

Universidad Autónoma de Baja California

Facultad de Ciencias Químicas e Ingenierías



“Síntesis de microgeles entrecruzados de N-isopropilacrilamida con ácido metacriloiloxi-o-benzoico para liberación de ácido salicílico”

T E S I S

Para obtener el título de

Químico Farmacobiólogo

Presenta

Teresa Guadalupe Rodríguez Téllez

Director de Tesis

Dra. Kenia Palomino Vizcaíno

Co-Director de Tesis

Dr. Héctor Alfonso Magaña Badilla

Tijuana B.C., Febrero de 2021

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA

FOLIO No. 048

Tijuana, Baja California, a 27 de enero de 2021

C. Teresa Guadalupe Rodríguez Tellez
Pasante de Químico Farmacobiólogo
Presente:

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

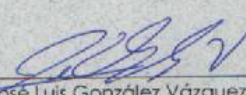
Es propuesto, por la Dra. Kenia Palomino Vizcaino quienes serán los responsables de la
calidad del trabajo que usted presente, referido al tema "Síntesis de microgeles
entrecruzados de N-isopropilacrilamida con ácido metacriloloxi-o-benzoico para
liberación de ácido salicílico", el cual deberá usted desarrollar, de acuerdo con el
siguiente orden:

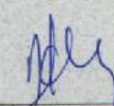
- I.- RESUMEN
- II. INTRODUCCIÓN
- III. PARTE EXPERIMENTAL
- IV. DISCUSIÓN Y RESULTADOS
- V. CONCLUSIONES
- VI. REFERENCIAS
- VII. ANEXOS




Dra. Kenia Palomino Vizcaino
Directora de Tesis


Dr. Héctor Alfonso Magaña Badilla
Co- Director de Tesis


Dr. José Luis González Vázquez
Director


Q. Noemí Hernández Hernández
Subdirectora

Contenido

Lista de figuras.....	V
Lista de tablas.....	VI
Agradecimientos	VII
Agradecimientos personales.....	VIII
I. Introducción	1
I.1 Antecedentes.....	1
I.2 Justificación	3
I.3 Objetivo general.....	4
I.4 Objetivos específicos	4
II. Marco teórico	5
II.1 Sistemas de liberación de fármacos	5
II.2 Sistemas poliméricos de liberación de fármacos	8
II.3 Hidrogeles.....	9
II.4 Nano y micropartículas.....	10
II.5 Polímeros que responden a estímulos o polímeros inteligentes.	11
II.6 N-isopropilacrilamida (NIPAAm)	11
II.7 Profármacos	13
III. Experimental	16
III.1 Reactivos y solventes	16
III.2 Síntesis de ácido metacrililoiloxi- <i>o</i> -benzoico (MAOB)	17
III.3 Cromatografía de capa fina	18
III.4 Análisis de infrarrojo.....	19
III.5 Purificación de NIPAAm	19
III.6 Síntesis de microgeles NIPAAm-MAOB.....	19
III.7 Microgel NIPAAm-MAOB 5%	20
III.8 Purificación por diálisis y liofilizado	21
III.9 Determinación de tamaño de partícula.....	21
III.10 Determinación de la temperatura de transición.....	22
III.11 Determinación del contenido de MAOB por titulación acido-base	22
III.12 Análisis infrarrojo de los microgeles.....	22
III.13 Estudio hidrólisis-liberación	23
IV. Resultados y discusión	24
IV.1 Síntesis y caracterización de MAOB	24

IV.2 Síntesis y caracterización de microgeles NIPAAm/MAOB	25
IV.3 Efecto de la temperatura en el tamaño del microgel	31
IV.4 Determinación del contenido de MAOB por titulación potenciométrica.....	36
IV.6 Análisis infrarrojo de los microgeles	40
IV.7 Estudio hidrólisis-liberación	42
V. Conclusiones	45
Referencias	46
Anexos.....	48

Lista de figuras

Figura 1. Representación de niveles de concentración plasmática después de la administración de un fármaco a partir de una forma farmacéutica de liberación controlada (LC), liberación inmediata (LI) y liberación sostenida (LS).

Figura 2. Representación de los perfiles de concentración plasmática según la forma farmacéutica.

Figura 3. Representación de un hidrogel en estado colapsado e hinchado. Así como de las cadenas y puntos de entrecruzamiento.

Figura 4. A) Estructura química de NIPAAm, B) representación de su conformación física según la temperatura.

Figura 5. Ejemplos de estructuras de profármacos utilizados en la actualidad.

Figura 6. Representación esquemática de un profármaco diseñado para lograr atravesar una membrana celular.

Figura 7. Ruta de síntesis de MAOB.

Figura 8. Sólido de MAOB.

Figura 9. Espectro FTIR de MAOB.

Figura 10. Estructura de los microgeles NIPAAm-MAOB.

Figura 11. Espectro FTIR de NIPAAm.

Figura 12. Gráfico de distribución de tamaño de partícula de los microgeles NIPAAm/MAOB 5%, recién purificados y resuspendidos una vez liofilizados.

Figura 13. Gráfico de distribución de tamaño de partícula de los microgeles NIPAAm/MAOB 15%, recién purificados y resuspendidos una vez liofilizados.

Figura 14. Gráfico de distribución de tamaño de partícula de los microgeles NIPAAm/MAOB 17.5%, recién purificados y resuspendidos una vez liofilizados.

Figura 15. Gráfico de distribución de tamaño de partícula de los microgeles NIPAAm/MAOB 20%, recién purificados y resuspendidos una vez liofilizados.

Figura 16. Gráfico de colapso de tamaño respecto a la temperatura del microgel NIPAAm 100%.

Figura 17. Gráfico de colapso de tamaño respecto a la temperatura del microgel NIPAAm 5%.

Figura 18. Gráfico de colapso de tamaño respecto a la temperatura del microgel NIPAAm 15%.

Figura 19. Gráfico de colapso de tamaño respecto a la temperatura del microgel NIPAAm 17.5%.

Figura 20. Gráfico de colapso de tamaño respecto a la temperatura del microgel NIPAAm 20%.

Figura 21. Curva de titulación para microgel NIPAAm-MAOB 5%. El recuadro interior muestra la derivada y los picos máximos representan el punto de equivalencia.

Figura 22. Curva de titulación para microgel NIPAAm-MAOB 15%. El recuadro interior muestra la derivada y los picos máximos representan el punto de equivalencia.

Figura 23. Curva de titulación para microgel NIPAAm-MAOB 17.5%. El recuadro interior muestra la derivada y los picos máximos representan el punto de equivalencia.

Figura 24. Curva de titulación para microgel NIPAAm-MAOB 20%. El recuadro interior muestra la derivada y los picos máximos representan el punto de equivalencia.

Figura 25. Espectro infrarrojo de los microgeles NIPAAm-MAOB.

Figura 26. Comparativo de los espectros infrarrojos de: A) NIPAAm, B) MAOB y C) Microgeles NIPAAm-MAOB.

Figura 27. Cinética de liberación de microgel NIPAAm-MAOB 17.5% a pH 7.4.

Figura 28. Cinética de liberación de microgeles NIPAAm-MAOB 5%, 15% y 20% a pH 1.2.

Lista de tablas

Tabla 1. Tamaño de micropartículas de NIPAAm/MAOB a 25°C.

Tabla 2. Contenido en porcentaje de copolímero ácido obtenido respecto los valores esperados.

Agradecimientos

Agradezco a mi alma máter la Universidad Autónoma de Baja California, de manera especial a la Facultad de ciencias Químicas e Ingenierías, que me brindaron las herramientas necesarias para la realización de este trabajo de tesis. A los profesores y colaboradores que participaron en mi formación como Químico Farmacobiólogo. Especialmente a aquellos profesores que fueron parte del plan de estudios y que siempre estuvieron dispuestos a transmitir sus conocimientos de la mejor manera, motivándome a seguir aprendiendo.

Agradezco infinitamente a la Dra. Kenia Palomino Vizcaíno y al Dr. Héctor Alfonso Magaña Badilla por el apoyo brindado. Desde el momento en los que los conocí les tomé gran admiración y respeto pues demostraron ser profesores realmente interesados en ayudar y motivar profesionalmente a sus alumnos a lograr más de lo que creemos que podemos. Gracias por su confianza y por abrirme las puertas del laboratorio de biofarmacia, gracias por motivarme día a día a continuar, si no fuera por ustedes no hubiera llegado hasta este momento.

Finalmente, gracias a todas las personas que son parte del laboratorio de biofarmacia, lugar donde conocí personas que siempre estuvieron abiertas a ayudarme y a enseñarme cosas nuevas desde que inicié el proyecto.

Agradecimientos personales

Pienso que no existen las suficientes palabras para expresar lo agradecida que estoy con mi familia, especialmente con mi mamá y mi papá. Que siempre han estado pendiente de mí, por todo su amor y cariño, por enseñarme la importancia de la educación y motivarme a aprender. Gracias a mi mamá por siempre dar todo de sí misma para ser la mejor madre que, si no hubiera sido por sus consejos, paciencia y amor, yo no hubiera llegado a ser quien soy hoy.

Gracias a mi hermana Angélica por siempre estar para ayudarme a pesar de ser menor, porque a pesar de que no lo cree, me motiva y me inspira por su valentía a realizar cosas nuevas. Y porque, aunque existen momentos en los que no nos soportamos, siempre ha sido y será mi compañía favorita.

El presente trabajo se realizó en las instalaciones del laboratorio de Biofarmacia de la Facultad de ciencias Químicas e Ingeniería de la Universidad Autónoma de Baja California,

bajo la dirección del profesor-investigador:

Dra. Kenia Palomino Vizcaíno

I. Introducción

I.1 Antecedentes

La salud humana se encuentra activamente amenazada por distintas enfermedades que pueden ser difíciles de tratar con farmacoterapias convencionales como en los casos de enfermedades degenerativas, autoinmunes, metabólicas o cáncer, solo por mencionar algunas (Vilara, Tulla-Puche, & Albericio, 2012). Existe una gran cantidad de fármacos para el tratamiento de la mayoría de las enfermedades, sin embargo, las formas farmacéuticas convencionales no siempre logran brindar control adecuado sobre las cantidades de fármaco necesarios en el sistema para que la terapia farmacológica sea exitosa, ya que muchas de las veces son administradas dosis ineficaces o que resultan tóxicas para el organismo (Arredondo, 2009).

Se sabe que muy pocos fármacos logran unirse selectivamente al blanco o diana terapéutica, por lo que, se necesita una herramienta para dirigir el fármaco al tejido u órgano deseado para reducir la incidencia de dosis ineficaces y la toxicidad relacionada a la dosis. Fue en año 1906 cuando el médico Alemán Paul Ehrlich introdujo el concepto de “bala mágica” el cual hace referencia a liberación de fármacos dirigida, lo cual hasta la actualidad sigue representando un reto pues una vez seleccionado correctamente el fármaco para el tratamiento se debe elegir el transportador de éste, el cual debe ser estable, no producir interacciones, que se pueda eliminar correctamente del organismo y que no induzca la activación del sistema inmune (Cho, Wang, & Shin, 2008) (Sabyasachi, 2017).

Recientemente se han estudiado diferentes materiales poliméricos que funcionan como novedosos sistemas de liberación, como lo son los hidrogeles, las nanopartículas y micropartículas, según sea su tamaño (Kreuter, 1996). Estos polímeros, que actúan como

medio de transporte de fármacos, pueden ser sintetizados de distintos polímeros que en combinación pueden atribuirles distintas características que confieren especificidad ante la aplicación deseada (Aguilar, 2007).

Las nanopartículas son potencialmente útiles como transportadores de fármacos y, cuando se combinan con ligandos dirigidos, pueden cumplir muchos atributos de una "fórmula mágica". Además, ofrecen varias ventajas potenciales que incluyen una mayor eficacia e índice terapéutico, mejora en la respuesta farmacocinética, obtención de tamaños reproducibles con oportunidad de mejora de la superficie, capacidad para atrapar fármacos tanto hidrófilos como lipófilos, aumento de la estabilidad del fármaco frente a la degradación enzimática, entregando así el fármaco atrapado intacto a varios tejidos y células para la administración dirigida y específica del sitio y, por lo tanto, disminuyendo la toxicidad del fármaco. El tamaño y otras características se pueden manipular según el medicamento y el uso previsto del producto (Santa & López, 2013) (Sabyasachi, 2017).

Se encuentra en investigación y desarrollo una clase de polímeros nombrados "inteligentes" ya que tienen la capacidad de responder, alterando su estructura ante diversos estímulos externos físicos, químicos y biológicos, de los cuales la temperatura y el pH resultan más relevantes para posibles aplicaciones biomédicas (Fu, 2018) (James, 2014) (Lanzalaco S. &, 2017).

En un estudio realizado por Magaña y colaboradores, se demostró que la molécula de poli(ácido 2 metacriloiloxi-o-benzoico) contiene un enlace hidrolizable del tipo éster que tiende a hidrolizarse en función de pH y cuyo producto de degradación es el ácido salicílico, actuando así como polímero profármaco (Magaña, y otros, 2016).

I.2 Justificación

La N-isopropilacrilamida (NIPAAm) tiene un comportamiento particular que ha hecho que se vuelva uno de los materiales poliméricos más estudiados en la actualidad por su termosensibilidad que es cercana a la temperatura corporal, por lo que resulta relevante su estudio para posibles aplicaciones en el campo de la medicina.

En soluciones acuosas presenta una temperatura de transición de fase cercana a los 32 °C, conocida como temperatura de solución crítica (LCST) por sus siglas en inglés. Este fenómeno es producido porque las cadenas del polímero tienen grupos amida que son grupos hidrófilos y grupos isopropilo que son hidrófobos (Boztepe, Künkül, & Yüceer., 2020).

A temperaturas menores que su LCST (cerca de 32 °C), los puentes de hidrógeno entre el polímero y el agua permiten que se hinche la estructura donde el agua ocupa los espacios vacíos entre las cadenas del polímero, mientras que a temperaturas superiores de su LCST las cadenas se deshidratan y colapsan abruptamente. Pudiendo así aprovechar estas propiedades para adaptarlas a sistemas de liberación de fármacos.

I.3 Objetivo general

Sintetizar una serie de microgeles termosensibles a base de N-isopropilacrilamida (NIPAAm) copolimerizados con diferentes porcentajes de ácido metacriloiloxi-*o*-benzoico (MAOB), para liberación de ácido salicílico a partir de la hidrólisis de MAOB.

I.4 Objetivos específicos

- I. Sintetizar y caracterizar el monómero ácido metacriloiloxi-*o*-benzoico (MAOB).
- II. Sintetizar microgeles de NIPAAm copolimerizados con MAOB en diferentes porcentajes desde 5% al 20%.
- III. Caracterizar los microgeles obtenidos determinando el tamaño y temperatura de transición.
- IV. Estudiar/cuantificar el contenido de ácido por medio de titulación.
- V. Estudiar/cuantificar la liberación de ácido salicílico a partir de MAOB.

II. Marco teórico

II.1 Sistemas de liberación de fármacos

Los sistemas de liberación de fármacos (DDS, por sus siglas en inglés Drug Delivery System) son dispositivos o formulaciones farmacéuticas que ayudan a que se lleve a cabo la liberación controlada o dirigida de un agente terapéutico en el cuerpo humano mejorando así su seguridad y eficacia al controlar la velocidad, tiempo y lugar de liberación del principio activo (Kewal, 2008) (Sabyasachi, 2017).

Comúnmente los fármacos presentan deficiencias debido a sus características farmacocinéticas, farmacodinámicas y fisicoquímicas. Con el objetivo de mejorar al máximo la respuesta terapéutica se desarrollaron sistemas de liberación modificada que, a diferencia de los sistemas de liberación de fármacos convencional que liberan de manera inmediata el principio activo, estos tienen como posibilidad que se pueda realizar la liberación del fármaco en un sitio más específico y se puede mantener relativamente estables las concentraciones de fármaco en la sangre, tejidos u órganos, mejorando así la biodisponibilidad (Sáez, 2004) (Vargas, 2015) (Hernández, 2010) (Patel, 2016) (Rojas, 2016) (Aguirre, 2017).

Las formas farmacéuticas de liberación modificada tienen como objetivo común suministrar al organismo una cantidad terapéutica de fármaco en el sitio apropiado, en un tiempo adecuado y que la concentración efectiva sea mantenida (Fig. 1). De esta manera se logran disminuir la incidencia en terapias ineficaces o tóxicas (Gennaro, 2003) (Ministerio de sanidad y consumo, 2015).

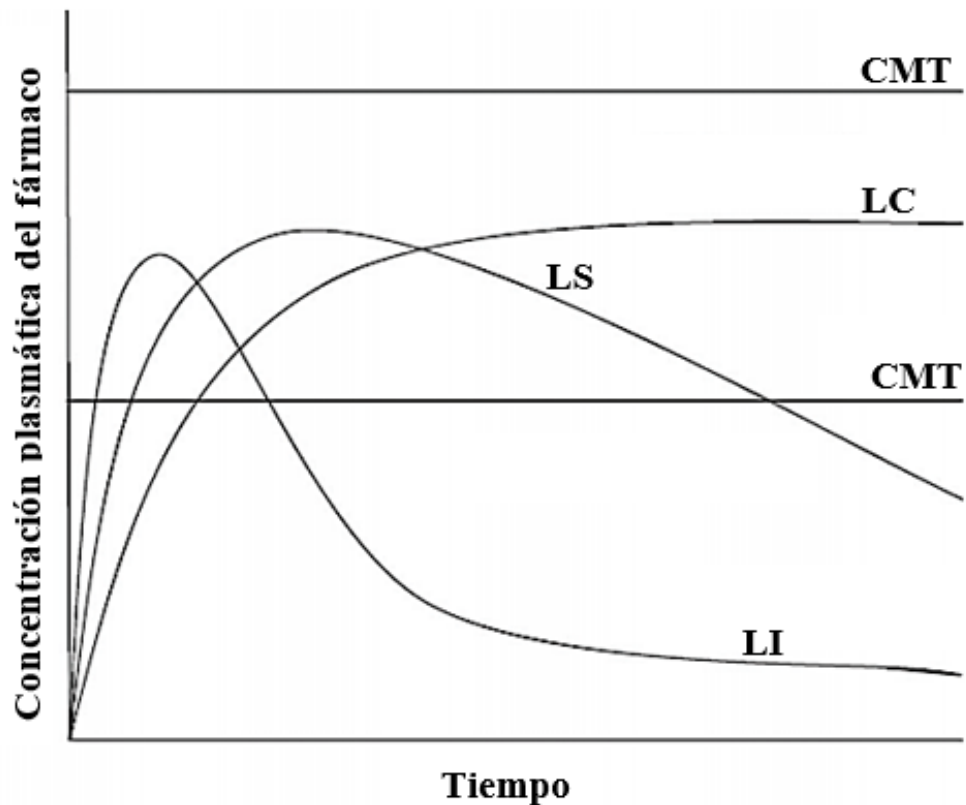


Figura 1. Representación de niveles de concentración plasmática después de la administración de un fármaco a partir de una forma farmacéutica de liberación controlada (LC), liberación inmediata (LI) y liberación sostenida (LS).

Características y definición de las distintas formas farmacéuticas orales de liberación controlada (Fig. 2):

Formas farmacéuticas de liberación sostenida: Inicialmente se libera una cantidad de fármaco para obtener la respuesta deseada inicial de forma rápida, posteriormente se libera una cantidad adecuada y constante para que la velocidad de absorción del fármaco sea igual a la velocidad de eliminación durante un tiempo prolongado (10 a 24 horas). Presentan una cinética de liberación del fármaco de orden cero, manteniendo la concentración plasmática del fármaco constante (suñé, 2002).

Formas farmacéuticas de liberación prolongada: El fármaco se libera inicialmente en la cantidad suficiente para producir la acción terapéutica o en un ligero exceso que no sea toxico para el organismo, posteriormente de libera lento y a una velocidad que no siempre es igual a la velocidad de eliminación. Estas formas farmacéuticas presentan una liberación lenta pero no constante, observándose un nivel plasmático que varía dentro del margen terapéutico (suñé, 2002).

Formas farmacéuticas de liberación repetida: Son aquellas que inicialmente proporcionan una dosis simple de fármaco y a un tiempo posterior liberan otra dosis similar; en el intervalo de tiempo entre la liberación de una dosis y otra, no existe liberación de principio activo. Se trata de liberar el fármaco en dos o más dosis iguales espaciadas en el tiempo (suñé, 2002).

Formas farmacéuticas de liberación retardada o diferida: Liberan el principio activo después de transcurrido un tiempo de latencia, por lo que no se obtienen niveles plasmáticos del fármaco hasta que la forma farmacéutica se encuentre en la zona del tracto digestivo en donde se desea que se active el sistema (suñé, 2002).

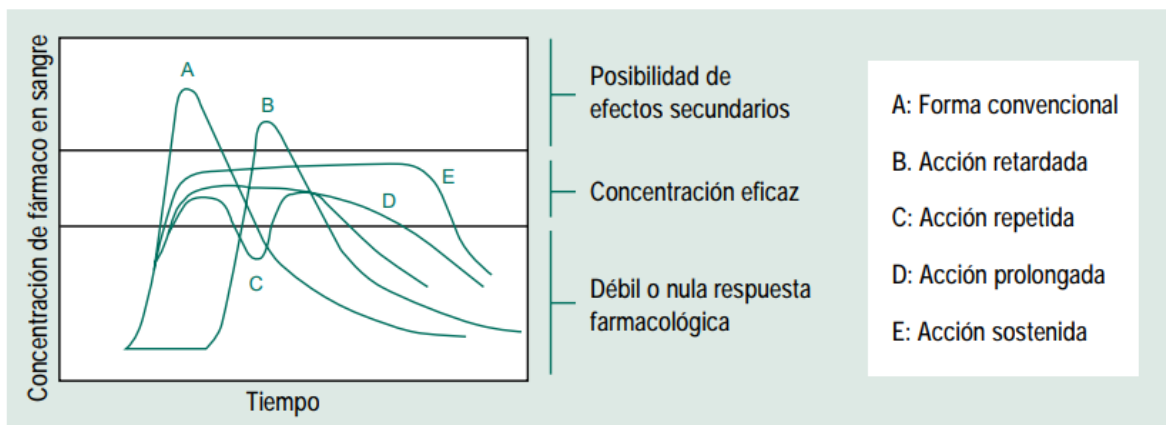


Figura 2. Representación de los perfiles de concentración plasmática según la forma farmacéutica.

Durante las últimas décadas ha recibido mucha atención el desarrollo y aplicación de materiales poliméricos como sistema de liberación controlada ya que ofrecen mayor control y especificidad, para lograr terapias farmacológicas exitosas que, además, de resultar más cómodo para el paciente, se pueden disminuir los efectos no deseados (Arredondo, 2009) (Enas, 2013) (Nikkolaos, 1993).

II.2 Sistemas poliméricos de liberación de fármacos

El desarrollo de polímeros ha proporcionado a los científicos con un gran catálogo de estructuras químicas, que sigue creciendo debido al desarrollo de nuevos métodos de polimerización y la síntesis de nuevos monómeros. Las diversas metodologías sintéticas con que se cuenta no solo permiten una estructura química adecuada si no también una modulación exacta de las propiedades fisicoquímicas de estos, lo cual permite la posibilidad de encontrar un material polimérico que cumpla con las especificaciones necesarias en un gran rango de aplicaciones. La nanomedicina no es una excepción y se encuentran polímeros que poseen características necesarias en esta área como biodegradabilidad, biocompatibilidad, baja o nula inmunogenicidad y citotoxicidad.

La ventaja que ofrecen los polímeros y sus métodos de síntesis permite no solo el control de su naturaleza química y propiedades fisicoquímicas, sino que además permiten la fácil modificación de estos, durante o luego de su síntesis lo cual proporciona un mayor rango posibilidades de ser usados como nanotransportadores (Santa & López, 2013).

II.3 Hidrogeles

Un hidrogel es definido como una red polimérica tridimensional producto del entrecruzamiento de uno o más monómeros (Fig. 3), los cuales se pueden obtener en forma de nanopartícula, micropartícula o en masa que se hincha al estar en contacto con agua y que no se disuelve en ésta ya que el agua rellena únicamente los espacios intermoleculares.

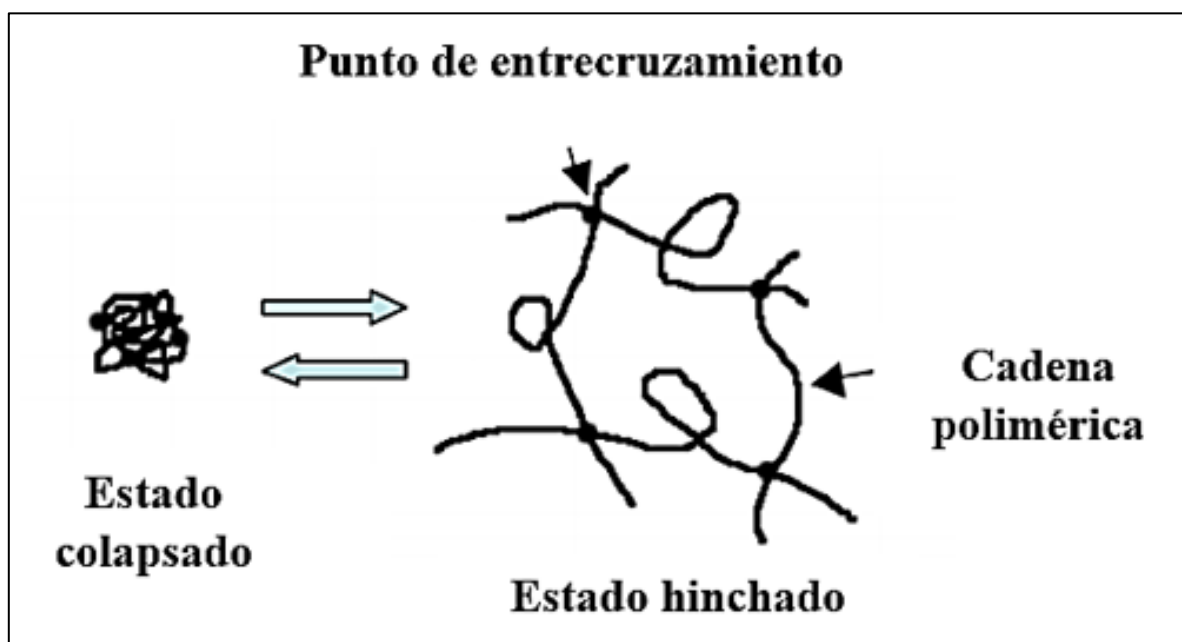


Figura 3. Representación de un hidrogel en estado colapsado e hinchado. Así como de las cadenas y puntos de entrecruzamiento.

Su capacidad de absorber agua se debe a los grupos funcionales hidrofílicos presentes en su estructura como $-OH$, $-CONH-$, $-CONH_2-$, $-COOH$ y $-SO_3H$. Gracias a esta propiedad y que además presenta buena biocompatibilidad por ser blando y elástico se han vuelto de gran interés para el área biomédica, siendo uno de los primeros biomateriales con aplicación en el cuerpo humano (Arredondo, 2009) (Kopeček, 2007).

Comúnmente en el estado hinchado de un hidrogel la fracción masa de agua es mayor que la fracción masa del polímero (Enas, 2013) (Kopeček, 2007).

II.4 Nano y micropartículas

Durante los últimos años se ha buscado incorporar la nanotecnología en los sistemas de liberación de fármacos pues ofrecen ventajas como lo son una administración específica y/o control en el tiempo de liberación de fármacos de distintos tamaños, así como de otros agentes bioactivos. Generalmente se clasifican como nanopartículas a aquellas que se encuentran en un tamaño de 10 a 1000nm (Rojas, 2016) (Jáuregui-Haza, 2012).

La nanotecnología farmacéutica se centra en incorporar los agentes terapéuticos en sistemas biocompatibles como lo son las nanopartículas, sistemas micelares y sus conjugados. Estos sistemas ofrecen muchas ventajas en la administración de fármacos, pero enfocados principalmente en mejorar la eficacia y seguridad de éstos, por ejemplo, mejorando la biodisponibilidad, extendiendo el efecto del principio activo y/o evadir la degradación química o enzimática de los agentes terapéuticos (Mehrdad, Amir, & Pedram, 2008).

Como parte de los sistemas particulados a nanoescala encontramos las nanopartículas de hidrogeles, mejor nombradas como nanogeles, estos sistemas poseen las características de las nanopartículas y los hidrogeles al mismo tiempo como lo es la hidrofilia, flexibilidad, gran capacidad de absorber agua por lo que tienen buena biocompatibilidad. Mientras que al mismo tiempo tienen todas las ventajas de las nanopartículas como su una larga vida en circulación y la posibilidad de ser dirigido a la biofase deseada ya sea de manera pasiva o activa, como podría ser los sitios tumorales (Jáuregui-Haza, 2012).

Los microgeles tienen dimensiones coloidales con diámetro en estado hinchado entre 100 nm y 5 μ m (Karg & Hellweg, 2009).

II.5 Polímeros que responden a estímulos o polímeros inteligentes.

Se define como polímero que responde a estímulos o polímero inteligente a aquel que responde física y/o químicamente a estímulos ambientales como temperatura, pH, luz, campo eléctrico, iones y moléculas biológicas. De los que resultan más relevantes para aplicaciones biomédicas son los que responden a pH y temperatura.

Los polímeros que responden a la temperatura presentan en su estructura un buen equilibrio hidrofóbico- hidrofílico, y pequeños cambios de temperatura alrededor de la temperatura crítica hacen que las cadenas colapsen o se expandan respondiendo a los nuevos ajustes de las interacciones hidrofóbicas e hidrofílicas entre las cadenas poliméricas y los medios acuosos (Aguilar, 2007).

Están a la vanguardia de la tecnología de administración de fármacos, ya que han mostrado una respuesta rápida a pequeños cambios en el ambiente, lo que se traduce en cambios significativos en su microestructura y en las propiedades fisiológicas y químicas. según lo deseado (Grainger, 2010) (Kuckling, 2011).

II.6 N-isopropilacrilamida (NIPAAm)

La NIPAAm es un polímero sensible a la temperatura que ha sido ampliamente estudiado con múltiples aplicaciones biomédicas, debido a que presenta una temperatura de transición reversible del estado hinchado/colapsado muy cercana a la temperatura corporal (cercana a los 32 °C). A temperaturas menores de su LCST de transición las cadenas, en presencia de agua, se hidratan expandiéndose y a temperaturas mayores se deshidratan y colapsan. Este fenómeno se debe a la presencia en su estructura de grupos isopropil que le da carácter hidrofóbico y grupos amida, hidrofílicos (Fig. 4) (Li, 2006) (Lanzalaco s. A., 2017).

Muestra una transición de fase de volumen única en la que a temperaturas inferiores a su LCST mantiene un estado hidrofílico con estructura expandida o hinchada, a temperaturas mayores que su LCST se vuelve relativamente hidrofóbica con un estado deshidratado o colapsado llamado estructura colapsada. La presencia de grupos hidrófilos e hidrófobos dentro del polímero neutro es responsable de este comportamiento reversible de sol-gel del homopolímero NIPAAm en soluciones de agua. La reversibilidad de los estados hidrofílicos / hidrofóbicos se produce al variar la temperatura por debajo o por encima del valor LCST (32 °C). La LCST es la temperatura por encima de la cual el gel se vuelve insoluble en un ambiente acuoso. LCST depende de la concentración crítica de gel (CGC). El LCST depende principalmente del enlace de hidrógeno entre las moléculas de agua y la estructura de las unidades funcionales de monómero del polímero NIPAAm; es decir, enlaces N – H y C = O (Lanzalaco S. &., 2017) (Guan & Zhang, 2011).

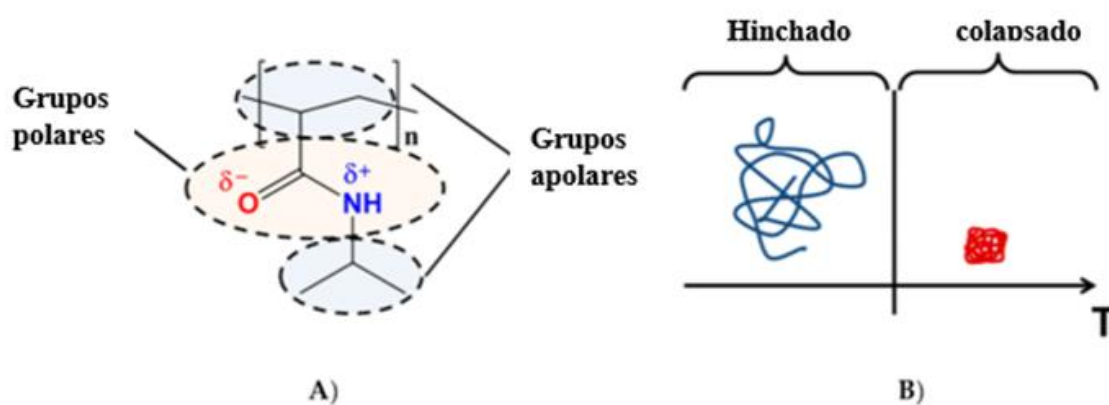


Figura 4 A) Estructura química de NIPAAm, B) representación de su conformación física según la temperatura.

La NIPAAm como acarreador de fármacos combina las ventajas de los hidrogeles y las nanopartículas. Ventajas tales como hidrofilia, flexibilidad, alta capacidad de absorción de agua y la buena biocompatibilidad, son características de los hidrogeles, mientras que las ventajas, como la larga vida útil en circulación y la posibilidad de ser dirigida activa o pasivamente a la biofase deseada, sitios tumorales, se originan a partir de su tamaño que cae en el rango coloidal (Guan & Zhang, 2011).

II.7 Profármacos

Un profármaco es un compuesto farmacológicamente inactivo el cual es transformado por procesos metabólicos y/o químicos a una sustancia activa. Hoy en día aproximadamente el 10% de los fármacos terapéuticamente utilizados son profármacos y cerca de la mitad de éstos son hidrolizados a su forma activa en particular la hidrólisis de ésteres (Fig. 5.) (Kelemen, Hancu, Rusu, Erzsébet, & Székely Szentmiklósi, 2016).

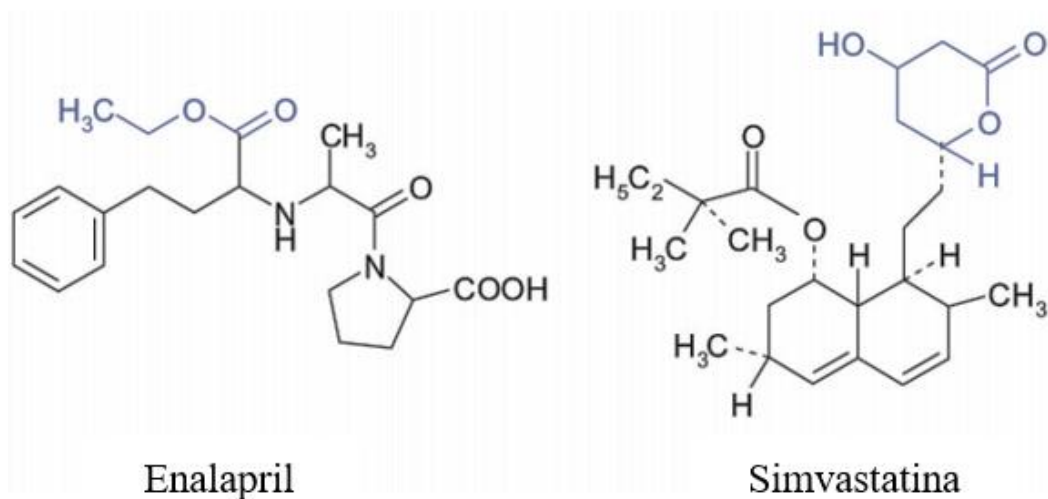


Figura 5. Ejemplos de estructuras de profármacos utilizados en la actualidad.

El término profármaco ha sido utilizado desde finales del siglo XIX, pero fue hasta finales de la década de 1950 cuando Adrien Albert introdujo por primera vez específicamente el término “profármaco” para compuestos que por sí mismos son inactivos, pero por procesos de bioactivación se obtiene el derivado activo (Fig. 6.) (Abet, Filace, Recio, & Alvarez-Builla, 2016).

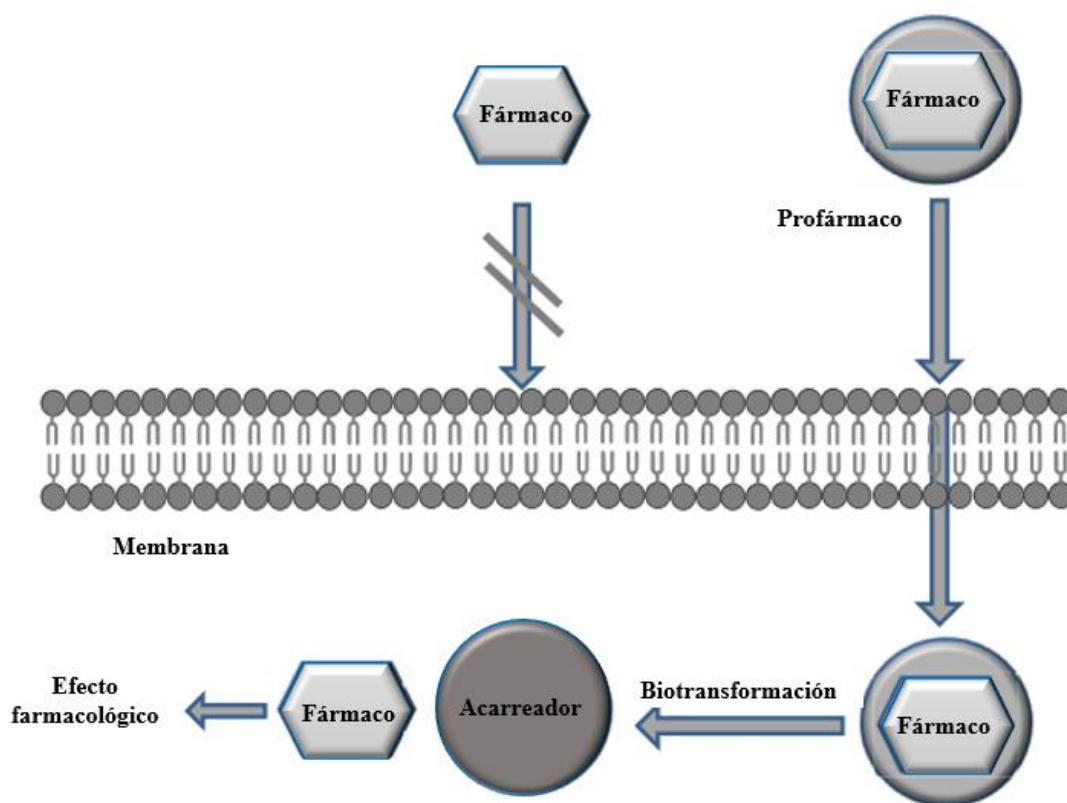


Fig. 6. Representación esquemática de un profármaco diseñado para lograr atravesar una membrana celular.

El desarrollo de polímeros profármacos tiene distintos objetivos de los que se destacan principalmente: mejorar la solubilidad acuosa del fármaco, mejorar la absorción y permeabilidad de membranas, reducción de los efectos secundarios y metabolización del fármaco. También se pueden clasificar según la fase en la que se desee intervenir. En la fase

farmacéutica se busca mejorar la solubilidad, la estabilidad química, mejorar las propiedades organolépticas y/o disminuir la irritación local que puede provocar. En la fase farmacocinética mejorar la absorción, modular el metabolismo, mejorar la biodisponibilidad, liberación selectiva hacia el órgano o tejido diana. Para la fase farmacodinámica se busca principalmente disminuir la toxicidad (Abet, Filace, Recio, & Alvarez-Builla, 2016).

III. Experimental

III.1 Reactivos y solventes

Ácido clorhídrico (HCl)

Ácido salicílico (grado reactivo, Sigma-Aldrich Inc.)

Agua desionizada

Anhídrido metacrílico (Sigma-Aldrich Inc.)

Diclorometano (DCM) (Sigma-Aldrich Inc.)

Dimetacrilato de etilenglicol (EDGMA)

4-Dimetilaminopiridina (DMAP) (Sigma-Aldrich Inc.)

Éter etílico (Productos Químicos Monterrey S.A. de C.V.)

Hexano (Sigma-Aldrich Inc.)

Hidróxido de sodio (NaOH) (J.T. Baker)

Metanol (Productos Químicos Monterrey S.A. de C.V.)

N-isopropilacrilamida (NIPAAm) (Sigma-Aldrich Inc.)

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

Persulfato de amonio (APS) (Sigma-Aldrich Inc.)

Sulfato de magnesio anhidro (MgSO₄) (Spectrum Chemical Mfg. Corp.)

Trietilamina (TEA)

III.2 Síntesis de ácido metacriloiloxi-*o*-benzoico (MAOB)

Se realizó la síntesis de MAOB (Fig. 7) agregando 6.91 g de ácido salicílico y 0.49 g de 4-dimetilaminopiridina (DMAP) a un matraz bola, como solventes se agregaron 8.42 mL de trietilamina (TEA) y 20 mL de diclorometano (DCM), manteniendo una agitación constante. Esta reacción se realizó a 0 °C en un baño de hielo. Una vez disuelto el contenido, se agregó gota a gota por medio de una bomba de adición 7.50 g de anhídrido metacrílico durante 3 horas. Una vez concluido esto, se mantuvo la reacción en agitación a temperatura ambiente durante 24 h.

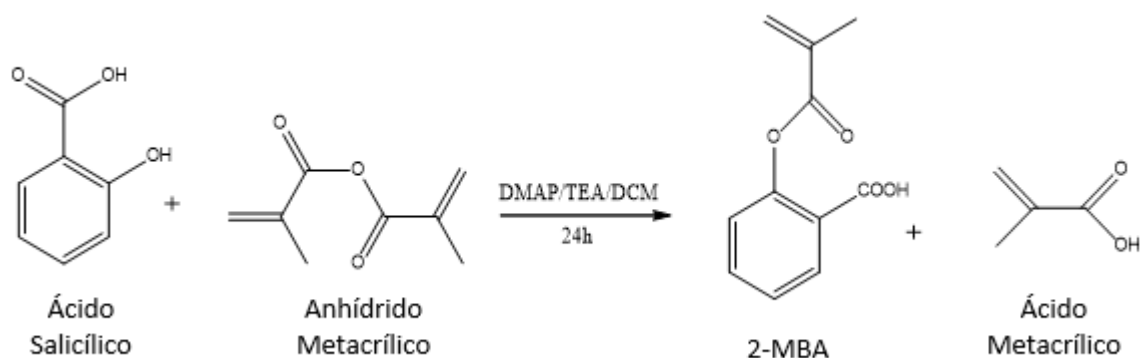


Figura 7. Ruta de síntesis de MAOB

Concluidas las 24 horas, la solución se transfirió a un vaso de precipitado a 0 °C manteniendo en agitación constante. La solución se llevó a pH ácido con HCl 3 N, formando así un precipitado. A esta solución se le realizó una extracción en un embudo de separación con 20 mL éter etílico y posteriormente se hicieron 2 lavados, uno con 20 mL una dilución de HCl y uno con 20 mL de agua destilada.

A la fase orgánica resultante se le agregó MgSO_4 anhidro para eliminar el exceso de agua en la solución y después fue filtrada a vacío y vertida en un recrystalizador, para evaporar el solvente se mantuvo reposando en campana durante un día. Al sólido obtenido de la recrystalización se lavó al vacío con un filtro primero con 30 mL de agua destilada a temperatura ambiente y después con 30 mL de agua a 40 °C. Se repitió en tres ocasiones el lavado para eliminar impurezas, después del lavado, el producto se transfirió a un vaso de precipitado y se disolvió en metanol y posteriormente se vertió en un recrystalizador y se secó un día en campana.

Para la purificar el producto, se raspó del recrystalizador, se procedió a llevar toda la cristalería y embudo, a 60 °C en una estufa y se calentó hexano a 60 °C, se disolvió el monómero en el hexano caliente y se filtró en caliente se procedió a verter la solución en un recrystalizador y se dejó un día en campana. Finalmente, el producto fue secado durante 1 día en estufa de vacío a 40 °C, una vez seco fue raspado y pesado.

III.3 Cromatografía de capa fina

Se realizó una cromatografía de capa fina (TLC) para evaluar la pureza del producto obtenido. Se preparó una solución estándar y una de la muestra, la solución estándar se preparó en un tubo Eppendorf disolviendo 30 mg de ácido salicílico en 1 mL de metanol y la solución muestra se preparó con 30 mg de MAOB en 1 mL de metanol. Como eluyente se utilizaron 3 mL de una solución 50:50 de acetato de etilo/hexano.

III.4 Análisis de infrarrojo

Para este análisis se utilizó el equipo ATR Thermo scientific modelo Nicolet iS5. El equipo fue limpiado con etanol para su utilización, posteriormente se hace una lectura blanco para descartar las bandas que pudiera arrojar debido al medioambiente. Se agregó cantidad suficiente para cubrir la superficie del detector y se ajusta la punta diamante para su correcta utilización, finalmente se hace un barrido de 16 lecturas para obtener el espectro infrarrojo del compuesto sintetizado.

III.5 Purificación de NIPAAm

La purificación de NIPAAm se realiza con 25 g de NIPAAm por cada 200 mL de hexano. Se agregó hexano a un matraz Erlen Meyer y se calentó en el baño de agua hasta que el hexano logre la temperatura de 45 °C. Se agregó los 25 g de NIPAAm hasta disolver por completo, una vez disuelto se filtró en caliente para eliminar cualquier impureza. Tapar y enfriar a temperatura ambiente, una vez cristalizado se filtra al vacío lavando con hexano frío y secar en campana. Nota verificar que los cristales tengan un color blanco, si se observan amarillentos proceder con más lavados de hexano frío o repetir la purificación.

III.6 Síntesis de microgeles NIPAAm-MAOB

Se llevó a cabo la síntesis de microgeles de NIPAAm con distintos porcentajes de MAOB, en las siguientes proporciones 5, 15, 17.5 y 20 %. Los cálculos de todas las reacciones se realizaron para 0.5 g de NIPAAm.

III.7 Microgel NIPAAm-MAOB 5%

Se toma como referencia que 0.5 g de NIPAAm corresponde a 100 % al cual se restará el porcentaje deseado correspondiente al contenido de MAOB en el microgel en este caso 5 % por lo que: $\% NIPAAm = (100 \% - 5 \%) = 95 \%$, así el cociente resultante será multiplicado por los 0.5 g iniciales para conocer la cantidad que corresponde en gramos: $Monómero NIPAAm = (0.5 g)(0.95) = 0.475 g$.

Para calcular la cantidad de comonomero MAOB correspondiente a 5 % es el cociente del porcentaje y los 0.5 g de referencia por lo que $MAOB: (0.5g)(0.05) = 0.025g$.

Es importante calcular los moles que corresponden la cantidad de monómero y comonomero ya que, en base a los moles totales, es decir, de la suma de los moles de NIPAAm y MAOB, se va a calcular la cantidad necesaria de entrecruzante dimetacrilato de etilenglicol (EGDMA) 5 % y de iniciador persulfato de amonio (APS) 2 %.

Para realizar la síntesis, se mezcló en un matraz bola 0.475 g de NIPAAm previamente purificado y 0.025 g de MAOB con 50 mL de agua Mili Q, se añadió 40.7 μ L de EGDMA (5 %) que actúa como entrecruzante en la polimerización. Para mantener el ambiente de la reacción inerte, es decir, sin presencia de oxígeno, se desgasificó inyectando con gas nitrógeno a flujo constante y manteniendo en agitación por 30 minutos.

Una vez concluido el tiempo de desgasificación, se calentó la reacción en un baño de aceite a 85 °C por 30 minutos con agitación constante. Pasado este tiempo con ayuda de una jeringa se agregó 0.394 mL de APS manteniendo en calentamiento en el baño de aceite a 85 °C con agitación constante durante 45 minutos. Finalizado el tiempo verter la solución en un matraz Erlen Meyer dentro de un baño de hielo.

III.8 Purificación por diálisis y liofilizado

Para eliminar los remanentes de la reacción se purificó por medio de diálisis. Se agregaron las soluciones obtenidas de la síntesis del microgel en una membrana para diálisis con tamaño de poro de 12-14 kD y se mantuvieron en aproximadamente 1 litro de agua destilada por 7 días a temperatura ambiente, cambiando el agua cada 24 horas.

Una vez purificadas se agregó a un vial de vidrio 15mL de la solución de los microgeles y se llevó a congelar, una vez congelados se sometió al proceso de liofilizado.

III.9 Determinación de tamaño de partícula

El tamaño de partícula es analizado por medio de la técnica de dispersión de luz dinámica (DLS) en el equipo *Zetasizer Nano NS (Malvern Instruments)*. Se realizaron dos mediciones de las formulaciones, la primera una vez purificada la muestra y una segunda medición una vez que la muestra fue liofilizada.

Las muestras deben estar de manera líquida para a ser analizadas con una concentración de 1 mg/mL, de esta solución se toma 1 mL de la solución de cada una de las formulaciones de micropartículas y se determinó el tamaño de partícula para comprobar que exista solamente una distribución del tamaño de partícula. Esta muestra es colocada en una celda especial del equipo, se analiza a una temperatura ambiente de 25 °C y con un mínimo de 16 lecturas por muestra por triplicado.

III.10 Determinación de la temperatura de transición

Este análisis se realiza en el mismo equipo *Zetasizer Nano NS (Malvern Instruments)* donde se coloca 1 ml de muestra de cada una de las preparaciones en una celda especial del equipo, este análisis se realiza para obtener el comportamiento de la micropartícula respecto al cambio en la temperatura desde 20 a 50 °C, este se realiza con un aumento de temperatura de 2 °C y se mide el tamaño de partícula en cada una.

III.11 Determinación del contenido de MAOB por titulación acido-base

Se prepararon soluciones de NaOH 0.05 N y HCl 0.05 N, las cuales fueron valoradas y filtradas respectivamente.

La determinación del contenido de ácido se llevó por medio de una valoración potenciométrica. Se resuspendieron 50 mg del liofilizado en 5 mL de agua purificada desionizada. Se obtuvo el valor del pH inicial de la solución, se agregó NaOH 0.05 N hasta llegar a pH 11 y se retituló con HCl 0.05 N agregando 25 µL cada 8 segundos hasta llevar a pH 3, registrando el valor de pH resultante de cada adición de HCl 0.05 N.

Este procedimiento se repitió para los microgeles de cada porcentaje y con ellos se determinó la cantidad de ácido en cada muestra.

III.12 Análisis infrarrojo de los microgeles

Para este análisis se utilizó el equipo ATR Thermo scientific modelo Nicolet iS5. El equipo fue limpiado con etanol para su utilización, posteriormente se hace una lectura blanco para descartar las bandas que pudiera arrojar debido al medioambiente. Se agregó cantidad

suficiente para cubrir la superficie del detector y se ajusta la punta diamante para su correcta utilización, finalmente se hace un barrido de 16 lecturas para obtener el espectro infrarrojo del compuesto sintetizado. Se repitió este mismo proceso para cada microgel.

III.13 Estudio hidrólisis-liberación

Para este estudio se colocaron 15 mg del microgel en una membrana de diálisis con 5 mL de medio, en este caso, buffer pH 7.4, una vez cerrada la membrana se coloca en un vaso con 45 mL del mismo medio. Se colocó en un oscilador VWR Shel Lab a 75 rpm, este fue calentado previamente a 37 °C. Para el muestreo se tomó 1mL del medio a los 15 min, 30 min, 1hr, 2hr, 3hr, 4hr, 24hr y 72hr, Se colocó en un tubo Eppendorf, recuperamos el mililitro agregando 1mL de buffer. Se analizó por espectrofotometría UV a 235nm.

IV. Resultados y discusión

IV.1 Síntesis y caracterización de MAOB

Se llevó a cabo la síntesis la cual se obtuvo un sólido blanco (Fig. 8). Se realizó TLC como prueba primaria de pureza de la síntesis de MAOB. Este proceso obtuvo un rendimiento del 80 %, el cual fue analizado por infrarrojo.



Figura 8. Sólido de MAOB.

Con el espectro del infrarrojo (Fig. 9) podemos corroborar que aparecen las bandas indicativas de nuestra estructura, tenemos a 1739 cm^{-1} el estiramiento del carbonilo ($\text{C}=\text{O}$) del éster, en la banda 3070 cm^{-1} el estiramiento $=\text{C}-\text{H}$ (sp^2), a 1692 cm^{-1} el estiramiento $\text{C}=\text{O}$, del carbonilo del ácido carboxílico, además el estiramiento $\text{C}=\text{C}$ (no aromático), característico de un monómero a 1619 cm^{-1} . Cuando se forma en polímero, se pierde ese doble enlace. Además, bandas de intensidad débil entre 1800 a 2000 cm^{-1} , característicos de compuestos aromáticos.

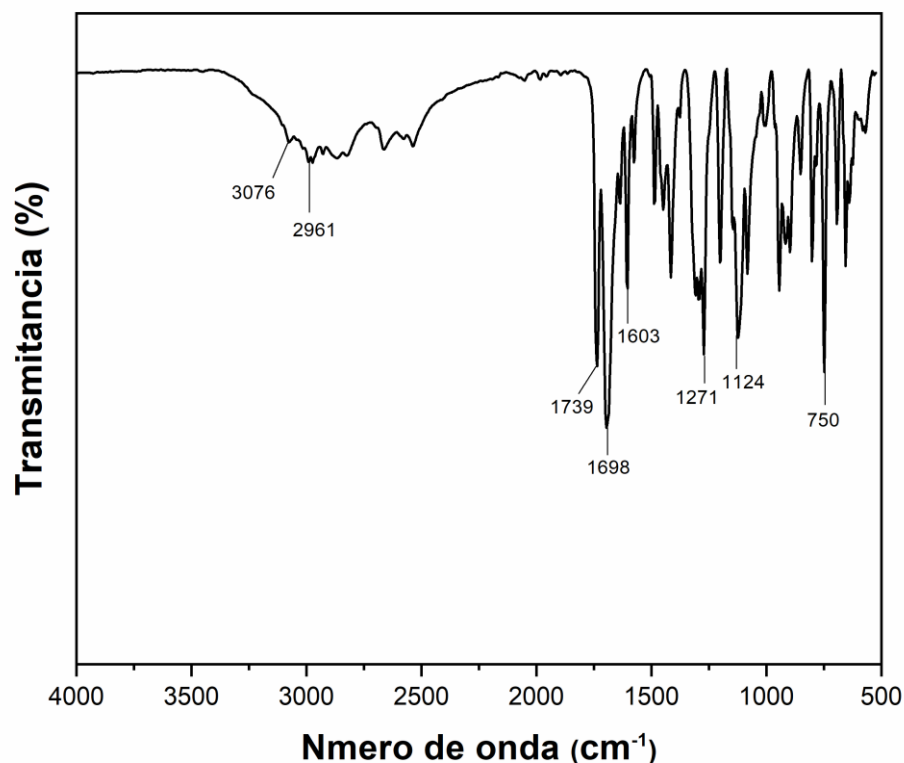


Figura 9. Espectro FTIR de MAOB

IV.2 Síntesis y caracterización de microgeles NIPAAm/MAOB

Se obtuvieron micropartículas de NIPAAm/MAOB (Fig. 10) a los diferentes porcentajes los cuales, caracterizadas por medio de dispersión de luz dinámica, nos muestra los diferentes tamaños de las micropartículas a 25 °C, así como su índice de polidispersidad (PDI), los cuales se muestran en la Tabla 1, en esta se muestra los tamaños de partícula en estado de diálisis y liofilizado.

Con el espectro infrarrojo de NIPAAm (Fig. 11) podremos corroborar la síntesis entre ambos monómeros, tomándose como referencia que la molécula de NIPAAm arroja una banda a los 3276 cm⁻¹ debido al enlace de vibración de estiramiento de N-H, una banda a los 3071 cm⁻¹

por el enlace de estiramiento C-H tipo sp^2 , una a 2969 cm^{-1} de enlace de estiramiento de C-H sp^3 , un banda a los 1657 cm^{-1} por el enlace de estiramiento del C=O, una a los 1620 cm^{-1} debido al enlace de doblamiento de N-H, 1544 cm^{-1} C=C, una a los 1465 cm^{-1} de doblamiento de CH_2 y un enlace de estiramiento del C-N a los 1247 cm^{-1} .

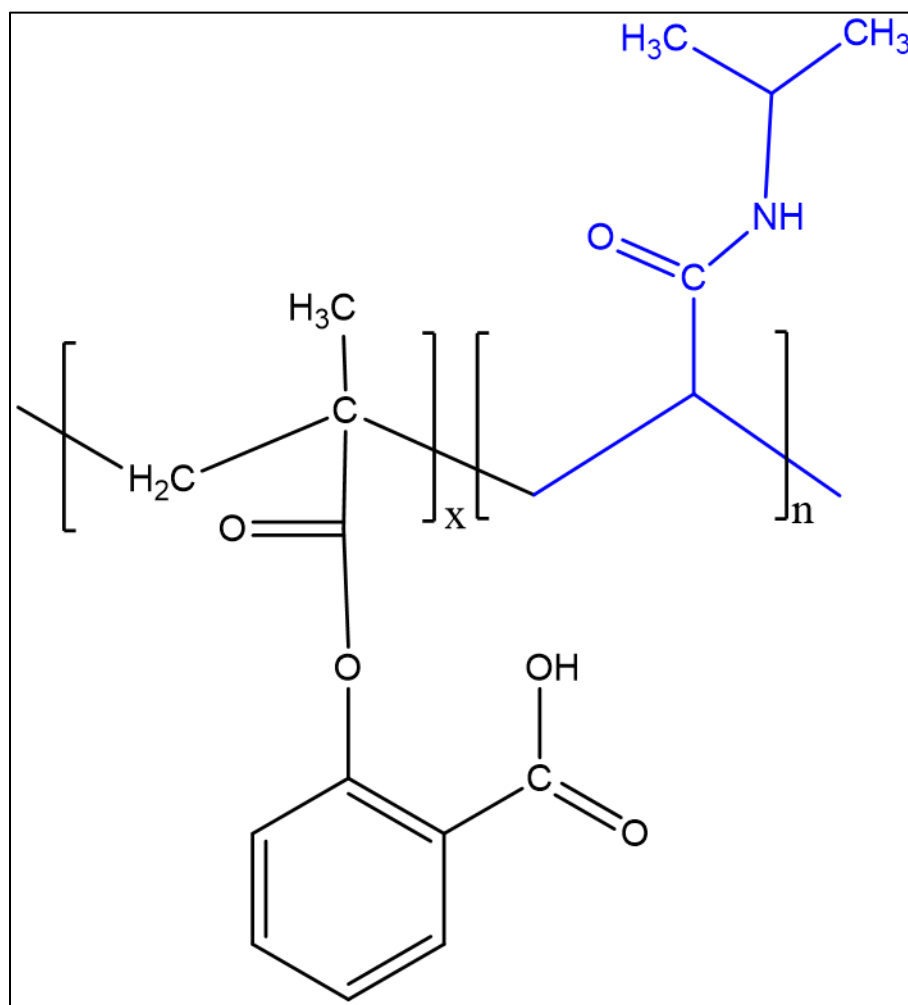


Figura 10. Estructura de los microgeles de NIPAAm-MAOB.

Los resultados obtenidos corroboran de la mejor manera que los datos se encuentran con una distribución homogénea y con un PDI inferior al 0.25.

Los hidrogeles recuperados por liofilizado presentan estabilidad a este proceso pues mantienen un tamaño muy similar al obtenido antes de someterlos a dicho proceso.

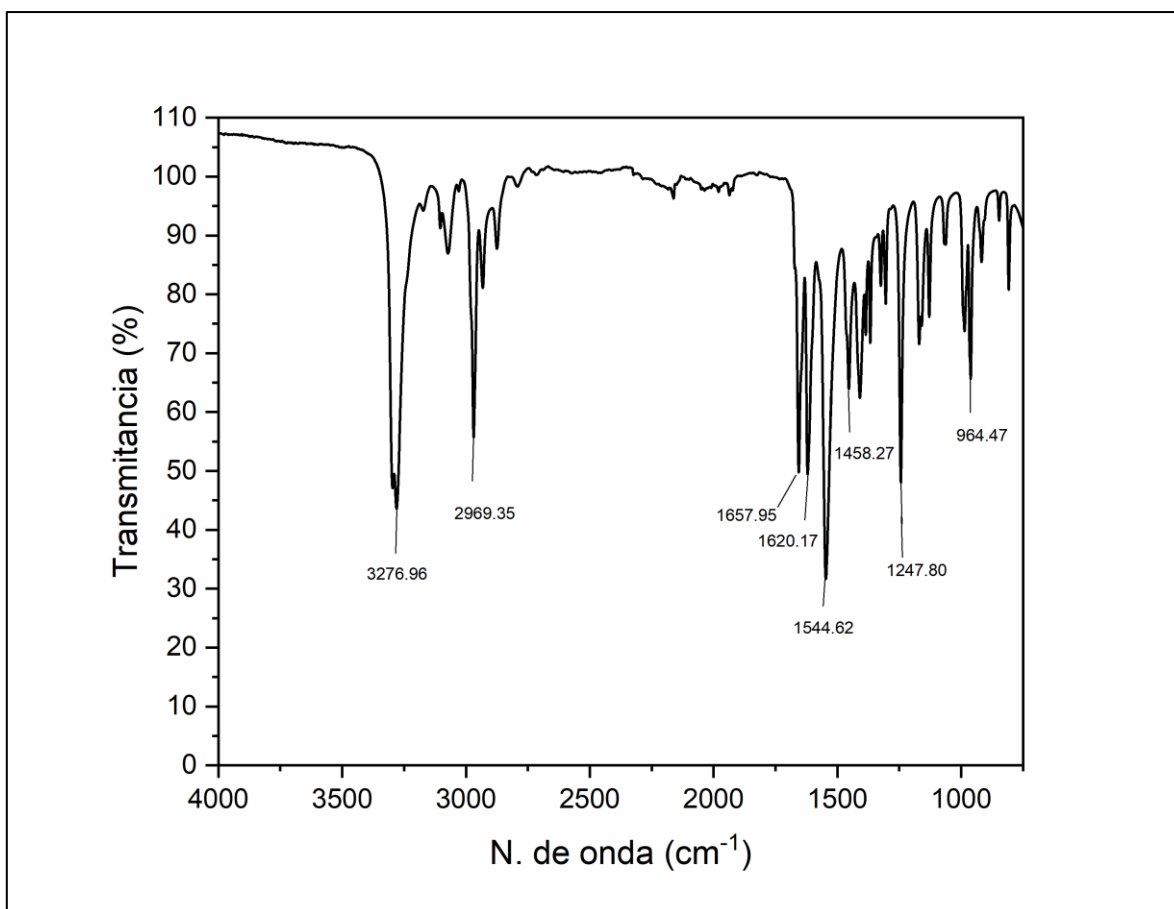


Figura 11. Espectro infrarrojo de NIPAAm

Tabla 1. Tamaño de micropartículas de NIPAAm/MAOB a 25 °C

	Iniciales		Liofilizados			
Porcentaje MAOB	Z-Average	Pdl	Peak 1	Z-Average.	Pdl.	Peak.1
5%	669.3	0.101	747.8	575.9	0.053	620
15%	413.7	0.05	442.5	419.4	0.098	524.8
17.50%	486.8	0.097	541.8	531.1	0.077	581.7
20%	382.6	0.035	404.3	424.2	0.09	468.2

Como se muestra en la tabla 1 podemos observar que se mantiene un PDI bajo (menor a 0.25) lo que nos indica que el tamaño de partícula de la población es homogéneo, se puede observar de forma más visual en las Figuras 12 a la 15. También a pesar de que no es tendencia, a medida que se aumenta el porcentaje de copolímero cargado en el microgel el tamaño de partícula es menor.

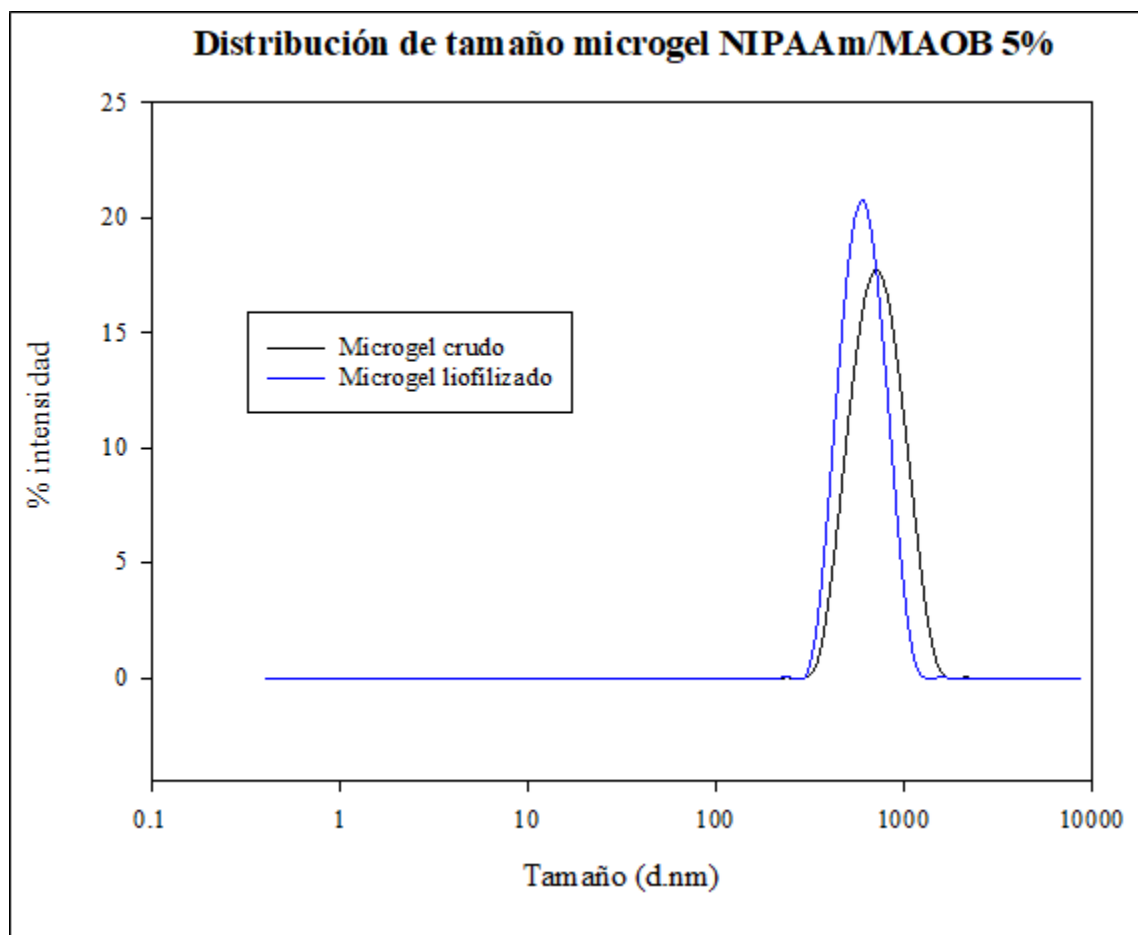


Figura 12. Gráfico de distribución de tamaño de partícula de los microgeles NIPAAm/MAOB 5%, recién purificados y resuspendidos una vez liofilizados.

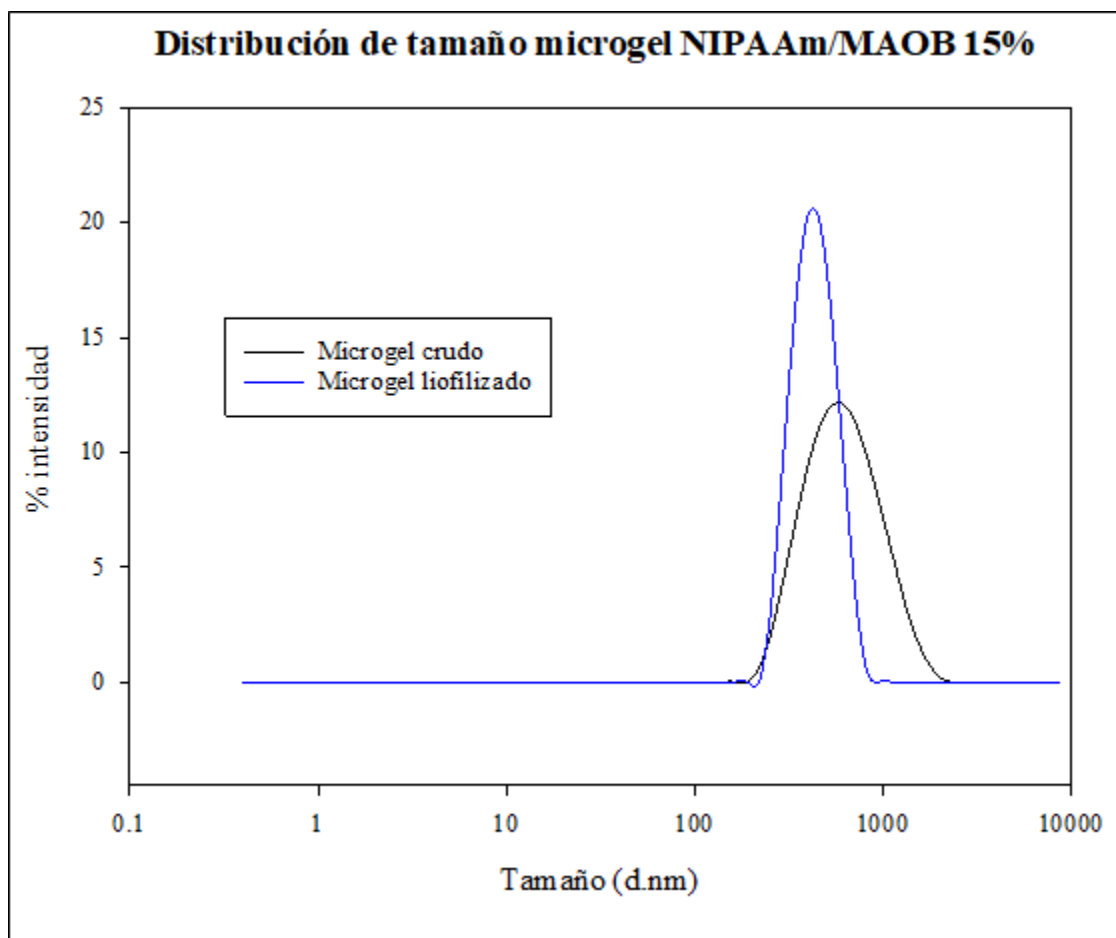


Figura 13. Gráfico de distribución de tamaño de partícula de los microgeles NIPAAm/MAOB 15% recién purificados y resuspendidos una vez liofilizados.

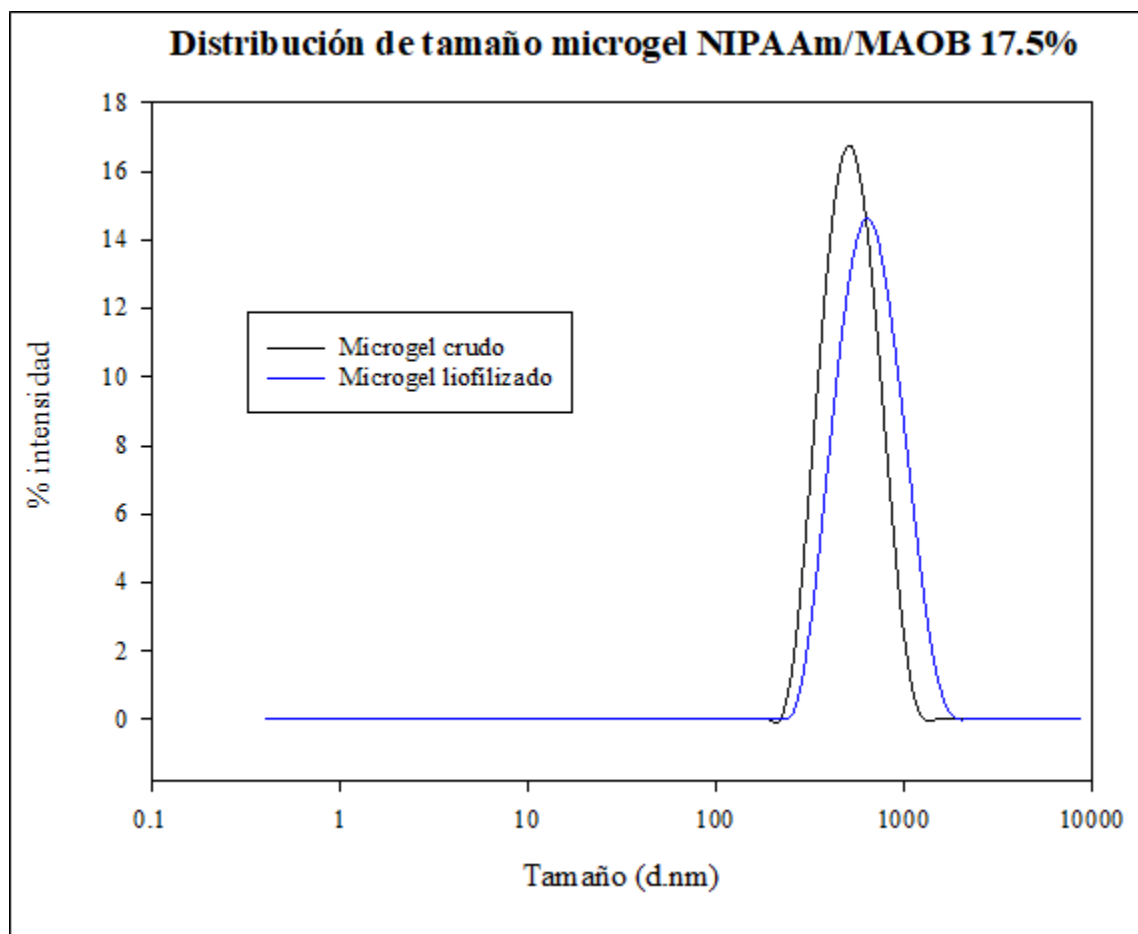


Figura 14. Gráfico de distribución de tamaño de partícula de los microgeles NIPAAm/MAOB 17.5% recién purificados y resuspendidos una vez liofilizados.

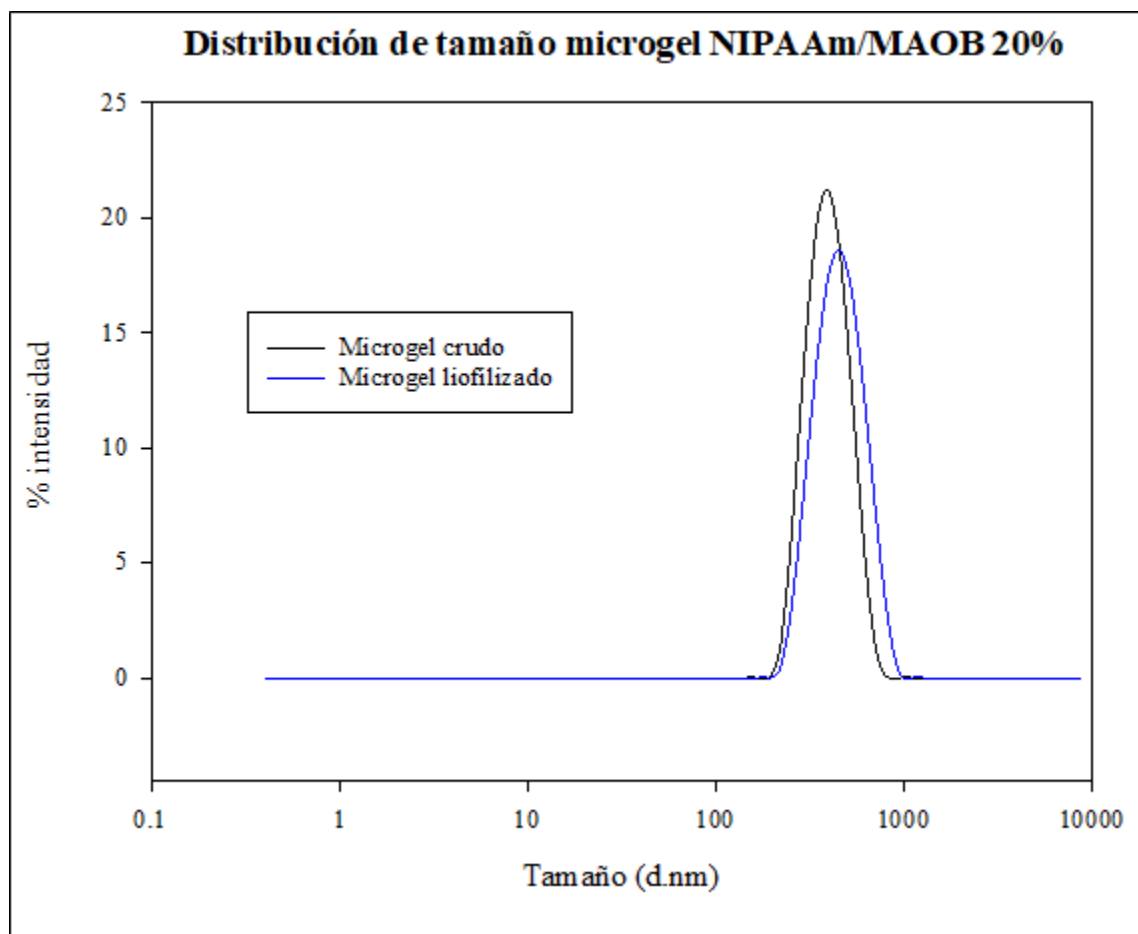


Figura 15. Gráfico de distribución de tamaño de partícula de los microgeles NIPAAm/MAOB 20% recién purificados y resuspendidos una vez liofilizados.

IV.3 Efecto de la temperatura en el tamaño del microgel

Una de las características de los microgeles de N-isopropilacrilamida que resultan relevantes es su temperatura de transición la cual es cercana a los 32 °C. En las gráficas de colapso de tamaño respecto aumenta la temperatura podemos observar el efecto del porcentaje de copolímero en la temperatura de transición del microgel.

En las figuras 16 a la 20 podemos observar que la temperatura de transición de las diferentes formulaciones, incluyendo el microgel de NIPAAm puro, se mantiene entre 28 y

32 °C, siendo en el caso del microgel con mayor contenido de copolímero la temperatura de colapso fue más gradual iniciando a los 28 °C.

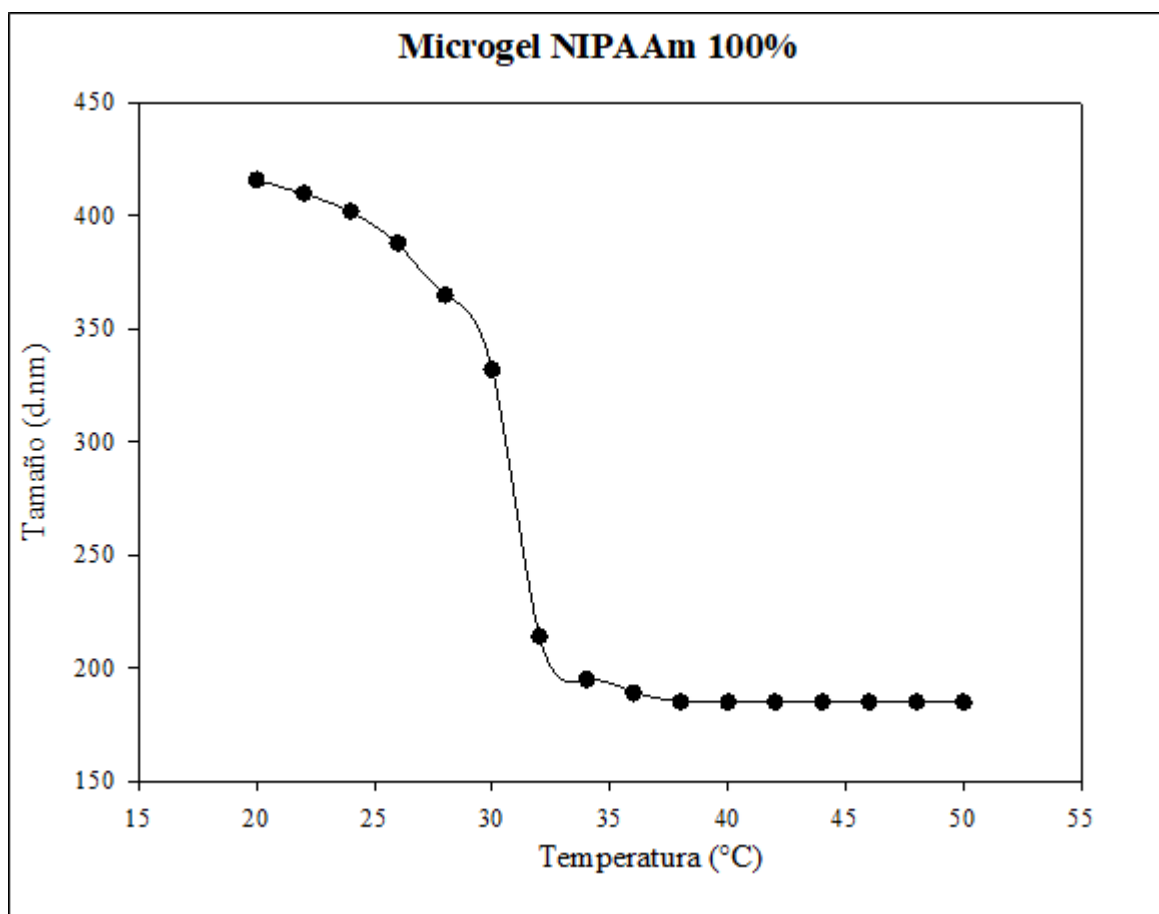


Figura 16. Gráfico de colapso de tamaño respecto a la temperatura del microgel NIPAAm 100%.

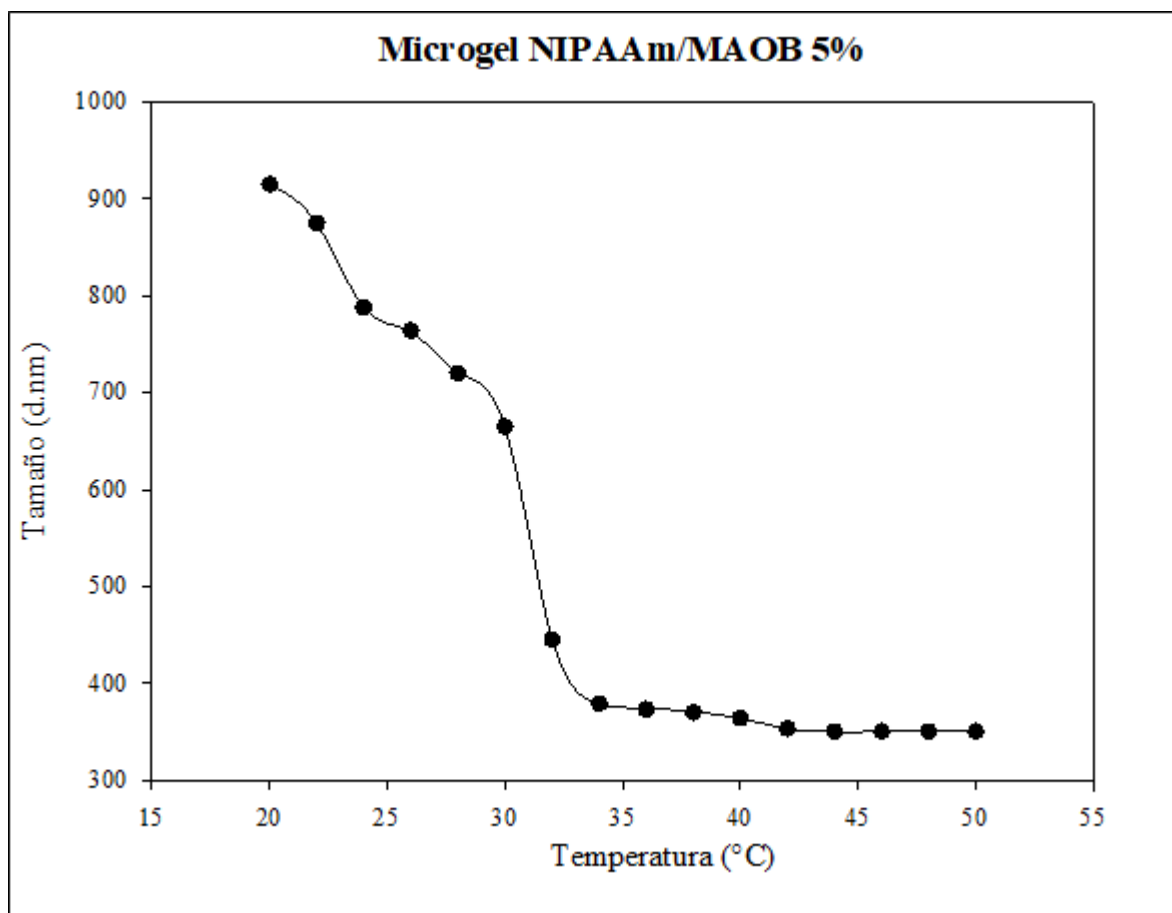


Figura 17. Gráfico de colapso de tamaño respecto a la temperatura del microgel NIPAAm/MAOB 5%.

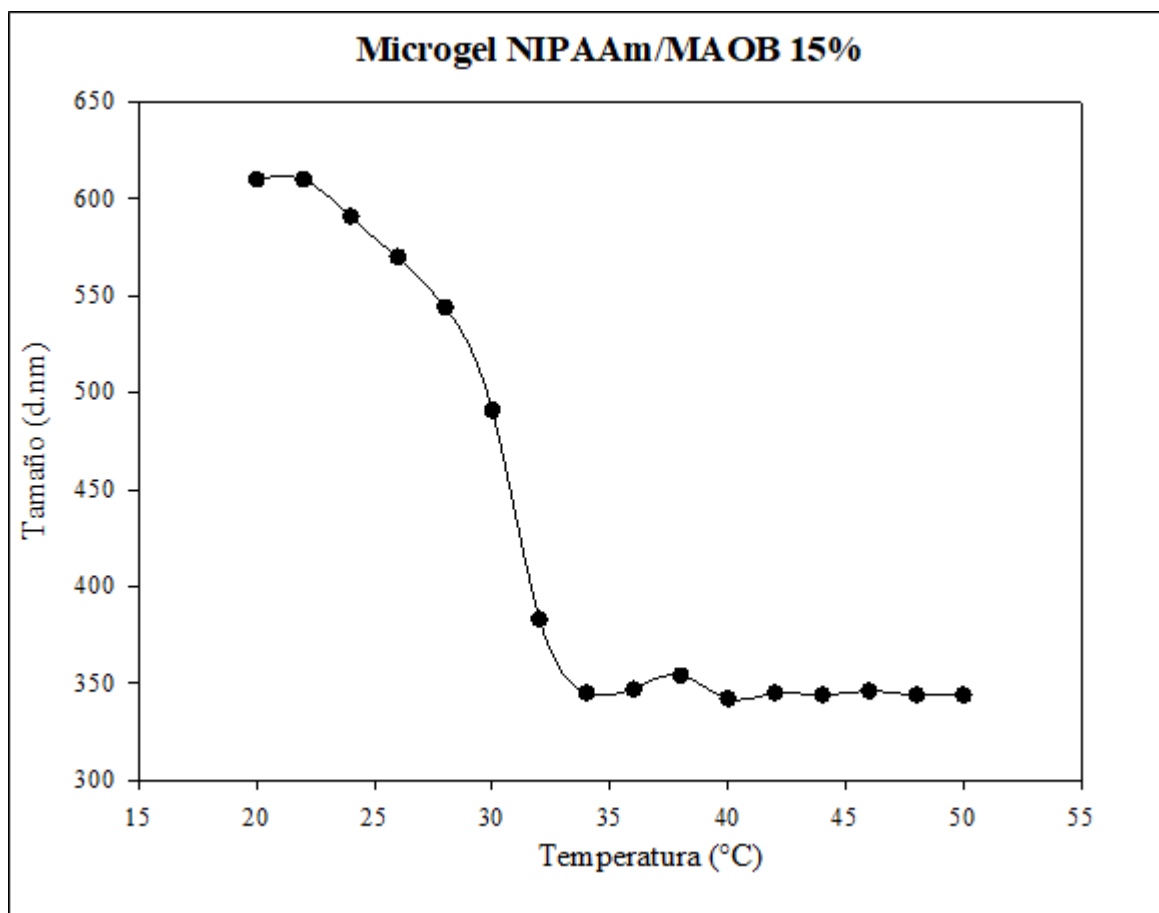


Figura 18. Gráfico de colapso de tamaño respecto a la temperatura del microgel NIPAAm/MAOB 15%.

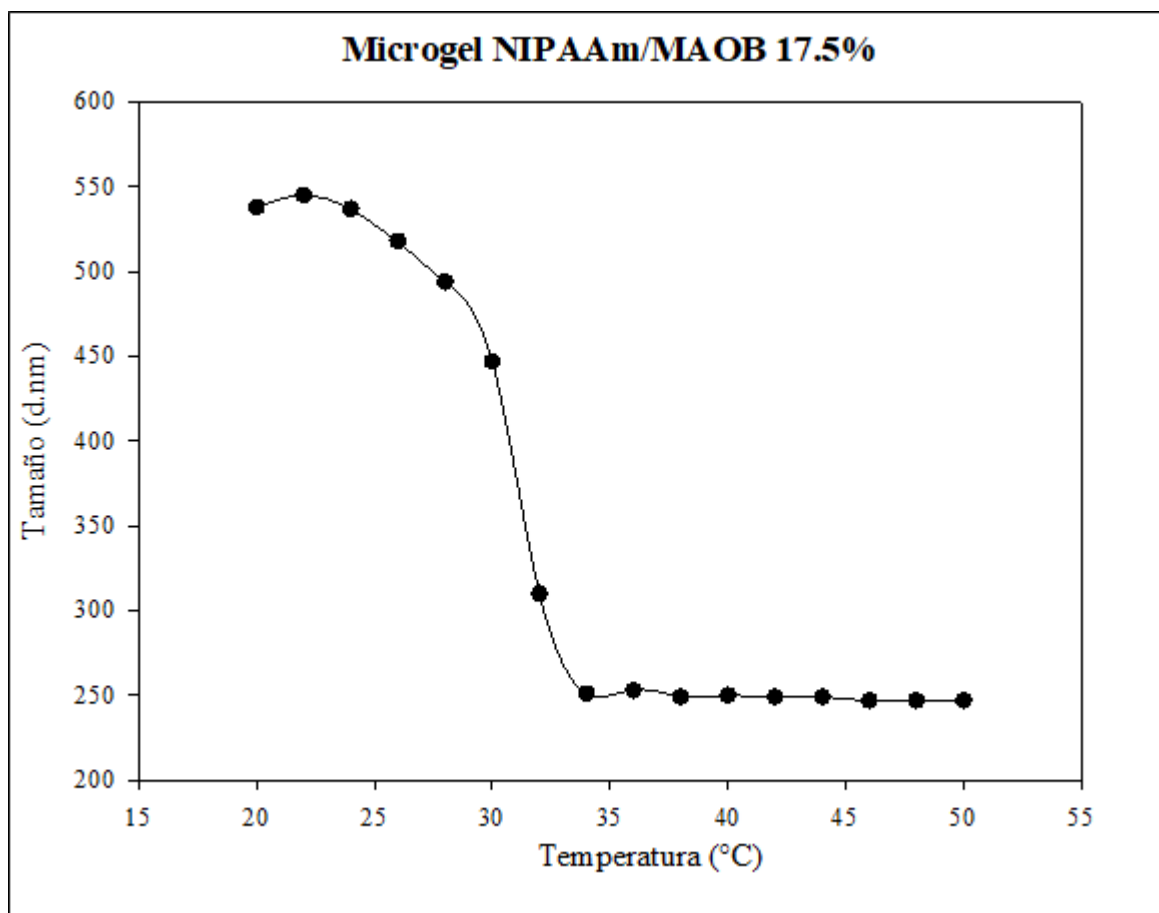


Figura 19. Gráfico de colapso de tamaño respecto a la temperatura del microgel NIPAAm/MAOB 17.5%.

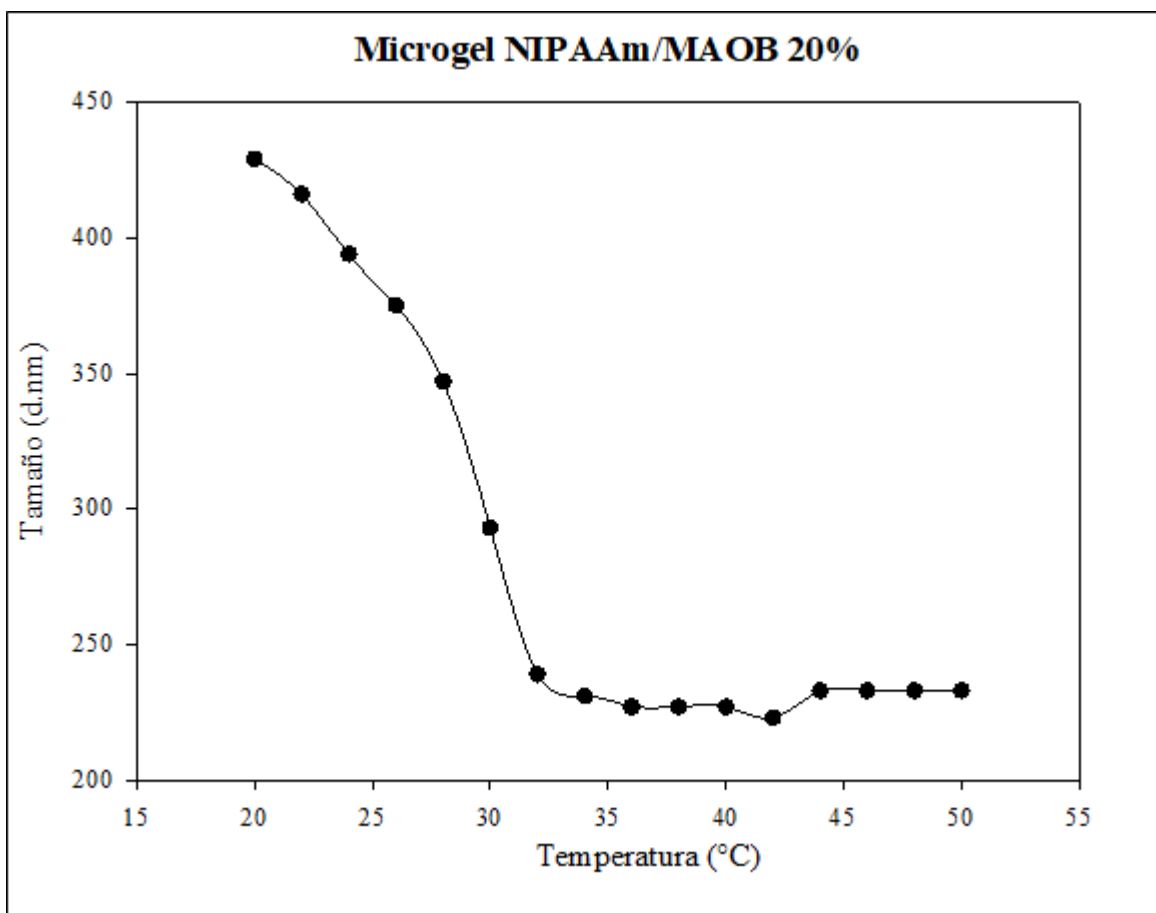


Figura 20. Gráfico de colapso de tamaño respecto a la temperatura del microgel NIPAAm/MAOB 20%.

IV.4 Determinación del contenido de MAOB por titulación potenciométrica.

Este análisis nos da un claro panorama de la cantidad de ácido que tiene cada micropartícula ya que por medio de la retrotitulación se pueden cuantificar el número de grupos ácidos que componen a la molécula.

En la tabla 2 se puede observar los porcentajes de ácido obtenido de manera experimental y de manera teórica, con ellos observamos si la incorporación es mayor o menor que lo propuesto.

Tabla 2. Contenido en porcentaje de copolímero ácido obtenido respecto los valores esperados

% MAOB teórico	5	15	17.5	20
% MAOB obtenido	4.79	11.35	17.58	24.4

A continuación, en las figuras 21 a la 24 se muestran los gráficos de la retrotitulación y la determinación de porcentaje de grupos ácidos de cada una de las formulaciones.

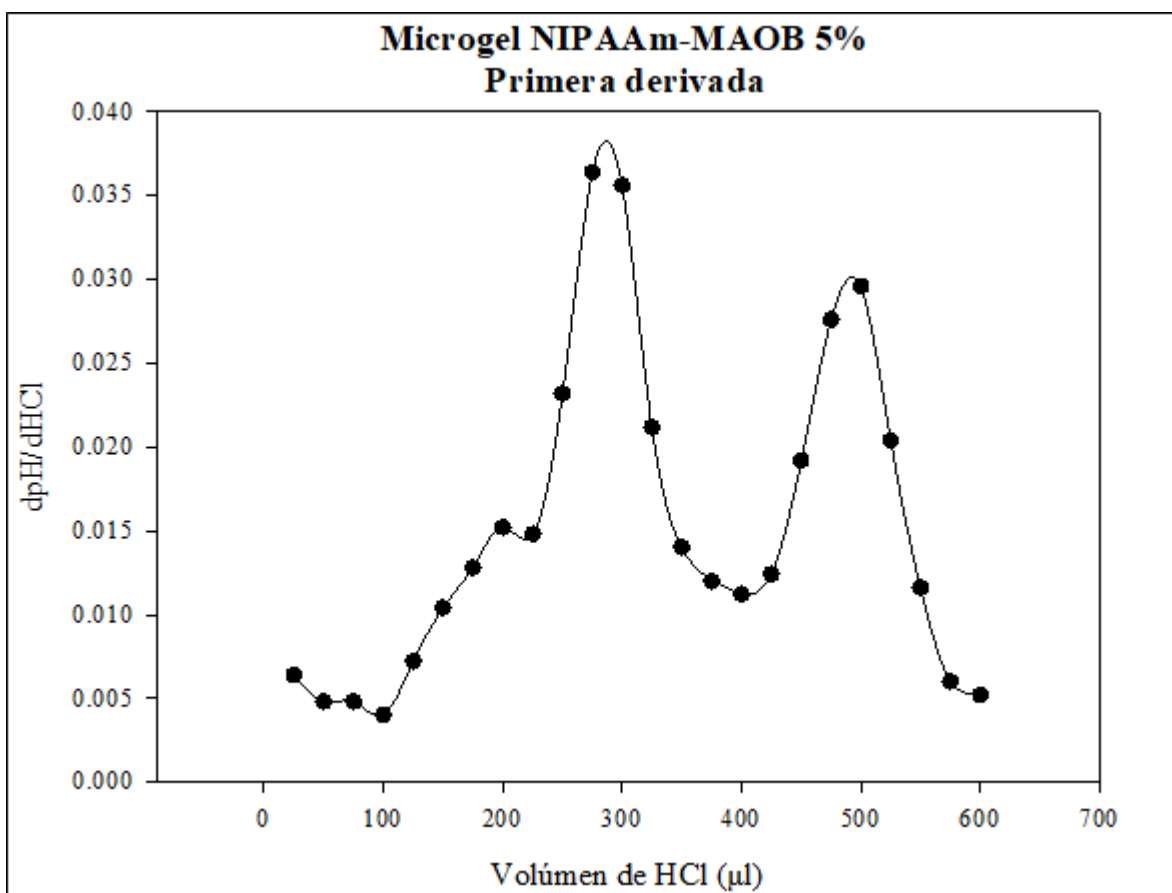


Figura 21. Curva de titulación para microgel NIPAAm-MAOB 5%. El recuadro interior muestra la derivada y los picos máximos representan el punto de equivalencia.

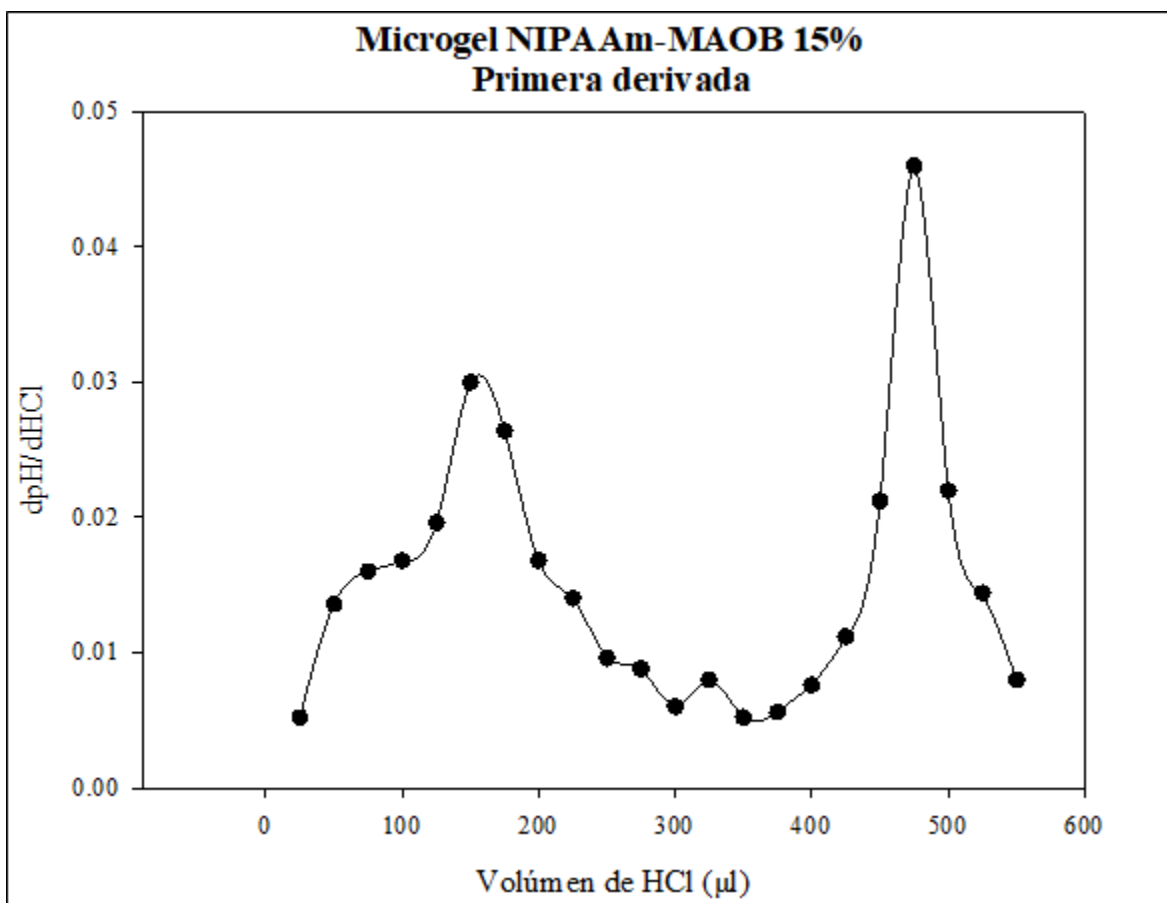


Figura 22. Curva de titulación para microgel NIPAAm-MAOB 15 %. El recuadro interior muestra la derivada y los picos máximos representan el punto de equivalencia.

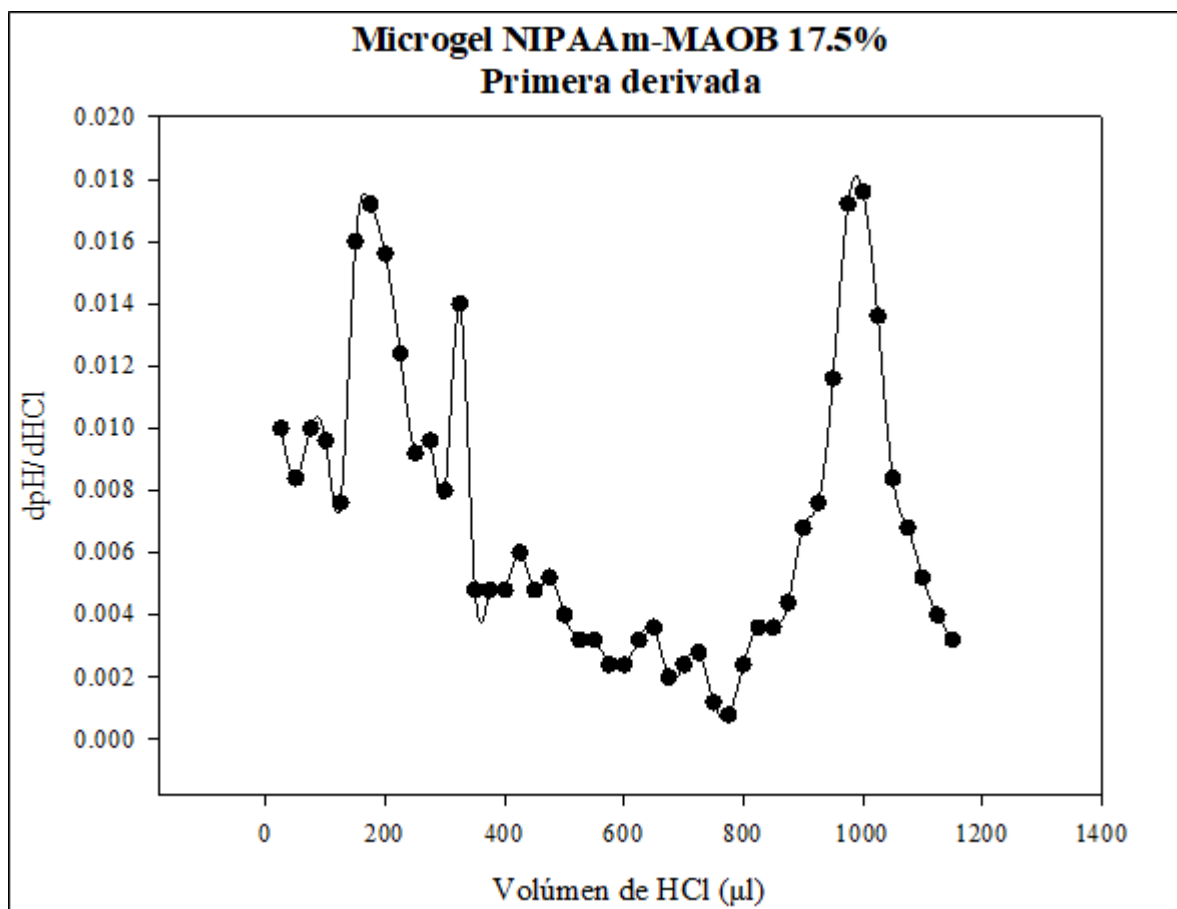


Figura 23. Curva de titulación para microgel NIPAAm-MAOB 17.5%. El recuadro interior muestra la derivada y los picos máximos representan el punto de equivalencia.

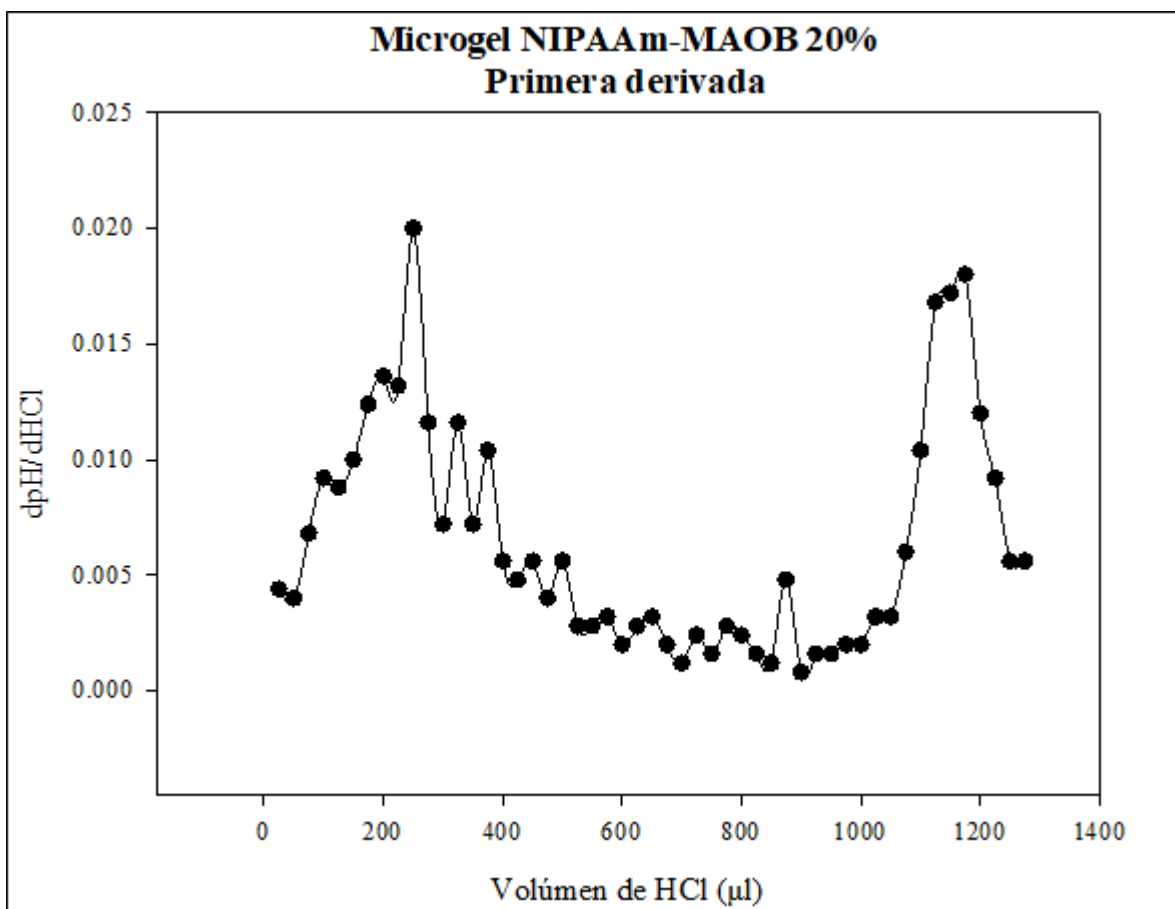


Figura 24. Curva de titulación para microgel NIPAAm-MAOB 20%. El recuadro interior muestra la derivada y los picos máximos representan el punto de equivalencia.

IV.6 Análisis infrarrojo de los microgeles

La estructura química de los microgeles arrojó el espectro que podemos observar en la figura 25. En la figura 26 podemos encontrar el comparativo de los espectros IR de los monómeros que se puede tomar como referencia para observar la presencia y cambio de las señales en el microgel polimerizado, así mismo como en las figuras 9 y 11 que cuentan con la asignación de cada una de sus bandas.

Se observa una banda ancha a los 3301 cm^{-1} atribuible a la vibración de estiramiento del enlace N-H de la amida secundaria de la molécula de NIPAAm, una banda a los 2977 cm^{-1} del enlace de estiramiento C-H de tipo alifático, una banda de intensidad media a los 1722 cm^{-1} característica del estiramiento C=O del enlace carbonilo del éster de MAOB, una banda intensa a los 1644 cm^{-1} debida a la vibración de estiramiento del enlace C=O de la amida de NIPAAm, una banda de intensidad media a los 1544 cm^{-1} del doblamiento del enlace N-H, una banda de intensidad media a los 1458 cm^{-1} debido al enlace CH_2 (doblamiento) y una serie de bandas entre 1000 cm^{-1} y 1250 cm^{-1} por el enlace C-O.

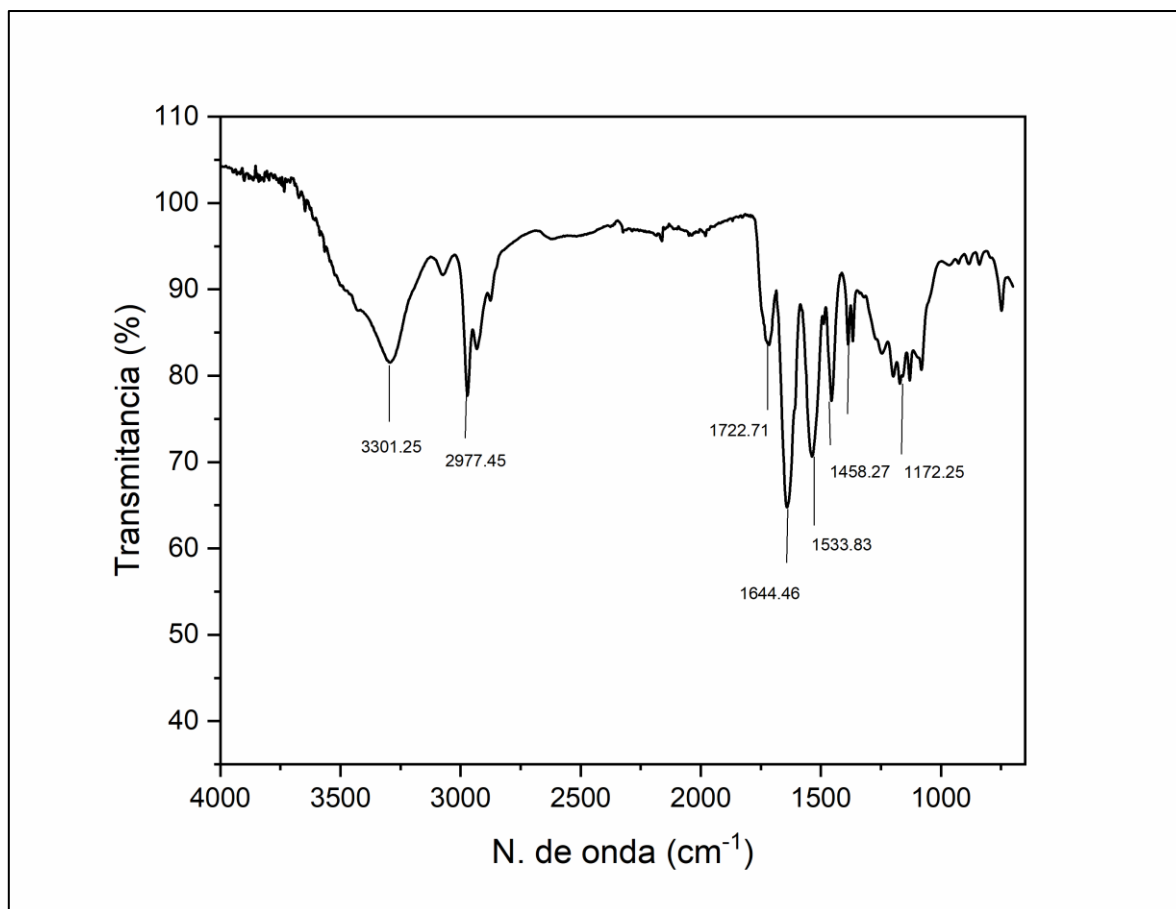


Figura 25. Espectro infrarrojo de los microgeles NIPAAm-MAOB.

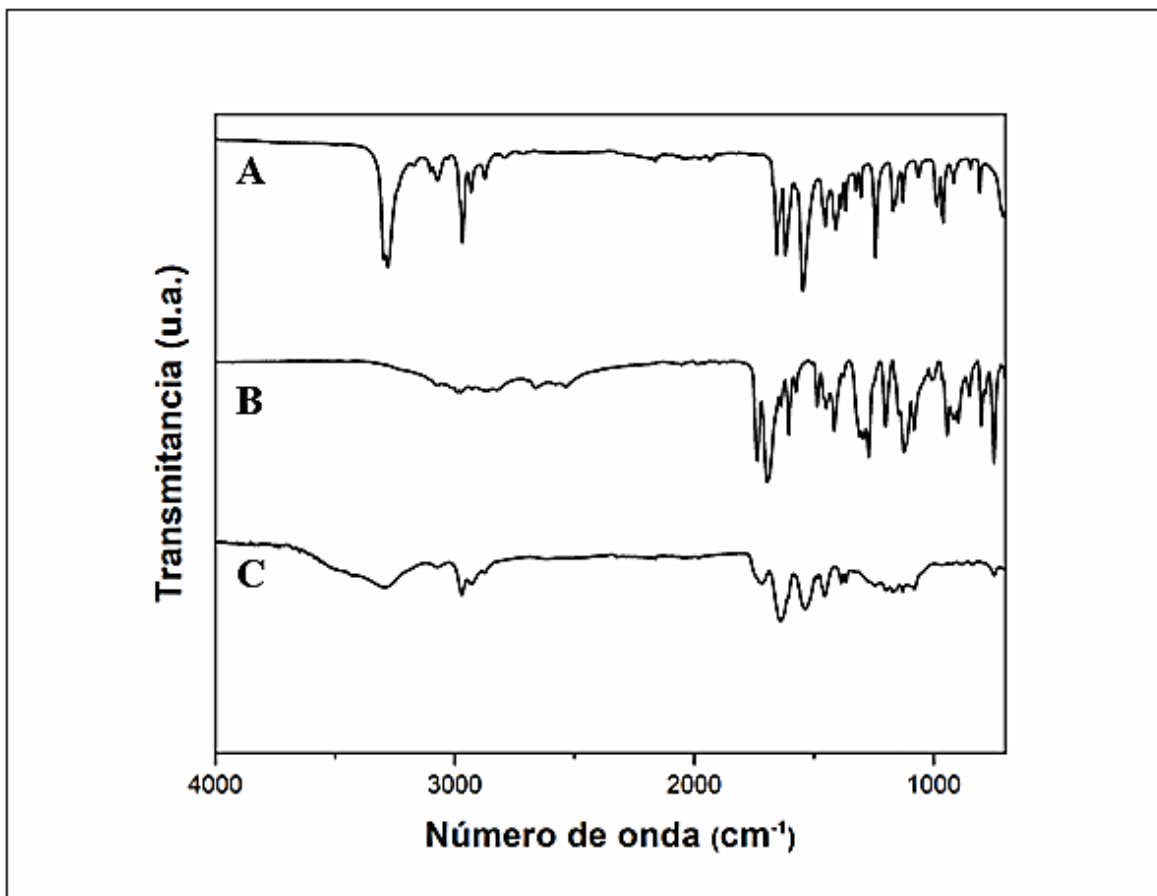


Figura 26. Comparativo de los espectros infrarrojos de: A) NIPAAm, B) MAOB y C) Microgeles NIPAAm-MAOB.

IV.7 Estudio hidrólisis-liberación

En la figura 27 se representan las liberaciones de los microgeles NIPAAm-MAOB 5, 15 y 20 % a pH 7.4 en donde se puede apreciar que hay una diferencia significativa en la disminución de la liberación del fármaco a medida que aumenta el porcentaje del monómero MAOB cargado en el microgel, donde los microgeles con un cargado de 5% alcanzaron una liberación del 100% en un periodo de 24 h, sin embargo esto disminuye en los porcentajes

altos como 15 y 20 % estando entre un 20 y 30% de liberación de ácido salicílico, esto se atribuye a que entre mayor es el porcentaje de poli(MAOB) en las partículas copolimerizadas, disminuye la solubilidad, ya que en los % altos se puede observar que estos microgeles a las 72 h no se han disuelto completamente.

En la figura 28 que representa la liberación a pH 1.2 del microgel NIPAAm-MAOB 17.5 % donde la liberación fue mínima. Esto se atribuye a que a medida que aumentamos la cantidad de monómero MAOB, disminuye la solubilidad de éste, así como el cambio de pH.

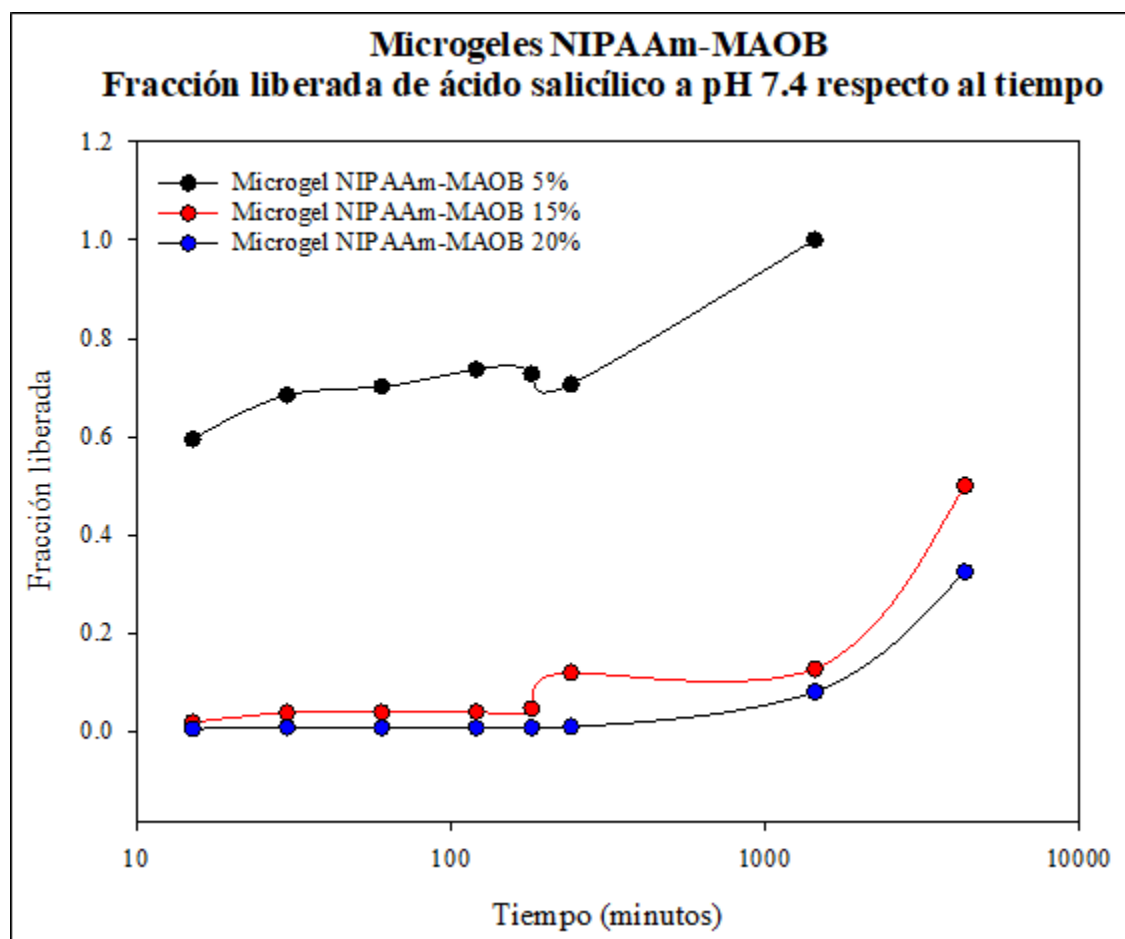


Figura 27. Cinética de liberación de microgeles NIPAAm-MAOB 5, 15 y 20% a pH 7.4.

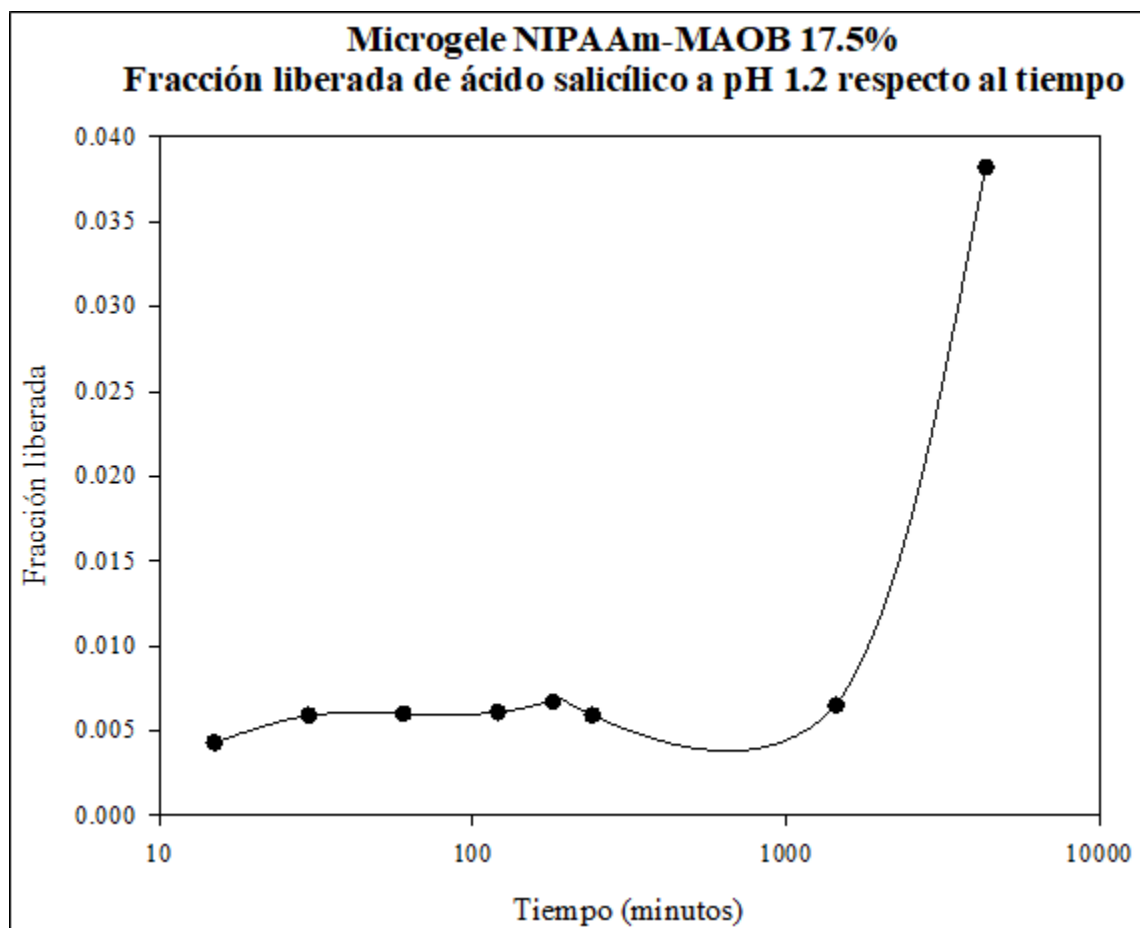


Figura 28. Cinética de liberación de microgel NIPAAm-MAOB 17.5% a pH 1.2.

V. Conclusiones

V.1 Se lograron sintetizar con éxito microgeles de NIPAAm-MAOB en distintos porcentajes de contenido de MAOB (5,14, 17.5 y 20%), de los cuales los microgeles esperados con contenido de 5 y 17.5% de co-monómero fueron los más cercanos al deseado con 4.79% y 17.58% respectivamente, a futuro para evitar estas posibles variaciones en el contenido del monómero se podría controlar de manera más precisa la temperatura de reacción tanto como el tiempo de enfriamiento para detener ésta misma.

V.2 Tras la caracterización individual de los monómeros mediante IR y al comparar éstos con el espectro IR obtenido de los microgeles observamos que se mantienen las bandas características de cada uno de los monómeros, corroborando así que se logró correctamente la copolimerización de los monómeros en la estructura del microgel.

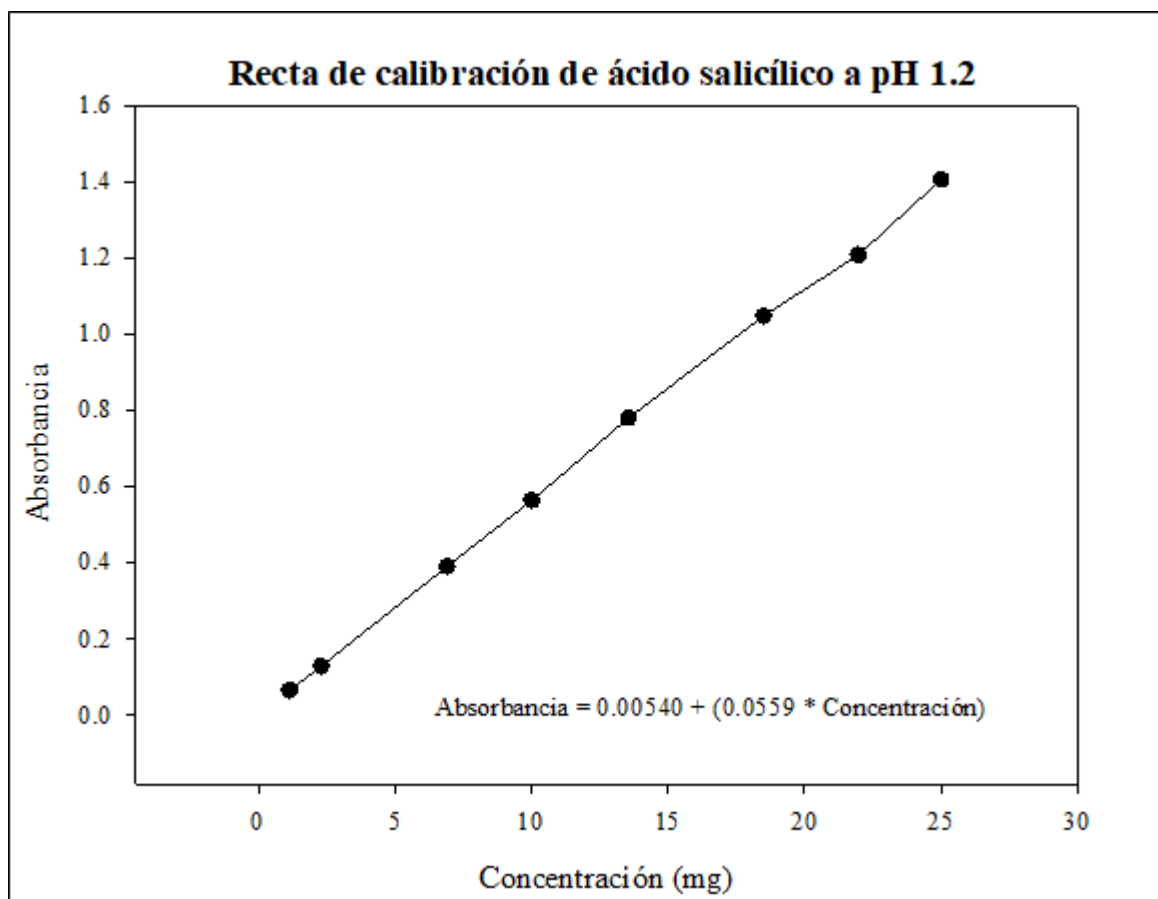
V.3 Con el estudio de hidrólisis-liberación se observó que a medida que aumenta en contenido de MAOB en la micropartícula es menor la solubilidad del microgel en el medio, por lo que en un futuro se podrían realizar microgeles con porcentajes mayores a 5% pero sin rebasar 15% ya que a partir de este contenido en el microgel se observa que la fracción liberada de fármaco es mínima, esto buscando obtener cantidades mayores de fármaco liberado.

Referencias

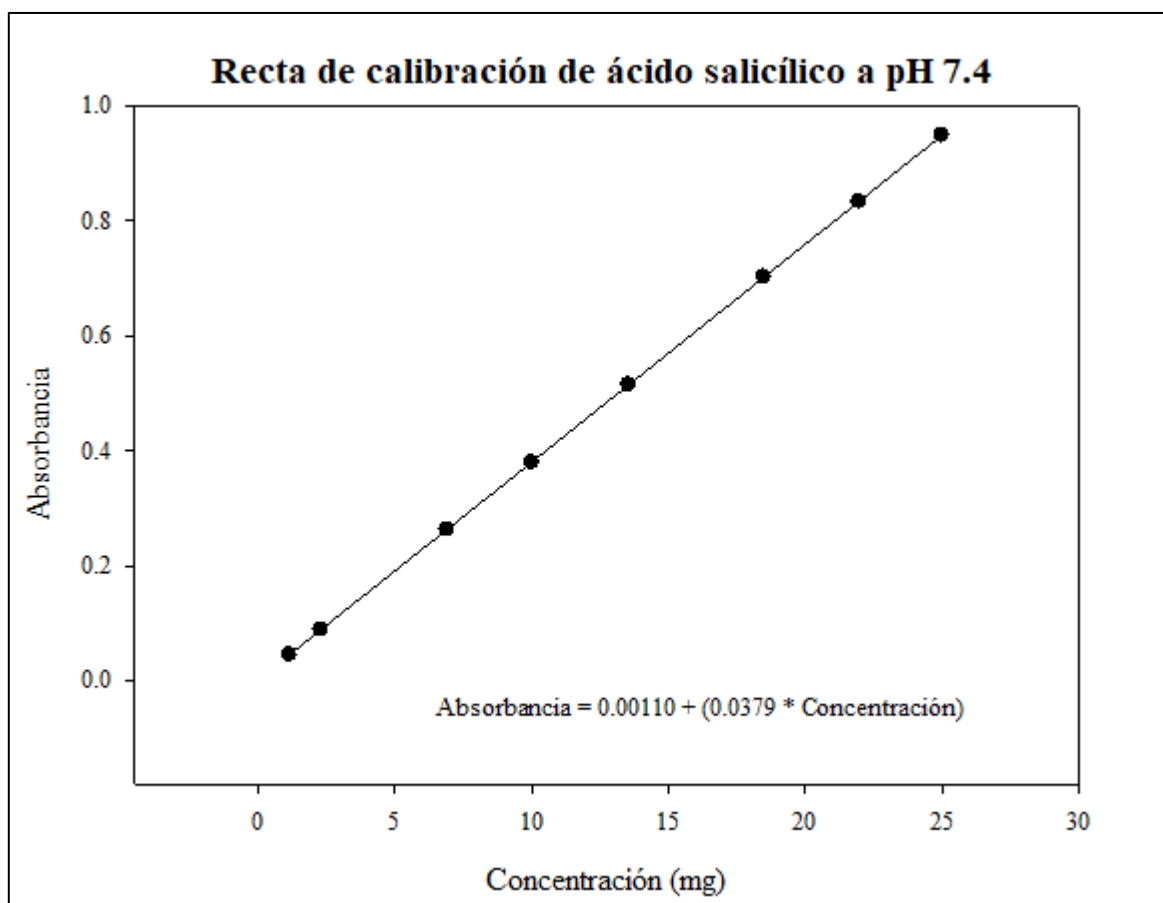
- Abet, V., Filace, F., Recio, J., & Alvarez-Builla, J. (2016). Prodrug approach: An overview of recent cases. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 810-827.
- Aguilar, M. R. (2007). Smart polymers and their applications as biomaterials. *Topics in tissue engineering*, vol. 3.
- Aguirre, J. C. (2017). DISPOSITIVOS PARA LA LIBERACIÓN CONTROLADA DE FÁRMACOS. . *JÓVENES EN LA CIENCIA*, 741-744.
- Arredondo, A. L. (2009). Hidrogeles: Potenciales biomateriales para la liberación controlada de medicamentos. *Revista Ingeniería Biomédica*, 83-94.
- Boztepe, C., Künkül, A., & Yüceer., M. (2020). Application of artificial intelligence in modeling of the doxorubicin release behavior of pH and temperature responsive poly(NIPAAm-co-AAc)-PEG IPN hydrogel. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 1-9.
- Cho, K., Wang, X. N., & Shin. (2008). Therapeutic Nanoparticles for Drug Delivery in Cancer. *Clinical cancer research*, 1310-1316.
- Enas, M. (2013). Hydrogel: Preparation, characterization and applications. *Journal of advanced research*, 105-121.
- Fu, X. H.-R. (2018). Multi-stimuli-responsive polymer particles, films, and hydrogels for drug delivery. *Cellpress Chem* 4, 2084-2107.
- Gennaro, A. R. (2003). *Remington Farmacia (Vol. 2)*. Medica Panamericana.
- Grainger, S. &.-S. (2010). Stimuli-sensitive particles for drug delivery. . *Biologically-responsive hybrid materials*, 171-190.
- Guan, Y., & Zhang, Y. (2011). PNIPAM microgels for biomedical applications: from dispersed particles to 3D assemblies. *Soft Matter*, 6375–6384.
- Hernández, G. M. (2010). *Tratado de medicina farmacéutica*. Madrid: Ed. Medica Panamericana.
- James, H. P. (2014). Smart polymers for the controlled delivery of drugs—a concise overview. x. *Acta Pharmaceutica Sinica B.*, 120-127.
- Jáuregui-Haza, R. O.-N. (2012). Las nanopartículas como portadores de fármacos: características y perspectivas. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*.
- Karg, M., & Hellweg, T. (2009). New “smart” poly(NIPAM) microgels and nanoparticle microgel hybrids: Properties and advances in characterisation. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 438–450.
- Kelemen, H., Hancu, G., Rusu, A., Erzsébet, V., & Székely Szentmiklósi, B. (2016). Prodrug Strategy in Drug Development. *Acta Medica Marisiensis*, 356-362.
- Kewal, J. (2008). Drug Delivery systems- An overview. *Methods in molecular biology*, 1-50.
- Kopeček, J. (2007). Hydrogel biomaterials: A smart future? 5185-5192.

- Kreuter, J. (1996). Nanoparticles and microparticles for drug and vaccine delivery. *Journal of anatomy*, 503.
- Kuckling, D. &. (2011). *Handbook of Stimuli-Responsive Materials* (Vol. .). Weinheim: WILEY-VCH .
- Lanzalaco, S. &. (2017). Poly (n-isopropylacrylamide) and copolymers: A review on recent progresses in biomedical applications. *Gels*, 36.
- Lanzalaco, s. A. (2017). Poly(N-isopropylacrylamide) and Copolymers: A Review on Recent Progresses in Biomedical Applications . *Gels*, 1-32.
- Li, J. W. (2006). Thermo-sensitive polymers for Controlled-release drug delivery systems. *International Journal of phamacology*, 513-519.
- Magaña, H., Palomino, K., Cornejo-Bravo, J. M., Díaz-Gómez, L., Concheiro, A., Zavala-Lagunes, E., & Bucio., C. A.-L. (2016). Polymeric prodrug–functionalized polypropylene films for sustained release of salicylic acid. *International Journal of Pharmaceutics*, 579-585.
- Mehrdad, H., Amir, A., & Pedram, R. (2008). Hydrogel nanoparticles in drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 1638–1649.
- Ministerio de sanidad y consumo. (2015). *Real Farmacopea Española 5ed.* Madrid.
- Nikkolaos, A. A. (1993). Preparation, structure and diffusional behavior of hydrogels in controlled release . *Advanced drug delivery reviews*, 1-29.
- Patel, J. &. (2016). Artificial Neural Networking in Controlled Drug Delivery. *Artificial Neural Network for Drug Design, Delivery and Disposition*, 195-218.
- Rojas, Y. A. (2016). La nanomedicina y los sistemas de liberación de fármacos: ¿La (r)evolución de la terapia contra el cáncer? *Educación química*, 286-291.
- Sabyasachi, M. K. (2017). Introductory chapter: Drug Delivery Concepts. *Advanced Thecnology for Delivering Therapeutics*, 1-12.
- Sáez, V. H. (2004). Mecanismo de liberación de fármacos desde materiales polimericos . *Revista iberoamericana de polímeros*, 55-70.
- Santa, C., & López, B. (2013). Materiales polimericos en nanomedicina: transporte y liberación controlada de fármacos. *rev. acad. colomb. cienc.: volumen XXXVII.* , 115-124.
- suñé, J. M. (2002). Nuevas aportaciones galenicas a las formas de administración. *Formación continuada para farmacéuticos de hospital*, 28-64.
- Vargas, P. A. (2015). *Liberación y absorción de fármacos. Manual de conocimientos básicos de farmacología.* México.
- Vilara, G., Tulla-Puche, J., & Albericio, F. (2012). Polymers and Drug Delivery Systems. *Current Drug Delivery*, 1-28.

Anexos



Gráfica 1. Recta de calibración de ácido salicílico a pH 1.2



Gráfica 2. Recta de calibración de ácido salicílico a pH 7.4