

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
POSGRADO MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS E INGENIERÍA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA



*Síntesis de nanogeles de N-Isopropilacrilamida y ácido anfifílico y
su aplicación a la liberación controlada de fármacos
antineoplásicos*

T E S I S

Para obtener el título de

Maestra en ciencias

Por

TERESA GUADALUPE RODRÍGUEZ TÉLLEZ

Director de tesis

Dra. Kenia Palomino Vizcaíno

Co- director de tesis

Dr. José Manuel Cornejo Bravo

Tijuana, B. C., a 8 de junio de 2021.

Hoja de aprobación

Universidad Autónoma de Baja California FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA

Folio No.331
Tijuana, B.C., a 07 de septiembre del 2022

C. Teresa Guadalupe Rodríguez Téllez
Pasante de: Maestría en Ciencias
Presente

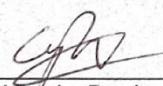
El tema de trabajo y/o tesis para su examen profesional, en la
Opción TESIS.

Es propuesto, por las C. Dra. Kenia Palomino Vizcaino y
Dr. José Manuel Cornejo Bravo

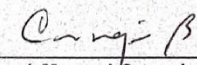
Quienes serán las responsables de la calidad del trabajo que usted presente,
referido al tema "Síntesis De Nanonegeles De N-Isopropilacrilamida Y Ácido
Anfililico Y Su Aplicación A La Liberación Controlada De Fármacos
Antineoplásicos".


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

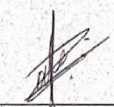
- I. INTRODUCCIÓN
- II. EXPERIMENTAL
- III. RESULTADOS Y DISCUSIONES
- IV. CONCLUSIONES
- ANEXOS
- REFERENCIAS


Dra. Ana Alejandra Ramirez Rodriguez
Sub-Directora




Dr. José Manuel Cornejo Bravo
Co - Director de Tesis


M.C. Roberto Alejandro Reyes Martinez
Director


Dra. Kenia Palomino Vizcaino
Directora de Tesis

Contenido

Hoja de aprobación	2
Lista de figuras	5
Lista de tablas	7
Agradecimientos	8

Resumen	9
Capítulo I. Introducción	10
I.1 Antecedentes	10
I.2 Hipótesis	11
I.3 Justificación	11
I.4 Objetivo general	12
I.5 Objetivos específicos	12
I.6 Marco teórico	14
I.6.1. Sistemas de liberación de fármacos	14
I.6.2. Nanogeles inteligentes sensibles a pH y temperatura	16
I.6.3. N-isopropilacrilamida (NIPAAm)	18
I.6.4. Cáncer y tumores	19
I.6.5. Efecto permeabilidad y retención	20
I.6.6. Antineoplásicos	22
I.6.7. Doxorrubicina	23
I.6.8. Técnicas de caracterización	24
Capítulo II. Experimental	26
II.1 Síntesis de monómeros	26
II.2 Preparación de la sal potásica del monómero ácido 6-aminohexanoico	27
II.3 Síntesis de nanogeles	27
II.4 Caracterización de los nanogeles	28
II.5 Determinación de la citocompatibilidad	30
II.6 Cargado de Fármaco	30
II.7 Liberación de fármaco	31
II.8 Cuantificación por CLAR o HPLC	32
Capítulo III. Resultados Y Discusiones	33
III.1 Síntesis del monómero ácido 6-metacriloilamido hexanoico (NMAHe)	33
III.2 Preparación de la sal potásica del monómero ácido 6-aminohexanoico	35
III.3 Síntesis y caracterización de los nanogeles	35
III.3.1. Tamaño de partícula	38
III.3.2 Tamaño de partícula respecto a la temperatura	42
III.3.4. Determinación del contenido de ácido	43

III.3.5 Caracterización de microgeles de ácido metacrílico (AM)	44
III.4 Determinación de la citocompatibilidad	¡Error! Marcador no definido.
III.5 Cargado de Fármaco	45
III.6 Liberación de fármaco	47
III.7 Cuantificación por CLAR o HPLC	¡Error! Marcador no definido.
Capítulo IV. Conclusiones	54
Capítulo V. Anexos	54
Capítulo VI. Referencias	54

Lista de figuras

Figura 1. Representación de niveles de concentración en sangre en el tiempo a partir de una forma farmacéutica convencional y liberación controlada

Fig. 2. Representación de un hidrogel en estado colapsado e hinchado. Así como de las cadenas y puntos de entrecruzamiento

Fig. 3. A) Estructura química de NIPAAm, B) representación de su conformación física según la temperatura.

Figura 4. Representación del efecto de permeabilidad y retención aumentada de un vaso sanguíneo

Figura 5. Estructura química de doxorrubicina.

Figura 6. Espectro electromagnético

Figura 7. Reacción de síntesis del monómero NMAHe

Figura 8. Estructura del monómero NMAHe

Figura 9. Espectro IR del monómero NMAHe

Figura 10. RMN- H^1 del monómero NMAHE.

Figura 11. Espectro infrarrojo de microgeles NIPAAm-co-PEGMA-co-NAMAHe.

Figura 12. Comparativo de los espectros IR de los comonómeros presentes en los microgeles sintetizados

Figura 13. Distribución de tamaño a 25 °C de microgeles de NIPAAm:PEGMA (70:30) copolimerizados con 5% mol de NMAHe en agua como medio de dispersión y a distintos pH (3, 5, 7, 7.4 y 9).

Figura 14. Distribución de tamaño a 25 °C de microgeles de NIPAAm:PEGMA (70:30) copolimerizados con 10% mol de NMAHe en agua como medio de dispersión y a distintos pH (3, 5, 7, 7.4 y 9).

Figura 15. Distribución de tamaño a 25 °C de microgeles de NIPAAm:PEGMA (70:30) copolimerizados con 15% mol de NMAHe en agua como medio de dispersión y a distintos pH (3, 5, 7, 7.4 y 9).

Figura 16. Distribución de tamaño a 25 °C de microgeles de NIPAAm:PEGMA (70:30) copolimerizados con 10% mol de AM en agua como medio de dispersión y a distintos pH (3, 5, 7, 7.4 y 9).

Lista de tablas

Tabla 1. Diferencias fisicoquímicas entre tejidos normales y tumorales.

Tabla 2. Asignación de grupos funcionales del espectro IR obtenido del monómero NMAHE sintetizado.

Tabla 3. Asignación de grupos funcionales al espectro IR obtenido de los microgeles NIPAAm-co-PEGMA-co-NAMAHe.

Tabla 4. Tamaño y PDI de los microgeles a 25 °C en diferentes medios de dispersión.

Tabla 5. Potencial Z de microgeles NIPAAm:PEGMA (70:30) copolimerizados con distintos porcentajes de NMAHe (5%, 10% y 15%) en agua como medio de dispersión y a distintos pH (3, 5, 7, 7.4 y 9).

Tabla 6. Temperatura de transición de microgeles NIPAAm:PEGMA (70:30) copolimerizados con distintos porcentajes de NMAHe (5%, 10% y 15%) en agua como medio de dispersión y a distintos pH (3, 5, 7, 7.4 y 9).

Tabla 7. Contenido real en porcentaje obtenido de monómero ácido respecto al esperado

Tabla 8. Tamaño, PDI, temperatura de transición y potencial Z de microgeles de NIPAAm:PEGMA (70:30) copolimerizados con 10%mol de AM. A 25 °C en agua como medio de dispersión y a distintos pH (3, 5, 7, 7.4 y 9).

Agradecimientos

Resumen

El presente trabajo tiene como propósito desarrollar un sistema de liberación para fármacos antineoplásicos a partir de la síntesis de nanogeles de N-isopropilacrilamida (NIPAAm) y polietilenglicol metiléter metacrilato (PEGMA) con ácido anfifílico como copolímero en distintos porcentajes de éste en forma de sal y ácido. Se pretende estudiar el efecto que ejerce el cambio de pH y la temperatura en el tamaño de los nanogeles. Se caracterizarán por distintas técnicas como cromatografía de capa fina, IR, RMN y SEM y se

realizará el cargado de los nanogeles con doxorubicina para estudiar su liberación y cuantificación del fármaco, así como la realización de pruebas de viabilidad celular.

Capítulo I. Introducción

I.1 Antecedentes

El cáncer abarca cerca de 80 enfermedades, que se caracterizan por la proliferación celular anormal y ausencia de muerte celular que forman una masa celular anormal o tumor, con excepción de los cánceres hematológicos. (EdgarPérez-Herrero & AlbertoFernández-Medarde, 2015).

La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) en su reunión del 2018 estima que el número de nuevos casos de cáncer a nivel mundial asciende a 18.1 millones y 9.6 millones de muertes. Estima que uno de cada cinco hombres y una de cada seis mujeres en todo el mundo desarrollarán cáncer a lo largo de su vida, y que uno de cada ocho hombres y uno de cada once las mujeres morirán por su enfermedad. En México se estiman 190 mil nuevos casos y 83 mil muertes por esta enfermedad en 2018, siendo los tipos más frecuentes el cáncer de mama, próstata, colon, tiroideo y cérvico uterino (GLOBOCAN, 2018).

Los tratamientos más utilizados globalmente son la cirugía, radiación, quimioterapia e inmunoterapia. La quimioterapia es uno de los tratamientos más eficientes para tratar el cáncer por lo que se han desarrollado una gran cantidad de fármacos quimioterapéuticos muy eficientes como la doxorubicina, que destruye las células cancerosas dañando su ADN. A pesar de su eficiencia su uso terapéutico está limitado por su citotoxicidad ya que no distingue entre células cancerosas y normales, dañando las células sanas (Alsehli, 2020).

La doxorubicina es uno de los fármacos quimioterapéuticos más eficaces, sin embargo, el tratamiento con doxorubicina tiene el riesgo de desarrollar alguna disfunción cardíaca que se puede presentar durante el tratamiento o semanas e incluso años posteriores a la conclusión del tratamiento. La disfunción cardíaca puede presentarse como un amplio rango de síntomas que puede ir desde una arritmia cardíaca hasta una falla cardíaca (Edwards, 2016).

Los sistemas de liberación de fármacos dirigidos a tumores son formulaciones novedosas clasificadas como inteligentes, que han despertado el interés en el campo de la nanomedicina. Estos sistemas tienen la capacidad de liberar la carga terapéutica en respuesta a los microambientes tumorales a través de diversas estrategias como el cambio de la carga de la superficie, cambio de estructura por medio de hinchamiento o colapso de estas o la regulación de otras propiedades fisicoquímicas (He, y otros, 2020).

I.2 Hipótesis

Es posible sintetizar nanogeles biocompatibles sensibles al pH y la temperatura para la liberación controlada de fármacos, mediante la copolimerización de NIPAAm, PEGMA y ácido 6-aminohexanoico.

I.3 Justificación

Debido a la deficiencia que existe actualmente en el tratamiento de los diferentes tipos de cáncer, y las consecuencias que estos generan en la calidad de vida del paciente provocando problemas antes mencionados, así como los efectos secundarios que estos provocan dificultan la eficacia del tratamiento y la erradicación de células cancerígenas, fue el principal motivo que llevo a realizar esta investigación.

Las células tumorales se caracterizan por que se dividen, crecen y se diseminan sin control en cualquier parte del cuerpo, estas modifican la temperatura y pH dando una diferencia con el tejido normal, el tejido dañado a su vez forma una serie de fenestras entre las células creando un mayor espacio. Estas características son fundamentales para realizar sistemas inteligentes que respondan a estos cambios en las células y con ellos realizar una liberación acertada.

El principal objetivo es sintetizar nanogeles inteligentes que presenten un tamaño considerablemente pequeño, tenga una transición de pH y temperatura, para que este reaccione a los cambios mencionados y pueda actuar en el sitio específico de las células cancerígenas y con ello tener un sistema de liberación de fármaco antineoplásico dirigido.

I.4 Objetivo general

Sintetizar nanogeles de NIPAAm-co-PEGMA copolimerizado con ácido 6-metacriloilamido hexanoico en forma de ácido y sal, su caracterización, estudio liberación-cuantificación fármacos antineoplásicos y **evaluación de viabilidad celular**

I.5 Objetivos específicos

- I. Sintetizar el monómero ácido 6-metacriloilamido hexanoico (NMAHe) a partir del ácido 6-aminohexanoico y preparación de la sal de potasio de este.
- II. Sintetizar una serie de nanogeles de NIPAAm-co-PEGMA con diferentes porcentajes de NMAHe como co-monómero en forma de ácido y sal (5, 10 y 15%).
- III. Sintetizar una serie de nanogeles de NIPAAm-co-PEGMA con diferentes porcentajes del comonómero en forma de ácido y sal marcados con fluoresceína 0.2% mol.

- IV. Caracterización de los materiales por diferentes técnicas como, DLS, FTIR-ATR, RMN- H^1 y SEM.
- V. Estudiar el efecto del pH en el tamaño y temperatura de transición de los nanogeles.
- VI. Evaluar el contenido de co-monómero en los microgeles por medio de titulación potenciométrica.
- VII. Estudio de cargado de los nanogeles con doxorubicina.
- VIII. Estudio de liberación y cuantificación del fármaco por medio de UV-VIS.
- IX. Evaluación de pruebas de viabilidad celular en líneas celulares de fibroblastos (3T3) y cancerígenas (HeLa).

I.6 Marco teórico

I.6.1. Sistemas de liberación de fármacos

Los sistemas de liberación de fármacos se desarrollaron en búsqueda del beneficio del paciente para solucionar los problemas que los fármacos pueden provocar, 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 mantener relativamente estables las concentraciones de fármaco en la sangre, tejidos u órganos, es decir, mejorar la biodisponibilidad. (Sáez, 2004) (Vargas, 2015) (Hernández, 2010) (Patel, 2016) (Rojas, 2016)

Las formas farmacéuticas de liberación controlada actuales se dividen en 4 categorías: liberación modificada, liberación prolongada, liberación retardada y liberación pulsátil. Las

cuales 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)

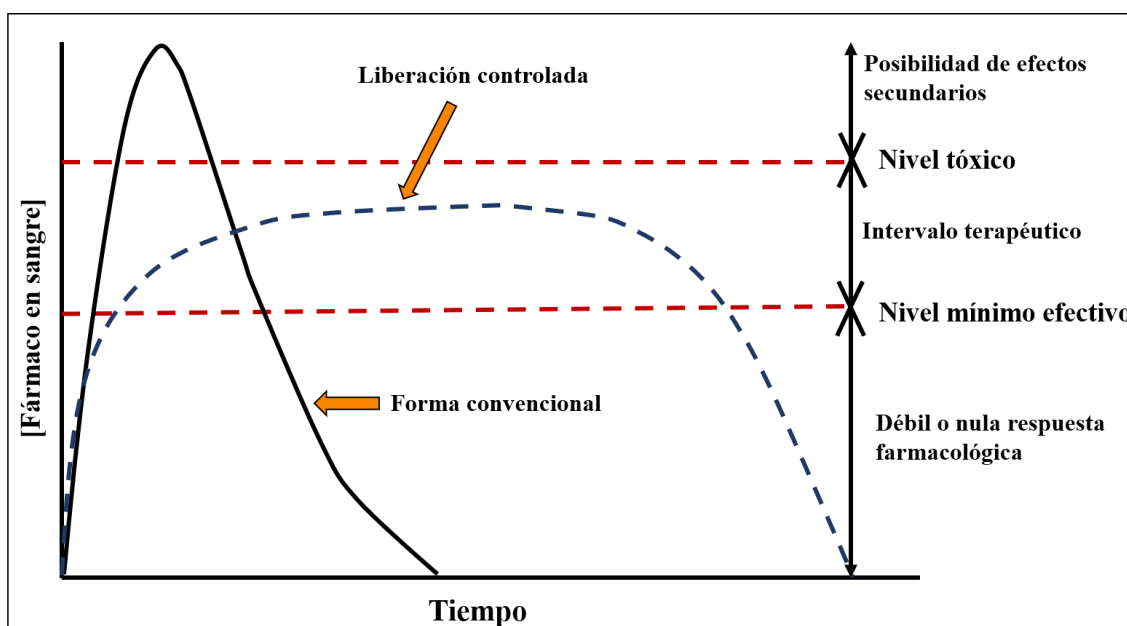


Figura 1. Representación de niveles de concentración en sangre en el tiempo a partir de una forma farmacéutica convencional y liberación controlada.

Un ejemplo de la necesidad e importancia de desarrollar nuevos sistemas de liberación de fármacos es la terapia contra el cáncer. Los tratamientos más comunes utilizados son quimioterapia, radioterapia, cirugía y combinación de estos. De los que la quimioterapia es el más utilizado a pesar de sus desventajas como su poca especificidad durante el tratamiento. Actualmente se busca optimizar la acción farmacológica de los fármacos utilizados y minimizar la toxicidad de sus efectos secundarios por lo que se requiere

lograr dirigir el fármaco anticancerígeno de manera localizada a sitios tumorales para que disminuya la cantidad de fármaco en tejidos sanos evitando los efectos negativos en el organismo (Benjamin N. Ho, 2017).

I.6.2. Nanogeles inteligentes sensibles a pH y temperatura

Un nanogel es un hidrogel el cual es definido como una red polimérica tridimensional producto del entrecruzamiento de uno o más monómeros (Fig. 2), 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. 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).

Sus características como porosidad, carga, porosidad, tamaño, suavidad y anfifilicidad le confieren ventaja sobre otros materiales para aplicaciones biomédicas. Se les puede incorporar diversas sustancias bioactivas y actuar como sistema de liberación. Su capacidad para responder a estímulos los hace relevantes para posible aplicación en la terapia contra el cáncer ya que pueden detectar y responder a las diferencias del ambiente tumoral para liberar fármacos de manera específica sin la necesidad de inducir estímulos externos, por ejemplo: campo magnético, radiación infrarroja, ultrasonido, etc (Sneha Iyer, 2020).

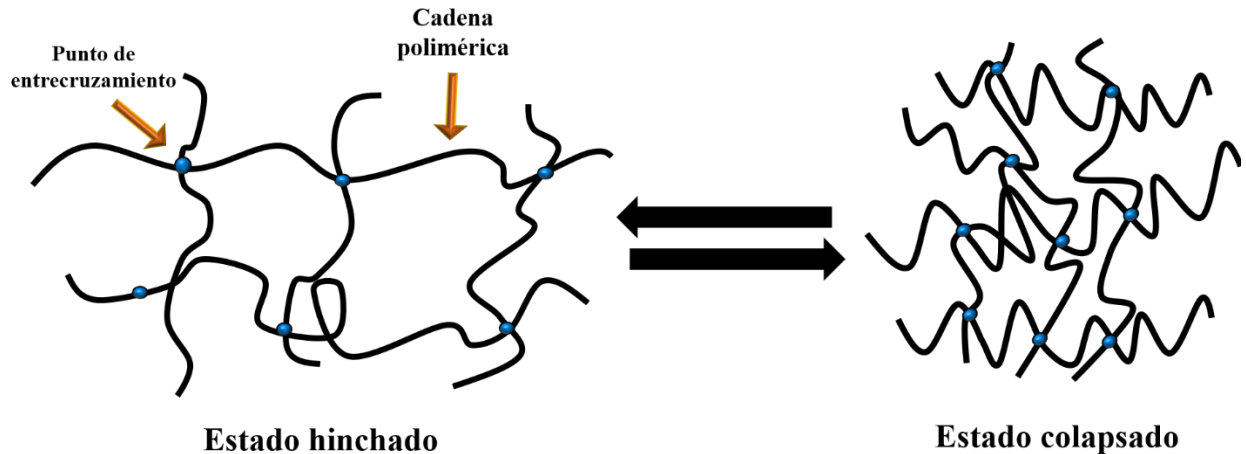


Fig. 2. Representación de un hidrogel en estado colapsado e hinchado. Así como de las cadenas y puntos de entrecruzamiento

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).

Se define como 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.

El cuerpo humano presenta variaciones de pH a lo largo del tracto gastrointestinal y en áreas específicas como ciertos tejidos, compartimentos subcelulares y áreas tumorales. Para que un polímero sea responsivo a pH debe presentar restos ácidos o básicos débiles ionizables unidos a un esqueleto hidrofóbico. 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)

I.6.3. N-isopropilacrilamida (NIPAAm)

La N-isopropilacrilamida es un polímero sensible a la temperatura que ha sido ampliamente estudiado debido a que presenta una temperatura de transición reversible del estado hinchado/colapsado muy cercana a la temperatura corporal (entre los 32°C). A temperaturas menores de su temperatura 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. 3) (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)

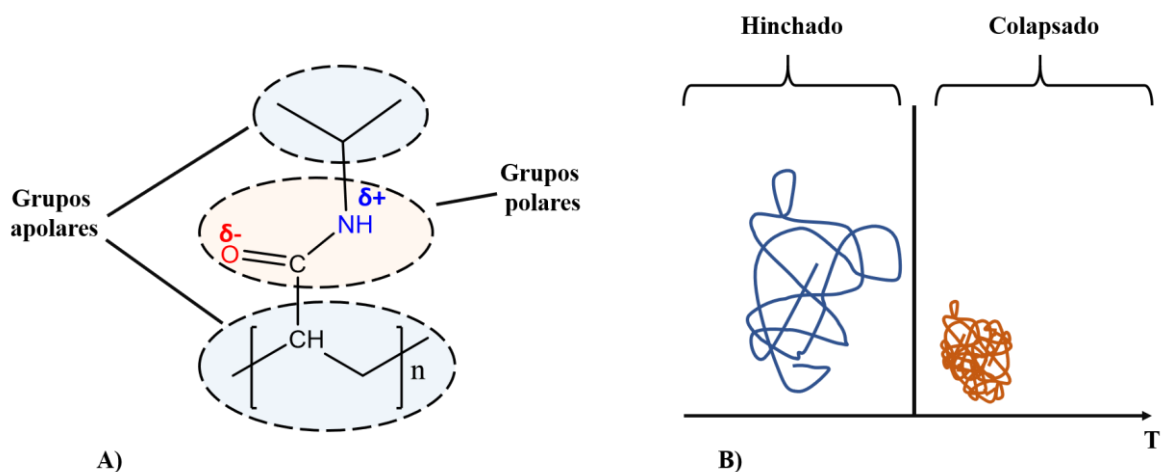


Fig. 3. A) Estructura química de NIPAAm, B) representación de su conformación física según la temperatura.

I.6.4. Cáncer y tumores

El cáncer representa a un grupo de enfermedades que afectan a distintos órganos, tienen un pronóstico diverso y se originan en factores de riesgo diferentes, sin embargo, el aspecto común es el crecimiento y diseminación incontrolados de células debido a fallos en los mecanismos genéticos y epigenéticos. Es un proceso múltiple y complejo, en el cual las células tumorales deben superar y evadir los múltiples mecanismos genéticos de control establecidos por el cuerpo humano (Gonzalez, 2015).

Las células tumorales adquieren características que las diferencian de las células normales tanto moleculares como estructurales, que resultan con diferencias fisicoquímicas (Tabla 1) que pueden ser utilizadas para diferenciar células normales de cancerosas (Qunye He, 2020).

De manera general, las células cancerígenas tienen la capacidad para mantener un crecimiento y proliferación celulares crónicos; la capacidad de evadir la acción de los múltiples genes supresores que limitan el crecimiento celular; resisten la apoptosis; la capacidad de angiogénesis; pueden activar los mecanismos que permiten la invasión de otros tejidos (Gonzalez, 2015).

Tabla 1. Diferencias fisicoquímicas entre tejidos normales y tumorales.

Señales fisicoquímicas	Tejidos normales	Tejidos tumorales
pH	7.4 (plasma humano)	~ 6.8 en ambiente tumoral extracelular 4.3-5.2 en endosomas y lisosomas
GSH	~140 nmol/g tejidos	~90 nmol/g tejidos (extracelular) 1-10 μ m (intracelular) 50-100 μ m (extracelular)
ROS	~3 μ m (plasma humano)	50-100 μ m (extracelular)
ATP	<5 μ m (plasma humano)	<0.4 mM (extracelular) 1-10 mM (intracelular)
Enzimas	baja Expresión	Aumento en compartimentos celulares
mediadores inflamatorios	baja Expresión	Sobreexpresión en tejidos tumorales

I.6.5. Efecto permeabilidad y retención

Los tumores pueden acumular determinadas moléculas como nanopartículas y lípidos, por medio de un fenómeno conocido como efecto de permeabilidad y retención aumentada (EPR). Esto ha servido como la idea principal que subyace al desarrollo de fármacos anticancerígenos basados en nanopartículas (europea, 2016) (Martínez, 2010).

Los tumores se comportan como un órgano complejo donde las células cancerígenas forman su propio ambiente en el que las células normales como las células del sistema inmune actúan que ayudan al crecimiento celular en lugar de provocar la supresión del propio tumor. Estas interacciones entre células malignas y células normales generan el microambiente tumoral (Whitesid, 2008).

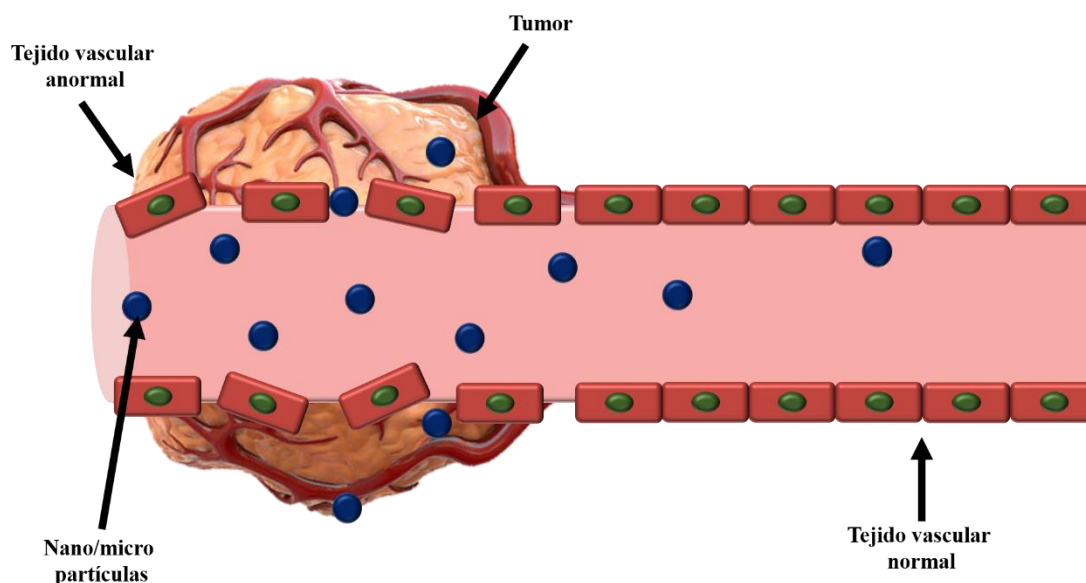


Figura 4. Representación del efecto de permeabilidad y retención aumentada de un vaso sanguíneo

La formación de células y tejidos saludables es cuidadosamente regulada como es en el caso de la formación de nuevos vasos sanguíneos pues deben asegurar llevar oxígeno y nutrientes a todas las células del organismo a través de difusión molecular. Mientras que de manera contraria los tumores están formados de manera irregular por lo que se ven obligados a desarrollar su propio suministro sanguíneo para continuar con la rápida proliferación celular

induciendo el proceso de angiogénesis. Por lo tanto, la estructura vascular de los vasos sanguíneos tumorales es desorganizada (Feifei Peng, 2020).

El sistema vascular de los tejidos tumorales es completamente diferente a los vasos sanguíneos normales (Figura 4). Tiene características aberrantes como hiper permeabilidad, tortuosidad, carecen de membrana basal, no tienen un diámetro constante, son de forma irregular, tienen protuberancias anormales.

Los tejidos tumorales tienen difusión limitada por lo que inducen la angiogénesis para la ingesta de nutrientes, transporte de oxígeno y la excreción de desechos. La ausencia de tejido de soporte en el sistema vascular provoca la formación de poros entre los espacios endoteliales con un diámetro de 100 nm a 2 μm , que va a depender del tipo y tamaño de tumor. Además de estas características vasculares del tejido tumoral, tiene un sistema linfático deficiente que impide eliminar componentes que se encuentren dentro del tumores lo que provoca su acumulación. A este fenómeno se le llama efecto de permeabilidad y retención aumentada. (Kalyane, Raval, Maheshwari, Tambe, & Tekade, 2019).

I.6.6. Antineoplásicos

Existen diferentes fármacos antineoplásicos los cuales pueden actuar sobre una o varias fases del ciclo celular o sobre los mecanismos de control de la proliferación celular. La respuesta obtenida se relaciona directamente con la capacidad proliferativa de la célula, que está determinada por el tiempo del tumor. En general, a mayor proliferación se prevé una mayor respuesta al tratamiento citostático. En la evolución del cáncer se van produciendo nuevas alteraciones genéticas que provocan una heterogeneidad celular y, por tanto, unas

propiedades bioquímicas, un tiempo de duplicación y una respuesta al tratamiento antitumoral diferentes. (Benedi, 2006)

I.6.7. Doxorrubicina

La doxorrubicina (Fig. 5) es un fármaco ampliamente utilizado en la quimioterapia del cáncer, es un antibiótico antineoplásico citotóxico de la familia de antraciclina aislado de cultivos de *Streptomyces peucetius* var. *Caesius*., se une a los ácidos nucleicos, presumiblemente por la intercalación específica del núcleo plano de antraciclina con la doble hélice del Ácido desoxirribonucleico (ADN) inhibiendo la síntesis de ADN y Ácido ribonucleico (ARN) provocando toxicidad máxima en la fase S del ciclo celular y fallecen en la fase G2. Se piensa que la ruptura del ADN es mediada por la acción de la topoisomerasa II o por la generación de radicales libres (Drugbank, 2020).

Se emplea sola o también combinada con otros quimioterapéuticos para tratar el tumor de mama, de vías genitourinarias, tiroides, pulmones, estómago, sarcomas de tejidos blandos, enfermedad de Hodkin, tumores de Wilms, neuroblastomas, cáncer testicular y leucemias agudas. La dosis empleada es de 60 a 75 mg/m² de superficie corporal como dosis única y se repite cada 21 días. La doxorrubicina también está indicada para su uso como componente de la terapia adyuvante en mujeres con evidencia de compromiso de los ganglios linfáticos axilares después de la resección del cáncer de mama primario (Aristil, 2013) (Hardman, 1996).

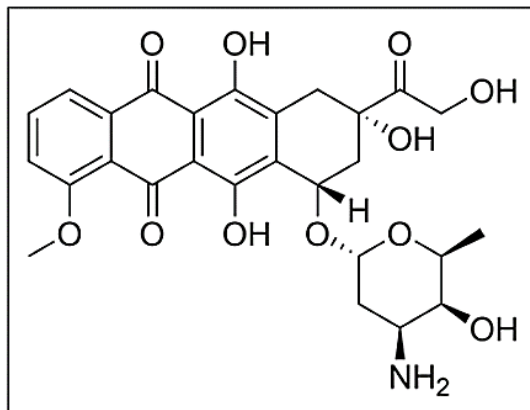


Figura 5. Estructura química de doxorubicina.

A pesar de sus beneficios terapéuticos se ha reportado que induce cardiotoxicidad lo cual es un problema grave. Frecuentemente se encuentra en pacientes en tratamiento oncológico síntomas o efectos derivados a la cardiotoxicidad inducida entre los más severos son la disfunción asintomática del ventrículo izquierdo, miocardiopatía e insuficiencia cardíaca progresiva. Además, se ha reportado que este grave efecto secundario es responsable de la muerte de 7.5-27 % de los pacientes que fueron sometidos a este tratamiento (Nanthip Prathumsap, 2020).

I.6.8. Técnicas de caracterización

- **Dispersión de luz dinámica**

El diámetro de una partícula es una de las características más importantes de los sistemas nanoparticulados. El tamaño de partícula tiene una influencia importante sobre las propiedades del material como su reactividad, velocidad de disolución, estabilidad de dispersión coloidal, así como su eficiencia como acarreador de fármacos en sistemas de liberación. La dispersión de luz dinámica (DLS por sus siglas en inglés, se utiliza para

calcular el diámetro de distintos tipos de partículas dispersas en un medio líquido. Tales partículas pueden ser orgánicas, poliméricas, carbohidratos, proteínas o de materiales inorgánicos y metales como oro, plata u óxidos metálicos. También se puede utilizar para caracterizar partículas híbridas con núcleos inorgánicos recubiertas con moléculas orgánicas. (Ramos, 2017)

- **Espectroscopía infrarroja**

Se fundamenta en que la mayoría de los compuestos tanto orgánicos como inorgánicos, contienen enlaces covalentes absorben a diferentes frecuencias de radiación infrarroja del espectro electromagnético (Fig. 6). La región infrarroja abarca aproximadamente entre los 400 y 800nm. (Donanld L. Pavia, 2001)

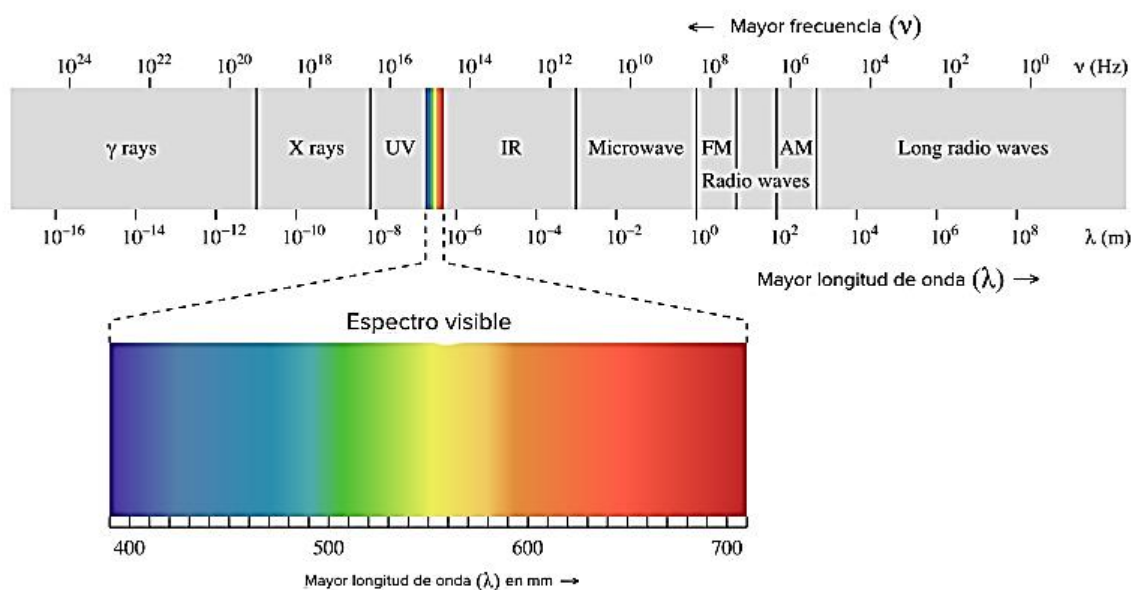


Figura 6. Espectro electromagnético

- **RMN- H^1**

Los núcleos magnéticamente activos como ^1H adoptan estados de spin con distinta energía cuando se hallan en el seno de un campo magnético. Por absorción de energía de la frecuencia apropiada, algunos de estos núcleos pueden pasar de un estado energético inferior a otro superior. El número de picos de absorción en un espectro de resonancia magnética nuclear (RMN) está relacionado con el número de clases diferentes de átomos de hidrogeno presentes en la molécula. (Wininger Stephen, 1998)

Capítulo II. Experimental

II.1 Síntesis de monómeros

La síntesis del monómero se lleva a cabo por la reacción de Schotten-Baumann (Fig. 7), referido a la formación de amidas por acrilación de aminas primarias. La reacción se llevó a cabo a partir del cloruro de metacrililoilo y ácido 6-aminocaproico ($n=5$).

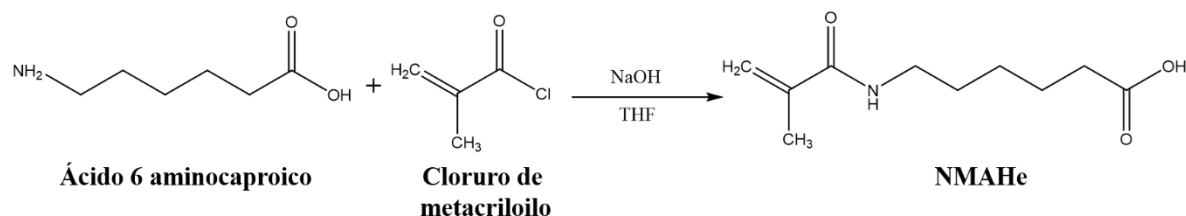


Figura 7. Reacción de síntesis del monómero NMAHe

Se disuelven 24.8 mmol de ácido 6-aminohexanoico ($n=5$) en 100mL de NaOH 1 M que contiene 10 mL de THF. Esta solución se coloca en un baño de hielo y se agregan 37.3 mmol de cloruro de metacrililoilo gota a gota durante 3 horas. Posteriormente se deja en

agitación durante 2 horas, concluido este tiempo se acidificó la solución resultante con HCl 1 M hasta llegar a pH 3 para posteriormente extraer con éter etílico y se purifica con hexano filtrando al vacío. (Magaña, Cornejo-Bravo, Cordova-Guerrero, Serrano-Medina, & Palomino, 2017)

El producto obtenido se caracterizó por espectroscopía infrarroja y resonancia magnética nuclear de protón.

II.2 Preparación de la sal potásica del monómero ácido 6-aminohexanoico

Se disolvieron 2 g de monómero en 10 mL de metanol, posteriormente se agregó gota a gota una cantidad equimolar de KOH disuelto en metanol. La solución resultante se agregó por goteo a éter etílico para obtener un precipitado, una vez lavado con éter etílico se seca al vacío a 40 °C por 5 días. (Magaña, Cornejo-Bravo, Cordova-Guerrero, Serrano-Medina, & Palomino, 2017)

II.3 Síntesis de nanogeles

La síntesis de nanogeles se realizó por el método de polimerización por dispersión sin detergente. Se colocaron 0.35 g de NIPAAm y 0.15 g de PEGMA en 50 mililitros de agua ultrapura, previamente filtrada. Se copolimerizaron con diferentes concentraciones de monómero en ácido y sal (5, 10 y 15% mol), se agregó el entrecruzante (EGDMA) al 5% en peso, para después eliminar el oxígeno con burbujeo con nitrógeno por 30 min con agitación constante. Después se coloca en un baño de aceite a 85 °C concluido este tiempo se adiciona

el iniciador (APS) al 2% en peso, y se deja reaccionar por 45 min, después se coloca en un baño de hielo y se purifica en una membrana de diálisis de 12-14 kDa por 5 días.

Una vez purificados son liofilizados para ser reconstituidos para determinar el rendimiento de reacción gravimétricamente y su posterior caracterización.

De igual manera se sintetizaron microgeles cambiando el monómero NMAHe por ácido metacrílico, para evaluar las ventajas de utilizar el monómero sintetizado respecto al monómero comercial.

II.4 Caracterización de los nanogeles

- **Tamaño de los nanogeles**

Se determinó el diámetro hidrodinámico de los nano hidrogeles por la técnica de dispersión de luz dinámica (DLS, por sus siglas en inglés) utilizando el Zetasizer Nano NS (Malvern Instruments), tanto de la solución original como de los microgeles reconstituidos, para determinar su estabilidad al proceso de liofilización.

Para evaluar el tamaño de los microgeles liofilizados se resuspendió 1 mg en 1 mL de agua hasta que se disolvió completamente. Para conocer el efecto del pH (3, 5, 7, 7.4 y 9) en el tamaño, se tomó 100 μ L de la solución de los microgeles en crudo o resuspendidos, según sea el caso y se les agregó 900 μ L del buffer con el pH correspondiente.

Se corroborará el tamaño de partícula mediante microscopía electrónica de barrido (SEM por sus siglas en inglés).

- **Potencial Z**

Se utilizó el equipo Zetasizer Nano NS por medio de DLS, para analizar el potencial Z, éste se determina con la finalidad de conocer la carga de la superficie de las partículas. Se prepararon disoluciones utilizando 50 μ l de muestra en 5 ml de buffer, los pH de éstos variaron de 3 a 9.

- **Determinación del porcentaje de ácido**

El contenido de ácido de los nanogel se determinará a través de una valoración potenciométrica ácido-base, en donde se pesan 50 mg del liofilizado del nanogel, y se diluyeron en 5 ml de agua miliQ, que se dejaron reconstituyendo por 4 horas. Se añade NaOH valorado al 0.05 M hasta llegar a pH 11, para asegurar la ionización completa de los grupos de ácidos carboxílicos. Posteriormente, se agrega HCl valorado al 0.05 M, hasta llegar a un pH de 3.

- **Espectrofotometría de infrarrojo (FTIR-ATR)**

El espectro infrarrojo se determinará con el equipo Fourier Transform Infrared spectrophotometer de iDS, con reflectancia total atenuada (ATR), por método directo a temperatura ambiente, usando el software OMNIC 09/02/41. Donde se analizarán las muestras de nanogel liofilizados, tanto los copolimerizados con monómero y sal, así como de NIPAAm.

- **Resonancia magnética nuclear de protón (RMN- H^1)**

La resonancia magnética nuclear de protón se realizará en un equipo Varian Mercury NMR de 200 MHz. Se toman entre 10 y 15 mg de muestra, y se disuelve en cloroformo deuterado, dentro del tubo de RMN.

II.5 Determinación de la citocompatibilidad

La prueba de citocompatibilidad se realiza con líneas celulares de HeLa y fibroblastos murinos (Balb 3T3 American Type Culture Collection CCL-163, Manassas, VA, EE. UU.).

Las pruebas se realizan en placas de 96 pocillos con $200,00 \text{ ml}^{-1}$ de células con medio DMEM, suero fetal bovino (10%) y solución de estreptomicina (1%) y se incubaron durante 12 h. Posteriormente, las nanogeles se ponen en contacto con las células y se incubaron a 37°C , CO_2 (5%) y humedad relativa (90%). Después de 24 horas, se utiliza un kit MTT (Roche, Suiza) para cuantificar la proliferación celular. El control negativo se usa con células, y todos los experimentos se realizaron por triplicado. Finalmente, las absorbancias se determinaron con un lector de placas ELISA a una absorbancia de 550 nm (lector de microplacas 680, BioRad, EE. UU.).

II.6 Cargado de Fármaco

Para el cargado de nanogeles con doxorubicina (DOX) se ionizarán los grupos ácidos con un equivalente de NaOH en agua. Posteriormente se adicionará una solución de clorhidrato de doxorubicina en agua para propiciar una interacción iónica entre los grupos. Se permitirá que los nanogeles se equilibren con la solución del fármaco, buscando una

interacción hidrofóbica o de puente de hidrógeno. El exceso de disolvente se removerá por ultracentrifugación y se procederá a la evaporación del disolvente remanente y la recuperación de los nanogeles.

Dispersar 30 mg de nanogeles en 8 mL de agua y neutralizar con NaOH 0.1 N. Disolver 4.5 mg de hidroclicloruro de doxorubicina en 1.25 mL de agua, agregar la solución de doxorubicina a la solución de los microgeles. Recircular a 20 °C con agitación constante durante toda la noche. Centrifugar a 9500 rpm a 20 °C por 60 min para recuperar los microgeles, separando el precipitado y liofilizar.

Para cuantificar el fármaco cargado se pesó 1 mg de nanogeles cargados y se resuspendieron en una mezcla de DMA:H₂O (1:1) pH 3 a 4 °C con agitación constante en un recirculador por 5 horas posteriormente la solución con el fármaco liberado, se analizó por UV-Vis para obtener la eficiencia de cargado y porcentaje de carga de cada uno de los nanogeles cargados.

II.7 Liberación de fármaco

La liberación se llevará a cabo a partir de una dispersión recién preparada de 1 mg de nanogeles cargados en DMA:agua (11:1) pH 3 a 4°C, colocada dentro de una bolsa de diálisis la cual se pondrá dentro del medio de liberación con control de temperatura con una agitación de 50 rpm. En periodos predefinidos de tiempo (0.25, 0.50, 0.75, 1, 2, 4, 8, 12 y 24 h), se tomarán muestras del medio y se evaluará la concentración de DOX. Se realizar estudios variando la temperatura (25 y 42 °C) y variando el pH (7.4 y 5).

II.8 Cuantificación de fármaco por UV-Vis

Se evalúan los parámetros analíticos según se expresa en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM), linealidad, precisión, exactitud, especificidad y límite de detección, se realizara una curva de calibración utilizando una solución madre a una concentración de 1mg/ml y una serie de muestras con diferentes diluciones para obtener concentraciones en la escala de $\mu\text{g/mL}$ disueltas en agua destilada y filtrada.

Curva de calibración por UV-Vis

Para el análisis del cargado con doxorubicina utilizando una solución madre compuesta de DMA: H₂O (1:1) pH3 con una concentración 1 mg/mL y las muestras a diferentes diluciones para obtener concentraciones en $\mu\text{g/ml}$ disueltos en DMA: H₂O (1:1) pH3. Los análisis del control de proceso del fármaco se realizaron empleando el espectrofotómetro UV-Vis con las siguientes condiciones a una longitud de onda 485 nm y las soluciones blancos de DMA: H₂O (1:1) pH3

Capítulo III. Resultados Y Discusiones

III.1 Síntesis del monómero ácido 6-metacriloilamidohexanoico (NMAHe)

Se llevó a cabo la síntesis del monómero (Fig. 8) de acuerdo con la reacción de Schotten-Bauman, de la que se obtuvo como producto un líquido viscoso de color ámbar con un rendimiento del 18%, el cual se caracterizó por infrarrojo y por RMN-H¹.

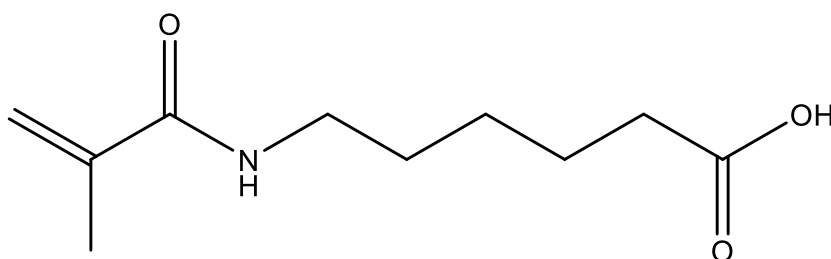


Figura 8. Estructura del monómero NMAHe

Con el espectro infrarrojo (Fig. 9) podemos corroborar que contamos las bandas características de los grupos funcionales de la estructura esperada, que indica que se sintetizó de manera exitosa el monómero NMAHe.

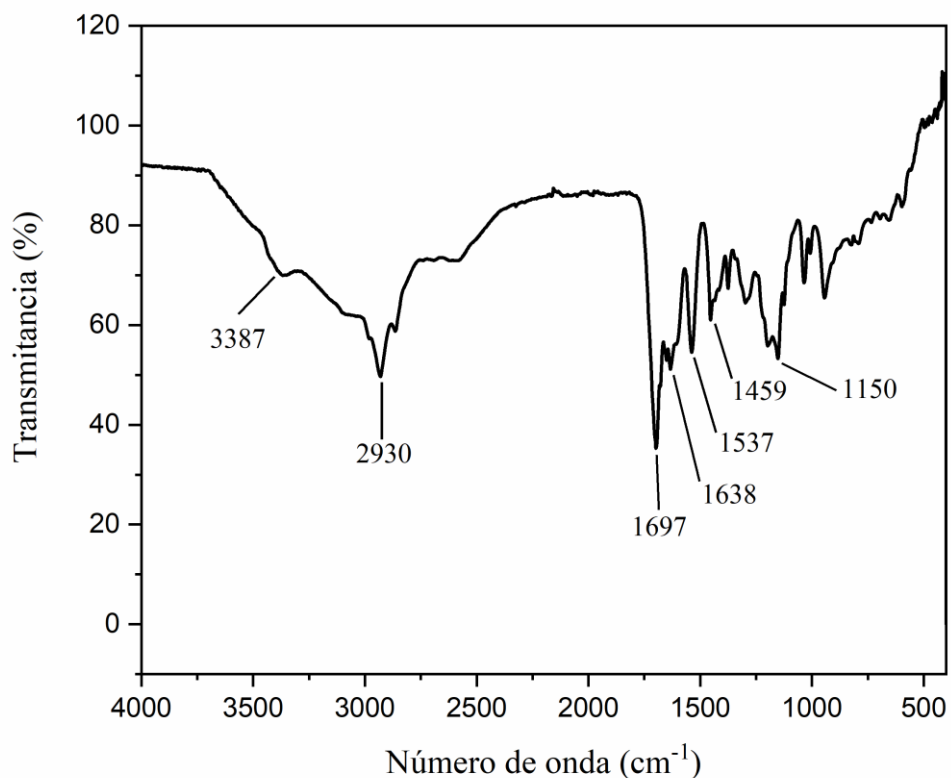


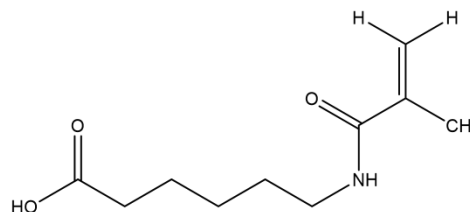
Figura 9. Espectro IR del monómero NMAHe

En la tabla 2 se muestra la asignación de los grupos funcionales correspondientes a las bandas del espectro infrarrojo obtenido y al lado derecho la estructura de la molécula esperada obtener.

Tabla 2. Asignación de grupos funcionales del espectro IR obtenido del monómero NMAHE sintetizado.

No. De onda de banda (cm ⁻¹)	Grupo funcional correspondiente
3387	N-H estiramiento
2930	C-H

1697	C=O Acido Carboxílico
1638	C=O amida
1537	N-H doblamiento
1459	CH ₂ doblamiento
1150	C-O



En la figura 10 se encuentra el espectro obtenido de la RMN-H¹ del monómero NMAHE

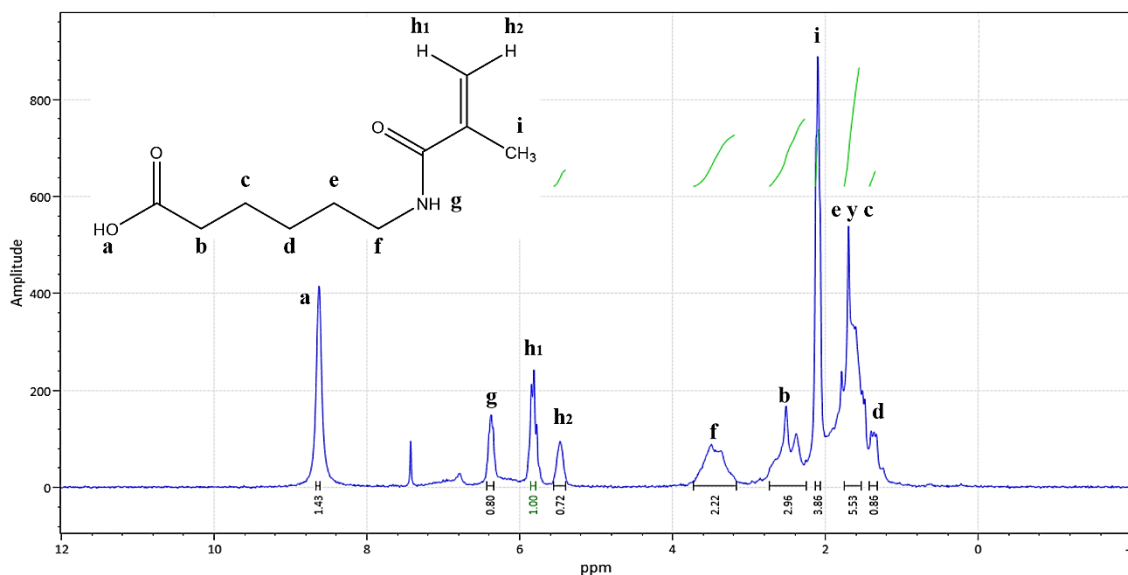


Figura 10. RMN-H¹ del monómero NMAHE.

III.2 Preparación de la sal potásica del monómero ácido 6-aminohexanoico

III.3 Síntesis y caracterización de los nanogeles

Los microgeles obtenidos se caracterizaron por espectroscopia infrarroja (Fig. 11). De igual manera los comonómeros utilizados en la polimerización fueron caracterizados por

esta misma técnica para poder comparar sus espectros y poder corroborar la correcta polimerización de los microgeles esperados.

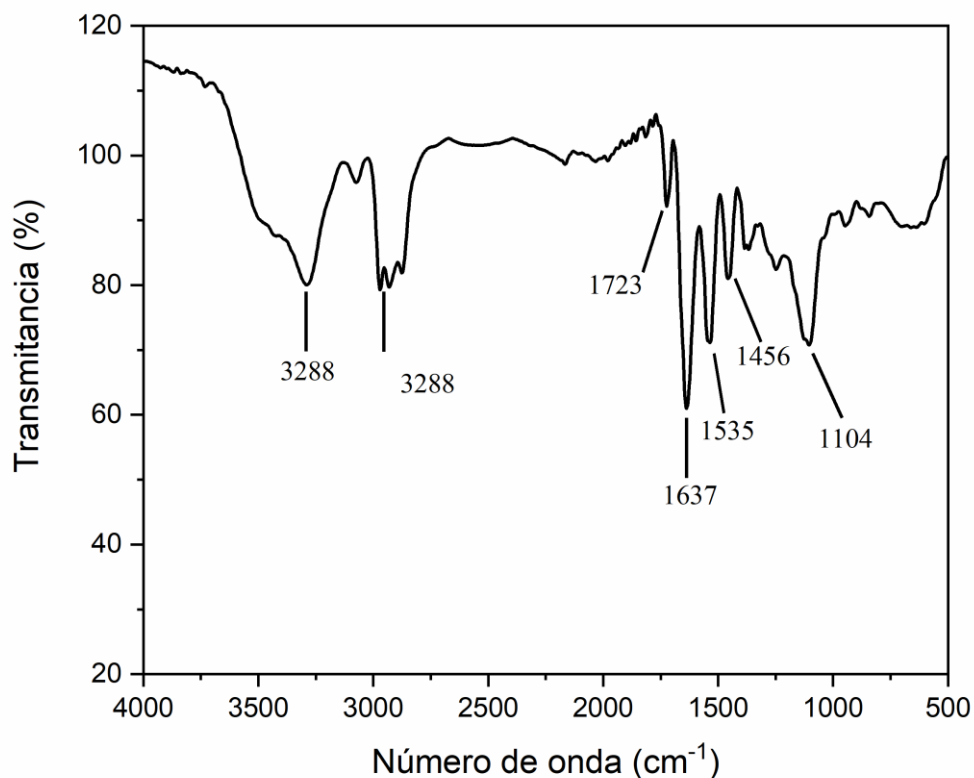


Figura 11. Espectro infrarrojo de microgeles NIPAAm-co-PEGMA-co-NAMAHe.

En la tabla 3 se encuentra la asignación de grupos funcionales a las bandas del espectro obtenido, así como en la figura 12 podemos observar los espectros de los comonómeros y de los microgeles para comparar gráficamente que se mantienen las bandas características de los comonómeros.

Tabla 3. Asignación de grupos funcionales al espectro IR obtenido de los microgeles NIPAAm-co-PEGMA-co-NAMAHe.

No. De onda de banda (cm ⁻¹)	Grupo funcional correspondiente
3288	N-H estiramiento
2970	C-H
1723	C=O Acido Carboxílico
1637	C=O amida
1535	N-H doblamiento
1456	CH ₂ doblamiento
1104	C-O

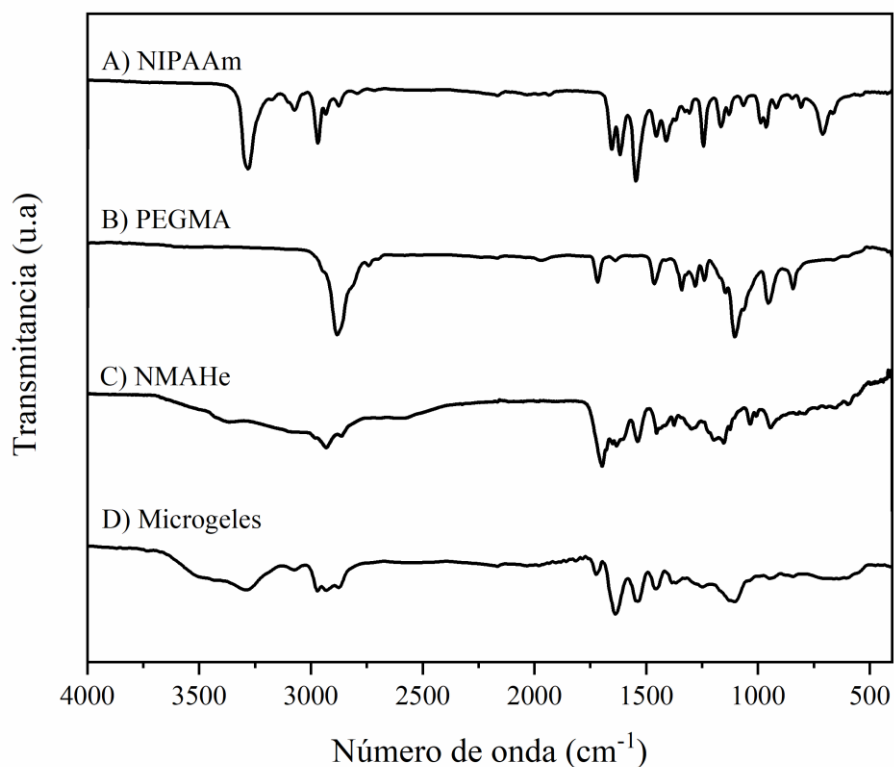
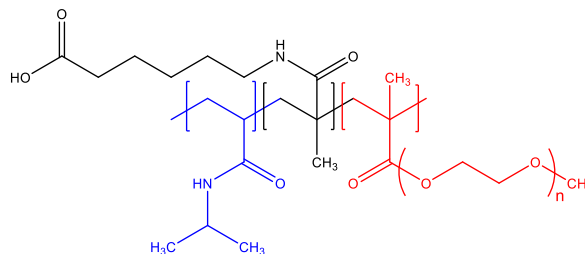


Figura 12. Comparativo de los espectros IR de los comonómeros presentes en los microgeles sintetizados

III.3.1. Tamaño de partícula y potencial Z

Se sintetizaron una serie de microgeles de NIPAAm-co-PEGMA-co-NMAHe con diferentes proporciones del último monómero, los cuales fueron caracterizados con la técnica de dispersión de luz dinámica para conocer el tamaño de partícula a 25 °C en agua como medio de dispersión, así como a diferentes valores de pH. La Tabla 4 nos muestra el tamaño y PDI y la tabla 5 nos muestra el potencial Z de los microgeles recién sintetizados (crudo) y liofilizados en los diferentes medios de dispersión.

Tabla 4. Tamaño y PDI de los microgeles a 25 °C en diferentes medios de dispersión.

Contenido de NMAHe		5%		10%		15%	
		Crudo	Liofilizado	Crudo	Liofilizado	Crudo	Liofilizado
Agua	Tamaño	339.5	349	297	285.9	780	1265
	PDI	0.132	0.129	0.11	0.099	0.315	0.556
pH 3	Tamaño	252	260	229.2	230.2	552.7**	1080*
	PDI	0.102	0.112	0.099	0.116	0.365	0.52
pH 5	Tamaño	267.7	268	247.4	246	672.6*	820.6*
	PDI	0.112	0.106	0.099	0.076	0.33	0.425
pH 7	Tamaño	279	281.4	230.1	274.6	704.7	966**
	PDI	0.12	0.104	0.081	0.102	0.263	0.393
pH 7.4	Tamaño	281.3	434.8	266.8	268.4	727	777.7**
	PDI	0.105	0.257	0.089	0.092	0.26	0.591
pH 9	Tamaño	283.4	275.8	270.3	268.9	663.9	800.7*
	PDI	0.067	0.086	0.117	0.089	0.241	0.51

* Dispersiones con doble pico máximo de distribución

** Dispersiones con triple pico máximo de distribución

En las figuras 13, 14 y 15 podemos observar la distribución de tamaño de las distintas formulaciones, de las cuales los microgeles que contienen el 15% de comonomero ácido muestran variaciones en la distribución

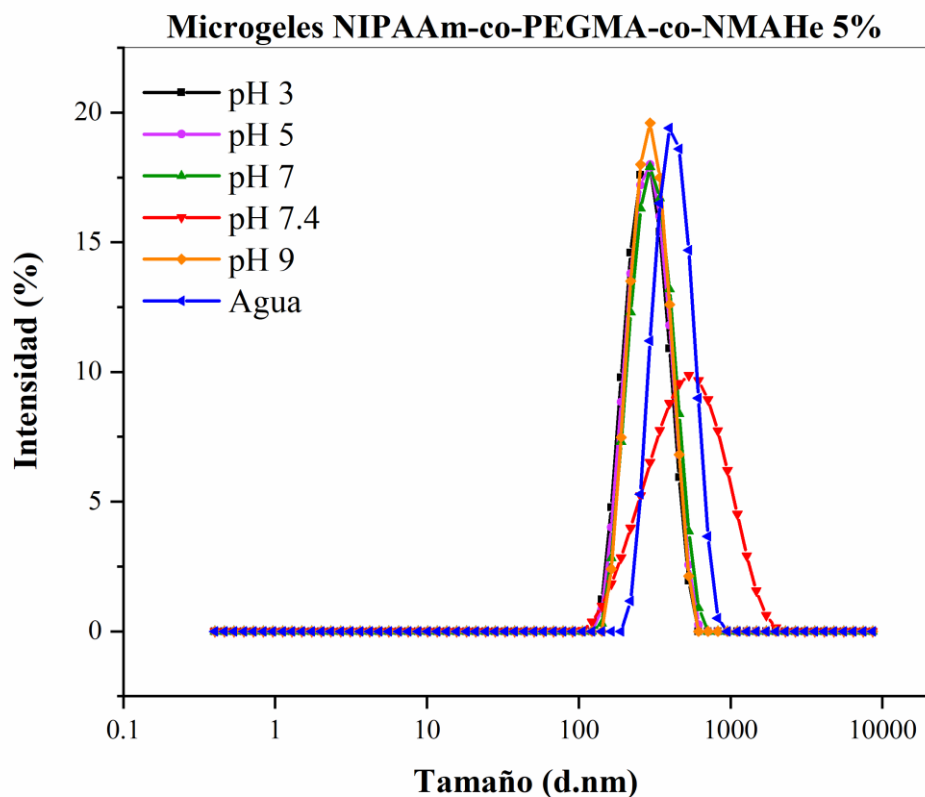


Figura 13. Distribución de tamaño a 25 °C de microgeles de NIPAAm:PEGMA (70:30) copolimerizados con 5% mol de NMAHe en agua como medio de dispersión y a distintos pH (3, 5, 7, 7.4 y 9).

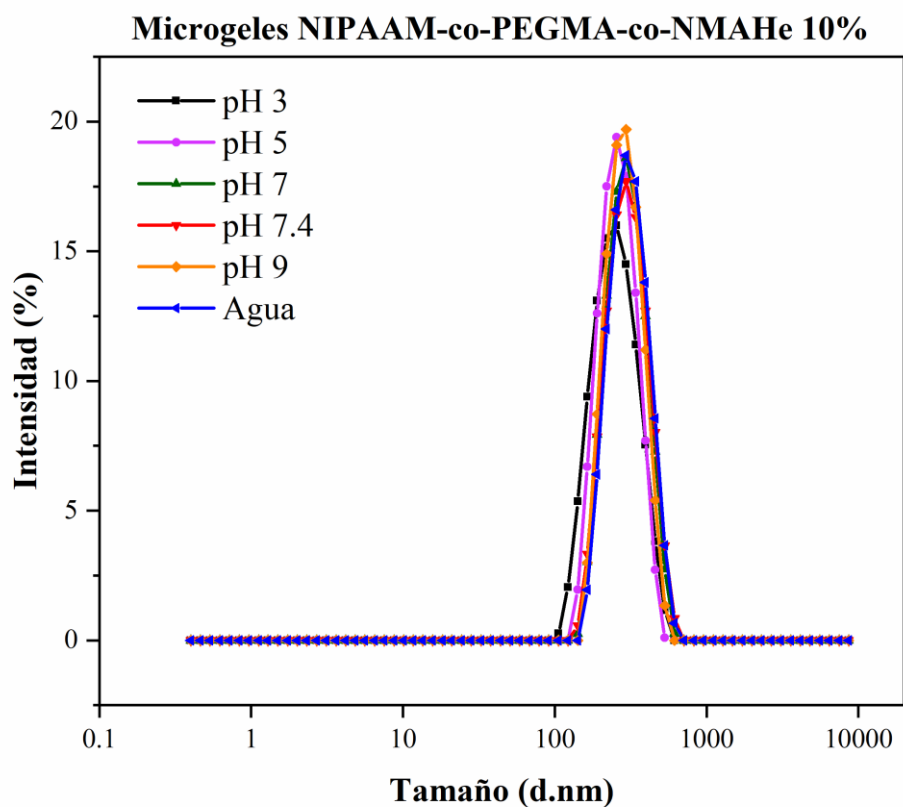


Figura 14. Distribución de tamaño a 25 °C de microgeles de NIPAAm:PEGMA (70:30) copolimerizados con 10% mol de NMAHe en agua como medio de dispersión y a distintos pH (3, 5, 7, 7.4 y 9).

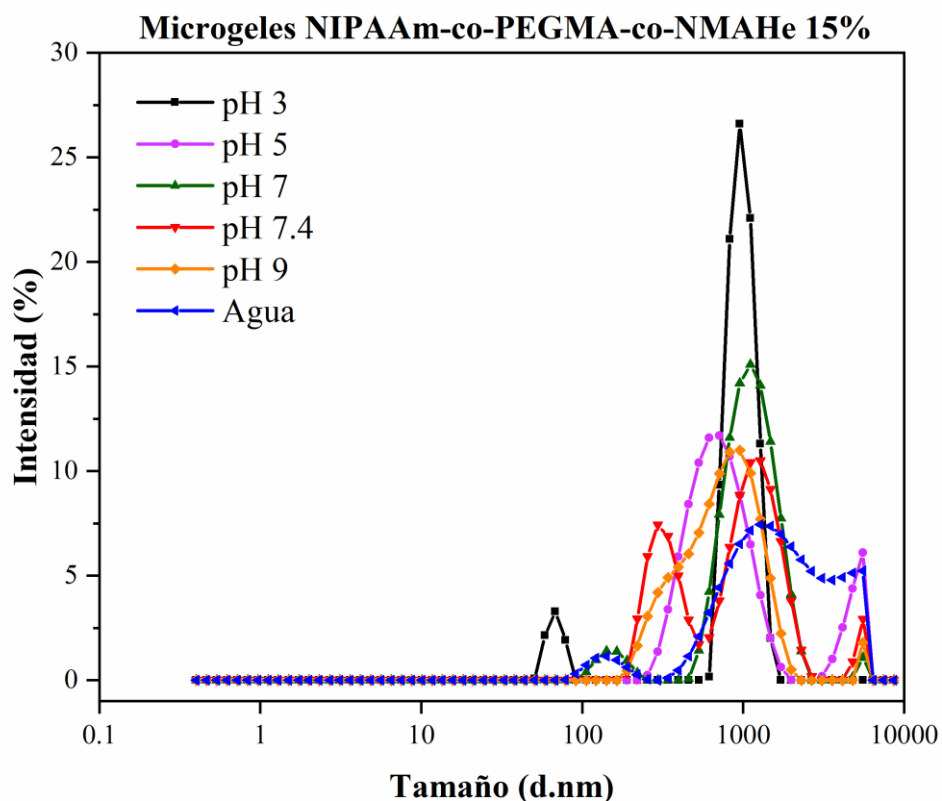
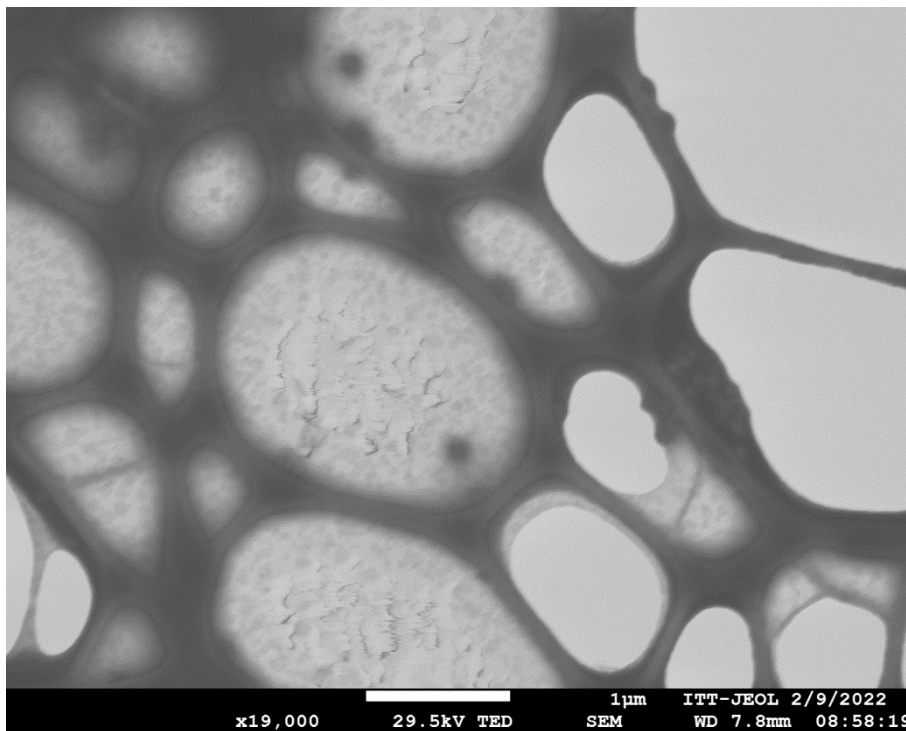


Figura 15. Distribución de tamaño a 25 °C de microgeles de NIPAAm:PEGMA (70:30) copolimerizados con 15% mol de NMAHe en agua como medio de dispersión y a distintos pH (3, 5, 7, 7.4 y 9).

Tabla 5. Potencial Z de microgeles NIPAAm:PEGMA (70:30) copolimerizados con distintos porcentajes de NMAHe (5%, 10% y 15%) en agua como medio de dispersión y a distintos pH (3, 5, 7, 7.4 y 9).

Contenido de NMAHe	5%		10%		15%	
	Crudo	Liofilizado	Crudo	Liofilizado	Crudo	Liofilizado
Agua	-4.43	-9.99	-8.00	-11.77	-5.48	-4.33
pH 3	-2.51	-3.32	-1.51	-3.52	-2.44	-2.7
pH 5	-3.65	-4.34	-3.5	-13.66	-7.61	-5.16
pH 7	-7.57	-7.32	-10.3	-12.3	-16.76	-16.46
pH 7.4	-5.25	-4.16	-7.63	-6.26	-	-11.43
pH 9	-6.12	-7.56	-8.06	-9.17	-10.14	-10.19

Para corroborar el tamaño de partícula de los microgeles se caracterizaron por TEM.



III.3.2 Tamaño de partícula respecto a la temperatura

La principal característica que vuelve relevantes a los microgeles conformados por N-isopropilacrilamida es su sensibilidad a la temperatura, presentando temperatura de transición abrupta cercana a los 32 °C. En la tabla 5 podemos observar a qué temperatura sucede el colapso del tamaño de partícula, es decir, la temperatura de transición; así como el efecto del monómero y el pH del medio de dispersión en la temperatura de transición.

Tabla 6. Temperatura de transición de microgeles NIPAAm:PEGMA (70:30) copolimerizados con distintos porcentajes de NMAHe (5%, 10% y 15%) en agua como medio de dispersión y a distintos pH (3, 5, 7, 7.4 y 9).

Contenido de NMAHe						
Medio de dispersión	5%		10%		15%	
	Crudo	Liofilizado	Crudo	Liofilizado	Crudo	Liofilizado
Agua	34	42	35	38	34	36
pH 3	38	38	38	36	38	*
pH 5	40	42	40	42	38	*
pH 7	48	34	38	40	38	*
pH 7.5	42	40	42	40	42	40
pH 9	38	42	*	42	38	*

* Formulaciones sin temperatura de transición definida.

III.3.4. Determinación del contenido de ácido

Con la titulación potenciométrica (**Anexo X**) se cuantificó la cantidad de monómero ácido fue cargada en el microgel, el cual corresponde al monómero NMAHe. En la tabla 6 podemos observar que los porcentajes reales obtenidos de monómero es más alta que el teórico, el cual podría deberse a una mayor interacción de NMAHe con alguno de nuestros comonómeros entre sí.

Tabla 7. Contenido real en porcentaje obtenido de monómero ácido respecto al esperado.

% NMAHe teórico	5%	10%	15%
% NMAHe obtenido	4.60%	10.54	16.87

III.3.5 Caracterización de microgeles de ácido metacrílico (AM)

Para comparar las ventajas que resultan de copolimerizar utilizando el monómero NMAHE respecto a un monómero ácido comercial se realizó la síntesis de microgeles de NIPAAm-co-PEGMA-co-AM, utilizando una proporción 10% mol de ácido metacrílico.

De los microgeles sintetizados se obtuvo el tamaño y potencial Z en medios de dispersión con pH distintos (Tabla 7), así como el contenido real de ácido metacrílico cargado resultando con 12%, en la figura 16 podemos observar la distribución de tamaño de los microgeles en los diferentes medios de dispersión.

Tabla 8. Tamaño, PDI, temperatura de transición y potencial Z de microgeles de NIPAAm:PEGMA (70:30) copolimerizados con 10% mol de AM. A 25 °C en agua como medio de dispersión y a distintos pH (3, 5, 7, 7.4 y 9).

Microgeles NIPAAm-co-PEGMA-co-Ac. Metacrílico 10%			
		Crudo	Liofilizado
Agua	Tamaño (d.nm)	438.5	533.1
	PDI	0.113	0.118
	T _{tr} (°C)	34	-
	Potencial Z (mV)	-	-31.37
pH 3	Tamaño (d.nm)	305	417.4
	PDI	0.137	0.282
	Potencial Z (mV)	-2.19	-2.93
pH 5	Tamaño (d.nm)	320	324.4
	PDI	0.133	0.128
	Potencial Z (mV)	-4.33	-4.87
pH 7	Tamaño (d.nm)	363.2	371.3
	PDI	0.105	0.16
	Potencial Z (mV)	-12.9	-11.97
pH 7.4	Tamaño (d.nm)	346.6	366.4
	PDI	0.141	0.135

	Potencial Z (mV)	-8.89	-6.60
	Tamaño (d.nm)	353.9	349.6
pH 9	PDI	0.143	0.131
	Potencial Z	-7.46	-8.25

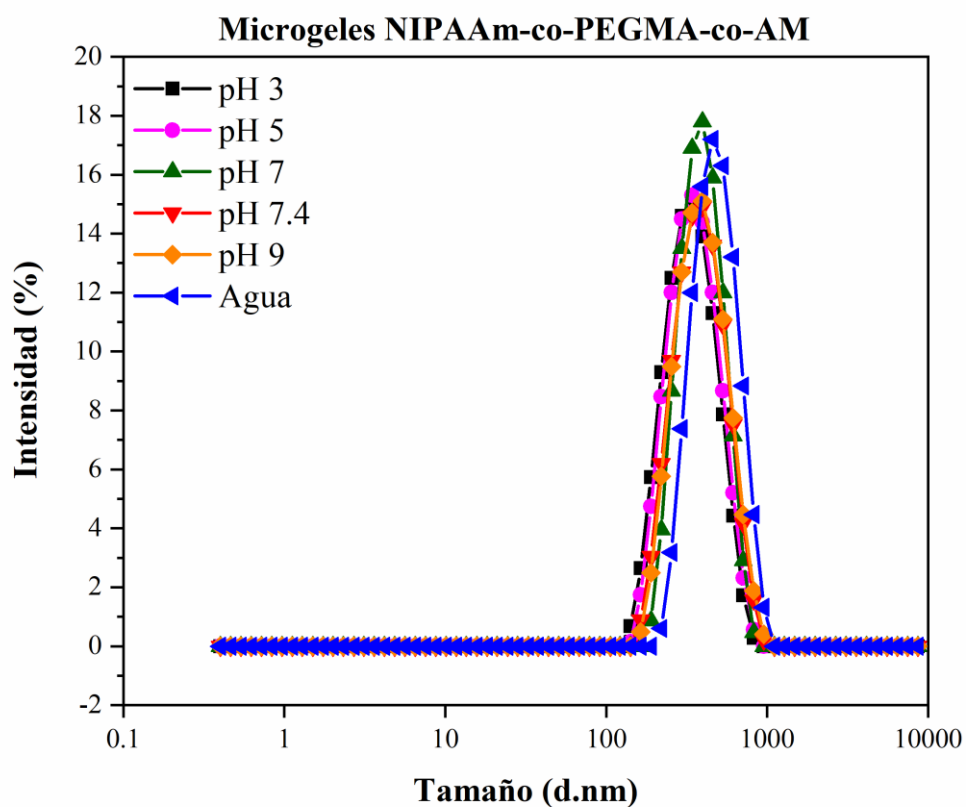


Figura 16. Distribución de tamaño a 25 °C de microgeles de NIPAAm:PEGMA (70:30) copolimerizados con 10% mol de AM en agua como medio de dispersión y a distintos pH (3, 5, 7, 7.4 y 9).

III.5 Cargado de Fármaco

Los microgeles cargados con doxorubicina recuperados por centrifugación para su posterior liofilizado, en las imágenes se puede observar el color rojo que se tornan los microgeles debido al color propio del fármaco, un punto a destacar es que las partículas se tornan moradas al alcalinizar el medio, en este caso sucedió al añadir NaOH en exceso para ionizar los grupos ácidos.



ImagenX. Microgeles cargados con doxorubicina

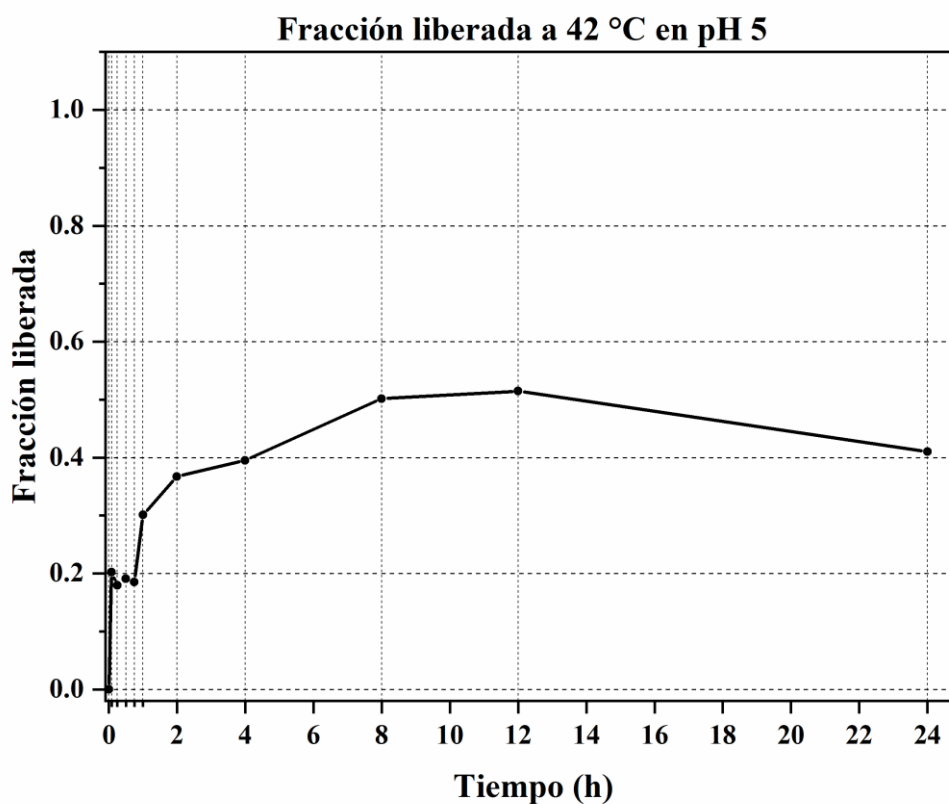


Imagen X. Microgeles cargados con Doxorubicina que fueron tratados con NaOH en exceso.

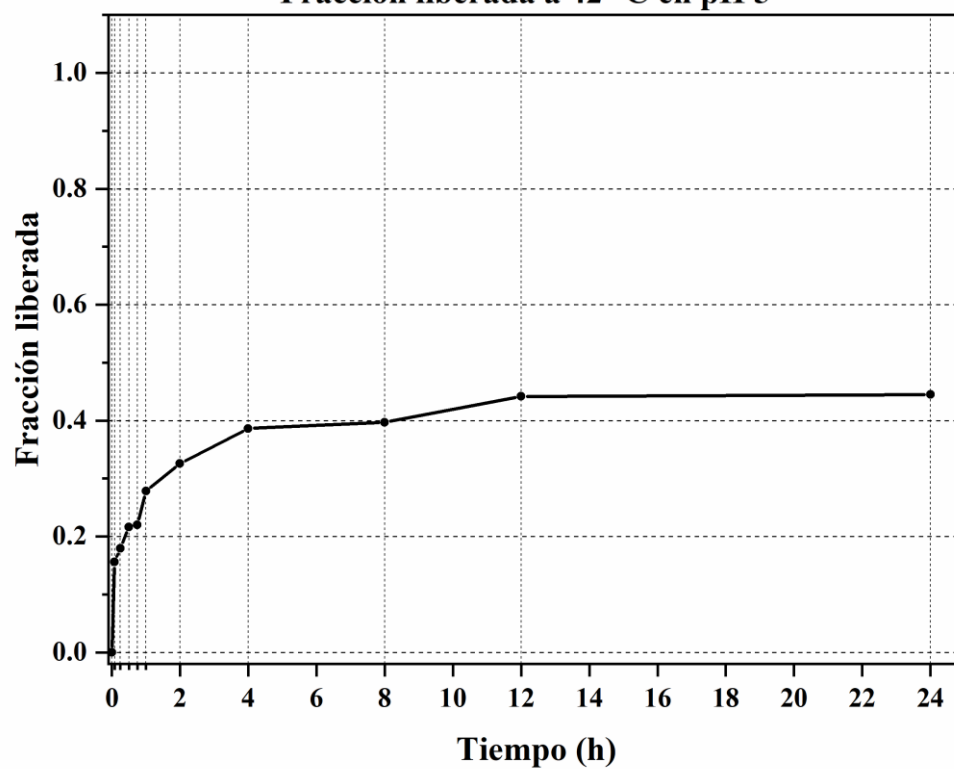
Se calculó la eficiencia de cargado de fármaco siguiendo la formula siguiente:

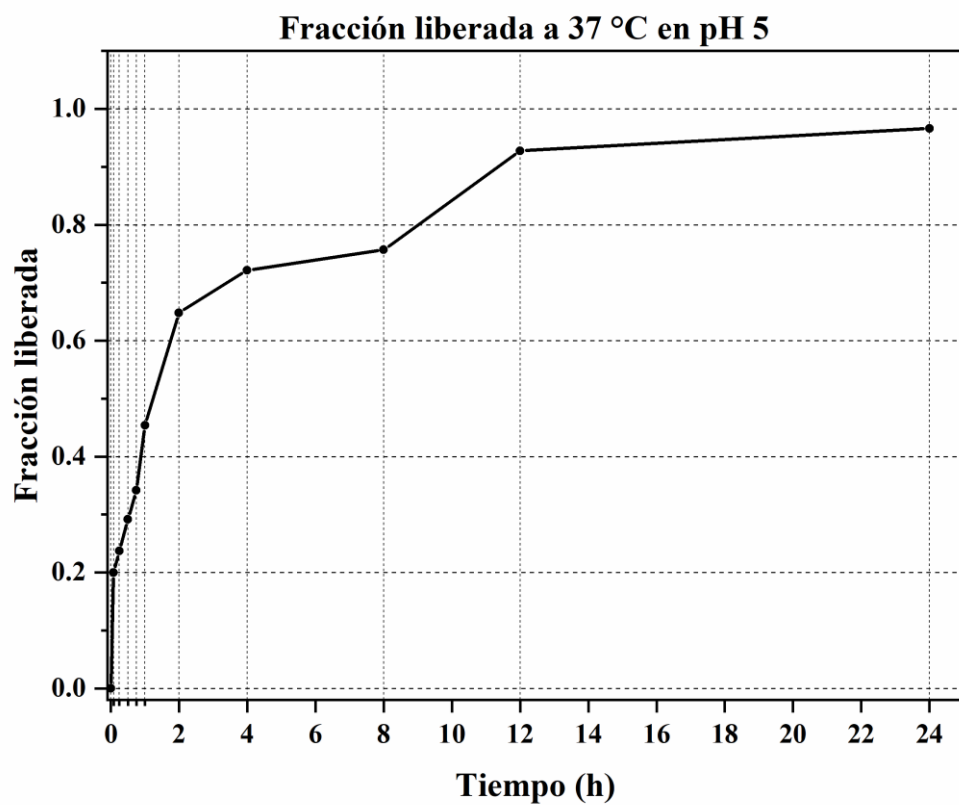
III.6 Estudio de liberación y cuantificación de fármaco

El estudio de liberación de fármaco antineoplásico se realizó variando las condiciones del medio de liberación, los nanogeles se pusieron en contacto con una solución de pH 5 y 7.4 a temperaturas de 37°C o 42°C. Las muestras obtenidas se cuantificaron por espectrofotometría UV-Vis a 390 nm, siendo esta la longitud de absorbanza máxima de la doxorubicina.

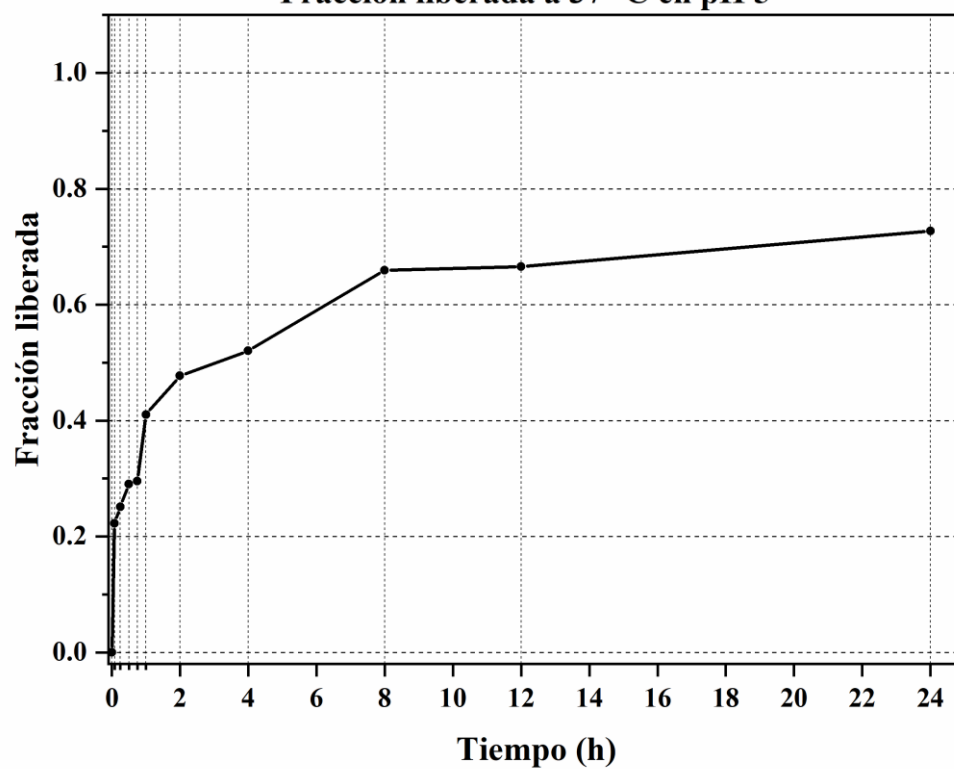


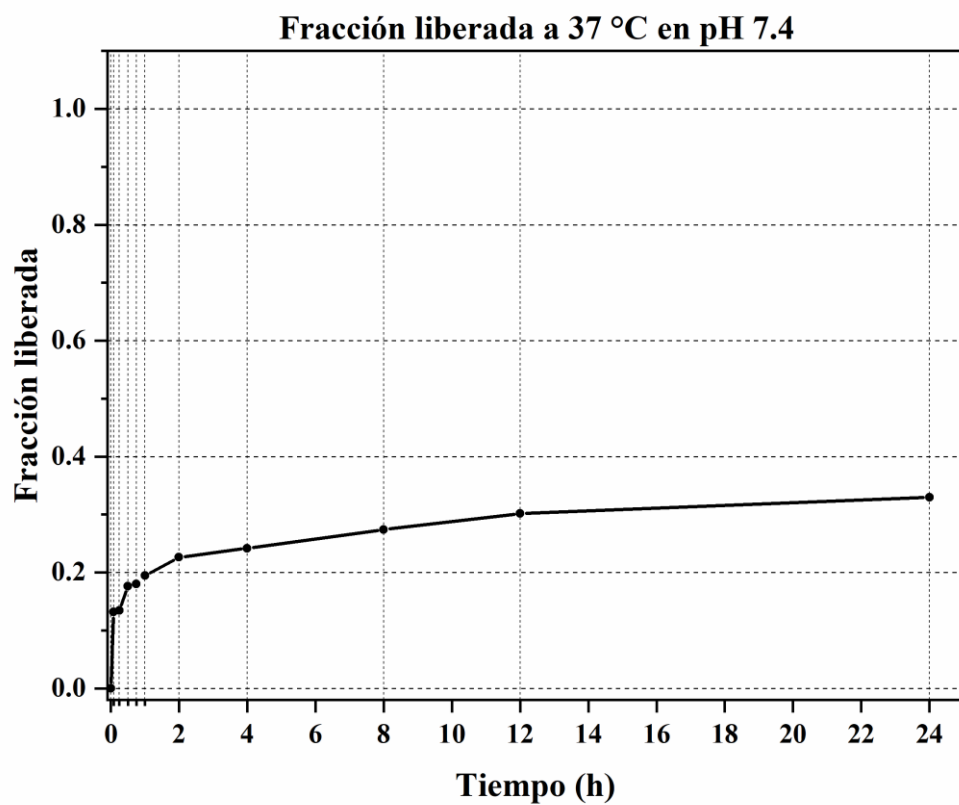
Fracción liberada a 42 °C en pH 5

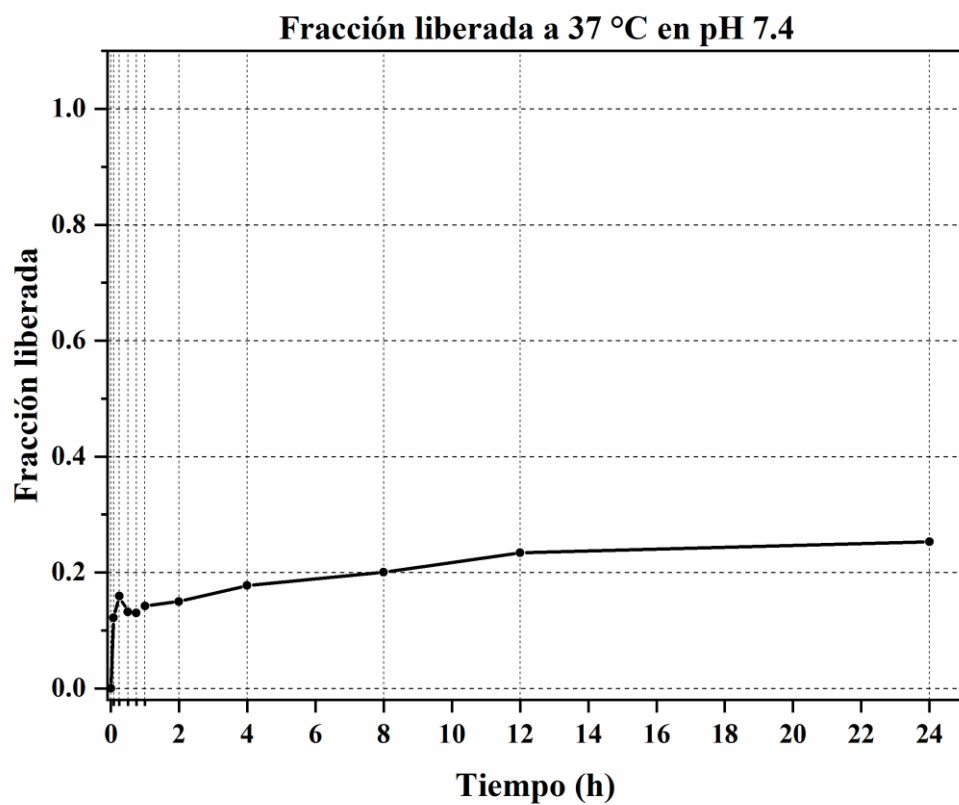


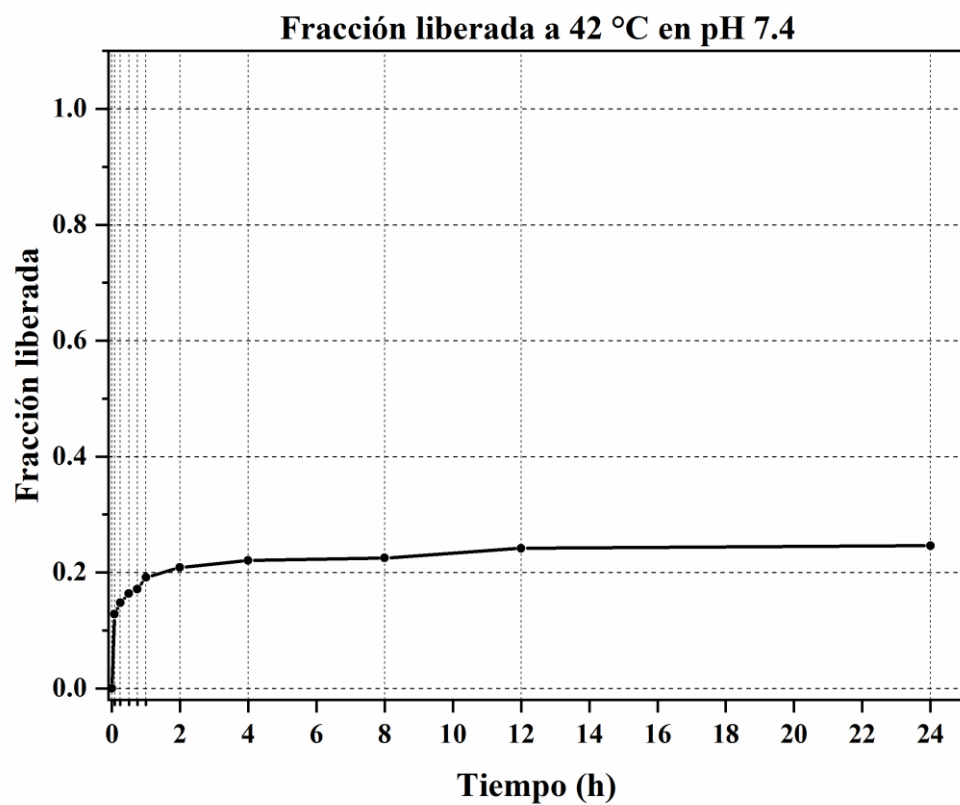


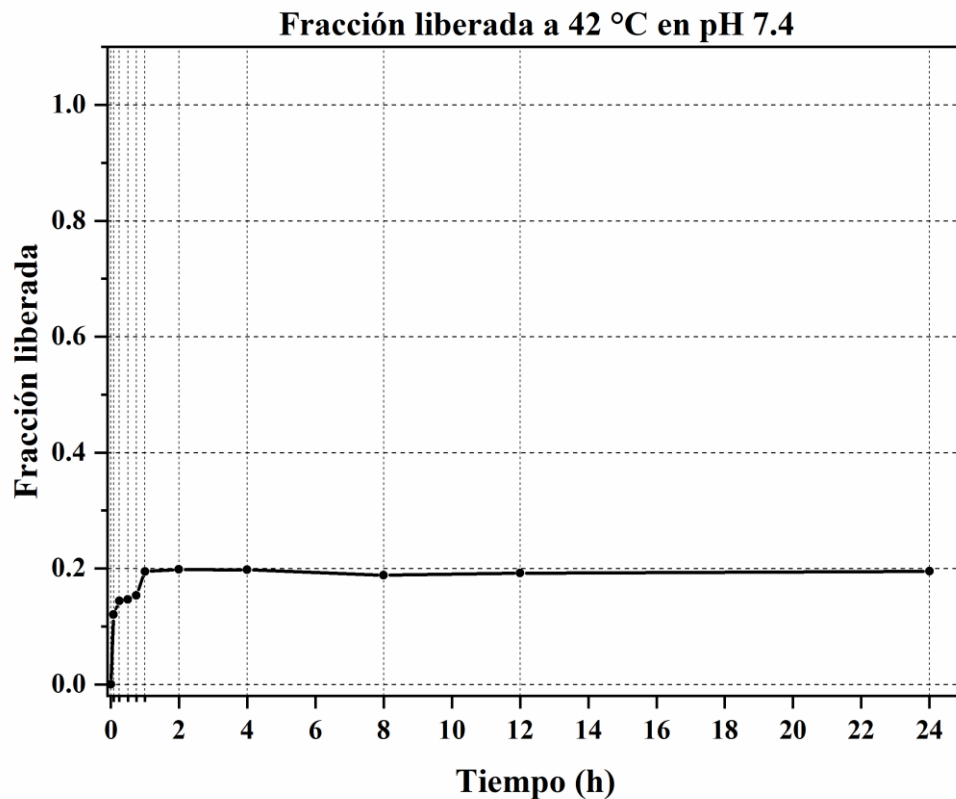
Fracción liberada a 37 °C en pH 5











Capítulo IV. Conclusiones

Capítulo V. Anexos

Capítulo VI. Referencias

Aguilar, M. E. (2007). Smart Polymers and Their applications as biomaterials. *Topics in Tissue Engineering, Vol. 3*, Chapter 6.

Alsehli, M. (2020). Polymeric nanocarriers as stimuli-responsive systems for targeted tumor (cancer) therapy: Recent advances in drug delivery. *Saudi pharmaceutical journal*, 255-265.

Aristil, C. P. (2013). *Manual de farmacología básica y clínica (6a. ed.)*. México: McGraw-Hill Interamericana.

Arredondo, A. L. (2009). Hidrogeles: Potenciales biomateriales para la liberación controlada de medicamentos. *Revista Ingeniería Biomédica*, 83-94.

- Benedi, J. G. (2006). Fármacos antineoplásicos. *Farmacia profesional*, 60-64.
- Benjamin N. Ho, C. M. (2017). Update on nanotechnology-based drug delivery systems in cancer treatment . *Anticancer research*, 5975-5981.
- Brodie, B. B. (1957). Some physico-chemical factors in drug action. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 345-380.
- Cho, K. W. (2008). Therapeutic Nanoparticles for Drug Delivery in Cancer. *Clinical cancer research*, 1309-1316.
- Donanld L. Pavia, G. M. (2001). *introduction to spectroscopy*. Washington: Thompson Learning .
- Drugbank*. (12 de mayo de 2020). Obtenido de <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00997>
- EdgarPérez-Herrero, & AlbertoFernández-Medarde. (2015). Advanced targeted therapies in cancer: Drug nanocarriers, the future of chemotherapy. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 52-79.
- Edwards, M. A. (2016). Doxorubicin induced heart failure: Phenotype and molecular mechanisms. *IJC Heart & Vasculature*, 17-24.
- Enas, M. (2013). Hydrogel: Preparation, characterization and applications. *Journal of advanced research*, 105-121.
- europa, C. (8 de julio de 2016). *Redultados de investigaciones de la union europea*. Obtenido de <https://cordis.europa.eu/article/id/151334-nanoparticles-in-the-fight-against-cancer/es>
- Feifei Peng, R. L. (2020). Potential drug delivery nanosystems for improving tumor penetration. *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics*, 220-238.
- Gennaro, A. R. (2003). *Remington Farmacia (Vol. 2)*. Medica Panamericana.
- GLOBOCAN. (12 de september de 2018). *The Union for International Cancer Control* . Obtenido de <https://www.uicc.org/news/new-global-cancer-data-globocan-2018#>
- Gonzalez. (2015). *nutrición y cáncer: lo que la ciencia nos enseña*. España: Medica panamericana S.A.
- Govind, S. K. (2014). Applications of nanoparticles in treatment and diagnosis of leukemia. *Materials Science and Engineering C*, 156-164.
- Guan, Y., & Zhang, Y. (2011). PNIPAM microgels for biomedical applications: from dispersed particles to 3D assemblies. *Soft Matter*, 6375–6384.
- Hardman, J. L. (1996). *the pharmaceutical basis of therapeutics*. Dallas: McGraw Hill.

- He, Q., Chen, J., Yan, J., Cai, S., Xiong, H., Liu, Y., . . . Liu, Z. (2020). Tumor microenvironment responsive drug delivery systems. *asian journal of pharmaceutical sciences*, 416-448.
- Hernández, G. M. (2010). *Tratado de medicina farmacéutica*. Madrid: Ed. Medica Panamericana.
- Kalyane, D., Raval, N., Maheshwari, R., Tambe, V., & Tekade, K. K. (2019). Employment of enhanced permeability and retention effect (EPR): Nanoparticle-based precision tools for targeting of therapeutic and diagnostic agent in cancer. *Materials Science & Engineering C*, 1252-1276.
- Kopeček, J. (2007). Hydrogel biomaterials: A smart future? 5185-5192.
- 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.
- M. Zhang, X. G. (2020). Tumor microenvironment-induced structure changing drug/gene delivery system for overcoming delivery-associated challenges. *Journal of controlled release*, 203-224.
- Magaña, H., Cornejo-Bravo, J. M., Cordova-Guerrero, I., Serrano-Medina, & Palomino, A. &. (2017). pH-dependent release of antihypertensives from complexes with poly(carboxyalkyl methacrylamides). *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 508-515.
- Martínez, G. P. (2010). Estrategias para el transporte de fármacos basadas en el efecto de permeación y retención aumentada . *ARS Pharmaceutica* , 113-116.
- Masood, F. (2015). Polymeric nanoparticles for targeted drug delivery system for cancer therapy. *Materials Science and Engineering C*, 569-578.
- Ministerio de sanidad y consumo. (2015). *Real farmacoepa española 5 ed*. Madrid.
- Nanthip Prathumsap, K. S. (2020). Effects of doxorubicin on the heart: From molecular mechanisms to intervention strategies. *European Journal of Pharmacology*.
- Patel, J. &. (2016). Artificial Neural Networking in Controlled Drug Delivery. *Artificial Neural Network for Drug Design, Delivery and Disposition*, 195-218.
- Qunye He, J. C. (2020). Tumor microenvironment responsive drug delivery systems. *Asian journal of pharmaceutical sciences*, 416-448.

- Ramos, A. P. (2017). Dynamic Light Scattering Applied to Nanoparticle Characterization. *Nanocharacterization Techniques In Micro and Nano Technologies*, 99-110.
- 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.
- Sáez, V. H. (2004). Mecanismo de liberación de fármacos desde materiales poliméricos . *Revista iberoamericana de polímeros*, 55-70.
- Sneha Iyer, A. D. (2020). Responsive nanogels for anti-cancer therapy. *Materials Today: Proceedings*.
- Stephens, M. R. (2009). *Estadística*. México, D.F.: Mc Graw Hill.
- Vargas, P. A. (2015). *Liberación y absorción de fármacos. Manual de conocimientos básicos de farmacología*. México.
- Whitesid, T. (2008). The tumor microenvironment and its role in promoting tumor growth. *Oncogene*, 5904–5912.
- Wininger Stephen, S. F. (1998). *Química orgánica* . Barcelona: Editorial Reverté.