911706	2.96902876	2.96902876	0.36171149
4	1.086	0.354	0.055260331	0.276301657	3.03931822	3.30922993	0.4031576
6	1.081	0.347	0.054266339	0.271331695	2.98464864	3.53086201	0.43015864
8	1.033	0.337	0.05284635	0.264231749	2.90654924	3.7240943	0.45369979
10	0.976	0.319	0.05029037	0.251451848	2.76597033	3.84774713	0.46876419
12	0.929	0.307	0.048586383	0.242931913	2.67225105	4.0054797	0.48798047
24	0.734	0.234	0.038220462	0.191102312	2.10212543	3.678286	0.44811904
48	1.234	0.422	0.064916257	0.324581285	3.57039414	5.33765702	0.65027726
72	1.484	0.748	0.111207901	0.556039505	6.11643455	8.20827872	

Anexo 29. Análisis para cuantificar la liberación de ácido salicílico, pH 7.4 a 37 °C, para Liberación de nanogeles PEGMA:MAOB (80:20)/EDGMA_{3%mol}.

Tiempo	ABS	ABS	concentración	Peso W (mg) alícuota (5 ml)	Peso W (mg) Medio 50 ml	Peso W(mg) extraído	Fracción libre
Horas	lectura	muestra diluida (1:2)	(mg/ml), $x=ABS-b/m$				
2	0.578	-	0.02898285	0.144914249	1.59405674	1.59405674	0.24122234
4	0.674	-	0.033536763	0.167683817	1.84452199	1.98943623	0.30105357
6	0.659	-	0.032825214	0.164126072	1.80538679	2.11798486	0.32050633
8	0.711	-	0.035291918	0.176459588	1.94105546	2.4177796	0.36587309
10	0.887	-	0.043640759	0.218203795	2.40024174	3.05342547	0.46206288
12	0.923	-	0.045348477	0.226742383	2.49416621	3.36555373	0.50929602
24	1.134	0.587	0.058819558	0.294097792	3.23507572	4.33320562	0.65572698
48	1.558	0.766	0.075801861	0.379009305	4.16910235	5.56133005	0.84157422
72	1.76	0.894	0.08794563	0.439728152	4.83700967	6.60824667	

Anexo 30. Análisis para cuantificar la liberación de ácido salicílico, pH 6.0 a 37 °C, para Liberación de nanogeles PEGMA:MAOB (80:20)/EDGMA_{3%mol}.

Tiempo	ABS	concentración	Peso W (mg) alícuota (5 ml)	Peso W (mg) Medio 50 ml	Peso W(mg) extraído	Fracción libre
Horas	lectura	(mg/ml), $x=ABS-b/m$				
2	0.18	0.009960856	0.049804281	0.54784709	0.54784709	0.157634
4	0.58	0.029043425	0.145217125	1.59738838	1.64719266	0.47395263
6	0.568	0.028470948	0.14235474	1.56590214	1.76092355	0.50667683
8	0.561	0.028137003	0.140685015	1.54753517	1.88491131	0.54235227
10	0.543	0.027278287	0.136391437	1.50030581	1.97836697	0.5692426
12	0.669	0.033289297	0.166446483	1.83091131	2.44536391	0.7036133
24	0.749	0.03710581	0.185529052	2.04081957	2.82171865	0.81190319
48	0.79	0.039061774	0.195308869	2.14839755	3.11482569	0.89623993
72	0.853	0.042067278	0.210336391	2.31370031	3.47543731	

Anexo 31. Análisis para cuantificar la liberación de ácido salicílico, pH 7.4 a 37 °C, para Liberación de nanogeles PEGMA:MAOB (80:20)/DVA_{3%mol}.

Tiempo	ABS	concentración	Peso W (mg) alícuota (5 ml)	Peso W (mg) Medio 50 ml	Peso W(mg) extraído	Fracción libre
Horas	lectura	(mg/ml), $x=ABS-b/m$				
2	0.576	0.028585328	0.142926638	1.57219301	1.57219301	0.40610754
4	0.569	0.028255378	0.141276891	1.55404581	1.69697244	0.43833887
6	0.563	0.027972565	0.139862823	1.53849106	1.82269459	0.4708137
8	0.673	0.033157481	0.165787406	1.82366147	2.24772782	0.58060251
10	0.718	0.035278584	0.176392918	1.94032209	2.53017585	0.65356065
12	0.729	0.035797075	0.178985376	1.96883913	2.73508581	0.70649021
24	0.863	0.042113246	0.210566232	2.31622855	3.2614606	0.84245619
48	0.872	0.042537467	0.212687334	2.33956067	3.49535896	0.90287364
72	0.935	0.04550701	0.22753505	2.50288555	3.87137116	

Anexo 32. Análisis para cuantificar la liberación de ácido salicílico, pH 6.0 a 37 °C, para Liberación de nanogeles PEGMA:MAOB (80:20)/DVA_{3%mol}.

Tiempo	ABS	ABS	concentración	Peso W (mg) alícuota (5 ml)	Peso W (mg) Medio 50 ml	Peso W(mg) extraído	Fracción libre
Horas	lectura	muestra diluida (1:2)	(mg/ml), $x=ABS-b/m$				
2	0.557	-	0.027441763	0.137208814	1.50929695	1.50929695	0.311867
4	0.6	-	0.029455451	0.147277257	1.62004983	1.75725865	0.36310348
6	0.617	-	0.030251561	0.151257805	1.66383585	1.94832193	0.40258301
8	0.604	-	0.029642771	0.148213857	1.63035243	2.0660963	0.4269188
10	0.592	-	0.029080812	0.145404059	1.59944464	2.18340238	0.45115783
12	0.568	-	0.027956892	0.139784462	1.53762908	2.26699087	0.46842978
24	0.72	-	0.035075048	0.17537524	1.92912764	2.7982739	0.57820913
48	0.867	-	0.041959054	0.209795269	2.30774796	3.35226945	0.69268158
72	1.071	0.667	0.065186119	0.325930596	3.58523655	4.83955331	

Anexo 33. Análisis para cuantificar la liberación de ácido salicílico, pH 7.4 a 37 °C, para Liberación de nanogeles PEGMA:MAOB (80:20)/EGDMA_{5%mol}.

Tiempo	ABS	concentración	Peso W (mg) alícuota (5 ml)	Peso W (mg) Medio 50 ml	Peso W(mg) extraído	Fracción libre
Horas	lectura	(mg/ml), $x=ABS-b/m$				
2	0.588	0.030865415	0.154327074	1.69759781	1.69759781	0.48760386
4	0.64	0.033404382	0.167021909	1.837241	1.99156808	0.57204144
6	0.664	0.034576213	0.172881064	1.90169171	2.22304069	0.6385277
8	0.669	0.034820344	0.174101721	1.91511894	2.40934898	0.69204135
10	0.64	0.033404382	0.167021909	1.837241	2.50557277	0.71967986
12	0.638	0.033306729	0.166533646	1.83187011	2.66722379	0.76611116
24	0.681	0.03540626	0.177031299	1.94734429	2.94923161	0.84711274
48	0.707	0.036675743	0.183378717	2.01716588	3.19608451	0.91801671
72	0.745	0.038531142	0.192655712	2.11921283	3.48151017	

Anexo 34. Análisis para cuantificar la liberación de ácido salicílico, pH 6.0 a 37 °C, para Liberación de nanogeles PEGMA:MAOB (80:20)/EGDMA_{5%mol}.

Tiempo	ABS	concentración	Peso W (mg) alícuota (5 ml)	Peso W (mg) Medio 50 ml	Peso W(mg) extraído	Fracción libre
Horas	lectura	(mg/ml), $x=ABS-b/m$				
2	0.603	0.030629766	0.153148831	1.68463715	1.68463715	0.44677537
4	0.658	0.033268143	0.166340713	1.82974785	1.98289668	0.5258755
6	0.682	0.034419434	0.172097171	1.89306888	2.21255843	0.5867831
8	0.693	0.034947109	0.174735547	1.92209102	2.41367774	0.64012109
10	0.647	0.032740467	0.163702337	1.80072571	2.46704797	0.65427518
12	0.641	0.032452645	0.162263223	1.78489545	2.61492005	0.6934917
24	0.717	0.036098401	0.180492005	1.98541205	2.97769988	0.78970297
48	0.824	0.041231242	0.206156212	2.26771833	3.44049815	0.91243971
72	0.871	0.043485855	0.217429274	2.39172202	3.77065806	

Anexo 35. Análisis para cuantificar la liberación de ácido salicílico, pH 7.4 a 37 °C, para Liberación de nanogeles PEGMA:MAOB (80:20)/DVA_{5%mol}.

Tiempo	ABS	ABS	concentración	Peso W (mg) alícuota (5 ml)	Peso W (mg) Medio 50 ml	Peso W(mg) extraído	Fracción libre
Horas	lectura	muestra diluida (1:2)	(mg/ml), $x=ABS-b/m$				
2	0.571	0.193	0.021144513	0.105722564	1.16294821	1.16294821	0.35097941
4	0.686	0.228	0.02444042	0.122202101	1.34422311	1.44994567	0.43759565
6	0.792	0.267	0.028113003	0.140565013	1.54621514	1.7741398	0.53543789
8	0.546	0.187	0.0205795	0.102897501	1.13187251	1.50036219	0.45281142
10	0.525	0.171	0.0190728	0.095363999	1.04900398	1.52039116	0.45885619
12	0.903	0.297	0.030938066	0.15469033	1.70159363	2.2683448	0.68458966
24	1.015	0.357	0.036588193	0.182940963	2.0123506	2.7337921	0.82506231
48	1.229	0.415	0.042049982	0.210249909	2.312749	3.21713147	0.97093481
72	1.197	0.393	0.039978269	0.199891344	2.19880478	3.31343716	

Anexo 36. Análisis para cuantificar la liberación de ácido salicílico, pH 6.0 a 37 °C, para Liberación de nanogeles PEGMA:MAOB (80:20)/DVA_{5%mol}.

Tiempo	ABS	ABS	concentración	Peso W (mg) alícuota (5 ml)	Peso W (mg) Medio 50 ml	Peso W(mg) extraído	Fracción libre
Horas	lectura	muestra diluida (1:2)	(mg/ml), $x=ABS-b/m$				
2	0.61	0.194	0.021448082	0.107240412	1.17964453	1.17964453	0.45367805
4	0.672	0.225	0.024396683	0.121983416	1.34181757	1.44905798	0.55729144
6	0.688	0.229	0.024777148	0.123885739	1.36274313	1.59196695	0.61225263
8	0.657	0.212	0.023160173	0.115800866	1.27380952	1.62691909	0.62569483
10	0.643	0.21	0.022969941	0.114849704	1.26334675	1.73225718	0.66620667
12	0.635	0.282	0.029818304	0.149091519	1.64000671	2.22376684	0.85523577
24	1.539	0.522	0.05264618	0.263230901	2.89553991	3.62839156	1.39543868
48	0.966	0.399	0.040946893	0.204734467	2.25207914	3.2481617	1.24920654
72	0.704	0.236	0.025442961	0.127214804	1.39936284	2.60017987	

Anexo 37. Estudio de efecto de pH sobre el diámetro hidrodinámico de los nanogeles MAOB-PEGMA (50:50)/EGDMA_{3%mol}

Nanogeles PEGMA:MAOB (50:50)/EGDMA_{3%mol}		
Solución acuosa	Dh. Nm	PDI
Crudo	440.5	0.176
Ph	Dh. Nm	PDI
3	371.4	0.051
4	372.1	0.020
5	382.7	0.010
6	396.2	0.008
7	*RQR	*RQR
7.4	*RQR	*RQR
8	*RQR	*RQR
9	1,015	0.471

*RQR: Refer to quality report

Anexo 38. Estudio de efecto de pH sobre el diámetro hidrodinámico de los nanogeles MAOB-PEGMA (60:40)/EGDMA_{3%mol}

Nanogeles PEGMA:MAOB (60:40)/EGDMA_{3%mol}		
Solución acuosa	Dh. Nm	PDI
Crudo	242.4	0.061
Ph	Dh. Nm	PDI
3	235.6	0.018
4	349	0-185
5	388.2	0.145
6	274.5	0.023
7	539.0	0.198
7.4	574.0	0.191
8	509.9	0.073
9	538.9	0.018

Anexo 39. Estudio de efecto de pH sobre el diámetro hidrodinámico de los nanogeles MAOB-PEGMA (60:40)/DVA_{3%mol}

Nanogeles PEGMA:MAOB (60:40)/DVA_{3%mol}		
Solución acuosa	Dh. Nm	PDI
Crudo	255.5	0.087
pH	Dh. Nm	PDI
3	321.3	0.189
4	257.5	0.044
5	300.1	0.169
6	389.2	0.231
7	*RQR	*RQR
7.4	*RQR	*RQR
8	*RQR	*RQR
9	*RQR	*RQR

*RQR: Refer to quality report

Anexo 40. Estudio de efecto de pH sobre el diámetro hidrodinámico de los nanogeles MAOB-PEGMA (60:40)/DVA_{5%mol}

Nanogeles PEGMA:MAOB (60:40)/EGDMA_{5%mol}		
Solución acuosa	Dh. Nm	PDI
Crudo	201.2	0.119
pH	Dh. Nm	PDI
3	246.5	0.170
4	239.1	0.205
5	*RQR	*RQR
6	194.3	0.044
7	*RQR	*RQR
7.4	*RQR	*RQR
8	*RQR	*RQR
9	*RQR	*RQR

*RQR: Refer to quality report

Anexo 41. Estudio de efecto de pH sobre el diámetro hidrodinámico de los nanogeles MAOB-PEGMA (70:30)/EDGMA_{3%mol}

Nanogeles PEGMA:MAOB (70:30)/EDGMA_{3%mol}		
Solución acuosa	Dh. Nm	PDI
Crudo	242.3	0.123
pH	Dh. Nm	PDI
3	236.2	0.069
4	230.2	0.025
5	228.7	0.038
6	263.3	0.015
7	356.9	0.067
7.4	367.0	0.046
8	363.7	0.106
9	392.4	0.023

Anexo 42. Estudio de efecto de pH sobre el diámetro hidrodinámico de los nanogeles MAOB-PEGMA (70:30)/DVA_{3%mol}

Nanogeles PEGMA:MAOB (70:30)/DVA_{3%mol}		
Solución acuosa	Dh. Nm	PDI
Crudo	353.5	0.210
pH	Dh. Nm	PDI
3	286.8	0.109
4	293.2	0.122
5	469.4	0.215
6	351.4	0.205
7	*RQR	*RQR
7.4	*RQR	*RQR
8	306.0	0.395
9	361.8	0.399

*RQR: Refer to quality report

Anexo 43. Estudio de efecto de pH sobre el diámetro hidrodinámico de los nanogeles MAOB-PEGMA (70:30)/DVA_{5%mol}

Nanogeles PEGMA:MAOB (70:30)/DVA_{5%mol}		
Solución acuosa	Dh. Nm	PDI
Crudo	275.2	0.195
pH	Dh. Nm	PDI
3	314.6	0.265
4	*RQR	*RQR
5	281.7	0.187
6	300.8	0.094
7	*RQR	*RQR
7.4	*RQR	*RQR
8	*RQR	*RQR
9	175.3	0.349

*RQR: Refer to quality report

Anexo 44. Estudio de efecto de pH sobre el diámetro hidrodinámico de los nanogeles MAOB-PEGMA (80:20)/EGDMA_{3%mol}

Nanogeles PEGMA:MAOB (80:20)/EGDMA_{3%mol}		
Solución acuosa	Dh. Nm	PDI
Crudo	180.5	0.022
pH	Dh. Nm	PDI
3	175.3	0.016
4	174.0	0.023
5	189.4	0.122
6	189.1	0.048
7	317.2	0.141
7.4	318.5	0.011
8	313.2	0.042
9	321.3	0.140

Anexo 45. Estudio de efecto de pH sobre el diámetro hidrodinámico de los nanogeles MAOB-PEGMA (80:20)/DVA_{3%mol}

Nanogeles PEGMA:MAOB (80:20)/DVA_{3%mol}		
Solución acuosa	Dh. Nm	PDI
Crudo	254.6	0.094
pH	Dh. Nm	PDI
3	226.3	0.078
4	266.2	0.245
5	236.6	0.085
6	263.8	0.087
7	*RQR	*RQR
7.4	*RQR	*RQR
8	*RQR	*RQR
9	143.1	0.289

*RQR: Refer to quality report

Anexo 46. Estudio de efecto de pH sobre el diámetro hidrodinámico de los nanogeles MAOB-PEGMA (80:20)/EGDMA_{5%mol}

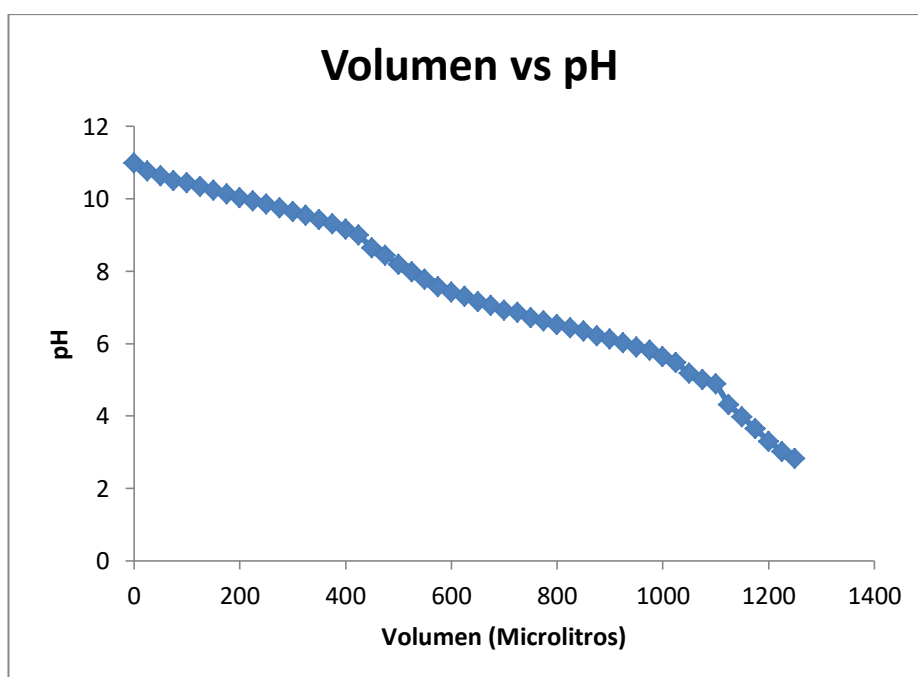
Nanogeles PEGMA:MAOB (80:20)/EDGMA_{5%mol}		
Solución acuosa	Dh. Nm	PDI
Crudo	227.3	0.218
PH	Dh. Nm	PDI
3	173.1	0.029
4	174.5	0.065
5	183.0	0.068
6	224.2	0.071
7	253.4	0.131
7.4	245.7	0.121
8	246.0	0.093
9	249.7	0.094

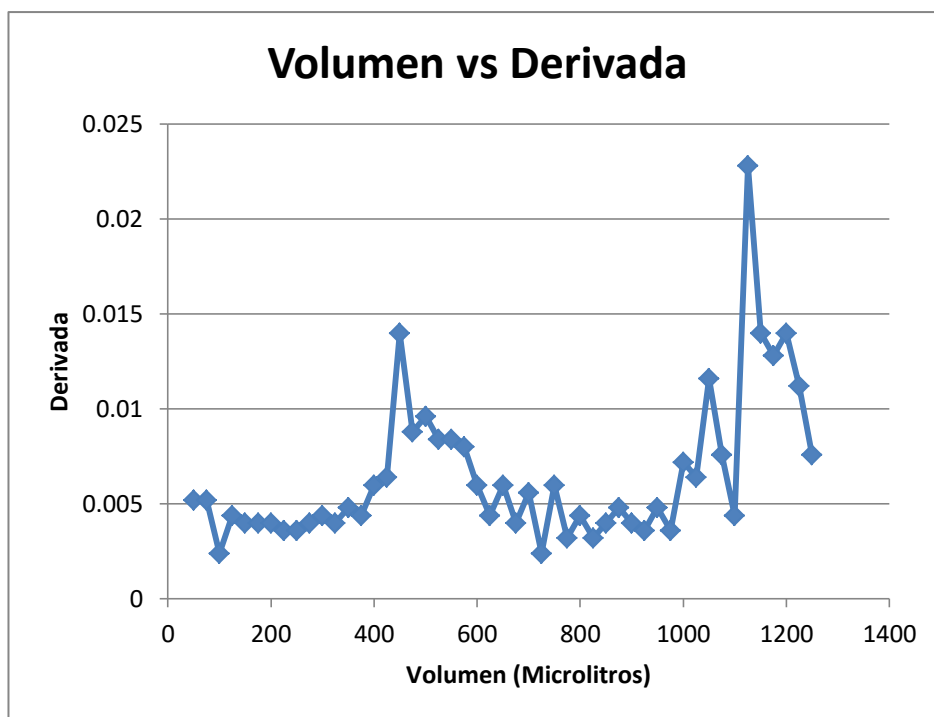
Anexo 47. Estudio de efecto de pH sobre el diámetro hidrodinámico de los nanogeles MAOB-PEGMA (80:20)/DVA_{5%mol}

Nanogeles PEGMA:MAOB (80:20)/DVA_{5%mol}		
Solución acuosa	Dh. Nm	PDI
Crudo	286.8	0.051
PH	Dh. Nm	PDI
3	275.0	0.053
4	*RQR	*RQR
5	309.5	0.108
6	341.6	0.180
7	438.7	0.108
7.4	*RQR	*RQR
8	*RQR	*RQR
9	171.3	0.437

*RQR: Refer to quality report

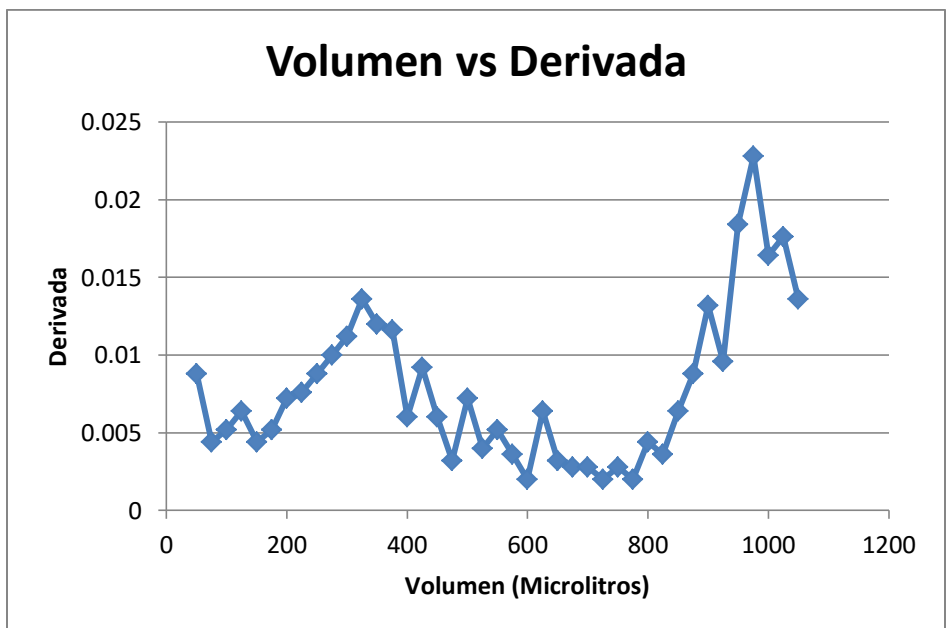
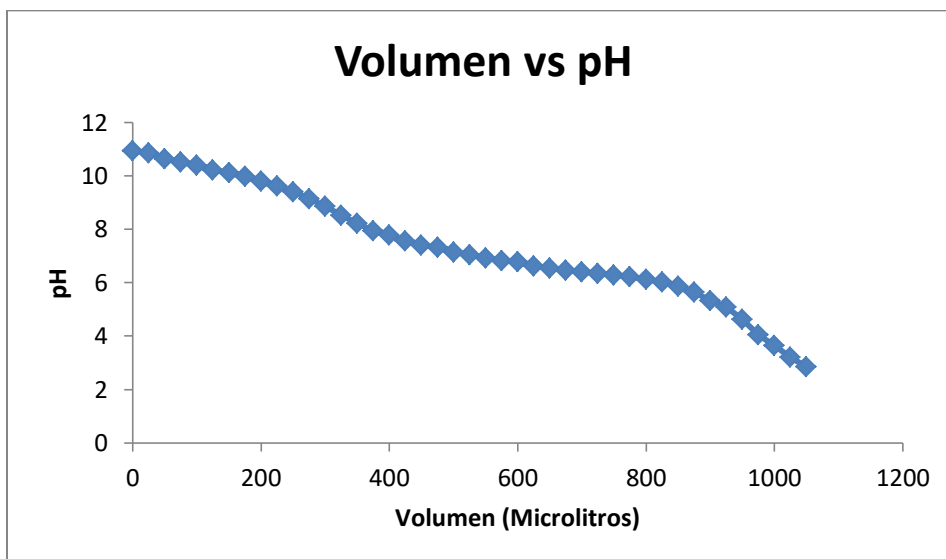
Anexo 48. Determinación de contenido de ácido incorporado en el núcleo de los nanogeles PEGMA:MAOB (60:40)/EDGMA_{3%mol}





<i>Volúmenes</i>	<i>μl</i>	<i>diferencia de volumen</i>	<i>MI</i>	<i>volumen del acido</i>	<i>mg del acido</i>	<i>% de acido</i>
<i>volumen máximo</i>	1125	675	0.675	0.03375	6.9589125	33.2962321
<i>volumen menor</i>	450					

Anexo 49. Determinación de contenido de ácido incorporado en el núcleo de los nanogeles PEGMA:MAOB (60:40)/DVA_{3%mol}



<i>Volúmenes</i>	<i>µl</i>	<i>diferencia de volumen</i>	<i>MI</i>	<i>volumen del acido</i>	<i>mg del acido</i>	<i>% de acido</i>
<i>volumen máximo</i>	975	650	0.65	0.0325	6.701175	36.8196429
<i>volumen menor</i>	325					

