



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍAS

**Liberación sostenida de ácido salicílico a partir de
hidrogeles del ácido 2-metacriloiloxibenzoico**

T E S I S

Para obtener el título de

Químico Farmacobiólogo

Por

ÁNGEL DAVID MEDINA ESPINOZA

Director de tesis

Dr. Héctor Alfonso Magaña Badilla

Co-Director de tesis

Dr. José Manuel Cornejo Bravo

Tijuana, Baja California

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA

FOLIO No. 046

Tijuana, Baja California, a 26 de agosto de 2020

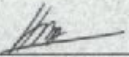
C. Angel David Medina Espinoza
Pasante de Químico Farmacobiólogo
Presente:

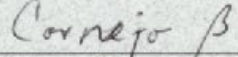
El tema de trabajo y/o tesis para su examen profesional, en la
opción de Tesis

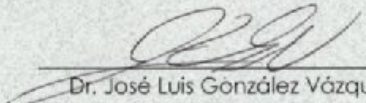
Es propuesto, por el Dr. Héctor Alfonso Magaña Badilla y el Dr. José Manuel Cornejo Bravo
quienes serán los responsables de la calidad del trabajo que usted presente, referido al tema
"Liberación sostenida de ácido salicílico a partir de hidrogeles del poli (ácido metacrilóiloxi-0-
benzoico)" el cual deberá usted desarrollar, de acuerdo con el siguiente orden:

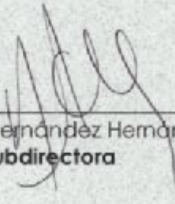
- I.- RESUMEN
- II. INTRODUCCIÓN
- III. PARTE EXPERIMENTAL
- IV. DISCUSIÓN Y RESULTADOS
- V. CONCLUSIONES
- VI. REFERENCIAS
- VII. ANEXOS




Dr. Héctor Alfonso Magaña Badilla
Director de Tesis


Dr. José Manuel Cornejo Bravo
Co- Director de Tesis


Dr. José Luis González Vázquez
Director


Q. Noemi Hernández Hernández
Subdirectora

ÍNDICE

CONTENIDO	Página
Agradecimientos	6
Índice	2
Lista de figuras	5
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN.	
I.1 Antecedentes	9
I.2 Hipótesis	10
I.3 Justificación	11
I.4 Objetivos generales	11
I.5 Objetivos específicos	12
I.6 Marco teórico	12
I.6.1. Monómero	12
I.6.2. Polímero	13
I.6.3. Polímero profármaco	14
I.6.4. Hidrogeles	16
I.6.5. Tipos de liberación	19
CAPÍTULO II. EXPERIMENTAL.	
II.1. Equipos y Reactivos	22
II.2. Síntesis del monómero ácido 2-metacrililoioxibenzoico	24
II.3. Técnicas de caracterización del monómero	25
II.3.1. Cromatografía de capa fina	25
II.3.2. Espectrofotometría de infrarrojo con reflectancia total atenuada (FTIR-ATR)	25
II.4. Preparación de hidrogeles de ácido 2-metacrililoioxibenzoico (MAOB)	
II.4.1. Preparación de hidrogeles entre placas de vidrio	26
II.5. Estudio de hinchamiento de hidrogeles	27
II.6. Experimentos de hinchamiento de hidrogeles	27
II.7. Estudio de hidrólisis – liberación de MAOB	28
II.7.1. Cromatografía de gases acoplada a espectrofotometría de masas	28
II.7.2. Cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR)	28
II.7.2.1. Preparación de fase móvil	29
II.7.2.2. Preparación de diluyente	29

II.7.2.3. Preparación de solución estándar de ácido salicílico a concentración nominal (32 µg/mL)	29
II.7.2.4. Preparación de muestra problema	30
II.7.2.5. Condiciones de corrida	30
CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIONES	
III.1. Síntesis de monómero ácido 2-metacrililoiloxibenzoico	31
III.2. Caracterización del monómero ácido 2-metacrililoiloxibenzoico	31
III.2.1. Cromatografía de capa fina	31
III.2.2. Espectrofotometría de infrarrojo con reflectancia total atenuada (FTIR-ATR)	32
III.3. Síntesis de hidrogeles a partir del monómero ácido 2-metacrililoiloxibenzoico	34
III.4. Caracterización de los hidrogeles	34
III.4.1. Espectrofotometría de infrarrojo con reflectancia total atenuada (FTIR-ATR)	34
III.5. Comparación de espectros entre el monómero de MAOB e hidrogeles sintetizados	35
III.6. Experimentos de hinchamiento de hidrogeles	37
III.7. Cromatografía de líquidos de alta resolución	39
III.8. Cromatografía de gases acoplado a espectrofotometría de masas	40
III.9. Estudio de Hidrólisis – Liberación	41
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES	44
ANEXOS	46
REFERENCIAS	47

LISTA DE FIGURAS

	Página
1. Tipos de estructuras presentes en los polímeros.	14
2. Ejemplos de profármacos descubiertos.	15
3. Activación de Omeprazol en el medio ácido del estómago.	16
4. Diferencias entre un entrecruzamiento químico y físico.	17
5. Diferencias de estructura conforme al tamaño del hidrogel.	18
6. Representación de un gel sometido a un estímulo.	18
7. Síntesis de ácido 2-metacrililoiloxibenzoico.	24
8. Proceso de generación de hidrogel en placas de vidrio.	27
9. Resultado obtenido de la cromatografía en capa fina.	31
10. Espectro de infrarrojo de Monómero MAOB.	33
11. Espectro de infrarrojo del hidrogel.	35
12. Espectro de infrarrojo comparativo de monómero de MAOB e hidrogel.	36
13. Gráfico comparativo de % de hinchamiento con respecto al tiempo a diferentes pH's.	38
14. Cromatograma de estándar de referencia de ácido salicílico.	39
15. Cromatograma de hidrogel después de estudio de hidrolisis – liberación.	40
16. Espectro de masas de ácido salicílico obtenido a partir del medio de liberación.	40
17. Gráfico comparativo de liberación de ácido salicílico en los diferentes pH's.	42
18. Apariencia inicial del hidrogel antes de iniciar el estudio.	43
19. Apariencia del hidrogel después de 48 horas de estudio a pH 1.2.	43
20. Apariencia del hidrogel después de 48 horas de estudio a pH 6.8.	43
21. Apariencia del hidrogel después de 48 horas de estudio a pH 7.4.	44
22. Curva de Calibración pH 1.2.	46
23. Curva de Calibración pH 6.8.	46
24. Curva de Calibración pH 7.4.	46

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

Quiero hacer un especial y afectuoso agradecimiento a mis padres Miguel y Guillermina, los cuales nunca dejaron de luchar y esforzarse por verme terminar mi carrera universitaria, por todo el apoyo que siempre recibí, no solo económico sino también por todos esos valores, enseñanzas y consejos que me han brindado todos estos años, por ser unos excelentes padres y buscar por diferentes medios lo mejor para mis hermanos y para mí, por siempre guiarme por un camino de bien a pesar de todas las dificultades que tuvimos que enfrentar, y lo más importante por siempre darme su amor y confianza incondicional, que siempre fue y será mi motivación más grande ya que sin la ayuda de ellos no hubiera logrado esta meta. A mis hermanos Jesús y Yareli, quienes siempre han sido mis compañeros y amigos desde que tengo memoria, les agradezco todo ese cariño que siempre me han demostrado, siempre estaremos juntos para seguir afrontando todos los retos que se nos pongan enfrente.

A Hatziri Peña quien es una persona fundamental para mí, ya que siempre me ha apoyado para seguir adelante, por estar siempre conmigo en los momentos más difíciles, motivándome a ser una mejor persona tanto profesional como humana, le agradezco todos esos consejos que me da día a día, por darme esa confianza y creer siempre que puedo llegar muy lejos profesionalmente, y sobre todo el amor que ha brindado estos años. Además de acompañarme y ayudarme incondicionalmente en todo momento dentro y fuera del laboratorio.

A mis compañeros de universidad con los cuales viví experiencias buenas y malas, les agradezco el cariño que me demostraron estos cuatro años de carrera, por todos esos momentos felices que pasamos juntos, por su compañía, confianza y apoyo.

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

A la Universidad Autónoma de Baja California y a la Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería de la UABC, por siempre brindarme su apoyo para la realización y culminación de mi licenciatura durante estos años.

Agradezco al Dr. José Manuel Cornejo Bravo por darme la oportunidad de trabajar y formar parte del laboratorio de Biofarmacia, por todo el apoyo y confianza depositada en mí, además de fomentar y compartir su entusiasmo por la investigación científica.

Agradezco al Dr. Hector Alfonso Magaña Badilla por aceptarme como parte de su grupo de trabajo, por compartir su experiencia y conocimiento en el área de investigación, por haberme motivado en todo momento para llevar a cabo el presente trabajo, por darme esa confianza desde el inicio, por todos sus consejos y enseñanzas, por todo su apoyo, comprensión y paciencia durante este tiempo.

Agradezco a la Dra. Kenia Palomino Vizcaino por compartir su amplio conocimiento en la generación de hidrogeles, por sus consejos, por su apoyo y disposición para desarrollar y culminar este trabajo.

Agradezco a la Dra. Aracely Serrano Medina por sus sugerencias, aportaciones y comentarios, en la revisión del documento final de tesis.

AGRADECIMIENTO CONACYT

Se agradece al proyecto N. A1-S-29189, titulado “Evaluación de la Actividad Citotóxica de los Beta Bloqueadores en líneas Celulares derivadas de Tumores y Leucemias”, el cual funge como plataforma para la incorporación en estudios de maestría.

RESUMEN

El presente trabajo de tesis incluye la preparación de hidrogeles profármacos a partir de un monómero de ácido salicílico, con el fin de estudiar su comportamiento al someterlo a estímulos fisiológicos de pH y temperatura, e investigar su aplicación en estudios *in vitro*. Se realizó la síntesis y caracterización del monómero por cromatografía de capa de fina y FTIR-ATR a partir de ácido salicílico y 4-dimetillaminopiridina (DMAP) a través de un proceso de esterificación. Se prepararon hidrogeles en forma de lámina con ayuda de placas de vidrio con espaciadores de plástico, mediante polimerización en disolución vía radicales libres en condiciones anhidras bajo condiciones de atmosfera inerte de nitrógeno, utilizando como agente entrecruzante dimetacrilato de etilenglicol (EGDMA), azobisisobutinitrilo (AIBN) como iniciador y como disolvente se utilizó dimetil sulfóxido (DMSO). Se estudió el grado de hinchamiento del hidrogel con respecto al pH (1.2, 6.8, 7.4), obteniéndose el grado de hinchamiento por medio de cálculo gravimétrico cuyos resultados muestran que los hidrogeles son más sensibles a pH's más altos (6.8 y 7.4) en ambos pH's se presenta una fase de transición de hinchamiento, mientras que a pH 1.2 no se presenta dicha fase. Se realizó estudio de hidrolisis – liberación *in vitro*, se evaluó la cinética de liberación durante 48 horas en tres pH's (1.2, 6.8, 7.4), a pH 1.2 se obtuvo una fracción libre del 4%, mientras que a pH 6.8 y 7.4 se observa una fracción libre de ácido salicílico de 70%, demostrando que el hidrogel presenta una mayor sensibilidad a pH más alcalino como en la prueba de hinchamiento. Se realizó una cromatografía de gases acoplada a masas, en la cual se logró detectar el ion molecular del ácido salicílico, esto como prueba confirmatoria de lo que se libera en el medio de estudio de hidrolisis – liberación es ácido salicílico. Adicionalmente se realizó un estudio de cromatografía de Líquidos de Alta Resolución en la cual se comparó una muestra con un estándar de referencia de ácido salicílico, esto con fines cualitativos y complementarios para una detección correcta del fármaco.

CAPITULO I. INTRODUCCIÓN

I.1 ANTECEDENTES

Durante años se han utilizado diversos medicamentos (fármacos) para el tratamiento de enfermedades, se han estudiado y diseñado diversas vías de administración, esto con el fin de prolongar, potenciar o acortar la liberación del fármaco en sitio idóneo, la vía principal y mayormente conocida es la vía enteral (oral), dicha vía presenta ciertos beneficios de los cuales destaca su fácil administración, que en algunos casos suele ser la preferida por los pacientes. A raíz de ello se han desarrollado distintas formas farmacéuticas las cuales se puedan utilizar por dicha vía, abarcando desde tabletas, comprimidos, cápsulas, polvos y jarabes, pero estas formas farmacéuticas conllevan varios inconvenientes como los son el poco control de fármaco a nivel plasmático, derivado del trayecto que sufre el medicamento por toda la vía intestinal, además de no poder controlar su degradación y posteriormente su liberación en el lugar indicado o donde mejor se absorbe el fármaco en cuestión.^{[1][2]}

La investigación a nivel farmacéutico se ha inclinado por desarrollar nuevas variantes en la liberación de fármacos buscando la manera de controlar y dirigir su liberación a sitios específicos de acción, ya sea en su forma farmacéutica o el mecanismo de acción por el cual se liberara, esto con el fin de mejorar su eficacia, aumentar los niveles de fármaco en sangre, reducir las dosis y el tiempo de uso del medicamento, además de brindar nuevas alternativas y lograr hacer sentir más cómodo al paciente al momento de seguir un tratamiento farmacológico. ^{[1][3]}

En los últimos años se han estudiado diversos sistemas de liberación controlada de fármacos, de los cuales destacan el diseño y síntesis de materiales inteligentes, denominados así por su capacidad de responder ante cambios externos, estos presentan cambios a nivel físico y/o químico en respuesta a condiciones fisiológicas, generando una gran expectativa para una posible implementación en sistemas farmacológicos de liberación controlada. ^{[2][3]}

Uno de los principales materiales inteligentes que ha generado una alta expectativa es la síntesis de polímeros, debido a que estos presentan características ideales para

una mejor liberación de fármacos. Desde el siglo XX se ha estudiado la funcionalidad que podrían presentar algunos polímeros, ya que presentan la capacidad de responder a estímulos externos, indicando que la utilización de estructuras poliméricas como sistema inteligente de liberación de fármaco es factible. Más sin embargo se han encontrado ciertas limitaciones, ya que algunos de los polímeros estudiados resultan ser tóxicos para las células, haciendo imposible la utilización de algunos de ellos. A raíz de ello se empezó a sintetizar polímeros biodegradables los cuales presentan las mismas características en cuanto a respuesta a estímulos externos, pero con la diferencia de no presentar toxicidad ante las células humanas, haciendo de estos un material ideal para el diseño y desarrollo de sistemas factibles de liberación de fármacos. [7]

Dentro de los materiales poliméricos se encuentran los hidrogeles, estos han sido ampliamente estudiados en los últimos años, ya que presentan todas las características ideales para fungir como una matriz que ayude en el transportarte de algún fármaco, además de que pueden presentar diversos tipos liberación y se pueden dirigir fácilmente hacia un lugar específico. [6][7]

I.2 HIPÓTESIS

Sintetizar y desarrollar hidrogeles a partir del monómero ácido 2-metacrililoiloxibenzoico, que posean la capacidad de fungir como una matriz con respuesta a estímulos fisiológicos (pH y temperatura), para el cargado y liberación de ácido salicílico, que podría brindar una alternativa en la industria farmacéutica como sistema inteligente.

I.3 JUSTIFICACIÓN

En el laboratorio de Biofarmacia de la Facultad de Ciencias Químicas e Ingenierías de la Universidad Autónoma de Baja California, se realizan investigaciones sobre nuevas alternativas en la administración y/o liberación de fármacos, mediante la síntesis de materiales poliméricos derivados de monómeros, los cuales puedan fungir como un polímero profármaco que ayude en el proceso de transporte, absorción y liberación de fármacos, y que a su vez posean características idóneas para generar un sistema dirigido y así facilitar su absorción a niveles plasmáticos de diversos fármacos.

El presente trabajo está dirigido a la síntesis de monómero derivado de ácido salicílico, su posterior polimerización y entrecruzamiento para la obtención de hidrogeles con respuesta a estímulos fisiológicos como pH y temperatura, así como su estudio de hinchamiento a diferentes pH's y estudios de hidrólisis – liberación *in vitro*, para una posterior cuantificación a través de espectrofotometría de UV – Vis.

El desarrollo de estos materiales poliméricos, así como su estudio e interpretación de sus propiedades, permitirán ampliar el conocimiento sobre estos tipos de material, además de brindar posibles alternativas en el desarrollo de nuevos sistemas de liberación y nuevas formas farmacéuticas.

I.4 OBJETIVOS GENERALES

Sintetizar y caracterizar, un nuevo hidrogel sensible al estímulos del pH, a partir de un monómero tipo metacrílamida, derivado de ácido salicílico

Estudiar las propiedades de hinchamiento del hidrogel, mediante experimentos de variación de pH, además estudiar la hidrólisis – liberación *in vitro* bajo condiciones fisiológicas de pH y temperatura.

1.5 OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Sintetizar y purificar el ácido 2-metacrililoiloxibenzoico (MAOB)
2. Caracterizar el monómero sintetizado a través de cromatografía de capa fina y espectrofotometría de infrarrojo con reflectancia total atenuada (FTIR-ATR).
3. Sintetizar el hidrogel a partir del monómero de MAOB mediante disolución vía radicales libres, en forma de lámina en placas de vidrio.
4. Caracterizar el hidrogel sintetizado mediante espectrofotometría de infrarrojo con reflectancia total atenuada (FTIR-ATR).
5. Estudiar el comportamiento de hinchamiento del hidrogel con respecto a las variaciones de pH.
6. Realizar estudios de hidrolisis – liberación *in vitro* en condiciones fisiológicas de pH y temperatura simuladas, por espectrofotometría ultravioleta-visible (UV-Vis), cromatografía de gases acoplado a espectrómetro de masas (CG-MS) y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

I.6 MARCO TEÓRICO

II.6.1. Monómero

Un monómero se define como una molécula de baja masa molecular que tiene la facilidad de unirse a otros monómeros por medio de enlaces químicos (enlaces covalentes), para dar lugar a moléculas de mayor tamaño denominadas polímeros. El proceso por el cual un monómero se une para generar un polímero se denomina polimerización.^[8]

Los monómeros se pueden clasificar de diferentes maneras, estas van a depender del tipo de polímero que pueden formar, sin embargo, en general los monómeros se clasifican en dos grandes grupos, monómeros naturales y monómeros sintéticos. Como su nombre lo dice, los monómeros naturales son todos aquellos que se encuentran en la naturaleza y no necesitan un proceso químico para generarlos, algunos de los monómeros naturales más conocidos son la glucosa, el almidón y la celulosa, dentro de esta clasificación están los aminoácidos (monómeros de las proteínas), nucleótidos (monómeros de los ácidos nucleicos), monosacáridos

(monómeros de los polisacáridos), entre otros. Por su parte los monómeros sintéticos son aquellos que se obtienen mediante reacciones químicas, algunos de los monómeros sintéticos más conocidos son el eteno, cloruro de vinilo, acrilamida y el polietileno.^{[8][9]}

II.6.2. Polímero

Un polímero se define como una macromolécula formada a partir de la una unión repetida de una o varias moléculas por enlaces covalentes denominadas monómeros. Los polímeros tienen una gran importancia en la industria moderna, ya que son ampliamente utilizados, desde generar utensilios domésticos hasta generar prótesis del cuerpo humano. El crecimiento de un polímero puede tener lugar mediante adiciones constantes, unidad a unidad de moléculas de monómero en un proceso de crecimiento de cadena. ^{[9][11]}

Los polímeros pueden clasificarse de muchas maneras, dentro de las cuales al igual que los monómeros se clasifican en naturales y sintéticos. Los polímeros naturales son todos aquellos que son generados por organismos vivos sin sufrir alguna modificación, como las proteínas utilizadas por las arañas para tejer su telaraña, los polisacáridos y el caucho natural. Por otra parte, los sintéticos son todos aquellos obtenidos mediante la inducción química en ambientes controlados para generar una cadena larga de monómeros. También pueden clasificarse conforme a su estructura, las tres principales son estructura lineal (se repite el mismo tipo de unión), ramificada (presencia de cadenas laterales unida a la principal) y entrecruzada (unión de dos cadenas vecinas mediante un tipo de enlace) (**Figura 1**). ^{[9][11]}

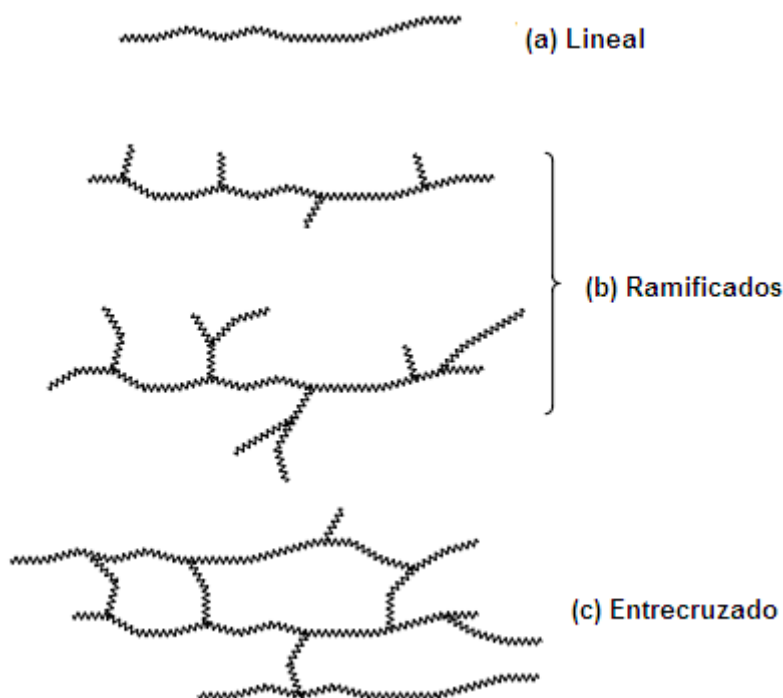


Figura 1. Tipos de estructuras presentes en los polímeros.

Para la generación de polímeros sintéticos se llevan a cabo dos tipos de reacciones principales, la primera de ellas es la polimerización por crecimiento de la cadena, en este tipo de polimerización se forma un intermediario que reacciona rápidamente con una molécula de monómero dando un nuevo intermediario que a su vez reacciona con una nueva molécula de monómero. Al crearse un nuevo centro reactivo en el extremo de la cadena del polímero, la reacción continua por si misma hasta la consumición de todas las moléculas del monómero o hasta la destrucción del intermediario por alguna reacción de finalización. Las reacciones de este tipo de este tipo a menudo transcurren a través de radicales, pero en ciertas condiciones también es posible que se den reacciones en cadenas con intermediarios catiónicos o aniónicos. El otro tipo de polimerización se llama reacción de crecimiento por etapas, en este tipo de reacciones, las unidades de monómero contienen los grupos funcionales que son capaces de reaccionar entre sí sin la formación de algún intermediario, estas reacciones son más lentas y la generación de centros reactivos están distribuidos aleatoriamente a diferencia de la polimerización por crecimiento de la cadena que si centro reactivo se da al extremo de la cadena. [11]

II.6.3. Polímero profármaco

El término profármaco fue descrito por primera vez en 1958 por Adrian Albert el cual lo define como un “producto inactivo que puede convertirse en activo mediante una reacción metabólica”, esta definición en términos farmacológicos se puede entender que los profármacos son agentes terapéuticos que no presentan alguna actividad farmacológica en su estado normal, pero al estar en contacto con un estímulo estos se transforman desencadenando un efecto farmacológico (**Figura 2**). ^{[12][13]}

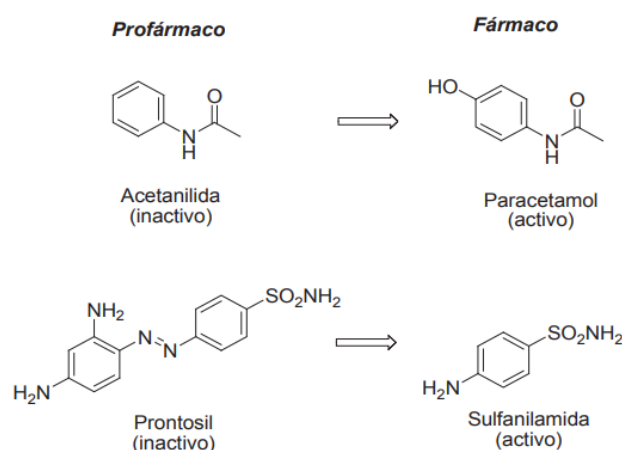


Figura 2. Ejemplos de profármacos descubiertos.

Los profármacos pueden clasificarse en dos principales tipos, uno de ellos son profármacos unidos a un transportador, estos resultan de la unión de un fármaco a un transportador (generalmente de naturaleza lipófila), que a su vez debe de cumplir con ciertos requisitos para que sean efectivos los cuales son ^[12]:

- La unión entre el fármaco y el transportador debe estar dada mediante un enlace covalente.
- El profármaco diseñado no debe presentar actividad farmacológica.
- El enlace deberá romperse una vez que esté dentro del organismo.
- El profármaco no presentara toxicidad.
- La liberación del fármaco deberá ser rápida en el lugar de acción para evitar algún metabolismo alterno.

El otro tipo de profármaco es profármacos bioprecusores, son aquellos que resultan de la modificación de la estructura molecular del fármaco y necesitan de una activación metabólica por parte del organismo (oxidación o reducción) para generar el principio activo (**Figura 3**).^[12]

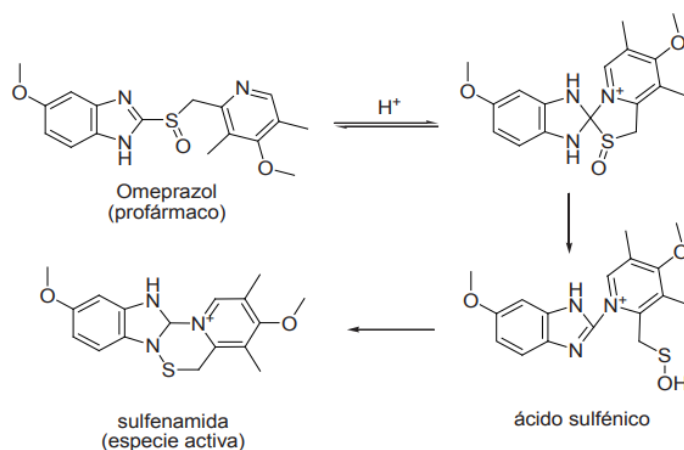


Figura 3. Activación de omeprazol en el medio ácido del estómago.

Tomando en cuenta los conceptos ya descritos anteriormente, se puede definir un polímero profármaco como un material con propiedades poliméricas capaz de fungir como una matriz transportadora de fármacos, que al entrar en contacto con un estímulo fisiológico liberara el fármaco en el sitio de acción ideal, facilitando así su proceso de acción y absorción.^{[13][14]}

II.6.4. Hidrogeles

Dentro de los materiales poliméricos, uno de los más estudiados han sido los hidrogeles o geles, estos son redes tridimensionales reticuladas producidas por una reacción de uno o más monómeros o mediante la asociación de polímeros a través de interacciones electrostáticas o puentes de hidrogeno. Los polímeros formadores de hidrogeles normalmente presentan grupos hidrofílicos tales como: $-OH$, $-COOH$, NH_2 , $-CONH_2$, $-CONH-$, $-SO_3H$.^[14,20]

Los hidrogeles pueden clasificarse de diferentes maneras, una de las clasificaciones más conocida es por el tipo de enlace que presenta, ya que de este dependerá el mantener la estructura de la red tridimensional y prevenir la disolución de las cadenas hidrofílicas. Existen dos categorías en las cuales se pueden clasificar según su tipo de enlace, los hidrogeles físicamente entrecruzados y los hidrogeles químicamente entrecruzados. [14][15]

a) Hidrogeles físicamente entrecruzados: Este tipo de hidrogeles experimentan una transición de su estructura tridimensional estable a una solución de polímero. Los enlaces entrecruzados se forman a partir de fuerzas de atracción no covalentes entre las cadenas poliméricas. Estas fuerzas son a menudo puentes de hidrógeno, interacciones hidrófobas y electrostáticas.

b) Hidrogeles químicamente entrecruzados: Estos hidrogeles son generalmente más estables que los físicamente reticulados ya que su entrecruzamiento se forman por enlaces covalentes. El entrecruzamiento químico son estructuras permanentes, a menos que se introduzcan intencionalmente enlaces químicos lábiles (**Figura 4**).

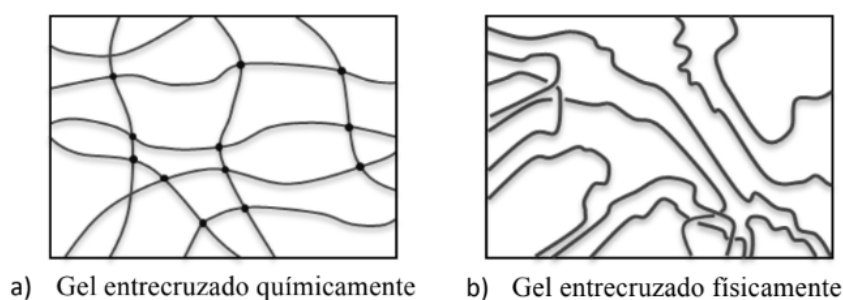


Figura 4. Diferencias entre un entrecruzamiento químico y físico.

Los hidrogeles también pueden ser clasificados como hidrogeles estímulo-sensibles y estímulo-no sensibles. Los hidrogeles estímulo-no sensibles, como su nombre lo indica, son materiales que no presentan algún tipo de estimulación, simplemente se hinchan por la absorción de agua. Por otra parte, los hidrogeles estímulo-sensibles han sido denominados materiales "inteligentes" porque ante la presencia de estímulos

fisiológicos o del medio ambiente, tales como: la temperatura, pH, fuerza iónica, luz, campo eléctrico, y biomoléculas responden cambiando su grado de hinchamiento (**Figura 5**). La respuesta de los hidrogeles dependerá del tipo de monómero o polímero utilizado al momento de sintetizarlo.^{[14][16]}

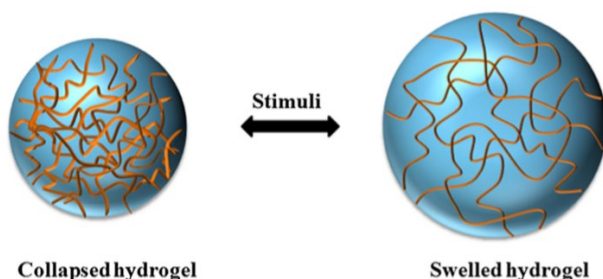


Figura 5. Representación de un gel sometido a un estímulo.

Otra manera de clasificar los hidrogeles es por el tipo de carga que puedan presentar, estos dependerán del grupo funcional que presenten en su cadena, pueden ser no iónicos, catiónicos, aniónicos y anfotéricos.^{[14][18]}

En los últimos años ha tomado relevancia la clasificación de los hidrogeles por su tamaño, estos pueden estar en forma de redes macroscópicas o confinados a dimensiones más pequeñas, tales como los microgeles o nanogeles. Estos dos últimos por lo general se definen como dispersiones acuosas de partículas o redes coloidales de tamaño micro o nanométrico. Los microgeles son en su mayoría partículas con diámetro medio comprendido entre 50 nm a 10 μm . Cuando el tamaño de los microgeles se encuentra en el rango submicrónico, se les conoce como nanogeles (**Figura 6**).^{[14][17]}

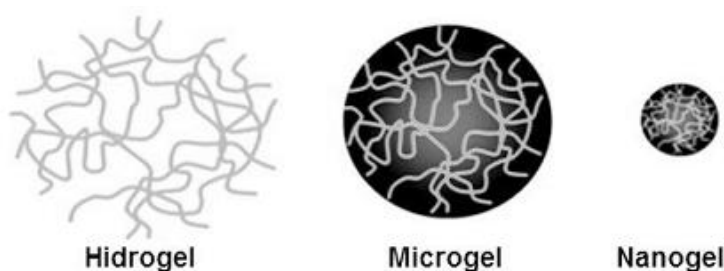


Figura 6. Diferencias de estructura conforme al tamaño del hidrogel.

II.6.5. Tipos de liberación

Desde la antigüedad la administración de fármacos ha necesitado de una elaboración compleja para así facilitar la misma, además de poder brindar y diseñar una forma farmacéutica eficaz y segura, con una concentración conocida y controlada (dosis terapéutica). A mediados del siglo XX se empezaron a plantear nuevas formas farmacéuticas en función de los nuevos conocimientos que generó el estudio de la farmacocinética del principio activo medicamentoso. A partir de entonces, un fármaco ya no se caracteriza únicamente por su acción sobre el organismo, es decir, por su farmacodinámica, sino también por el efecto que, a través de procesos farmacocinéticos de absorción, distribución, metabolismo y excreción, ejerce sobre él el propio organismo.^{[16][17]}

En la actualidad se buscan desarrollar formas farmacéuticas que, además de desarrollar las funciones clásicamente definidas, logren que el fármaco se libere en el lugar adecuado del organismo y de tal forma que asegure la correcta absorción con el fin de obtener una curva de concentración plasmática que resulte óptima en cuanto a efecto y tolerancia. Existen nuevas formas farmacéuticas cuyo fin fundamental es evitar el efecto de primer paso por el hígado, utilizando por ejemplo la piel como lugar de administración, liberación y absorción del fármaco, o en caso de ser administrada por vía oral se reduzca el efecto de primer paso y así no se vea afectada la liberación y/o absorción del fármaco.^{[18][19]}

Así mismo se establecieron objetivos los cuales deben cumplir las nuevas formas farmacéuticas, de los cuales los más importantes son ^[19] :

- Administración por la vía más adecuada y en la dosis exacta.
- Asegurar la estabilidad del producto durante un tiempo perfectamente estudiado y establecido (tiempo de caducidad o periodo de validez).
- Posibilitar una administración cómoda y lo menos desagradable posible (mejorar características organolépticas del fármaco), con el fin de favorecer el mantenimiento de la pauta terapéutica.

- Posibilitar la administración segura de principios activos utilizados en dosis muy reducidas, asegurando una homogeneidad de dosis en las distintas unidades.
- Proteger el fármaco de los agentes externos, tanto medio ambientales (oxígeno, humedad) como fisiológicos (jugo gástrico).
- Controlar la liberación y absorción de un principio activo.
- Dirigir selectivamente el principio activo a determinados órganos o tejidos.
- Optimizar acciones farmacológicas y reducir efectos colaterales (sistemas terapéuticos).

Algunas de las formas farmacéuticas diseñadas, presentan diferente tipo de liberación, las cuales dependerán del material o metodología utilizada para desarrollarlas, brindando más opciones al momento de seguir un tratamiento farmacológico, adaptándose a cada tipo de necesidad. [19][20]

Liberación sostenida: En este tipo de liberación se lleva a cabo liberando inicialmente la cantidad necesaria de fármaco para conseguir tener la respuesta farmacológica deseada de forma rápida y, posteriormente, en una cantidad adecuada y constante para que la velocidad de absorción del fármaco sea igual a la velocidad de eliminación durante un tiempo prolongado, normalmente de 10 a 24 horas. Presentando una cinética de liberación del principio activo de orden cero, con lo que se consigue que el nivel plasmático del fármaco se mantenga constante.

Liberación prolongada: La liberación de fármaco inicial es la cantidad suficiente para producir la acción terapéutica o incluso en un pequeño exceso nunca nocivo para el organismo, para después continuar liberándolo de forma lenta pero a una velocidad que no siempre es igual a la velocidad de eliminación, es decir, este tipo de liberación es lenta pero no constante, observándose un nivel plasmático que varía dentro de la zona terapéutica, describiendo una curva amplia.

Liberación repetida: En este tipo de liberación inicialmente se proporciona 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.

Liberación retardada: La liberación del principio activo se lleva a cabo 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 idónea para comenzar su proceso de liberación/absorción.

En la actualidad se ha estudiado la liberación controlada por procesos de hinchamiento, esta se presenta en aquellos materiales inteligentes que son capaces de absorber el agua presente en el medio sometido, para así iniciar su liberación, los hidrogeles son este tipo de material que presentan dicha característica, por lo cual se han realizado estudios de su tipo de liberación que estos puedan presentar. ^{[1][2]}

Liberación controlada por hinchamiento: Uno de los materiales más utilizados para generar este tipo de liberación son hidrogeles, denominados “materiales inteligentes” por su capacidad de respuesta ante un medio acuoso.

Los hidrogeles funcionan como una matriz polimérica que encapsulan al fármaco en cuestión, impidiendo que el medio penetre dentro de ellos y así brindar una protección, hasta que llegue al sitio ideal o encuentre las condiciones ideales para comenzar su proceso de hinchamiento y una posterior liberación de fármaco. ^{[19][22]}

Este tipo de matrices se caracteriza por la formación de un frente de hinchamiento, generando una interface entre el polímero no hidratado en el interior de la matriz y el polímero gelificado, avanzando hacia el interior de la matriz a una velocidad que puede ser constante. ^[19]

El principio activo está esencialmente inmóvil en la región interna de la matriz, pero difunde rápidamente por entre las cadenas poliméricas en estado de relajación.

Estas matrices poliméricas son idóneas para generar un sistema dirigido y específico, ya que dependiendo del tipo de polímero utilizado para su síntesis, se pueden generar diversos tipos de matrices que respondan a diferentes estímulos fisiológicos. ^{[17][19]}

Los perfiles de liberación de fármacos obtenidos en este tipo de sistema, dependerá de la velocidad de hinchamiento del hidrogel, al igual que de la velocidad de difusión que presenta el fármaco.^[22]

CAPITULO II. EXPERIMENTAL

II. 1 EQUIPOS Y REACTIVOS

a. Equipos

1. Agitador magnético VWR Dyla-Dual
2. Balanza analítica, marca Denver Instrument M-200
3. Baño de temperatura, marca VWR International Shel Lab modelo 1217
4. Bomba de adición, marca RAZEL, modelo R-99.
5. Cromatógrafo de gases acoplado a espectrometría de masas (GC- MS).
6. Cromatógrafo de líquidos de alta resolución (CLAR).
7. Espectrofotómetro de infrarrojo con transformadas de Fourier (FTIR).
8. Espectrofotómetro Ultravioleta-Visible Beckman Coulter DU520, Single Cell module
9. Equipo de filtración con membrana millipore Superlco, Life Sciences GHP Acrodisc 25mm Syringe Filter 0.2um, filtros Suport-100 0.2um 47mm PN60310.
10. Estufa de vacío WVR.
11. Potenciómetro, 430 Corning. o Potenciómetro HANNA, modelo HI 2210.
12. Purificador de agua, marca Barnstead Sybron, modelo D2604.
13. Recirculador de agua con temperatura controlada, Cole-Parmer Polystat modelo 12101-10.
14. Recirculador de agua con temperatura controlada, marca LAUDA Brinkmann, ecoline RE106.

b. *Reactivos, solventes y Gases*

Los reactivos fueron adquiridos en su mayoría con proveedor de Aldrich Chemical Company.

1. Ácido clorhídrico
2. Ácido salicílico
3. Agua destilada
4. Anhídrido metacrílico
5. Diclorometano
6. Dimetacrilato de etilenglicol (EGDMA)
7. Etanol
8. Éter etílico
9. Fosfato de potasio monobásico
10. Fosfato dibásico de sodio
11. Hexano
12. Hidróxido de sodio
13. Metanol
14. Nitrógeno grado alta pureza
15. Persulfato de amonio (APS)
16. Poli(etilenglicol) metil éter metacrilato (1,100 g/mol) (PEGMA1100)
17. Removedor del inhibidor hidroquinona
18. Sulfato de Magnesio anhidro, 99% (MgSO_4)
19. Tetrametilendiamina
20. Trietilamina

II.2 Síntesis del monómero ácido 2-metacrililoiloxibenzoico

La síntesis del monómero se realizó a través de un proceso de esterificación, en el cual se lleva a cabo un ataque nucleofílico por parte del oxígeno del grupo hidroxilo del ácido salicílico, al carbonilo presente en el anhídrido metacrílico, resultando una exitosa sustitución nucleofílica acídica, mediada por el catalizador utilizado en la reacción (DMAP) (**Figura 7**).

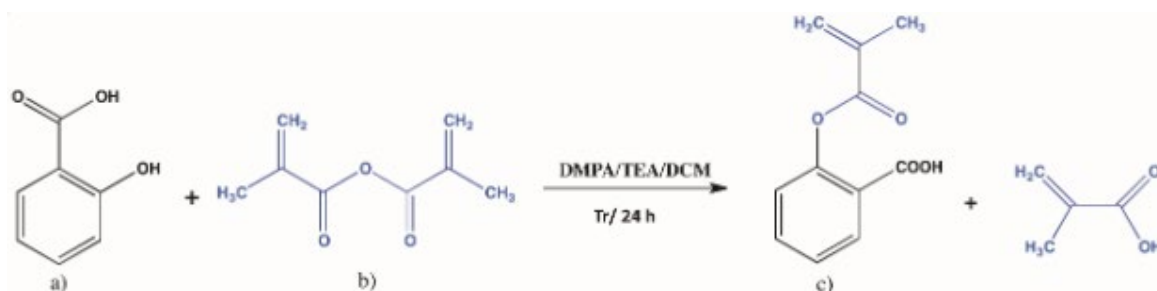


Figura 7. Síntesis de ácido 2-metacrililoiloxibenzoico.

La síntesis del monómero (ácido 2-metacrililoiloxibenzoico) se llevó a cabo como se describe mediante la metodología indicada en la literatura (Licea-Claverie et al., 2003), la cual se describe a detalle a continuación:

En un matraz bola de 100 mL se colocaron 6.91 g de ácido salicílico, 0.49 g de 4-dimetilaminopiridina (DMAP) con 20 mL de diclorometano y 8.42 mL de trietilamina. Se colocó dentro de un baño de hielo (0°C) a agitación constante hasta que los reactivos estuvieron completamente disueltos. Una vez disueltos se agregaron 7.50 g de anhídrido metacrílico (50 mmol) gota a gota con ayuda de una bomba de adición durante 3 horas, transcurrido el tiempo se dejó en agitación durante 24 horas.

La solución se transfirió a un vaso de precipitado de 250 mL, se colocó en un baño de hielo y se procedió a acidificar hasta alcanzar un pH de 3 con ayuda de HCl 3N. Se procedió a extraer el precipitado con éter etílico en un embudo de extracción, la fase orgánica obtenida se trató con 20 mL de solución de HCl y 20 mL de agua destilada. La fase se lavó con sulfato de magnesio anhidro, se filtró a vacío y se dejó cristalizar durante 24 horas.

El sólido obtenido se lavó en tres ocasiones con 30 mL de agua destilada a temperatura ambiente y 30 mL de agua destilada a 40°C. Se disolvió en metanol y se dejó recristalizar durante 24, esto con el fin de purificar el monómero.

II.3. Técnicas de caracterización del monómero

Al monómero sintetizado se le realizaron dos pruebas para una correcta caracterización, se realizó una cromatografía en capa fina, en la cual se comparó el monómero obtenido contra una solución de referencia de ácido salicílico. También se analizó por FT-IR con un espectro de infrarrojo en un intervalo de 450-4000 cm^{-1} en la Universidad Autónoma de Baja California. Los procedimientos se explican a continuación:

II.3.1. Cromatografía de capa fina.

Se preparó una solución de éter de acetato de etilo/hexano en una proporción 50:50, se cortó una tira de placa cromatográfica de 2 cm x 4.5 cm. Se cargó la placa con una gota de solución de referencia de ácido salicílico y una gota del monómero, se vertió la placa verticalmente en una cámara cromatográfica con la solución y se dejó unos minutos. Una vez terminado el proceso se reveló con luz negra (UV) y se realizaron los cálculos correspondientes.

II.3.2. Espectrofotometría de infrarrojo con reflectancia total atenuada (FTIR-ATR)

Se pesaron 0.25 g del monómero ácido 2-metacrililoiloxibenzoico y se leyó en el espectrofotómetro de infrarrojo con ATR marca thermo modelo IS5.

II.4. Preparación de hidrogeles de ácido 2-metacrililoiloxibenzoico (MAOB)

La preparación de hidrogeles se realizó a partir del monómero sintetizado (MAOB), mediante polimerización en disolución vía radicales libres. Estos se elaboraron en forma de lámina delgada (espacio equidistante entre dos placas de vidrio).

Se utilizó dimetacrilato de etilenglicol (EGDMA) como agente entrecruzante. Se purificó previamente haciéndolo pasar a través de una microcolumna la cual contenía perlas de removeedor de hidroxiquinona; como iniciador se empleó azobisisobutinitrilo (AIBN) y como disolvente se utilizó dimetil sulfóxido (DMSO).

Las placas de utilizadas en la síntesis de los hidrogeles, fueron silanizadas previamente por el método de inmersión, con una disolución 2% v/v de diclorodimetilsilano en tolueno por cinco minutos. Posteriormente se enjuagaron con tolueno y fueron secadas a temperatura ambiente.

II.4.1. Preparación de hidrogeles entre placas de vidrio

En un matraz bola de 250 mL se agregó 3.7857 g de monómero (MAOB), 0.0296 g de AIBN, se le adicionaron 0.0658 mL de EGDMA y 5 mL de DMSO, posteriormente se sometió a agitación constante hasta disolver.

La solución obtenida se colocó en un baño de hielo con agitación constante y se desgasificó durante 10 minutos con nitrógeno. Por otro lado, se colocó un espaciador de plástico de 2 mm de diámetro, entre dos placas de vidrio de 10 cm x 10 cm ensambladas y ajustadas con pinzas de metal. Utilizando una micropipeta de 1000 μ L se colocó 1 mL de la solución obtenida entre las dos placas de vidrio y el molde preparado previamente (**Figura 8**), se posicionó verticalmente en una estufa bajo condiciones de atmósfera inerte de nitrógeno a 60°C por 24 horas. Una vez transcurrido ese tiempo, se extrajo la placa de la estufa y fue retirado el hidrogel con cuidado de no generar fracturas en el proceso. Se realizó un lavado colocando el hidrogel en un recrystalizador con suficiente metanol para cubrir por completo el hidrogel por 24 horas. Una vez transcurrido el tiempo se procedió a cortar el hidrogel en pequeños discos de 1 cm de diámetro con un cortador de metal y se dejó secar por 24 horas.

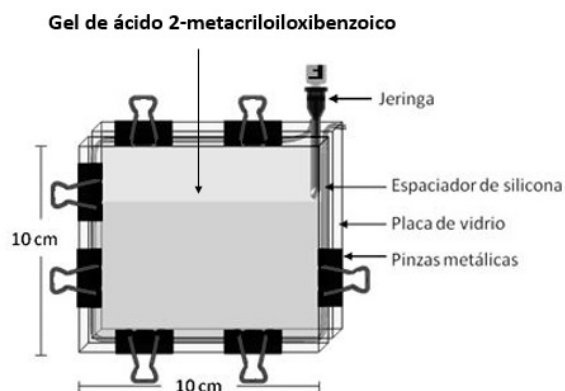


Figura 8. Proceso de generación de hidrogel en placas de vidrio.

II.5. Estudios de hinchamiento de hidrogeles

Para conocer los cambios en el grado de hinchamiento que presentan los hidrogeles fabricados con el monómero de MAOB con respecto al pH, se llevaron a cabo experimentos de hinchamiento en soluciones amortiguadoras pH= 1.2, 6.8 y 7.4, preparadas a base de fosfatos.

II.6. Experimentos de hinchamiento de hidrogeles

Para llevar a cabo esta prueba, se obtuvo previamente el peso de cada uno de los hidrogeles secos. Posteriormente se colocó un disco del hidrogel en un vaso de precipitado de 50 mL con 20 mL de medio, los medios utilizados en esta prueba fueron Agua MiliQ, Buffer pH 1.2, 6.8 y 7.4, se realizó por triplicado a temperatura ambiente (25°C). Los tiempos de pesado fueron de 5, 10, 15, 30, 45, 60, 120, 240 minutos, una vez transcurridas las 2 horas se pesó hora por hora hasta cumplir 8 horas, posteriormente se dejó 24 horas seguidas. Una vez terminado el estudio se procedió a retirar el hidrogel del medio y se secó el excedente con cuidado de no generar algún daño.

II.7. Estudio de hidrólisis - liberación de hidrogeles de MAOB

Previo a los estudios de hidrólisis - liberación, se estableció una curva de calibración para el ácido salicílico. Ésta se obtuvo mediante espectrofotometría UV/Vis, cuyas lecturas se efectuaron a una longitud de onda (λ) de 235 nm.

Se prepararon las distintas soluciones amortiguadoras de fosfatos a pH=1.2, pH=6.8 y pH=7.4.

La metodología para el estudio de hidrólisis - liberación fue la siguiente: en un vaso de precipitado de 250 mL se colocaron 100 mL de medio (pH=1.2, 6.8 y 7.4), se añadió un disco de hidrogel y se colocó dentro de un oscilador a una temperatura constante de 37°C a 40 rpm. Se tomaron alícuotas de 1 mL del medio durante los siguientes intervalos: 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 480, 600, 720, 1440 y 2880 minutos. Las alícuotas tomadas se analizaron por espectrofotometría UV/vis a 235 nm. Estos estudios se realizaron por triplicado.

II.7.1. Cromatografía de gases acoplado a espectrofotometría de masas.

Para realizar esta prueba se tomaron aproximadamente 10 mL de medio de fosfatos pH 7.4 del estudio de hidrólisis - liberación. El medio se acidificó con ácido clorhídrico concentrado hasta alcanzar un pH de 3.0. Una vez acidificado el medio se procedió a separar en un embudo de separación con metanol, la fase orgánica se colocó en un vial de vidrio y se dejó evaporar a temperatura ambiente por 24 horas. Transcurrido el tiempo se obtuvo un precipitado blanco el cual se resuspendió con 3 mL de metanol con ayuda de un agitador magnético por 30 minutos, se filtró con un acrodisco de Nylon 0.45 micras y colocó dentro de un vial limpio y seco con capacidad de 1.5 mL.

II.7.2. Cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR).

Esta prueba se llevó a cabo con el equipo *Thermo Scientific* modelo *Dionex Ultimate 3000 UHPLC*. Utilizando una columna *Thermo Scientific (Hypersil gold)* 250 mm x 4.6 mm de diámetro, con tamaño de partícula de 5 μ m.

II.7.2.1. Preparación de fase móvil.

Se prepararon 500 mL de fase móvil, la cual está compuesta por 1-heptanosulfato de sodio pH 3.5 y acetonitrilo en una proporción de 70:30. Dicha preparación se describe a continuación:

Se pesó 0.8 g de 1-heptanosulfato de sodio, se colocaron en un vaso de precipitado de 1000 mL con 400 mL de agua MiliQ con agitación constante hasta una completa disolución. Se ajustó a pH 3.5 con ácido acético glacial, posteriormente se transfirió a un matraz volumétrico de 500 mL y se llevó a volumen final con agua MiliQ. Finalmente se filtró y desgasificó utilizando un filtro de Nylon con tamaño de poro de 45 μm , se colocó en un reservorio con capacidad de 1000 mL (reservorio A). Se filtró aproximadamente 300 mL de Acetonitrilo grado HPLC y se colocaron en un reservorio (reservorio B).

II.7.2.2. Preparación de diluyente.

Se prepararon 100 mL de solución, la cual contenía acetonitrilo y ácido fórmico en una proporción de 97:3. Se desgasificó y filtro con ayuda de un filtro de Nylon tamaño de poro de 0.45 μm .

II.7.2.3. Preparación de solución estándar de ácido salicílico a concentración nominal (32 $\mu\text{g/mL}$).

Se pesó 20 mg de estándar de ácido salicílico, se transfirió a un matraz volumétrico de 50 mL con aproximadamente 30 mL de diluyente, se agitó manualmente hasta disolver. Finalmente se llevó a volumen final con solución de diluyente.

Se transfirió una alícuota de 2 mL a un matraz volumétrico de 25 mL, posteriormente se aforó a volumen final con diluyente y se agitó manualmente por 30 segundos. Se filtró con un acrodisco de Nylon 0.45 μm y se colocó en un vial limpio y seco con 2 mL de capacidad.

II.7.2.4. Preparación de muestra problema.

Se tomó aproximadamente 5 mL de medio sobrante del estudio de hidrolisis – liberación a pH 7.4, el cual se acidificó con ácido clorhídrico concentrado a un pH de 3.0 y se filtró con un acrodisco de Nylon con tamaño de poro de 0.45 µm. Finalmente se colocó en un vial limpio y seco.

II.7.2.5. Condiciones de corrida.

Columna	Hypersil Gold, Diamm 5 µm, 4.6 mm x 250 mm
Fase móvil	1-heptanosulfato de sodio : Acetonitrilo (70:30)
Longitud de onda (λ)	280 nm
Temperatura de columna	45°C
Flujo	1.2 mL/min
Volumen de inyección	10 µL

Una vez diseñado el método se procedió a purgar cada línea del equipo con agua MiliQ filtrada, hasta eliminar las burbujas de aire presente en las líneas. Se colocaron las líneas en su reservorio correspondiente, se colocó la columna, y se realizó un lavado con las soluciones preparadas (1-heptanosulfato : acetonitrilo) para evitar posibles errores por contaminación en la columna. Posteriormente se realizó el acondiciono de la columna sometiénola a las condiciones antes mencionadas. El flujo se aumentó paulatinamente hasta alcanzar su condición ideal (1.2 mL/min) y una presión constante durante 30 minutos, esto con el fin de evitar daños al interior de la columna. Una vez transcurrido el tiempo de acondicionamiento, se procedió leer las soluciones muestra.

CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIONES

III.1 Síntesis de monómero ácido 2-metacriloiloxibenzoico

Se obtuvo un monómero en forma de polvo color blanco, esto a través de una reacción de esterificación, en el cual se lleva a cabo un ataque nucleofílico por parte del oxígeno del grupo hidroxilo del ácido salicílico, al carbonilo presente en el anhídrido metacrílico, resultando una exitosa sustitución nucleofílica acídica, mediada por el catalizador utilizado en la reacción (DMAP). El rendimiento obtenido fue de 98.73%

III.2 Caracterización del monómero ácido 2-metacriloiloxibenzoico

III.2.1 Cromatografía de capa fina

Una vez que transcurrió el tiempo necesario para que el solvente separará los compuestos se dejó secar la placa por unos minutos, posteriormente se reveló con la ayuda de una luz negra (UV). Como se puede ver en la imagen, hay la presencia de 2 puntos, en el punto (A) se encuentra un estándar de ácido salicílico, en el punto (B) se encuentra el Monómero de MAOB sintetizado (Figura 9).



Figura 9. Resultado obtenido de la cromatografía en capa fina.

Se procedió a calcular el factor de retención a través de la siguiente fórmula:

Rf = Distancia recorrida de la muestra / Distancia recorrida del solvente

$$\text{Rf (A)} = 3.9 \text{ cm} / 4.1 \text{ cm} = \mathbf{0.95}$$

$$\text{Rf (B)} = 3.8 \text{ cm} / 4.1 \text{ cm} = \mathbf{0.92}$$

En relación a su factor de retención, tanto el estándar de ácido salicílico (0.95), como el monómero (0.92), obtuvieron valores cercanos a 1 (Valor ideal). Como se puede ver en la imagen, la distancia recorrida entre el estándar y la muestra de monómero de MAOB es similar, lo cual es indicativo que el ácido salicílico está presente en el monómero sintetizado.

III.2.2. Espectrofotometría de infrarrojo con reflectancia total atenuada (FTIR-ATR).

A continuación, se muestra una tabla con los grupos funcionales característicos en el monómero de MAOB:

Grupo Funcional	Longitud de onda (cm ⁻¹)
Aromático (=C-H)	3150 – 3050
Alquenos (C=H)	3000 – 2850
Ácido Carboxílico (O-H)	3400 – 2400
Bandas de combinación (O-SUST)	2000 - 1800
Éster (C=O)	1750 - 1730
Ácido Carboxílico (C=O)	1725 – 1700
Vinílico (C=C)	1600 – 1475
Éster (C-O)	1300 - 1000
Aromático (C-H)	900 - 690

El espectro de infrarrojo del monómero sintetizado (**Figura 10**), presenta las bandas características mencionadas con anterioridad, a 3076 cm⁻¹ una señal con intensidad baja que se le asignó al estiramiento =C-H del anillo aromático presente en la estructura, a 2974.39 cm⁻¹ una señal con intensidad baja asociada al estiramiento C-H (alifático), a 2662.83 cm⁻¹ aparece una señal con intensidad baja que se le asignó al estiramiento O-H del ácido carboxílico, a 1734.22 cm⁻¹ se observa una banda de intensidad fuerte que se le asignó a la vibración del estiramiento del enlace C=O (correspondiente al Éster), a 1698.01 cm⁻¹ una banda de intensidad fuerte asignada a la vibración del estiramiento C=O (correspondiente al ácido carboxílico), a 1636.78 cm⁻¹ una banda de intensidad baja que se asignó al estiramiento C=C (correspondiente al enlace vinílico), entre 1300 y 1000 cm⁻¹ se presentaron bandas de intensidad media a fuerte, asignadas a las vibraciones C-O (correspondientes al Éster), finalmente se presenta una banda a 794.12 cm⁻¹ de intensidad fuerte, correspondientes a las bandas de absorción C-H, características de los anillos sustituidos.

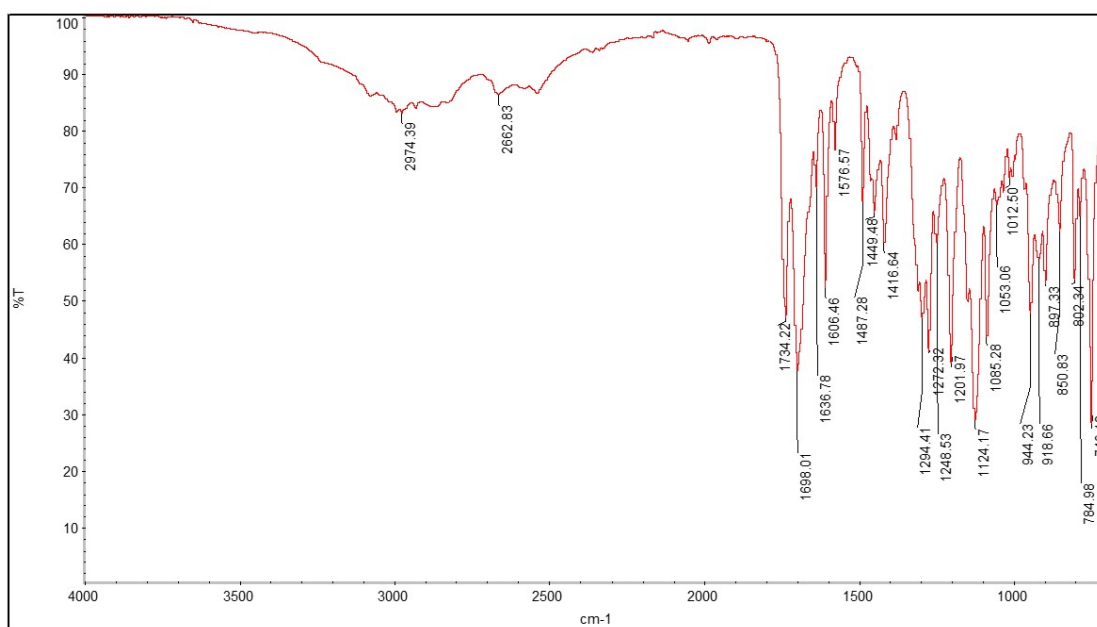


Figura 10. Espectro de infrarrojo de Monómero MAOB.

III.3. Síntesis de hidrogeles a partir del monómero ácido 2 metacriloiloxibenzoico.

Una vez sintetizado y caracterizado el monómero, se procedió a preparar los hidrogeles, mediante el método de polimerización en disolución vía radicales libres. Los primeros hidrogeles se sintetizaron con ayuda de Metilen bisacrilamida al 3% como entrecruzante, APS como iniciados y TEMED como catalizador de la reacción, se dejó en refrigeración a 6°C, obteniendo resultados negativos, por lo que se procedió a cambiar las condiciones de reacción a 35°C por 24 horas, la cual se consiguió con ayuda de una estufa, sin embargo no se logró tener la consistencia adecuada de un hidrogel, por lo cual conllevo a cambiar los reactivos utilizados para llevar a cabo la polimerización del monómero.

Para la posterior preparación de hidrogeles se optó por cambiar el entrecruzante por EGDMA purificado, de igual forma se cambió el iniciador por AIBN y se adiciono DMSO como disolvente, además se aumentó la cantidad de monómero utilizada con respecto a la síntesis anterior, una vez terminada la reacción se colocó en placas de vidrio silanizadas, fijando las condiciones de reacción en una temperatura de 65°C por 24 horas en estufa con una atmósfera inerte con nitrógeno. Con estas condiciones se logró una correcta preparación de los hidrogeles, obteniendo una consistencia característica pero débil, ya que al separarlo de la placa de vidrio este se fracturó un poco, además de presentarse una ligera adherencia a la placa. Después del lavado con metanol y 24 horas de reposo los hidrogeles tomaron una consistencia más rígida. El hidrogel obtenido presentó una apariencia transparente.

III.4. Caracterización de los hidrogeles

III.4.1. Espectrofotometría de infrarrojo con reflectancia total atenuada (FTIR-ATR).

Al igual que el monómero de MAOB, el hidrogel presenta en su mayoría, los mismos grupos funcionales, a continuación se describen las bandas encontradas en su espectro.

Una de las primeras bandas en aparecer en el espectro (**Figura 11**) se encuentra una señal de intensidad baja en entre los $3000 - 3100\text{ cm}^{-1}$ esta señal se asocia al grupo funcional $=\text{C-H}$ (Aromático), a 2929.71 cm^{-1} una señal con intensidad baja, que se asignó al estiramiento C-H (Alifático), a 1801.41 cm^{-1} se observa una señal con intensidad baja, que se asignó al estiramiento O-Sust (bandas de combinación), a 1698.56 cm^{-1} una señal con intensidad fuerte, asociada a la vibración del estiramiento C=O (Ácido carboxílico), a 1605.38 cm^{-1} una señal de intensidad media, que se asignó al estiramiento C=C (Aromático), entre $1300 - 1000\text{ cm}^{-1}$ se observan señales de intensidad fuerte, asociadas al estiramiento C-O (Éster), finalmente a 746.25 cm^{-1} se observa una señal de intensidad fuerte, que se le asignó al estiramiento C-H , encontradas comúnmente en los anillos aromáticos sustituidos.

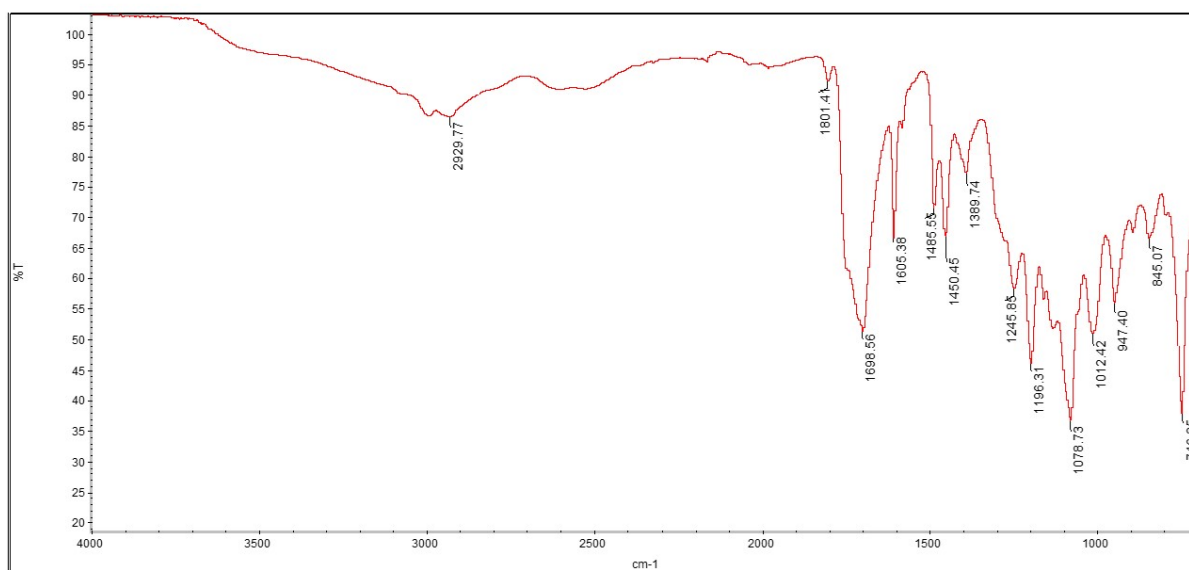


Figura 11. Espectro de infrarrojo del hidrogel.

III.5. Comparación de espectros entre el Monómero de MAOB e hidrogeles sintetizados.

Como se mencionó con anterioridad, el monómero y el hidrogel presentan en su mayoría los mismos grupos funcionales en su estructura. Sin embargo ciertos grupos funcionales tienden a desaparecer al momento de realizar la preparación del hidrogel, esto debido a que al someter la reacción a las condiciones dadas en el apartado de

síntesis del hidrogel, se llevara a cabo el proceso de polimerización del monómero, esto con ayuda del iniciador y el entrecruzante utilizados, estos ayudaran a la formación de las cadenas poliméricas que a su vez se encargaran de formar la red tridimensional de dicho hidrogel, a continuación se muestra una comparativa de ambos espectros obtenidos (**Figura 12**).

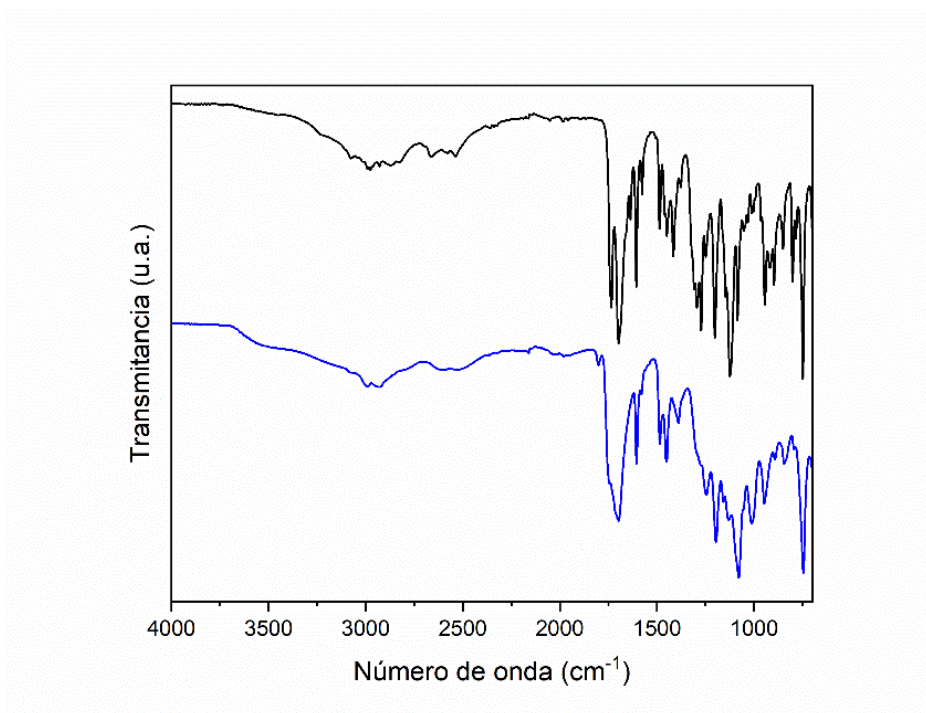


Figura 12. Espectro de infrarrojo comparativo de monómero de MAOB e hidrogel.

En la parte superior (color negro), se muestra el espectro del monómero de MAOB, en la parte inferior de la imagen (color azul) se encuentra el espectro del hidrogel obtenido. Entre $4000 - 2000 \text{ cm}^{-1}$ no existe una diferencia significativa de señales, ambos presentan las mismas señales, cabe resaltar que en el monómero se muestran las señales un poco más definidas en comparación con el hidrogel. A partir de este punto se encuentran las diferencias significativas, en el hidrogel se pierde una señal del estiramiento C=O del éster localizada a 1734.22 cm^{-1} , además se aprecia una señal de mayor grosor o no tan definida a 1698.56 cm^{-1} . El cambio más significado se presenta al desaparecer la señal del estiramiento C=C (enlace vinílico), como podemos observar en la imagen, en el espectro del monómero se encuentra una señal de intensidad baja a 1636.78 cm^{-1} , mientras que en el hidrogel esta señal no se presenta, debido al proceso de polimerización, ya que al generarse dicho proceso, la molécula pierde enlace y da lugar a la generación de una molécula polimérica.

III.6. Experimentos de hinchamiento de hidrogeles.

Los hidrogeles de ácido 2-metacrilóiloxibenzoico, se clasifican como hidrogeles polielectrolitos aniónicos, que contienen grupos ácidos débiles (-COOH) en los sustituyentes laterales de la cadena principal. Dichos hidrogeles presentan la capacidad de responder a estímulos externos, por lo cual se llega a la conclusión que son fisiológicamente sensibles.

Algunos de los estímulos a los cuales se presenta una respuesta, en este caso un comportamiento de hinchamiento son el pH y la temperatura.

El aumento del pH en el medio de prueba, provoca un incremento en el grado de ionización en la red polimérica del hidrogel, ocasionando un relajamiento en las cadenas poliméricas, que en conjunto con la generación de contraiones móviles dentro del hidrogel (aumento de la presión osmótica), se induce a una fase de hinchamiento.

Se realizaron pruebas de hinchamiento de los hidrogeles obtenidos en soluciones gastrointestinales simuladas a pH 1.2, 6.8 y 7.4. El análisis del grado de hinchamiento se determinó con la siguiente ecuación:

$$Q = \frac{W_h - W_s}{W_s} \times 100$$

Donde Q es el grado de hinchamiento expresado en porcentaje, W_h es el peso del hidrogel hinchado en un tiempo determinado y W_s es el peso del hidrogel seco.

En la **Figura 13**, se muestran los resultados obtenidos en la prueba de hinchamiento a los distintos pH's en un intervalo de tiempo de 7 horas.

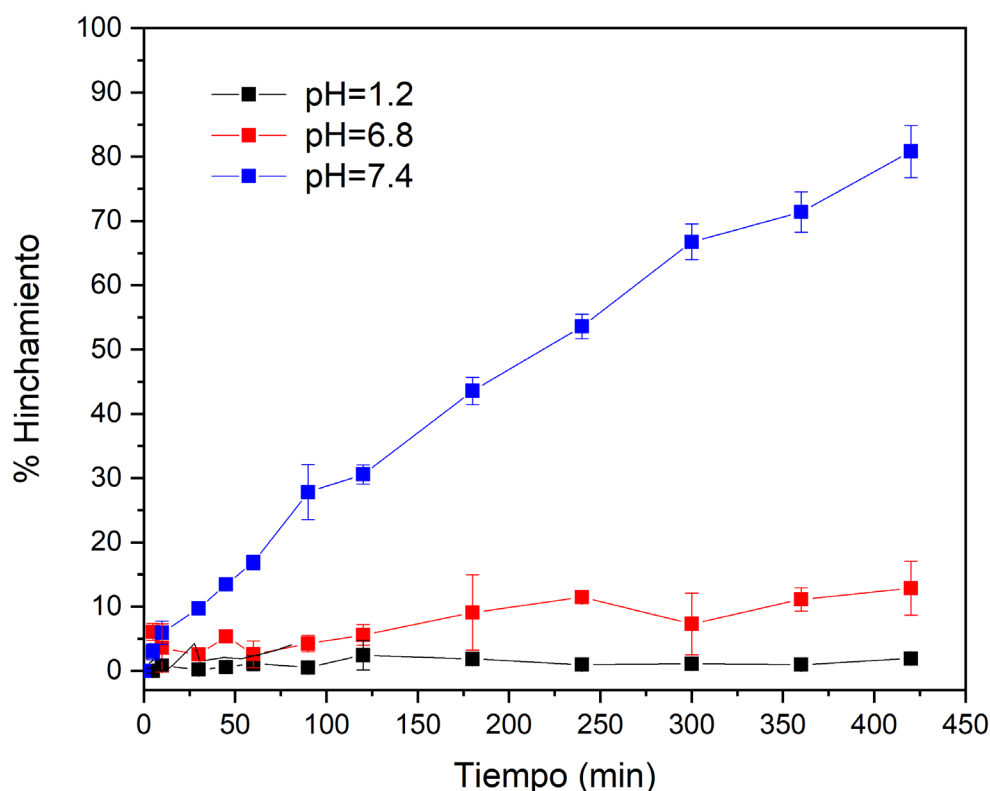


Figura 13. Gráfico comparativo de % de hinchamiento con respecto al tiempo a diferentes pH's.

Se puede apreciar que el hidrogel sintetizado, presenta una transición mayor a pH más alcalinos (6.8 y 7.4), mientras que a pH ácidos (1.2) no se logra observar hinchamiento solo se presenta un cambio de color de transparente a blanco.

Los resultados obtenidos confirman que el hidrogel presenta afinidad a pHs alcalinos como se observó en el estudio de hidrolisis – liberación, ya que como se observa en la gráfica, el aumento en el porcentaje de hinchamiento del hidrogel va aumentando de manera constante conforme el pH aumenta. Cabe mencionar que transcurridas 48 horas a pH 6.8 y 7.4 se presentó un colapso total, confirmando que el hidrogel es sensible a este tipo de estímulos.

III.7. Cromatografía de líquidos de alta resolución.

Una vez transcurrido el tiempo de corrida se procedió a comparar los cromatogramas tanto del estándar de referencia, como el de la muestra problema. Como podemos ver en el cromatograma del estándar de referencia (**Figura 14**), se observa un pico definido con un tiempo de retención de 3.42 minutos. Dicho resultado se asocia directamente al ácido salicílico, ya que el tiempo de retención obtenido bajo las condiciones aplicadas, corresponde a lo indicado en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.

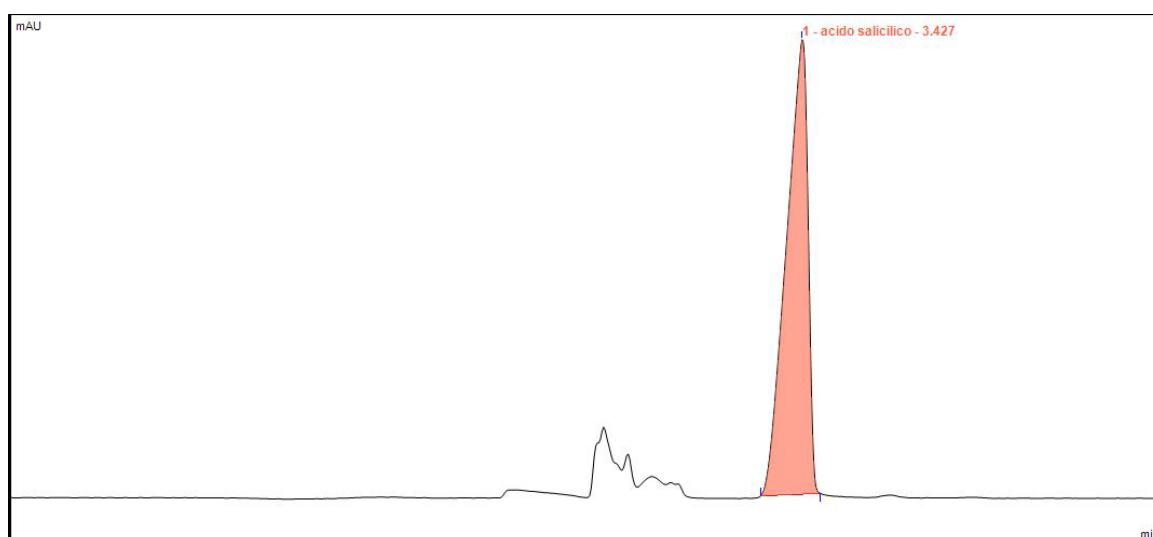


Figura 14. Cromatograma de estándar de referencia de ácido salicílico.

El cromatograma de la muestra problema (**Figura 15**) nos da un resultado similar en comparación con el estándar de referencia, arrojando un pico bien definido con un tiempo de retención de 3.41 minutos, asociado al ácido salicílico presente en el medio tomado del estudio de hidrolisis – liberación, comprando la liberación de dicho fármaco en el medio.

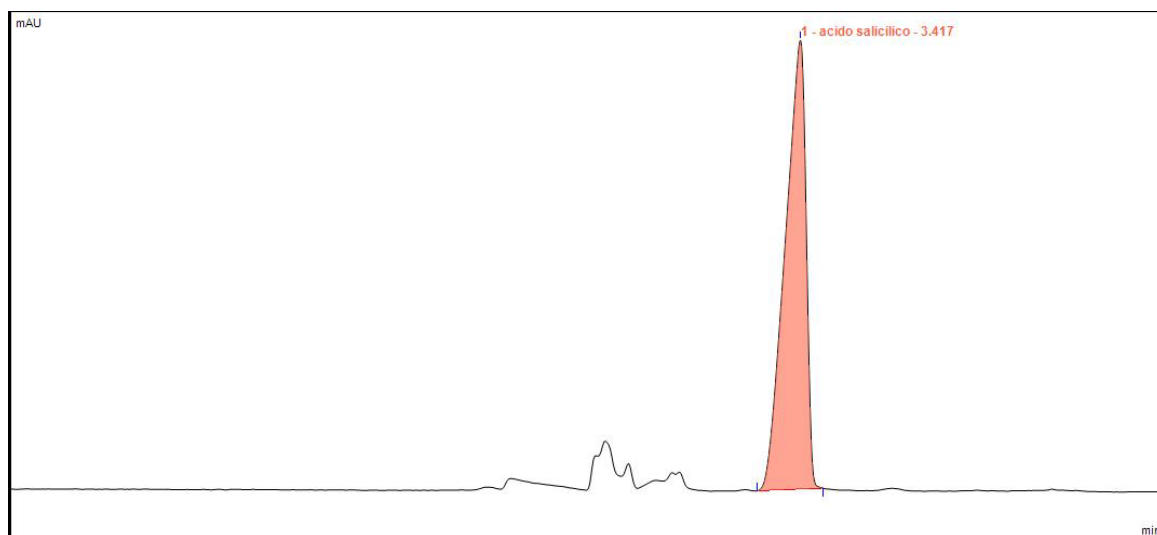


Figura 15. Cromatograma de hidrogel después de estudio de hidrolisis – liberación.

III.8. Cromatografía de gases acoplado a espectrofotometría de masas

El espectro obtenido en la espectrofotometria de masas nos da como resultado la presencia del ion molecular del ácido salicílico, ya que como podemos observar (**Figura 16**), se obtuvo una señal a 138.15 g/mol, la cual se asocia a directamente al ácido salicílico, ya que este presenta una masa molecular de aproximadamente 138.121 g/mol, ademas se comparo en una base de datos arrojando una conincidencia significativa con dicho compuesto.

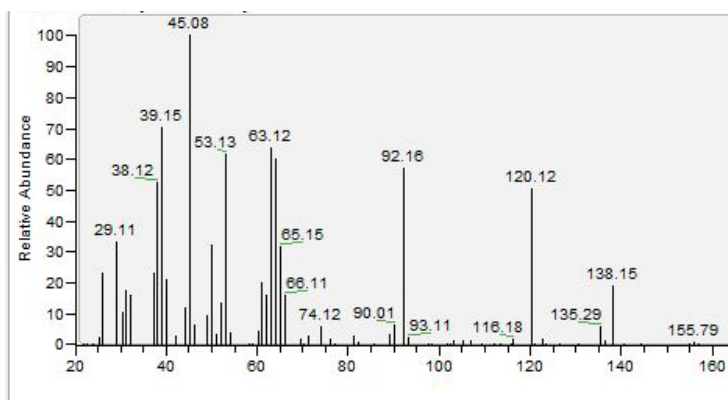


Figura 16. Espectro de masas de ácido salicílico obtenido a partir del medio de liberación.

III.9. Estudio de Hidrólisis – Liberación.

El estudio de hidrólisis – liberación en medios gastrointestinales que se muestran a continuación, se realizó con el fin de observar el comportamiento del hidrogel (**Figura 18**), y corroborar si son sensibles cuando son sometidos a condiciones diferentes, por ejemplo a un cambio de temperatura o pH. En este estudio se realizó la prueba a 37°C ya que es la temperatura corporal promedio, de igual forma se estudio por triplicado a diferentes pH's (1.2, 6.8, 7.4) para comprobar si el efecto de pH influencia en la liberación del fármaco. Además con esta prueba podemos observar el tipo de liberación que se presentaran en los hidrogeles, lo cual es de gran ayuda ya que aun no se hay un estudio en el cual se reporta el tipo de liberación que presentan.

La liberación de fármaco en pH's más alcalinos (6.8 y 7.4), presentan una cinética de liberación sostenida, mientras que un pH más ácido (1.2) se observa una casi nula liberación del fármaco, esto debido a que el hidrogel no tiende a colapsar a este pH (**Figura 19**).

En la **Figura 17**, se muestra una comparación en la cantidad de como en el medio ácido la liberación de fármaco es casi nula, alcanzando solo alrededor de un 4% de fracción libre de fármaco en un intervalo de tiempo relativamente amplio de 48 horas. Esto demuestra que el hidrogel no es sensible a pH ácido, con lo cual se asume que la liberación a nivel estomacal es nula o casi nula.

En el medio intestinal a pH 6.8 se observa una liberación sostenida, en la cual dentro de las primeras 5 horas no se observa una liberación minima de fármaco como tal, esto debido a que el hidrogel se mantiene colapsado (**Figura 20**), al estar en este estado el hidrogel mantiene dentro la mayor cantidad de fármaco, pero despues de 6 horas de estudio se observa un aumento en la cantidad de fracción libre, manteniendo un aumento progresivo de este hasta el último muestreo el cual se realizó a las 48 horas, obteniendo una maxima liberación del 70% de fracción libre. El aumento de la fracción libre se asocia a que el hidrogel es sensible a pH alcalino con ayuda de la temperatura, lo cual provoca que este se hinche, en este estado sus cadenas poliméricas se encuentren más relajadas, provocando que estas se estiren y tiendan a liberar el fármaco que se encuentra dentro.

En cuanto a la liberación de ácido salicílico a pH intestinal de 7.4, se observa una liberación sostenida al igual que la liberación a pH 6.8, cumpliendo con casi las mismas cualidades que dicha liberación presenta, ya que como se observa, a pH 7.4 también hay una liberación mínima de fármaco dentro las primeras 5 horas, mas siembargo despues de las 6 horas exite un aumento en la fracción libre, alcanzando un 70% de fármaco libre en las primeras 24 horas y un 100% de fármaco libre a las 48 horas de muestreo, demostrando que a pH 7.4 hay una mayor afinidad por parte del hidrogel, causando una mayor liberación de fármaco en el medio (**Figura 21**).

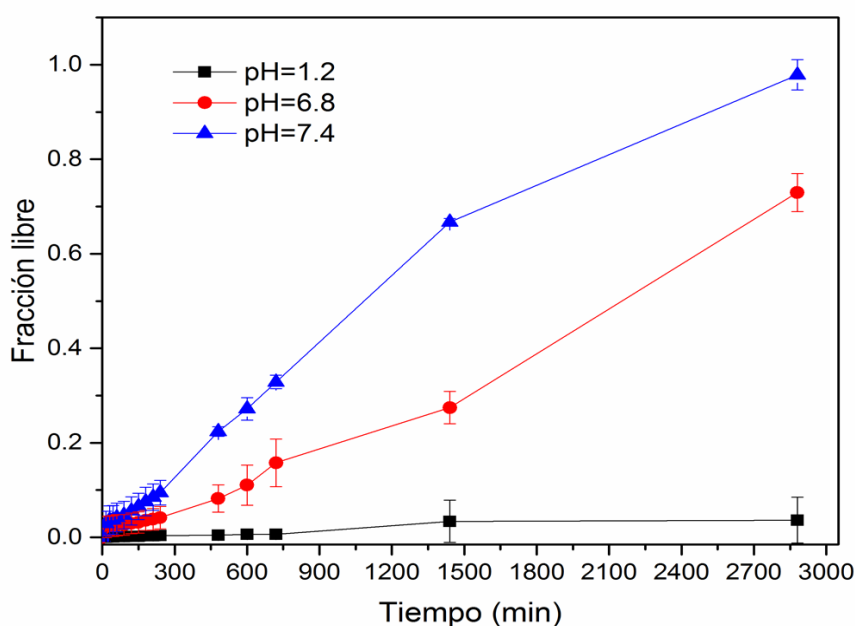


Figura 17. Gráfico comparativo de liberación de ácido salicílico en los diferentes pH's.



Figura 18. Apariencia inicial del hidrogel antes de iniciar el estudio.



Figura 19. Apariencia del hidrogel después de 48 horas de estudio a pH 1.2.

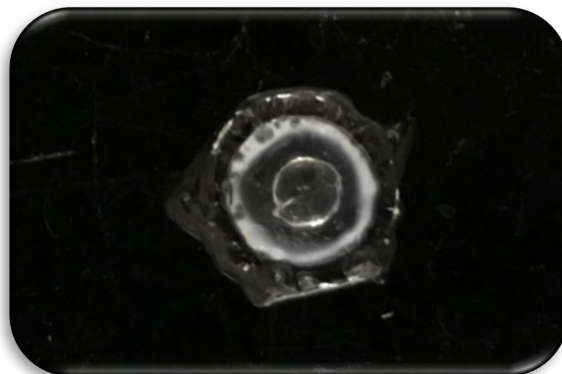


Figura 20. Apariencia del hidrogel después de 48 horas de estudio a pH 6.8.

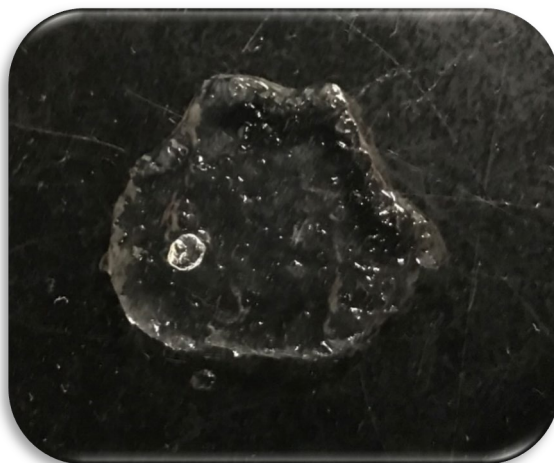


Figura 21. Apariencia del hidrogel después de 48 horas de estudio a pH 7.4.

CAPITULO IV. CONCLUSIONES

1. Se logró sintetizar exitosamente el monómero ácido 2-metacriloiloxibenzoico (MAOB) a partir de ácido salicílico y 4-dimetilaminopiridina (DMAP) mediante un proceso de esterificación, el monómero presenta en su estructura un enlace vinílico y un ácido carboxílico característico de este monómero.
2. Se logró encontrar las condiciones ideales de reacción para llevar a cabo una correcta síntesis del hidrogel del monómero de MAOB, mediante el método de polimerización en disolución vía radicales libres en atmosfera inerte de nitrógeno; además se determinó que el utilizar EGDMA se consigue un entrecruzamiento apropiado entre los monómeros.
3. Se realizó un experimento de hinchamiento en soluciones amortiguadoras a pH 1.2, 6.8 y 7.4, con el fin de observar el comportamiento del hidrogel sintetizado a estímulos de pH. El hidrogel mostró ser sensibles a cambios de pH tal y como se esperaba, mostrando una afinidad mayor por pH's más altos (6.8 y 7.4). El aumento de pH en el medio genera un mayor grado de ionización, desencadenando un aumento en la presión osmótica del hidrogel y por ende provocando dicho hinchamiento.

4. Se llevaron a cabo estudios de hidrolisis – liberación *in vitro* en un oscilador con soluciones amortiguadoras pH 1.2, 6.8 y 7.4 a 37°C, 40 r.p.m. durante 48 horas, las cuales mostraron que a un pH menor la liberación de ácido salicílico es casi nula, además de mostrar un hinchamiento mínimo. A pH mayor se observa una mayor liberación de fármaco, siendo a pH 7.4 la condición con resultados más positivos donde se observa una liberación mayor durante el tiempo de estudio. Complementariamente se logró cuantificar e identificar el ácido salicílico en el medio, confirmando que a partir del hidrogel se puede liberar fármaco.

El hidrogel sintetizado a partir del monómero de MAOB presenta la capacidad de exhibir cambios con respecto a la variación de pH y temperatura, lo cual permite ser utilizado como sistema de liberación de ácido salicílico, el comportamiento hinchamiento es gradual permitiendo una liberación sostenida. Los resultados de la prueba de hinchamiento concordaron con el estudio de hidrolisis – liberación *in vitro*, donde a pH 6.8 y 7.4 se presentó un hinchamiento mayor con respecto a pH 1.2, lo cual mostró cantidades liberadas casi nula a pH 1.2, mientras que a pH 6.8 y 7.4 se observa una liberación superior, sin embargo a pH 7.4 se observa una liberación mayor, donde se exhibe una fase de hinchamiento mayor en un lapso de tiempo más corto con respecto a los otros dos pH.

CAPITULO V. ANEXOS.

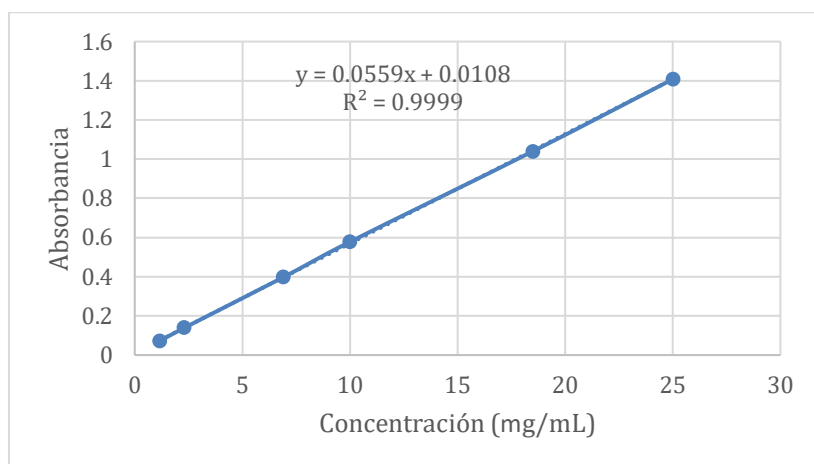


Figura 22. Curva de Calibración pH 1.2.

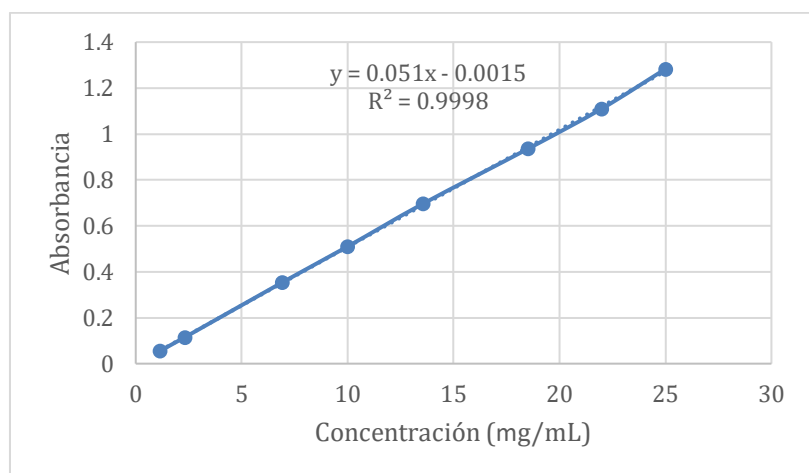


Figura 23. Curva de Calibración pH 6.8

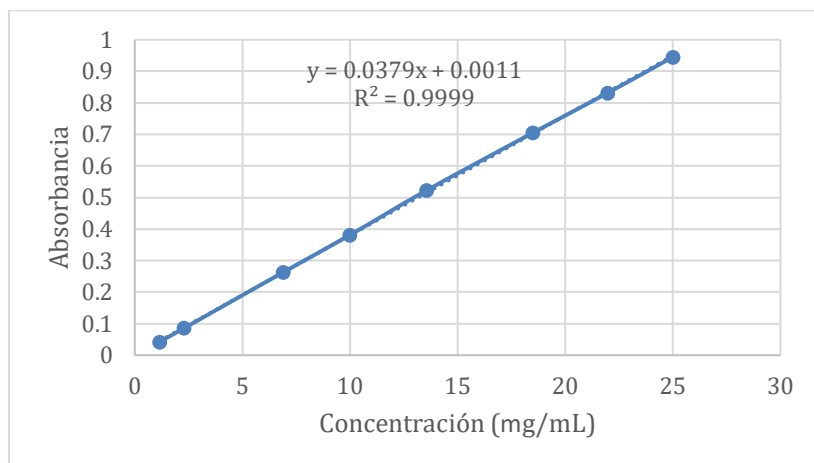


Figura 24. Curva de Calibración pH 7.4

CAPITULO VI. REFERENCIAS

1. Yining S., Ding N., Haiqiang J., Xiaozhong Q., (2020). Recent advances of injectable hydrogels for drug delivery and tissue engineering applications. *European Polymer Journal*.
2. Arredondo A., Londoño M. (2009). Hidrogeles. Potenciales biomateriales para la liberación controlada de medicamentos. *Revista Ingeniería Biomédica*, Vol. 3 (5) (pp. 83-94). Colombia
3. Echeverri C., Vallejo C., Londoño M. (2009). Síntesis y caracterización de hidrogeles de alcohol polivinílico por la técnica de congelamiento/descongelamiento para aplicaciones médicas. *Revista EIA* 1794-1237 (12) (pp.59-66). Colombia
4. Walther, Raoul & Rautio, Jarkko & Zelikin, Alexander. (2017). Prodrugs in medicinal chemistry and enzyme prodrug therapies. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 118. 10.1016/j.addr.2017.06.013.
5. Willetts S., Foley D. (2020). True or false? Challenges and recent highlights in the development of aspirin prodrugs. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 192:112200.
6. Cécile A. Dreiss. (2020). Hydrogel design strategies for drug delivery. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 48:1–17
7. Shiv Kumar P., Ankit J., Askanchha J., Sourabh J., (2019). Biodegradable polymers and constructs: A novel approach in drug delivery. *European Polymer Journal*
8. Páez A (1986). Hormigón armado. (pp 195-197).
<https://books.google.com.mx/books?id=5wfVaiKduB8C&pg=PA195&dq=mon%C3%B3meros+y+pol%C3%ADmeros&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwj2rL8i4zrAhU2CTQIHQDJoQ6AEwAXoECAIQAg#v=onepage&q=mon%C3%B3meros%20y%20pol%C3%ADmeros&f=false>
9. Élide H. (2011). *Polímeros*, capítulo 9. (pp. 3-70). Buenos Aires, Argentina: Encuentro
10. Béltran M., Marcilla A., (2012). *Tecnología de polímeros*. (pp. 17-38). España
11. Seyhan E. (1997). *Química Orgánica, Estructura y Reactividad*. Tomo 2. (pp. 1250-1296). Barcelona.
12. Burgos, Carolina & Cuadro, Ana & Alvarez-Builla, Julio. (2019). Profarmacos, ejemplos seleccionados del mercado español i. profarmacos unidos a transportador.
13. Cabrera S., Díez-Torrubia A. (2010). Profármacos: pasado, presente y futuro. *An. Quim* 106(3) (pp. 207-214).
14. Escalona O., Quintanar D. (2014). Polymeric nanogels: a new alternative for drug delivery. *Rev Mex Cienc Farm* 45(3) (pp. 17-38).
15. Dilshad Q., Suraj K., Samarendra M., Arfat A., Doman K., Kunal P. (2019). Environment sensitive hydrogels for drug delivery applications. *European Polymer Journal* 120:109220.

- 16.** Nicholas A., Allan S. Hoffman. (2005). Hydrogels. Capítulo I.2.5. Classes of Materials Used in Medicine. (pp. 166-179)
- 17.** Ramirez A., Benítez J.L., Rojas L., Rojas B. (2016). Polymers materials type hydrogels: review of their characterization by FTIR, DSC, SEM and TEM. Rev. LatinAm. Metal. Mat.; 36 (2) (pp.108-130).
- 18.** Zepa M., Ramírez A., Tenía R., Prin J., Rojas L., Astudillo H., Rojas B. (2017). Evaluation of affinity for the removal Mg and Ni ions by poly(acrylamide-co-organic acids) copolymers hydrogels. Rev. LatinAm. Metal. Mat.; S7: (pp. 15-19).
- 19.** Suñe J.M. Nuevas aportaciones galénicas a las formas de administración. Capítulo 3.2. (pp. 30-65).
- 20.** Park K., Shalaby W.S.W. (1993). Biodegradable Hydrogels for Drug Delivery. Estados Unidos: Technomic Publishing (pp.100).
- 21.** Bernad M.J., Ganem A., Melgoza L.M., Quintanar D. (2003). Sistemas de liberación controlada de activos farmacéuticos. 1ª ed. México: Asociación Farmacéutica Mexicana (pp. 9-28).
- 22.** Kohudic M.A. (1994). Advances in Controlled Delivery of drug. 1a ed. Estados unidos: Technomic Publishing A.G. (pp. 82-89).