

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS ES INGENIERÍA



**“PREPARACIÓN DE HIDROGELES MUCOADHESIVOS PARA LA  
LIBERACION DE AMOXICILINA COMO TRATAMIENTO CONTRA  
HELICOBACTER PYLORI”**

**T E S I S**

Para obtener el título de

**Químico Farmacobiólogo**

**Presenta:**

**P.QFB JOSÉ DANIEL GÓMEZ HERRERA**

Director de tesis:

**Dr. José Manuel Cornejo Bravo**

Co-Directora

**M.C. Ayla Carolina Vea Barragan**

## **AGRADECIMEINTOS INSTITUCIONALES**

Esta tesis fue apoyada por la 20va convocatoria de apoyo a proyecto de investigación UABC 2018 “complejos de biopolímeros como sistemas de liberación sostenida de antimicrobianos en la cavidad bucal” (3900) y el programa de fortalecimientos de cuerpos académicos 2018 (biofarmacia UABC-CA-287) SEP-PRODES-

## LISTA DE ABREVIATURAS

%	Porcentaje
°C	Grados centígrados
µL	Microlitros
µm	Micrómetros
h	Horas
mg	Miligramos
min	Minutos
PAA	Poli(ácido) acrílico
pH	Potencial de hidrógenos
r <sup>2</sup>	Coefficiente de terminación
rpm	Revoluciones por minuto
t	Tiempo
IgA	Inmunoglobulinas A
H. pylori	Helicobacter pylori
TTE	Terapia Triple Estandar
DMAEMA	Metacrilato de N, N – Dimetilaminoetilo
DEAEMA	Metacrilato de N, N – Dietilaminoetilo
EGDMA	Dimetilacrilato de etilenglicol
DMAEMA/MMA	Metacrilato de N, N – Dimetilaminoetilo – co –metacrilato de metilo
DEAEMA/MMA	Metacrilato de N, N – dietilaminoetilo – co –metacrilato de metilo
AIBN	Azobisisobutironitrilo
PVC	Policloruro de vinilo
PE	Polietileno
POM	Poli(óxido de etileno)
PA	Nailon
CAM	Cell Adhesion Molecules
%w/w	Porcentaje peso en peso
N	Newton
m/s	Metro sobre segundo

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>CONTENIDO</b>		<b>Página</b>
Figura 1.	Configuración sp <sup>3</sup> para los átomos de carbono de una cadena principal.	7
Figura 2.	Ejemplo de un copolímero alternante	10
Figura 3.	Ejemplo de un copolímero al azar	11
Figura 4.	Ejemplo de un copolímero en bloque	17
Figura 5.	Ejemplo de un copolímero de injerto	20
Figura 6.	Ejemplos de la composición molecular de Sistemas amorfo (a), semicristalino (b) y cristalino (c)	21
Figura 7.	Esquema de un líquido bioadhesivo en contacto con un tejido	30
Figura 8.	Esquema de interpenetración entre la cadena polimérica y glucoproteína	34
Figura 9.	Grado de hinchamiento contra el pH de DMAEMA/MMA 30/70 entrecruzado al 0.3% y 0.1% de EGDMA	36
Figura 10.	Grado de hinchamiento contra el pH de DEAEMA /MMA 30/70 entrecruzado al 0.3% y 0.1%	37
Figura 11.	Cinéticas de hinchamiento en todas las preparaciones de hidrogeles a buffer 1.2 a) DEAEMA/MMA 0.1% EGDMA b) DEAEMA/MMA 0.3% EGDMA c) DMAEMA/MMA 0.1% EGDMA d) DMAEMA/MMA 0.3% EGDMA	38
Figura 12.	Cinéticas de hinchamiento en todas las preparaciones de hidrogeles a buffer 1.2 a) DEAEMA/MMA 0.1% EGDMA b) DEAEMA/MMA 0.3% EGDMA c) DMAEMA/MMA 0.1% EGDMA d) DMAEMA/MMA 0.3% EGDMA	38

Figura 13.	Cinéticas de hinchamiento en todas las preparaciones de hidrogeles a buffer 7.4 a) DEAEMA/MMA 0.1% EGDMA b) DEAEMA/MMA 0.3% EGDMA c) DMAEMA/MMA 0.1% EGDMA d) DMAEMA/MMA 0.3% EGDMA	40
Figura 14.	Liberación de amoxicilina en la preparación de hidrogeles a) DMAEMA-MMA 0.3% EGDMA b) DEAEMA-MMA 0.3% EGDMA	41
Figura 15.	Curva de humectación	41
Figura 16.	Fuerza de mucoadhesión en las preparaciones de DMAEMA y DEAEMA al 0.3% de EGDMA	42
Figura 17.	Microscopia de las preparaciones de hidrogeles a) preparación de DMAEMA-co-MMA al 0.3% EGDMA cargado con amoxicilina b) DEAEMA-co-MMA al 0.3% EGDMA sin fármaco cargado.	44

## LISTA DE ECUACIONES

CONTENIDO		Página
Ecuación 1.	Ecuacion Young-Laplace	23
Ecuación 2.	Fuerza de tensión generada	25
Ecuación 3.	Grado de hinchamiento.	30

CONTENIDO	INDICE DE TABLAS	Página
Tabla 1.	Formulaciones preparadas de hidrogeles	29
Tabla 2	<b>Tabla 3.</b> Liberación de DEAEMA-MMA al <b>0.3%</b> EGDMA tiempo contra fracción liberada con (SD) desviación estándar.	42
Tabla 3	<b>Tabla 3.</b> Liberación de DEAEMA-MMA al <b>0.3%</b> EGDMA tiempo contra fracción liberada con (SD) desviación estándar.	43



# CAPÍTULO I INTRODUCCIÓN

## 1.1. Antecedentes

En la actualidad uno de los problemas de salud pública a nivel mundial son las enfermedades gastrointestinales donde la incidencia de estas es elevada en varios países, sobre todo en aquellos que se encuentran en vías de desarrollo, dentro del panel de enfermedades gástricas la más frecuente es la gastritis teniendo una incidencia del 40.6% en el mundo y del 80% en México, esta patología se caracteriza por la inflamación generada por la mucosa del estómago.<sup>1</sup>

Los orígenes de esta enfermedad son multifactoriales, se tiene una clasificación de los agentes que ocasionan la gastritis que, con conocidos como factores agresivos, y se clasifican como exógenos y endógenos. Los primeros son aquellos que la enfermedad ocurre por causas externas del cuerpo por ejemplo una mala alimentación, fumar e ingerir alcohol en exceso por otra parte los agentes endógenos, son aquellos que ocasionan la enfermedad por alguna falla fisiológica del cuerpo como un desbalance hidroeléctrico, reflujo o enfermedades autoinmunes.<sup>2</sup>

Dentro de los factores exógenos el más importante y probablemente el que tiene más prevalencia es causado por una bacteria Gram negativa cuyo nombre es *Helicobacter pylori* en México es la causa principal de gastritis por este patógeno con un 70%.

Las características morfológicas de *Helicobacter pylori* es un bacilo helicoidal que habita en el epitelio gástrico humano, su mecanismo de patogenicidad es único dentro de otras bacterias ya que al ingresar al organismo y hospedarse en el mucus gástrico, este comenzará a colonizar. Mientras que la gran mayoría de las bacterias no pueden resistir el pH ácido del estómago por lo que antes se pensaba que era imposible que las bacterias colonizan el estómago. Fue hasta la década de los 80 que Marshall y Warren por medio de un comunicado e investigaciones en biopsias gástricas aislaron a este patógeno.

La gran habilidad de tolerar el pH ácido del estómago de este bacilo es debido a que es capaz de secretar la enzima ureasa, cuya función es degradar a la urea en

bicarbonato y amonio logrando neutralizar el pH de su entorno y hospedarse en las mucosas gástricas.

Empieza a liberar sustancias que estimulan la liberación de las inmunoglobulinas A (IgA) que es la encargada de la secreción de moco, saliva y sudor del cuerpo, favoreciendo la activación de neutrófilos, linfocitos, macrófagos entre otras células inmunológicas que empiezan a mediar un masivo proceso de inflamación, llegando a ocasionar daño tisular y por lo tanto la formación de úlceras pépticas.<sup>3</sup>

En la actualidad para el diagnóstico clínico de H. pylori se cuenta con pruebas serológicas sencillas y de bajo costo, como: el uso de reacciones de anticuerpo-antígeno gracias a que las inmunoglobulinas A se encuentran elevadas durante el proceso invasivo. Se emplea otras pruebas complementarias como la proteína C reactiva, esta prueba tiende a tener una desventaja al no ser específica en cuanto si fue una infección previa o si se encuentra activa ya que estas pruebas serológicas son de carácter cualitativo y la reacción inmunológica también puede ocurrir si encuentran restos de la infección o se encuentra en la memoria inmunológica en el organismo.<sup>3</sup>

El diagnóstico a H. pylori es eficiente y acertada, uno de los problemas que presenta esta enfermedad por este patógeno es el tratamiento farmacológico el cual está constituido por fármacos de primera línea para combatir la infección a estos fármacos de primera línea se les denomina como la “Terapia Triple Estándar” (TTE). Este tratamiento consiste en un inhibidor de la bomba de protones que en la mayoría de los casos se utiliza Omeprazol y dos antibióticos de diferente mecanismo de acción como por ejemplo Claritromicina y Amoxicilina. En la actualidad con esta terapia se cuestiona su eficiencia, en sus inicios tenía el 85% de eficiencia, pero debido a la resistencia microbiana por la claritromicina el uso de esta terapia se ha estado reduciendo drásticamente dando como una alternativa el uso del metronidazol<sup>4</sup>. Por lo que actualmente se utilizan alternativas de la terapia triple estándar, lamentable muchos países no es conveniente debido a la falta de información epidemiológica de la resistencia a la claritromicina.<sup>5</sup>

En la actualidad se buscan alternativas para mantener un porcentaje de alta eficacia

entre una de ellas es el uso de materiales poliméricos inteligentes, que tienen como función ser formas farmacéuticas para obtener una liberación prolongada para ser un material candidato estos deben tener una buena adhesión y buena respuesta ante un pH fisiológico. Estos materiales poliméricos inteligentes se entrecruzan y forman una red de polimérica interpenetrante llegando a formar un hidrogel. Dentro de estos materiales encontramos monómeros básicos como metacrilato de N,N-dimetilaminoetilo (DMAEMA) y el metacrilato de N,N-dietilaminoetilo (DEAEMA) que sería ideal para el uso de un sistema de liberación de fármacos ideal para el tratamiento de *H. pylori*<sup>6</sup> anteriormente estos materiales ya han comprobado su bioadhesión ante las mucosas del estómago en pH fisiológico de 1.2,<sup>1</sup> estos materiales sugieren serían ideales para el cargado de fármacos como la amoxicilina para el tratamiento de las enfermedades ocasionadas por *H. pylori*.

## **1.2. Justificación**

La elaboración de materiales inteligentes es cada vez una necesidad y encontrar aplicaciones médicas puede generar un impacto en el área de la salud. Se pretende desarrollar un sistema inteligente utilizando polímeros sensibles al pH con propiedades bioadhesivas y lograr retener más tiempo en el sitio de acción y actúe de manera localizada la amoxicilina, con esta propuesta se tiene contemplado combatir los problemas de resistencia bacteriana y una alternativa eficaz y eficiente para combatir los problemas gastrointestinales ocasionados por *Helicobacter pylori*.

## **1.3. Objetivo general**

Desarrollar un sistema de liberación prolongada en forma de hidrogel con diferentes proporciones de monómeros (DMAEMA y DEAMEA) utilizando amoxicilina para su cargado y evaluar su comportamiento de bioadhesión y liberación del fármaco.

### **1.3.1 Objetivos específicos**

1. Preparación de hidrogeles de DMAEMA-co-MMA y DEAEMA-co-MMA a proporciones de 30/70% (molar) y a proporciones de 0.1 y 0.3% p/p de EGDMA como entrecruzante.
2. Realizar pruebas de grados de hinchamiento a cada preparación de hidrogel elaborada, para evaluar su comportamiento a distintos pH.
3. Realizar pruebas de cinéticas de hinchamiento a distintos pH fisiológico.
4. Elaborar el cargado de fármaco para las preparaciones del hidrogel.
5. Realizar pruebas de liberación de fármaco con distintas concentraciones de amoxicilina.
6. Realizar pruebas de mucoadhesion a hidrogeles cargados y no cargados
7. Realizar microscopia electrónica de barrido para observar la bioadhesion en hidrogeles cargados y no cargados

## CAPÍTULO II

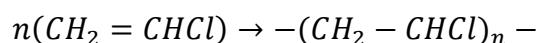
### MARCO TEÓRICO

## 2.1. Polímeros

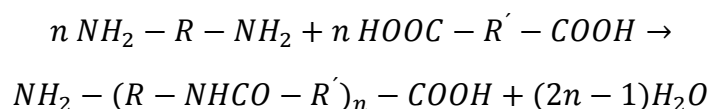
La definición de “*polímero*” se puede desglosar de la siguiente manera: “*poli*” mucho y “*mero*” unidad, que dan base a su estructura particular como una macromolécula constituida por la unión repetida de una o varias moléculas unidas por enlaces de tipo covalente. La definición del término “*macromolécula*” significa molécula muy grande. “*Polímero*” y “*macromolécula*” son términos que suelen utilizarse indistintamente, aunque estrictamente hablando no son equivalentes ya que las macromoléculas, en principio, no requieren estar formadas por unidades de repetición.

A partir de su origen, los polímeros pueden ser naturales o sintéticos. Los sintéticos contienen normalmente entre uno y tres tipos diferentes de unidades que se repiten, mientras que los naturales o biopolímeros como la celulosa, el ADN o las proteínas presentan estructuras mucho más complejas. Los polímeros sintéticos tienen, hoy por hoy, mayor interés desde el punto de vista comercial, por lo que en general nos referimos casi exclusivamente a ellos.<sup>7</sup>

La unidad básica que forman los polímeros son moléculas denominadas **monómeros** y las reacciones que por las cuales se obtienen se denominan **reacciones de polimerización**. Las reacciones de polimerización son divididas en dos grupos: reacciones de adición y de condensación, y los productos obtenidos por cada una de estas rutas se conocen como **polímeros de adición** y **polímeros de condensación**. Los polímeros generados por adición cuentan con una unidad estructural de repetición con la misma composición que la del monómero de partida. La clase más notable de polímeros de adición corresponde a los formados a partir de monómeros que cuentan con un doble enlace carbono-carbono, como por ejemplo la polimerización del policloruro de vinilo (PVC).<sup>7</sup>



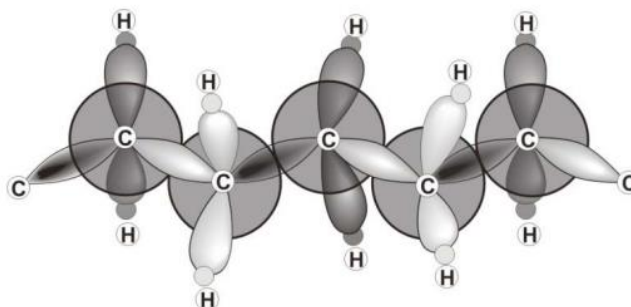
Por otro lado, los polímeros de condensación se generan a partir de monómeros polifuncionales por medio de diversas reacciones con el potencial de eliminar alguna pequeña molécula, tal como el agua. Un modelo clásico es la formación de las poliamidas a partir de la reacción de diaminas y ácidos dicarboxílicos.



Las letras R y R' son grupos alifáticos o aromáticos. La unidad entre paréntesis que se repite muchas veces en la cadena de polímero se denomina unidad de repetición. La composición de la unidad de repetición difiere de la de los dos monómeros de partida en una molécula de agua.<sup>7</sup>

### 2.1.2. Estructura química

La unión entre monómeros se lleva a cabo mediante enlaces covalentes. La Figura 1 se muestra un fragmento de la cadena del polimérica, en donde los átomos de carbono que constituyen la cadena principal presentan una configuración  $sp^3$ , por consiguiente sus orbitales se acomodaran formando un tetraedro en torno al átomo de carbono y el ángulo de enlace de dos carbonos consecutivos será de aproximadamente  $109^\circ$ .<sup>8</sup>



**Figura 1.** Configuración  $sp^3$  para los átomos de carbono de la cadena principal.

La **polaridad** y el **volumen** de estos átomos afectarán especialmente a las fuerzas de cohesión entre cadenas, que al mismo tiempo determinarán la flexibilidad del material, temperatura de transición vítrea, temperatura de fusión y capacidad de cristalización entre otras propiedades.<sup>8</sup>

La molécula de polietileno (PE), molécula sencilla no polar, las cadenas diferentes se atraen entre sí por fuerzas intermoleculares débiles de tipo London (dipolo inducido-dipolo inducido). En consecuencia, el polietileno es un material blando y tiene una temperatura de fusión relativamente baja. Para moléculas polares, tales como el PVC, las cadenas se mantienen unidas mediante interacciones fuertes de tipo dipolo-dipolo resultantes de la atracción electrostática entre los átomos de cloro de una molécula y los de hidrógeno de otra, lo que resulta en un polímero muy rígido. Las cadenas de moléculas altamente polares que contienen átomos de oxígeno o nitrógeno se atraen entre sí por puentes de hidrógeno, como es el caso del poli(óxido de metileno) (POM). En general, cuanto mayor sean las fuerzas de cohesión entre las cadenas, tanto más rígido resultará el polímero y tanto mayor será la temperatura de fusión en el caso de polímeros cristalinos o la temperatura de reblandecimiento, en el caso de polímeros no cristalinos. En las poliamidas, por ejemplo, las fuerzas de cohesión entre las moléculas son el resultado de una combinación de enlaces por puentes de hidrógeno, fuerzas dipolo-dipolo y fuerzas de tipo London, lo que confiere una elevada temperatura de fusión al polímero.<sup>9</sup>

La incorporación en la cadena principal de grupos aromáticos (grupos voluminosos y fácilmente polarizables) aumenta la rigidez de la misma, igualmente ocurre con la introducción de grupos voluminosos como sustituyentes de la cadena principal.<sup>9</sup>

### **2.1.3. Peso molecular**

La mayoría de las propiedades de los polímeros, como por ejemplo la resistencia mecánica, la elasticidad, la temperatura de transición vítrea o la temperatura de fusión de fibras y materiales semicristalinos, se deben al alto peso molecular de los mismos.

La molécula de etano (1 unidad de repetición) es gaseosa, pero al aumentar su tamaño hasta 6 unidades de repetición pasa a ser líquida, y conforme se van adicionando más monómeros se convierte en un aceite, una cera y finalmente en un material sólido. El polietileno de peso molecular entre 1.000 y 5.000 es un sólido céreo que adquiere propiedades útiles como plástico sólo cuando su peso molecular supera los 10.000. El nailon (PA), por ejemplo, de peso molecular 1.000-2.000 es un sólido frágil, mientras que a pesos moleculares más elevadas es altamente tenaz.<sup>9</sup>

### 2.1.3. Copolímeros

Cuando un polímero se forma por medio de uniones entre sí de un solo tipo de molécula pequeña o monómero, se le dice homopolímero. Cuando en cambio dos tipos diferentes de monómeros están unidos a la misma cadena polimérica, el polímero es denominado copolímero.<sup>10</sup>

Cuando los dos monómeros están dispuestos según un ordenamiento alternado, el polímero es denominado ***copolímero alternante***:

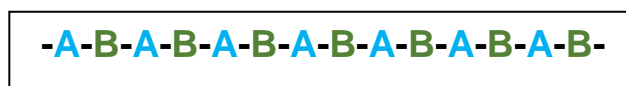


Figura 2. Ejemplo de un copolímero alternante

En un ***copolímero al azar***, los dos monómeros pueden seguir cualquier orden:



Figura 3. Ejemplo de un copolímero al azar

En un ***copolímero en bloque***, todos los monómeros de un mismo tipo se encuentran agrupados entre sí, al igual que el otro tipo de monómeros. Un copolímero en bloque puede ser imaginado como dos homopolímeros unidos por sus extremos.<sup>13</sup>



Figura 4. Ejemplo de un copolímero en bloque

Cuando las cadenas de un polímero formado a partir del monómero B se encuentran injertadas en una cadena polimérica del monómero A, tenemos un ***copolímero de injerto***.

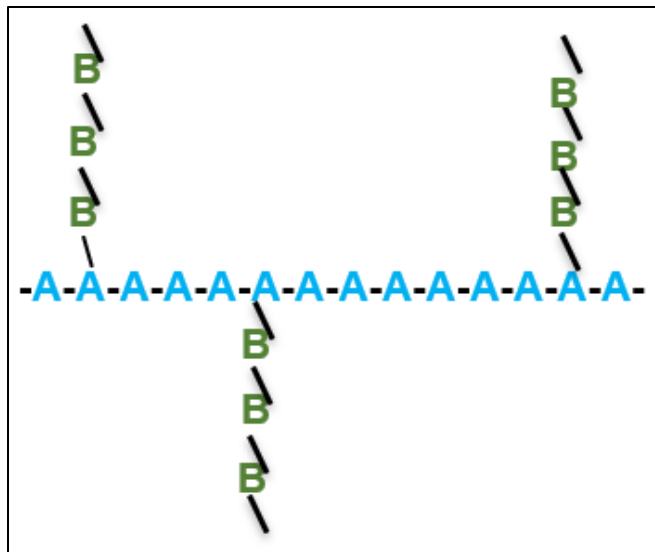
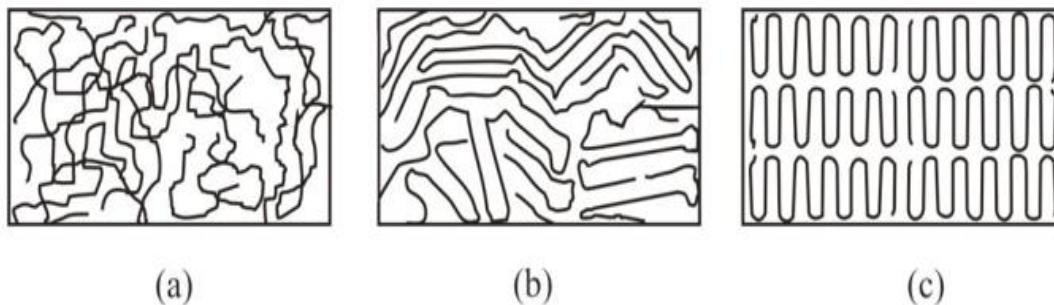


Figura 5. Ejemplo de un copolímero de injerto

La estructura química de los copolímeros es lógicamente mucho más compleja que la de los polímeros, pues al estar formados por más de un monómero, pueden variar además en su composición y en la longitud de secuencia, lo que condiciona las propiedades finales.<sup>10</sup>

#### 2.1.4. Estructura física

En los polímeros con inclinación a la cristalinidad, sus cadenas o parte de ellas pueden agruparse de manera ordenada dando origen a regiones cristalinas, mientras que las secciones desordenadas forman regiones amorfas. Los polímeros que presentan ambos tipos de regiones, es decir que son parcialmente cristalinos, se denominan semicristalinos. Por otra parte, aquéllos cuyas moléculas están en total desorden se les denominan amorfos. Con frecuencia se utiliza el término cristalino en lugar de semicristalino, aunque ningún polímero es completamente cristalino, para un mayor entendimiento se muestra la Figura 2.<sup>10</sup>



**Figura 6.** Ejemplos de la composición molecular de Sistemas amorfo (a), semicristalino (b) y cristalino (c).

Los polímeros con capacidad de cristalizar son aquellos cuyas moléculas son química y geoméricamente regulares en su estructura. Las irregularidades ocasionales, tales como las ramificaciones de la cadena, o la copolimerización de una pequeña cantidad de otro monómero limitan el alcance de la cristalización, pero no evitan que ocurra.<sup>10</sup>

## **2.2. Propiedades de los hidrogeles**

Los hidrogeles son materiales poliméricos super absorbentes, son sólidos granulares caracterizados por tener estructura tridimensional entrecruzada de cadenas flexibles. En contacto con agua, esta se desplaza hacia el interior de la partícula de hidrogel, dada la menor actividad de agua que allí se presenta; a medida que el agua se difunde, la partícula incrementa su tamaño y las cadenas poliméricas se mueven para acomodar las moléculas de agua, simultáneamente, la presencia de puntos de entrecruzamiento evita que las cadenas en movimiento se separen y por tanto se disuelvan en el agua. Recientemente se cuenta con aplicaciones de estos materiales en productos de higiene personal agricultura, forestales y horticultura, liberación controlada de fármacos, materiales de construcción, cableado eléctrico, entre otras aplicaciones.<sup>11</sup>

Los hidrogeles poliméricos son estructuras tridimensionales, capaces de absorber grandes cantidades de agua o fluidos biológicos. Se los denomina inteligentes por la posibilidad de liberar compuestos absorbidos en los mismos, de manera controlada, al ser sometidos a un estímulo externo como puede ser un cambio en la temperatura o en el pH del medio, entre otros.

Los hidrogeles pueden ser naturales o sintéticos y pueden estar compuestos por uno o varios monómeros mono o polifuncionales. Las características de estos monómeros (tipo de grupos que lo forman) y el grado de entrecruzamiento, determina las propiedades de hinchamiento del hidrogel seco y por tanto su aplicabilidad. En la mayoría de los casos, un solo monómero no proporciona al mismo tiempo buenas propiedades mecánicas y gran retención de agua, por ello la copolimerización aparece como una opción de gran interés para poder obtener un mejor compromiso de estas dos propiedades.<sup>11</sup>

Las características particulares de los hidrogeles, tales como su similitud con los tejidos humanos por su alto contenido de agua, su comportamiento reversible frente al hinchamiento-deshinchamiento con la posibilidad de tener control sobre los procesos cinéticos e interesantes propiedades mecánicas, hacen a estos materiales

muy atractivos para aplicaciones biomédicas, entre ellas la ingeniería de tejidos y la liberación controlada de fármacos principalmente.

Inicialmente los sistemas de liberación controlada se enfocaron en materiales donde la liberación era una simple función del tiempo, pero ha sido demostrado que para muchos principios activos tales cinéticas de liberación no son deseables y se puede mejorar los efectos terapéuticos mediante la modulación de la liberación de una manera controlada. El interés en el desarrollo de sistemas de liberación de fármacos estimulables ha dado lugar a un importante crecimiento del uso de polímeros que puedan responder a un estímulo externo.

Los geles que presentan tal comportamiento son denominados hidrogeles inteligentes ya que la liberación del fármaco puede ser controlada en un sitio específico o a un tiempo determinado debido a su capacidad de hincharse o colapsar en respuesta a un factor externo, tal como pH, temperatura, fuerza iónica, campo eléctrico o compuestos químicos.<sup>11</sup>

### **2.2.1. Clasificación hidrogeles de acuerdo a sus propiedades**

Dependiendo de su método de preparación carga iónica o características físicas estructurales, pueden ser clasificados en varias categorías. Basado en el método de preparación pueden ser hidrogeles homopoliméricos, hidrogeles copoliméricos, hidrogeles multipoliméricos y redes interpenetradas. Los homopoliméricos son redes entrecruzadas de un tipo de unidad monómera hidrofílica, mientras que los copoliméricos se producen por entrecruzamiento de cadenas compuestas de 2 unidades comonomeras, donde al menos una debe ser hidrofílica para permitir el hinchamiento con el agua. Los multipoliméricos son producidos por 3 o más comonomeros reaccionando juntos. Las redes interpenetradas se obtienen por dos métodos, uno en red preformada y el otro en solución. El más común es polimerizar un monómero en una red entrecruzada diferente. El monómero polimeriza para formar un polímero o una segunda red entrecruzada que está acoplada con la primera red.<sup>11</sup>

Hay otras maneras de clasificar los hidrogeles. Hidrogeles iónicos, con cargas iónicas en su estructura polimérica pueden ser clasificados como: neutral (sin carga), aniónico (sólo cargas negativas), catiónicos (sólo cargas positivas) o anfóliticos (ambas cargas). Estos últimos pueden terminar con carga negativa, positiva o neutra.

Basado en las características físico-químicas de la red, pueden ser clasificadas como: amorfos (tienen enlaces covalentes), o semicristalinos (pueden o no tener enlaces covalentes). En los amorfos las cadenas macromoleculares están al azar. Los semicristalinos están caracterizados por regiones semi-ensambladas de cadenas macromoleculares ordenadas.

También pueden ser clasificados como estables o degradables, con estos últimos categorizados como degradables enzimáticamente o hidrolíticamente. Los términos entrecruzados, uniones o punto de unión indican puntos de conexión secundaria o covalente de varias cadenas. En el caso de los enlaces covalentes, estas uniones pueden ser átomos de carbono, pero usualmente son pequeños puentes químicos con pesos moleculares mucho menores que aquellos de cadenas entrecruzadas.<sup>11</sup>

## **2.3. Mucosa y sus teorías de adhesión**

### **2.3.1. Mucoadhesion**

La adhesión es una propiedad en donde dos superficies se mantienen en contacto por medio de fuerzas intermoleculares en el caso de la mucoadhesion una de las superficies vendría siendo la mucosa que rodea un tejido<sup>12</sup>, la selección de estos materiales consiste en que no causen irritaciones a las mucosas, que sean de pequeño peso, flexibles y con una gran humectación, las ventajas que ofrecen estos materiales, como los hidrogeles son buenas propiedades mucoadhesivas y aumentar el tiempo de residencia de la forma farmacéutica en el órgano blanco mejorando la terapéutica del fármaco y desde luego una especificidad hacia el sitio de acción evitando en algunos casos el efecto del primer paso.<sup>12</sup>

### **2.3.2. Composición de la mucosa**

La mucosa es una membrana que recubre cavidades o conductos que desembocan al exterior, se encuentra en diversos órganos como el complejo del sistema tracto gastrointestinal, esta se secreta gracias a diversas glándulas tiroideas.<sup>13</sup>

Su composición es alta en glucoproteínas, dándole la propiedad un tipo de células denominadas como CAM (Cell adhesion molecules) que puede realizar interacciones célula-célula.<sup>14</sup>

Su composición química se encuentra a la N-acetilgalactosamina formando enlaces o-glicosilados con los amino terminales de la cadena polimérica que en ella también se alterna con la fucosa, estos al formar la unión con la proteína se dejan residuos como la galactosa y el ácido siálico aumentando el pH de la mucosa y adquiriendo una carga eléctrica a las proteínas del sistema.<sup>15</sup>

### **2.3.3 Teorías de mucoadhesion**

Existen diversas teorías que explican el mecanismo de la bioadhesion a la mucosa estos modelos son obtenidos gracias a la experimentación y el desarrollo de modelos matemáticos, a continuación, se explican las teorías más distinguidas de este fenómeno.

#### **2.3.3.1. Teoría electroestática**

De acuerdo con la teoría electrónica, por medio de la diferencia de potencial eléctrico que existe con la superficie de la mucosa y del hidrogel se va a generar una transferencia de electrones donde se formara un campo eléctrico y la atracción por diferencia de cargas va a ocurrir entre ambas superficies logrando que se junten. En esta teoría influyen las cargas ionizantes de las cadenas poliméricas tanto del hidrogel como de las glucoproteínas.<sup>12</sup>

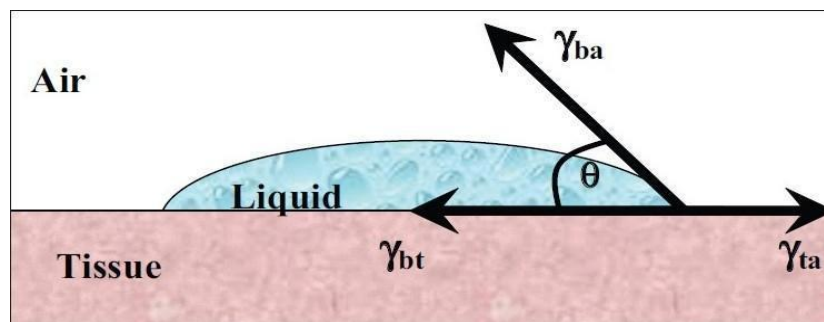
### 2.3.3.2. Teoría de absorción

Esta teoría nos menciona que la adhesión entre ambas superficies ocurre por las fuerzas secundarias de ambas generando un contacto en ellas, las fuerzas secundarias o mejor conocidas como débiles por lo regular ocupan un contacto muy íntimo para que exista una atracción pero en el caso de las glucoproteínas y los hidrogeles al ser sustancias poliméricas y poseer un alto peso molecular sus fuerzas secundarias llegan a tener mucha influencia sobre sus propiedades llegando a ser muy notorias y logrando una gran atracción entre ellas, aquí prevalecen las fuerzas de van der Waals, puentes de hidrogeno y fuerzas de dispersión, aunque estas fuerzas no solo contribuyen en la adhesión, también las fuerzas primarias como por ejemplos los enlaces iónicos, gracias a la ionización de las cadenas laterales se crean una atracción, ejecutando una buena adhesión con las superficies.<sup>12</sup>

### 2.3.3.3. Teoría de la humectación

Esta teoría postula que la adhesión ocurre por medio de la penetración en las irregularidades de la mucosa, aplicando para líquidos y líquidos de baja viscosidad. Cuenta con un modelo matemático que describe mejor el mecanismo de adhesión, partiendo de las fuerzas de tensión generada.<sup>16</sup>

Cuando el líquido entra en contacto con el tejido ocurre lo que se observa a continuación en la Figura 7.



**Figura 7.** Esquema de un líquido bioadhesivo en contacto con un tejido.

Al observar el líquido podemos ver que se generan varias tensiones llegando a un equilibrio dinámico entre un sólido que es el tejido un líquido que es el material

bioadhesivo y un gas que es el aire del ambiente, cada fuerza tiene una oposición que influye en las fuerzas de tensión de cada componente del sistema.<sup>16</sup>

Si generamos un diagrama de fuerzas podemos ver que se genera un ángulo  $\theta$  dependiendo de su inclinación es si el líquido es capaz de penetrar un tejido, usando las propiedades de los ángulos y catetos obtenemos:

$$\text{Cos}(\theta) = \frac{\gamma_{bt} - \gamma_{ta}}{\gamma_{ba}}$$

Donde  $\theta$  es el ángulo de contacto con el material y el tejido,  $\gamma_{bt}$  es la tensión entre el polímero y el tejido,  $\gamma_{ta}$  es la tensión entre el tejido y el aire y  $\gamma_{ba}$  es la tensión entre el polímero y el aire despejando  $\gamma_{ta}$  obtenemos:

$$\gamma_{ta} = \gamma_{bt} + \gamma_{ba} \text{Cos}(\theta)$$

Ecuación 1

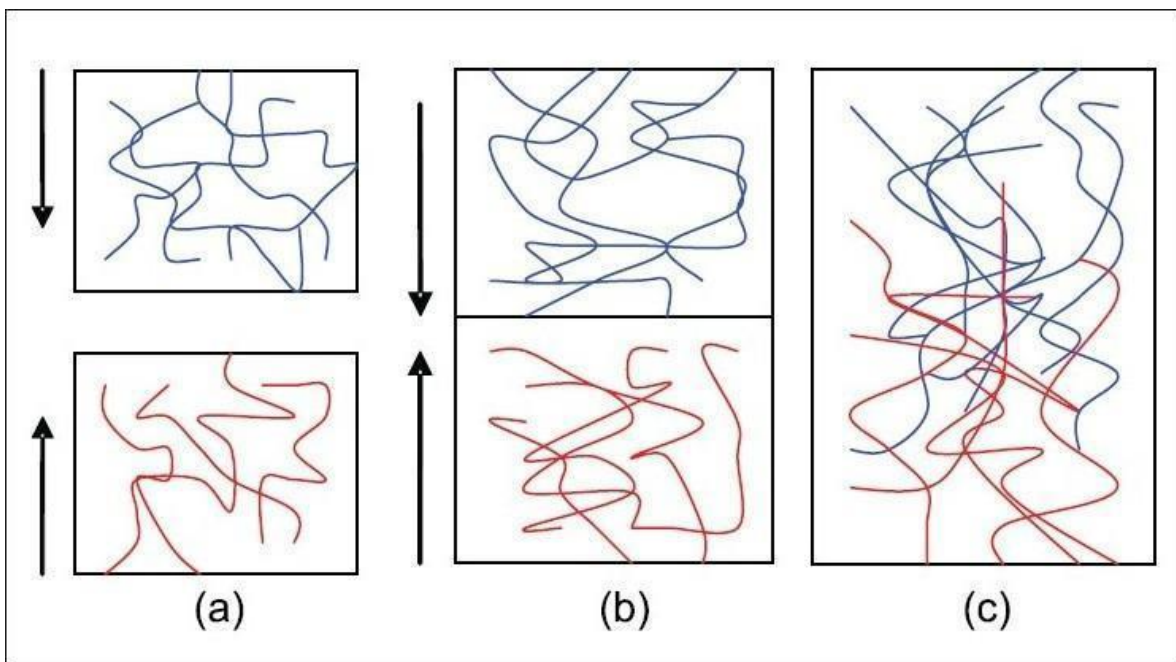
A la Ecuación 1. se le conoce como la ecuación de Young-Laplace<sup>17</sup> donde nos describe el comportamiento de un líquido a través de las superficies en esta ecuación el numerador si  $\gamma_{ta}$  es mayor que  $\gamma_{bt}$  el ángulo de contacto es menor a 90° grados mientras que si  $\gamma_{bt}$  es mayor a  $\gamma_{ta}$  entonces el ángulo será mayor a 90° grados.<sup>12</sup>

La interpretación de estos ángulos significa que entre menor sea el ángulo 90° se dice que el líquido logró mojar la superficie o para estos fines que el material si penetra la superficie del tejido mientras que si el ángulo es mayor a 90° se dice que el material es hidrófobo al tejido y que no logra penetrar a la superficie entre más cerca a 0° el ángulo el material es más afín a la adhesión <sup>16</sup>

#### 2.3.3.4. Teoría de difusión

Esta teoría describe que el polímero que entra en contacto con el tejido ocurrirá una interpenetración entre las cadenas poliméricas y las glucoproteínas llegando a formar un enlace “semi permanente”<sup>16</sup>

El inicio de este mecanismo consiste en el contacto por parte del hidrogel generando un gradiente de concentración, y penetrar con mayor profundidad al tejido, logrando crear la adhesión en la Figura 8. Se muestra un esquema de cómo es la interpenetración entre la cadena polimérica y las glucoproteínas<sup>16</sup>



**Figura 8.** Esquema de interpenetración entre la cadena polimérica y glucoproteína

A más detalle la Figura 8 nos muestra en (a) la cadena polimérica que está muy distante de las glucoproteínas, en (b) llegar a tener contacto las superficies del hidrogel y el tejido en este momento existe un gradiente de concentración donde se va a restablecer el gradiente entre ambas fases, (c) es desde luego ese gradiente que se estabiliza logrando la unión “semipermanente” entre ambas superficies.<sup>12</sup>

Las condiciones que puedan afectar la difusión del hidrogel son desde luego la composición de la cadena, la flexibilidad de estas y su coeficiente de difusión.<sup>18</sup>

### 2.3.3.5. Teoría de la fractura

Esta teoría describe la fuerza requerida para separar dos superficies<sup>12</sup> que tiene contacto después de a ver ocurrido la adhesión, utilizada en la medida mecánica de la mucoadhesion gracias a la siguiente ecuación:<sup>16</sup>

$$Sm = \frac{fm}{A} \quad \text{Ecuacion 2}$$

La ecuación 2 nos permite determinar la fuerza máxima de tensión generada durante el desprendimiento, es la fuerza desprendimiento entre el área total de la superficie y el líquido.<sup>19</sup>

## 2.4. Sistemas de liberación

Los sistemas de liberación de fármacos son usados como medio o vehículo para la administración de un producto farmacéutico a un paciente y están compuestos por materiales biocompatibles que son sensibles a variables fisiológicas especiales o a estímulos fisicoquímicos externos los cuales son capaces de activar la liberación de una molécula activa en el lugar correcto y a una velocidad ajustada a la progresión de la enfermedad o en respuesta a funciones especiales (pH, temperatura, luz, campo eléctrico) que son de interés.

Con esta técnica se trata de eliminar o reducir los efectos secundarios produciendo una concentración terapéutica del fármaco que sea estable en el organismo. Se busca alcanzar una cinética de orden cero, lo que significa que la velocidad de liberación es independiente del tiempo y no suelen existir cambios en la concentración del fármaco en el organismo.

Es muy importante controlar la liberación de algunos fármacos ya que no se obtiene la acción farmacológica deseada con el uso de formas de dosificación de liberación

rápida. Entre este tipo de fármacos tenemos por un lado aquellos que son solubles en agua y que requieren una liberación más lenta y una duración de la acción prolongada; por otro lado, los fármacos lipófilos, que tienen que aumentar su solubilidad para poder alcanzar niveles terapéuticos; también los de vida media corta, que necesitarían una administración repetida y, por último, los que tienen acción específica y necesitan ser administrados en el sitio diana.

Los sistemas de liberación controlada de fármacos se utilizan para obtener:

- Compuestos terapéuticos con concentración constante en sangre y que presenten las menores fluctuaciones posibles
- Velocidades de liberación predecibles a largo plazo
- Evitar la degradación de compuestos con vida media corta antes de su llegada al lugar de acción y solucionar los problemas de estabilidad farmacológica
- Eliminar los efectos secundarios, la pérdida de fármaco y la dosificación frecuente
- Un mejor cumplimiento del tratamiento por parte paciente y una terapia optimizada

Si se previene la degradación prematura y se mejora la absorción, los sistemas de liberación controlada de fármacos mejoran la biodisponibilidad. Si seleccionamos fármacos que actúen sobre las células diana del sitio de la enfermedad se reducen los efectos secundarios y si controlamos la velocidad de liberación se mantienen unos niveles de fármaco constantes.

#### **2.4.1. Sistemas de liberación en hidrogeles**

Los hidrogeles tienen dos tipos importantes de sistemas: hinchamiento rápido en dispositivos controlados por la difusión e hinchamiento lento en dispositivos controlados por el hinchamiento. El hinchamiento puede controlar o no la liberación, dependiendo de la tasa relativa de la relajación macromolecular del polímero y la difusión del fármaco en el gel.

La liberación del fármaco depende simultáneamente de la tasa de migración de agua al dispositivo, hidratación y relajación de la cadena polimérica, seguida de la disolución del fármaco y la difusión al exterior del gel hinchado. El continuo hinchamiento de la matriz causa que la droga se difunda más fácilmente mitigando la pendiente de la curva de liberación. El efecto neto del proceso de hinchamiento es prolongar y linealizar la curva de liberación.

Los mecanismos cinéticos más importantes que regulan la velocidad de liberación controlada de un fármaco son la difusión, el hinchamiento y la erosión.

## CAPÍTULO III EXPERIMENTAL

### 3.1 Síntesis de hidrogeles

Se prepararon hidrogeles de metacrilato de N,N-dimetilaminoetilo-co-metil metacrilato de sus siglas en inglés (DMAEMA/MMA) y el metacrilato de N,N-dietilaminoetilo-co-metacrilato de metilo (DEAEMA/MMA) por el método de radicales libres manteniendo la proporción molar de 30/70% para los dos tipos de hidrogeles, empleando azobisisobutironitrilo (AIBN) 0.5% (p/p) como iniciador y entrecruzados con 0.1% y 0.3% (p/p) de dimetilacrilato de etilenglicol (EGDMA). Obteniendo finalmente las siguientes cuatro preparaciones:

**Tabla 1.** Formulaciones preparadas de hidrogeles

<b>Monómeros</b>	<b>Proporción</b>	<b>Entrecruzante</b>	<b>Porcentaje</b>
DMAEMA-co-MMA	30-70%	EGDMA	0.1%p/p
DMAEMA-co-MMA	30-70%	EGDMA	0.3%p/p
DEAEMA-co-MMA	30-70%	EGDMA	0.1%p/p
DEAEMA-co-MMA	30-70%	EGDMA	0.3%p/p

La síntesis se llevó a cabo añadiendo las cantidades necesarias del monómero, el iniciador y el entrecruzante en un matraz bola de 100 ml con agitación constante, utilizando una barra magnética. Se colocó un tapón de goma a la boca del matraz bola y después se inyectó gas nitrógeno por medio de una aguja introducida en el tapón, al mismo tiempo también se inyectó otra aguja en uno de los extremos del tapón para que existiera una salida del gas, ya que se pudo haber provocado una sobrepresión en el matraz, esto con el fin de crear una atmósfera inerte. El burbujeo se llevó a cabo por un lapso de 20 minutos.

Posteriormente el producto de la reacción se colocó en moldes de vidrios silenizados por medio de una pipeta e inmediatamente se llevó a un horno en condiciones de vacío y a temperatura de 55°C, manteniendo así el sistema inerte. Al pasar 24 horas, las placas fueron retiradas del horno y en seguida los hidrogeles preparados fueron desprendidos, como anteriormente fue descrito.

Se realizaron lavados con soluciones de metanol/agua en una proporción porcentual del 40%/60% para eliminar monómero residual que no haya reaccionado. Las placas se dejaron reposar en la solución por 24 horas por un intervalo de 72 horas totales, renovando la solución en cada intervalo. Finalmente se seccionaron en forma de discos de 1 cm de diámetro, para después dejarlos secando a temperatura ambiente, y se volvieron a introducir en el horno de vacío a 60 °C por 12 horas. Al terminar el tiempo los hidrogeles se retiran del horno y se resguardan para sus posteriores pruebas de caracterización.

## **3.2 Caracterización de hidrogeles**

### **3.2.1 Grado de hinchamiento**

En esta prueba se calculó el grado de hinchamiento de los hidrogeles, que consiste en la determinación de agua captada dentro de la estructura del polímero, con base a la ecuación 1. Para ello, fueron registrados los pesos de cada uno de los discos de hidrogel secos y así contar con un peso inicial. Posteriormente se prepararon soluciones amortiguadoras de pH 1 al 8 se colocó 100 mL de cada una de estas soluciones en vasos precipitados. Posteriormente se agregó un disco de hidrogel en cada una de las soluciones, dejándolo reposar por 24 horas. Se pesaron los hidrogeles inmediatamente al pasar las 24, 48 y 72 horas, triplicando dicha prueba. Con los datos obtenidos se procedió a determinar el grado de hinchamiento por medio de una relación con el pH, representada en una gráfica (Fig. 9). Los experimentos se realizaron por triplicado, posteriormente se calculó el grado de hinchamiento por medio de esta fórmula

$$Q = \frac{W_t - W_o}{W_o} \quad \text{(Ecuación 3)}$$

### **3.2.2 Cinética de hinchamiento**

Se prepararon tres soluciones amortiguadoras de pH 1.2, 6.8 y 7.4, en donde se les colocó un hidrogel, previamente pesados, en cada solución de 100 mL. Esto con el

fin de poder evaluar el comportamiento de los geles en distintos medios fisiológicos, siendo análogo al sistema digestivo. Las soluciones amortiguadoras con el hidrogel fueron colocadas en un baño de temperatura con movimientos oscilatorios, este equipo se encarga de realizar la simulación de las condiciones en el estómago, con las siguientes condiciones: temperatura de 37°C y a 50 rpm. Se retiraron los hidrogeles en los siguientes tiempos que se enlistan a continuación: 15 min, 30 min, 45 min, 1 h, 2 h, 4 h, 8 h, 12 h y 24 h, con el objetivo de registrar los pesos de los geles. Una vez finalizada la prueba, los datos se analizaron con la ecuación 1 y posteriormente se realizó el gráfico de tiempo contra el grado de hinchamiento (Fig. 11). Todos los experimentos se realizaron por triplicado.

### **3.2.3 Cargado de fármaco en hidrogeles**

Se seleccionaron las siguientes preparaciones de hidrogel DMA/MMA y DEAEMA/MMA con un entrecruzamiento de 0.3% W/W. Estos hidrogeles se colocaron en solución de amoxicilina con una concentración de 10 mg/mL, dejando el hidrogel por 72 horas en agitación constante; sin embargo, cada 24 horas la solución de amoxicilina fue renovada. Al término del tiempo indicado, los geles se secaron en el horno a vacío por 24 horas, se lavaron Y estos hidrogeles cargados con amoxicilina se procedió con la prueba de liberación.

### **3.2.4 Liberación de fármaco**

Los hidrogeles cargados con amoxicilina fueron colocados en un baño de temperatura bajo condiciones de 37°C y 50 rpm, en una solución amortiguadora pH de 1.2 con 100 mL. Se asignaron los siguientes tiempos de muestreo: de 15 min, 30 min, 45 min, 1 h, 2 h, 4 h, 8 h, 12 h y 24 h, tomando muestras de 1 mL en cada intervalo de tiempo, recolectando las muestras y reponiendo el volumen de medio retirado. Posteriormente se analizaron la muestra en espectrofotómetro UV-Visible (DU 520 Beckman Coulter) a una longitud de onda de 272 nm y utilizando como blanco la solución amortiguadora pH 1.2. Previamente se realizó una curva de

calibración. Una vez obtenido los datos se realizó el gráfico de fracción del fármaco liberado con respecto al tiempo (Fig. 14).

### **3.2.5 Pruebas de mucoadhesion**

Se utilizó un texturómetro (Brookfield CT3) se empleó tejido de estómago de cerdo, específicamente la zona del píloro, donde normalmente se ubica el *Helicobacter pylori*. El tejido se colocó en el anillo interior de la cámara del equipo, luego se acomodó en un baño a 37 °C y 250 mL de pH 6.8. En la sonda del texturometro se colocó el hidrogel utilizando cinta doble adhesiva, apoyándonos con el software después se hizo bajar el pistón para ejercer presión contra la mucosa de cerdo con 2 N de fuerza de presión por 120 s de tiempo de contacto, este parámetro se determinó elaborando una curva de humectación y así definir el tiempo de contacto óptimo para el gel. El resultado óptimo fue a las 120 segundos y posteriormente las condiciones establecidas 2N, 120 segundos como tiempo de contacto y la sonda fue retirada con 1 m/s de velocidad. Evaluando el parámetro la fuerza de desprendimiento.

### **3.2.6 Microscopía electrónica de barrido**

Se tomaron muestras de hidrogel DMAEMA y DEAEMA al 0.3 p/p% entrecruzados con EGDMA sin fármaco y cargados con fármaco después de realizar la prueba de mucoadhesion. Las muestras se fueron recubiertas con haz de oro y de esta manera existe mejor contacto con el rayo de electrones del microscopio. Los enfoques utilizados para observar fueron 100x, 500x y 1000x.

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

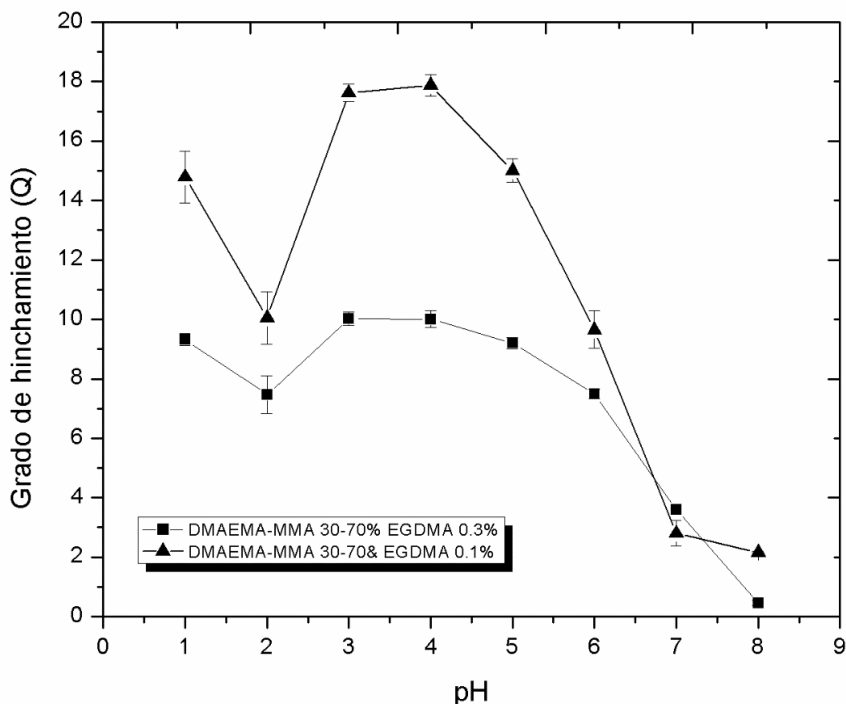
#### **4.1 Preparaciones de hidrogeles**

Se obtuvieron hidrogeles de DMAEMA-co-MMA y de DEAEMA-co-MMA en proporciones de 30-70% molar con diferentes porcentajes de entrecruzamiento de 0.1 y 0.3 p/p de EGDMA, como se exhibe en la Tabla número 1 *“Formulaciones preparadas de hidrogeles”*.

#### **4.2 Caracterización**

Para la caracterización se realizaron pruebas de grado de hinchamiento donde la Figuras 5-6 nos enseñan su comportamiento al cambiar monómeros y proporciones de entrecruzante.

### 4.2.1 Grado de hinchamiento

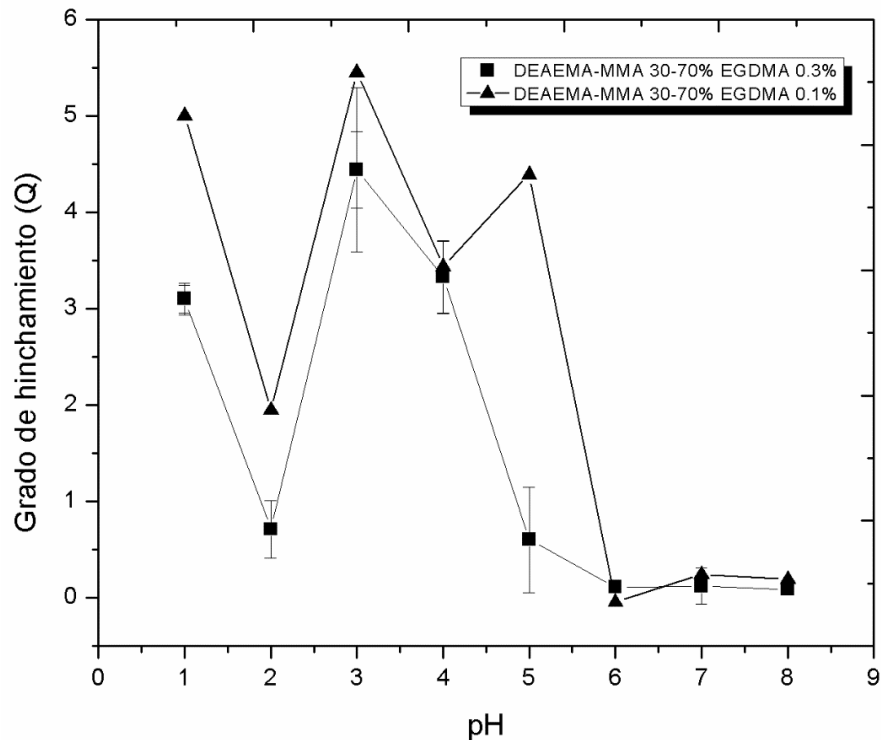


**Figura 9.** Grado de hinchamiento contra el pH de DMAEMA/MMA 30/70 entrecruzado al 0.3% y 0.1% de EGDMA.

En la Figura 9. representa el comportamiento de los hidrogeles de 30/70 DMAEMA-MMA con un grado de entrecruzamiento al 0.3 y 0.1%. Se puede observar que las preparaciones de DMAEMA-MMA al 0.3% de EGDMA en medios ácidos el grado de hinchamiento es muy elevado logrando hincharse un poco más de 20 veces su tamaño de su peso inicial en el rango entre 1 a 4 de pH, este comportamiento es similar con lo que se encuentra reportado en hinchamiento de hidrogeles ácido/básico es alrededor del 200% en pH ácido<sup>20</sup>. Conforme el medio aumenta su pH hacia básico el grado de hinchamiento se observa una disminución en el hinchamiento.

El entrecruzamiento a un 0.3% p/p en la misma formulación de la preparación de DMAEMA/MMA al aumentar el grado de entrecruzamiento, se puede describir que el hinchamiento se encuentra influenciado debido a las fuerza<sup>24</sup> que genera el entrecruzante en las cadenas poliméricas.

En comparación del hidrogel con proporción de 0.1% de entrecruzamiento, se observa una reducción en el hinchamiento, sin embargo, se observa el mismo comportamiento de hinchamiento en los medios ácidos y posteriormente una reducción en medios básicos.



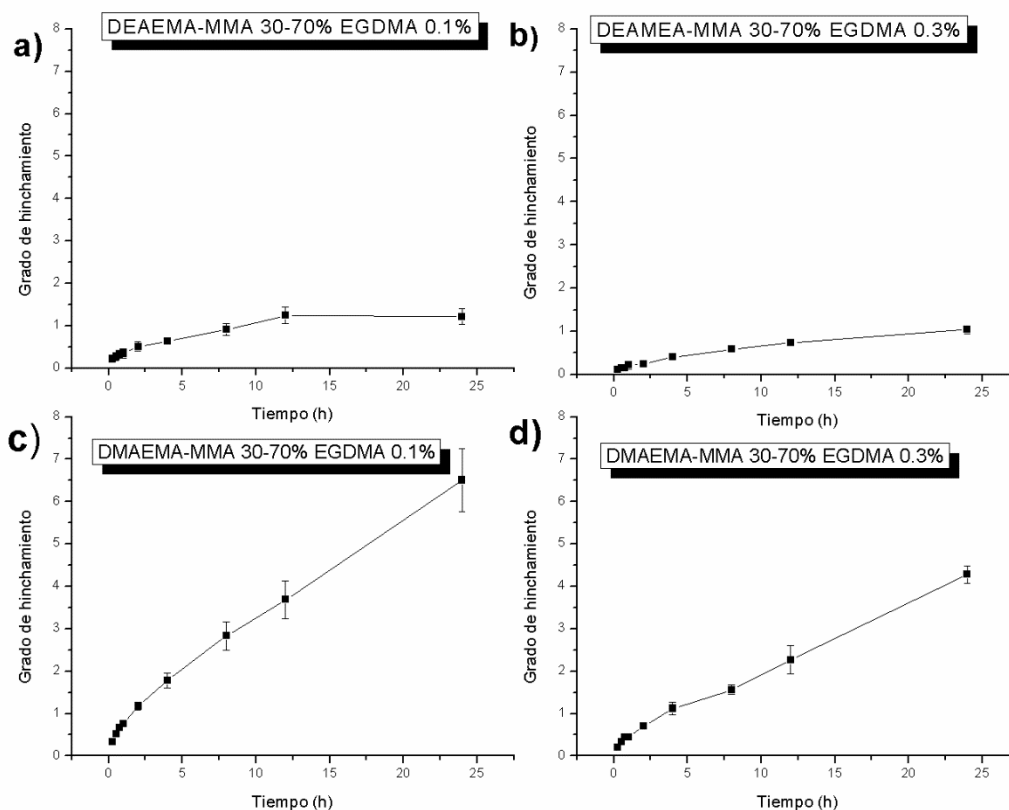
**Figura 10.** Grado de hinchamiento contra el pH de DEAEMA/MMA 30/70 entrecruzado al 0.3% y 0.1%

La Figura 10 nos muestra el comportamiento de una fórmula con 30/70 DEAEMA/MMA con un grado de entrecruzamiento con EGDMA al 0.1% y 0.3%. Se observa que a pH 1 se obtiene un hinchamiento del 30%, se ve una reducción del hinchamiento en el pH 2, sin embargo, en el pH 3 y 4 aumenta el hinchamiento entre un 40% y un 30% de su tamaño inicial. En los medios posteriores (5-8) se disminuyó el hinchamiento y se mantuvo una tendencia de hinchamiento nulo.

Se encuentra reportado que al aumentar la cadena alifática del DEAEMA las cadenas del polímero se vuelven menos hidrofílicas reduciendo su hinchamiento a diferencia de la Figura 9.

Se puede observar que el aumento del entrecruzamiento al 0.3% ocasiona que el hidrogel se hinche cada vez menos a comparación del resto de las formulaciones tiene un comportamiento similar su formulación anterior siendo. Pero en algunos intervalos de pH permanece muy bajo el grado de hinchamiento siendo esta formulación la que menos hinchamiento tuvo respecto a las anteriores.

### 4.3 Cinéticas de hinchamiento

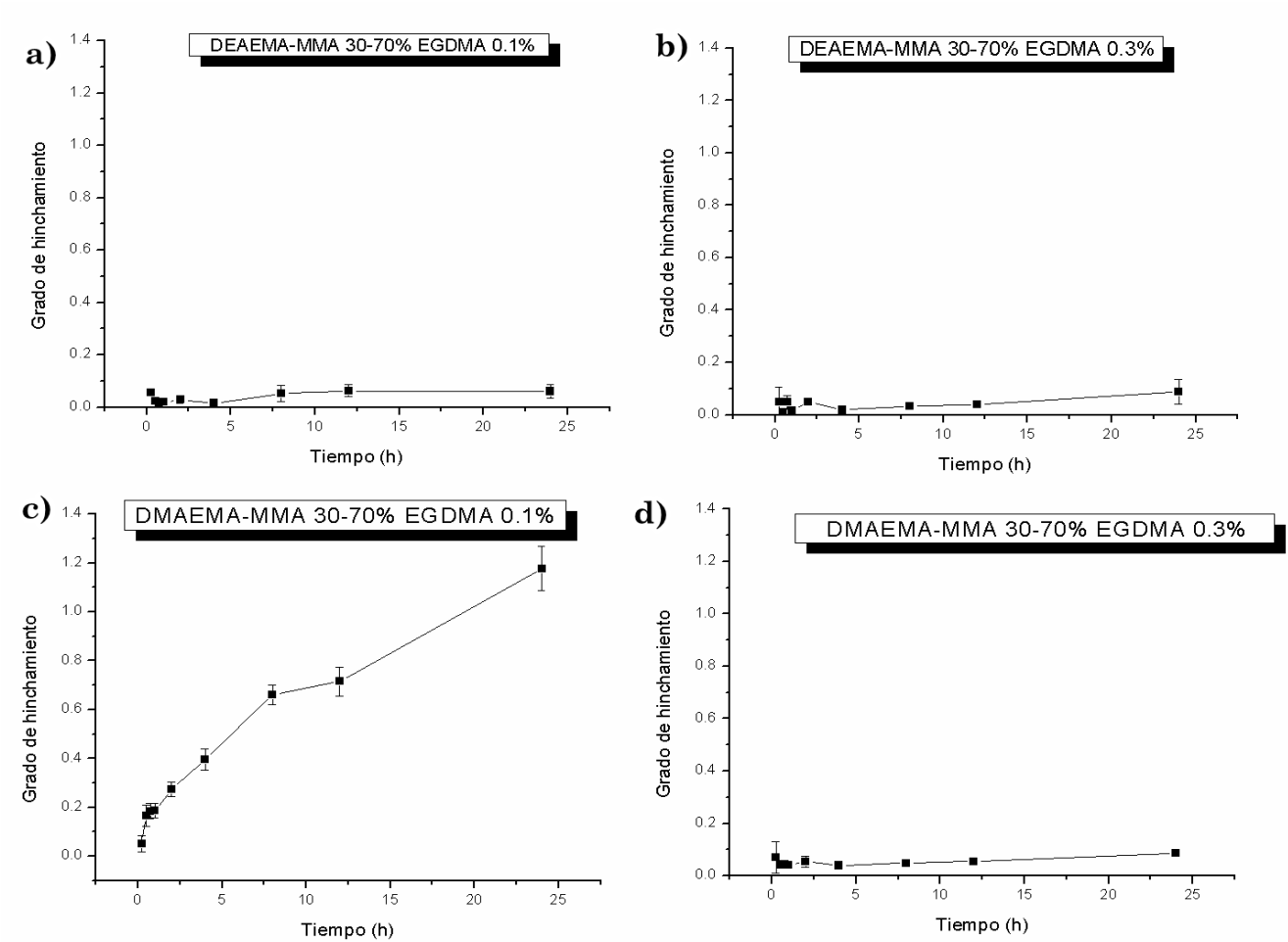


**Figura 11.** Cinéticas de hinchamiento en todas las preparaciones de hidrogeles a buffer 1.2 **a)** DEAEMA/MMA 0.1% EGDMA **b)** DEAEMA/MMA 0.3% EGDMA **c)** DMAEMA/MMA 0.1% EGDMA **d)** DMAEMA/MMA 0.3% EGDMA

En la Figura 11 se muestran las cinéticas de las cuatro preparaciones en buffers de pH 1.2. Donde en la Figura 11a) y 11b) los resultados pertenecen a las formulaciones con DEAEMA-co-MMA en los grados de entrecruzamiento 0.1 y 0.3% respectivamente. Se muestra claramente que la Figura 11b) tiene un hinchamiento menor comparándose con a) esto se debe a que las cadenas poliméricas se encuentran mayormente entrecruzadas y existen mayores interacciones químicas.

Las figuras 11c) y 11d) son las preparaciones de DMAEMA-co-MMA con los grados de entrecruzamiento de 0.1 y 0.3% respectivamente, si comparamos con las figuras

11a) y 11b) observamos que el grado de hinchamiento disminuye por el aumento de las cadenas alifáticas del monómero DEAEMA.

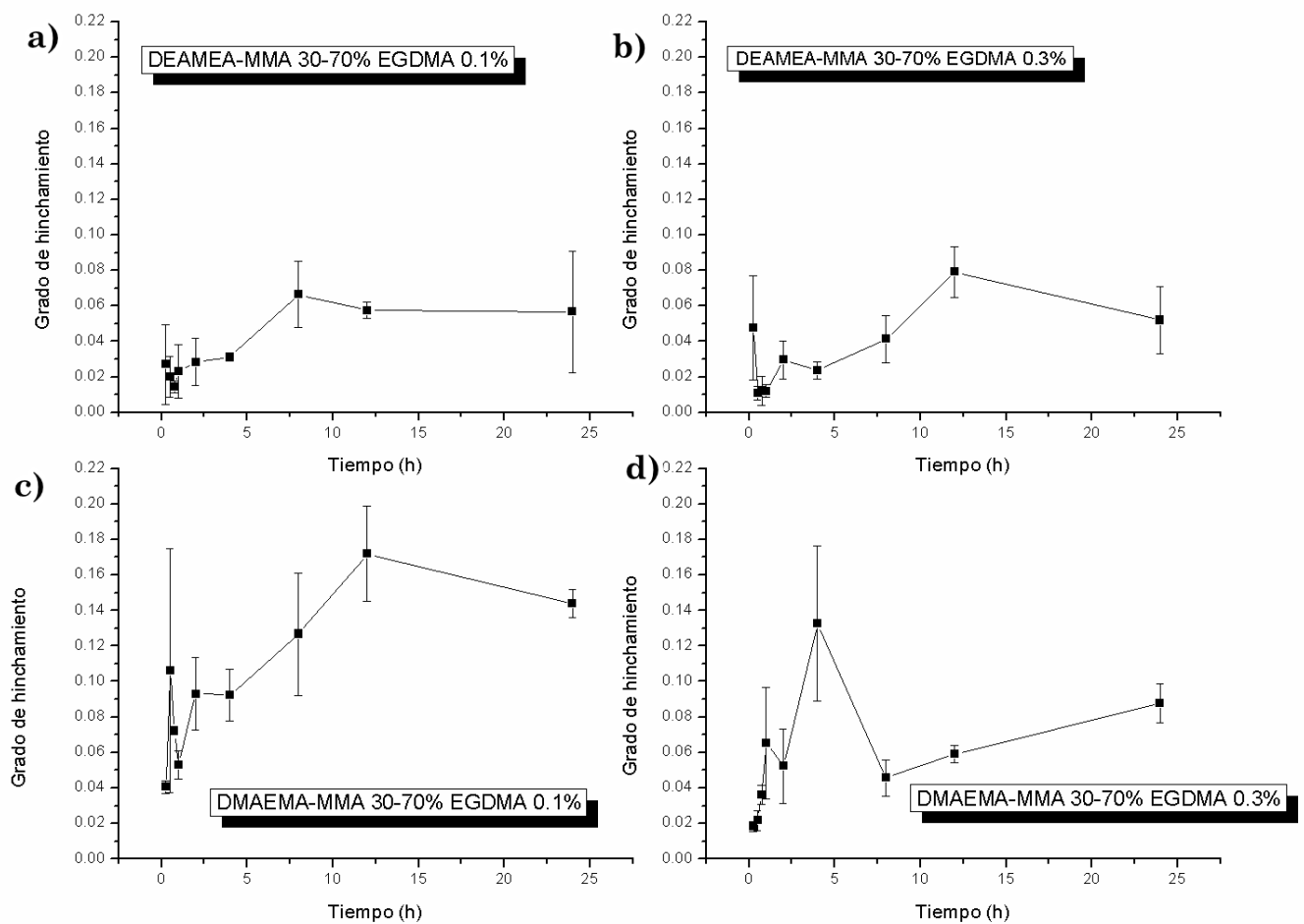


**Figura 12.** Cinéticas de hinchamiento en todas las preparaciones de hidrogeles a buffer 6.8 a) DEAEMA/MMA 0.1% EGDMA b) DEAEMA/MMA 0.3% EGDMA c) DMAEMA/MMA 0.1% EGDMA d) DMAEMA/MMA 0.3% EGDMA

En la Figura 12 se muestra las cinéticas de hinchamiento en buffer de 6.8. En esta figura el a) y b) pertenece a las preparaciones de DEAEMA con un grado de entrecruzamiento de 0.1 y 0.3% respectivamente. Este comportamiento de la cinética de hinchamiento de estas preparaciones en pH 6.8 son parecido al que se

encuentra con el pH 1.2 Al ir aumentando la concentración del entrecruzante el hinchamiento se ve reducido,

Mientras que en la figura 12 c) y d) pertenece a las preparaciones con DMAEMA, sigue la misma tendencia, gracias a que la cadena alifática del grupo amino del monómero tiene menos carbonos por lo tanto la polaridad es aumentada, favoreciendo el grado de hinchamiento. Como panorama general al aumentar el pH del medio, el hinchamiento se ve reducido a comparación de la figura anterior.



**Figura 13.** Cinéticas de hinchamiento en todas las preparaciones de hidrogeles a buffer 7.4 a) DEAEMA/MMA 0.1% EGDMA b) DEAEMA/MMA 0.3% EGDMA c) DMAEMA/MMA 0.1% EGDMA d) DMAEMA/MMA 0.3% EGDMA

En la figura 13 se muestran las cinéticas de hinchamiento de las preparaciones de las preparaciones de DEAEMA/MMA al 0.1 y 0.3% de EGDMA al igual que las preparaciones de DMAEMA/MMA al 0.1 y 0.3% de EGDMA. La figura 13 a) nos muestra que una vez aumentando el pH, el hinchamiento se ve totalmente afectado, reduciéndolo a casi nulo a comparación de las cinéticas anteriores.

Este fenómeno ocurre de igual manera como se describe en la figura 12 por las cadenas laterales del monómero, siendo a) y b) las formulaciones con DEAEMA con un entrecruzamiento de 0.1 y 0.3% respectivamente se puede observar que se sigue la misma tendencia en cuanto la adición del entrecruzamiento, sin embargo, el hinchamiento es totalmente reducido debido al aumento del pH.

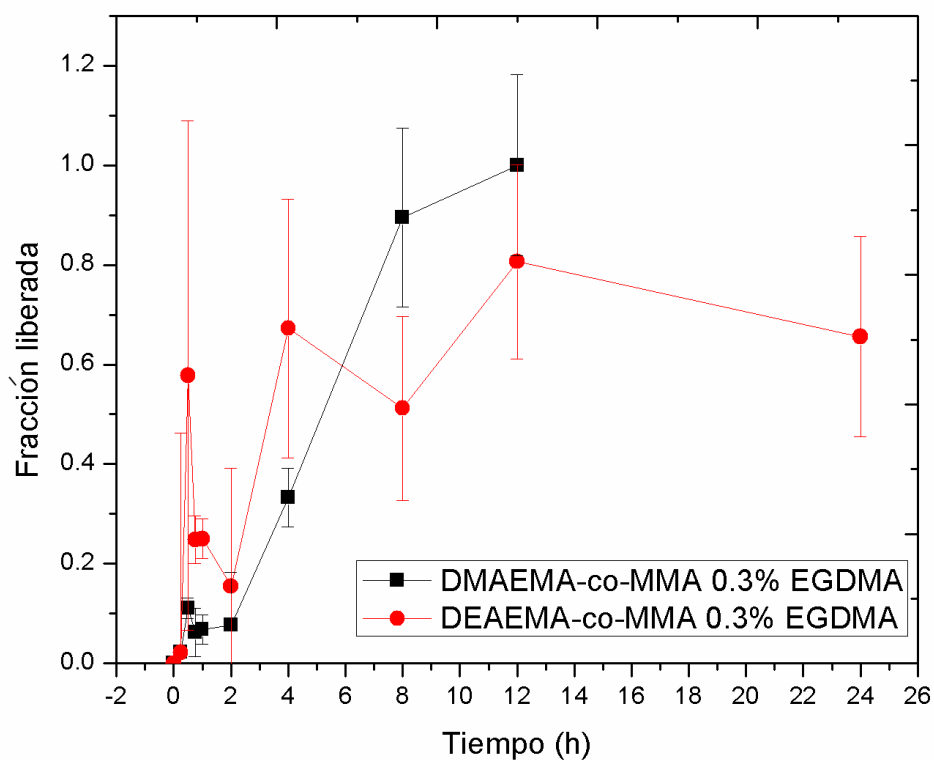
Por otra parte, c) y d) son para DMAEMA con 0.1y 03% respectivamente de entrecruzamiento, de la misma manera al aumentar el pH se reduce. Al aumentar el entrecruzamiento de 0.1 a 0.3% este sigue disminuyendo aún más. Podemos observar un pH muy básico y una concentración de entrecruzante, esto hace que el hinchamiento sea muy nulo.

#### **4.4 Liberación de fármaco**

Para las pruebas de liberación se seleccionaron las siguientes preparaciones:

- DMAEMA-co-MMA 30-70% con 0.3% p/p EGDMA
- DEAEMA-co-MMA 30-70% con 0.3% p/p EGDMA

En base a los resultados observados en las pruebas de grado de hinchamiento y cinética de forma general se sigue el comportamiento esperado que al adicionar una mayor proporción de entrecruzante, el comportamiento decrece. Por lo que las preparaciones mencionadas anteriormente son las que cuentan con las propiedades ideales para una liberación sostenida. Estas serán introducidas en soluciones de buffer pH 1.2, ya que simulan el pH fisiológico del estómago. se asignaron tiempos de muestreo se midió la absorbancia de amoxicilina liberada y estos fueron los resultados obtenidos.



**Figura 14.** Liberación de amoxicilina en la preparación de hidrogeles **a)** DMAEMA-MMA **0.3% EGDMA b)** DEAEMA-MMA **0.3% EGDMA**

En la Figura 14 a) se muestra la liberación de amoxicilina en la preparación de DMAEMA-MMA al 0.3%. a partir de las 12 horas el hidrogel termina de expulsar toda la cantidad de fármaco.

**Tabla 2.** Liberación de DMAEMA-MMA al **0.3%** EGDMA tiempo contra fracción liberada con (SD) desviación estándar.

Tiempo	Fracción liberada (SD)
0.25	0.023 (0.0208)
0.50	0.111 (0.0490)
0.75	0.062 (0.0294)
1	0.069 (0.1056)
2	0.077 (0.0594)
4	0.333 (0.1791)
8	0.895 (0.1813)
12	1 (0)

Por otra parte, en la Figura 14b) muestra la fracción liberada de amoxicilina para la preparación de hidrogeles con DEAEMA-MMA al 0.3% se muestra una liberación de manera uniforme comparado con la gráfica anterior, llegando a mantenerse 24 horas.

**Tabla 3.** Liberación de DEAEMA-MMA al 0.3% EGDMA tiempo contra fracción liberada con (SD) desviación estándar.

Tiempo h	Fracción liberada (SD)
0.25	0,022 (0.440)
0.50	0,578 (0.510)
0.75	0,248 (0.050)
1	0,250 (0.040)
2	0,155 (0.240)
4	0,672 (0.260)
8	0,512 (0.180)
12	0,806 (0.190)
24	0,656 (0.200)

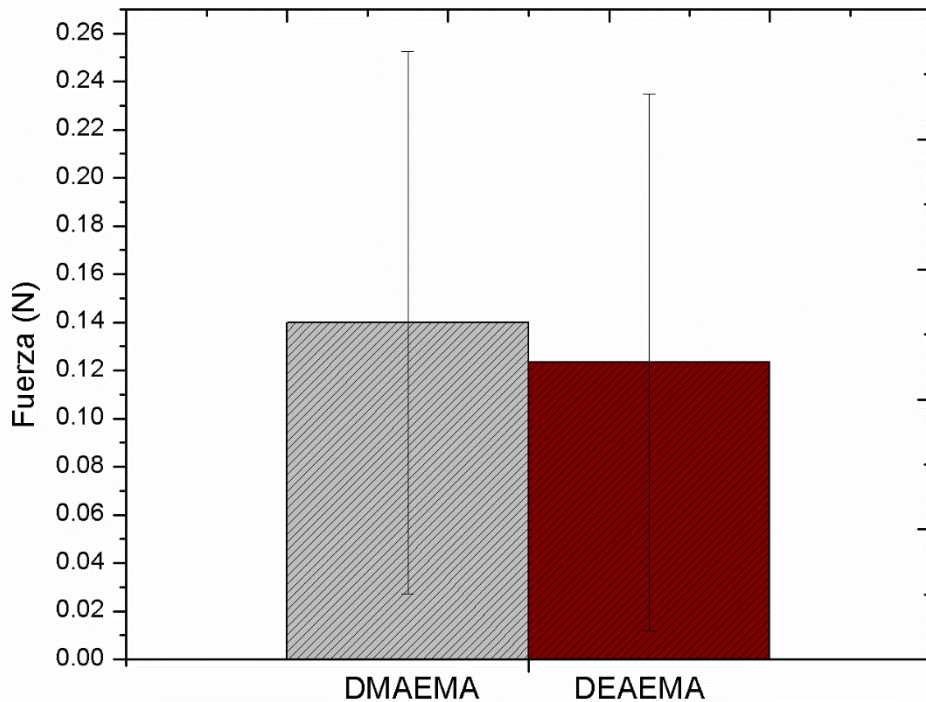
Existe en la bibliografía liberaciones de amoxicilina con monómeros aminados, como panorama general en la liberación existen trabajos como el de Torre<sup>21</sup>. En el cual se utilizan hidrogeles acrílicos de PAA-co-CS (de sus siglas ingles de poli ácido acrílico-co-quitosano), pero se observa que se llegan a liberaciones de 5 horas a pesar de que también se usa como copolímero al quitosano. Ya que este polímero tiene propiedades que mejoran la adhesión, en este caso el uso de monómeros aminados es para mejorar esa mucoadhesion pero debido a la ionización a pH 1.2 puede que la liberación sea demasiado rápida para la formulación que se utiliza, o se consideraría aumentar el grado de entrecruzamiento,. Sin embargo existen estudios de Ali Said<sup>22</sup> en el cual utiliza la técnica de copolimerización y radiación

por inducción de rayos gamma a monómeros de DMAEMA, aumentando considerablemente el entrecruzamiento logrando realizar liberaciones de hasta 20 horas pero en este estudio no se utilizó antibióticos si no antiinflamatorios que fue el ketoprofeno, como podremos observar utilizar monómeros aminados como DMAEMA y DEAEMA causan una liberación muy rápida, considerando usar otras técnicas para prolongar la liberación como lo es la inducción de rayos o por lo menos aumentar mas el grado de entrecruzamiento.

En las gráficas también influye las desviaciones al ser tan grandes podemos interpretar que la homogeneidad de las muestras es dispersa y esto se comprueba ya que los hidrogeles en este estudio tuvieron problemas en la síntesis, se llegaron a formar leves burbujas lo que pudo ocasionar problemas en la liberación como una posible reabsorción, poca absorción del fármaco o pudo no polimerizado bien los polímeros durante la síntesis.

### **5.5 Pruebas de mucoadhesion**

En la prueba de mucoadhesion se utilizaron las preparaciones de hidrogeles que en la prueba de liberación de amoxicilina. Se determinó el tiempo necesario de humectación, elaborando una curva a diferentes tiempos de contacto. Esta curva se muestra en la Figura 11 se encontró que el tiempo contacto óptimo fue en 120 segundos, donde se demuestra mayor penetración de las cadenas poliméricas en la mucosa de cerdo en un menor tiempo.<sup>26</sup>



**Figura 15.** Curva de humectación de la preparación de hidrogel DMAEMA/MMA 30-70% EGDMA 0.3%

La curva de humectación que se muestra en la Figura 15 describe el comportamiento de una preparación de hidrogeles con DMAEMA-co-MMA en su 0.3% de entrecruzamiento con EGDMA.

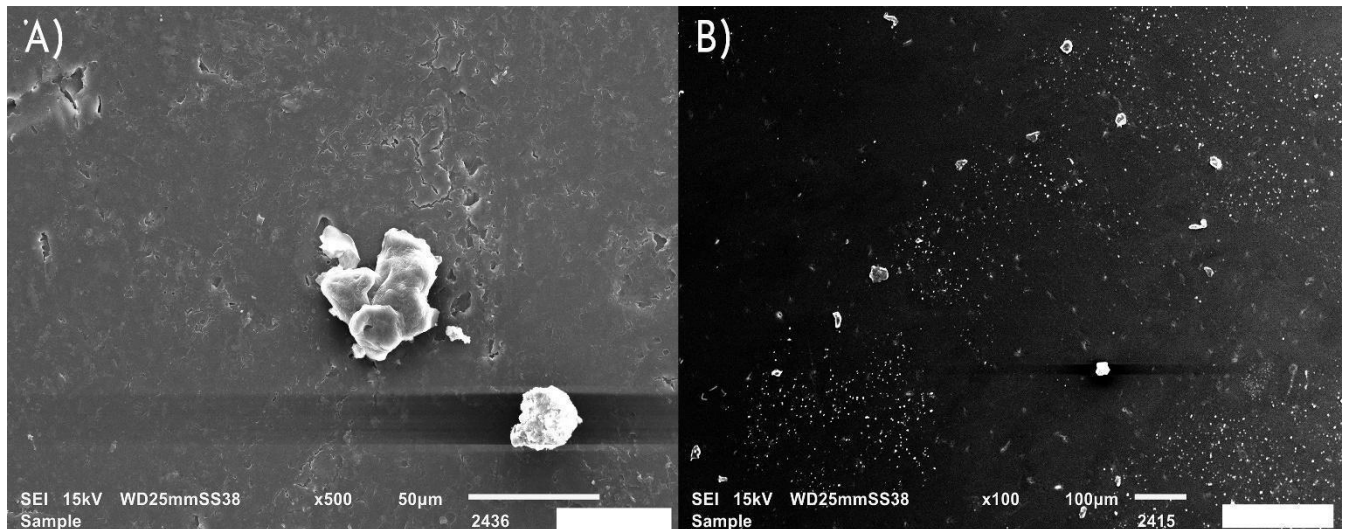
**Figura 16.** Fuerza de mucoadhesión en las preparaciones de DMAEMA y DEAEMA al 0.3% de EGDMA

Se puede observar la fuerza de desprendimiento de la preparación con DMAEMA y DEAEMA en la Figura 15, el entrecruzamiento entre ambas preparaciones es la misma de 0.3% p/p. En esta grafica podemos observar que existe un una adhesión del material por parte de la mucosa el tiempo de contacto fue lo suficiente para crear una penetración confirmando que en esta etapa de contacto existe una penetración

por parte de las cadenas poliméricas, el existir una fuerza de desprendimiento<sup>23</sup>.ignifica que ocurre una interacción por lo que los geles se adhieren con una fuerza con valores de 0.14 y 0.12 respectivamente. la diferencia de la fuerza puede ser por la cadena polimérica estas al ser más alifáticas como el caso de DEAEMA las interacciones son muy débiles o nulas debido a su apolaridad generando un campo eléctrico más débil que las preparaciones con DMAEMA.<sup>20</sup>

Sin duda alguna podemos comprobar que la mucoadhesion es efectuada se dice que si los hidrogeles son humectados por largos periodos la humectación aumenta como se observó en las curvas de humectación realizada en el trabajo de Quintanar et al. Se observó que la fuerza obtenida del desprendimiento fue de 273 N<sup>20</sup> realmente grande a diferencia de 0.12 N esto puede ser debido al entrecruzamiento obtenido para esta preparación el hinchamiento se ve totalmente disminuido en estas preparaciones causando una rigidez en las cadenas poliméricas y sobre todo la ionización de las cargas de los grupos amino puede que no se hayan generado la suficiente fuerza para la adhesión durante el tiempo de contacto asignado.

## 5.5 Microscopia de barrido



**Figura 17.** Microscopia de las preparaciones de hidrogeles a) preparación de DMAEMA-co-MMA al **0.3%** EGDMA cargado con amoxicilina b) DEAEMA-co-MMA al **0.3%** EGDMA sin fármaco cargado.

En la Figura 17 tenemos la microscopia electrónica de barrido donde: a) es la preparación DMAEMA-co-MMA al 0.3% p/p de EGDMA cargado con amoxicilina, después de realizar la prueba de mucoadhesión. Se puede observar que hay restos de tejido estomacal y como la superficie después de la adhesión se fracturó. b) es la formulación de DEAEMA-co-MMA al 0.3% p/p de EGDMA, en donde se observa que quedan restos de tejido pero no sufre fractura el hidrogel en su superficie, una explicación a esto es que en el cargado la superficie del hidrogel quede frágil a cualquier fuerza aplicada, posteriormente esta preparación no se cargó amoxicilina por lo tanto el deterioro en la superficie no ocurre.



## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES

La síntesis de los hidrogeles reflejaron buenas propiedades de hinchamiento en medios ácidos, reduciendo conforme el pH aumentaba, siendo viables para una liberación en el estómago.

El grado de entrecruzamiento influye mucho en sus propiedades, entre más adición de este obtenemos una reducción considerable en su hinchamiento, en cuanto su cinética el tiempo de hinchamiento es más lento entre más entrecruzante es añadido favoreciendo una liberación sostenida.

Para las liberaciones se debe considerar una cinética donde la fracción de fármaco sea constante en un intervalo grande de tiempo las preparaciones de DEAEMA/MMA y DMAEMA/MMA con un grado de entrecruzamiento de 0.3% resultaron eficaces por mantener prolongada la liberación.

El uso de monómeros básicos como el DEAEMA y DMAEMA son ideales para la mucoadhesión sin embargo DEAEMA al tener una cadena alifática más larga la liberación es más sostenida llegando a durar hasta 8 horas, mientras que DMAEMA al tener una cadenas más corta la liberación apenas duró menos de la hora.

Este tratamiento utilizando hidrogeles podría ser amigable para evitar la irritabilidad de las mucosas sin embargo las dosificaciones de amoxicilina para *H. pylori* son de 12h para una liberación con DEAEMA, es viable solo sería aumentar el grado de entrecruzamiento u otras técnicas para mejorar la liberación.

En cuanto a mucoadhesión se demostró que existe una fuerza implicada a la hora de desprender la mucosa demostrando la existencia de una adhesión.

Lo ideal para futuras investigaciones es usar formulaciones más apolares para retener el hinchamiento y más grado de entrecruzamiento uno de los problemas actuales es que al aumentar la concentración de este el hidrogel pasa a estar más duro dificultando su manejo y otras propiedades mecánicas se pierden por esto, por lo tanto lo ideal es intentar cambiar un entrecruzante apolar como el divinilbenceno como en el trabajo de Quintanar et al.<sup>20</sup> para lograr una liberación más sostenida y tener una terapia más eficaz en el tratamiento para *Helicobacter pylori*.

## CAPÍTULO VI

### REFERENCIAS Y ANEXOS

1. Cecilia C, Graciela CE. Situación de las enfermedades gastrointestinales en México Resumen. 2011;31(4):137-151.
2. Roldan MV. Gastritis y gastropatías. Gastroenterol. 2011;1(31):38-48.
3. Ramos AR, Sánchez RS. Helicobacter pylori 25 años después (1983 -2008): Epidemiología, Microbiología, Patogenia, Diagnóstico y Tratamiento. 2008:158-170.
4. Santos AA, Carvalho AA. Pharmacological therapy used in the elimination of Helicobacter pylori infection : A review. 2015;21(1):139-154.
5. Molina-infante J, Gisbert JP. Gastroenterología y Hepatología por Helicobacter pylori y de la resistencia a claritromicina en. Gastroenterol Hepatol. 2013;36(6):375-381.
6. Zhang N, Liu M, Shen Y. Preparation , properties , and drug release of thermo- and poly ( N , N -diethylacrylamide ) semi-IPN hydrogels. 2011:1523-1534.
7. Raimond B. Seymour. Introducción a La Química de Los Polimeros. 2nd ed. Barcelona: Editorial Reverte S.A; 1995.
8. Stevens MP. Polymer Chemistry: An Introduction. 3rd ed. (Oxford University Press, ed.). Mcast; 2007.
9. Paul J. Flory. Principles of Polymer Chemistry. 1st ed. (London I and, ed.). New York: Press, Cornell University; 1953.
10. Coreño-alonso J, Teresa M. Relación estructura-propiedades de polímeros. 2010;21(4):291-299.
11. Pol RI. Escobar et al Hidrogeles principales características en el diseño de farmacos 2002;3(3):1-25.
12. Boddupalli BM et al. Mucoadhesive drug delivery system: An overview. *J Adv Pharm Technol Res*. 2010;1(4):381-387.
13. Catherine Parker Anthony GAT. Anatomia Y Fisiologia. 10th ed. South Dakota: International McGraw Hill; 1985.
14. Trudy McKee JRM. Bioquimica Las Bases Moleculares de La Vida. McGraw hill; 2013.
15. Peppas NA, Sahlin JJ. Hydrogels as mucoadhesive and bio adhesive materials : a review. 1996;17(16):1553-1561.
16. Rahamatullah Shaikh TRRS. Mucoadhesive drug delivery systems. *J Pharm bio allied Sci*. 2011;3(1):89-100.
17. Schrader ME. Young- Dupre Revisited. 1995;(6):3585-3589.
18. Alexander A, Ajaz A, Khan J. Theories and factors affecting mucoadhesive drug delivery systems : a review. 2011;(April).
19. K SN, Bhattacharya A. Review Article Basics and Therapeutic Potential of Oral Mucoadhesive Microparticulate Drug Delivery Systems. 2009;1(1):10-14.
20. D. Quintanar-Guerrero , R. Villalobos-García , E. Alvarez-ColmHn JMC-B\*. In vitro evaluation of the bio adhesive properties of hydrophobic polybasic gels containing N , N -

- dimethyl aminoethyl methacrylate-co-methyl methacrylate. 2001;22:957-961.
21. Torre PM De, Torrado S, Torrado S. Interpolymer complexes of poly ( acrylic acid ) and chitosan : influence of the ionic hydrogel-forming medium. 2003;24:1459-1468.
  22. Æ AEAS. Radiation synthesis of interpolymer polyelectrolyte complex and its application as a carrier for colon-specific drug delivery system. 2005;26:2733-2739.
  23. Peppas NA, Buri PA. SURFACE, INTERFACIAL ON SOFT TISSUES\* Nikolaos A. Peppas.
  24. Siegel R. pH-Sensitive gels - Swelling Equilibria, Kinetics, and applications for drug delivery. In: *Pulsed Self-Regulated Drug Delivery*. ; 2000:192-200.
  25. A. T. Pham PIL. Probing the mechanisms of drug release from HPMC matrices. *Pharm Res*. 1994;11:1379-1384.
  26. Ha H. Interpretation of mucoadhesive properties of polymer. 2001:1589-1599.