

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA**

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA  
MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA SALUD



**“Síntesis de nanogeles ácidos anfifílicos por polimerización en emulsión sin detergente para potenciales aplicaciones biomédicas”**

**TESIS**

Para obtener el título de  
**MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA SALUD**

Presenta

**Q.F.B. Hever Yuritzzy Vargas Molinero**

Director de tesis  
Dra. Aracely Serrano Medina

Co-Director  
Dr. José Manuel Cornejo Bravo

**TIJUANA, B.C., AGOSTO 2018**

# Universidad Autónoma de Baja California

## FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA

FOLIO No. 258

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

**C. Hever Yuritz y Vargas Molinero**  
**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 "Síntesis de nanogeles ácidos anfífilicos por polimerización en emulsión sin detergente para potenciales aplicaciones biomédicas"


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

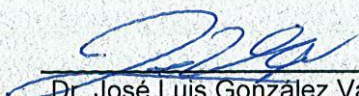
- I.- INTRODUCCIÓN
- II.- TEORÍA GENERAL
- III.- EXPERIMENTAL
- IV.- RESULTADOS
- V.- CONCLUSIONES

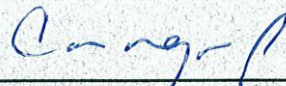
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
DE BAJA CALIFORNIA




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

## **DEDICATORIA**

Esto es para todos aquellos seres que me aman, los cuales considero parte de mi familia. Gracias familia, los quiero hacer sentir orgullosos.

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco mucho a la Dra. Aracely Serrano Medina, por sus enseñanzas, apoyo, consejos, profesionalismo, amistad, y confianza como su alumna. Así mismo, estoy muy agradecida con el Dr. José Manuel Cornejo Bravo, por brindarme la oportunidad de trabajar en el laboratorio de Biofarmacia, por su confianza, sus clases y sus consejos para el desarrollo del proyecto.

Agradezco también al Dra. Kenia Palomino Vizcaino, por su apoyo, enseñanzas, y ser parte de mi comité. También, agradezco mucho al Dr. Héctor Magaña, por su tiempo y disposición para instruirme en las técnicas de síntesis de monómeros y caracterización de monómeros. Agradezco a la M.C. Daniela Becerra, por hacer más ameno el trabajo en el laboratorio apoyarme durante todo el proyecto.

En especial quiero agradecer profundamente a la Q.F.B. Jesús Iván Rodríguez Vásquez, por su gran ayuda en todo momento para el desarrollo de este proyecto. Agradezco a mis compañeros del laboratorio de Biofarmacia, Alondra, Paola, Ayla, Mimi, y José Daniel, por haber trabajado en conjunto, platicado y convivido siempre con respeto.

Agradezco a mi familia, mi madre Yolanda Molinero, a mi padre Juan Vargas, por su apoyo incondicional en la realización de mis estudios. Y a mi hermano Hugo Vargas un pilar muy importante en la familia y una gran persona a la cual le quiero expresar mi profunda admiración y agradecer todo su apoyo.

## RECONOCIMIENTOS INSTITUCIONALES

Me encuentro agradecida a esta ciudad Tijuana, Baja California, México, la cual me adoptó desde el comienzo de mis estudios profesionales, me convirtió en una orgullosa cimarrón, egresada de la Universidad Autónoma de Baja California, está mi alma mater a su vez me brindó la oportunidad y 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 a mi muy querido 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 No. 765709.

## INDICE

<b>Contenido</b>	<b>Página</b>
Hoja de aprobación.....	<b>II</b>
Dedicatorias.....	<b>III</b>
Agradecimientos.....	<b>IV</b>
Reconocimientos institucionales.....	<b>V</b>
Lista de abreviaturas.....	<b>IX</b>
Lista de figuras.....	<b>X</b>
Lista de tablas .....	<b>XI</b>
Resumen .....	<b>XII</b>
<b>CAPÍTULO I INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>14</b>
I.1 Antecedentes.....	<b>15</b>
I.2 Objetivo general.....	<b>18</b>
I.3 Objetivos específicos.....	<b>19</b>
I.4 Justificación.....	<b>19</b>
I.5 Hipótesis.....	<b>21</b>
<b>CAPÍTULO II TEORIA GENERAL.....</b>	<b>22</b>
II.1 Innovación en nanotecnología contra el cáncer .....	<b>23</b>
II.2 Sistemas poliméricos en administración de fármacos.....	<b>25</b>
II.3 Clasificación de sistemas nanométricos para la liberación de fármacos.....	<b>27</b>
II.4 Utilización de hidrogeles como sistemas liberadores de fármacos...	<b>27</b>
II.5 Clasificación de hidrogeles.....	<b>30</b>
II.6 Métodos de polimerización por emulsión .....	<b>31</b>

II.7 Polimerización por emulsión sin detergente.....	<b>32</b>
II.8 Polielectrolitos y moléculas anfífilas.....	<b>34</b>
II.9 Nanogeles sensibles al pH.....	<b>37</b>
<b>CAPÍTULO III EXPERIMENTAL .....</b>	<b>38</b>
III.1 Generalidades.....	<b>39</b>
III.1.2 Purificación de EGDMA .....	<b>41</b>
III.2 Obtención del monómero.....	<b>41</b>
III.2.1 Síntesis de monómeros tipo n-metacrilamido- $\omega$ -aminoácidos.....	<b>41</b>
III.2.2 Purificación de monómeros tipo n-metacrilamido- $\omega$ -aminoácidos	<b>43</b>
III.2.3 Caracterización de monómeros tipo n-metacrilamido- $\omega$ -aminoácidos.....	<b>43</b>
III.2.3.1 Cromatografía en capa fina (TLC).....	<b>43</b>
III.2.3.2 Espectrofotometría de infrarrojo con transformadas de Fourier (FT-IR).....	<b>44</b>
III.2.3.3 Resonancia magnética nuclear de protón ( $^1\text{H-RMN}$ ).....	<b>45</b>
III.3 Síntesis de sal de potasio de monómeros tipo n-metacrilamido- $\omega$ -aminoácidos.....	<b>45</b>
III.4 Síntesis de nanogeles mediante el método de polimerización por emulsión sin detergente nanogeles de CAM10 (72:25 y 50:50).....	<b>46</b>
III.5 Síntesis de nanogeles mediante el método de polimerización por emulsión sin detergente nanogeles de cam5 (72:25 y 50:50).....	<b>47</b>
III.6 Estudio de emulsión.....	<b>48</b>
III.7 Preparación de la muestra para microscopía TEM.....	<b>48</b>
III.8 Purificación de los nanogeles.....	<b>49</b>
III.9 Liofilización y Reconstitución.....	<b>49</b>
III.10 Determinación del tamaño por DLS.....	<b>50</b>

<b>CAPÍTULO IV RESULTADOS.....</b>	<b>51</b>
IV.1 Síntesis de monómero CAM10 y CAM5.....	<b>52</b>
IV.2 Caracterización de monómeros tipo n-metacrilamido- $\omega$ -aminoácidos.....	<b>53</b>
IV.2.1 Caracterización por Cromatografía de capa fina (TLC).....	<b>53</b>
IV.2.2 Caracterización de Espectroscopía de infrarrojo FT-IR.....	<b>54</b>
IV.2.3 Caracterización de monómero tipo CAM por Resonancia Magnética Nuclear.....	<b>55</b>
IV.2.4 Caracterización de monómero tipo cam por FESEM.....	<b>57</b>
IV.3 Síntesis se sal al de potasio de monómero tipo carboxialquilmecrilamida.....	<b>57</b>
IV.4 Síntesis de nanogeles mediante el método de polimerización por emulsión sin detergente.....	<b>58</b>
VI.5 Efecto del pH en el tamaño hidrodinámico de los nanogeles y en el índice de polidispersidad	<b>60</b>
	<b>66</b>
<b>CAPITULO V CONCLUSIONES.....</b>	
	<b>68</b>
<b>REFERENCIAS.....</b>	

## LISTA DE ABREVIATURAS

APS	Persulfato de amonio
CAM	Carboxialquilmetacrilamida
CAM5	6-Metacriloilamidohexanoico
CAM10	11-Metacriloilamidoundecanoico
CAM5K	Sal de potasio 6-metacriloilamidohexanoico
CAM10K	Sal de potasio 11-metacriloilamidoundecanoico
Dh	Diámetro hidrodinámico
DLS	Dispersión de luz dinámica
EGDMA	Etilenglicol dimetacrilato
<i>FT-IR</i>	Espectrometría infraroja de transformada de Fourier
<i>H MNR</i>	Resonancia magnética nuclear
LCST	Temperatura Crítica Inferior de Solución
MMA	Metacrilato de metilo
Nm	Nanómetros
pNIPAAm	Poli ( <i>N</i> -isopropilacrilamida)
FESEM	Microscopía Electrónica de emisión de campo
TLC	Cromatografía de capa fina

## LISTA DE FIGURAS

CONTENIDO		Pag.
Figura 1	Representación de un nanogel en proceso de hinchamiento y liberación de fármaco.	<b>24</b>
Figura 2	Liberación del fármaco cargado, por medio de estímulo.	<b>25</b>
Figura 3	Fases de la polimerización por emulsión.	<b>34</b>
Figura 4	Reacción de síntesis para los monómeros tipo N-metacrilamido- $\omega$ -aminoácidos.	<b>42</b>
Figura 5	Síntesis de sal de potasio de carboxialquilmetacrilamida.	<b>46</b>
Figura 6	Carboxialquilmetacrilamida-5 (a) y Carboxialquilmetacrilamida-10.	<b>52</b>
Figura 7	TLC Iluminada con UV de CAM10 purificado.	<b>53</b>
Figura 8	FT-IR del ácido 6-aminocaproico (morado) 11-metacriloilamidoundecanoico (rosa).	<b>54</b>
Figura 9	$^1\text{H}$ MNR de CAM10.	<b>56</b>
Figura 10	Microscopia FESEM de nanogeles de CAM10k-MMA 50:50, tiempo de reacción 45min (A) y 24hrs (B).	<b>57</b>
Figura 11	Sal potásica de CAM5 liofilizada (A) y Sal potásica de CAM10(B).	<b>58</b>
Figura 12	Comparación de los tamaños de los nanogeles en diferentes proporciones.	<b>61</b>
Figura 13	Comparación de los tamaños de los nanogeles de CAM10K y MMA a una proporción 50:50 con un tiempo de reacción de 45min, en diferentes pH.	<b>63</b>
Figura 14	Comparación de los tamaños de los nanogeles de CAM10K y MMA a una proporción 50:50 con un tiempo de reacción de 1hr, en diferentes pH.	<b>63</b>
Figura 15	Comparación de los tamaños de los nanogeles de CAM10K y MMA a una proporción 75:25 con un tiempo de reacción de 45min, en diferentes pH.	<b>65</b>

## TABLA DE ECUACIONES

Ecuación 1	Fórmula para la obtención de los gramos necesarios de hidróxido de potasio.	<b>46</b>
Ecuación 2	Fórmula para cálculo de rendimiento de nanogeles.	<b>64</b>

## LISTA DE TABLAS

<b>CONTENIDO</b>		<b>Pag.</b>
Tabla 1	Proporciones de los monómeros en la formación de emulsiones.	<b>59</b>
Tabla 2	Tamaños promedios de nanogeles en solución acuosa.	<b>60</b>
Tabla 3	Comparación de los cambios de tamaño medido mediante DLS de dos reacciones de CAM10k-MMA con proporción 50:50 a dos diferentes tiempos de reacción.	<b>62</b>

## RESUMEN

Los nanogeles proporcionan oportunidades para diseñar y afinar propiedades que no son posibles con otros tipos de terapéutica. Las polimerizaciones en agua, tales como la polimerización en emulsión, son de gran importancia en la aplicación industrial, ya que tienden a no causar daños al medio ambiente, eliminan fácilmente el calor de reacción durante la polimerización y aseguran la manipulación factible del producto final con baja viscosidad. Los copolímeros con cadenas anfifílicas que tienen partes hidrófobas e hidrófilas pueden formar una estructura micelar, sin necesidad de detergente.

Se sintetizaron nanogeles con una serie de la sal potásica de ácidos anfifílicos; 11-metacriloilamidoundecanoato (CAM10K) y 6-metacriloilamidocaproato (CAM5K). La síntesis de los monómeros de tipo carboxialquimetacrilamidas (CAM), se llevó a cabo por el método de Schotten- Baumann, referido a la formación de amidas por acilación de aminas primarias. La síntesis de la sal de potasio a partir de los monómeros CAM sintetizados se llevó a cabo mediante igualación de moles, se calcula la cantidad de hidróxido de potasio necesaria para que reaccione con 2 gramos del monómero de tipo CAM.

Para la síntesis de nanogeles se utilizaron una proporción de los monómeros CAM en forma de sal potásica como emulsificante y una proporción de metacrilato de metilo (MMA) como comonómero. La distribución del tamaño de los productos de nanogeles se evaluaron mediante DLS utilizando un Zetasizer Nano NS. Las

polimerizaciones se llevaron a cabo por encima de 60 °C. Se detuvo la reacción por enfriamiento. Se purificaron por ultracentrifugado y diálisis. Las nanogeles se recuperaron por liofilización.

Se utilizó la proporción 50:50 de MMA y CAM10K, obteniendo nanogeles de 54 nm, también se obtuvo la proporción 75:25 MMA:CAM10K obteniendo nanopartículas de tamaño 77 nm. Con MMA:CAM5K al 50:50 obteniendo nanopartículas de 75 nm. Y la proporción 75:25 MMA:CAM5K obteniendo nanogeles de 85 nm

Con las proporciones utilizadas, se obtienen nanogeles que presentan un tamaño óptimo para ser aplicadas como sistemas de liberación de fármacos antineoplásicos y aprovechando el efecto permeación retención tumoral por el tamaño a escala nanométrica.

**CAPÍTULO I**  
**INTRODUCCIÓN**

## I.1 ANTECEDENTES

Las polimerizaciones en suspensión en agua, tales como las polimerizaciones en emulsión y en suspensión, son de gran importancia en la aplicación industrial, ya que tienden a no causar daños al medio ambiente, eliminan fácilmente el calor de reacción durante la polimerización y aseguran la manipulación factible del producto final con baja viscosidad (R.G. Gilbert, 1995).

Se han estudiado una diversidad de copolímeros de naturaleza anfifílicos como estabilizadores potenciales en la polimerización en emulsión sin detergente. En la polimerización heterogénea, se puede usar una concentración menor de copolímeros anfifílicos que la de los tensioactivos o estabilizantes convencionales (C.J. Ferguson, R.J. Hughes, D. Nguyen, B.T.T. Pham, R.G. Gilbert, A.K. Serelis, *et al*, 2005). Los copolímeros con cadenas de tipo anfifílicos que tienen partes hidrófobas e hidrófilas pueden formar una estructura micelar. Para el anclaje eficiente en un copolímero anfifílicos, la cadena hidrófoba tiene que ser lo suficientemente larga, sin embargo, esto podría conducir a una dificultad en la solubilización del copolímero en solución acuosa antes de la polimerización. Como alternativa se emplea un polímero hidrofílico reactivo capaz de reaccionar durante la polimerización, proporcionando por lo tanto un estabilizador de copolímero anfifílico en el sitio. El copolímero dibloque anfifílico se utiliza para emulsionar la fase monomérica en agua, estabilizar las partículas e iniciar la polimerización de un tercer monómero para la preparación de copolímeros tribloque ABC usando un Activador Generado por Transferencia de Electrones. (Yeonhwa Wi, Kangseok Lee, Byung Hyung Lee and Soonja Choe, 2008)

En investigaciones previas, se han desarrollado nanopartículas poliméricas con diferentes fármacos antineoplásicos, tales como, paclitaxel, docetaxel, cisplatino, 5-fluorouracilo, doxorubicina, entre otros (Danhier Fabienne, Nathalie Lecouturier, Benoît Vroman. 2009; Farokhzad, Omid C, Jianjun Cheng, Benjamin A Teply, Ines Sherifi, Sangyong Jon, Philp W Kantoff, Jerome P Richie and Robert Langer. 2006). Se han sintetizado nanogeles y microgeles sensibles a pH y temperatura mediante un método de polimerización de dispersión, el cual consiste en N-isopropilacrilamida (NIPAAm) y dos diferentes carboxialquilmetacrilatos (CAM): 5-methacrililoiloxipantenoato sal de potasio (M4K), y 11-methacrililoiloxiundecanoato sal de potasio (M10K). En donde se demostró que los monómeros ácidos derivados de ácidos carboxílicos tienen un efecto significativo sobre el tamaño y la sensibilidad al pH de las nanopartículas formadas, y tienen un gran potencial para aplicaciones biomédicas (por ejemplo, liberación de fármacos activados por temperatura y/o pH) (Serrano-Medina, Cornejo-Bravo and Licea-Claverie 2012; Castro-Vidal, Obeso-Vera, Suarez-Meraz, Lara-Molinero, Serrano-Medina and Cornejo-Bravo 2016).

En el Instituto de Polímeros y Petroquímica de Irán (IPPI), se aprovecharon las propiedades fotocromáticas de los compuestos espiropiranos se preparó uno de los primeros materiales fotocromáticos redispersables sensibles a estímulos, son una nueva clase de polímeros de latex inteligentes. Se obtuvieron nanopartículas de estructura predeterminada que son activadas por pH,  $CO_2/N_2$  y luz ultra violeta (UV)/visible, obtenidas a partir del copolímero poli (N,N-dimetilaminoetil metacrilato-b-metacrilato de metilo) (poli (DMAEMA-b-MMA)), mediante polimerización mediada por Transferencia de Cadena de Fragmentación de Adición reversible

(RAFT). (Khakzad, Fahimeh, Ali Reza, Hamid Salehi-Mobarakeh, Abbas Rezaee Shirin-Abadi, and Michael Cunningham. 2016).

Están reportadas también la formación de micelas, utilizando poli-N-isopropilacrilamida (P-NIPAAm) y poli-metacrilato de metilo (P-MMA), basando el diseño de estos copolímeros en el carácter hidrofílico de PNIPAAm por debajo de su temperatura crítica de transición (LCST), combinado con las propiedades hidrófobas de P-MMA. Micelas poliméricas termo-responsivas de tamaño nanométrico con una distribución de tamaño de 190 nm en medio acuoso. Se cargaron con acetato de prednisona y se estudió el cargado y liberación del fármaco de acuerdo con los cambios estructurales sensibles a la temperatura; propiedades que pueden utilizarse como sistemas inteligentes de administración de fármacos. (Wei, Hua, Xian-Zheng Zhang, Ying Zhou, Si-Xue Cheng, and Ren-Xi Zhuo. 2006).

En otro estudio se analizó la importancia de ajustar la LCST por encima de la temperatura corporal, para que los nanoacarreadores de fármacos, una vez inyectados en el organismo, circulen en sangre, pero colapsen solamente en el tejido canceroso, entregando específicamente ahí el fármaco; lo que vuelve significativos estos nanomateriales para la aplicación biomédica. Se desarrollaron polímeros en estrella con núcleos reticulados y brazos sensibles a la temperatura, Los brazos consistían en un copolímero dibloque que contenía N-isopropilacrilamida (NIPAAm) y ácido 4-metacrilóiloxibenzoico(4MBA) en el bloque sensible a la temperatura y poli (acrilato de hexilo) formando el segundo bloque hidrófobo, mientras que el etilenglicol dimetacrilato para formar el núcleo. Los polímeros en

estrella se cargaron con 5-fluorouracilo (5-FU), un agente anticanceroso, en valores de hasta 30% p / p. Los experimentos de liberación in vitro se realizaron a diferentes temperaturas y valores de pH, así como con calentamiento y ciclos de temperatura de enfriamiento. Se obtuvo una liberación más rápida del fármaco a 42 °C o pH 6, en comparación con las condiciones fisiológicas normales (37 °C, pH 7.4). (Sánchez-Bustos, Cornejo-Bravo and Licea-Claverie 2016).

Entre los diversos métodos que se pueden utilizar para mejorar las propiedades del polímero, la mezcla de polímero es una alternativa flexible y económica. Los beneficios de la mezcla son muchos, la modificación de la temperatura de transición vítrea a mejoras de resistencia a la fractura, la flexibilidad y capacidad de procesamiento. imponiendo diferentes morfologías y características de la matriz. Miscibilidad, la cristalinidad, y la estructura morfológica son factores determinantes de las propiedades de la mezcla final. PLA se utilizó mezclado con polímeros y plastificantes biodegradables y no biodegradables. Se ha informado de la mezcla de PLA con poli (metacrilato de metilo) (PMMA), un polímero biocompatible, bio-inerte todavía no biodegradable a base de petróleo que presenta conocido propiedades químicas y físicas. Mostrando buena sinergia, parcialmente degradable PLA / PMMA combinado mejora las propiedades presentando interesantes resultados para una amplia gama de aplicaciones, incluyendo los materiales con memoria de forma y la ingeniería de tejidos.( Peres, Luana Becker, Laize Becker Peres, Tatiany J Faria, and João Vitor De Assis. 2017).

## **I.2 OBJETIVO GENERAL**

Sintetizar nanogeles con una serie de ácidos amfifílicos que respondan a cambios del pH en el medio ambiente y estudiar sus características.

### 1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Sintetizar los monómeros carboxialquilmacrilamidas  $n= 5$  y  $10$
2. Sintetizar la sal de potasio a partir de los monómeros sintetizados de carboxialquilmacrilamidas.
3. Caracterizar los monómeros mediante FTIR, RMN, TLC
4. Encontrar las proporciones optimas de monómeros para preparar nanogeles de CAM5K-MMA y CAM10k para obtener tamaños a escalas nanométricas.
5. Sintetizar nanogeles con la sal de los monómeros carboxialquilmacrilamidas con  $n= 5$  y  $10$  y metilmacrilato (MMA) determinando las proporciones adecuadas de cada monómero.
6. Evaluar la estabilidad de las partículas en solución tamaño y PDI, mediante DLS
7. Obtener nanogeles con morfología de tipo núcleo-coraza.
8. Caracterizar de las nanogeles sintetizadas en su diámetro hidrodinámico ( $D_h$ ) y su efecto en el pH.
9. Caracterizar la morfología y tamaño de las nanopartículas por microscopia de electrónica de barrido de emisión de campo.

## **I.4 JUSTIFICACIÓN**

La necesidad de una terapéutica segura y eficaz en el tratamiento de cáncer nos sitúa en la búsqueda de tratamientos en los cuales se aproveche la utilidad y precisión de los fármacos anticancerosos, que garantice una mayor seguridad después de administrados, así como especificidad en el tejido dañado, para disminuir o anular el potencial de lesión a tejidos sanos. Las nanopartículas representan una alternativa, ya que, como vehículos acarreadores de fármacos antineoplásicos, tienden a acumularse en el tejido tumoral por el efecto permeación retención aumentado, minimizando la distribución sistémica. Esto es de suma importancia, ya que administraciones parenterales de potentes anticancerígenos frecuentemente induce efectos secundarios intensos debidos a la acción de los fármacos en sitios no deseados.

Con esta acción inespecífica del fármaco, la concentración de fármaco ubicada en el tumor no es la óptima, ya que gran parte del fármaco disponible se distribuye de manera general en el organismo, entrando también en tejido sano lo que conduce a la toxicidad y finalmente la dosis efectiva se convierte en una dosis ineficaz.

Uno de los principales tratamientos para el cáncer es la quimioterapia, la cual tiene grandes limitaciones y genera varios efectos adversos, por ejemplo, cardiotoxicidad; este efecto puede manifestarse de diversas maneras que van desde una elevación transitoria de la tensión arterial, bradicardia, hipotensión o

arritmias, hasta una insuficiencia cardíaca no reversible. Otro ejemplo son los efectos genotóxicos de los fármacos antineoplásicos en las células no tumorales, teniendo especial significancia debido a la posibilidad de que puedan inducir alteraciones genéticas en las células y tumores secundarios en pacientes con cáncer.

Los fármacos antineoplásicos pueden interactuar con el ADN, directa o indirectamente, dañando e inhibiendo la síntesis de ADN, afectando la mitosis e inhibiendo la proliferación celular.

Es por este motivo que es necesario prevenir estos efectos indeseados a través de la creación de nuevas moléculas acarreadoras de fármacos antineoplásicos con acciones similares, que dirijan y coloquen el fármaco específicamente en el tumor, minimizando el depósito en las células sanas. Otra de las ventajas que se tiene, es el método de polimerización, debido a que siendo polimerización por emulsión sin detergente y/o auto emulsión, ya no es necesaria la eliminación de tensoactivo, lo que presentaba inconvenientes a la hora de obtener los nanogeles sin impurezas, ya que dichas impurezas acarrea una gran dificultad y esfuerzo para poder eliminarlas.

## **I.5 HIPÓTESIS**

Es posible sintetizar nanogeles anfifílicos contenido grupos ácidos débiles con potenciales aplicación a liberación de fármacos, por polimerización en emulsión sin detergente, ya que son capaces de responder a estímulos de cambios de pH.

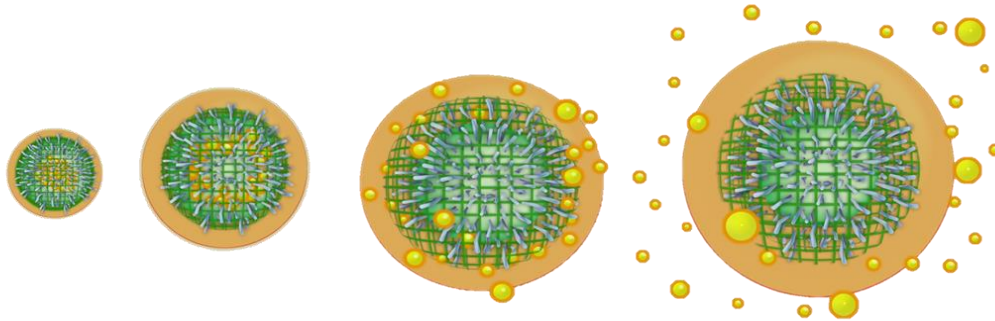
**CAPÍTULO II**  
**TEORÍA GENERAL**

## **II.1 INNOVACIÓN EN NANOTECNOLOGÍA CONTRA EL CÁNCER**

La nanotecnología tiene el potencial de revolucionar el diagnóstico y la terapia del cáncer. Los avances en la ingeniería de proteínas y la ciencia de materiales han contribuido a nuevos puntos de focalización a nanoescala que puede traer nueva esperanza a los pacientes con cáncer (Peer, Dan, Jeffrey M Karp, Seungpyo Hong, Omid C Farokhzad, Rimona Margalit, and Robert Langer 2007).

En las últimas décadas se ha desarrollado un gran número de sistemas de administración de fármacos antineoplásicos basados en nanopartículas. Las nanopartículas poliméricas representan una de las mejores bases para sistemas de administración de fármacos dirigidos y controlados para tratar el cáncer de diferentes fenotipos (Hans and Lowman 2002; Kumari, Yadav, and Yadav 2010). Esto debido, a que han demostrado una mejor compatibilidad, tiempo de circulación prolongada, mayor acumulación en el tejido tumoral y menores efectos secundarios.

Las nanopartículas son matrices poliméricas o sistemas con depósito donde la liberación es controlada por la penetración de un disolvente, vía ósmosis o hinchamiento. Sistemas en los que el compuesto activo se encuentra disuelto o disperso en un soporte de polímero hidrófilo, entrecruzado o no, el cual se hincha sin disolverse cuando se pone en contacto con un medio acuoso. La migración del fármaco al medio acuoso implica un proceso de absorción de agua y del fármaco, el fármaco se encuentra disuelto o disperso en un soporte de polímero hidrófilo, que se hincha sin disolverse al contacto con un medio acuoso, comúnmente conocido como hidrogel.

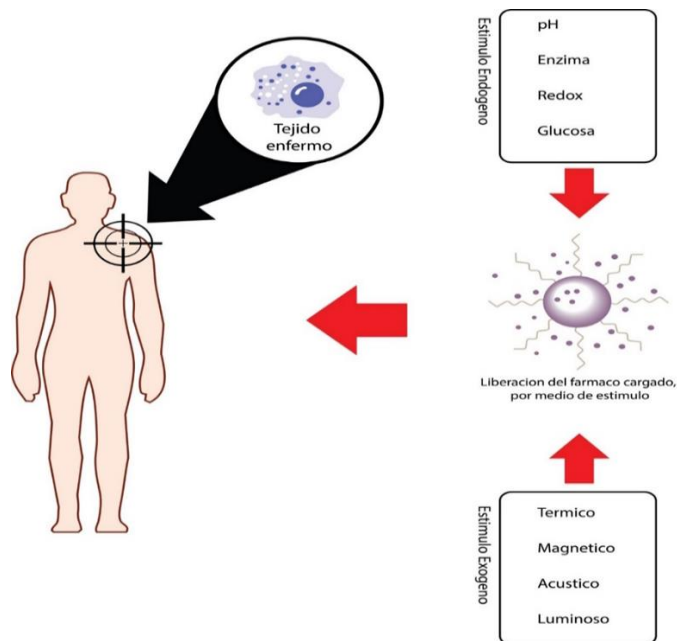


**Fig. 1** Representación de un nanogel en proceso de hinchamiento y liberación de fármaco.

El grado de hinchamiento depende del balance hidrófilo-hidrófobo de la matriz polimérica y del grado de entrecruzamiento a través de un mecanismo de difusión controlado por el hinchamiento del polímero (Sáez, Hernáez and Sanz-Angulo, 2004). Siendo estas una red polimérica tridimensional reticulada capaz de absorber una gran cantidad de disolvente sin disolverse debido a los enlaces físicos o químicos formados entre sus cadenas (Vinogradov, Serguei, Bronich, and Kabanov 2002; Wu and Zhou 2010), caracterizadas como gel, el cual, si el disolvente en agua, se denomina hidrogel. Los hidrogeles son producidos por una reacción de uno o más monómeros o mediante la asociación de polímeros a través de puentes de hidrógeno o por interacciones electrostáticas. Los polímeros formadores de hidrogeles típicamente contienen grupos hidrofílicos tales como:  $-OH$ ,  $-COOH$ ,  $-NH_2$ ,  $-CONH_2$ ,  $-CONH-$ ,  $-SO_3H$ . Así mismo, estos materiales existen en un estado entre sólido y líquido característico, que los diferencia de otros estados de la materia (Matzelle and Reichelt 2008, Hoare and Kohane 2008; Peppas, Nicholas A, J Zach Hilt, Ali Khademhosseini, and Robert Langer 2006).

## II.2 SISTEMAS POLIMÉRICOS EN ADMINISTRACIÓN DE FÁRMACOS

En los últimos años se ha incrementado el interés por sistemas poliméricos de tamaño submicrónico. Algunos hidrogeles de tamaño en nanómetros, es decir, nanopartículas, son capaces de regular la liberación de fármacos en respuesta a estímulos externos de naturaleza física, química y biológica. Esta nanoestructura ofrece muchas características avanzadas como sistema de administración de fármacos, incluyendo simplicidad de formulación, estabilidad excepcional de la dispersión y almacenamiento en forma liofilizada para su posterior dispersión en medios acuosos (Vinogradov and Serguei V 2006).



**Fig. 2** Liberación del fármaco cargado, por medio de estímulo.

Este fenómeno de Efecto Permeación Retención (EPR) ha sido la base de las plataformas de nanotecnología para entregar eficazmente fármacos a los tumores, a través de nanopartículas (Prabhakar, Blakey and Maeda 2013).

Los sistemas nanométricos de administración de fármacos que utilizan nanopartículas son tecnologías emergentes para la administración de fármacos quimioterapéuticos en el tratamiento del cáncer. Su uso ofrece propiedades farmacocinéticas mejoradas, liberación controlada y sostenida de fármacos y, lo que es más importante, menor toxicidad sistémica. Los avances recientes ofrecen un mejor tratamiento de los cánceres multirresistentes y una menor toxicidad. Las nanopartículas ofrecen una mayor precisión en la orientación quimioterápica del cáncer y nuevas vías para el tratamiento del mismo (Malam, Loizidou and Seifalian 2009).

Actualmente el tratamiento del cáncer consiste en la radioterapia, quimioterapia y cirugía. Aunque los fármacos radioterapéuticos y quimioterapéuticos son capaces de reducir el crecimiento del tumor durante un corto período de tiempo, requieren múltiples administraciones. Además, los fármacos quimioterapéuticos no sólo matan a las células cancerosas sino también a las células sanas normales, presentando un efecto secundario tóxico significativo para los pacientes (Peer Peer, Dan, Jeffrey M Karp, Seungpyo Hong, Omid C Farokhzad, Rimona Margalit, and Robert Langer 2007).

Las nanopartículas proporcionan oportunidades para diseñar y afinar propiedades que no son posibles con otros tipos de terapéutica (Davis, Chen and Shin 2008).

### **II.3 CLASIFICACIÓN DE SISTEMAS NANOMÉTRICOS PARA LA LIBERACIÓN DE FÁRMACOS**

La importancia de la nanotecnología farmacéutica para la terapia con fármacos radica en el potencial de suministrar tanto fármacos de bajo peso molecular, así como macromoléculas como los péptidos, proteínas y genes, de manera localizada o dirigida, hacia un cierto tejido de interés. La nanotecnología farmacéutica esta enfocada hacia el desarrollo de formulaciones de agentes terapéuticos en nano-complejos biocompatibles entre los que se cuentan las nanopartículas, las nano-cápsulas, los sistemas micelares, los dendrímeros, los fulerenos o nanoestructuras de carbono, las huellas cuánticas, los nanocomponentes derivados de la bioimitación o biomimética y los productos conjugados derivados de los anteriores (Lavan, Mcguire, and Langer 2003).

### **II.4 UTILIZACIÓN DE HIDROGELES COMO SISTEMAS LIBERADORES DE FÁRMACOS**

En la actualidad los hidrogeles son una alternativa prometedora para lograr una administración más precisa en tiempo, cantidad y región diana de principios activos, ya que con los métodos tradicionales no se obtiene un control eficaz de este proceso.

Para conseguir una liberación controlada de un fármaco y para mejorar la poca solubilidad, degradaciones, alteraciones en el principio activo, reducir el

tiempo de circulación en el torrente sanguíneo, así como reducir la toxicidad o controlar la penetración de los fármacos a través de las barreras biológicas, se ha propuesto el uso de acarreadores de fármacos, la mayoría de los cuales están basados en materiales poliméricos.

Los sistemas transportadores de fármacos pueden ser desarrollados para conseguir la liberación del principio activo en función de las necesidades terapéuticas, como el hinchamiento rápido en dispositivos controlados por la difusión y el hinchamiento lento en dispositivos controlados por el hinchamiento. El hinchamiento puede controlar o no la liberación, dependiendo de la relajación macromolecular del polímero y la difusión de la droga del gel. La liberación del principio activo depende a su vez de la migración de agua al dispositivo, hidratación y relajación de la cadena polimérica, seguida de la disolución del principio activo y la difusión al exterior del gel hinchado. (Farokhzad and Langer, 2009)

Los mecanismos cinéticos más importantes que regulan la velocidad de liberación controlada de una droga son la difusión, el hinchamiento y la erosión. En el caso de los nanogel sería el hinchamiento de la matriz.

En aquellos casos que la matriz tiene poca interacción con el fluido que ingresa en el nanogel, se expande muy poco, la difusión del principio activo dependerá de la cantidad de fluido que entra al sistema. Para esos casos una buena aproximación es considerar que el fenómeno principal que afecta a la velocidad de liberación es el gradiente de concentración y considerar a la constante de difusión independiente de la concentración del polímero. Para el caso donde la matriz tenga una fuerte interacción con el fluido que ingresa, la expansión del mismo dependerá

de sus propiedades fisicoquímicas, como el peso molecular, el grado de sustitución y la viscosidad. Por lo tanto la difusividad de la droga será función del fluido ingresante y de las características de hinchamiento del polímero.(Escobar, J.L.; Garcia; Zaldivar 2002)

Los polímeros sensibles a estímulos son polímeros que responden a pequeños cambios en las condiciones físicas o químicas del medio con cambios relativamente grandes de propiedades o fases. Pueden provocar este comportamiento algunos estímulos como son temperatura, fuerza iónica, solventes, radiación electromagnética o ultrasónica, tensión mecánica, alta presión, pH, agentes químicos, glucosa, anticuerpos, enzimas, etc. Estos son llamados polímeros sensibles o inteligentes.(Dimde, Mathias, Falko Neumann, Felix Reisbeck, and Svenja Ehrmann 2017) Además de controlar la cinética de hinchamiento, los estímulos pueden causar cambios estructurales en la red polimérica, modificar la permeabilidad o la fuerza mecánica del hidrogel. Las propiedades sensibles a estímulos en los hidrogeles están controladas principalmente por interacciones polímero-polímero y polímero-solvente.(Zhang, Chan, and Leong 2013) El motivo de respuesta ante los diferentes cambios proviene de interacciones que derivan en impulsar un estímulo, para la transición hinchado-secado en los hidrogeles son interacciones iónicas, hidrófobas, enlaces de hidrógeno y fuerzas de van der Waals. Interacciones que pueden trabajar de manera individual o en conjunto para producir un comportamiento estímulo-respuesta en hidrogeles. ( Khan, Saba, M Shaharyar, Mohammad Fazil, Sanjula Baboota, and Javed Ali. 2016).

## II.5 CLASIFICACIÓN DE HIDROGELES

La clasificación de los hidrogeles se puede usar el método de preparación, la carga iónica y las características físicas estructurales, y dividirlos en varias categorías. Basado en el método de preparación pueden ser ( Zhao, Wen, Xing Jin, Yang Cong, and Jun Fu. 2012):

- 1 Hidrogeles homopoliméricos.
- 2 Hidrogeles copoliméricos.
- 3 Hidrogeles multipoliméricos.
- 4 Hidrogeles multipoliméricos de redes interpenetradas.

Los homopoliméricos son redes entrecruzadas de una solo tipo de unidad monómera hidrofílica (Lizawa, Takashi, Hatsumi Taketa, Makoto Maruta, Takashi Ishido, and Takehiko Gotoh. 2006), mientras que los copoliméricos se producen por entrecruzamiento de cadenas compuestas de dos unidades comonomeras, donde al menos una debe ser hidrofílica para permitir el hinchamiento con el agua (L. Yang, Chu, and Fix 2002). Los multipoliméricos son producidos por tres o más comonomeros reaccionando juntos. Las redes interpenetradas se obtienen por dos métodos, uno en red preformada y el otro en solución. El más común es polimerizar un monómero en una red entrecruzada diferente. El monómero polimeriza para

formar un polímero o una segunda red entrecruzada que está acoplada con la primera red. (Eid and Hegazy 2009)

Hidrogeles con cargas iónicas en su estructura polimérica pueden ser clasificados como: neutral (sin carga), aniónico (sólo cargas negativas), catiónicos (sólo cargas positivas) o anfifílicos (ambas cargas). Estos últimos pueden terminar con carga negativa, positiva o neutra. (Ahmed. 2015) Basado en las características físico-químicas de la red, pueden ser clasificadas como: amorfos (tienen enlaces covalentes), o semicristalinos (pueden o no tener enlaces covalentes). En los amorfos las cadenas macromoleculares están al azar. Los semicristalinos están caracterizados por regiones semi-ensambladas de cadenas macromoleculares ordenadas. (Fresneda 2016).

## **II.6 MÉTODOS DE POLIMERIZACIÓN POR EMULSIÓN**

Una emulsión es una mezcla de líquidos inmiscibles entre sí en dos fases la fase dispersa y la fase dispersante en esta mezcla coloidal estable, uno de los líquidos se encuentra disperso en el otro en forma de glóbulos y al líquido que lo rodea se le llama fase dispersante que es la fase continua. La polimerización en emulsión es un proceso químico a base de agua con varias propiedades coloidales y fisicoquímicas es una polimerización heterogénea (Chern 2006), que requiere una serie de aditivos con funciones específicas, como emulgente, que es un producto que, en pequeñas cantidades, ayuda a formar o estabilizar una emulsión (generalmente un detergente), soluciones tampón de pH, coloides, protectores,

reguladores de tensión superficial, reguladores de polimerización y activadores. Tiene una alta velocidad de reacción y conversión, siendo de fácil control de agitación y temperatura (Asua 2002). Mediante un agente emulsionante, se logra que el diámetro de las gotas de la fase orgánica sea mucho menor; además, el iniciador debe ser soluble en la fase acuosa. Como agentes emulsionantes se usan, además de los detergentes clásicos, otros surfactantes, como alcoholes sulfonados, aminas alifáticas, alcohol polivinílico. La mayoría de las moléculas de monómeros viven en el depósito de monómeros gigantes (es decir, gotas de monómero). La polimerización se inicia mediante la adición de iniciador. De acuerdo con el modelo de nucleación de micelas, propuesto por Harkins (Harkins 1947). En esta polimerización, el iniciador se solubiliza en agua, en cuanto al monómero es hidrófobo. El agente emulsionante juega un papel importante en este tipo de polimerizaciones y tiene como objetivo formar micelas, de tamaño entre 1 nm y 1  $\mu$ m, donde queda contenido el monómero. En las micelas activas se encuentran capturados radicales libres, estas tienen un área interfacial grande y la reacción de polimerización se procesa dentro de ellas, mientras que las gotas de monómeros son inactivas, constituyendo apenas una fuente de monómero, esto debido a que no pueden capturar radicales libres ya que su área interfacial es relativamente pequeña. A medida que la reacción ocurre, las gotas de monómero inactivas suministran a las micelas activas con monómero, que crecen hasta formar gotas de polímeros, originando posteriormente el polímero entrecruzado (nanogeles). La mayor parte del monómero está en forma de gotas pero algo se introduce en las micelas y las hincha. El nanogel se forma dentro de estas micelas hacia donde se dirigen los radicales libres generados en la fase acuosa. Las gotitas actúan como

depósitos de monómero y van disminuyendo de tamaño, ya que hay una difusión del monómero hacia las micelas (Argentiére Simona, Blasi Laura, Ciccarella Giuseppe, Barbarella Giovanna, Cingolani Roberto, and Gigli Giuseppe . 2009).

## **II.7 POLIMERIZACIÓN POR EMULSIÓN SIN DETERGENTE**

En la polimerización en emulsión sin detergente la estabilidad de los nanogeles se logra comúnmente por cargas eléctricas inducidas por grupos iónicos derivados de iniciador y comonómero. El iniciador iónico solo no puede dar estabilidad a la dispersión, la densidad de carga de superficie, y la reducción de tamaño de partícula a menos que la cantidad usada sea exorbitante, la incorporación de comonómero iónico es esencial. Agregando comonómero se intensifica la repulsión electrostática, lo que resulta en una mayor estabilidad coloidal junto con el tamaño final de partícula. (Kang, Yu, and Zhang 2009) (S. Yang, S. Chunfeng, Q. Teng, G. Longhai, and L. Xiaoyu. 2013)

Como se muestra en la Figura 3, en donde:

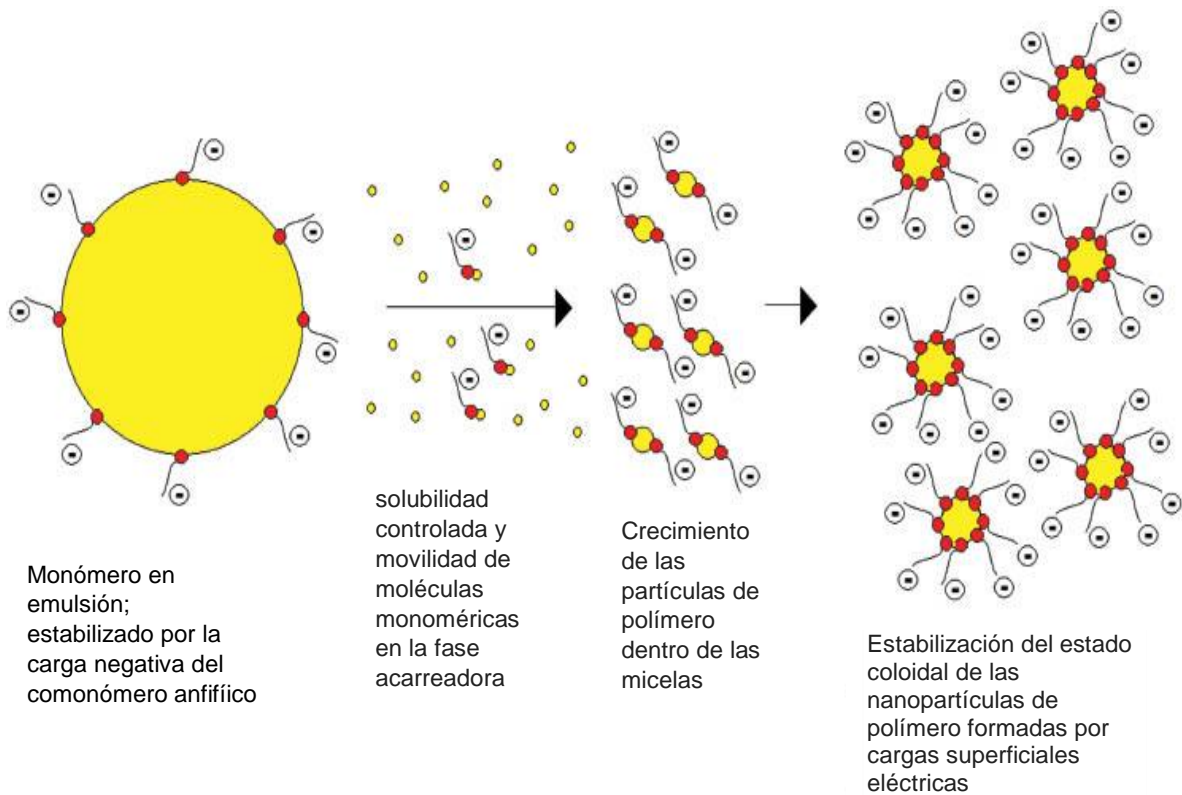
(1) La descomposición del iniciador es dentro de la fase acuosa por radicales libres y estos radicales entran a las micelas para formar partículas de polímero.

(2) Estas partículas de polímero crecen, absorben monómero y surfactante de la fase acuosa; esto ocasiona que las gotas de monómero y micelas vacías vayan desapareciendo conforme proveen estabilización a las partículas de polímero.

(3) La formación de partículas cesa después de que todas las micelas sin reaccionar desaparecen, las partículas formadas simplemente crecen hasta que todo el monómero desaparece.

(4) Después de la iniciación de las partículas de polímero se asume que crecen hasta que otro radical libre entre para terminar la reacción. La partícula entonces crece de nuevo cuando un tercer radical entra, etc.

La preparación de nanogeles se lleva a cabo más comúnmente por los métodos de emulsión, estos consisten en la polimerización de monómeros hidrofílicos en presencia de agentes reticulantes en gotas acuosas que en consecuencia son emulsionadas en una fase hidrófoba continua. Los agentes reticulantes usados en la mezcla de monómeros da como resultado la formación del nanogel, manteniendo sus características después de ser trasladados a una fase continua acuosa. (Rayo and Guerrero 2014)



**Fig. 3** Fases de polimerización por emulsión.

## II.8 POLIELECTROLITOS Y MOLÉCULAS ANFIFÍLICAS

Las moléculas anfifílicas, tienen un extremo hidrofílico, y otro que es hidrófobo. En una mezcla estas se separarían debido a las propiedades de cada molécula, una hidrofóbica y una hidrofílica, lo que no puede cumplirse debido a que se encuentran unidas por un enlace químico.

A estos compuestos que contienen grupos simultáneos fuertemente no polares y grupos fuertemente polares, el agua los dispersa o los solubiliza formando micelas, bicapas o monocapas.

Cuando se cargan algunos o todos los monómeros, el polímero se llama polión. La adición de cargas a la cadena de polímero implica la presencia de pequeñas contraiones móviles para asegurar la electroneutralidad. La combinación de polión y sus contraiones se llama polielectrolito. Por lo tanto, cuando se disuelve en agua, un polielectrolito se disocia en un polión y sus contraiones. Para que un polímero pueda considerarse como polielectrolito necesita contar con carga permanente o tener grupos ionizables que se convierten en catiónicos o aniónicos en la protonación o desprotonación, respectivamente; son polímeros en donde los bloques de repetición soportan un grupo electrolito. Policaciones y polianiones son polielectrolitos. Estos grupos se disocian en disoluciones acuosas, por lo que quedan como polímeros cargados. Las propiedades de los polielectrolitos son por lo tanto similares a las de los electrolitos (sales) y polímeros, y a veces se denominan polisales. Como sales, sus disoluciones son eléctricamente conductoras. Como polímeros, sus soluciones son a menudo viscosas. (Mudassir, Darwis, and Yusof 2017)

Por otro lado se encuentran los casos de nanogeles polielectrolitos con cargas tanto aniónicas como catiónicas, llamados nanogeles polianfólitos, en estos sistemas nanométricos un aumento en la concentración de sal causa que el nanogel se hinche cuando las cargas negativas y positivas están equilibradas; este fenómeno es análogo a "antipolielectrolito" comportamiento observado en soluciones acuosas de polianfólito. (Ogawa, Nakayama, and Kokufuta 2003)

Algo similar ocurre con las moléculas anfifílicas, el comportamiento de estas consiste en tener una parte hidrofóbica (lipófila) y una parte hidrófila (lipofóbica). El no polar la parte hidrofóbica se conoce generalmente como cola

(compuesta por uno o más hidrocarburos, cadenas, aunque se pueden usar cadenas de fluorocarbono y dimetilsiloxano) y la parte hidrofílica polar se conoce como grupo principal que puede ser cargado o sin carga.

Cuando los polímeros muestran una pequeña cantidad de cadenas laterales hidrofóbicas o grupos terminales, químicamente unidos a la columna vertebral, se llaman polímeros modificados hidrofóticamente (HMP). Mientras que los segmentos hidrofílicos son responsables de la hidratación y la hinchazón, los grupos hidrofóbicos tienden a minimizar el contacto con el agua, ya que el contacto es energéticamente desfavorable. Los HMP pueden asociarse hidrofóticamente con otras entidades anfílicas o hidrofóbicas, formando agregados. (Jonsson, Solution B, B Lindman, K Holmberg, B Kronberg, and Eds John. 2007)

Los poloxámeros también son macromoléculas anfílicas. Son copolímeros tribloque, generalmente compuesto por una cadena hidrofóbica central de óxido de polipropileno y dos cadenas hidrofílicas de óxido de polietileno, la naturaleza anfílica de estos polímeros da lugar a una agregación compleja, dependiendo de la composición, temperatura, etc. Cada estructura agregada tiene entrega específica y propiedades de encapsulamiento. Los polímeros anfílicos son extensivamente solicitados como nanoencapsuladores en sistemas de administración de fármacos. (Santos, Salomé, Medronho, T. Santos, and Filipe E. Antunes 2013)

## **II.9 NANOGELES SENSIBLES AL PH**

Lo que ocurre en los nanogeles sensibles a pH, es que en las redes hidrofílicas de los mismos ocurren cambios volumétricos en respuesta a las

variaciones en el pH circundante. Los bloques de estos hidrogeles son polímeros que son ácidos o bases débiles, tales como poli (ácido acrílico) o quitosano. El principal motivo de la sensibilidad al pH de estos hidrogeles es su habilidad para asociarse y disociarse con iones hidrógeno dependiendo del pH de medio acuoso.(Yoshida, Takayuki, Tsz Chung Lai, Glen S Kwon, and Kazuhiro Sako 2013)

Estos grupos funcionales dependientes de pH llevan diferentes cargas dependiendo de la protonación y por tanto contribuye de forma diferente a la presión osmótica del hidrogel. Por ejemplo, cuando el pH del solvente es más alto que pH del hidrogel poli (ácido acrílico), los grupos ácidos carboxílicos son desprotonados y llevan carga negativa. Otro factor importante que incrementa el hinchamiento es la repulsión de largo alcance de cargas iguales a lo largo de la cadena polimérica. A la inversa, cuando el pH de la solución es más bajo que el pKa del hidrogel son grupos carboxílicos son protonados. Lo que contribuye mucho menos a la presión osmótica de la red. Como resultado el hidrogel se contrae. Ya que la protonación/deprotonación es reversible, el hinchamiento/colapso del hidrogel puede ser fácilmente revertido cambiando el pH de la solución.(Sadeghi 2014) .

**CAPITULO III**  
**EXPERIMENTAL**

### III.1 GENERALIDADES

#### Equipos y Reactivos utilizados

##### A) Equipos

1. Resonancia Magnética Nuclear de protón ( $^1\text{H}$ -RMN). El equipo utilizado es un Varian Mercury NMR200 de 200 MHz. Todos los análisis se realizaron a temperatura ambiente y se utilizó como disolvente al  $\text{CDCl}_3$ .
2. Espectrofotómetro de infrarrojo con transformadas de Fourier (FTIR). El equipo utilizado de IR es de la marca Pekín Elmer, modelo 1600 series FT-IR: Número de barridos: 8, de 4000 a 450  $\text{cm}^{-1}$ , resolución 4, intervalo de 2.0  $\text{cm}^{-1}$ , los análisis realizados fueron en películas en pastillas de NaCl con dispersión en diclorometano.
3. Agitador magnético VWR Dyla-Dual.
4. Dispersión de Luz Dinámica (DLS). Equipo ZetaSizer Nano-ZS series, de marca Malvern Instruments, modelo ZEN3500 con láser verde de 532 nm. Para evaluar la LCST se midió el  $D_h$  de los nanogeles y la intensidad de la luz en función de la temperatura desde 20°C hasta 50°C en solución (10  $\mu\text{l}$ /1ml) con agua destilada y filtrada con filtro de 0.2  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro.
5. Equipo de filtración.
6. Potenciómetro HANNA Modelo 2210
7. Rotaevaporador. Se utilizó un destilador de solventes a presión reducida (Rotaevaporador) HAAKE Buchler, Inc.

8. Equipo purificador de agua desionizada Barnstead Sybron, modelo D2604, en todos los experimentos y caracterizaciones se utilizó agua desionizada y filtrada con filtros de 0.2  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro.
9. Sistema liofilizador. Se utilizó el equipo Freeze Dry Sistem/Freezone 4.5 Labconco serie 0309095570, 60 ciclos.
10. Microscopio electrónico de barrido de emisión de campo (FESEM) JSM-7800F, Prime.

## **B) Reactivos y solventes**

Acetato de uranilo

Ácido Clorhídrico, 37.4%

Agua destilada

Cloruro de sodio

Diclorometano

Éter de petróleo

Éter etílico

Etilenglicoldimetacrilato

Hexano

Metanol

Metacrilato de metilo

Persulfato de amonio

Sulfato de Magnesio anhidro

Tetrahidrofurano (THF)

### **C) Gases**

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

### **D) Materiales**

Membrana para diálisis, Spectra/Por MWCO: 3,500. 10.0 mm

Membrana para diálisis, Spectra/Por MWCO: 15,000. 10.0 mm

Los experimentos de síntesis fueron realizados en la Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería, en la Universidad Autónoma de Baja California. En el laboratorio Número 11, Laboratorio de biofarmacia.

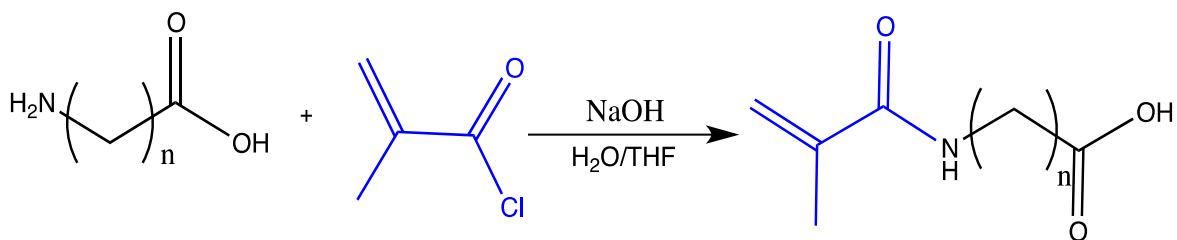
## **III. 1. 2 Purificación de EGDMA**

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

## **III.2 OBTENCIÓN DEL MONÓMERO**

### **III.2.1 SÍNTESIS DE MONÓMEROS TIPO N-METACRILAMIDO- $\omega$ -AMINOÁCIDOS**

La síntesis de los monómeros, se llevó a cabo por el método de SchottenBaumann, referido a la formación de amidas por acilación de aminas primarias, ver Figura 4.



**Fig. 4** Reacción de síntesis para los monómeros tipo N-metacrilamido- $\omega$ -aminoácidos.

La reacción de síntesis se realizó a partir de cloruro de metacrililoilo y dos  $\omega$ -aminoácidos, con diferente número de metilenos ( $n$ ).

1. NMAHe, sintetizado a partir de ácido 6-aminocaproico ( $n=5$ )
2. NMAUn, sintetizado a partir de ácido 11-aminoundecanoico ( $n=10$ )

Reacción de síntesis para los monómeros tipo N-metacrilamido- $\omega$ -aminoácidos. Se realizó de la misma forma con los 2 diferentes ácidos mediante este procedimiento: En un matraz bola de 250 ml se disolvió 5 g de ácido 11-aminoundecanoico (24.8 mmol) en una disolución acuosa de NaOH (1 N)/THF 20 % v/v. , la mezcla de reacción se colocó en un baño de hielo a 0 °C y se mantuvo con agitación constante, enseguida, se adicionó lentamente 3.9 g de cloruro de metacrililoilo (37.3 mmol) durante 3 h. Después se continuó la agitación por 1 h a 25 °C , se filtró al vacío y el filtrado se acidificó con HCl (2 N) hasta un pH 3, conservando la mezcla 0 °C y con agitación constante, el precipitado formado, se extrajo con éter etílico, la fase orgánica se lavó con una disolución de HCl diluido y posteriormente con agua destilada, se secó con  $\text{MgSO}_4$  anhidro y se filtró al vacío. Todos los monómeros fueron purificados con hexano y valorados por cromatografía de capa fina (TLC).

### III.2.2 PURIFICACIÓN DE MONÓMEROS TIPO N-METACRILAMIDO- $\omega$ -AMINOÁCIDOS.

El monómero de tipo CAM una vez seco se colocó en un vaso de precipitado y se agregó hexano hasta cubrir totalmente al monómero de tipo CAM, se dejó en agitación constante durante media hora, se llevó a cabo este método dos veces más, se decantó el hexano y se deja secar el monómero en ventilación, una vez seco, el monómero se disolvió en metanol y se filtró al vacío, el filtrado se recrystalizó, los cristales del monómero se dejaron secar al vacío durante dos días.

### III.2.3 CARACTERIZACIÓN DE MONÓMEROS TIPO N-METACRILAMIDO- $\omega$ -AMINOÁCIDOS.

#### III.2.3.1 CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA (TLC)

La cromatografía en capa fina es una técnica para el análisis cualitativo de muestras pequeñas. Su fundamento se basa en la adsorción, técnica de separación por partición sólido-líquido que consta de dos fases: fase móvil (eluyente) y fase estacionaria o sólida (adsorbente); que, por capilaridad en forma ascendente, se lleva a cabo el arrastre de la muestra, es decir, la elución. Los compuestos que más se utilizan en esta fase estacionaria son el gel sílice ( $\text{SiO}_2$ ) que fue la que se utilizó para este proyecto; otro material usado en estas técnicas de cromatografía es la alúmina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ), materiales con características polares. El gel de sílice se utiliza para separar sustancias más polares (amidas, ácidos carboxílicos). Para el proceso de adsorción ocurren interacciones intermoleculares de tipo dipolo-dipolo o enlaces de hidrogeno entre el soluto y el adsorbente, es muy importante que el adsorbente,

(en este caso el gel de sílice), sea totalmente inerte con las sustancias a analizar. El adsorbente o fase estacionaria se encuentra adherido a una superficie lisa en la cual la cual una pequeña cantidad de muestra es adsorbida para su elución.

Para el monómero tipo CAM10 se usó una mezcla de acetato de etilo y hexano y se colocó una mezcla de acetato de etilo y de hexano en la cámara de elución, con ayuda de un tubo capilar se agregó una gota, por duplicado, de la muestra del monómero tipo CAM10 diluida en metanol sobre la placa de silicón y se dejó secar, metió la placa a la cámara de elución con la mezcla de acetato de etilo y hexano, se dejó correr la fase móvil y se sacó el factor de retención.

Para el monómero tipo CAM5 se usó una mezcla de diclorometano y metanol, se colocó una mezcla de acetato de etilo y hexano en la cámara de elución, con ayuda de un tubo capilar se agregó una gota, por duplicado, de la muestra del monómero tipo CAM5 diluida en metanol, sobre la placa de silicón y se dejó secar, se repitió este paso, se metió la placa a la cámara de elución con la mezcla de acetato de etilo y hexano, se dejó correr la fase móvil y se sacó el factor de retención.

### III.2.3.2 ESPECTROMETRÍA DE INFRARROJO CON TRANSFORMADAS DE FOURIER (FT-IR)

El principio básico detrás de la espectrometría molecular es que las moléculas absorben energía de la luz en longitudes de ondas específicas, conocidas como sus frecuencias de resonancia (vibración).

Se usó una pequeña muestra, que fue colocada en una celda infrarroja, donde fue sometida a una fuente de luz infrarroja, la cual hizo un barrido desde las longitudes de onda de  $4000\text{ cm}^{-1}$  hasta  $600\text{ cm}^{-1}$ . La intensidad de la luz transmitida a través de la muestra fue medida en cada número de onda, lo que permitió que la cantidad de luz absorbida por la muestra sea calculada por la diferencia entre la intensidad de la luz antes y después de pasar por la celda de muestra.

### III.2.3.3 RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE PROTÓN ( $^1\text{H}$ -RMN)

Una muestra se dispone en un tubo para RMN. La muestra, típicamente se compone de un soluto y un solvente. El solvente es usualmente deuterado, es decir tiene deuterio ( $^2\text{D}$ ) en lugar de protio ( $^1\text{H}$ ). En el tubo para RMN, con una pipeta Pasteur, se dispone una cantidad apropiada de solución (0.6 – 0.7 mL), o, de otro modo, se coloca el soluto en el tubo, luego se agrega el solvente y se agita bien para homogenizar. En todo caso la solución no debe presentar partículas en suspensión. Si es necesario, la muestra puede filtrarse a través de un algodón, previamente desengrasado con éter de petróleo y seco.

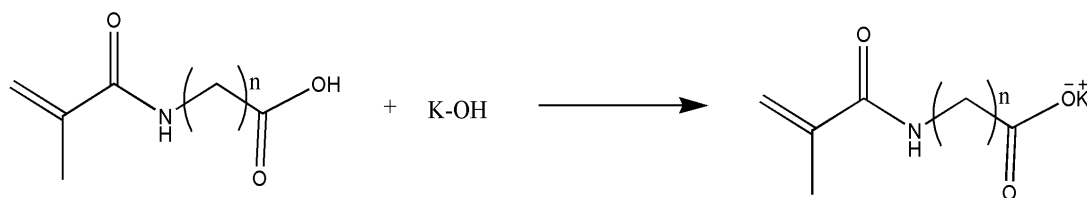
Los electrones van a producir modificaciones, débiles pero observables, siendo esos efectos electrónicos los que darán lugar a los desplazamientos químicos y a las constantes de acoplamiento, permitiendo así el estudio detallado de la estructura electrónica de las moléculas.

### III.3 SÍNTESIS DE SAL DE POTASIO DE MONÓMEROS TIPO N-METACRILAMIDO- $\omega$ -AMINOÁCIDOS.

La sal de potasio del monómero se llevó a cabo mediante igualación de moles con cada uno de los monómeros sintetizado. Se calculó la cantidad de KOH necesaria para que reaccione con 2 gramos del monómero, posteriormente en dos vasos de precipitado de 50 ml, con 10 mililitros de metanol, se colocaron 2 gramos del monómero en uno de ellos, mientras que en el otro se colocaron los gramos equivalentes de KOH.

$$gKOH = (PM\ KOH) * g\ monómero / PM\ monómero$$

**Ec. 1** Fórmula para la obtención de los gramos necesarios de hidróxido de potasio.



**Fig. 5** Síntesis de sal de potasio de carboxialquilmethacrilamida.

Las dos soluciones se pusieron en agitación constante hasta que se disolvieron por completo. Una vez disueltas se pusieron en baño de hielo a una temperatura de 2-4°C y se adicionó la solución de KOH a la solución del monómero, gota a gota. En un tercer vaso, se colocó 20 mililitros de éter etílico. Se adicionó la

mezcla previa de KOH con el monómero y se espera que se precipite. Una vez que precipitó, se filtró al vacío y se dejó secar.

#### **III.4 SÍNTESIS DE NANOGELAS MEDIANTE EL METODO DE POLIMERIZACIÓN POR EMULSIÓN SIN DETERGENTE, NANOGELAS DE CAM10K (72:25 Y 50:50)**

Se utilizó un método de polimerización sin detergente para preparar los nanogel de MMA-CAM10K con diferentes proporciones de los comonómeros, utilizando EGDMA como entrecruzante. En un experimento típico, MMA, CAM10K, y el entrecruzante (EGDMA) se mezcló con las cantidades apropiadas y se disolvió subiendo el pH con KOH, en 50 ml de agua de grado mili Q a temperatura ambiente para formar un 1% w / w solución acuosa. Se eliminó cualquier oxígeno disuelto en la mezcla mediante burbujeó con nitrógeno durante 30 minutos. La mezcla de monómeros se calentó luego a 85 °C en un baño de temperatura de aceite lubricante y se agito de manera constante a 300 rpm. Se añadió persulfato de amonio al sistema para actuar como un iniciador térmico. Se dejó que la reacción de polimerización continúe durante 45 min.

#### **III.5 SÍNTESIS DE NANOGELAS MEDIANTE EL METODO DE POLIMERIZACIÓN POR EMULSIÓN SIN DETERGENTE NANOGELAS DE CAM5K (72:25 Y 50:50)**

Se utilizó un método de polimerización sin detergente para preparar los nanogeles de MMA-CAM5K con diferentes proporciones de los comonómeros, utilizando EGDMA como entrecruzante. En un experimento típico, MMA, CAM5K, y el entrecruzante (EGDMA) se mezcló con las cantidades apropiadas y se disolvió en 50 ml de agua de grado mili Q a temperatura ambiente para formar un 1% w / w solución acuosa. Se eliminó cualquier oxígeno disuelto en la mezcla mediante burbujeó con nitrógeno durante 30 minutos. La mezcla de monómeros se calentó luego a 85 C en un baño de temperatura de aceite lubricante y se agito de manera constante a 300 rpm. Se añadió persulfato de amonio al sistema para actuar como un iniciador térmico. Se dejó que la reacción de polimerización continúe durante 45 min.

### **III.6 ESTUDIO DE EMULSIÓN**

Para determinar la proporción adecuada, de la sal de potasio del monómero tipo CAM y de metacrilato de metilo, que se utilizó posteriormente para sintetizar los nanogeles se hizo un estudio de emulsión de la siguiente manera. En viales de vidrio con 10mL de agua se agregaron las proporciones siguientes de MMA-CAM10k, y MMA-CAM5K (70:30, 60:40, 50:50 40:60 y 30:70). Agitando para verificar la formación de emulsión.

### **III.7 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA PARA MICROSCOPIA FESEM**

Para la caracterización de los nanogeles se utilizó la microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (FESEM), por lo que las muestras se prepararon de la siguiente manera: Se tomó 1 mL de la muestra y se aforo con agua mili Q a 2.5 mL, esto con la intención de obtener una muestra con la concentración de 4 mg/mL, de esta muestra se tomaron 2  $\mu$ L con una micropipeta y se colocaron en una rejilla de cobre recubierta con carbón "400 mesh Cu Lacey Carbón" con número de serie 141089 , SPI supplies. La muestra se secó con un papel de filtro, se agregaron otros 2  $\mu$ L de la muestra en el mismo lugar donde se depositó la anterior y se secó de la misma manera, se agregaron 2  $\mu$ L dos veces más de acetato de uranilo se secó y se removió el excedente del colorante con el papel filtro.

### **III.9 PURIFICACIÓN DE LOS NANOGELES**

Las nanopartículas contienen diversas cantidades de disolventes orgánicos residuales, monómeros, comonómeros, tensioactivos, sales inorgánicas, iniciadores, aceleradores y agregados de polímeros no reticulados. La presencia de estas impurezas debe mantenerse a un nivel muy bajo, para evitar reacciones adversas dentro del organismo humano. Normalmente, las nanopartículas se purifican por diálisis con el uso de membranas de celulosa semipermeables. Con el tiempo, la velocidad en la difusión de impurezas a través de la membrana disminuye

a valores extremadamente bajos, con una disminución paralela de la concentración de impurezas en el producto retenido de la solución donadora, durante el proceso. La purificación por diálisis por difusión a través de una membrana semipermeable se realizó en un vaso de plástico. La muestra de 10 ml de dispersión de nanogel se cerró en una bolsa de diálisis con un tamaño de corte de 15 kD y 3500D NMWC y se transfirió a un recipiente de plástico con agua destilada, el agua se cambió durante 3 días cada 24 h. En la purificación por filtración los nanogeles se filtraron con tubos pall de filtración con membrana de corte de peso molecular de 100 KD, a 3,700 RPM en ultracentrífuga. El precipitado se descarta, y el producto concentrado en membrana es recuperado para los estudios posteriores.

### **III.10 LIOFILIZACIÓN Y RECONSTITUCIÓN DE LOS NANOGELES**

Las muestras liofilizadas, se congelaron previamente en un vial de vidrio con 10 ml de muestra a una temperatura de 0 a -2 °C, una vez congeladas las muestras se metieron los viales tapados con parafilm perforado, en los vasos porta muestras (LABCONCO) del equipo. Se liofilizó a una temperatura de -47°C en atmosfera de vacío, las muestras fueron tratadas de diferentes maneras.

Las muestras de nanogeles liofilizados se reconstituyeron con un volumen requerido de agua desionizada grado miliQ, a fin de obtener una concentración similar a la de los nanogeles sintetizados en la reacción de inicio. La concentración fue de 1.0 % W/V.

### **III.11 DETERMINACIÓN DEL TAMAÑO DE PARTÍCULA POR DISPERSIÓN DE LUZ DINÁMICA (DLS)**

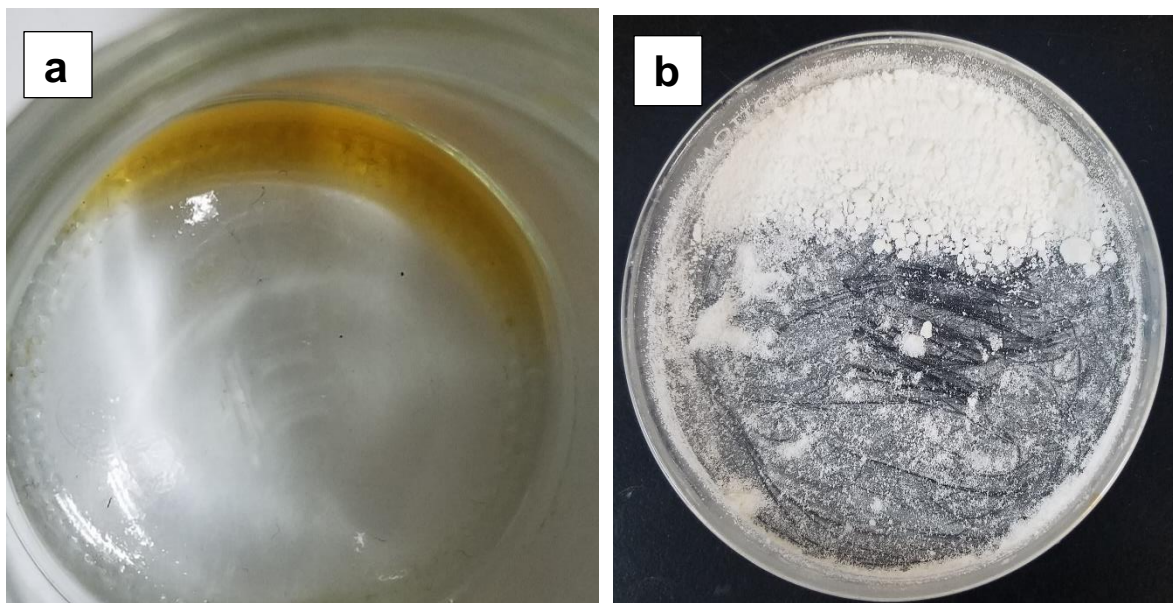
Para determinar el tamaño de partícula se utilizó 1 mL de muestra, es decir, a una dilución 50:1, tomando 980  $\mu\text{L}$  de agua de grado miliQ y 20  $\mu\text{L}$  de la muestra. El mililitro de la muestra diluida se colocó en una celda transparente para inmediatamente colocar en la rejilla del equipo para analizarla.

**CAPITULO IV**  
**RESULTADOS**

#### IV.1 SÍNTESIS DE MONÓMEROS TIPO N-METACRILAMIDO- $\Omega$ -AMINOÁCIDOS

Los monómeros se denominan CAM5 y CAM10, donde el número representa la cantidad de metilenos en la cadena lateral. El monómero CAM5 se sintetizó a partir del ácido 6-aminocaproico con una textura viscosa parecida a la miel y del color café-dorado, ya que presentar la característica de ser higroscópico este absorbió agua del medio, por lo cual fue necesario liofilizar para obtenerlo seco, dando como resultado un polvo blanco.

El monómero CAM10 se sintetizó a partir del ácido 11-aminoundecanoico obteniendo un polvo blanco, pastoso y hidrofóbico.



**Fig. 7.** Carboxialquilmetacrilamida-5 (a) y Carboxialquilmetacrilamida-10 (b).

## IV.2 CARACTERIZACIÓN DE MONÓMEROS TIPO N-METACRILAMIDO- $\Omega$ -AMINOÁCIDOS

### IV.2.1 CARACTERIZACIÓN POR CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA (TLC)

El eluyente idóneo para cada caso se ha determinado por "el método del ensayo y del error", para cada uno de los dos monómeros corriendo varias cromatografías hasta que la muestra estuvo lo más cercana al centro de la lámina quedando para cada uno de los monómeros de la siguiente manera:

Caracterización de monómero:

- 11-Metacriloilamidoundecanoico (CAM10):

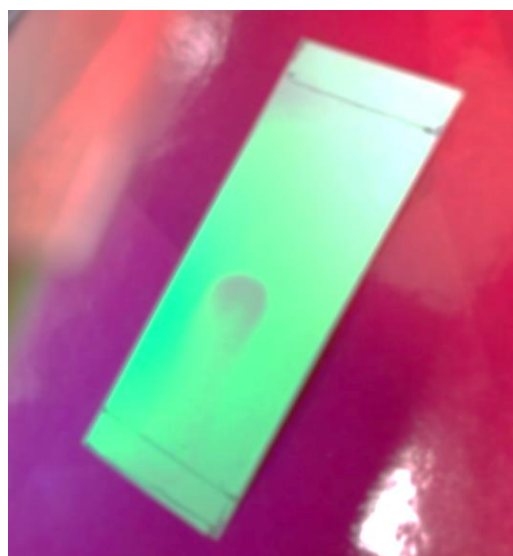
Hexano 40%

Acetato de etilo 60%

- 6-metacriloilamidohexanoico (CAM5):

Diclorometano 70%

Metanol 30%



**Fig. 7.** TLC Iluminada con UV de CAM10 purificado.

Una vez encontrado la mezcla correcta, se hizo leyó la cromatografía en capa fina, revelando la marca de la muestra, con luz ultravioleta, en el centro de la placa, como se muestra en la figura 7.

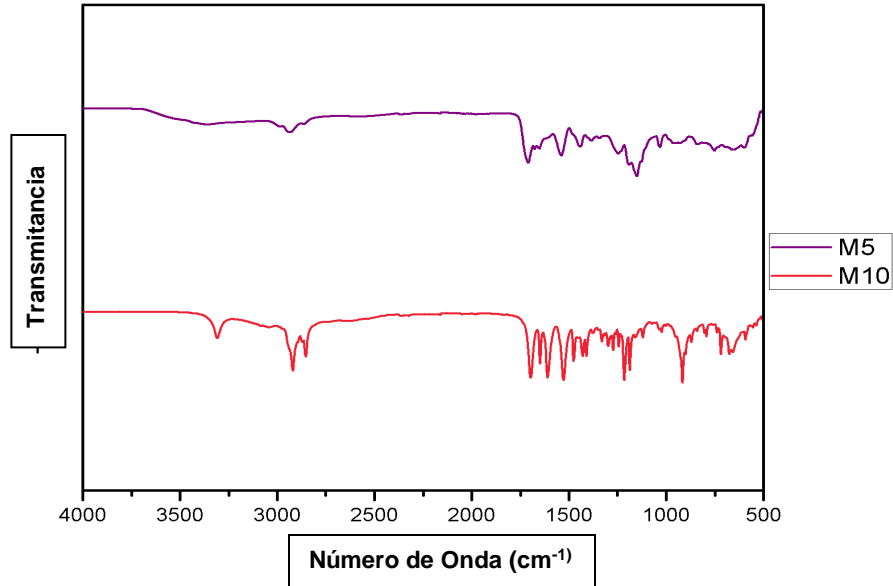
#### IV.2.2 CARACTERIZACIÓN DE ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO FT-IR

Para la caracterización de los monómeros CAM5 y CAM10 se analizaron 3 muestras, una perteneciente al monómero CAM 5 y dos pertenecientes a CAM10. Se caracterizaron por FT-IR como se muestra en la figura 8:

En la región infrarroja del espectro, las frecuencias de resonancia (vibración) de una molécula se deben a la presencia de grupos funcionales moleculares. Un grupo funcional es simplemente un grupo de dos o más átomos, enlazados de una manera específica.

FT-IR (ATR) se muestran las absorciones IR en los siguientes intervalos que corresponden a la transición de vibración de estiramientos del grupo funcional dentro del paréntesis deliberadamente al lado del número de onda que corresponde, Ácido 6-metacriloilamidoheptanoico (CAM5); 3364(N-H); 2934 (C-H); 1717 (C = O); 1654 (C=C); 1454 (CH<sub>2</sub>); 1375 (CH<sub>3</sub>).

Ácido 11-metacriloilamidoundecanoico (CAM10). FT-IR (ATR): 3311 (N-H); 2919 (C-H); 1717 (C = O); 1610 (C=C); 1475 (CH<sub>2</sub>); 1433 (CH<sub>3</sub>)



**Fig 8.** FT-IR del ácido 6-aminocaproico ( — )11-metacriloilamidoundecanoico( — ).

#### IV.2.3 CARACTERIZACIÓN DE MONÓMERO TIPO CAM POR RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR.

Los monómeros también fueron caracterizados por resonancia magnética nuclear de protón como se muestra en la figura 9, donde fue observado un singulete a 9.8 ppm que integra para el protón del ácido carboxílico. La siguiente señal en el espectro está en 6.0 ppm, otro singulete ancho que integra para uno, se atribuye al hidrógeno de las amidas, señales que aparecen alrededor de 5 a 9 ppm. Hay dos señales que están proximas, una en 5.2 y otra en 5.6 ppm, las dos señales aparecen como singuletes e integran para uno e indican la misma letra de protón, sin embargo, los dos hidrógenos de la parte vinílica son diferentes debido a que uno de ellos está del lado de la amida, y debido a la electronegatividad de este grupo

funcional, se desprotege más ese protón que el que está vecinal con el metilo. Alrededor del 3.2 ppm se encuentra un doble de dobles, que indica la presencia de dos vecinos cercanos a ese protón, además de que integra para 2 protones. Por su desplazamiento, integración y tipo de señal, se atribuye al protón del carbono seguido del ácido carboxílico, debido a que por la electronegatividad que genera el grupo, hay un cierto tipo de desprotección, comparada con la demás parte de la zona alifática. Alrededor de 2.2 ppm se encuentra un multiplete que integra para dos, señal atribuida al protón del carbono pegado a la amida, desprotege levemente al protón. Finalmente se encuentran las señales que se asignan a la cadena alifática. Se puede observar un singulete alrededor de 1.8 ppm, que integra para 3, esta señal, debido a su protección e integración se atribuye al metilo que está pegado al grupo amida. Seguida de esta señal se encuentra un multiplete en 1.4 ppm que integra para 4, señal que se atribuye a los protones de la cadena alifática que están a 3 enlaces de los dos grupos funcionales, y al final se encuentra una señal, que es otro multiplete en 1.2 ppm que integra para 6, esta señal se asigna para los protones que están a 4, 6 y 8 enlaces del grupo funcional.

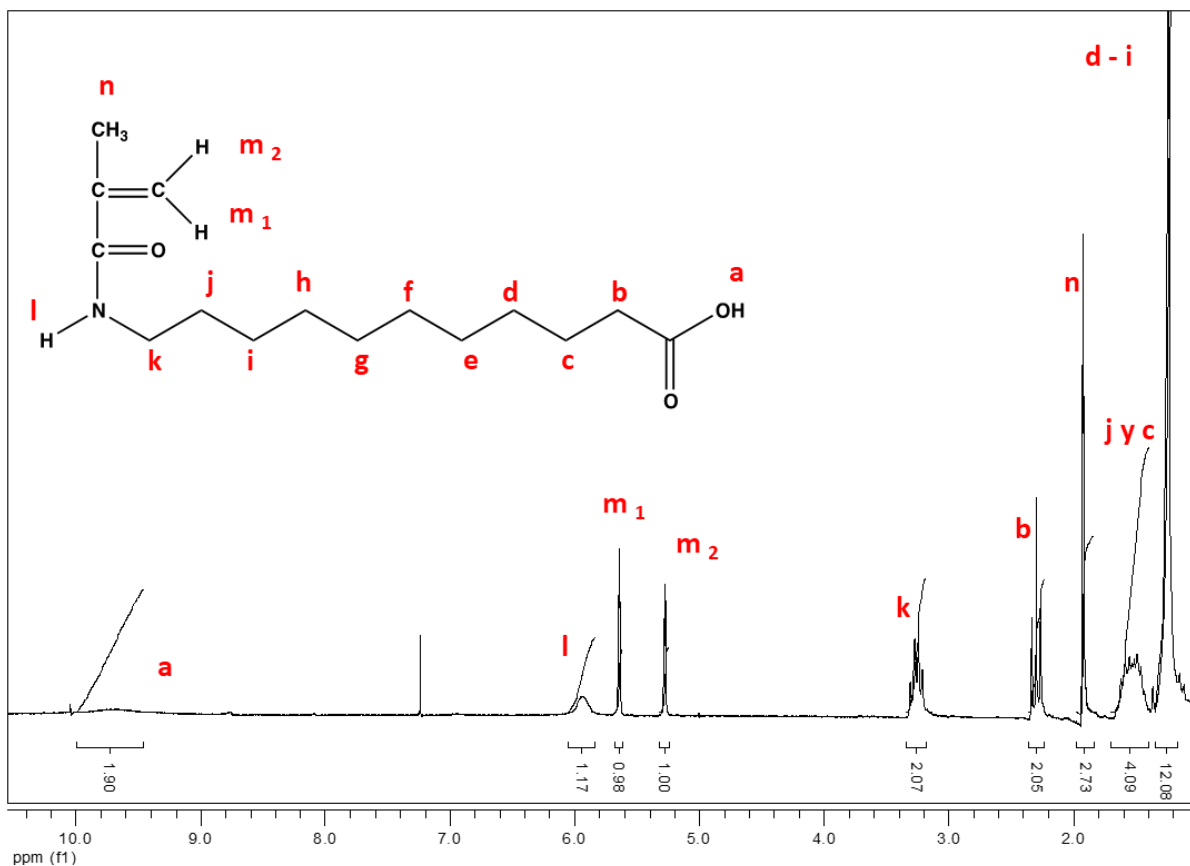
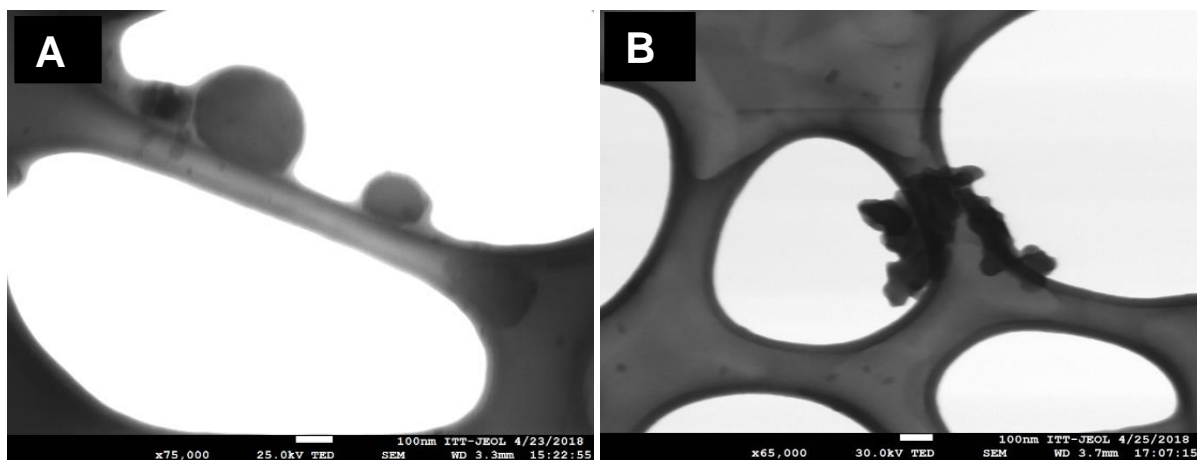


Fig 9. <sup>1</sup>H MNR de CAM10.

#### IV.2.4 CARACTERIZACIÓN DE MONÓMERO TIPO CAM POR FESEM

Para el análisis de la estructura, morfología, textura y tamaño se utilizó el FESEM, a un potencial de 25Kv esto para no dañar la muestra, lo que se muestra en la figura 10, donde se encontraron dos formas esféricas correspondientes a la formación de nanogeles, es una muestra en crudo de los nanogeles MMA:CAM10k

con proporción 50:50 y un tiempo de reacción de 45 minutos; en esta microscopia se captaron dos esferas de nanogeles con diámetros del doble de tamaño, se muestran residuos de monómero sin reaccionar y un aglomerado dentro del mismo residuo.

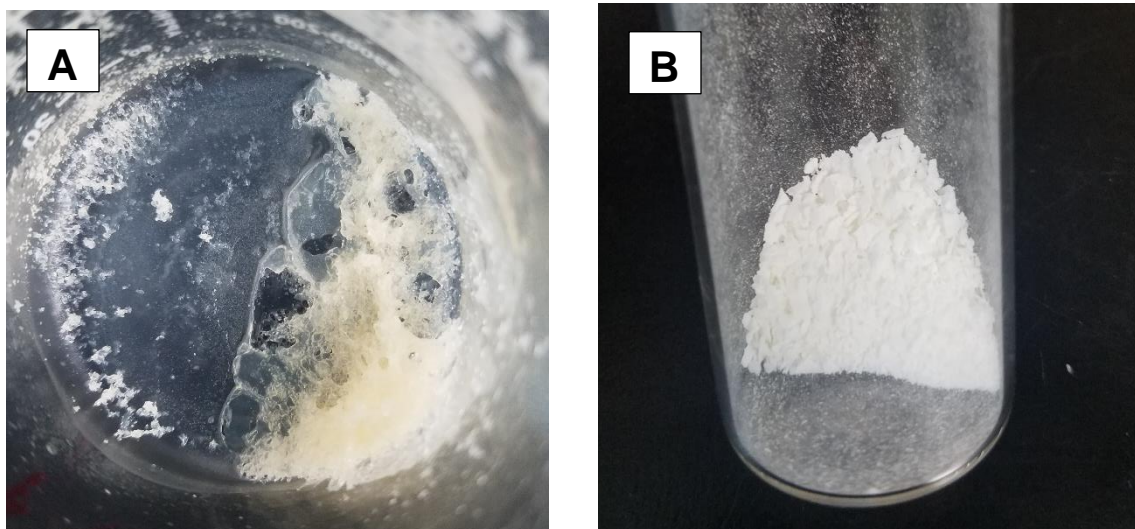


**Fig. 10.** Microscopia FESEM de nanogeles de CAM10k-MMA 50:50, tiempo de reacción 45min (A) y 24hrs (B).

### **IV.3 SÍNTESIS DE SAL DE POTASIO DE MONÓMERO TIPO CARBOXIALQUILMETACRILAMIDA**

La síntesis de CAM10K dio como resultado un polvo blanco, con rendimientos: en la síntesis de la sal los rendimientos promedio de la sal potásica de CAM10 se

obtuvo un 63 %; por otro lado para la sal de CAM5, por la viscosidad y difícil manejo del monómero, los rendimientos fueron notablemente más bajos, obteniendo en promedio un 26 %.



**Fig. 11.** Sal potásica de CAM5 liofilizada (A) y Sal potásica de CAM10(B).

CAM10K presento dificultades para solubilizarse, en cuanto a CAM5K por la naturaleza higroscópica del monómero, no hubo problema para disolverlo en agua.

#### **VI.4 SÍNTESIS DE NANOGELES MEDIANTE EL METODO DE POLIMERIZACIÓN POR EMULSIÓN SIN DETERGENTE**

Para poder tener una base en cuanto a las cantidades de la sal de monómero, para la preparación de los nanogeles, fue indispensable hacer un estudio de emulsión (Tabla 1) en el que se obtuvieron los siguientes resultados:

**Tabla 1.** Proporciones de los monómeros en la formación de emulsiones.

Parámetro	PROPORCION MMA:CAM10K		
	50:50	70:30	30:70
Dh (nm)	366	426	1000<
PDI	0.36	0.65	-----

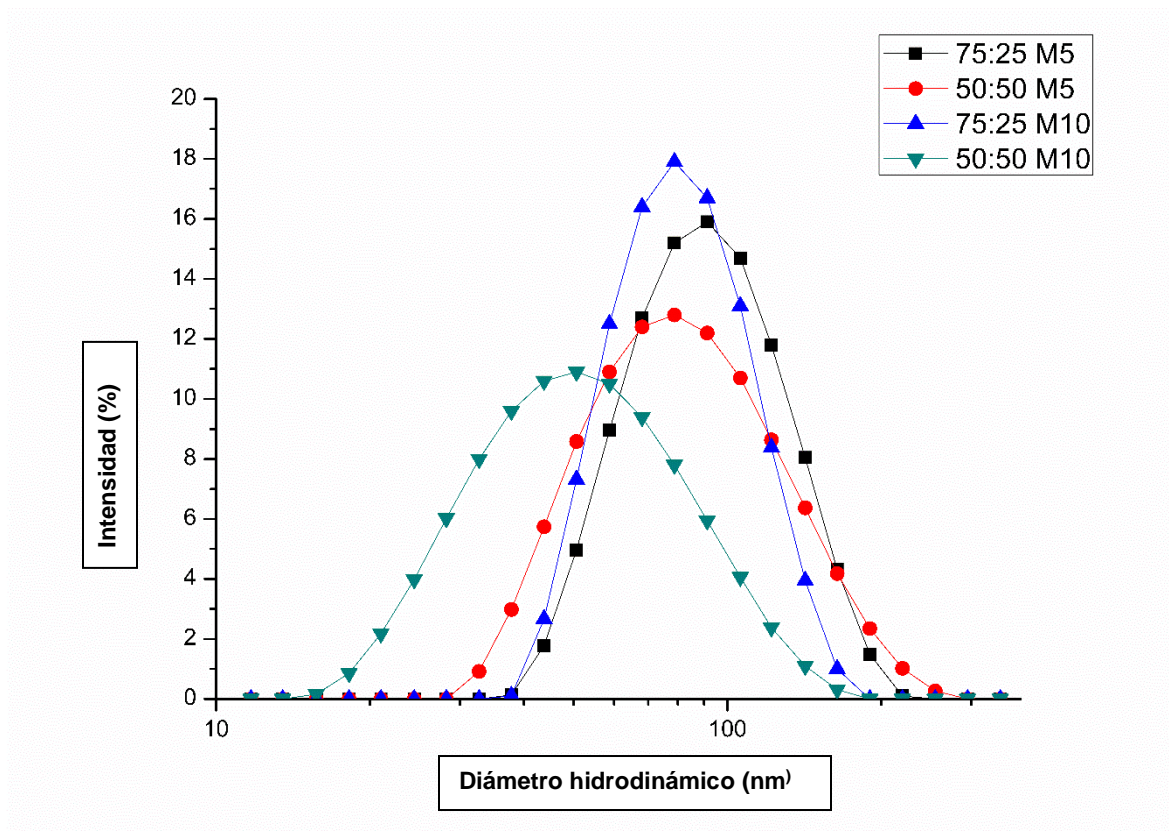
El objetivo de este análisis consistió en comparar la interacción de los comonómeros en solución acuosa en proporciones representativas para verificar la formación de una emulsión y llevar a cabo por el método de polimerización por emulsión sin detergente la síntesis de nanogeles. Lo que nos muestra la tabla 1 son como las interacciones de CAM10K como comonómero anfifílico y MMA como comonómero aniónico intervienen en los fenómenos fisicoquímicos como la estabilidad coloidal que presentan partículas de tamaños de 366nm a una proporción de 50:50 y de 426nm a una proporción de 70:30, para comparar en contraste con una mala calidad de lectura la proporción 30;70: esto nos sugiere que en las dos primeras proporciones la estabilidad coloidal que proporciona el CAM10K dota la suficiente tensión superficial en MMA para la formación de micelas, mientras que la tercera proporción por la baja cantidad de MMA no alcanza a llegar a la concentración micelar crítica (CMC).

**Tabla 2.** Promedio de tamaños del diámetro hidrodinámico en nanómetros (Dh) de los nanogeles en solución acuosa.

Monómeros	Proporción	Dh (nm)	PDI
MMA:CAM10K	50:50	49.86	0.286
MMA:CAM10K	75:25	77.9	0.072
MMA:CAM5K	50:50	75.54	0.142
MMA:CAM5K	75:25	85.60	0.089

## VI.5 EFECTO DEL PH EN EL TAMAÑO HIDRODINÁMICO DE LOS NANOGELES Y EN EL ÍNDICE DE POLIDISPERSIDAD

En la figura 12 se observa la comparación de las distribuciones en tamaño del diámetro hidrodinámico de cuatro soluciones acuosas de nanogeles preparados con MMA en proporciones 50:50 y 75:25 con los monómeros CAM10K y CAM5K



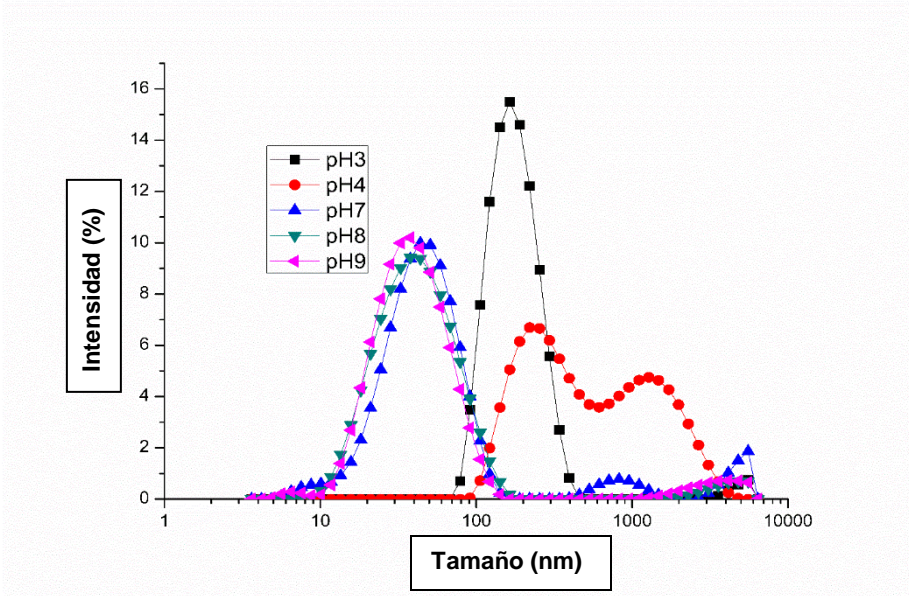
**Fig. 12.** Comparación de los tamaños de los nanogeles en diferentes proporciones.

Se observa la comparación de la distribución de tamaño de los nanogeles con una proporción de comonómeros MMA y CAM10K al 50:50, ambos medidos por intensidad a una temperatura de 25 °C, preparados con el entrecruzante EGDMA y

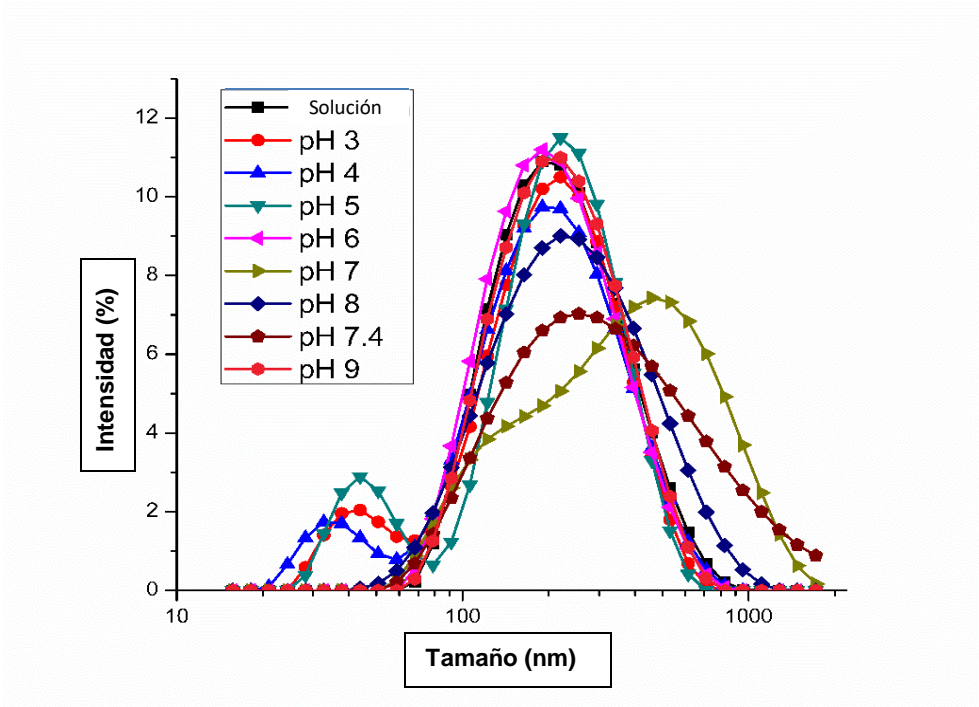
como iniciador APS. La tabla muestra el índice de polidispersidad de los nanogeles en dilución, la columna de la izquierda muestra el diámetro hidrodinámico medido en el DLS tomada en el tiempo final de la reacción la cual fue de 45 minutos, en orden de descendencia se observa el diámetro hidrodinámico de los nanogeles que medidos en soluciones amortiguadoras de pH para diferentes pH que van del 3 al 9, las líneas punteadas representan un error en la medición en el cual se observó una aglutinación al momento de agregar los nanogeles a los soluciones amortiguadoras de pH correspondientes (5 y 6). En comparación la columna de la derecha muestra los diámetros hidrodinámicos de los nanogeles que tuvieron un tiempo de reacción de 24hrs.

**Tabla 3.** Comparación de los cambios de tamaño medido mediante DLS de dos reacciones de CAM10k-MMA con proporción 50:50 a dos diferentes tiempos de reacción.

	<b>MMA:CAM10k 50:50 (45 min)</b>	<b>MMA:CAM10k 50:50 (24hrs)</b>
<b>Dh (nm)</b>	34	195
<b>PDI</b>	0.19	0.23
<b>pH3</b>	169	159
<b>pH4</b>	383	152
<b>pH5</b>	Mala calidad de lectura	159
<b>pH6</b>	Mala calidad de lectura	181
<b>pH7</b>	43	289
<b>pH8</b>	37	209
<b>pH9</b>	35	208



**Fig. 13.** Comparación de los tamaños de los nanogeles de CAM10K y MMA a una proporción 50:50 con un tiempo de reacción de 45min, en diferentes pH.



**Fig. 14.** Comparación de los tamaños de los nanogeles de CAM10K y MMA a una proporción 50:50 con un tiempo de reacción de 45 minutos, en diferentes pH.

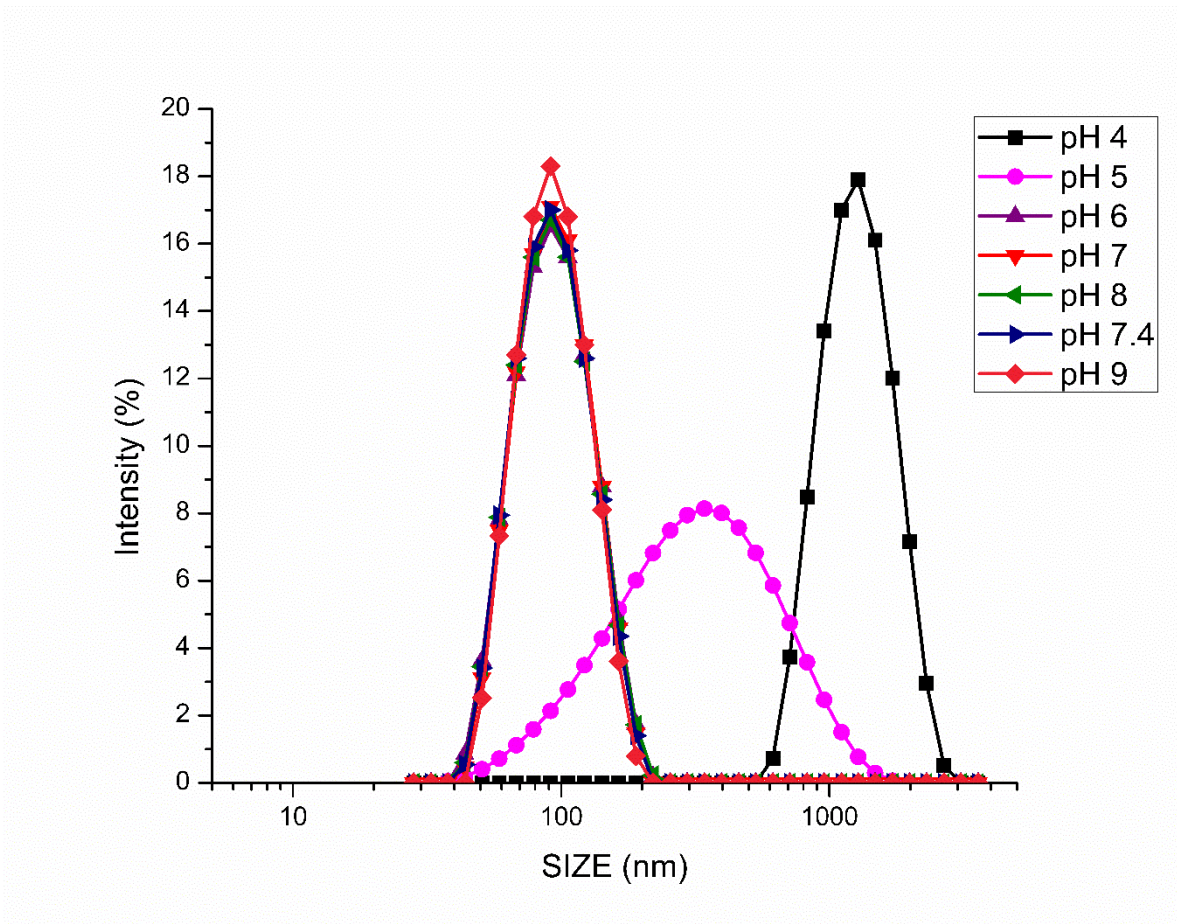
En la tabla 3 se muestran la comparación de dos reacciones con la misma proporción de monómeros, pero con la diferencia del tiempo de reacción, a la izquierda de 45 minutos y a la derecha de 24 h, en el sistema de 24 h no se obtienen resultados adecuados, aparecen aglomeraciones en lugar de formación de nanogeles, lo cual coincide con las imágenes de las microscopias. Así mismo en la figura 13 se muestra la gráfica de los cambios resultantes de la variación de pH, por el contrario en la figura 14 se observa gran similitud en los tamaños respecto al pH debido a la poca o nula reacción en cambios de tamaño respecto al pH.

Para la estimación de rendimiento porcentual, se liofilizó 10 ml de suspensión nanogel y se determinó el peso de los nanogeles recuperados. El rendimiento por ciento de nanogeles preparados se calculó según la ecuación en la figura 16.

$$.Porcentaje\ de\ rendimiento = \left( \frac{\text{peso total de nanogeles recuperados}}{\text{peso total de monómeros añadidos}} \right) \times 100$$

**Ec 2.** fórmula para calculo de rendimiento de nanogeles.

Mientras que el comportamiento de los nanogeles de CAM10K y MMA a una proporción de 75:25, muestra que antes de una aglomeración a pH bajos se obtuvo el mayor tamaño a pH 4, en pH 5 ocurre una transición de tamaño significativo donde se muestra la línea rosa de la figura 15, abarcando tamaños muy diversos o mostrándonos probablemente la inestabilidad de las nanopartículas; a partir de pH 6 a pH 9 no se aprecia cambios en el grafico en la lectura.



**Fig. 15.** Comparación de los tamaños de los nanogeles de CAM10K y MMA a una proporción 75:25 con un tiempo de reacción de 45min, en diferentes pH.

**CAPITULO V**  
**CONCLUSIONES**

El monómero CAM10 se sintetizó a partir del ácido 11-aminoundecanoico; el monómero CAM5 se sintetizó a partir del ácido 6-aminocaproico. Para la síntesis de ambos se utilizó el método de SchottenBaumann, referido a la formación de amidas por acilación de aminas primarias.

Los monómeros anfífilicos CAM tienen propiedades emulsificantes. Se llevó a cabo la caracterización de los monómeros CAM10 y CAM5 después de ser purificados, en donde mediante FTIR, RMN y TLC se demostró tanto la pureza de los mismos como las propiedades esperadas que confirman la obtención de estos monómeros.

Se sintetizaron las sales de potasio de los monómeros CAM10 y CAM5, obteniendo rendimientos por arriba del 80 %.

Después de las diferentes reacciones de síntesis la proporción que arrojó mejores resultados para la obtención de nanogeles núcleo coraza a partir de los monómeros CAM10 y MMA, es en donde se usan 50:50.

Los nanogeles presentaron estabilidad en solución acuosa la cual fue evaluada mediante el DLS, se midió tamaño y PDI, los diámetros hidrodinámicos se encuentran por debajo de 200 nm. EL PDI resultante indica una diversidad en los tamaños de los nanogeles, lo que nos indica una inadecuada formación de nanogeles. Mediante FESEM se muestra las características morfológicas de los nanogeles concluyendo que son esferas con diferentes tamaños en su diámetro hidrodinámico.

Se logró sintetizar nanogeles con éxito mediante la polimerización por emulsión sin detergentes, los cuales muestran una sensibilidad al pH, así como tamaños óptimos para llegar a ser utilizados como acarreadores de fármacos hacia tumores mediante el efecto de permeación retención en el área de a la biomedicina. Los nanogeles mostraron una respuesta favorable al ser analizados debido a que en diferentes pH exhiben un cambio de tamaño.

## REFERENCIAS

1. Peer, Dan, Jeffrey M Karp, Seungpyo Hong, Omid C Farokhzad, Rimona Margalit, and Robert Langer. 2007. "Nanocarriers as an Emerging Platform for Cancer Therapy," *Nature Nanotechnology*, 2(12), 751–60. DOI: 10.1038/nnano.2007.387
2. Hans, M L, and A M Lowman. 2002. "Biodegradable Nanoparticles for Drug Delivery and Targeting", *Curr Opin Solid State Mater Sci* 6 (September): 319–27. doi.org/10.1016/S1359-0286(02)00117-1
3. Kumari, Avnesh, Sudesh Kumar Yadav, and Subhash C Yadav. 2010. "Biointerfaces Biodegradable Polymeric Nanoparticles Based Drug Delivery Systems", *Colloids and Surfaces B*, 75: 1–18. doi:10.1016/j.colsurfb.2009.09.001.
4. Virginia Sáez, Estibaliz Hernáez and Lucio Sanz Angulo. 2004 "Mecanismos de liberación de fármacos desde materiales poliméricos", *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 5(1)
5. Vinogradov, Serguei V, Tatiana K Bronich, and Alexander V Kabanov. 2002. "Nanosized Cationic Hydrogels for Drug Delivery: Preparation, Properties and Interactions with Cells", *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54: 135–47.
6. Wu, Weitai, and Shuiqin Zhou. 2010. "Hybrid Micro-/nanogels for Optical Sensing and Intracellular Imaging", *Nano reviews*1: 1–18. doi:10.3402/nano.v1i0.5730.
7. Matzelle, T. and Reichelt, R. 2008. "Review: hydro-, micro- and nanogels studied by complementary measurements based on sem and sfm." *Acta Microscopica* 17 (1): 45–61.
8. Hoare, Todd R, and Daniel S Kohane. 2008. "Hydrogels in Drug Delivery: Progress and Challenges \*." *Polymers with Aligned Carbon Nanotubes: Active Composite Materials* 49 (8). Elsevier Ltd: 1993–2007. doi:10.1016/j.polymer.2008.01.027.
9. Peppas, By Nicholas A, J Zach Hilt, Ali Khademhosseini, and Robert Langer. 2006. "Hydrogels in Biology and Medicine: From Molecular Principles to Bionanotechnology \*\*," 1345–60. doi:10.1002/adma.200501612.
10. Vinogradov, Serguei V. 2006. "Colloidal Microgels in Drug Delivery Applications," *Curr Pharm Des*, 12 (36), 4703–12.
11. Prabhakar, Uma, David C Blakey, and Hiroshi Maeda. 2013. "Challenges and Key Considerations of the Enhanced Permeability and Retention Effect (EPR) for Nanomedicine Drug Delivery in Oncology.", *Cancer Research*, 73(8); 2412–7 doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-4561.
12. Malam, Yogeshkumar, Marilena Loizidou, and Alexander M Seifalian. 2009. "Liposomes and Nanoparticles: Nanosized Vehicles for Drug Delivery in Cancer." *Trends Pharmacol Sci.*; 30(11):5929 doi:10.1016/j.tips.2009.08.004.
13. Peer, Dan, Jeffrey M Karp, Seungpyo Hong, Omid C Farokhzad, Rimona Margalit, and Robert Langer. 2007. "Nanocarriers as an Emerging Platform for Cancer Therapy," *Nature Nanotechnology* 2, 751 - 760 doi:10.1038/nnano.2007.387
14. Davis, Mark E, Zhuo Georgia Chen, and Dong M Shin. 2008. "Nanoparticle Therapeutics: An Emerging Treatment Modality for Cancer" *Nature Reviews*

- Drug Discovery 7: 771–82. doi:10.1038/nrd2614.
15. R.G. Gilbert. Academic Press, London, 1995; “Emulsion Polymerization: a Mechanistic Approach”. 362 pps.
  16. Christopher J. Ferguson , Robert J. Hughes , Duc Nguyen , Binh T. T. Pham , Robert G. Gilbert , Algirdas K. Serelis , Christopher H. Such , and Brian S. Hawkett, 2005“Ab Initio Emulsion Polymerization by RAFT-Controlled Self-Assembly”*Macromolecules*, American Chemical Society, 38 (6), pp 2191–2204 DOI: 10.1021/ma048787r
  17. Yeonhwa Wi, Kangseok Lee, Byung Hyung Lee and Soonja Choe. 2008 “Ab initio dispersion polymerization of styrene in the presence of the poly(methacrylic acid) macro-RAFT agent”. *Macromol. Res.*17: 750. doi:10.1007/BF03218610
  18. Danhier, Fabienne, Nathalie Lecouturier, Benoît Vroman, Christine Jérôme, Jacqueline Marchand-brynaert, Olivier Feron, and Véronique Préat. 2009. “Paclitaxel-Loaded PEGylated PLGA-Based Nanoparticles : In Vitro and in Vivo Evaluation.” *Journal of Controlled Release* 133 (1). Elsevier B.V.: 11–17. doi:10.1016/j.jconrel.2008.09.086.
  19. Farokhzad, Omid C, Jianjun Cheng, Benjamin A Teply, Ines Sherifi, Sangyong Jon, Philip W Kantoff, Jerome P Richie, and Robert Langer. 2006. “Targeted Nanoparticle-Aptamer Bioconjugates for Cancer Chemotherapy in Vivo.” *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Apr 18; 103(16):6315-20.
  20. Serrano-Medina, A., J. M. Cornejo-Bravo, and A. Licea-Claverie. 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). Elsevier Inc.: 82–90. doi:10.1016/j.jcis.2011.12.045.
  21. D. A. Castro-Vidal, C. Obeso-Vera, K. A. Suarez-Meraz, B. M. Lara-Molinero, A. Serrano-Medina, J. M. Cornejo-Bravo. 2016. “Thermal and pH sensitive nano / microgels of N – Isopropylacrylamide and carboxyalkyl methacrylates.” , *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*11 (1): 123–32.
  22. Khakzad, Fahimeh, Ali Reza, Hamid Salehi-Mobarakeh, Abbas Rezaee Shirin-Abadi, and Michael Cunningham. 2016. “Redispersible PMMA Latex Nanoparticles Containing Spiropyran with Photo- , pH- and CO<sub>2</sub> - Responsivity.” *Polymer* 101. Elsev
  23. Wei, Hua, Xian-Zheng Zhang, Ying Zhou, Si-Xue Cheng, and Ren-Xi Zhuo. 2006. “Self-Assembled Thermoresponsive Micelles of Poly ( N - Isopropylacrylamide- B -Methyl Methacrylate )” . *Biomaterials*. 27: 2028–34. doi:10.1016/j.biomaterials.2005.09.028.
  24. Sánchez-Bustos, Elizabeth, José M Cornejo-Bravo, and Angel Licea-Claverie. 2016. “Core Cross-Linked Star Polymers for Temperature / pH Controlled Delivery of 5-Fluorouracil”. *Journal of Chemistry* doi.org/10.1155/2016/4543191
  25. Ahmed, Enas M. 2015. “Hydrogel : Preparation , Characterization , and Applications : A Review.” *Journal of Advanced Research* 6 (2). Cairo University: 105–21. doi:10.1016/j.jare.2013.07.006.
  26. Argentièrè, Simona, Laura Blasi, Giuseppe Ciccarella, Giovanna Barbarella, Roberto Cingolani, and Giuseppe Gigli. 2009. “Synthesis of Poly ( Acrylic

- Acid ) Nanogels and Application in Loading and Release of an Oligothiophene Fluorophore and Its Bovine Serum Albumin Conjugate,” 69–76. doi:10.1002/masy.200950709.
27. Asua, M. 2002. “Miniemulsion Polymerization” 27: 1283–1346.
  28. Chern, C S. 2006. “Emulsion Polymerization Mechanisms and Kinetics” 31: 443–86. doi:10.1016/j.progpolymsci.2006.02.001.
  29. Dimde, Mathias, Falko Neumann, Felix Reisbeck, and Svenja Ehrmann. 2017. “Biomaterials Science.” Royal Society of Chemistry. doi:10.1039/c7bm00729a.
  30. Eid, M, and S A Hegazy. 2009. “J o u r n a l o f R a d i a t i o n R e s e a r c h a n d A p p l i e d S c i e n c e s Radiation Synthesis of Stimuli-Responsive Hydrogels for Biological Applications” 2 (4): 717–36.
  31. Escobar, J.L.; Garcia; Zaldivar, Issa Katime. 2002. “Revista Iberoamericana Polímeros Escobar et Al. Volumen 3(3) Julio 2002.” *Revista Iberoamericana Polímeros* 3 (3): 1–25.
  32. Farokhzad, Omid C, and Robert Langer. n.d. “Impact of Nanotechnology on Drug Delivery” 3 (1): 16–20.
  33. Fresneda, Judith. 2016. “Utilización de Hidrogeles Como Liberadores de Fármacos,” no. November.
  34. Harkins, D. 1947. “A General Theory of the Mechanism of Emulsion Polymerization1” 69.
  35. Iizawa, Takashi, Hatsumi Taketa, Makoto Maruta, Takashi Ishido, and Takehiko Gotoh. 2006. “Synthesis of Porous Poly ( N -Isopropylacrylamide ) Gel Beads by Sedimentation Polymerization and Their Morphology.” doi:10.1002/app.
  36. Jonsson, Solution B, B Lindman, K Holmberg, B Kronberg, and Eds John Wiley. 2007. “A Review of “ Surfactants and Polymers in Aqueous,” no. November 2014: 3–4. doi:10.1080/01932699908943851.
  37. Kang, Jian-shu, Cai-li Yu, and Fa-ai Zhang. 2009. “Effect of Silane Modified SiO 2 Particles on Poly(MMA-HEMA) Soap-Free Emulsion Polymerization” 18 (12): 927–35.
  38. Khan, Saba, M Shaharyar, Mohammad Fazil, Sanjula Baboota, and Javed Ali. 2016. “Optimization of Production & Characterization Department of Medicinal Chemistry , Faculty of Pharmacy , Jamia Hamdard , Hamdard.” *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. doi:10.1016/j.ejpb.2016.07.017.
  39. Lavan, David A, Terry Mcguire, and Robert Langer. 2003. “Drug Delivery” 21 (10): 1184–91. doi:10.1038/nbt876.
  40. Mudassir, Jahanzeb, Yusrida Darwis, and Siti Rafidah Yusof. 2017. “Synthesis , Characterization and Toxicological Evaluation of PH-Sensitive Polyelectrolyte Nanogels.” *Journal of Polymer Research*. doi:10.1007/s10965-017-1321-5.
  41. Ogawa, Kazuyoshi, Atsushi Nakayama, and Etsuo Kokufuta. 2003. “Preparation and Characterization of Thermosensitive Polyampholyte Nanogels,” no. 6: 3178–84.
  42. Peres, Luana Becker, Laize Becker Peres, Tatiany J Faria, and João Vitor De Assis. 2017. “PLLA / PMMA Blend in Polymer Nanoparticles : Influence

- of Processing Methods.” *Colloid and Polymer Science*. doi:10.1007/s00396-017-4140-7.
43. Rayo, Escalona, and Quintanar Guerrero. 2014. “Nanogeles Poliméricos: Una Nueva Alternativa Para La Administración de Fármacos.”
  44. Sadeghi, Hamid, Mohammad Reza, Seyed Jamal, Tabatabaei Rezaei, and Hassan Niknejad. 2014. “PH-Sensitive Nanogels Based on Boltorn® H40 and Poly ( Vinylpyridine ) Using Mini-Emulsion Polymerization for Delivery of Hydrophobic Anticancer Drugs.” *Polymer*. Elsevier Ltd, 1–12. doi:10.1016/j.polymer.2014.06.037.
  45. Santos, Salomé, Bruno Medronho, Tiago Santos, and Filipe E Antunes. 2013. *Amphiphilic Molecules in Drug Delivery Systems*. doi:10.1007/978-94-007-6010-3.
  46. Yang, Libo, James S Chu, and Joseph A Fix. 2002. “Colon-Specific Drug Delivery : New Approaches and in Vitro / in Vivo Evaluation” 235: 1–15.
  47. Yang, Shenglin, Chunfeng Song, Teng Qiu, Longhai Guo, and Xiaoyu Li. 2013. “Synthesis of Polystyrene / Polysilsesquioxane Core / Shell Composite Particles via Emulsion Polymerization in the Existence of Poly (  $\gamma$  - Methacryloxypropyl Trimethoxysilane ) Sol.”
  48. Yoshida, Takayuki, Tsz Chung Lai, Glen S Kwon, and Kazuhiro Sako. 2013. “PH- and Ion-Sensitive Polymers for Drug Delivery,” 1–17.
  49. Zhang, Ying, Hon Fai Chan, and Kam W Leong. 2013. “Advanced Materials and Processing for Drug Delivery : The Past and the Future ☆.” *Advanced Drug Delivery Reviews* 65 (1). Elsevier B.V.: 104–20. doi:10.1016/j.addr.2012.10.003.
  50. Zhao, Wen, Xing Jin, Yang Cong, and Jun Fu. 2012. “Degradable Natural Polymer Hydrogels for Articular Cartilage Tissue Engineering,” no. November. doi:10.1002/jctb.3970.