



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA

**“SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS SENSIBLES A TEMPERATURA Y PH
DE N-ISOPROPILACRILAMIDA Y ACIDO 4-METACRILÓILOXIBENZOICO”**

TESIS

Para obtener el título de
Químico Farmacobiólogo

Por
ALONDRA MONTAÑEZ RIOS

Director de tesis

Dr. José Manuel Cornejo Bravo
M.C. Kenia Palomino Vizcaino

Tijuana B.C.

JUNIO 2017

Universidad Autónoma de Baja California

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA

"2017 Año del 60 Aniversario de la Universidad Autónoma de Baja California"

FOLIO No. 016

Tijuana, B. C., a 01 de junio de 2017.

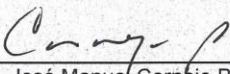
C. Alondra Montañez Rios
Pasante de Químico Farmacobiólogo
Presente

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

Opción Tesis

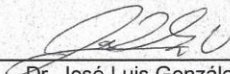
Es propuesto, por el Dr. José Manuel Cornejo Bravo y la M.C. Kenia Palomino Vizcaino quienes serán los responsables de la calidad de trabajo que usted presente, referido al tema "SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS SENSIBLES A TEMPERATURA Y PH DE N-ISOPROPILACRILAMIDA Y ACIDO 4-METACRILÓILOXIBENZOICO" el cual deberá usted desarrollar, de acuerdo con el siguiente orden:

- I.- RESUMEN
- II.- INTRODUCCIÓN
- III.- TEORÍA GENERAL
- IV.- EXPERIMENTAL
- V.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN
- VI.- CONCLUSIONES
- VII.- REFERENCIAS


Dra. José Manuel Cornejo Bravo
Director de Tesis


M.C. Kenia Palomino Vizcaino
Co-Directora de Tesis


Dr. Luis Enrique Palafox Maestre
Director


Dr. José Luis González Vázquez
Subdirector

ÍNDICE

Índice	v
Abreviaturas, acrónimos y simbología	vi
Índice de figuras	vii
Tablas	vii
Agradecimiento	viii

CAPÍTULO I	RESUMEN	1
CAPÍTULO II	INTRODUCCIÓN	4
II.1.	ANTECEDENTES	5
II.2.	JUSTIFICACIÓN	7
II.3.	OBJETIVO GENERAL	8
II.4.	OBJETIVOS PARTICULARES	8
CAPÍTULO III	TEORÍA GENERAL	9
III.1	SISTEMAS DE LIBERACIÓN CONTROLADA	10
III.1.1.	Conceptos básicos	10
III.1.2.	Mecanismos de liberación controlada	11
III.2.	POLÍMEROS	11
III.2.1.	Polímeros Inteligentes	12
III.3.	GRADO DE HINCHAMIENTO	12
III.4.	NANOPARTÍCULAS	13
III.5.	N-ISOPROPILACRILAMIDA	13
III.5.1.	NIPAAm	13
III.6	Acido 4-metacrililoiloxibenzoico	14
III.6.1	MAPB	14

CAPÍTULO IV	EXPERIMENTAL	16
IV.1.	EQUIPOS Y MATERIA	17
IV.2.	PURIFICACIÓN DE <i>N</i> -ISOPROPILACRILAMIDA	17
IV.3.	SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS	18
IV.4.	PURIFICACIÓN: DIÁLISIS	18
IV.5.	LECTURA DE LAS MUESTRAS EN ZetaSizer Nano-ZS (DLS)	19
IV.6.	LIOFILIZACIÓN	19
IV.7.	TITULACIÓN ACIDO–BASE	20
CAPÍTULO V	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	21
V.1.	SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE NIPAAM/MAPB	22
V.1.2.	LECTURA DE BARIDO DE NANOPARTÍCULAS DE NIPAAM/MAPB	24
V.2.	ANÁLISIS DEL TAMAÑO DE NANOPATICULAS CON RESPECTO A EL pH	25
V.3.	ANÁLISIS DEL TAMAÑO DE NANOPATICULAS CON RESPECTO A LA TEMPERATURA Y pH.	26
V.4.	COMPARACION DEL ANÁLISIS DEL TAMAÑO NANOPARTICULA CON RESPECTO A LA TEMPERATURA Y pH.	30
CAPÍTULO VI	CONCLUSIONES	34
CAPÍTULO VII	REFERENCIAS	36

ABREVIATURAS, ACRÓNIMOS Y SIMBOLOGÍA

λ	Longitud de onda
APS	Persulfato de amonio
MAPB	ácido 4-metacriloiloxibenzoico
NP	nanopartículas
NIPAAm	<i>N</i> -isopropilacrilamida
nm	Nanómetros
pH	Potencial de hidrógeno
Ttr	Temperatura de transición
UV/Vis	Ultravioleta/visible

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig.		Pagina
1	Sistema de liberación convencional vs liberación controlada	10
2	Cinética de liberación pulsátil.	11
3	Estructura de cadena de polímero.	11
4	<i>N</i> -isopropilacrilamida.	14
5	Acido 4-metacriloiloxibenzoico	15
6	Equipo ZetaSizer Nano-ZS	19
7	Datos de tamaño de NIPAAm/MAPB en diferentes porcentajes	24

ÍNDICE DE ECUACIONES

ECU.		Pagina
1	Grado de hinchamiento	12

ÍNDICE DE TABLA

TAB.		Pagina
1	Tamaño de partículas a 25 °C de los diferentes % de NIPAAm/MAPB	22
2	Porcentaje de contenido de ácido en las nanopartículas	33

ÍNDICE DE GRAFICAS

Gra.		Pagina
1	Tamaño vs Temperatura de nanopartícula de NIPAAm/MAPB	25
2	Lectura de pH en los distintos % de NIPAAm/MAPB	26
3	NIPAAm/MAPB 5% Tamaño por pH y Temperatura	27
4	NIPAAm/MAPB 7.5% tamaño por pH y Temperatura	28
5	NIPAAm/MAPB 12.5% tamaño por pH y Temperatura	29
6	NIPAAm/MAPB 15% tamaño por pH y Temperatura	30
7	Comparación de tamaños de distintos % de NIPAAm/MAPB a pH 3	31
8	Comparación de tamaños de distintos % de NIPAAm/MAPB a pH 5	31
9	Comparación de tamaños de distintos % de NIPAAm/MAPB a pH 7	32
10	Comparación de tamaños de distintos % de NIPAAm/MAPB a pH 9	33

AGRADECIMIENTOS

Le agradezco a el Dr. José Manuel Cornejo B., a la M.C. Kenia Palomino y a la Dra. Aracely Serrano M. por tu tiempo dedicado en esta investigación, pero sobre todo por su paciencia, apoyo y oportunidad brindada.

Gracias a ustedes por todo el conocimiento, por creer en mí y sobre todo por ser parte de mi formación y guiarme durante este camino.

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Biofarmacia de la Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería de la Universidad Autónoma de Baja California, bajo la dirección de los profesores:

Dr. José Manuel Cornejo Bravo

Y

M.C. Kenia Palomino Vizcaino

CAPITULO I

RESUMEN

**Síntesis y caracterización de nanopartículas sensibles a temperatura y pH de
N-isopropilacrilamida y ácido 4-metacrilóiloxibenzoico**

Por

Alondra Montañez Rios

Para obtener el título de

Químico Farmacobiólogo

Directores de tesis

Dr. José Manuel Cornejo bravo

Y

M.C. Kenia Palomino Vizcaíno

En este proyecto se estudió la síntesis y propiedades de nanopartículas sensibles a temperatura y pH, sintetizadas por método de dispersión a partir de los polímeros N-isopropilacrilamida (NIPAAm) y ácido 4-metacriloiloxibenzoico (MAPB), en cinco diferentes porcentajes NIPAAm/MAPB (%w/w): 85:15, 87.5:12.5, 90:10, 92.5:7.5, 95:5, 100:0, utilizando el método de caracterización como dispersión de luz dinámica (DLS) para la determinación del tamaño a 25°C, el efecto de temperatura sobre el tamaño de 20 ° C a 50 ° C en agua, así como el comportamiento a diferentes pH 3, 5, 7, y 9.

La incorporación del grupo ácido en las nanopartículas se determinó por retrotitulación ácido-base. Las nanopartículas de NIPAAm 100:0 mostraron un tamaño de 600nm en agua y una temperatura de transición (Ttr) de 32°C. Las nanopartículas sintetizadas con MAPB mostraron una incorporación del monómero ácido. Se observa que el tamaño disminuye conforme aumentan el porcentaje del comonómero ácido indicando que este tiene propiedades tensoactivas, al ser anfifílico.

El estudio del efecto de la composición la temperatura de transición en agua muestra que las nanopartículas mantienen una temperatura de transición de 32°C a cualquier composición. El análisis de la temperatura de transición respecto al pH mostró que las nanopartículas se aglomeran a una cierta temperatura en valores de pH por debajo de 7; sin embargo, por arriba de este pH presentan un colapso de tamaño en su temperatura de transición, esto es, la dispersión se mantiene estable con una reducción en el tamaño de las nanopartículas.

Palabras claves: Nanopartículas, NIPAAm, MAPB, Temperatura, pH, Tamaño.

CAPÍTULO II

INTRODUCCIÓN

II.1. ANTECEDENTES

La investigación del comportamiento de la materia en la escala nanométrica abre una prometedora perspectiva de nuevos conocimientos.⁽⁵⁾ En los últimos años el estudio de nanopartículas ha llamado la atención significativamente, con la finalidad de mejorar al máximo los tratamientos terapéuticos.⁽⁵⁾

Los poliméricos inteligentes, son llamados de esta forma ya que responden a ligeros cambios en su entorno como: temperatura, pH, luz, campo eléctrico, moléculas biológicas, etc., sufriendo cambios drásticos en sus propiedades.⁽⁴⁾

La estructura electrónica de las nanopartículas es también regulable mediante el enlace con diferentes tipos de moléculas. Es necesario tener un enlace suficientemente fuerte para que la precipitación y aglomeración de las nanopartículas prevalezcan y así cada uno de ellas mantenga sus propiedades aisladas del resto, siendo fundamental esto para el estudio en biomedicina.⁽⁵⁾

En particular la mayoría de los trabajos de investigación han estado centrados en el efecto del pH y la temperatura debido a la importancia de estas variables en sistemas fisiológicos, biológicos y químicos. La temperatura es uno de los parámetros que más afecta el comportamiento de las nanopartículas.⁽³⁾

Una de las mayores desventajas que tiene la medicina y que más afecta es la inadecuada distribución de medicamentos, ya que en secciones de radioterapia las drogas son administradas de forma intravenosa, distribuyéndose por el torrente sanguíneo, atacando no solo a las células tumorales sino también a células sanas.⁽⁵⁾

Se buscan polímeros sensibles a temperaturas y pH ya que con esto se pretende transportar fármacos que puedan viajar por el organismo hasta ser liberados en un sitio específico, por ejemplo en tumores que quizás tienen una temperatura y un pH distinto a otras partes, dando lugar a una quimioterapia selectiva, reduciendo los efectos colaterales.

(5)

Uno de los materiales más estudiados es el monómero de NIPAAm este es sensible a la temperatura, este monómero convertido en polímero sufre una transición de hinchamiento a colapso a una temperatura crítica de 32-33 °C. ⁽³⁾

Debido a la propiedad que presenta este polímero de absorber agua, los convierte en materiales de gran interés en el área biomédica para ser aplicados como sistemas de liberación controlada y/o sostenida de principios activos, dispositivos para diagnóstico, sustrato para el cultivo de células, geles para electroforesis, desintoxicantes sanguíneos, membranas para hemodiálisis, sistemas terapéuticos biodegradables, lentes de contacto e implantes. ⁽³⁾

La NIPAAm se ha estudiado con anterioridad y está documentado que en geles de este material presentan características importantes, pero, al mismo tiempo se sabe que no es un buen material para ser aplicado de manera independiente como vehículo farmacéutico para un sistema de liberación. Se propuso la incorporación de sales inorgánicas con la intención de formar macroporos, los cuales evitarían la formación de la piel y con ello el bloqueo de la liberación, en estos se observó una pequeña liberación, pero surgiendo el mismo problema ya que los poros formados se cierran a altas temperaturas, lo cual causa un bloqueo que lleva al mismo problema de liberación. ⁽¹⁵⁾

II.2. JUSTIFICACIÓN

En la Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería de la Universidad Autónoma de Baja California, en el área de Biofarmacia, actualmente se realizan trabajos de investigación de síntesis de monómeros para el desarrollo de vehículos farmacéuticos a partir de polímeros sensibles a la temperatura. Estos con el fin de aplicarlos como sistemas de liberación.

La propuesta se basa en encontrar un pH y una temperatura idónea en distintos porcentajes, para poder desarrollar un sistema de liberación específica en distintas patologías.

II.3. OBJETIVO GENERAL

Obtener nanopartículas utilizando N-isopropilacrilamida (NIPAAm) y copolimerizando con diferentes porcentajes de ácido 4-metacrililoiloxibenzoico (MAPB), buscando el ajuste de temperatura y pH de transición.

II.3. OBJETIVOS PARTICULARES

- a. Preparar nanoparículas con diferentes porcentajes NIPPAAm y MAPB.
- b. Estudiar el tamaño de las nanopartículas dependiendo del porcentaje aplicado.
- c. Estudiar el grado de hinchamiento con respecto a la temperatura y determinar la temperatura de transición.
- d. Estudio del comportamiento del tamaño respecto al pH.
- e. Incorporar el grupo ácido por medio de titulaciones ácido-base.

CAPÍTULO III

TEORÍA GENERAL

III.1. SISTEMAS DE LIBERACIÓN CONTROLADA

III.1.1. Conceptos básicos

Sistema de liberación controlada. - Este se relaciona con otros términos como liberación prolongada, liberación sostenida, sistemas dirigidos, entre otros. Estos nos llevan a un punto en que coinciden en que son sistemas diseñados para controlar la concentración del principio activo, prolongar el efecto terapéutico, o bien, tratar de eliminar o reducir efectos secundarios, la cual busca que la concentración del fármaco se mantenga constante en el organismo. En la figura 1 se muestra un ejemplo de la diferencia entre lo que es el sistema de liberación controlada y liberación convencional.⁽⁷⁻⁹⁾

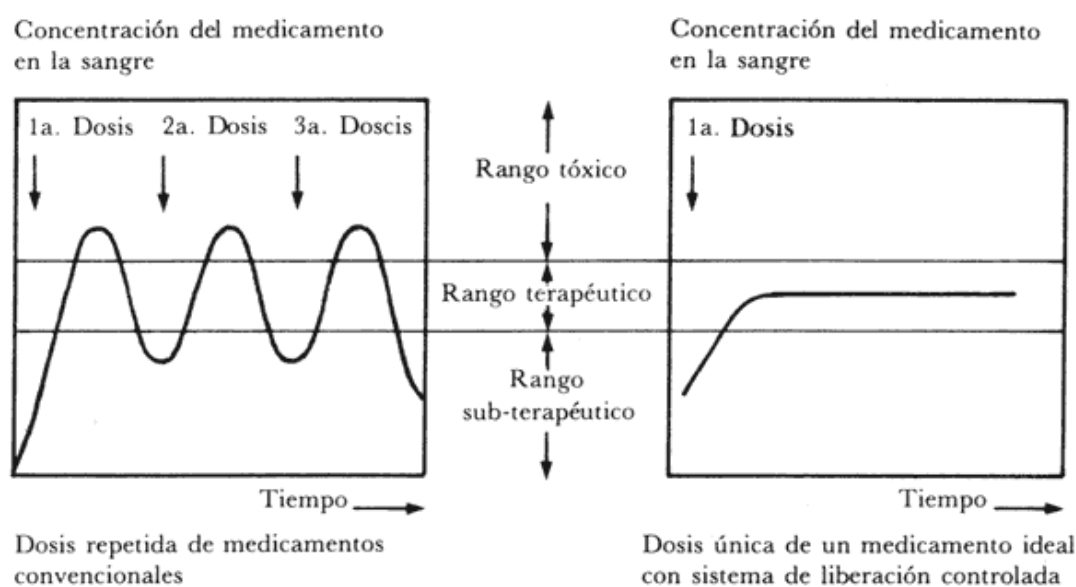


Figura 1. Sistema de liberación convencional vs liberación controlada

Sistema de liberación pulsátil. - Esta también llamada liberación por pulsos, o secuencial, tiene como objetivo principal liberar el principio activo en varias fases, una de forma inmediata y la otra al cabo de un tiempo determinado.⁽⁷⁾⁽¹⁶⁾

Liberación pulsática

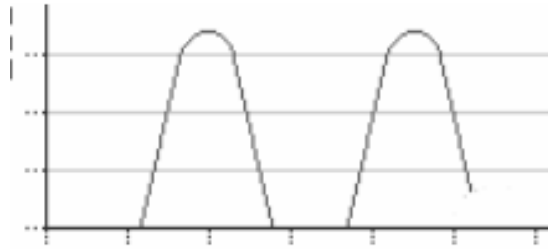


Figura 2. Cinética de liberación pulsátil.

III.1.2. Mecanismos de liberación controlada

El desarrollo de dispositivos de liberación controlada de fármacos, implica un campo importante del avance moderno en el área farmacéutica. El incentivo principal de estos sistemas, es la mejora en la eficacia del tratamiento terapéutico y el diseño de formas de dosificación prácticas para el paciente.⁽⁷⁻⁹⁾

III.2. POLÍMEROS

Un polímero es una gran molécula constituida por la repetición de pequeñas unidades químicas simples llamadas monómeros. En algunos casos la repetición es lineal, de forma semejante a como una cadena la forma sus eslabones.

En otros casos las cadenas son ramificadas o interconectadas formando retículos tridimensionales. La unidad repetitiva del polímero es usualmente equivalente o casi equivalente al monómero o material de partida del que se forma.⁽¹⁰⁾

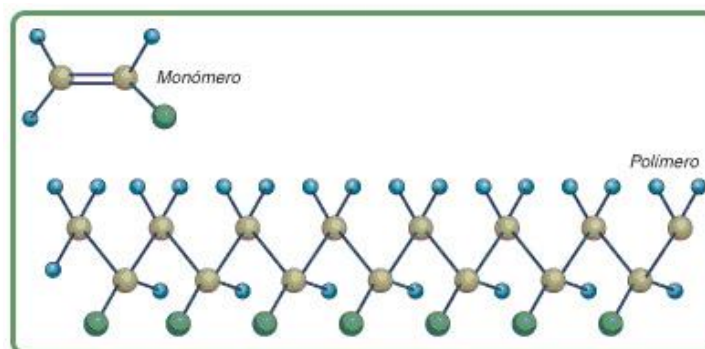


Figura 3. Estructura de cadena de polímero.

III.2.1. Polímeros inteligentes

Los polímeros inteligentes son aquellos que responden a cambios en una propiedad a pequeños estímulos físicos o químicos. Estos polímeros pueden estar en varias formas, tales como en solución, en superficies o como sólidos. Existen diversos estímulos que pueden ser aplicados: temperatura, pH, iones, campo eléctrico, disolventes, entre otros. ⁽⁶⁾⁽¹¹⁾⁽¹⁴⁾

Polímeros inteligentes sensibles a temperatura.- Existen variedades de polímeros que exhiben una transición de fase en respuesta a un cambio de temperatura, por lo que se dice que son sensibles a esta. Se ha visto que la variación de este parámetro provoca en el material cambios estructurales interesantes, fundamentalmente para su aplicación en biomedicina.

III.3. GRADO DE HINCHAMIENTO (Q)

El hinchamiento puede definirse en términos de velocidad y de equilibrio de máxima imbibición, y define la capacidad de penetración de las moléculas del disolvente en el polímero, dependiendo del grado de entrecruzamiento del polímero, de su naturaleza y de la naturaleza del disolvente, entre otros factores. ⁽¹³⁾

El grado de hinchamiento se determina por la siguiente ecuación la cual se representa el peso húmedo (W_h) y el peso del gel seco (W_s):

$$Q = \frac{W_h - W_s}{W_s}$$

Ecuación 1. Grado de hinchamiento.

III.4. NANOPARTÍCULAS

Existen diversos tipos de partículas poliméricas empleadas en la administración de medicamentos, se pueden clasificar en micro- y nanopartícula.

Las nanopartículas son partículas poliméricas esféricas con tamaños que oscilan desde 1 a 250nm. Dentro de este grupo se incluyen las microcápsulas, el fármaco está rodeado de una única membrana polimérica; y las microesferas que son sistemas matrices en los que el fármaco está disperso en la partícula. ⁽¹⁷⁻¹⁸⁾

La eficacia de la administración de fármacos puede aumentarse de forma significativa empleando como portadores micropartículas de polímeros hidrófilos reticulados. El grado de interacción, adhesión y asimilación de los fármacos a partir de micropartículas de diversos tamaños, parece incrementarse a medida que disminuye el tamaño de las partículas portadoras de los fármacos. ⁽¹²⁾

III.5. *N*-ISOPROPILACRILAMIDA

III.5.1. NIPAAm

Históricamente, las primeras publicaciones relacionadas con la *N*-isopropilacrilamida (NIPAAm) **Figura 4** tratan sobre la síntesis y polimerización de este monómero. Esta se ha empleado en muchas formas, las cuales incluyen cadenas sencillas, geles macroscópicos, microgeles, latex, películas delgadas, membranas, fibras, entre otras.

La temperatura de transición de los hidrogeles de NIPAAm es una propiedad importante en el estudio y la aplicación de materiales sintetizados con este monómero. Se conoce que la NIPAAm presenta una transición de volumen de fase alrededor de 32 °C, En diferentes trabajos se ha visto que la copolimerización de la NIPAAm con monómeros hidrófilos modifica tanto la capacidad de absorber agua como la temperatura de transición tanto en polímeros lineales como en geles poliméricos. ⁽¹⁹⁻²⁰⁾

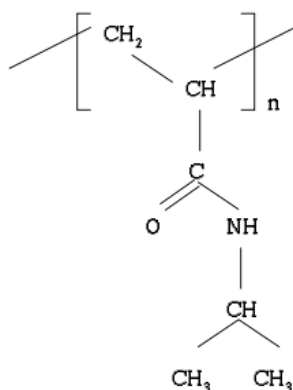
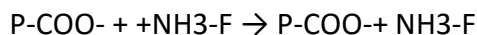


Figura 4. *N*-isopropilacrilamida.

III.6. ACIDO 4-METACRILLOILOXIBENZOICO

III.6.1 MAPB

Los polímeros que contienen grupos ionizables a lo largo de su cadena se conocen como polielectrolitos. Los polielectrolitos con grupos ácido (aniónicos) pueden formar complejos con fármacos que contienen grupos amino (catiónicos) de acuerdo al esquema: ⁽²⁰⁾



Se ha demostrado que los derivados poliméricos del ácido salicílico pueden ser utilizados como agentes quelantes selectivos, y que pueden formar estructuras ordenadas con cristalinidad parcial. En ambos casos, las propiedades interesantes observadas surgen principalmente del resto ácido benzoico en los polímeros. En términos generales, la mayoría de los citados polímeros derivados del ácido salicílico son polielectrolitos aromáticos [1, 2, 4-10], debido a sus grupos de ácido benzoico ionizables. ⁽²¹⁾

Los polielectrolitos son polímeros que llevan grupos cargados a lo largo de la cadena macromolecular y han atraído mucha atención en las últimas décadas debido a sus aplicaciones como súper-absorbentes, bioadhesivos, polímeros para bioseparaciones y dispositivos de liberación controlada y para aplicaciones en cirugía y medicina clínica, en la **figura 5** se muestra la estructura de uno de los polímeros. ⁽²¹⁾

La característica más importante es la capacidad de los polielectrolitos débiles para cambiar su grado de ionización en respuesta a los cambios en las condiciones del medio,

como el pH y la fuerza iónica. Algunas propiedades de los polielectrolitos se pueden adaptar cambiando la estructura del monómero, por copolimerización con otros monómeros, o mezclando los polielectrolitos con otros materiales. ⁽²¹⁾

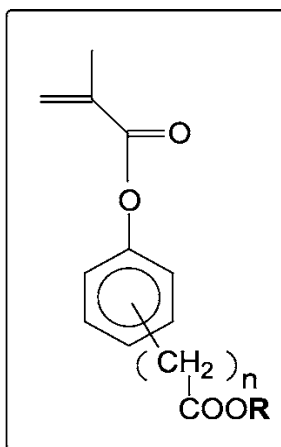


Figura 5. Acido 4-metacrililoiloxibenzoico

CAPÍTULO IV

EXPERIMENTAL

IV.1. EQUIPOS Y MATERIAL

A) Equipo utilizado

- Dispersión de Luz Dinámica (DLS)
- Espectrofotómetro Ultravioleta-Visible
- Baño de temperaturas.
- Sistema liofilizador

B) Material utilizado

- Agua Mili Q
- N-Isopropilacrilamida (NIPPAAm)
- 4-metacriloiloxibenzoico (MAPB)
- Etilenglico Dimetilacrilato (EGDMA)
- Ácido clorhídrico (HCl)
- Hidroxido de Sodio (NaOH)
- Nitrogeno (N_2)
- Hexano (C_6H_{14})
- APS

IV.2. PURIFICACIÓN DE N-ISOPROPILACRILAMIDA

El monómero de NIPAAm se recibe con un inhibidor de la polimerización el cual es necesario remover, este se somete a al proceso de purificación donde inicia colocando NIPAAm en matraz con hexano en una proporción de 25g NIPAAm en 200 mL hexano, este es colocado en un baño de agua a 45°C con agitación constante hasta homogenizar la solución, posteriormente se filtra en caliente para eliminar las impurezas que la solución pueda tener y se deja enfriar.

Una vez que se enfría el contenido se cristaliza y se procede a filtrar a vacío, a este solido se le realizan lavados con hexano frio para obtener el monómero de NIPAAm purificado dando un sólido blanco, si este se observa color amarillo se realiza una segunda purificación.

IV.3. SÍNTESIS DE NANOPARTICULAS

En un matraz bola se colocaron 50 mL de agua Mili Q, colocado en un soporte universal para permanecer en agitación constante por un agitador magnético, se agregó NIPAAm y MAPB en proporciones requeridas para las diferentes formulaciones en porcentajes en peso, una vez disueltos completamente estos componentes se añadió EDGMA al 5% (w/w), colocándole un tapón y parafilm para sellar la boca del matraz y se procedió al método de desgasificación para colocarlo en atmosfera inerte, esto mediante la inyección de N_2 durante 40 minutos.

Antes de que termine el tiempo de des-gasificación se debe tener preparado un baño de aceite a una temperatura de $85^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ monitoreando la temperatura con un termómetro, se coloca el matraz bola en el baño de aceite con agitación constante durante 30 minutos para que se ambiente y llegue a la temperatura requerida. Dependiendo del porcentaje en que se encuentre síntesis se agregara APS 2% (w/w) molar. Dejar reaccionar 45 minutos la síntesis en este tiempo se observa una solución blanca. Una vez terminado el tiempo se coloca la reacción rápidamente en un baño de hielo para detener la polimerización. Se obtiene una muestra para medir su tamaño en Zetasizer.

IV.4. PURIFICACIÓN: DIÁLISIS

La diálisis se realiza colocando la solución obtenida en una membrana de diálisis la cual es colocada en agua destilada cubriendo por completo cada solución, el agua es cambiada cada 24 horas durante 7 días, transcurrido el tiempo se coloca en viales para congelar la muestra y continuar con su proceso.

Una muestra de esta es analizada en el DLS y a su vez se coloca una parte de esta muestra en contacto con diferentes buffers de pH de 3 a 9 para determinar su comportamiento.

IV.5. LECTURA DE LAS MUESTRAS EN ZetaSizer Nano-ZS (DLS)

La lectura de las muestras se realiza en 3 ocasiones, en las cuales se toma de la solución una muestra de 1000 μ L y se coloca en una celda especial para el DLS, en la cual para tamaño se realiza a una temperatura de a 25 °C, para obtener un comportamiento ante la temperatura la lectura se realiza un barrido de 25°C a 50°C donde el equipo toma una lectura cada 2°C del tamaño de la partícula.

Para las muestras que se colocan a los diferentes pH (3, 5, 7 y 9), se toma una muestra de solución amortiguadora de 900 μ L y 100 μ L de la muestra correspondiente y se procede a su lectura como se explicó anteriormente.



Figura 6.- Equipo ZetaSizer Nano-ZS

IV.6. LIOFILIZACIÓN

La liofilización se realiza a cada muestra después de realizar las lecturas correspondientes, son colocadas en un vial nuevo pesado previamente sin tapa, se coloca un volumen conocido cercano a 15mL de cada una de las muestras realizadas a los porcentajes correspondientes, estos deben estar completamente congelados para iniciar el proceso de liofilización el cual dura 48 horas.

IV.7. TITULACIÓN ACIDO–BASE

La titulación se realiza para cada muestra en la cual se colocan aproximadamente 50mg de la muestra a analizar, NIPAAm/MAPB en los porcentajes correspondientes, estos son disueltos en la mínima cantidad de agua Mili Q, este proceso inicia midiendo su pH inicial y se procede al aumento del pH agregando NaOH 0.05N en alícuotas de 25 a 50 μ L hasta llegar a un pH cercano a 11.

Posteriormente se agrega HCl 0.05 N de 25 a 50 μ L disminuir su pH hasta llegar a un pH 3 y con estos datos se obtiene el contenido de ácido que tiene cada muestra.

CAPÍTULO V

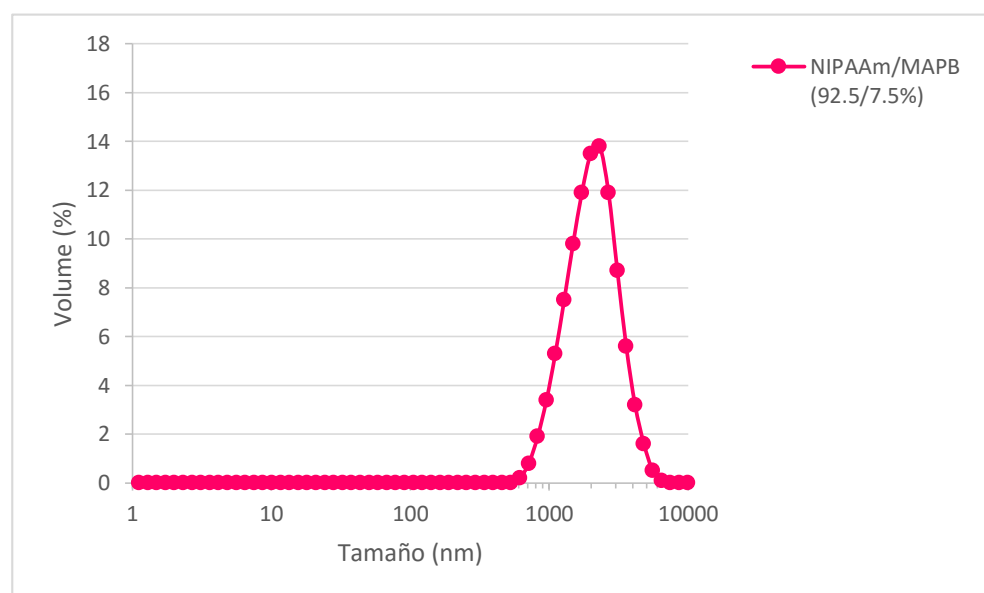
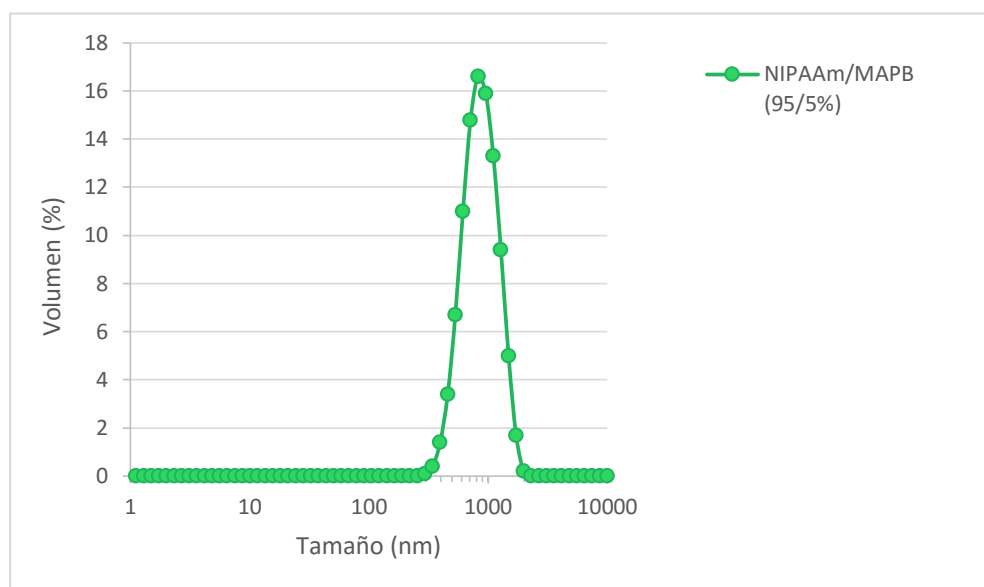
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

V.1. SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE NIPAAm/MAPB

Se obtuvieron nanopartículas de NIPAAm/MAPB a los diferentes porcentajes las cuales fueron medidas por medio de dispersión de luz dinámica en el equipo Zetasizer, este nos muestra los diferentes tamaños de partícula los cuales se muestran en la **Tabla 1**, dando además el PDI el cual se encuentra por debajo del 0.2 que nos da una buena referencia que las micropartículas se encuentran en un solo tamaño lo que se muestra en la **figura 7**.

	Tamaño (nm) a 25 °C	PDI
NIPAAm/MAPB (95/5%)	687	0.137
NIPAAm/MAPB (92.5/7.5%)	1437	0.194
NIPAAm/MAPB (87.5/12.5%)	534	0.119
NIPAAm/MAPB (85/15%)	544	0.110

Tabla 1. Tamaño de partículas a 25 °C de los diferentes % de NIPAAm/MAPB.



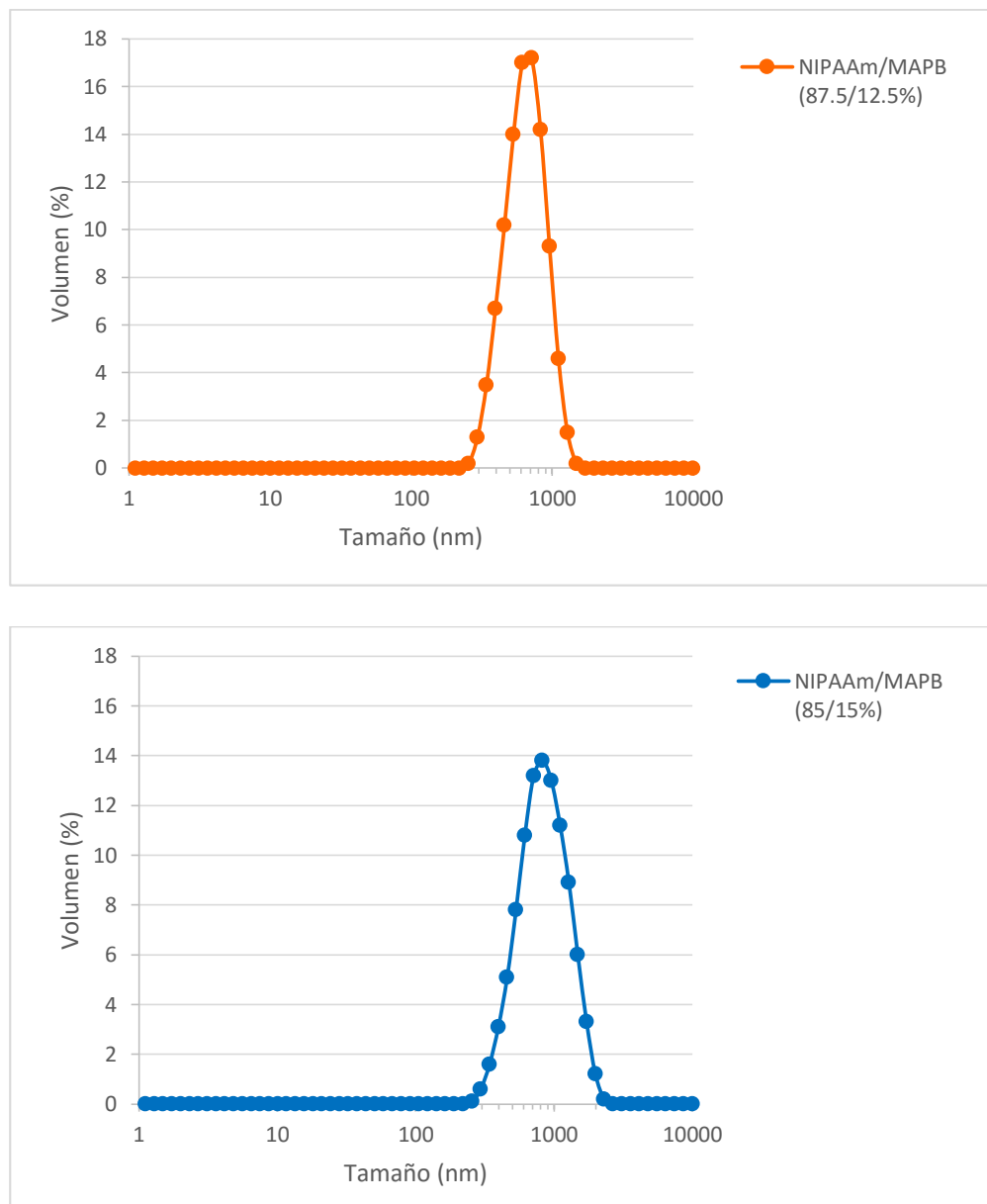
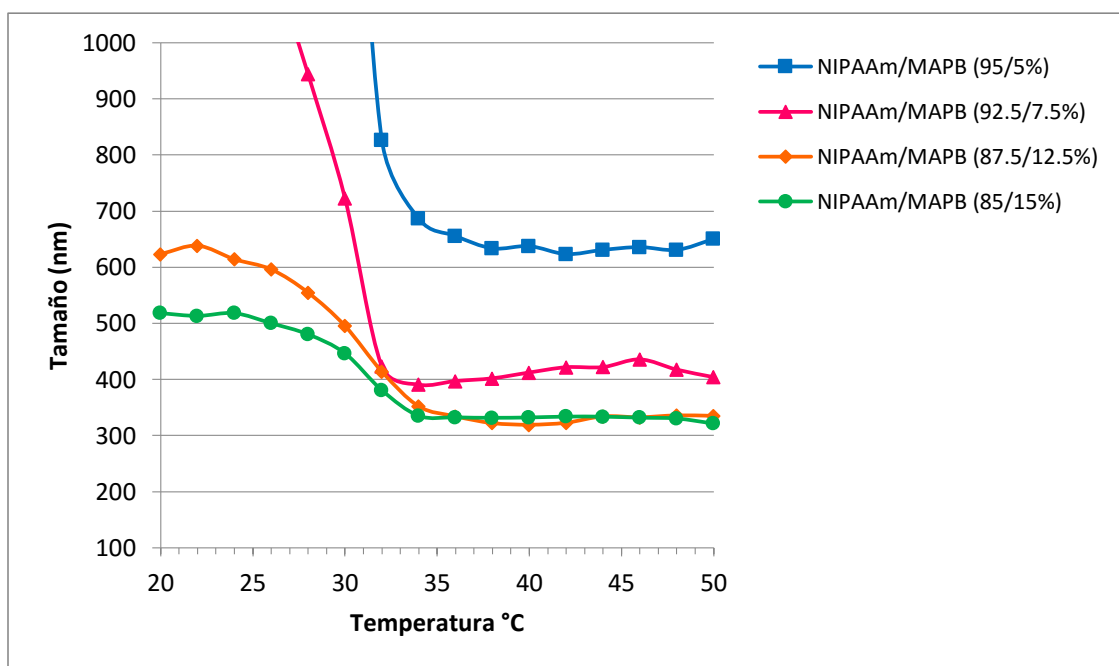


Figura 7. Datos de tamaño de NIPAAm/MAPB en diferentes porcentajes.

V.1.2. LECTURA DE BARRIDO DE NANOPARTÍCULAS DE NIPAAm/MAPB

Se realizaron barridos en el equipo de Zetasizer, para cada una de las muestras se realizó de 20 a 50 °C para observar su comportamiento en tamaño a través de la temperatura y observar el hinchamiento y colapso de las micropartículas **Grafica 1**, en esta grafica se

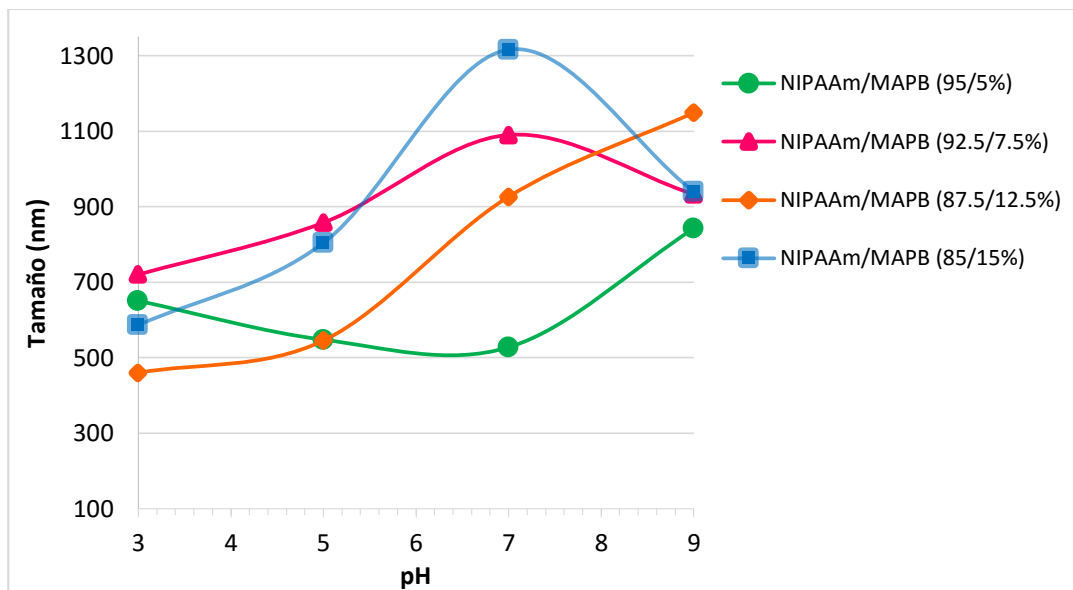
observa que la temperatura entre las cuatro reacciones comienzan su colapso entre 32 a 34 °C, que concuerda con la temperatura típica de la NIPAAm que es a 32°C que puede considerarse adecuada sin embargo al no mostrar un incremento mayor consideramos que este monómero no es lo suficientemente hidrofílico para llegar a estar por encima de la temperatura corporal sin embargo esto no limita su aplicación .



Grafica 1. Tamaño vs Temperatura de nanopartícula de NIPAAm/MAPB.

V.2. ANÁLISIS DEL TAMAÑO DE NANOPATICULAS CON RESPECTO A EL pH.

Se analizó el tamaño de cada porcentaje de muestra a los diferentes pH mostrados en la **Grafica 2**, en la que se puede observar que pH 3 muestra un menor tamaño de partícula, y con el aumento de pH las muestras tienden a sufrir un aumento del tamaño el que puede ser atribuido a un proceso de aglomeración en todas las muestras mostrando su máximo tamaño entre pH 7 y 9, sin embargo en la reacción de NIPAAm/MAPB al 5% esta muestra un tamaño más pequeño en pH 5 y 7 en referencia al pH 3, y sufriendo el aumento en el tamaño en el pH 9.

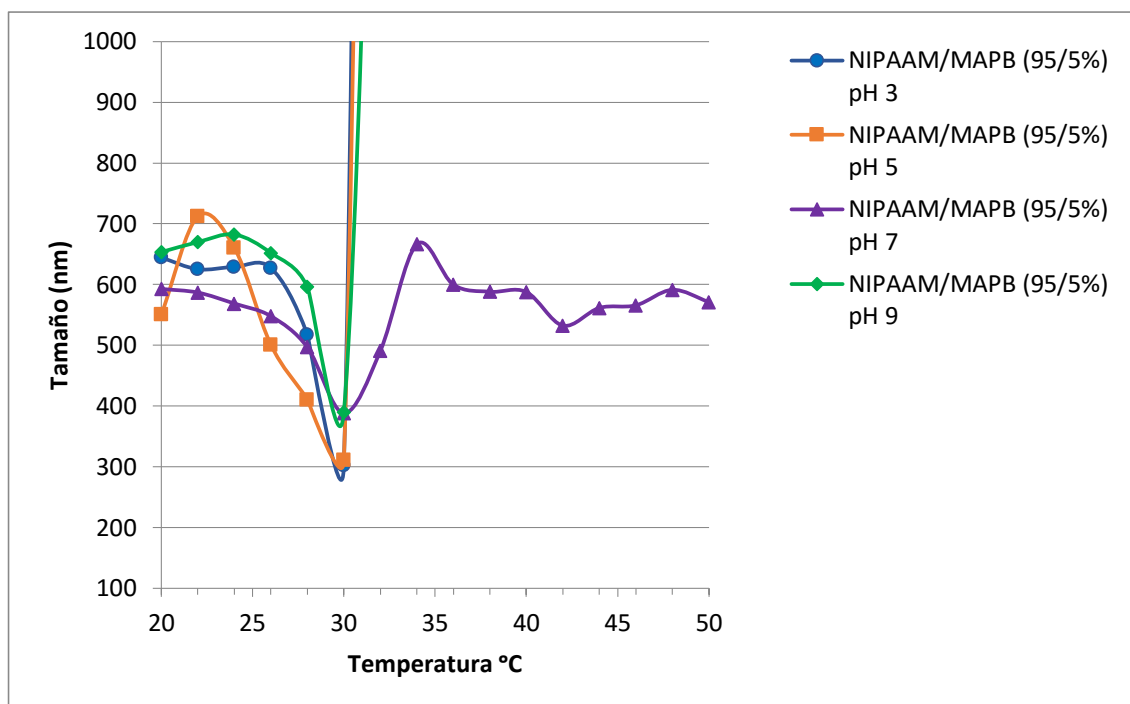


Grafica 2. Lectura de pH en los distintos % de NIPAAm/MAPB.

V.3. ANÁLISIS DEL TAMAÑO DE NANOPATICULAS CON RESPECTO A LA TEMPERATURA Y pH.

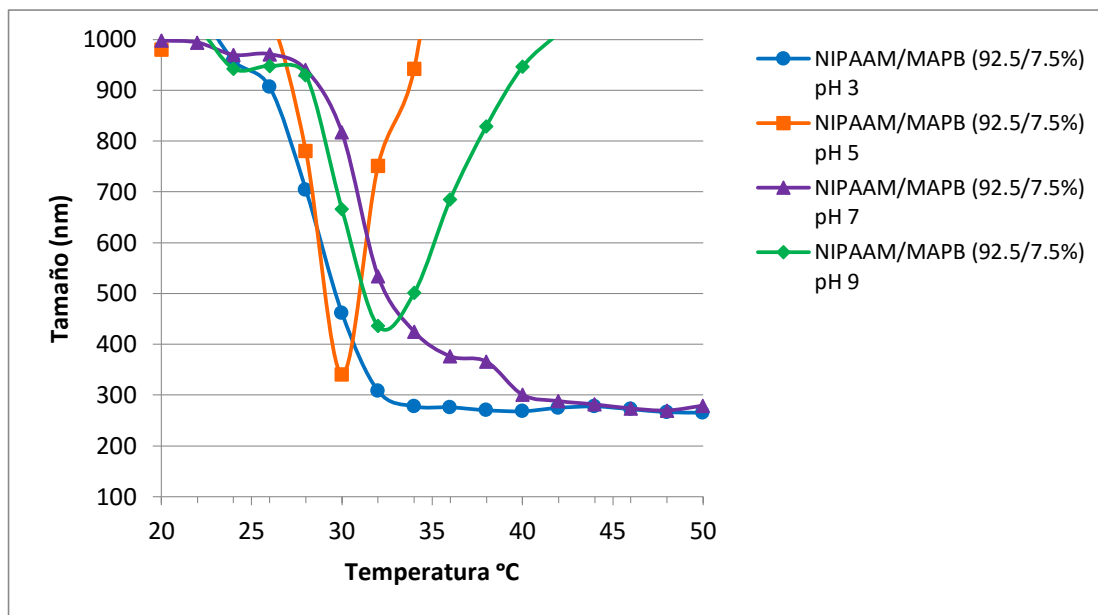
Se analizó cada una muestra por medio de dispersión de luz dinámica, en el equipo Zetasizer donde se midió el tamaño, así como el comportamiento a través de la temperatura de 20 a 50 °C en los distintos pH 3, 5, 7 y 9.

En la **gráfica 3** tenemos las lecturas de las muestras de NIPAAm/MAPB al 5%, donde vemos que el tamaño más pequeño se encuentra a 30°C sin importar el pH en el que se encuentre observándose de 300-400 nm, sin embargo a 32°C todas las muestras sufren un agregado lanzando las lectura por encima de los 1000 nm a excepción del pH 9 en el cual se observa que se agregan sin embargo estas no sobrepasan los 700 nm que es el tamaño inicial de partida.



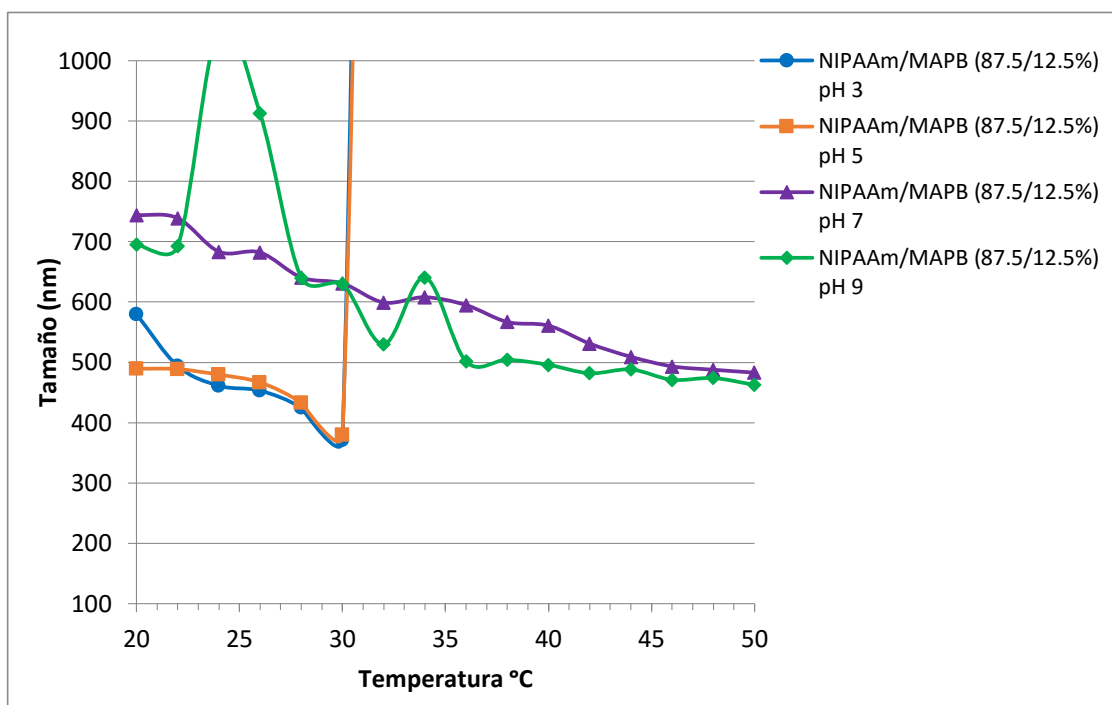
Gráfica 3. NIPAAm/MAPB 5% Tamaño por pH y Temperatura.

En la **gráfica 4.** se observan las lecturas de las muestras de NIPAAm/MAPB al 7.5%, donde vemos que el tamaño más pequeño de las cuatro muestras va de 200-300 nm, estas muestran un comportamiento extraño debido a que el pH 5 y 9 sufren una agregación a 32°C aumentando por arriba de los 1000nm, mientras que a pH 3 y 7 sufren un proceso de colapso a 34 y 36°C, manteniendo este comportamiento hasta los 50 °C.



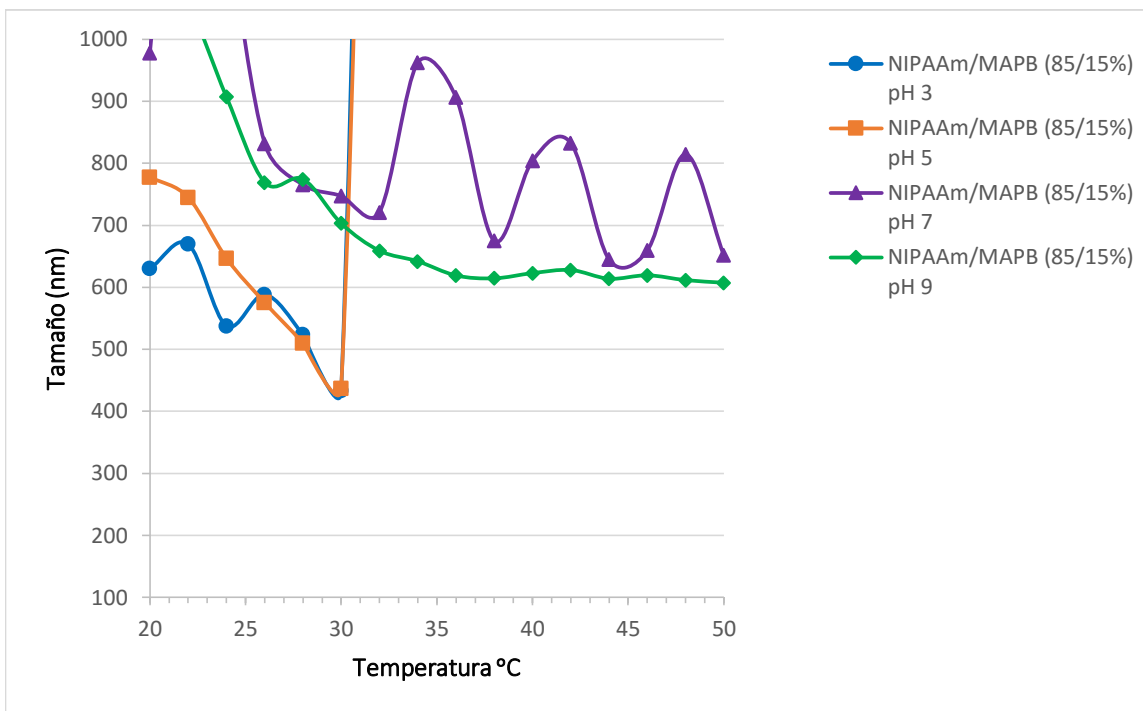
Grafica 4. NIPAAm/MAPB 7.5% tamaño por pH y Temperatura.

En la **gráfica 5**. Tenemos las lecturas de las muestras de NIPAAm/MAPB al 12.5%, donde vemos que los tamaños de las partículas se dividen en dos las que alcanzan un menor tamaño de partículas de menos de 400 nm pero sufren una agregación a 32°C que son a pH 3 Y 5 sobrepasando los 1000nm, y por otra parte las partículas que sufren un colapso a 32 y 34 °C a pH básicos de 7 y 9 llegando a un tamaño mínimo de 500 nm.



Grafica 5. NIPAAm/MAPB 12.5% tamaño por pH y Temperatura.

En la **gráfica 6**. Tenemos las lecturas de las muestras de NIPAAm/MAPB al 15%, donde vemos que el tamaño de las partículas se divide de igual manera que con las partículas de 12.5% mostrando que las de pH ácido de 3 y 5 se encuentran en tamaño más pequeño de 400nm pero a 32°C sufren una aglomeración elevando su tamaño encima de 1000nm, mientras que las partículas a pH 7 sufren un proceso de colapso aglomeración lo cual se considera una lectura de mala calidad sin embargo a pH 9 se muestra un colapso a 34°C lo cual corresponde a la reacción ante el cambio de pH.

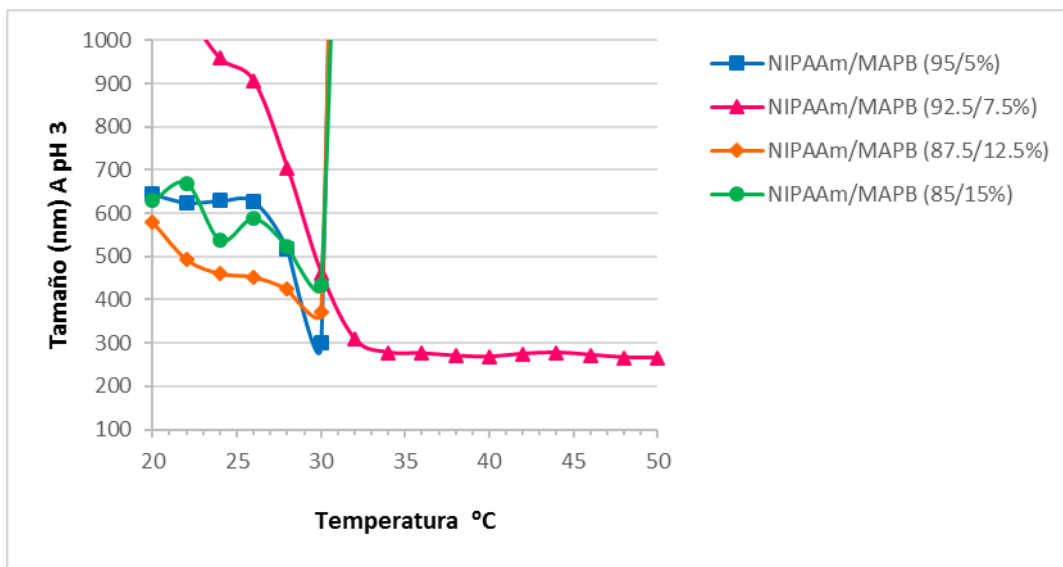


Grafica 6. NIPAAm/MAPB 15% tamaño por pH y Temperatura.

V.4. COMPARACION DEL ANÁLISIS DEL TAMAÑO NANOPARTICULA CON RESPECTO A LA TEMPERATURA Y pH.

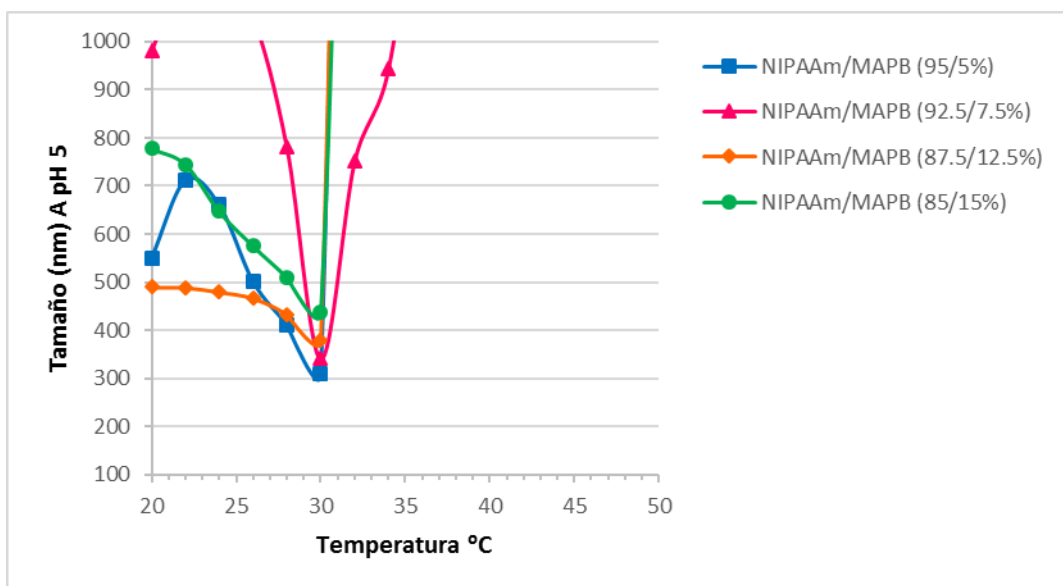
En las gráficas siguientes comparamos los distintos porcentajes de NIPAAm/MAPB al mismo pH e iguales temperaturas.

En la **gráfica 7** se comparan las muestras a pH 3, observando que la muestra al 7.5% de MAPB es la que mejores resultados obtuvo al ir aumentando su temperatura ya que el tamaño de las partículas va disminuyendo, al contrario de las otras muestras que al subir la temperatura aumenta su tamaño por el efecto de aglomeración.



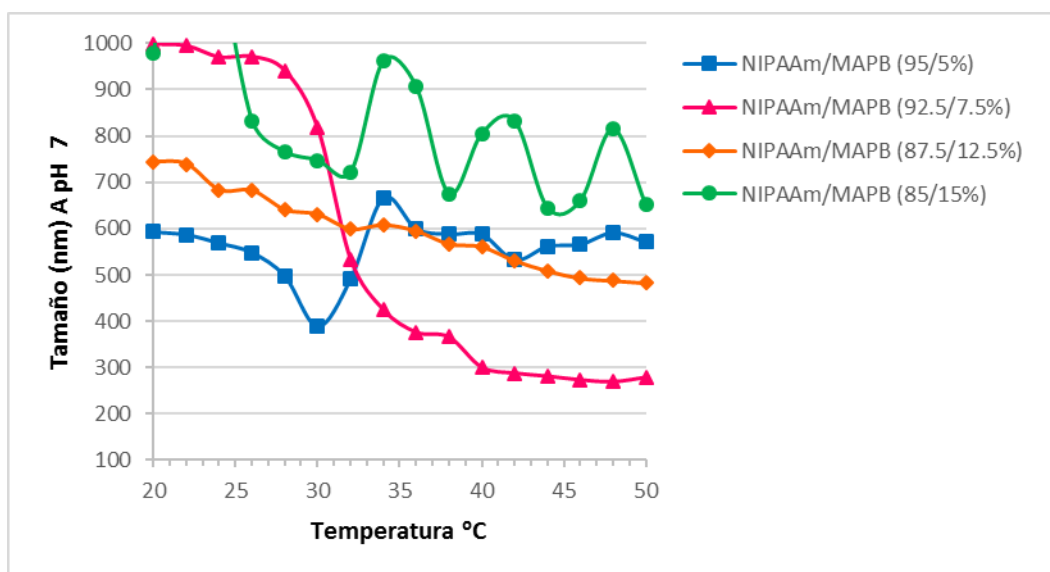
Gráfica 7. Comparación de tamaños de distintos % de NIPAAm/MAPB a pH 3.

En la **gráfica 8**. Se comparan las muestras a pH 5, observamos que las cuatro muestras tienen su tamaño más pequeño a temperatura de 30 °C, comenzando a aumentar el tamaño con forme aumenta la temperatura formando agregados.



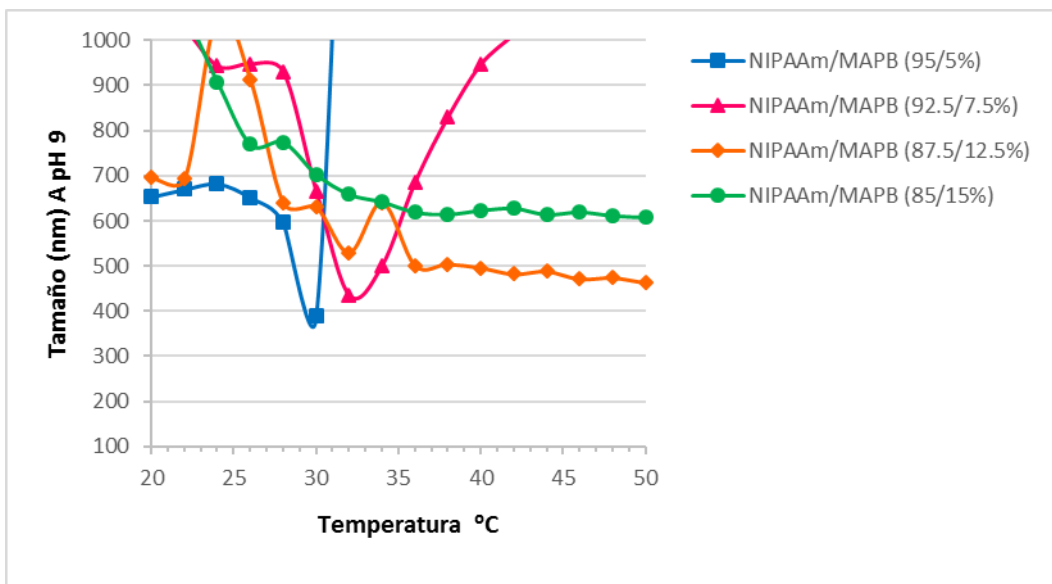
Gráfica 8. Comparación de tamaños de distintos % de NIPAAm/MAPB a pH 5.

En la **gráfica 9** se observa el comportamiento de las nanopartículas donde se observan a pH 7, en esta se observa un comportamiento variable en los diferentes porcentajes de MAPB mostrando el mejor comportamiento las partículas de 7.5 y 12.5% ya que muestran un colapso y no una agregación ante este medio.



Gráfica 9. Comparación de tamaños de distintos % de NIPAAm/MAPB a pH 7.

En la **gráfica 10** se comparan las muestras a pH 9, en esta grafica se observa que los tamaños más pequeños a este pH esta entre los 30 y 34 °C, adaptándose de mejor manera las muestra de NIPAAm/MAPB al 12.5% y 15% mostrando un mejor tamaño de partícula de los 32 °C en adelante sin la formación de agregados.



Gráfica 10. Comparación de tamaños de distintos % de NIPAAm/MAPB a pH 9.

V.5. DETERMINACIÓN DE CONTENIDO DE ÁCIDO POR TITULACIÓN

Este análisis determino la cantidad de ácido que contiene cada reacción en el cual por medio de la retro titulación se pueden cuantificar estos grupos que contiene la molécula, en la **tabla 2**, nos muestran los resultados obtenidos para cada porcentaje dando un contenido de ácido teórico y otro el real, en el cual él % teórico es menor al % real esto se debe a que se está incorporando más de lo que se espera sin embargo estos datos se consideran que no se encuentran fuera de rango si no dentro de los porcentajes esperados.

Muestra	% Teoría	% Real
NIPAAm/MAPB (95/5%)	4.4	9.3
NIPAAm/MAPB (92.5/7.5%)	6.5	7.2
NIPAAm/MAPB (87.5/12.5%)	12.4	14.4
NIPAAm/MAPB (85/15%)	13.5	15.3

Tabla 2. Porcentaje de contenido de ácido en las nanopartículas.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES

Las nanopartículas sintetizadas muestran que una sola distribución de tamaño en todos los porcentajes utilizados, lo que nos indica que todas están dentro de una distribución y no tenemos dos tamaños en una sola síntesis lo cual es necesario para continuar el análisis de estas, los tamaños se mantienen en un rango de 500 a 600 nm en su mayoría.

Estas nanopartículas mantienen una temperatura de transición similar a la NIPAAm de 32°C, cuando se encuentran en agua y mantienen una discontinuidad marcada en el proceso de colapso de las micropartículas.

Las micropartículas que se consideran con un mejor comportamiento ante el pH están a partir de 7.5% del copolímero ácido ya que estas responden con un colapso en pH básicos, mientras en el 5% de copolímero mantiene un comportamiento extraño que se puede atribuir a la heterogeneidad de las micropartículas.

Estos materiales tienen aplicación en sistemas de liberación de fármaco dependiente del pH y la temperatura, como por ejemplo en tumores cancerígenos.

CAPÍTULO VII

REFERENCIAS

1. Reillo Aurora Martin, Francisco Javier Nvarro Lupion, Pilar Bustamante Martínez; Estudio del hinchamiento de la hidroxipropilmetilcelulosa en función de la polaridad del disolvente; Tecnología Farmacéutica pág. 160.
2. Jua Rueda, Stefan Zschoche, Hartmut Komber. Dirk Schmaljohann, Síntesis y caracterización de polímeros termosensibles.
3. D. M. García¹ ; J. L. Escobar² ; N. Bada y J. de D. Casquero; Estudio de la transición crítica a temperaturas bajas en hidrogeles termosensibles; Departamento de Química Macromolecular, Centro de Biomateriales, Vedado, Ciudad de La Habana, Cuba; Departamento de Química Inorgánica y Química Técnica, Universidad Nacional de Educación a Distancia, Madrid, España.
4. Escobar J.I, D. M. Garcia, A Valerino; Influencia de la temperatura y la composición de los copolímeros sobre el proceso de hinchamiento en hidrogeles de poli(N-isopropilacrilamida-co-N,N,dimetilacrilamida) (2003)
5. VIII Programa de Promoción de la Cultura Científica y Tecnológica Nanotecnología Y Nanopartículas Magnéticas: La Física Actual En Lucha Contra La Enfermedad Antonio Hernando Grande; Rev.R.Acad.Cienc.Exact.Fís.Nat. (Esp) Vol. 101, Nº. 2, pp 321-327, 2007
6. Villa F. Robles Leopoldo; Nuevas formas farmacéuticas de liberación modificada; Nanotecnología Farmacéutica.
7. Virginia Saez, Estibaliz, Leyre López; Liberación controlada de fármacos; Aplicaciones Biomédicas (2003).
8. Rodríguez, I.C. Cerexo A. Salem. Sistemas de liberación Bioadhesivos.
9. Reynaldo Leon Almaraz, Mario Alberto Ramírez Cruz; Síntesis, caracterización y aplicación del PS entrecruzado a partir de residuos de PS; Rev. Iberoamericana de polímeros (2007).
10. Remington Farmacia, 20va edición pág., 1074, editorial medica panamericana
11. Issa A. Katime Amashta. Hidrogeles inteligentes
12. Aurora Reillo Martin, Francisco Javier Navarro Lupion, Pilar Bustamante Martinez; Estudio del hinchamiento de la hidroxipropilmetilcelulosa en función de la polaridad del disolvente.
13. Pinzón, N.; Katime, I.; Espinosa, A.; Perilla, J.; Hernández, E.; *Modelamiento del hinchamiento y difusión de solutos en hidrogeles*. Rev. Iber. Polím. (2002) 3:39-54
14. Si-Xue Chang, Jian-Tao Zhang, Ren-xi Zhuo ; Macroporous poly(N-isopropilacrylamide) hydrogels with fast response rates and improved proein release properties. (2003).
15. Tarun Garg, Arsh Chanana, Ankit Gupta; Pulsatile drug delivery systems: pulsincap system Journal of pharmacy (2012).
16. Rollet, J. M., Couvreur, P., Roblot-Treupel, L., Puisieux, F., J. Pharm. Sci, 75 (1986) 361-364.
17. Virginia Sáez¹ , Estibaliz Hernández¹ y Lucio Sanz Angulo² , Issa Katime ¹; Revista Iberoamericana de Polímeros Volumen 5(2), Julio de 2004 Sáez et al; Liberación controlada fármacos; Micro-partículas.
18. Pacios, I. E.; Horta, A. & Renamayor, C. S. - Macromoléculas, 37, p.4643 (2004).
19. Jorge Alberto Cortés Ortega; Departamento de Química, Universidad de Guadalajara; Síntesis de Hidrogeles Termo-sensibles de poli(N-isopropilacrilamida)-co-poli(N,N,-dimetilacrilamida).
20. José Manuel Cornejo-Bravo, Ángel Licea-Claverie y Miguel Ángel Velázquez; Aplicación de poli(metacrilatos de carboxialquilo) en sistemas de liberación de propranolol por intercambio iónico; Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería. Universidad Autónoma de Baja California; Rev. Soc. Quím. Méx. 2004, 48, 124-129
21. A. Licea-Claverie , E. Rogel-Hernández , J. A. López-Sanchez, L. A. Castillo-Arámbula , J. M. Cornejo-Bravo & K. F. Arndt (2003) A facile synthesis route for carboxyaryl-methacrylates: a way to obtain aromatic polyelectrolytes , Designed Monomers and Polymers, 6:1, 67-80