



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

*“DISEÑO, SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA
DE UN HIDROGEL NANOFUNCIONALIZADO BASADO
EN POLIETILENGLICOL”*

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE:
Q U Í M I C O

P R E S E N T A :
XIADANI GONZÁLEZ VELÁZQUEZ

DIRECTOR DE TESIS
DR. JAIME FLORES ESTRADA

A S E S O R A :
DRA. MIRIAM V. FLORES MERINO



TOLUCA, MÉXICO

JUNIO 2016



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“DISEÑO, SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN FISCOQUÍMICA DE UN HIDROGEL
NANOFUNCIONALIZADO BASADO EN POLIETILENGLICOL”**

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE:

QUÍMICO

PRESENTA:

XIADANI GONZÁLEZ VELÁZQUEZ

TOLUCA, ESTADO DE MÉXICO

AÑO 2016

“Diseño, síntesis y caracterización fisicoquímica de un hidrogel nanofuncionalizado basado en polietilenglicol”

Por

Xiadani González Velázquez

Tesis presentada a la Universidad Autónoma del Estado de México

Este trabajo es requisito parcial para obtener el título de:

Químico

En la

Facultad de Química

De la

Universidad Autónoma del Estado de México

Toluca, Estado de México

AÑO 2016

“Cuando la vida te presente razones para llorar, demuéstrale
que tienes mil y una razones para reír.”

—Anónimo

AGRADECIMIENTOS

“”

RESUMEN

Los hidrogeles son redes poliméricas tridimensionales que pueden proporcionar ambientes únicos para contener materiales de diferente origen. La obtención de materiales compuestos de matriz polimérica con nanomateriales metálicos incrustados en la red ofrece la ventaja de que proporcionen alguna propiedad específica y/o mejoren la funcionalidad en la aplicación de la matriz. Los polímeros nanocompuestos o nanofuncionalizados son de gran utilidad en varias aplicaciones en el área de la medicina por ejemplo dentro de las más importantes son: marcaje celular, modelado de la membrana de las células, liberación de agentes terapéuticos. Lo que se pretende en este trabajo es el desarrollo de un hidrogel basado en polietilenglicol que contenga embebido en su estructura nanopartículas de plata con el fin de modificar sus propiedades, para tener un material más eficiente en ciertas aplicaciones o adicionar alguna propiedad de la cual la matriz carece. El desarrollo del hidrogel se lleva a cabo en pasos; inicialmente se hace reaccionar pentaeritritol y anhídrido acético, posteriormente se funcionaliza con polietilenglicol y finalmente con anhídrido metacrílico. Las nanopartículas son sintetizadas por separado mediante una reacción en microondas y al final se mezclan con el polímero ramificado en solución y un iniciador sensible a la luz UV, para finalizar la síntesis del hidrogel nanofuncionalizado. El material obtenido se analiza mediante técnicas fisicoquímicas como Microscopia electrónica de barrido (SEM), espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR), análisis termogravimétrico (TGA) y calorimetría diferencial de barrido (DSC). Finalmente se lleva a cabo un análisis de la función del material nanocompuesto para la liberación controlada de fármacos, para este propósito se usó el 5-Fluorouracilo como modelo en un estudio de liberación *in vitro*.

ABSTRACT

Hydrogels are three-dimensional polymeric networks that can provide unique environments for containing materials of different origin. Obtaining polymer matrix composites with metallic nanomaterials embedded in the network has the advantage of providing any specific properties and / or improves the functionality of the parent application. Nanocomposites or nanofunctionalized polymers are useful in various applications in the field of medicine for example in the most important are: cell labeling, modeling of the cell membrane, release of therapeutic agents. The aim in this work is the development of a hydrogel based on polyethylene glycol containing embedded silver nanoparticles in its structure in order to modify its properties, for more efficient materials in certain applications or add any property of which the matrix lacks. The development of the hydrogel is carried out in steps; initially reacted acetic anhydride and pentaerythritol, subsequently functionalized with polyethylene glycol and finally with methacrylic anhydride. The nanoparticles are synthesized separately using a microwave reaction and finally mixed with the branched polymer solution and initiator sensitive to UV light, to complete the synthesis of nanofunctionalized hydrogel. The material obtained was analyzed by physicochemical techniques such as Scanning Electron Microscopy (SEM) infrared Fourier transform spectroscopy (FT-IR), thermogravimetric analysis (TGA) and differential scanning calorimetry (DSC). Finally performs an analysis of the function of the nanocomposite material for controlled release of drugs, for this purpose 5-Fluorouracil was used as a model in vitro release study.

PREFACIO

Esta tesis está destinada al diseño, síntesis y caracterización fisicoquímica de un hidrogel nanofuncionalizado basado en polietilenglicol, así como su aplicación preliminar en liberación controlada de fármacos. El polietilenglicol se empleó como matriz debido a que es un polímero que ofrece un alto grado de control sobre las propiedades de ingeniería tales como el módulo de elasticidad y la velocidad de degradación. Las nanopartículas de plata adicionadas a la matriz polimérica pueden conferir un carácter antibacteriano y anti fúngico al material, proporcionando la ventaja ser usado en la intemperie sin que sea necesaria una cubierta exterior. La caracterización fisicoquímica es de gran importancia ya que por medio de análisis químicos pudimos comprobar los grupos funcionales presentes en el polímero y el hidrogel, el tamaño de las nanopartículas de plata, estabilidad térmica del hidrogel, tamaño de poro y finalmente el grado de absorción de fluido mediante la cinética de hinchamiento.

La tesis está organizada de la siguiente manera; en el capítulo 1 se encuentra el marco teórico en donde se describe los puntos que se tomaron en cuenta para el diseño de los hidrogeles, la situación actual a nivel mundial del problema que existe con el cáncer de piel y con la administración de fármacos. En el capítulo 2 se describe el planteamiento del problema, se establecen los objetivos del trabajo, se da una justificación y se plantea una hipótesis para el diseño del hidrogel. Dentro del capítulo 3 se describe la metodología diseñada para la síntesis de los hidrogeles de PEG-*multiarm* y PEG-*multiarm* nanofuncionalizado, se detallan las técnicas de caracterización fisicoquímicas utilizadas, y la metodología para la liberación de fármaco in vitro. En el capítulo 4 se encuentran los resultados en el cual se describen los resultados obtenidos en la síntesis de nanopartículas de plata, polímero e hidrogeles con su respectiva caracterización fisicoquímica, se da la comparación del hidrogel de PEG-*multiarm* y el hidrogel de PEG-*multiarm* nanofuncionalizado. Finalmente en el capítulo 5 se llega a las conclusiones y se hace un planteamiento para trabajos posteriores sobre esta investigación.

ACRÓNIMOS

5-FU	5-fluorouracilo
AgNO ₃	Nitrato de plata
AIBA	(2,2'-azobis (2-metilpropionamidina) dihidrocloruro)
CONH ₂	Grupo amida
COOH	Grupo carboxilo.
DSC	<i>(Differential Scanning Calorimetry)</i> Calorimetría Diferencial de Barrido
EE	Eficiencia de encapsulado
FDA	Food and Drug Administration
FMD	Fundación Mexicana de Dermatología
FT-IR	Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier.
IR	Infrarrojo.
KBr	Bromuro de potasio.
M	Concentración molar (mol/L)
NH ₂	Grupo amino.
OH	Grupo hidroxilo.
PBS	Fosfato Buffer Salino.
PEG	Poli(etilenglicol)
pH	Potencial de Hidrogeno.
PVP	Polivinilpirrolidona
RPS	Resonancia de Plasmones de Superficie
SEM	<i>(Scanning Electron Microscopy)</i> Microscopia electrónica de barrido
SO ₃ H	Grupo sulfónico
TGA	<i>(Thermogravimetric Analysis)</i> Análisis termogravimétrico
UV	Radiación Ultravioleta.
UV-Vis	Espectroscopia Ultravioleta-Visible.
W ₀	Peso inicial
W _t	Peso al tiempo t

ÍNDICE

RESUMEN	VI
ABSTRACT	VII
PREFACIO	VIII
ACRÓNIMOS	IX
ÍNDICE.....	X
ÍNDICE DE FIGURAS	XIII
ÍNDICE DE TABLAS	XIV
ÍNDICE DE ECUACIONES.....	XV
CAPÍTULO 1. MARCO TEÓRICO.....	1
1.1 HIDROGELES	1
1.1.1 Generalidades	1
1.1.2 Síntesis de hidrogeles:.....	6
1.1.3 Hidrogeles con reticulación química.....	8
1.1.4 Fenómenos presentes en los hidrogeles.....	9
1.2 NANOPARTÍCULAS DE PLATA.....	10
1.2.1 Generalidades	10
1.2.2 Métodos de síntesis de nanopartículas de plata.....	10
1.3 MATERIALES COMPUESTOS.....	12
1.3.1 Generalidades	12
1.3.2 Síntesis de materiales nanocompuestos	19
1.4 APLICACIONES DE LOS HIDROGELES NANOFUNCIONALIZADOS	23
1.4.1 Liberación controlada de fármacos	24
CAPÍTULO 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	29
1.1 OBJETIVOS	31
1.1.1 General:	31

1.1.2 Específicos:	31
1.2 HIPÓTESIS.....	31
CAPÍTULO 3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	33
3.1 MATERIALES	33
3.1.1 Reactivos.....	33
3.1.2 Equipos de laboratorio	33
3.2 MÉTODOS.....	33
3.2.1 Síntesis	33
3.2.2 Caracterización fisicoquímica	35
3.2.3 Pruebas in vitro	40
CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	44
3.3 NANOPARTÍCULAS DE PLATA.....	44
3.3.2 Síntesis	44
3.3.3 Caracterización por espectroscopia UV-vis	46
3.4 HIDROGEL.....	50
3.4.2 Síntesis del polímero	50
3.4.3 Síntesis del hidrogel de PEG-multiarm	53
3.4.4 Síntesis del hidrogel de PEG-multiarm nanofuncionalizado	53
3.4.5 Caracterización fisicoquímica	54
3.5 PRUEBAS <i>IN VITRO</i>	63
3.5.1 Liberación controlada de fármaco	63
3.5.2 Prueba anti-fúngica de los hidrogeles.....	67
CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES	70
4.5 CONCLUSIONES	70
4.6 TRABAJO FUTURO	71
REFERENCIAS	73
ANEXOS	80
Anexo 1	80

Anexo 2 81

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Tipos de red formada en los hidrogeles en función de la naturaleza de los enlaces entre cadenas.....	3
Figura 2: Representación esquemática de los tipos de hidrogeles según el método de preparación	4
Figura 3: Estados colapsado e hinchado de un hidrogel	10
Figura 4: Mecanismo de formación de nanopartículas de plata a partir de la reducción química en disolución de sal AgNO_3	12
Figura 6: Ilustración esquemática de la oscilación colectiva de electrones en Resonancia de Plasmones de Superficie.....	36
Figura 7: Equipo Espectrofotómetro de UV- vis modelo Lambda 25 de Perkin Elmer.	37
Figura 8: Equipo para espectroscopia infrarroja FTIR Nicolet AVATAR 360	38
Figura 9: Equipo de Microscopia electrónica de barrido JEOL JSM-6510LV.....	39
Figura 10: Equipo de Calorimetría diferencial de barrido y análisis termogravimétrico Analizador térmico Netzsch modelo STA 449 F3 Jupiter.....	40
Figura 11: Equipo Espectrofotómetro NanoPhotometer UV/Vis IMPLN.....	41
Figura 12: Comparación de colores de las soluciones de 0.1M de AgNO_3 en solución de etanol-PVP.....	44
Figura 13: Comparación de colores después de una semana de las soluciones de 0.1M de AgNO_3 en solución de etanol-PVP.	45
Figura 14: Comparación de colores de las soluciones de diferentes concentraciones de AgNO_3 en solución de etanol-PVP.....	45
Figura 15: Comparación de colores después de una semana de las soluciones de diferentes concentraciones de AgNO_3 en solución de etanol-PVP.....	46
Figura 16: Celdas utilizadas para el espectrofotómetro UV-vis	46
Figura 17: Análisis por medio de UV- vis de síntesis de nanopartículas de plata en solución de etanol-PVP, con diferente volumen de la solución de 0.1 M AgNO_3	47
Figura 18: Análisis por medio de UV- vis de síntesis de nanopartículas de plata en solución de etanol-PVP después de 1 semana, con diferente volumen de la solución de 0.1 M AgNO_3	48
Figura 19: Análisis por medio de UV- vis de síntesis de nanopartículas de plata en solución de etanol-PVP, con diferente concentración de la solución de AgNO_3	49
Figura 20: Análisis por medio de UV- vis después de 1 semana de reposo, de síntesis de nanopartículas de plata en solución de etanol-PVP, con diferente concentración de la solución de AgNO_3	50

Figura 21: Dispositivo para llevar a cabo la reacción de esterificación de pentaeritritol	51
Figura 22: Dispositivo para llevar a cabo la reacción de funcionalización con poli etilenglicol.....	52
Figura 23: a) Formación del precipitado de PEG- <i>multiarm</i> y b)Filtración y lavado del precipitado de PEG- <i>multiarm</i>	53
Figura 24: a) Hidrogel de PEG- <i>multiarm</i> y b) Hidrogel de PEG- <i>multiarm</i> con nanopartículas de plata.....	54
Figura 25: Espectro infrarrojo del pentaeritritol esterificado	55
Figura 26: Espectro infrarrojo PEG- <i>multiarm</i> , producto de la funcionalización con politilenglicol.....	56
Figura 27: Espectro infrarrojo PEG- <i>multiarm</i> acilado	57
Figura 28: Espectro infrarrojo hidrogel de PEG- <i>multiarm</i>	58
Figura 29: Microscopia electrónica de barrido; a) xerogel de PEG- <i>multiarm</i> y b) detalle ampliado de la porosidad de PEG multibrazo-hidrogel	59
Figura 30: Análisis de calorimetría diferencial de barrido y termogravimétrico del hidrogel de PEG- <i>multiarm</i>	61
Figura 31: Pastillas de hidrogel PEG- <i>multiarm</i>	62
Figura 32: Análisis de calorimetría diferencial de barrido y termogravimétrico del hidrogel de PEG- <i>multiarm</i>	63
Figura 33: Curva de calibración de 5-Fluorouracilo llevada a cabo a una temperatura de $20 \pm 1^\circ\text{C}$	64
Figura 34: Comparación de Eficiencia de encapsulado de los hidrogeles PEG- <i>multiarm</i> y PEG- <i>multiarm</i> nanofuncionalizado	66
Figura 35: Comparación de liberación de 5-FU de los hidrogeles PEG- <i>multiarm</i> y PEG- <i>multiarm</i> nanofuncionalizado	67
Figura 36: Comparación de liberación de 5-FU de los hidrogeles a), b), c) PEG- <i>multiarm</i> nanofuncionalizado y e), f), g) PEG- <i>multiarm</i>	68

ÍNDICE DE TABLAS

◆ Tabla 1: Problemas y necesidades de los sistemas de liberación	26
◆ Tabla 2: Cálculo de Eficiencia de encapsulación del hidrogel PEG- <i>multiarm</i> ...	64
◆ Tabla 3: Cálculo de Eficiencia de encapsulación del hidrogel PEG- <i>multiarm</i> nanofuncionalizado.....	65

ÍNDICE DE ECUACIONES

◆ Ecuación 1	¡Error! Marcador no definido.
◆ Ecuación 2	40
◆ Ecuación 3	41
◆ Ecuación 4	42
◆ Ecuación 5	42

CAPÍTULO 1. MARCO TEÓRICO

Los polímeros sintéticos son el tipo más diverso y presentan considerables ventajas frente a otros materiales empleados tradicionalmente. Debido a su gran versatilidad, su uso se ha extendido rápidamente en numerosos campos de la medicina. Un tipo especial de materiales poliméricos usados son los hidrogeles (Díez Peña, 2002).

La evolución de la tecnología farmacéutica se ha basado, en los últimos años, en el desarrollo de nuevos métodos de administración de fármacos, así como en el diseño y aplicación de sistemas de dosificación controlada de un determinado fármaco. En particular, la aplicación de sistemas poliméricos proporciona, en un gran número de casos seleccionados, una clara optimización en los métodos de dosificación para conseguir el resultado terapéutico deseado en el objetivo requerido, así como la optimización de la liberación del fármaco de control con el fin de obtener el resultado máximo y los efectos adversos mínimos (García O., 2000).

El diseño de matrices poliméricas adecuadas para la liberación controlada de un fármaco debe incluir no sólo los factores químicos y físicos que intervienen en su síntesis, sino también los efectos del medio ambiente biológico en el comportamiento de difusión de fármacos a partir de tales dispositivos poliméricos (Blanco M. D., 2000).

1.1 HIDROGELES

1.1.1 Generalidades

Los hidrogeles son redes poliméricas tridimensionales (Chacón Vera, 2012; Hoare T.R., 2008; Patel, 2010), no se disuelven en agua a temperatura y pH fisiológicos, pero se hinchan considerablemente en un

medio acuoso y demuestran una extraordinaria capacidad para embeber agua y fluidos biológicos en la estructura de la red (Nita L.E., 2012; Hawkins , 2012). La naturaleza hidrófila de los hidrogeles se debe a la presencia de grupos como hidroxilo (-OH), carboxilo (-COOH), amida (-CONH₂) y sulfónico (-SO₃H), a lo largo de las cadenas poliméricas (Soto D., 2012; Escobar J.L., 2002).

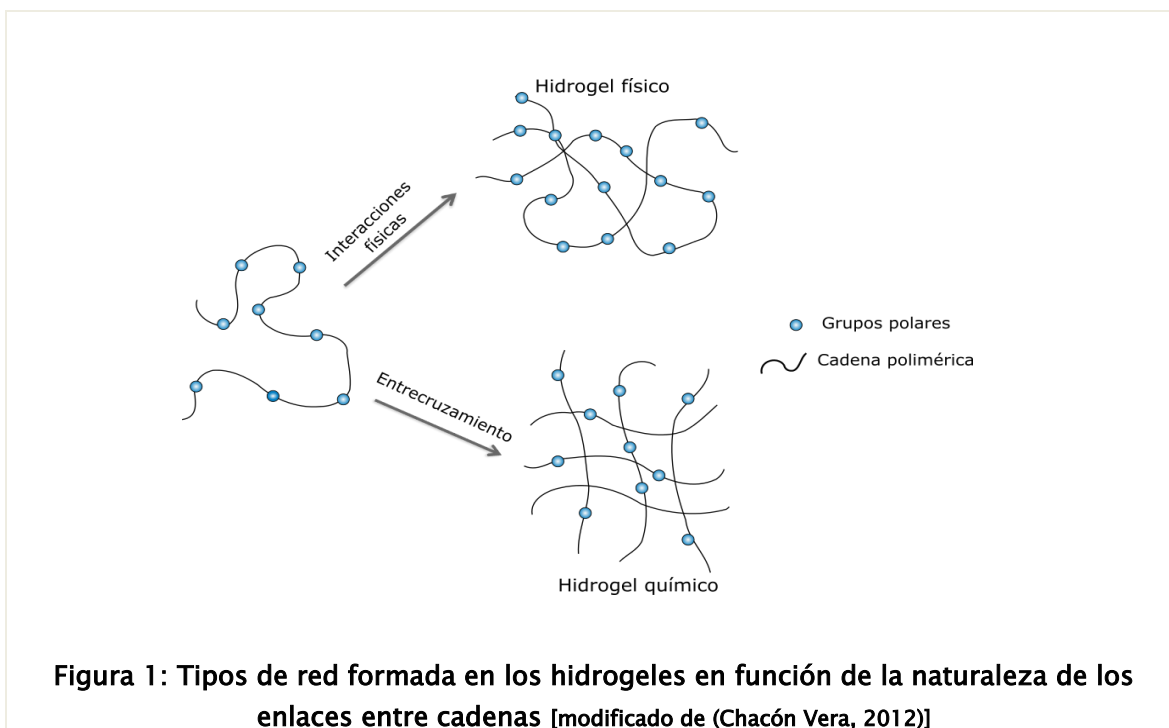
La red es la estructura básica de un hidrogel, que es covalentemente reticulada o enredada físicamente. Los componentes de red de hidrogeles pueden ser ya sea sintético o natural, siempre y cuando que absorban y mantengan grandes cantidades de agua (Yang, 2012).

Los hidrogeles se obtienen mediante polimerización y entrecruzamiento simultáneo de uno o varios monómeros polifuncionales. La capacidad de sorción de los hidrogeles se debe, entre otras cosas, a la flexibilidad de las cadenas poliméricas, la cual hace posible que se deforme para permitir la entrada de moléculas de disolvente dentro de la estructura tridimensional (Chacón Vera, 2012).

Otras propiedades interesantes de estos materiales son su capacidad para controlar el proceso de difusión, respuesta a los cambios en la fuerza iónica, pH , temperatura y la capacidad para atrapar especies químicas a través de los grupos funcionales polares que interactúan de forma selectiva y fuertemente con estas especies (Chacón Vera, 2012).

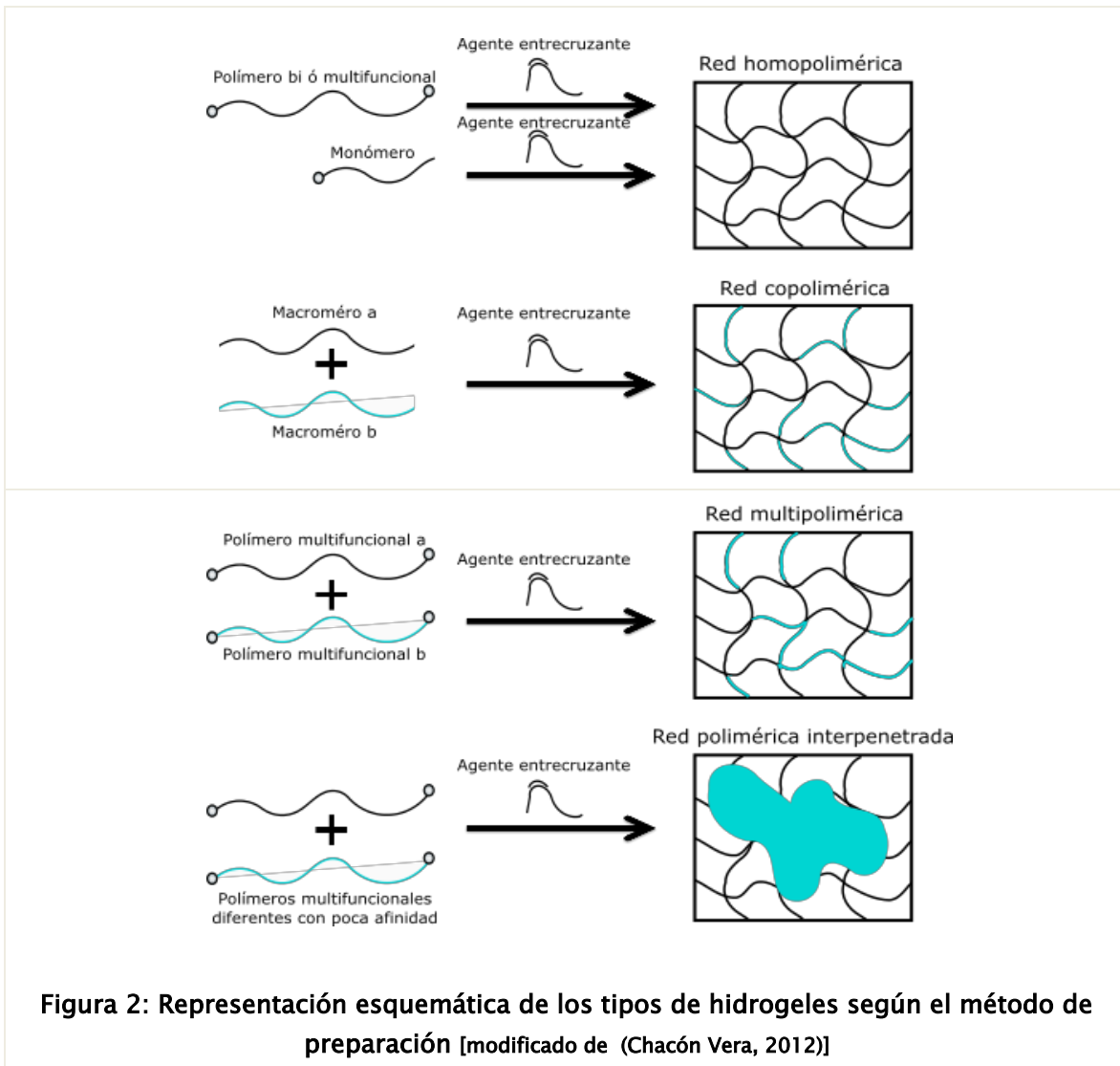
Existen varios tipos de clasificaciones de los hidrogeles, por ejemplo se pueden clasificar en varios tipos, en función de la naturaleza de las uniones de la red tridimensional que los constituyen:

- Geles físicos: son aquellos que presentan una red tridimensional formada por uniones que no son permanentes. Generalmente, las fuerzas de interacción son del tipo van der Waals, muchos más débiles que las uniones covalentes. Dan origen a mallas no entrecruzadas, puesto que las cadenas se enredan unas con otras en una maraña tridimensional que puede albergar y retener moléculas de líquido.
- Geles químicos: son aquellos en los que la red está formada a través de enlaces covalentes. Este tipo de enlace es muy fuerte y su ruptura conduce a la degradación del gel, el entramado molecular está fijado por los nodos covalentes que conforman la red o malla molecular (Chacón Vera, 2012; Sáez V. H. E., 2003).



También se pueden clasificar, dependiendo el método de preparación en:

- Red homopolimérica: en la cual se usan como material de partida un monómero o polímero bi o multifuncional y agente entrecruzante.
- Red multipolimérica: Formada mediante reacción entre polímeros multifuncionales con grupos reactivos.
- Red polimérica interpenetrada: en la cual un monómero reacciona formando una fase que se encuentra anclada (o atrapada) dentro de la estructura del hidrogel. Es una combinación de dos o más redes poliméricas sintetizadas en yuxtaposición, es decir una mezcla de dos o más polímeros incompatibles, entrecruzados e interconectados físicamente, formando una estructura tridimensional entre los polímeros que la componen (Chacón Vera, 2012).



La clasificación basada en la fuente: se divide en dos grupos en función de origen en naturales o sintéticos.

Según su configuración: la clasificación de los de los hidrogeles depende de la estructura física y composición química y pueden ser clasificados en a) amorfo (no cristalino), b) semicristalino: una mezcla compleja de fases amorfas y cristalinas, c) cristalino.

Clasificación de acuerdo con la red de carga eléctrica: Los hidrogeles se pueden clasificar en cuatro grupos sobre la base de la presencia o ausencia de carga eléctrica se encuentra en las cadenas reticuladas:

- (a) no iónico (neutro).
- (b) Iónico (incluyendo aniónico o catiónico).
- (c) anfótero electrolito (anfotico) que contienen grupos tanto ácidos como básicos.
- (d) zwitteriónico (polibetaínas) que contiene grupos tanto aniónicos y catiónicos en cada unidad repetitiva estructural. (77)

1.1.1.1 Hidrogeles inteligentes

Como ya se mencionó anteriormente los hidrogeles como redes de polímeros hidrófilos reticulados tridimensionales son capaces de hincharse o inflamarse de manera reversible en agua y retener grandes volúmenes de líquido en estado hinchado. Los hidrogeles pueden ser diseñados con respuestas controlables como para reducir o aumentar con los cambios en las condiciones ambientales externas. Pueden realizar la transición volumen dramática en respuesta a una variedad de estímulos físicos y químicos, donde los estímulos físicos incluyen la temperatura, campo eléctrico o magnético, la luz, la presión, y el sonido, mientras que los estímulos químicos incluyen pH, composición del disolvente, la fuerza iónica, y especie molecular. El grado de hinchazón o de inflamación en respuesta a los cambios en el entorno externo del hidrogel podría ser tan

drástico que el fenómeno se conoce como colapso volumen o transición de fase (Ahmed , 2015).

1.1.2 Síntesis de hidrogeles:

Para la síntesis de los hidrogeles intervienen elementos típicos de cualquier reacción de polimerización: agente entrecruzante, el disolvente, el monómero y el iniciador; que será el responsable de la formación de los radicales libres monoméricos que van a permitir la polimerización y el agente entrecruzante, el cual va a ser el responsable de dar la estructura reticulada del gel (Chacón Vera, 2012).

Cuando se sintetizan hidrogeles, se puede elegir entre un gran número de monómeros. En general, los monómeros empleados en la síntesis de hidrogeles pueden ser divididos en tres categorías:

- Monómero con sustituyentes laterales no ionizables: en esta categoría pueden incluirse la acrilamida, N-vinilpirrolidona, el metacrilato de 2-hidroxietileno, entre otros.
- Monómeros con grupos funcionales ionizables: como por ejemplo, los ácidos, acrílicos, metacrílicos, itacónico, sulfónicos y aminas; de los cuales se obtienen hidrogeles que absorben gran cantidad de agua y tienen pobres propiedades mecánicas.
- Monómeros zwitteriónicos o sales internas: el sustituyente lateral consiste en dos grupos cargados y unidos a la cadena principal. Su característica primordial es que para el polímero entrecruzado, el hinchamiento de la red es mayor en disolución salina que en agua.

Existen varios métodos de preparar hidrogeles entrecruzados como son (Sáez V. H. E., 2003):

- Entrecruzamiento por radiación: Esta reacción utiliza la emisión de electrones, rayos gamma, rayos X o luz ultravioleta para excitar el polímero y producir la estructura entrecruzada.
- Reacción química: Este método es una reacción de polimerización y entrecruzamiento entre uno o más monómeros y un monómero multifuncional el cual está presente en muy pequeñas cantidades, este último se denomina agente entrecruzante y presenta una masa molecular pequeña, se une a cadenas de peso molecular grande a través de sus grupos multifuncionales (Sáez V. H. E., 2003).

En la síntesis de hidrogeles, la práctica más habitual consiste en copolimerizar distintos monómeros para obtener propiedades finales adecuadas a la aplicación deseada. Por lo general, a un monómero hidrófilo (que asegurará una mayor entrada de agua en la red molecular y, por tanto, un mayor contenido de agua) se le añade uno hidrófobo (que mejora sensiblemente las propiedades mecánicas del hidrogel resultante). Por otro lado, se pueden obtener diferentes tipos de hidrogeles variando la estructura molecular o el grado de entrecruzamiento del material (Sáez V. H. E., 2003).

Independientemente del tipo de polimerización y de los monómeros que se utilicen es necesario emplear un agente desencadenante de la reacción de polimerización o iniciador. Los sistemas de iniciación que pueden emplearse son habituales: radicales libres, temperatura, iónicos, radiación gamma o par redox (Chacón Vera, 2012; Sáez V. H. E., 2003).

Para obtener una estructura reticulada es necesario que se introduzca un agente entrecruzante este genera uniones covalentes en la malla o red tridimensional lo que hace que el hidrogel sea insoluble. La cual se consigue con la ayuda de dicho agente. Entre otras cosas, esta estructura tridimensional permite alojar en su interior al disolvente (generalmente agua). Que sirve tanto de medio para la reacción de polimerización como

de disolvente, que provoca el hinchamiento del hidrogel (Chacón Vera, 2012).

1.1.3 Hidrogeles con reticulación química

Como se ha indicado, los hidrogeles químicos se caracterizan por presentar reticulaciones de tipo covalente. Las estrategias utilizadas para producir la reticulación química de hidrogeles han sido variadas, usando en muchos casos reacciones de polimerización clásicas, tales como reacciones entre monómeros con grupos reactivos complementarios o reacciones radicalarias, utilizando un iniciador térmico (polimerización térmica) o mediante un fotoiniciador (fotopolimerización). En el caso de hidrogeles diseñados para aplicaciones que implican la polimerización en condiciones fisiológicas, hay que tener en cuenta que el entrecruzado químico de estos materiales se debe producir sin causar daños a las células o moléculas que se encuentran combinadas con el hidrogel (Jiménez Pardo, 2014).

La fotopolimerización ha sido un procedimiento de reticulación muy aceptado en biomedicina ya que ofrece ventajas como el control espacio y tiempo de la polimerización, elevadas velocidades de formación que van desde minutos a segundos, son reacciones que se pueden llevar a cabo a temperatura ambiente o fisiológica y producen muy poco calor. Así, la fotopolimerización o fotocurado de materiales se utiliza con éxito con agentes de sellado o restauraciones dentales o en el sellado de vasos sanguíneos mediante adhesivos fotopolimerizables (Jiménez Pardo, 2014).

La fotopolimerización precisa de la presencia de un fotoiniciador, que posee una alta absorción lumínica a una longitud de onda específica (luz visible o ultravioleta), generando los radicales libres que son los iniciadores del proceso (Jiménez Pardo, 2014). Polimerización de radicales libres es el medio principal para producir sistemas de hidrogel químicamente reticuladas. Esta reacción puede facilitarse mediante el uso de una amplia

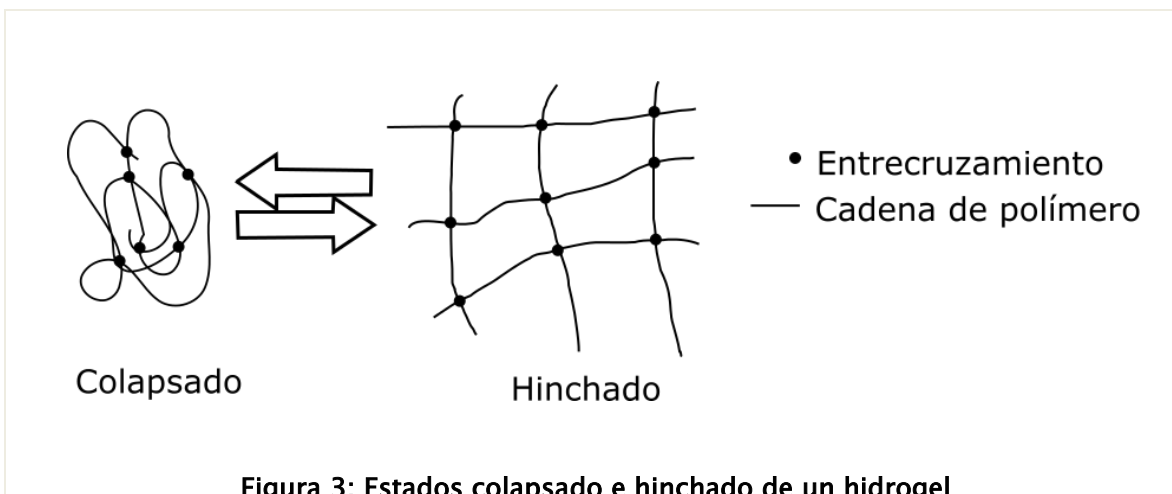
gama de iniciadores y condiciones. La reacción de radicales libres es una reacción en cadena que consta de varias etapas como son: iniciación, propagación y terminación en la que la molécula de iniciador típicamente escinde o degrada para comenzar la reacción. Un método es a través de fotopolimerización UV en la que una molécula de iniciador se escinde mediante la aplicación de luz UV. (Hawkins , 2012).

1.1.4 Fenómenos presentes en los hidrogeles

Cuando un hidrogel se somete a secado, el agua se evapora causando el colapso de la estructura. El gel pasa de un estado expandido, de máximo hinchamiento, a un estado colapsado con la consiguiente expulsión del disolvente. Este proceso es reversible (Soto D., 2012).

En el estado seco, denominado xerogel, el gel es un material sólido, pero en presencia de agua se expande hasta alcanzar el hinchamiento en el equilibrio. Este último estado resulta de un balance entre las fuerzas osmóticas que causan que el agua penetre entre las cadenas del polímero hidrófilo y las fuerzas cohesivas existentes entre estas cadenas que oponen resistencia a la expansión.

Durante el hinchamiento, las cadenas que conforman la red se estiran. Simultáneamente aparece una fuerza retráctil en oposición al proceso de hinchamiento, ejercida por las cadenas de la red sobre el disolvente contenido en ella. El hinchamiento alcanza su valor máximo, o de equilibrio, cuando se obtiene un balance entre ambas fuerzas (Soto D., 2012).



1.2 NANOPARTÍCULAS DE PLATA

1.2.1 Generalidades

La plata ha sido empleada durante miles de años como metal precioso por el ser humano, uno de los usos más importantes en su empleo es como agente desinfectante con fines higiénicos y médicos. Las nanopartículas metálicas se pueden definir como agregados aislados de tamaños entre 1 y 50 nm, los cuales son un conjunto de átomos rodeados de una cápsula protectora o estabilizadora, que evita la aglomeración (Sifontes A.B., 2010). Las propiedades biomédicas de las nanopartículas de plata constituyen también un campo de investigación de gran relevancia. Principalmente se basan en sus propiedades antimicrobianas, aunque existen también estudios sobre propiedades antivirales, fungicidas o de cicatrización (Monge, 2009).

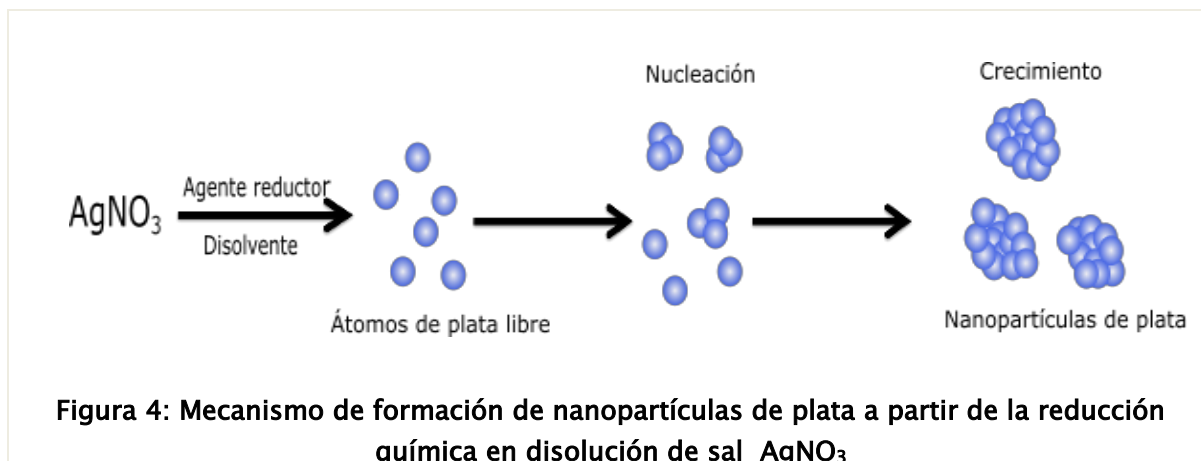
1.2.2 Métodos de síntesis de nanopartículas de plata

Uno de los métodos más comunes para la preparación de las nanopartículas, es la reducción química de sales de metales de transición en presencia de agentes estabilizadores. El mecanismo de formación de nanopartículas se basa primordialmente, en la reducción de la sal metálica al átomo cerivalente y después estos átomos actúan como centros de

nucleación dando lugar a la formación de agregados cuyo crecimiento continuará a medida que se sigan agregando los átomos, formándose así, partículas de mayor tamaño y formas poliédricas más complejas. No obstante, es necesario estabilizar las partículas mediante la envoltura de moléculas o “agentes” estabilizadores (polímeros generalmente) que se adsorben en su superficie, inhibiendo de esta manera el proceso de aglomeración o sinterización (Sifontes A.B., 2010).

En los últimos años, el proceso de calentamiento asistido por microondas, se ha utilizado como una alternativa atractiva para la síntesis de materiales a escala nanométrica, dado que es un método rápido, uniforme y efectivo, que permite incrementar las cinéticas de reacción en uno o dos órdenes de magnitud. Nanopartículas coloidales de Platino (Pt), Rutenio (Ru), Plata (Ag) y Paladio (Pd) estabilizados por polímeros, han sido preparadas por calentamiento con microondas, a partir de las sales precursoras del metal disueltas en soluciones (Sifontes A.B., 2010).

Por otra parte, el calentamiento por microondas de las muestras líquidas, permite la disminución de las fluctuaciones de temperatura en el medio de reacción, proporcionando así, un entorno más homogéneo para la nucleación y el crecimiento de las partículas metálicas (Sifontes A.B., 2010). Un método práctico para sintetizar nanopartículas metálicas en líquido es la reducción de iones de las correspondientes sales metálicas, en átomos con valencia cero (Pescador Rojas , 2006). En sistemas acuosos el agente reductor puede ser adicionado o generado *in situ*, pero en los sistemas no acuosos el solvente y el agente reductor son uno mismo. Solventes o líquidos que son fácilmente oxidados como por ejemplo los alcoholes pueden así funcionar tanto como agentes reductores y como el agente dispersor (Pescador Rojas , 2006).



Las ventajas de este método químico de preparación son: a) es muy simple y reproducible, b) las partículas obtenidas son nanométricas y homogéneas, c) la estructura, tamaño y forma de las partículas pueden ser controladas variando simplemente las condiciones de preparación, tales como: el tipo de reductor, contenido de los iones metálicos, temperatura, agitación, etc., d) las dispersiones coloidales son estables por meses y presentan extraordinarias propiedades para diversas aplicaciones, e) se pueden preparar partículas monometálicas y multimetálicas.

1.3 MATERIALES COMPUESTOS

1.3.1 Generalidades

Se define como material compuesto a todo sistema o combinación de materiales construido a partir de una unión (no química insoluble entre sí) de dos o más componentes, que da lugar a uno nuevo con propiedades y características específicas, no siendo estas nuevas propiedades ninguna de las anteriores.

Podemos identificar dos fases: una continua por la matriz, y otra fase discontinua denominada refuerzo. Los componentes de un material compuesto no deben disolverse, ni fusionarse completamente unos con

otros. La identificación de los materiales y la de si fase debe ser posible de distinguir por medios físicos.

Las propiedades del nuevo material dependen, entonces del tipo de interfase y de las características de los componentes. (Besednjak Dietrich, 2005)

1.3.1.1 Tipos de materiales compuestos

De las diferentes clasificaciones que podemos hacer de los materiales compuestos, quizás la mas importante sea la que se refiere a su matiz, y en la cual podemos identificar tres grupos principales: (Besednjak Dietrich, 2005)

- a. Material compuesto de matriz metálica
- b. Material compuesto de matriz cerámica
- c. Material compuesto de matriz polimérica

Para este trabajo nos interesan los materiales compuestos de matriz polimérica y podemos definirlos como materiales con buenas propiedades mecánicas, resistentes a la corrosión y a los agentes químicos, y que dadas sus particulares características, pueden ser moldeados con absoluta libertad de formas. Son aquellos materiales en los cuales la matriz esta continuada por un polímero . (Besednjak Dietrich, 2005)

1.3.1.2 Polímeros

La palabra *polímero* proviene etimologicamente del griego y significa “muchos miembros o partes”, Químicamente se define como un material constituido por grandes moléculas, las cuales se forman por las secuencias repetitivas de moléculas pequeñas o agrupaciones de átomos simples, enlazadas unas a otras por enlaces primarios (usualmente del tipo covalente simple). Estas unidades estructurales sencillas (moléculas

pequeñas) que dan origen a los polímeros reciben el nombre de monómeros (mono=uno; meros= parte). (Besednjak Dietrich, 2005)

1.3.1.2.1 Origen

Los precedentes de los monómeros se encuentran en el carbono, presente en diferentes materiales naturales, pero debido a su elevado coste y producción, solo es rentable su extracción desde el petróleo, carbón y gas natural. Es posible obtener diferentes polímeros partiendo del mismo monómero mediante procesos de síntesis, modificando los procesos de producción, o a través de mezclas entre las sustancias de origen. (Besednjak Dietrich, 2005)

1.3.1.2.2 Proceso de síntesis de polímeros

El concepto *síntesis* proviene del griego y significa reunir. Químicamente se define como la formación de compuestos químicos a partir de sus elementos o de otras sustancias químicas sencillas. Esta reacción química de síntesis, por lo cual se obtienen los polímeros, se denomina *polimerización*. (Besednjak Dietrich, 2005)

El requerimiento básico para polimerizar una molécula de monómero debe ser capaz de enlazarse a otras dos o más moléculas de monómero por reacciones químicas. Comienzan con moléculas pequeñas, que luego se van uniendo entre sí para formar moléculas gigantes. Existe una gran diversidad de sustancias de naturaleza orgánica que cumplen con este requisito, dando lugar a diferentes sistemas de clasificación de estas reacciones de polimerización: (Besednjak Dietrich, 2005)

- a) Sistema de adición–condensación (Carothers)
 - Polimerización por adición: si la molécula entera de monómero pasa a formar parte del polímero; este tipo de polimerización no genera subproductos.

- Polimerización por condensación: si parte de la molécula de monómero se pierde cuando el monómero pasa a formar parte del polímero; este tipo de polimerización genera subproductos.
- b) Sistema crecimiento de cadena–crecimiento en etapas
- Polimerización por crecimiento de cadenas: los monómeros pasan a formar parte del polímero de uno a uno por vez.
 - Polimerización por crecimiento de en etapas: en una reacción por crecimiento de etapas, las cadenas en crecimiento pueden reaccionar entre sí para formar cadenas aún más largas. Esto es aplicable a cadenas de todos tamaños. Existen dos tipos de polimerización por etapas: policondensación y poliadiciones.

1.3.1.2.3 Polietilenglicol (PEG)

Los hidrogeles de PEG son uno de los materiales más ampliamente estudiados y usados para aplicaciones biomédicas. Los hidrogeles de PEG son no tóxicos, no inmunogénicos, y fue aprobado por la Food and Drug Administration (FDA) para diversos usos clínicos (Yang, 2012; Peppas N.A., 2006). En muchos casos, el PEG se ha aplicado como un "material silencioso" ya que es inerte a la mayoría de las moléculas biológicas tales como proteínas (Peppas N.A., 2006).

En su forma más común, el polietilenglicol (PEG) es un poliéter polimérico con grupos hidroxilos en sus extremos y estructura general: (Besednjak Dietrich, 2005)



La habilidad del PEG de ser soluble tanto en agua como en solventes orgánicos permite que pueda ser funcionalizado fácilmente y que la conjugación química a nanopartículas o biomoléculas, pueda hacerse en condiciones suaves que no afecten la estabilidad de estas. Estudios del PEG

en solución acuosa han demostrado que este polímero une 2–3 moléculas de agua por unidad de óxido de etileno. Debido a su alta flexibilidad y a la unión de las moléculas de agua el PEG actúa como si fuera 5–10 veces más grande que una proteína soluble de masa molecular comparable.

Los oligómeros de PEG de bajo peso molecular (<400 Da) son degradados a metabolitos tóxicos por la enzima alcohol deshidrogenasa. Sin embargo, la no toxicidad de los PEG de más de 1000 Da ha sido demostrada por varios años de uso en alimentos, cosméticos y medicamentos. Estos últimos incluyen formulaciones inyectables, tópicas, rectales, intranasales y oculares.

El PEG es un inmunógeno débil, incluso los de altos pesos moleculares, no se ha observado generación de anticuerpos anti-PEG durante la aplicación clínica “normal” de proteínas PEGiladas, así como de ningún patrón de toxicidad o efectos adversos asociados a la presencia del PEG en las formulaciones farmacéuticas aprobadas. (Besednjak Dietrich, 2005)

Los materiales compuestos también se pueden clasificar según la forma del refuerzo

- a. Materiales compuestos reforzados con partículas
- b. Materiales compuestos reforzados con fibras
- c. Materiales compuestos estructurales

Para el caso de este trabajo nos interesan los materiales compuestos reforzados con partículas: un material compuesto particulado es aquel en el que la partícula de refuerzo tiene aproximadamente las mismas dimensiones en todas direcciones. Por tanto, las partículas pueden ser bastones, esferas, hojuelas y de muchas formas cuyas razones de apariencia son de alrededor 1.0. la razón de apariencia es el cociente del largo entre la dimensión de sección transversal.

En estos materiales compuestos, el tamaño, forma y distribución, además de la proporción y el módulo de las partículas, afectan las propiedades del material compuesto. Por lo regular las partículas de tamaño más pequeño y redondeado dan mejores resultados. Los materiales compuestos reforzados con partículas de tamaño micrométrico son quizás, los materiales compuestos más utilizados actualmente. Las partículas se añaden para aumentar el módulo elástico y la carga de fluencia (Pantaleón López, 2009).

1.3.1.3 Nanopartículas

En los últimos años, la síntesis y estabilización de las nanopartículas de metal ha atraído un gran interés por sus potenciales aplicaciones en catálisis, la bioquímica, la separación, materiales electrónicos, y así sucesivamente. En general, las nanopartículas de metal tienden a aglomerarse debido a la alta área de superficie activa. Para estabilizar las nanopartículas, se utilizan diversos agentes poliméricos que incluyen micelas poliméricas, dendrímeros, partículas de látex, microgeles, e hidrogeles. Entre de estos soportes, los hidrogeles se utilizan ampliamente en la síntesis in situ de nanopartículas metálicas tamaño más pequeños debido a sus redes tridimensionales y buena biocompatibilidad. (Li G., 2013)

Las nanopartículas inorgánicas que presentan un marcado efecto microbicida sobre una amplia variedad de microorganismos, tales como virus, bacterias y hongos actualmente son de gran interés para el área de Nanotecnología. La capacidad microbicida de las nanopartículas está vinculada a la naturaleza del material y a ciertas características intrínsecas de las mismas, como sus dimensiones nanométricas (lo cual les permite ser internalizadas con mayor facilidad en microorganismos) y la alta relación área/volumen que permite un mayor contacto e interacción con dichos microorganismos. Entre las nanopartículas que han demostrado

tener propiedades microbicidas las más importantes son las de plata, óxido de zinc, cobre u óxidos de hierro. Las primeras tres sustancias ya presentan esta propiedad en su forma macroscópica, mientras que los óxidos de hierro únicamente resultan ser microbicidas en forma nanoestructurada. Las nanopartículas presentan mecanismos de acción microbicida totalmente diferentes a los antibióticos tradicionales, proporcionando así una alternativa promisorio. Los mecanismos de toxicidad que presentan las nanopartículas con acción bactericida sobre los microorganismos no han sido completamente dilucidados, aunque se han postulado varios. Entre éstos se pueden mencionar perturbaciones en las funciones de la membrana celular (las cuales alteran la permeabilidad y la respiración celular), el ingreso de las nanopartículas a la célula, lo que genera una alteración en las funciones de las proteínas y el ADN, o la producción de especies oxidativas debido a la presencia de nanopartículas en el interior de la célula. No es sencillo realizar un análisis comparativo de los datos de la bibliografía ya que la acción bactericida dependerá de una amplia variedad de factores entre los que se pueden mencionar: el tamaño y la forma de las nanopartículas, su composición química, el recubrimiento y su carga superficial potencial y la concentración de nanopartículas usada. Dentro de la familia de las nanopartículas metálicas, aquéllas que han suscitado el mayor interés son las nanopartículas de plata, entre otros motivos debido a que las sales de este metal ya se utilizan desde hace mucho tiempo en preparaciones (por ejemplo en cremas tópicas) y en vendajes, entre otros. (Flores, 2014)

1.3.1.3.1 Nanopartículas de plata

Las nanopartículas de plata actualmente se han empleado debido a su gran actividad antimicrobiana, y excelentes aplicaciones catalíticas para un puente entre catálisis homogénea y heterogénea. (Li G., 2013)

El interés en las nanopartículas de plata es debido a su capacidad microbicida de la plata que es conocida desde hace siglos. De hecho existen antecedentes que se remontan a la época del Imperio Romano, donde se empleaba plata para potabilizar el agua y en la actualidad ésta se sigue utilizada en muchos dispositivos de purificación. En el siglo XIX se usaba nitrato de plata para permitir la epitelización y promover la cicatrización de heridas. En los años 40, en pleno auge de la penicilina, se introdujo el uso de la plata para el tratamiento de infecciones bacterianas. En los años 60, Moyer introdujo el uso de nitrato de plata para el tratamiento de quemaduras. Este investigador indicaba que la solución no interfería en la proliferación del tejido epidérmico y poseía propiedades antibacterianas contra *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *E. coli*. En el año 1968, el nitrato de plata fue combinado con sulfamida para formar una crema de sulfazida de plata, la cual sirve como agente antibacteriano contra *E. coli*, *S. aureus*, *Klebsiella spp*, *Pseudomonas spp*; también se probaron sus propiedades antifúngicas y antivirales.

Una de las características que lo hace más atractivo la aplicación de las nanopartículas de plata, es la baja probabilidad del desarrollo de resistencia por parte de los microorganismos en comparación a los antibióticos. (Flores, 2014)

1.3.2 Síntesis de materiales nanocompuestos

Se han utilizado una gran variedad de técnicas de procesamiento para obtener dichos materiales, entre las que se incluyen, mezclado en fundido, polimerización *in situ*, etc. Es difícil encontrar una técnica universal para obtener nanocompuestos poliméricos debido a las diferencias físicas y químicas entre cada sistema. Cada sistema polimérico requiere unas condiciones de procesamiento particulares, basadas en la eficiencia de procesamiento y en las propiedades del producto deseado.

Por ejemplo Vollenberg y Hiekens (Pantaleón López, 2009) prepararon nanocompuestos por mezclado de partículas de carga con una matriz polimérica. Las matrices poliméricas que utilizaron fueron, poliestireno (PS), copolímeros de estireno-acrilonitrilo (SAN), policarbonato (PC) y polipropileno (PP) y como cargas partículas de alúmina de tamaños 35 y 400 nm y fibras de vidrio de 4, 30 y 100 μm de diámetro. La fracción en volumen de partículas osciló entre 0 y 25% en los materiales compuestos. La preparación de las muestras consistió en disolver los polímeros en un disolvente polar y mezclarlo con las partículas o fibras durante varias horas. Después la mezcla se vertió sobre una gran superficie para evaporar el disolvente y posteriormente se secó a vacío a 100°C. De esta manera se prepararon polímeros con una fracción en volumen de partículas del 30%. Para lograr las fracciones en volumen de partícula deseadas, se añadió a esta mezcla inicial polímero virgen.

Uno de los factores clave en la preparación de nanocompuestos de matriz polimérica es la dispersión de las nanopartículas en la matriz del polímero. Rong y colaboradores (Pantaleón López, 2009) injertaron monómeros de estireno en nanopartículas para producir una mejor dispersión. Utilizaron polipropileno isotáctico como matriz y, como cargas, SiO_2 de 7 nm de diámetro, aproximadamente. Las partículas se calentaron para eliminar el agua absorbida en la superficie. Luego, éstas se mezclaron con uno de los monómeros y el disolvente. Esta mezcla se irradió y el disolvente se eliminó. Las muestras se obtuvieron por adición del polipropileno en un mezclador y por moldeo por extrusión. Con esta técnica se obtuvieron nanocompuestos sin agregados y, además, con una elevada interacción interfacial entre la partícula y la matriz polimérica.

La polimerización in situ es otra técnica que se ha utilizado para obtener nanocompositos de matriz polimérica. Se trata de un método en el cual las partículas se dispersan primero en el monómero y después la mezcla se polimeriza. Yang y colaboradores (Pantaleón López, 2009) prepararon

nanocompuestos con poliamida-6, como matriz polimérica, y sílice como carga. Primero las partículas se secaron para eliminar el agua absorbida en la superficie.

Después, las partículas se mezclaron con γ -caproamida y, al mismo tiempo, se añadió el iniciador apropiado para iniciar la polimerización. La mezcla se polimerizó a alta temperatura bajo nitrógeno. Con esta técnica se obtuvieron muestras bien dispersas cuando las cargas eran aproximadamente de 50 nm de diámetro, sin embargo se formaron agregados con partículas más pequeñas, las cuales, en ausencia de un estabilizante favorecieron que se produjera segregación de las nanopartículas. Ash y Siegel (Pantaleón López, 2009) han preparado también por polimerización *in situ* nanocompuestos de matriz poli (metacrilato de metilo) (PMMA) y como carga alúmina, alcanzando una buena dispersión en toda la matriz polimérica.

Para los nanocompuestos de arcilla, la elección específica de las etapas de procesado depende de la morfología final requerida en el material compuesto, por ejemplo, forma exfoliada o intercalada. Cuando la arcilla está intercalada, las moléculas de polímero se introducen entre las láminas ordenadas de la arcilla dando lugar a un aumento de la distancia entre láminas, pero manteniendo todavía el orden. Por otro lado, cuando la arcilla dando lugar a un aumento de la distancia entre láminas, pero manteniendo todavía el orden. Por otro lado, cuando la arcilla está exfoliada, las láminas están separadas y están distribuidas dentro de la matriz. Los nanocompuestos intercalados se obtienen, generalmente, por mezclado en fundido o por polimerización *in situ*. La capacidad de exfoliación depende de la naturaleza de la arcilla, del proceso de mezclado, y de los agentes usados para el curado. La estructura final del material compuesto de arcilla depende del grado de intercalación y exfoliación.

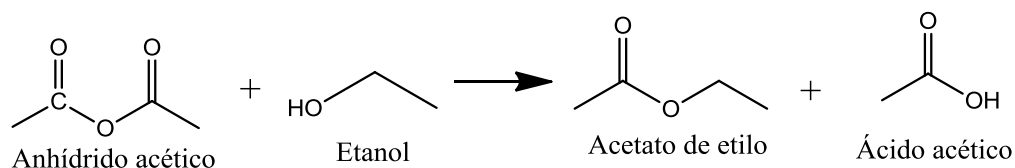
J. González-Benito y colaboradores (Pantaleón López, 2009) mezclaron mediante molienda mecánica de alta energía nanopartículas de sílice de diámetro medio de 14 nm con polimetilmetacrilato. Con este novedoso método se lograron dispersiones excelentes hasta cargas del 10% en peso de nanopartículas. El único inconveniente, o no, es la alteración del polímero por escisión de cadenas.

Los Métodos sintéticos para producir un material compuesto de matriz polimérica y de refuerzo nanopartículas de plata son: (Dolya , 2013)

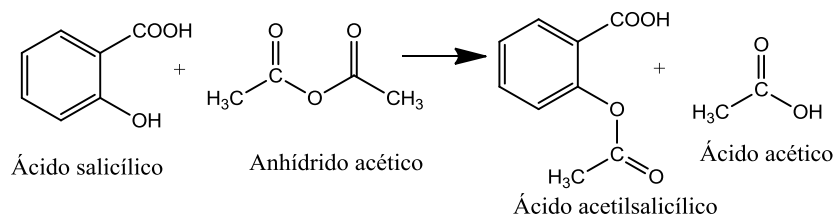
- 1) Preparación de las nanopartículas y los hidrogeles separados o combinados
- 2) Mezclar y polimerizar las nanopartículas preformadas con monómero precursor
- 3) La incrustación de sales metálicas en una matriz de hidrogel seguida de un proceso de reducción en presencia de agentes reductores.

1.3.2.1 Reacciones con alcoholes

Los anhídridos reaccionan con los alcoholes y los fenoles para obtener un mol de éster y un mol de ácido carboxílico. (Bettelheim F., et al, 2013)

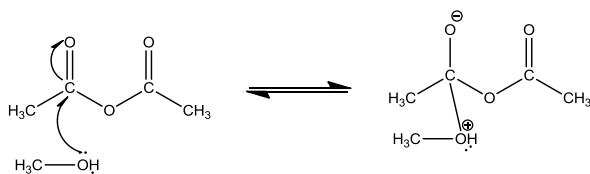


Por lo tanto, la reacción de un alcohol con un anhídrido es un método útil para la síntesis de ésteres. La aspirina se sintetiza a escala industrial mediante la reacción de anhídrido acético con ácido salicílico. (Bettelheim F., et al, 2013)

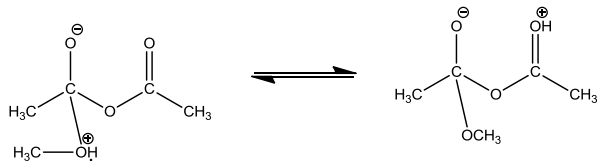


Mecanismo de reacción:

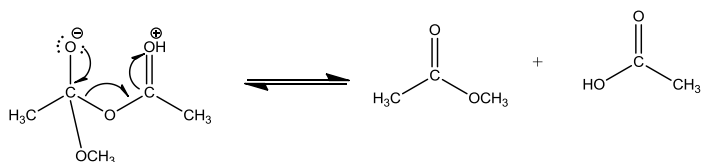
Etapa 1: Adición del alcohol



Etapa 2: Equilibrio ácido-base



Etapa 3: Eliminación



1.4 APLICACIONES DE LOS HIDROGELES NANOFUNCIONALIZADOS

Un biomaterial es un material sintético usado para sustituir parte de un sistema vivo o para funcionar en contacto íntimo con el tejido vivo. La palabra "biomaterial" se utiliza generalmente para reconocer materiales para aplicaciones biomédicas. De acuerdo con el uso de materiales en el cuerpo, los biomateriales se clasifican en cuatro grupos: polímeros, metales, cerámicas y materiales compuestos (Saha N., 2011).

Con el establecimiento de las primeras hidrogeles sintéticos por Wichterle y Lim en 1954, las tecnologías de hidrogel se pueden aplicar a los productos de higiene como materiales absorbentes en los pañales , la agricultura para mantener la tierra húmeda (Katime I. A., 2005), los sistemas de administración de fármacos, la nieve artificial, los aditivos alimentarios, los productos farmacéuticos, las aplicaciones biomédicas, ingeniería de tejidos y medicinas regenerativas, el diagnóstico, vendaje para heridas, la separación de biomoléculas o células y materiales de barrera para regular adherencias biológicos, y Biosensor (Ahmed , 2015).

1.4.1 Liberación controlada de fármacos

Existen muchas desventajas asociadas al empleo de determinados fármacos. Éstos se distribuyen en el organismo según sus propiedades físicas, tales como la solubilidad, coeficiente de partición y carga. En consecuencia, los fármacos pueden alcanzar gran variedad de sitios en los cuales puede que se encuentren fuera de su intervalo terapéutico, que sean inactivos, o que su acción sea indeseada o nociva, y por tanto, con efectos secundarios negativos (Sáez V. H. E., 2003).

Actualmente existen dos métodos para mejorar la acción de los fármacos:

1. Liberación controlada, que trata de eliminar o reducir los efectos secundarios produciendo una concentración terapéutica del fármaco que sea estable en el organismo. Se trata de alcanzar una cinética de liberación de orden cero y no suelen existir cambios en la concentración del fármaco en el organismo (comparándolo con los cambios intermitentes de concentración en las dosificaciones convencionales)
2. Liberación dirigida hacia lugares específicos, que trata de asegurar que el fármaco es liberado en el lugar requerido, y al mismo tiempo mantiene el fármaco inactivo en cualquier otro lugar del organismo.

Los sistemas avanzados de liberación controlada ofrecen un grado significativo de libertad en la elección del lugar de aplicación. Mientras que muchas formulaciones tradicionales deben ser inyectadas o ingeridas, los sistemas poliméricos de liberación controlada pueden ser localizados virtualmente en cualquier cavidad corporal, de modo que estos soportes de fármacos pueden situarse en el organismo en, o cerca de la zona enferma, pueden ser implantados, o pueden ser adheridos externamente a la piel, gracias a ello han aparecido nuevas rutas posibles de administración de fármacos. Se ha investigado la administración sistémica de medicamentos a través de las membranas nasales (ruta nasal), de las membranas mucosas de la boca (ruta oral), del ojo (ruta oftálmica), de la piel (ruta transdermal), entre otras (Sáez V. H. E., 2003).

Los sistemas de suministro de medicamentos bien diseñados deben controlar la liberación de solutos a través del tiempo. Varios biomateriales se han investigado para controlar la liberación del fármaco; sin embargo, entre ellos, los hidrogeles muestran dos claras ventajas:

- i. Los fármacos se pueden difundir fácilmente hacia fuera a través de los hidrogeles. La tasa de liberación del fármaco puede controlarse de muchas maneras tales como cambiando la densidad de reticulación, la preparación del hidrogel con monómeros de mayor o menor carácter hidrofílico y / o el control de la relación de hidrófilos con respecto a monómeros hidrófobos.
- ii. En comparación con materiales hidrófobos, los hidrogeles pueden interactuar menos fuerte con las drogas; en consecuencia, una mayor fracción de moléculas activas de drogas, especialmente proteínas y péptidos, puede ser liberado a través de operadores de hidrogel (Patel, 2010).

La liberación de un fármaco incorporado en un sistema polimérico se lleva a cabo por la migración del soluto al medio que rodea el sistema por

difusión molecular a través del soporte o por difusión a través microporos de la matriz polimérica. Esto hace que la solubilidad del soluto en el polímero un factor importante en el control de su migración. Los sistemas de liberación controlada por difusión se basan en el principio de la permeabilidad de la matriz polimérica después de que el proceso de hinchamiento en un medio de hidratación. La cinética de hinchamiento y la velocidad de liberación dependen del grado hinchamiento de la matriz. La matriz está constituida por los sistemas poliméricos a base de polímeros hidrófilos reticulados con monómeros acrílicos o, alternativamente, para los copolímeros biocompatibles de monómeros hidrófilos e hidrófobos con la composición apropiada para controlar la velocidad de liberación del fármaco (García O., 2000).

Tabla 1: Problemas y necesidades de los sistemas de liberación

Sistema	Problemas	Necesidades
Oral	-La absorción no presenta necesariamente una velocidad de liberación equiparable.	-Que ejerza control del tránsito gastrointestinal.
Ocular	-Incompatibilidad del organismo con un cuerpo extraño.	-Que sea fácil de aplicar. -Sistemas de larga duración
Implantes	-Erosionable -Las velocidades de erosión y liberación no son siempre reproducibles	-Que ofrezca información química y biológica del implante, velocidad de erosión y compatibilidad
Transdermal	-Velocidad de transporte inadecuada(efectos de acumulación) -incompatibilidad (irritación)	-Acción intensificadora

1.4.1.1 5-Fluorouracilo

El 5-fluorouracilo (5-FU) es una fluoropirimidina que es un agente antineoplásico de amplio uso en la quimioterapia clínico para el tratamiento de tumores sólidos, se administra tópicamente en ungüento y tiene una utilidad limitada en el tratamiento del carcinoma de células basales, por los porcentajes de reaparición a 10 años del 21,4% de los

pacientes tratados. Se recomienda su uso dos veces al día por seis semanas. El legrado previo de la lesión y el uso del 5 FU en oclusivo parece aumentar la eficacia. En ocasiones, es necesario usarlo hasta tres meses para erradicar el tumor, lo que supone importantes molestias (García O., 2000). Los efectos secundarios clínicos son inflamación, hiperpigmentación, hipopigmentación, estomatitis, esophagopharyngitis, diarrea, cambios dermatológicos, alopecia, depresión hematopoyética, fiebre y cicatrices (Blanco M. D., 2000). Alrededor del 3% de los pacientes desarrollan alergia al 5-FU, en especial los que presentan múltiples lesiones. Existen otros estudios en el que el 5-FU no es tan efectivo ni siquiera para los carcinomas de células basales superficiales, porque puede enmascarar el componente profundo, con extensa diseminación subclínica y llevar a desastrosas recurrencias. Por tanto, su uso debe reservarse a pacientes con carcinoma de células basales superficial en los que no se pueden realizar otros tratamientos (García O., 2000).

Una dosis terapéutica eficaz de 5-FU produce niveles de plasma de alta drogas por vías de administración habituales. Así, la inclusión de 5-FU en una matriz polimérica que permita su liberación controlada dando adecuadamente bajos niveles plasmáticos de la droga, junto con la posibilidad de localizar el dispositivo cargada de fármaco cerca de un tumor sólido, disminuiría los efectos secundarios y mejorar acción antineoplásica (Blanco M. D., 2000).

CAPÍTULO 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La demanda actual en el área médica en la administración de fármaco ha dado el paso al desarrollo de materiales tales como los hidrogeles para liberación controlada de fármacos.

Los hidrogeles son estructuras poliméricas, de alto contenido en agua, consistencia blanda y elástica, con una gran capacidad de absorción debido a la flexibilidad de las cadenas poliméricas lo que hace posible que se deformen para permitir la entrada de moléculas de disolvente dentro de su estructura tridimensional y que no se disuelven en ningún líquido.

Desde que los hidrogeles se introdujeron en el campo de la Biomedicina, ha quedado demostrado que poseen un gran potencial como biomateriales, debido a su buena biocompatibilidad. Esta característica se debe a que las propiedades físicas de los hidrogeles se asemejan a las de los tejidos vivos más que cualquier otra clase de biomateriales sintéticos, particularmente, en lo referente a su contenido en agua relativamente alto, su consistencia blanda y elástica y su baja tensión superficial.

Los sistemas de dosificación controlada ofrecen la posibilidad de reunir en la matriz polimérica diferentes grupos funcionales, que pueden controlar los procesos fisiológicos y bioquímicos a los que estará sometido el sistema una vez introducido en el organismo.

Actualmente los hidrogeles son usados comúnmente como material absorbente en los pañales, soportes de catalizadores, como depósitos de agua y nutrientes para plantas y cultivos, entre otras.

En cuanto al área médica sus usos más importantes son en lentes de contacto, prótesis de tejido, revestimiento de suturas, membranas de hemodiálisis, entre otras.

En este trabajo nos dimos a la tarea de diseñar un hidrogel con una estructura que permita ser utilizado para liberación controlada de fármacos, posteriormente se llevó a cabo la síntesis y finalmente la caracterización fisicoquímica con la finalidad de comprobar sus características.

Este trabajo se enfoca en el desarrollo de un hidrogel que pueda ser utilizado para tratamiento de cáncer de piel ya que ocupa el segundo lugar en frecuencia en nuestro país: el primero en el caso de los hombres y el segundo respecto a las mujeres. En los últimos diez años, su incidencia se ha incrementado hasta un 20%, de acuerdo con la Fundación Mexicana de Dermatología (FMD).

Actualmente hay investigaciones para el desarrollo de hidrogeles para el tratamiento de cáncer con la finalidad de que sea un tratamiento inyectable para liberación controlada de fármacos y de biomarcación.

Pero en el caso de cáncer de piel el tratamiento es tópico por lo cual se ideó el desarrollo de un hidrogel a base de polietilenglicol con el propósito de obtener un material que no sea tóxico para el cuerpo humano ya que el polietilenglicol es usado en el área médica y farmacéutica como medicamento, excipiente de algunos medicamentos y cremas, y se le adicionaron nanopartículas al hidrogel que ofrecen la ventaja de que fungen como antibacterianos de gram (+) y gram (-), levaduras, incluyendo estafilococo aureus resistente a la meticilina (MRSA) y estercoco resistente a la vancomicina (VRE), no crea resistencia y no son tóxicas frente a los fibroblastos.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 General:

Sintetizar y caracterizar fisicoquímicamente un hidrogel a base de polietilenglicol que contenga en su estructura nanopartículas de plata para su posterior uso con fines biomédicos.

1.1.2 Específicos:

- Síntesis de un hidrogel a base de polietilenglicol y posteriormente adicionar nanopartículas de plata en la estructura del hidrogel.
- Síntesis de nanopartículas de plata.
- Caracterización fisicoquímica por medio de técnicas analíticas especializadas del material nanocompuesto y el hidrogel.
- Someter el hidrogel a una prueba para liberación controlada de fármaco *in vitro*.

1.2 HIPÓTESIS

Es posible diseñar un hidrogel a base de polietilenglicol que contenga en su estructura nanopartículas de plata y que posea propiedades fisicoquímicas adecuadas para su aplicación con fines biomédicos.

CAPÍTULO 3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

3.1 MATERIALES

3.1.1 Reactivos

Nitrato de plata (AgNO_3 ; 99.4% de Fermont), Alcohol etílico absoluto (etanol; Fermont) Polivinilpirrolidona (PVP; $M_w = 10000 \text{ g mol}^{-1}$; Sigma Aldrich), Pentaeritritol (2,2-Bis (hydroxymethyl)-1,3-propanediol; $\geq 99\%$ de Sigma Aldrich), Anhídrido acético (98% de Baker Analyzed), Polietilenglicol (PEG) $M_w = 20000 \text{ g mol}^{-1}$; Polioles S.A. de C.V.), Anhídrido metacrílico (94% de Sigma Aldrich), Eter etílico (99.4% Fermont), Cloruro de metileno (99.98% Fermont), 2,2'-azobis[2-metilpropionamida], diclorhidrato (AIBA; 99% Sigma Aldrich)

Para el uso de estos reactivos no se llevó a cabo purificación, al ser analizado el pentaeritritol se secó porque tenía presencia de agua.

3.1.2 Equipos de laboratorio

Parrilla de agitación y calentamiento, microondas, lámpara de luz UV, mantilla de calentamiento, balanza analítica, termopar, reóstato, equipo de destilación, equipo microescala, pipetas, viales de diversos tamaños, desecador a vacío

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Síntesis

3.2.1.1 Síntesis de nanopartículas de plata

Se preparó una solución etanólica de polivinilpirrolidona (PVP) al 1% (w/v), por separado se preparó una solución de nitrato de plata (AgNO_3) 0.2 M. En un vial se colocaron 10 mL de solución de PVP y 0.2 mL de solución de nitrato de plata, esta solución se colocó en un microondas con 1000 watts

de potencia durante 5 segundos. Transcurrido el tiempo se notó un cambio ya que la solución pasa de incolora a un color amarillo pálido, indicando la formación de nanopartículas de plata.

3.2.1.2 Síntesis del polímero

Esterificación de pentaeritritol:

En un matraz de tres bocas se colocó pentaeritritol y anhídrido acético en proporción 1:4 respectivamente, se le adicionó 0.01% de octoato estañoso (catalizador), se dejó reaccionar durante 4 horas a una temperatura de 120°C, con agitación constante y bajo atmósfera de nitrógeno.

Funcionalización con polietilenglicol

El producto obtenido en la esterificación se incorporó a un matraz de 3 bocas y se le adicionó polietilenglicol en relación 1:4 (pentaeritritol:polietilenglicol), se dejó reaccionar durante 4 horas en atmósfera de nitrógeno a 100°C y agitación constante, finalmente se deja enfriar a temperatura ambiente.

Acrilación del PEG-*multiarm*

Del producto obtenido en la funcionalización con polietilenglicol se tomaron 2g y se colocaron en un vial. Se le adicionaron 0.3 mL de anhídrido metacrílico, esta mezcla se colocó en un microondas a 1000 watts de potencia durante 4 minutos, posteriormente se le adicionaron 2.5 mL de cloruro de metileno. A esta solución se le adiciono gota a gota éter etílico hasta formar un precipitado, finalmente se filtra, se hizo un lavado con éter etílico y se dejó secar a vacío.

3.2.1.3 Síntesis del hidrogel

a. Síntesis del hidrogel de PEG-*multiarm*

En un vial color ámbar se colocó del producto obtenido de la acrilación de PEG-*multiarm* (0.1 g/mL) en agua desionizada, se agito hasta obtener una mezcla homogénea, se adiciono 0.02 g/mL de fotoiniciador y se colocó en una cámara de luz ultravioleta durante 15 minutos.

b. Síntesis del hidrogel nanofuncionalizado de PEG-*multiarm*

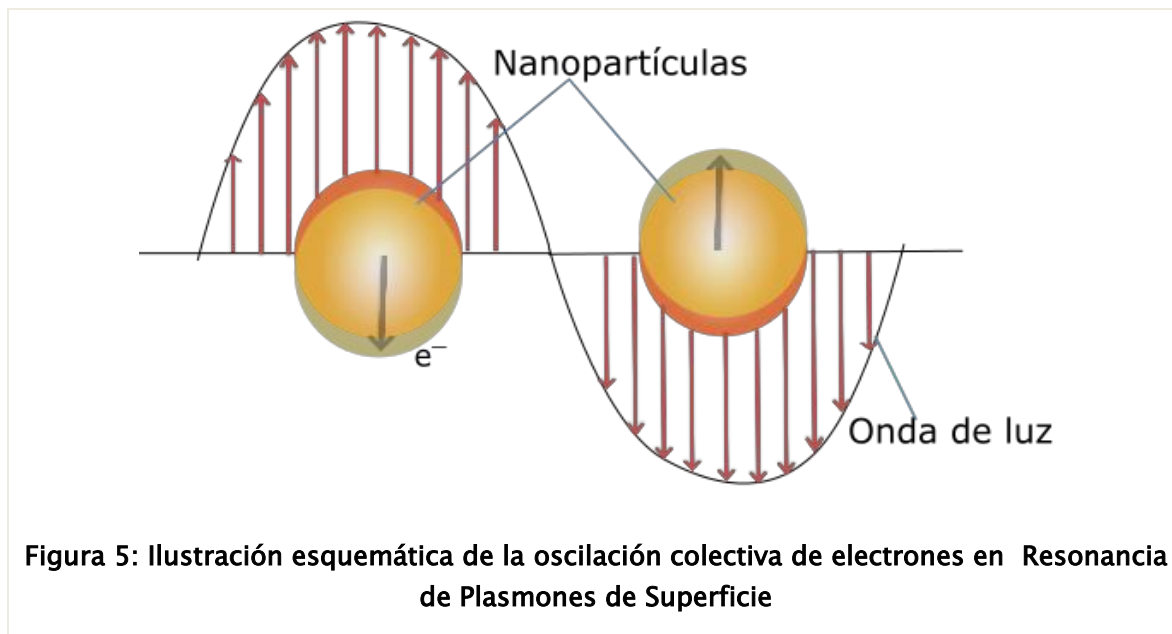
En un vial color ámbar se colocaron del producto obtenido de la acrilación de PEG-*multiarm* (0.1 g/mL) en solución de nanopartículas de plata, se agito hasta obtener una mezcla homogénea, se adiciono 0.02 g/mL de fotoiniciador y se colocó en una cámara de luz ultravioleta durante 15 minutos.

3.2.2 Caracterización fisicoquímica

3.2.2.1 Espectroscopia UV-vis

Las propiedades más inmediatamente observables en las nanopartículas metálicas son las ópticas (colores). Las nanopartículas de Oro (Au) y Plata (Ag) tienen colores característicos relacionados con sus tamaños de partícula. Estas propiedades son frecuentemente elucidadas a través de la espectroscopia de absorción óptica en la región UV-vis, la cual es una técnica donde se realiza la medición e interpretación del cambio en la radiación electromagnética absorbida o emitida por las partículas. El efecto físico de la absorción de la luz por las nanopartículas metálicas en los líquidos es la oscilación coherente de los electrones de la banda de conducción en respuesta a la interacción con el campo electromagnético, como se muestra en la Figura 6 y es conocida como Resonancia de Plasmones de Superficie (RPS). Esta característica óptica, es de hecho un efecto de tamaño, porque está ausente tanto en los átomos individuales como en los materiales en bulto. La presencia de esta banda en la región

visible del espectro es responsable de los atractivos colores de las soluciones coloidales de algunas partículas metálicas (Pescador Rojas , 2006).



A un nivel fundamental, los espectros de absorción óptica proporcionan información sobre la densidad electrónica, tamaño y estructura. Así, para estas nanopartículas metálicas, la espectroscopia UV-Vis es una herramienta indispensable para iniciar su caracterización. La comparación de los espectros de las nanopartículas bimetalicas con los espectros de las mezclas físicas de las respectivas dispersiones coloidales monometálicas puede confirmar la bimetalización de las nanopartículas. La espectroscopia UV-Vis, es capaz de revelar los diferentes mecanismos de formación de las nanopartículas monometálicas y bimetalicas a partir de las observaciones de los cambios en los espectros UV-Vis durante el proceso de reducción (Pescador Rojas , 2006).

El equipo empleado para esta caracterización fue el equipo Espectrofotómetro de UV- vis modelo Lambda 25 de Perkin Elmer (Figura 7) para comprobar la formación de nanopartículas de plata.



Figura 6: Equipo Espectrofotómetro de UV- vis modelo Lambda 25 de Perkin Elmer

3.2.2.2 Espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR)

La Espectroscopia de absorción infrarroja es una técnica espectroscópica donde se analizan las vibraciones a nivel molecular en un rango de absorción de 400 a 4000 cm^{-1} . La técnica se fundamenta en la absorción de la radiación IR por los enlaces entre los diversos átomos y/o grupos funcionales de las moléculas en vibración. Una molécula absorberá la energía de un haz de luz infrarroja cuando dicha energía incidente sea igual a la necesaria para que se dé una transición vibracional de la molécula. En principio todas las moléculas presentan un espectro IR característico debido a la presencia de ciertos grupos funcionales en la molécula, exceptuando las especies diatómicas homonucleares como O_2 y Br_2 , que debido a que carecen de momento dipolar permanente, al ser irradiadas con radiación infrarroja no se produce interacción radiación-materia y por consiguiente no dan señal en la zona infrarroja (Chacón Vera, 2012).

Esta técnica se utilizó para cada paso de la síntesis del polímero en el equipo FTIR Nicolet AVATAR 360 (Figura 8) y posteriormente para el análisis del hidrogel se hizo en el equipo Bruker, modelo Tensor 27 con accesorio Platinum ATR



Figura 7: Equipo para espectroscopia infrarroja FTIR Nicolet AVATAR 360

3.2.2.3 Microscopia electrónica de barrido (SEM)

La técnica de microscopia electrónica de barrido utiliza una emisión de electrones para examinar la superficie/topografía de una muestra y construir una imagen bien detallada en tres dimensiones de la misma. La técnica requiere que la muestra sea conductora por lo cual generalmente es recubierta con una capa delgada de un metal como el oro. Posteriormente es barrida con los electrones acelerados que viajan a través del cañón. La interacción de los electrones emitidos y los átomos de la muestra genera una variedad de señales que son proyectadas en una imagen digital (Chacón Vera, 2012). En el presente trabajo se utilizó esta técnica para el análisis superficial, porosidad y morfología del poro del hidrogel. Se usó el equipo de microscopia electrónica de barrido JEOL JSM-6510LV (Figura 9); voltaje de aceleración de 1 a 30 kV.



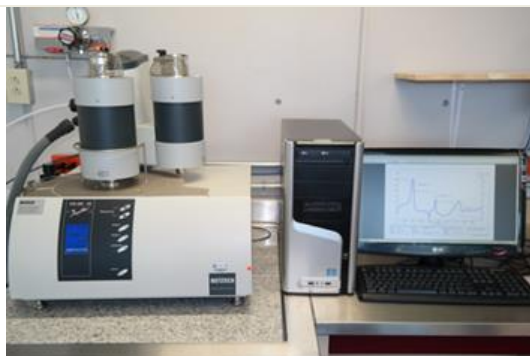
Figura 8: Equipo de Microscopia electrónica de barrido JEOL JSM-6510LV

3.2.2.4 Calorimetría diferencial de barrido y análisis termogravimétrico

La termogravimetría (TGA) es una técnica de análisis térmico en la que se determina la pérdida o ganancia de masa de una muestra en función de la temperatura. Por otro lado la calorimetría diferencial de barrido es una técnica cuantitativa que permite conocer la temperatura a la que tiene lugar el cambio energético en el proceso en estudio, así como el calor involucrado en el mismo. Si el flujo de calor, se mide su variación entre la muestra y la referencia cuando se somete a las, muestras en el programa de temperatura bajo atmosfera controlada (Barroso Herrero S., 2010).

Para llevar a cabo este análisis se usó el equipo Analizador térmico Netzsch modelo STA 449 F3 Jupiter (Figura 10) con velocidad de calentamiento de $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$, en atmosfera de nitrógeno de ultra alta pureza 99.997% con flujo de $20\text{ mL}/\text{min}$. Los crisoles que se emplearon fueron de aluminio de 5 mm de diámetro

Se corrió el Blanco previo a la muestra con el crisol vacío bajo las mismas condiciones que la muestra. Posteriormente se colocó en el crisol con aproximadamente 2 mg de muestra, procurando que estuviera en contacto con el fondo del crisol, se selló con la prensa y se realizó el programa de calentamiento en el equipo.



**Figura 9: Equipo de Calorimetría diferencial de barrido y análisis termogravimétrico
Analizador térmico Netzsch modelo STA 449 F3 Jupiter**

3.2.2.5 Cinética de hinchamiento

La cinética de hinchamiento se midió gravimétricamente, inicialmente el hidrogel se cortó en discos, se lavó con etanol al 70% y agua después del proceso de fotopolimerización, se toman tres muestras de cada hidrogel y por separado se colocaron en un vial que contenía 10 mL de solución de fosfato buffer salino. El disco se extrajo a 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 24, 48 y 72 horas. La muestra se pesó y se devolvió al recipiente correspondiente, para el cálculo del hinchamiento se utilizó (ecuación 2)²⁸

$$\% \text{ Hinchamiento} = \frac{W_t - W_0}{W_0} \times 100 \quad \text{Ecuación 1}$$

Dónde:

- W_t es el peso del disco hinchado al tiempo t.
- W_0 es el peso del disco después de la fotopolimerización.

3.2.3 Pruebas in vitro

3.2.3.1 Liberación controlada de fármaco

Para la curva de calibración de 5-Fluorouracilo se preparó una solución de 5-FU de 0.5 mg/mL en solución de fosfato buffer salino, con esta solución madre se hicieron diluciones para encontrar 5 puntos en la recta con el fin de poder cuantificar la cantidad de fármaco liberado al tiempo t.

En cuanto a la medición es necesario hinchar el hidrogel con la solución madre de 5-FU una semana antes del experimento. El disco de hidrogel hinchado con solución de 5-FU se extrae del recipiente y se coloca en uno con solución de PBS, se mide la absorbancia en un espectrofotómetro NanoPhotometer UV/Vis IMPLEN (Figura 11) a 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 24, 48 y 72 horas.



Figura 10: Equipo Espectrofotómetro NanoPhotometer UV/Vis IMPLEN

Para el cálculo de la eficiencia de encapsulación se usó (ecuación 3)

$$EE\% = \frac{C_{adicionada} - C_{remanente}}{C_{adicionada}} \times 100 \quad \text{Ecuación 2}$$

Dónde:

- EE% porcentaje de eficiencia de encapsulado
- $C_{adicionada}$ es la concentración inicial de la solución de 5-FU
- $C_{remanente}$ es la concentración absorbida al tiempo t

Previamente para el cálculo de la concentración se usaron las (ecuaciones 4 y 5)

$$C = \frac{Abs + a}{b} \quad \text{Ecuación 3}$$

$$y = bx + a \quad \text{Ecuación 4}$$

Dónde:

- C es la concentración
- Abs absorbancia registrada por el equipo
- a y b son parámetros de la regresión lineal de la curva de calibración

3.2.3.2 Prueba preliminar anti-fúngica de los hidrogeles

Esta prueba se llevó a cabo con el fin de evaluar las propiedades anti-fúngicas de los hidrogeles con y sin nanopartículas de plata, para ello se preparó un vial con hidrogel y solución buffer salino ya que este es un medio ideal para crecimiento de hongos y se dejó reposando durante 1 semana en la intemperie, finalmente se observaron cambios a simple vista.

CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.3 NANOPARTÍCULAS DE PLATA

3.3.2 Síntesis

Se hicieron 2 pruebas en las cuales se varió el volumen y la concentración, en la primera prueba con volumen se llevó a cabo de la siguiente manera:

En un vial de 60 mL se colocaron 10 mL de solución etanólica de PVP (polivinilpirrolidona) al 1% (v/w) de y 0.1, 0.2, 0.3 y 0.4 mL de una solución de nitrato de plata al 0.1 M, se introdujo en un horno de microondas que se hizo funcionar a 1000 watts de potencia durante 5 s. Lo que se puede observar al sacar la solución del microondas es que comienzo a tomar un color amarillo muy claro, inmediatamente. (Figura 12)

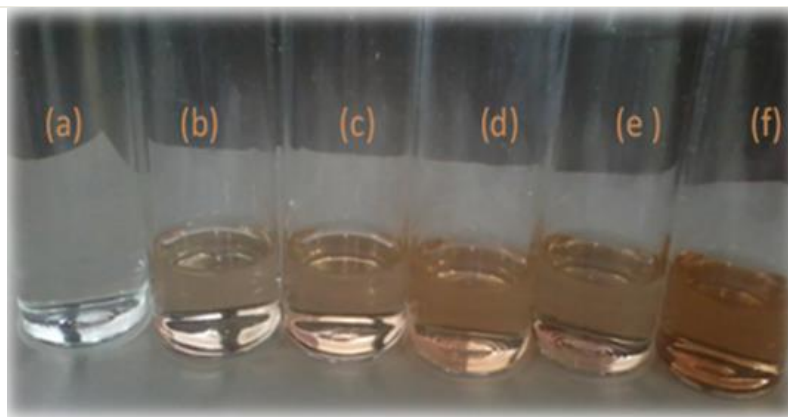


Figura 11: Comparación de colores de las soluciones de 0.1M de AgNO_3 en solución de etanol-PVP.

a) Solución de etanol-PVP, b) solución de 0.1 mL, c) solución de 2 mL, d) solución de 0.3 mL, e) solución de 0.4 mL, f) solución de 0.2 mL con 10 s en microondas

Estas soluciones se guardaron en un lugar seco y oscuro, después de una semana de reposo de la solución se observó el color marrón, se obtuvo (Figura 13):

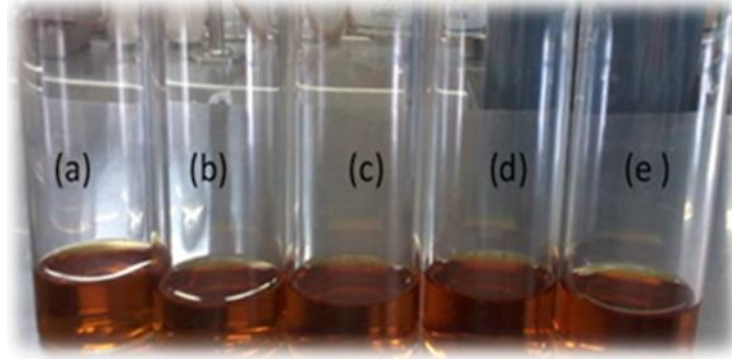


Figura 12: Comparación de colores después de una semana de las soluciones de 0.1M de AgNO_3 en solución de etanol-PVP; a) solución de 0.1 mL, b) solución de 2 mL, c) solución de 0.3 mL, d) solución de 0.4 mL, e) solución de 0.2 mL con 10 s en microondas

Por otro lado en la segunda prueba, en un vial de 60 mL se colocaron 10 mL de solución etanólica de PVP (polivinilpirrolidona) al 1% (v/w) y 0.2 mL de una solución de AgNO_3 al 0.1 M, 0.2M, 0.4M y 0.8M, en viales separados, se introdujo en un horno de microondas de 1000 watts de potencia por 5 s. Lo que se puede observar al sacar la solución del microondas es que comienza a tomar un color amarillo muy claro, (Figura 14)

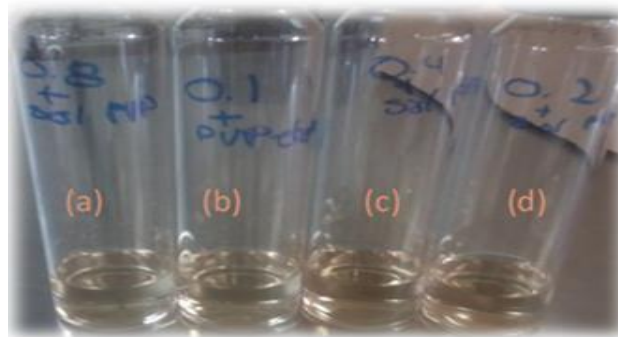


Figura 13: Comparación de colores de las soluciones de diferentes concentraciones de AgNO_3 en solución de etanol-PVP; a) solución 0.8 M, b) solución 0.1 M, c) solución 0.4 M d) solución 0.2 M

Estas soluciones se guardaron en un lugar seco y oscuro, después de una semana de reposo de la solución se observó el color se obtuvo (Figura 15)

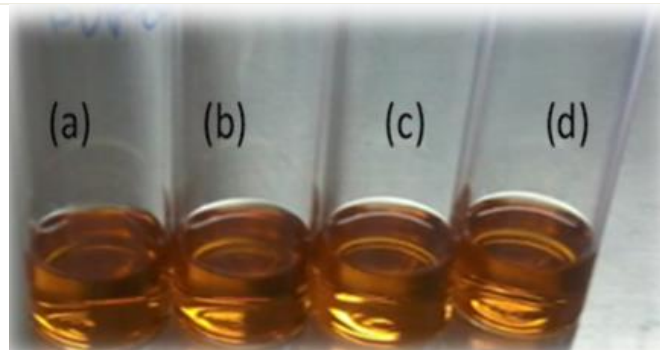


Figura 14: Comparación de colores después de una semana de las soluciones de diferentes concentraciones de AgNO_3 en solución de etanol-PVP.

a) solución 0.1 M, b) solución 0.2 M, c) solución 0.4 M d) solución 0.8 M

3.3.3 Caracterización por espectroscopia UV-vis

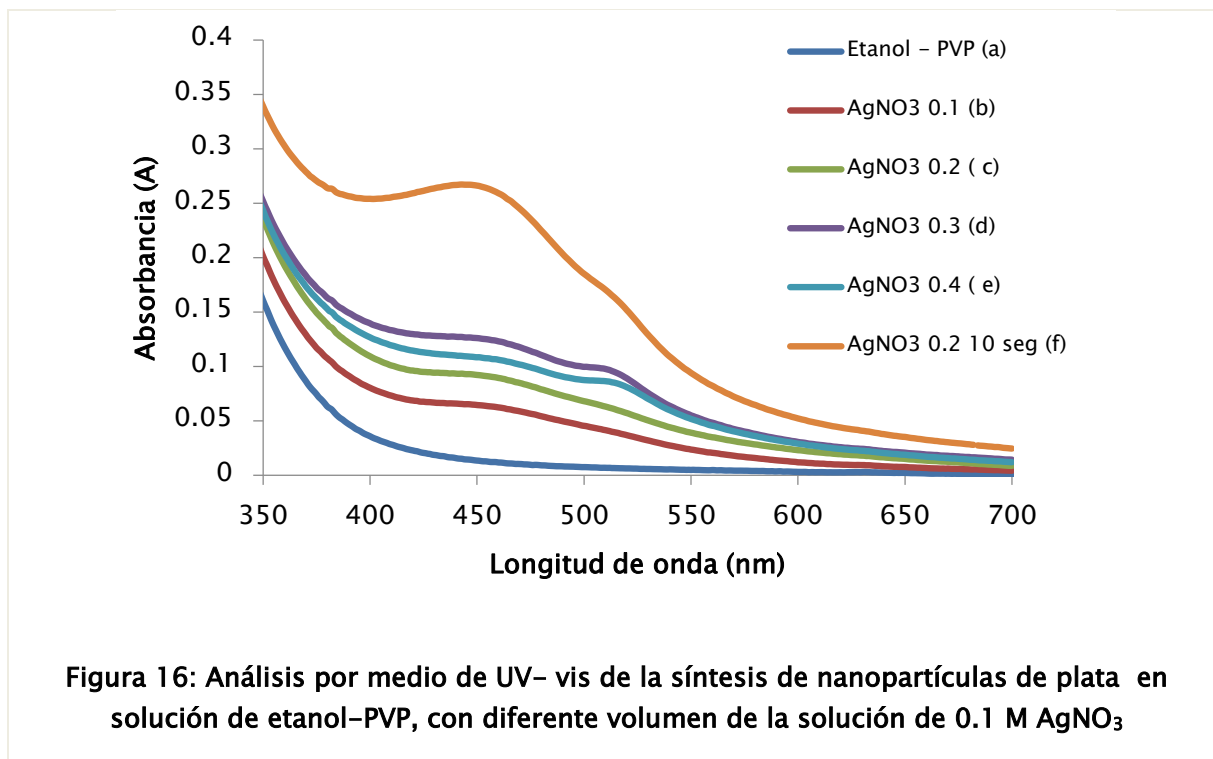
Para saber el tamaño aproximado de las nanopartículas de plata sintetizadas se sometieron a caracterización espectroscópica UV-vis en el equipo Espectrofotómetro UV-vis Lambda 25 de Perkin Elmer, para ello se usaron celdas con capacidad de 3 mL.



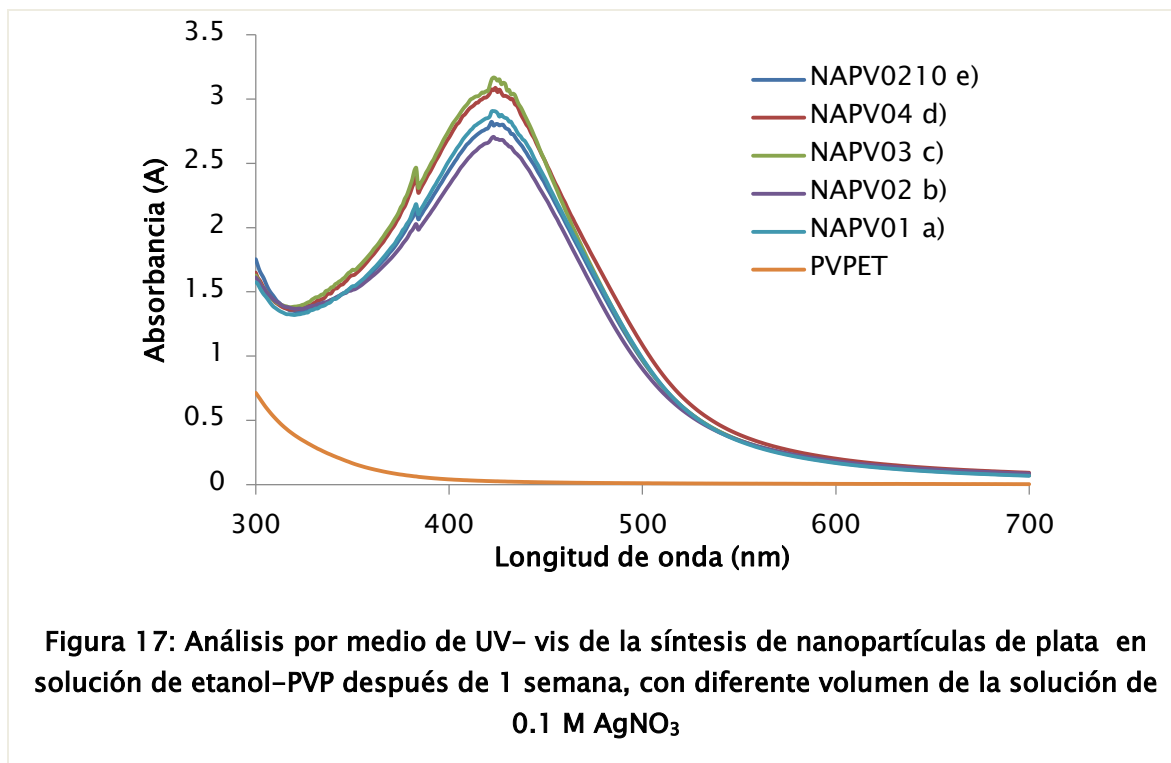
Figura 15: Celdas utilizadas para el espectrofotómetro UV-vis

Inicialmente se corrió un blanco que en este caso fue la solución etanólica de PVP y posteriormente cada una de las muestras.

La muestra después de la síntesis se corrieron una por una y se obtuvo (Figura 17)



Se observa que el tamaño de las nanopartículas de plata es muy disperso, por lo cual se dejan reposar a 20°C, en un lugar oscuro y seco. Posteriormente se analizan y como se observa en la Figura 13 el color cambio pasando de color amarillo muy claro a un color entre anaranjado y café, se analizaron en espectroscopia UV-vis y se obtuvo (Figura 18).



En este análisis los resultados muestran que entre 400 – 450 nm se forma el típico pico de la resonancia de plasmón superficial, el cual indica la formación de las nanopartículas de plata.

En cuanto al tamaño se encuentra reportado que en esta longitud de onda se encuentran tamaños de nanopartículas que van desde los 30 – 50nm ya que su pico se encuentra situado aproximadamente a los 425 nm.³¹

Por otro lado la misma prueba se realizó en las soluciones que se varió la concentración de nitrato de plata, obteniendo después de la síntesis (Figura 19)

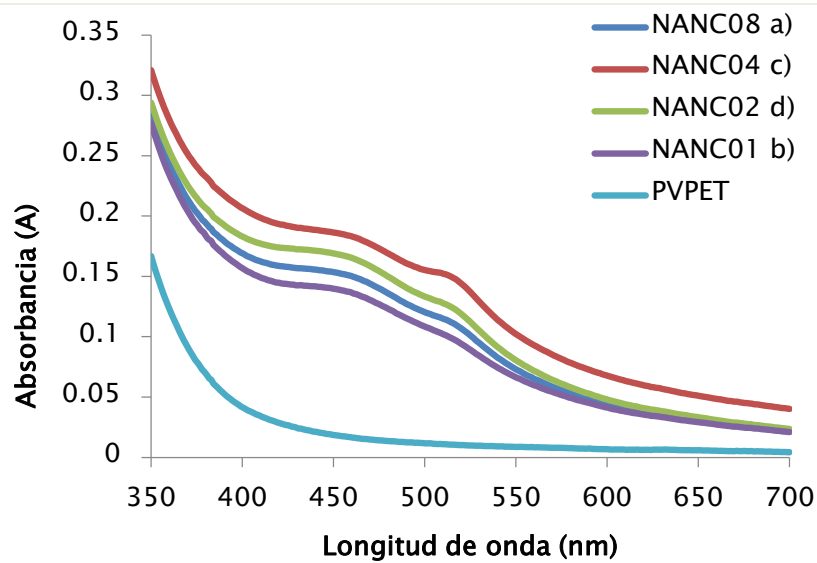
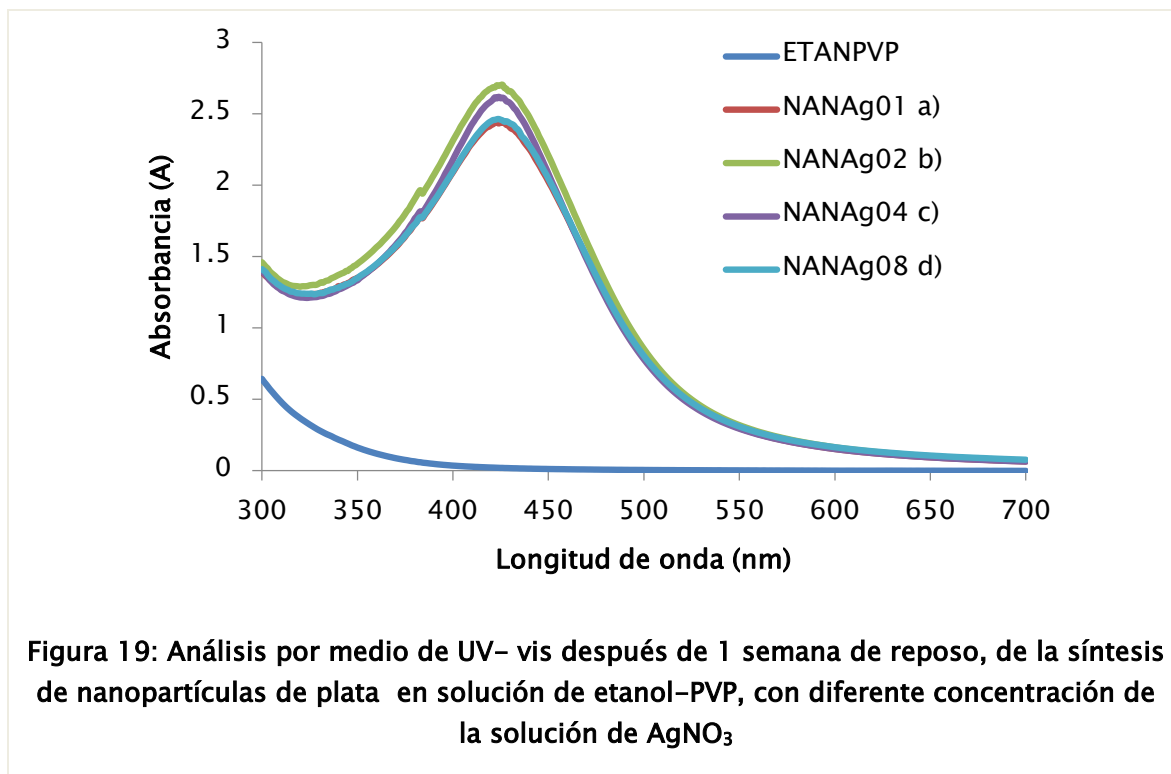


Figura 18: Análisis por medio de UV- vis de la síntesis de nanopartículas de plata en solución de etanol-PVP, con diferente concentración de la solución de AgNO_3

En este caso también se observa un tamaño muy disperso de nanopartículas de plata por lo que se dejan en las mismas condiciones mencionadas anteriormente. Al paso de una semana se les realizó una prueba más y se obtuvo (Figura 20)



En este caso también se presenta absorbancia en 400 – 450 nm y como anteriormente se menciona es el típico pico de la resonancia de plasmón superficial y el tamaño es muy parecido al anterior de entre 30–50 nm.

De acuerdo a estos análisis se eligió las nanopartículas sintetizadas fueron 0.2 mL de solución 0.2 M de nitrato de plata con 10 mL de solución etanolica de PVP, para la síntesis del material compuesto.

3.4 HIDROGEL

3.4.2 Síntesis del polímero

Para llevar a cabo la síntesis del polímero inicialmente se llevó a cabo la reacción de esterificación de pentaeritritol, para ello se montó un equipo parecido al de destilación con el equipo de microescala. En el matraz de 3 bocas de 25 mL se colocó pentaeritritol con un exceso de anhídrido acético y 0.01% de octoato de estaño (catalizador). La reacción se colocó en baño de sal, se inició el calentamiento desde temperatura ambiente para llegar a

una temperatura de 120°C y se dejó reaccionar durante 4 horas a esta temperatura, con agitación constante y bajo atmósfera de nitrógeno.

Cuando se llegó a los 80°C se comenzaron a observar las primeras gotas de destilado y la solución se encontraba homogénea de color amarillo pálido, se llegó a una temperatura máxima de 120°C ya que se obtiene como subproducto ácido acético y cuenta con un punto de ebullición reportado de 118°C, se mantuvo a esta temperatura durante 4 horas, al cabo de este tiempo se observó destilado y la solución era de color amarillo pálido. La solución se dejó enfriar y reposar durante 20 horas. El producto final es un sólido de color amarillo muy pálido con un rendimiento de la reacción de 52%, al cual se le determinó el punto de fusión en el equipo Mel-temp y se obtuvo en un intervalo de 62–68°C.



Figura 20: Dispositivo para llevar a cabo la reacción de esterificación de pentaeritritol

Posteriormente se procedió a hacer la funcionalización con polietilenglicol, se montó un segundo dispositivo de destilación, en un matraz de 3 bocas de 100 mL, en él se colocó el producto de la esterificación de pentaeritritol y se le adicionó estequiométricamente 1:4 de polietilenglicol, esta reacción se colocó en un baño de sal, se inició el calentamiento desde temperatura ambiente hasta 100°C, y se dejó reaccionar durante 4 horas a 100°C, con agitación constante y bajo

atmosfera de nitrógeno. Al terminar la reacción el producto final es un sólido color perla al cual se le determino el punto de fusión en el equipo Mel-temp, se obtuvo en un intervalo de 57–62°C. Este producto se almacenó para su uso posterior en un frasco.

A este producto se le hizo una prueba de solubilidad en algunos disolventes como: agua, acetona, tolueno, cloroformo, acetato de etilo, alcohol etílico y metanol. En todos los disolventes fue soluble pero mayormente en cloroformo.



Figura 21: Dispositivo para llevar a cabo la reacción de funcionalización con poli etilenglicol

Finalmente se llevó a cabo la acrilación de PEG-*multiarm*, para ello se tomaron 2 g, se colocaron en un vial y se le adicionaron 0.3 mL de anhídrido metacrilico, esta mezcla se colocó en el microondas con 1000 watts de potencia durante 4 minutos, se dejó enfriar durante 2 minutos y se le adicionaron 2.5 mL cloruro de metileno para disolver, posteriormente se le adiciona gota a gota éter etílico frio hasta formar un precipitado color blanco, este se filtró y se lavó con éter etílico frio, el producto es un polvo blanco que se dejó secar a vacío a temperatura ambiente.

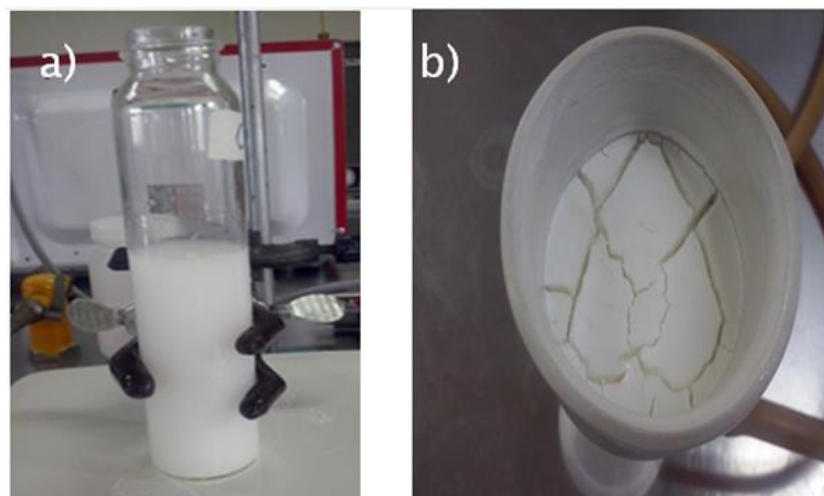


Figura 22: a) Formación del precipitado de PEG-*multiarm* y b) Filtración y lavado del precipitado de PEG-*multiarm*

3.4.3 Síntesis del hidrogel de PEG-*multiarm*

Para llevar a cabo la síntesis en molde se colocaron en un vial 0.6 mL de PEG-*multiarm* acrilado, se le adicionaron 6 ml de agua desionizada, se agito hasta tener una solución homogénea, se le adicionaron 0.12 g de fotoiniciador (2,2'-azobis[2-metilpropionamida], diclorhidrato (AIBA)) que se descompone y genera radicales libres responsables de iniciar la reacción de polimerización para dar lugar a la formación de hidrogeles reticulados mediante radiación UV, para que ocurriera esta reacción se colocó en una fuente artificial de luz ultravioleta durante 15 minutos continuos.

3.4.4 Síntesis del hidrogel de PEG-*multiarm* nanofuncionalizado

Se llevó a cabo el mismo procedimiento del hidrogel, en este caso a 0.6 mL de PEG-*multiarm* acrilado se le adicionaron 6 mL de nanopartículas de plata en solución, se agito hasta tener una mezcla homogénea y se le adicionaron 0.12 g de fotoiniciador, finalmente se colocó en el molde y se sometió a una fuente artificial de luz UV durante 15 minutos.

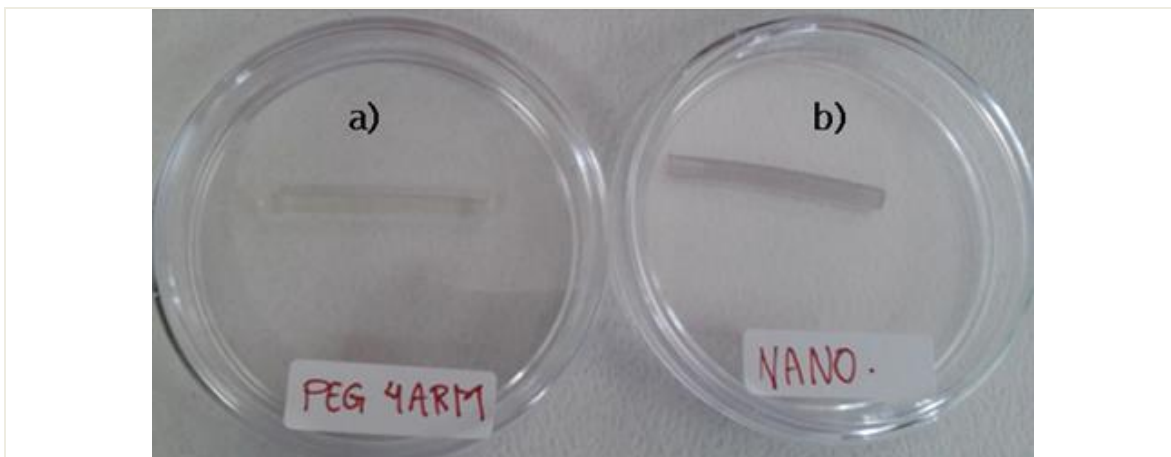


Figura 23: a) Hidrogel de PEG-*multiarm* y b) Hidrogel de PEG-*multiarm* con nanopartículas de plata

3.4.5 Caracterización fisicoquímica

3.4.5.1 Espectroscopia infrarroja

Esta técnica se utilizó para cada paso de la síntesis con el fin de analizar si se encontraban presentes los grupos funcionales esperados. Los primeros pasos fueron analizados en el equipo de espectroscopia infrarroja FTIR Nicolet AVATAR 360, para ello se tomó un poco de muestra y se pulverizó junto con bromuro de potasio para posteriormente formar una pastilla.

Se analizó inicialmente el pentaeritritol esterificado (ver anexo 1a), se encontraron bandas características tales como: en 3454 cm^{-1} se encuentran el movimiento de vibración de estiramiento del grupo $-\text{OH}$, la banda en 2974 cm^{-1} sugiere la frecuencia de vibración de estiramiento del grupo CH_3 , en la banda de 1776 cm^{-1} encontramos la frecuencia de vibración del enlace $\text{C}=\text{O}$, en 1484 cm^{-1} se encuentra la vibración de flexión de los grupos CH_2 y CH_3 ,

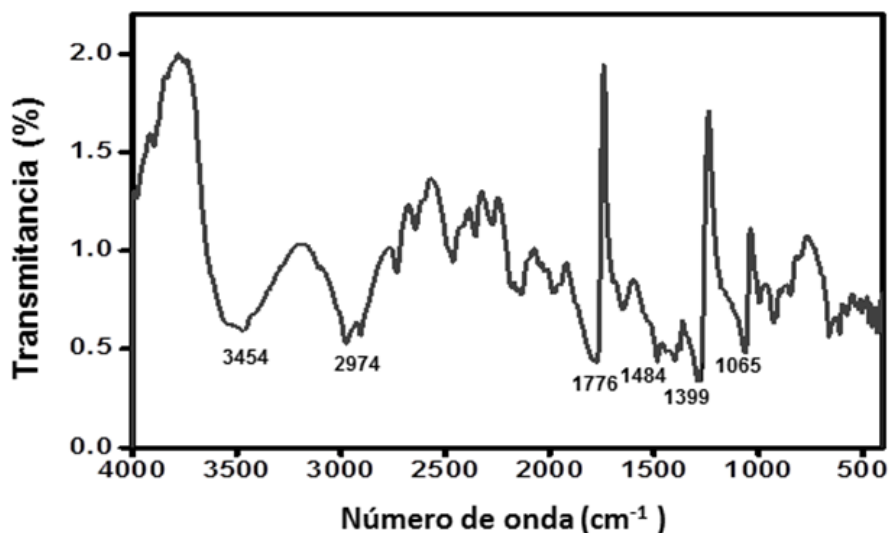


Figura 24: Espectro infrarrojo del pentaeritritol esterificado

Posteriormente se analizó el PEG-*multiarm* (ver anexo 1b), este producto de la funcionalización con polietilenglicol, en este caso se encontraron bandas características como: en 3474 cm^{-1} se encuentran el movimiento de vibración de estiramiento del grupo -OH , en 2907 cm^{-1} encontramos el grupo C-H , en la banda de 1746 cm^{-1} encontramos la frecuencia de vibración del enlace C=O , en 1473 cm^{-1} encontramos la frecuencia de vibración de flexión del grupo CH_2 .

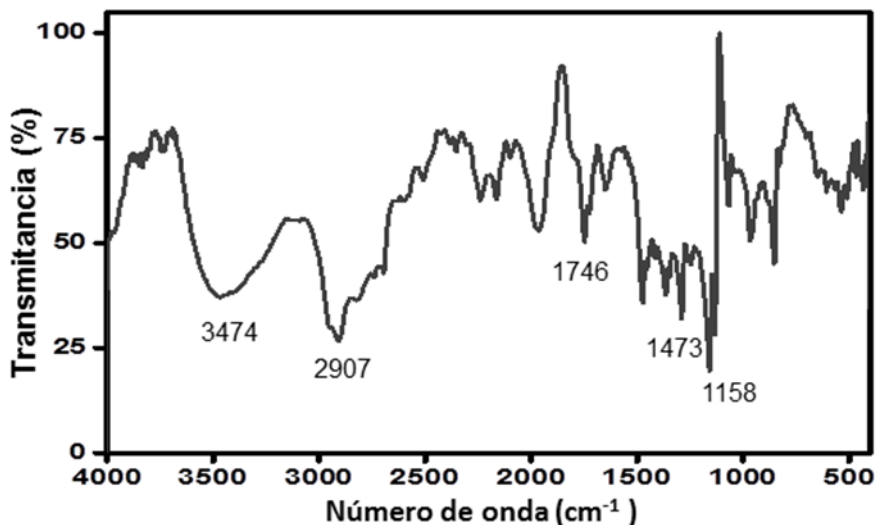
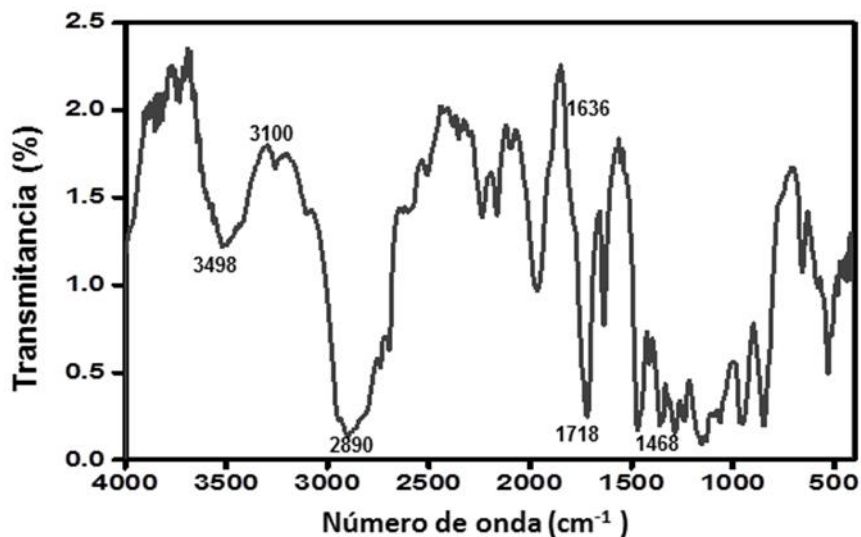


Figura 25: Espectro infrarrojo del PEG-*multiarm*, producto de la funcionalización con polietilenglicol

En el caso del PEG-*multiarm* acrilado (ver anexo 1c) se encontraron las siguientes bandas características: en 3496 cm^{-1} indica la presencia del grupo -OH, en 3100 cm^{-1} esta banda marca la interacción del grupo =C-H, en 2890 cm^{-1} encontramos la frecuencia de vibración de estiramiento del grupo CH_2 , en 1718 cm^{-1} se encontró la frecuencia de vibración del grupo C=O, en 1636 cm^{-1} el grupo C=C, y finalmente en 1468 cm^{-1} la vibración de flexión del grupo CH_2 .

Figura 26: Espectro infrarrojo del PEG-*multiarm* acrilado

Finalmente se analizó el hidrogel de PEG-*multiarm* (ver anexo 1d) por medio de espectroscopia infrarroja en el equipo Bruker modelo Tensor 27, en este caso las bandas más importantes que se encontraron son: en la banda de 3071 cm^{-1} se encuentra la frecuencia de vibración de estiramiento del grupo $=\text{C}-\text{H}$, en la banda de 2881 cm^{-1} se encuentra la frecuencia de vibración de estiramiento del grupo $-\text{CH}_2$, en 1678 cm^{-1} se encuentra la frecuencia de vibración del grupo $\text{C}=\text{O}$, en 1465 cm^{-1} la frecuencia de vibración deflexión del grupo CH_2 y finalmente en 1102 cm^{-1} se encuentra el movimiento vibracional de alargamiento acortamiento del grupo $\text{C}-\text{O}$.

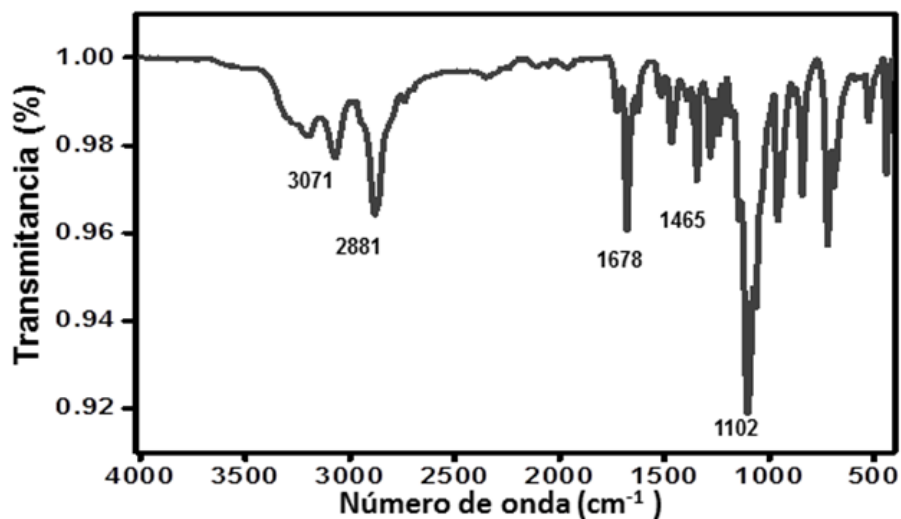


Figura 27: Espectro infrarrojo del hidrogel de PEG-*multiarm*

3.4.5.2 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Para llevar a cabo el estudio de microscopía electrónica de barrido se tomaron unas muestras de hidrogel y se colocaron a secar a vacío para obtener el hidrogel seco (xerogel).

El xerogel se colocó en un soporte con cinta de carbono doble cara, posteriormente se recubrió con oro para permitir que el haz de electrones choque contra la muestra recubierta con un material conductor, esto se llevó a cabo en un equipo rociador.

Posteriormente la muestra preparada se colocó en el equipo JEOL JSM-6510LV para su análisis. Este estudio se realizó para conocer la morfología superficial y porosidad del xerogel.

Se obtuvo Figura 28, en la cual se observa que el xerogel tiene una superficie rugosa y poros de tamaños variados en la comparación con $10\mu\text{m}$ se pueden observar tamaños que van desde 2.302 hasta $10.679\mu\text{m}$ y en la ampliación a detalle se comparó con $1\mu\text{m}$ se observa la variación de tamaño que va desde $0.209\mu\text{m}$ hasta $1.460\mu\text{m}$.

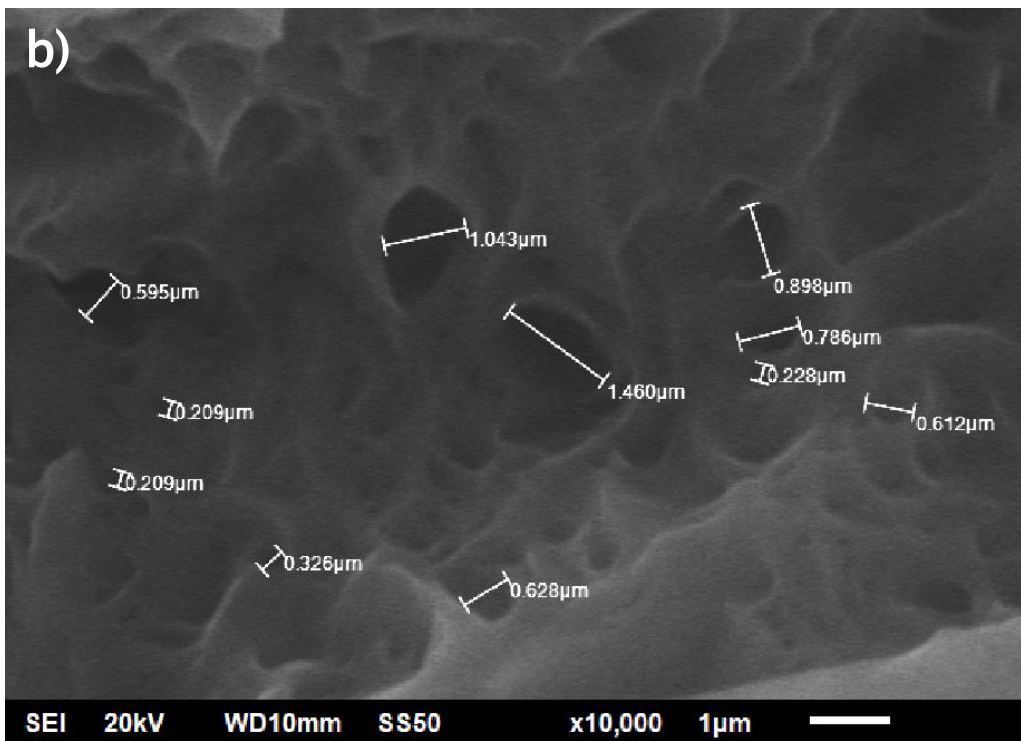
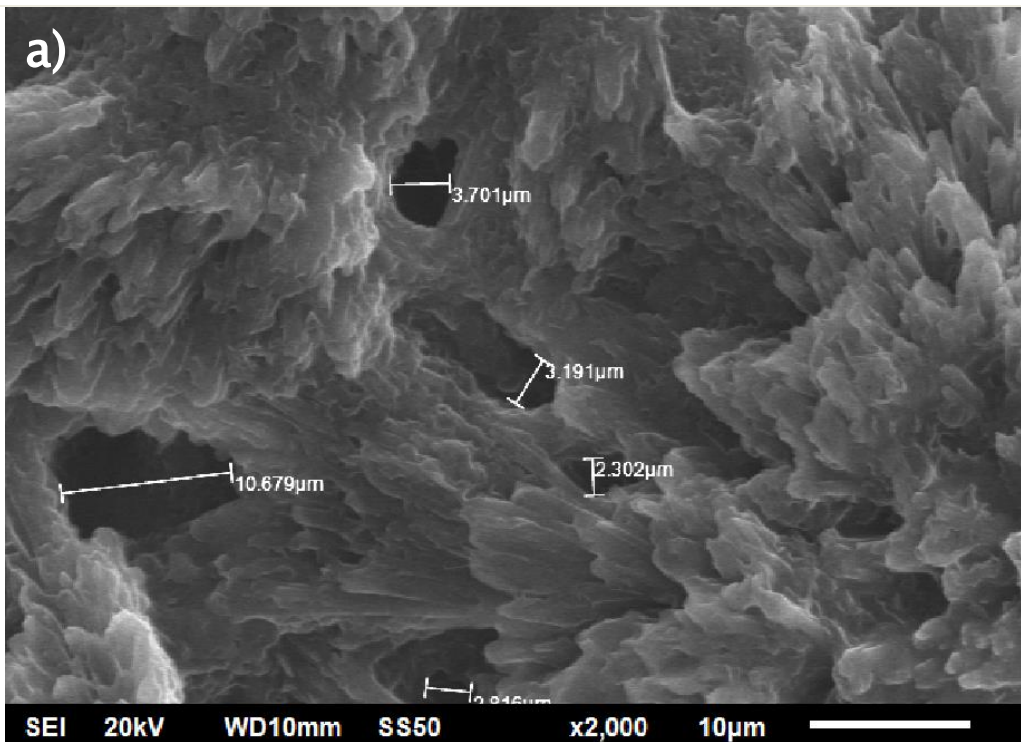


Figura 28: Microscopia electrónica de barrido; a) xerogel de PEG-*multiarm* y b) detalle ampliado de la porosidad de PEG multibrazo-hidrogel

3.4.5.3 Calorimetría diferencial de barrido y análisis termogravimétrico (DSC/TGA)

Para evaluar la estabilidad térmica del hidrogel se sometió a calorimetría diferencial de barrido y análisis termogravimétrico, para este estudio inicialmente se ensayó en blanco se realizó antes de la muestra con un crisol vacío en las mismas condiciones que la muestra. A continuación se colocó en el crisol aproximadamente 2 mg de xerogel, tratando de estar en contacto con la parte inferior del crisol, se selló con la prensa y el programa de calentamiento se llevó a cabo en el equipo, la velocidad de calentamiento con la que se trabajo fue de 10°C/min, con atmosfera de nitrógeno de ultra alta pureza 99.997% con flujo de 20 mL/min

En el análisis se obtuvo que a una temperatura aproximada a 56°C se puede observar la temperatura de fusión ya que se muestra la absorción de calor pero no hay cambio de masa en el material, en 178°C se observa un punto de entrecruzamiento debido a que hay liberación de calor y no se observa el cambio de masa, a 294°C en el material se produce un cambio muy pequeño de masa y finalmente cuando se alcanzó la temperatura de 405°C se observa un cambio considerable de masa por lo que se infiere que es la temperatura de degradación del xerogel (Figura 30).

Este análisis es de gran importancia ya que el hidrogel debe tener estabilidad térmica por debajo de los 50°C, para que tenga aplicación en el cuerpo humano que tiene como temperatura promedio es de entre 36–37°C. (Ver anexo 2)

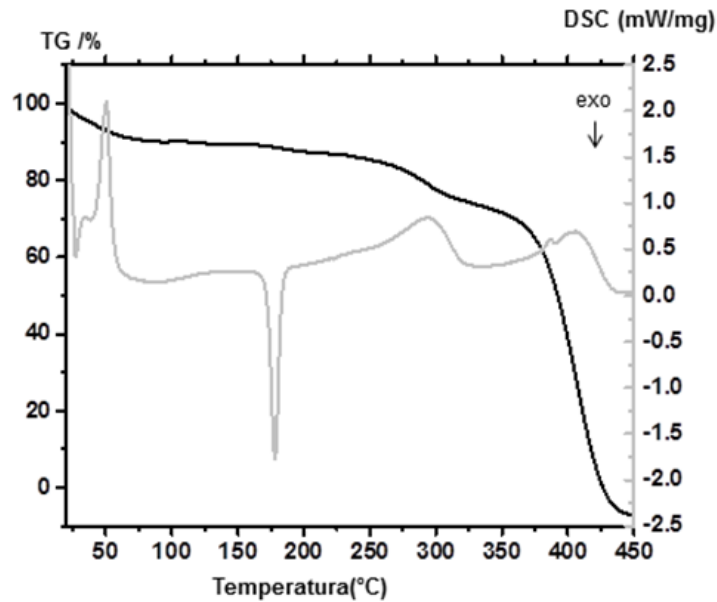


Figura 29: Análisis de calorimetría diferencial de barrido y termogravimétrico del hidrogel de PEG-*multiarm*

3.4.5.4 Cinética de hinchamiento

Los hidrogeles utilizados para este análisis fueron el PEG-*multiarm* y el PEG-*multiarm* nanofuncionalizado, para ello ambos hidrogeles se emplearon después de la fotopolimerización, previamente antes de su uso se extrajeron del molde, se dividieron en pastillas del mismo tamaño y finalmente se lavaron con etanol al 70% y a gua desionizada, se tomaron tres pastillas y por separado se pesaron (W_0) y se colocaron en un vial, el cual contenía 10 mL de solución de PBS, el experimento se llevó a cabo a una temperatura de $20 \pm 1^\circ\text{C}$.



Figura 30: Pastillas de hidrogel PEG-*multiarm*

Para cuantificar el hinchamiento del hidrogel, este se extrajo de la solución y se pesó en diferentes tiempos que fueron: 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 24, 48 y 72 horas, para así obtener la W_t . A los resultados obtenidos se les calculó la media y desviación estándar, los datos se ajustaron a un análisis sigmoideal y se obtuvo Figura 32 que es una comparación de hinchamiento entre ambos hidrogeles.

El hidrogel de PEG-*multiarm* tuvo un 50% de hinchamiento con $r^2=0.987$ y alcanzaron un equilibrio de hinchamiento a las 25 horas, por otro lado el hidrogel de PEG-*multiarm* nanofuncionalizado obtuvo un hinchamiento de 68% con $r^2= 0.988$ y alcanzó el equilibrio de hinchamiento a las 25 horas. El aumento considerable de hinchamiento del hidrogel de PEG-*multiarm* nanofuncionalizado es debido a que no absorbe etanol, por lo que durante el crecimiento de las cadenas poliméricas y la formación de la red, el alcohol contenido en la solución, se comienza agrupar en diferentes zonas, impidiendo que las cadenas en crecimiento puedan atravesar dichos espacios, con lo que se crean huecos dentro de la red, obteniéndose un material heterogéneo; que permite la presencia de mayor cantidad de agua no asociada dentro de la red. El contenido de agua dentro del hidrogel se debe a interacciones con la red polimérica (agua asociada) y el agua que

ocupa los espacios vacíos entre las cadenas de polímero (agua no asociada).

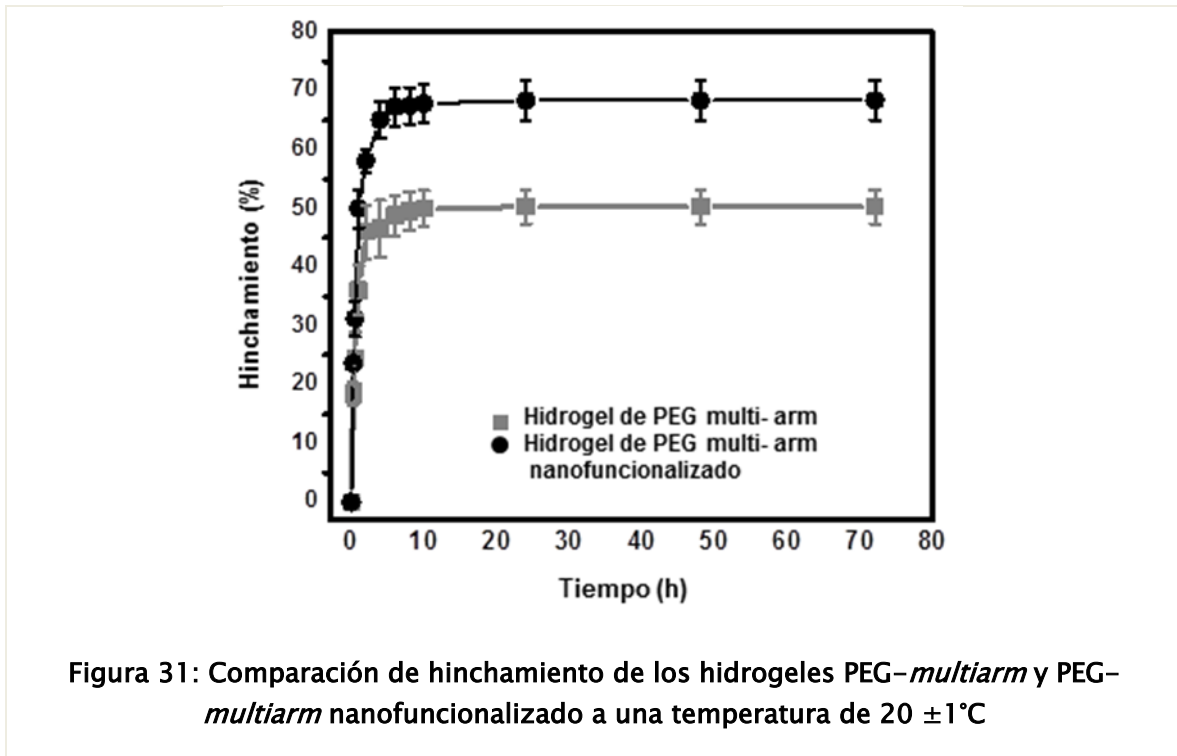


Figura 31: Comparación de hinchamiento de los hidrogeles PEG-*multiarm* y PEG-*multiarm* nanofuncionalizado a una temperatura de $20 \pm 1^\circ\text{C}$

3.5 PRUEBAS *IN VITRO*

3.5.1 Liberación controlada de fármaco

Inicialmente se preparó una solución de 0.5 mg/mL de 5-Fluorouracilo en solución de PBS (solución madre), posteriormente se corrió por espectroscopia UV-vis para localizar la longitud de onda a la que se encuentra y comparar con la absorbancia reportada que es de 270 nm (García O., 2000), para la solución madre dio una absorbancia de 267 nm.

Para la curva de calibración se hicieron cinco disoluciones de la solución madre con el fin de cuantificar la concentración la cantidad de fármaco liberada al tiempo t.

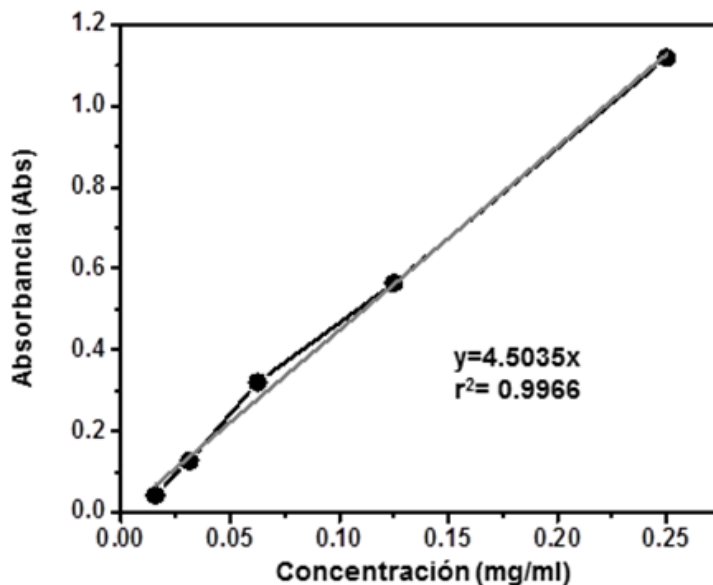


Figura 32: Curva de calibración de 5-Fluorouracilo llevada a cabo a una temperatura de $20\pm 1^{\circ}\text{C}$

Para cuantificar la cantidad de fármaco que con el paso de tiempo que los hidrogeles absorben se calculó la eficiencia de encapsulamiento, para llevar a cabo este experimento el hidrogel de PEG-*multiarm* y el PEG-*multiarm* nanofuncionalizado se cortaron en pastillas después de la fotopolimerización, se lavaron y se colocaron en solución madre de 5-FU.

Se leyó la absorbancia en el equipo NanoPhotometer UV-vis de la solución madre y posteriormente a diferentes tiempos que fueron: 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 24, 48 y 72 horas, la prueba se hizo por triplicado y se calculó el promedio, desviación estándar, la concentración de fármaco absorbido y finalmente la eficiencia de encapsulamiento de fármaco.

Tabla 2: Cálculo de Eficiencia de encapsulación del hidrogel PEG-*multiarm*

Tiempo	Promedio	Desviación estándar	Concentración	Eficiencia de encapsulación
0.25	2.1947	0.0286	0.4873	2.5351
0.5	2.1385	0.0276	0.4749	5.0294
1	2.0770	0.0401	0.4612	7.7606

2	2.0255	0.0870	0.4498	10.0477
4	1.9857	0.0189	0.4409	11.8167
6	1.9840	0.0159	0.4405	11.8908
24	1.9835	0.0219	0.4404	11.9130
48	1.9830	0.0028	0.4403	11.9352
72	1.9830	0.0028	0.4403	11.9352

Tabla 3: Cálculo de Eficiencia de encapsulación del hidrogel PEG-*multiarm* nanofuncionalizado

Tiempo	Promedio	Desviación estándar	Concentración	Eficiencia de encapsulación
0.25	2.1675	0.0092	0.4813	3.7415
0.5	2.0820	0.0650	0.4623	7.5386
1	2.0130	0.0130	0.4470	10.6029
2	2.0040	0.0071	0.4450	11.0026
4	1.9930	0.0057	0.4425	11.4911
6	1.9845	0.0035	0.4407	11.8685
24	1.9810	0.0212	0.4399	12.0240
48	1.9810	0.0240	0.4399	12.0240
72	1.9810	0.0240	0.4399	12.0240

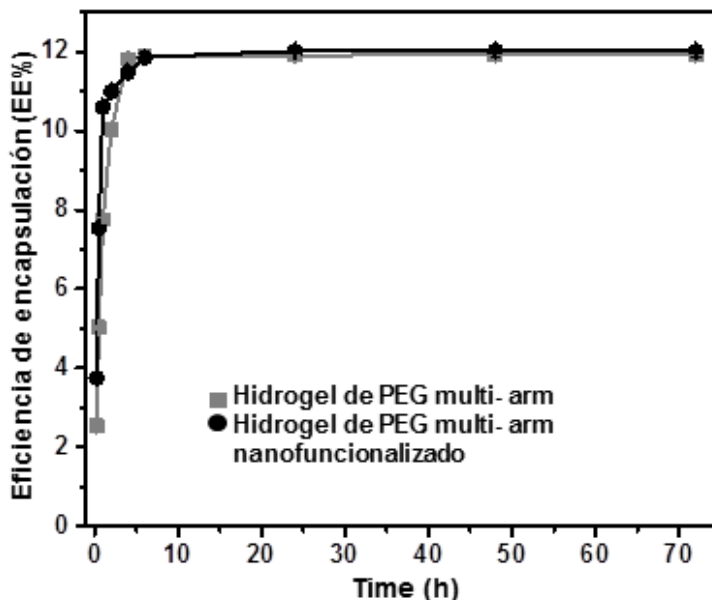


Figura 33: Comparación de Eficiencia de encapsulado de los hidrogeles PEG-*multiarm* y PEG-*multiarm* nanofuncionalizado

Con esta comparación se observa que ambos hidrogeles absorben un 12% de fármaco para su posterior liberación.

Finalmente se llevó a cabo el estudio de liberación de fármaco *in vitro*, en un vial se coloca solución de PBS y se deja liberar el fármaco contenido en el hidrogel, colocando el hidrogel hinchado con solución madre de 5-FU, posteriormente se leyó la absorbancia de la liberación del fármaco en la solución de PBS en el equipo NanoPhotometer UV-vis a diferentes tiempos que fueron: 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 24, 48 y 72 horas, lo que se obtuvo es la Figura 35 en la cual se observa que el hidrogel de PEG-*multiarm* nanofuncionalizado libero una concentración de fármaco de 0.113 mg/mL mientras que en el hidrogel de PEG-*multiarm* se liberó 0.108 mg/mL.

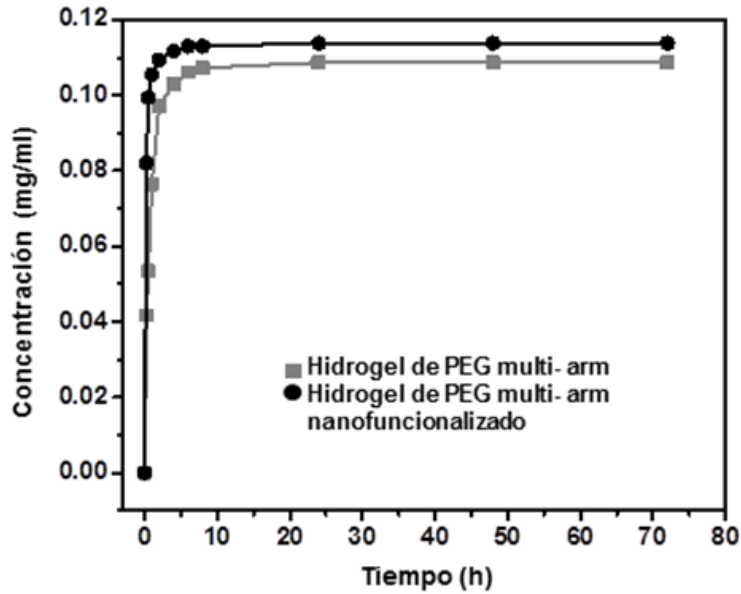


Figura 34: Comparación de liberación de 5-FU de los hidrogeles PEG-*multiarm* y PEG-*multiarm* nanofuncionalizado

3.5.2 Prueba anti-fúngica de los hidrogeles

Esta prueba se llevó a cabo para verificar las propiedades anti-fúngicas de los hidrogeles PEG-*multiarm* y el PEG-*multiarm* nanofuncionalizado, se llevó a cabo poniendo una pastilla de hidrogel en solución de PBS y se verificó el crecimiento de hongos en la superficie del hidrogel y esta prueba se llevó a cabo por triplicado. (Figura 36)

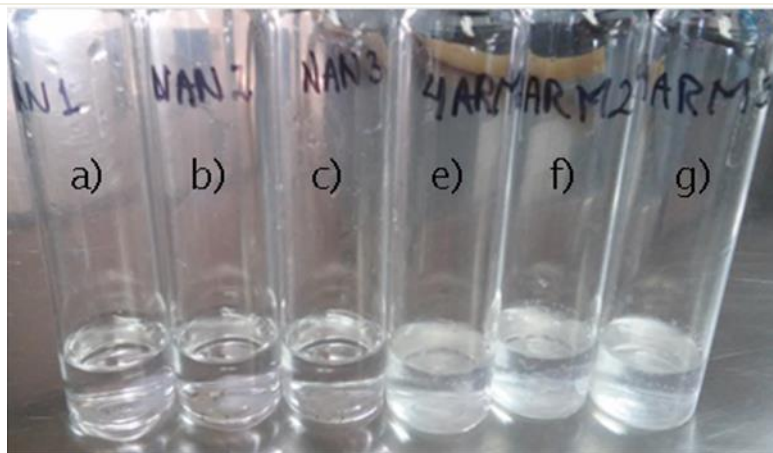


Figura 35: Comparación de liberación de 5-FU de los hidrogeles a), b), c) PEG-*multiarm* nanofuncionalizado y e), f), g) PEG-*multiarm*

En este estudio se pudo observar que el hidrogel de PEG-*multiarm* si hay crecimiento de hongos de color blanco que se pegan tanto en las paredes del vial como en la superficie del hidrogel. Por otro lado el hidrogel de PEG-*multiarm* nanofuncionalizado no presento ningún crecimiento de hongos.

CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES

4.5 CONCLUSIONES

El objetivo de este trabajo es el diseño, síntesis y caracterización fisicoquímica para la síntesis de un hidrogel de PEG-*multiarm*, la cual es reproducible. La metodología diseñada se llevó a cabo en diferentes en diversas ocasiones con el fin de comprobar lo reproducible del experimento.

Las síntesis de nanopartículas de plata se llevaron a cabo en microondas, y por medio de espectroscopia UV-vis se verifico su tamaño obteniendo un tamaño aproximado de 30-50 nm.

Mediante espectroscopia infrarroja se analizó cada paso de la síntesis para verificar la presencia de los grupos funcionales que se necesitaban para el polímero y el hidrogel de PEG-*multiarm*.

Por medio de la técnica de DSC/TGA se comprobó que el hidrogel de PEG-*multiarm* es estable por debajo de la temperatura de 50 °C para su uso posterior en el cuerpo humano.

La técnica de SEM se usó para conocer la morfología superficial y porosidad del hidrogel, se observó que tienen una superficie rugosa y poros de tamaños variados que van desde 0.2-10µm.

Se sintetizaron dos hidrogeles de PEG-*multiarm*, uno con nanopartículas de plata y el otro sin nanopartículas de plata; se compararon en cinética de hinchamiento y el hidrogel PEG-*multiarm* nanofuncionalizado hincho aproximadamente 20% más que el hidrogel de PEG-*multiarm*.

Se llevó a cabo el estudio de liberación controlada de fármaco *in vitro* y ambos hidrogeles liberan aproximadamente el mismo porcentaje de fármaco

En cuanto al crecimiento de hongos en la matriz es notable el crecimiento en el hidrogel de PEG-*multiarm* mientras que en el hidrogel de PEG-*multiarm* nanofuncionalizado no hubo crecimiento.

4.6 TRABAJO FUTURO

1. Mediante esta tesis se diseñó una síntesis de los hidrogel de PEG-*multiarm* y PEG-*multiarm* nanofuncionalizado la cual es reproducible, se recomienda llevar a cabo un estudio posterior de las propiedades mecánicas en ambos hidrogeles.
2. Llevar a cabo estudios de biocompatibilidad de ambos hidrogeles para posteriormente poder llevar a cabo pruebas *in vivo* y determinar su efectividad.
3. Para dilucidar la estructura del polímero para la síntesis del hidrogel se recomienda llevar a cabo estudios como lo son de RMN, por otro lado también es recomendable establecer la morfología de las nanopartículas de plata para ello es necesario llevar a cabo un estudio por medio de microscopia electrónica de transmisión (TEM).

REFERENCIAS

- Ahmed , E. (2015). Hydrogel: Preparation, characterization, and applications. *Journal of Advanced Research*, 6, 105–121.
- Albanese Craig , T. (2011). *Diagnostico y tratamiento quirúrgico*. México: Mc Graw Hill.
- Arredondo Peñaranda A., L. L. (2009). Hidrogeles. Potenciales biomateriales para la liberación controlada de medicamentos. *Revista Ingeniería Biomédica*, 3(5), 83–94.
- Barroso Herrero S., G. B. (2010). Introducción al conocimiento de los materiales y sus aplicaciones. *Madrid, Universidad Nacional de Educacion a distancia (UNED)*, 131–133.
- Besednjak Dietrich, A. (2005). *Materiales compuestos: Procesos de fabricación de embarcaciones*. Barcelona: Universitat Politècnica de Catalunya.
- Bettelheim F., et al. (2013). *Introduction to general organic and Biochemistry*. Canada: Cengage Learning.
- Blanco M. D., G. O. (2000). In-vivo Drug Delivery of 5-Fluorouracil using Poly(2-hydroxyethyl methacrylate-co-acrylamide) Hydrogels. *J. Pharm. Pharmacol.*, 52, 1319–1325.
- Bocourt Povea M., B. R.-M. (2009). Síntesis y caracterización de redes poliméricas interpenetradas de quitosana-poli(ácido acrílico-coacrilamida). *Revista CENIC Ciencias Químicas*, 40(2), 81–89.
- Browder Lazenby , R. (2012). *Fisiopatología*. México: Manual Moderno.
- Buwalda S.J., B. K. (2014). Hydrogels in a historical perspective: From simple networks to smart materials. *Journal of Controlled Release*, 190, 254–273.
- Cabrera J., L. A. (2008). Síntesis de nanopartículas de plata en matrices poliméricas mediante radiación gamma. *Rev. Per. Quím. Ing. Quím.*, 11(1), 16–20.

- Chacón Vera, C. (2012). Síntesis de hidrogeles interpenetrados en base a acrilamida para la recuperación de metales en agua (Tesis de maestría). *Universidad Simón Bolívar*.
- Chen J., W. J. (2008). Microwave-assisted green synthesis of silver nanoparticles by carboxymethyl cellulose sodium and silver nitrate. *Materials Chemistry and Physics, 108*, 421–424.
- Chen Z., G. L. (2007). A facile and novel way for the synthesis of nearly monodisperse silver nanoparticles. *Materials Research Bulletin, 42*, 1657–1661.
- Cruz D. A., R. M. (2012). Nanopartículas metálicas y plasmones de superficie: una relación profunda. *Avances en Ciencias e Ingeniería, 3(2)*, 67–78.
- Datta , A. (2007). Characterization of Polyethylene glycol hydrogels for biomedical applications (Tesis de maestría). *University of Pune, India*.
- Díez Peña, E. (2002). Desarrollo y caracterización de hidrogeles poliméricos con aplicación en la liberación controlada de fármacos (Tesis doctoral). *UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID*.
- Dimitrov M., D. D. (2004). Preparation and Characterization of Polyethylene Oxide Hydrogels with Cystisine. *Acta Pharmaceutica Turcica, 46*, 49–54.
- Dimitrov M., e. a. (2003). Hydrogels based on the chemically crosslinked polyacrylic acid: Biopharmaceutical characterization. *Acta Pharm., 53*, 25–31.
- Dolya , N. (2013). “One-Pot” In Situ Formation of Gold Nanoparticles within Poly(acrylamide) Hydrogels. *Macromolecular Chemistry and Physics, 214*, 1114–1121.
- Escobar J.L., G. D. (2002). Hidrogeles. Principales características en el diseño de Sistemas de liberación controlada de fármacos. *Revista Iberoamericana Polímeros, 3(3)*, 1–25.
- Estrada Monje A., H. R. (2013). Síntesis de materiales a base de uretano reforzados con nanopartículas metálicas. I. Síntesis y caracterización. *Revista Iberoamericana de Polímeros, 14(1)*, 28–38.
- Flores, C. Y. (2014). *Nanopartículas de plata con potenciales aplicaciones en materiales implantables: síntesis, caracterización fisicoquímica y actividad bactericida*. Universidad Nacional de la Plata.

- Gao W., et al. (2014). Hydrogel Containing Nanoparticle–Stabilized Liposomes for Topical Antimicrobial Delivery. *ACS Nano*, *8*, 2900–2907.
- García O., B. M. (2000). 5–Fluorouracil trapping in poly(2–hydroxyethyl methacrylate–co–acrylamide) hydrogels: in vitro drug delivery studies. *European Polymer Journal*, *36*, 111–122.
- García Sánchez L.G.J., C. O. (2014). Síntesis de Hidrogeles de Acrilamida en Soluciones Acuosas de Etanol. *Polímeros*, *24*(6), 752–756.
- Hacher M. C., K. L. (2008). Synthesis and Characterization of Injectable, Thermally and Chemically Gelable, Amphiphilic Poly(N–isopropylacrylamide)–Based Macromers. *Biomacromolecules*, *9*, 1558–1570.
- Hawkins , A. (2012). Biodegradable hydrogels and nanocomposite polymers: synthesis and characterization for biomedical applications (Tesis doctoral). *Lexington, Kentucky , University of Kentucky*.
- Hoare T.R., K. D. (2008). Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges. *Polymer* , *49*, 1993–2007.
- Infante Rivera J. J., C. T. (2012). Bionanocompósitos de carragenina κ con nanopartículas metálicas. *Ingenierías*, *15*, 66–73.
- Jiménez Pardo, I. (2014). Hidrogeles termosensibles y fotopolimerizables derivados de Pluronic para aplicaciones biomédicas (Tesis doctoral) . *Zaragoza, Universidad de Zaragoza-CSIC*.
- Katime I. A., K. O. (2005). Materiales inteligentes: Hidrogeles macromoleculares. Algunas aplicaciones biomédicas. *Anales de la Real Sociedad Española de Química*, 35–50.
- Kim J. H., L. T. (2007). Hydrogel–Templated Growth of Large Gold Nanoparticles: Synthesis of Thermally Responsive Hydrogel–Nanoparticle Composites. *Langmuir*, *23*, 6504–6509.
- Klouda L., P. K. (2011). Thermoresponsive, in situ crosslinkable hydrogels based on Nisopropylacrylamide: Fabrication, characterization and mesenchymal stem cell encapsulation. *Acta Biomater*, *7*(4), 1460–1467.
- Knop , K. (2013). Amphiphilic star–shaped block copolymers as unimolecular drug delivery systems: investigations using a novel fungicide. *The Royal Society of Chemistry*, *9*, 715–726.

- L.M., L.-M. (2004). Nanometals formation and color. *Materials today*, 26–31.
- Lee K. S., E. S. (2006). Gold and Silver Nanoparticles in Sensing and Imaging: Sensitivity of Plasmon Response to Size, Shape, and Metal Composition. *J. Phys. Chem.*, 110(39), 19220–19225.
- Li G., W. Q. (2013). Synthesis and Properties of Silver Nanoparticles in Chitosan-Based Thermosensitive Semi-Interpenetrating Hydrogels. *Journal of Applied Polymer Science*, 2690–2697.
- Lim H. J., C. E. (2012). A novel approach for the use of hyaluronic acid-based hydrogel nanoparticles as effective carriers for transdermal delivery systems. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 402, 80–87.
- Lin-Gibson S., B. S. (2004). Synthesis and Characterization of PEG Dimethacrylates and Their Hydrogels. *Biomacromolecules*, 5, 1280–1287.
- Lu C., M. A. (2012). Hydrogels Containing Core Cross-Linked Block Co-Polymer Micelles. *Journal of Biomaterials Science*, 23, 1069–1090.
- Mehdizadeh M., Y. J. (2013). Design Strategies and Applications of Tissue Bioadhesives. *Macromolecular Bioscience*, 13, 271–288.
- Mellot M.B., S. K. (2001). Release of protein from highly cross-linked hydrogels of poly(ethylene glycol) diacrylate fabricated by UV polymerization. *Biomaterials*, 22, 929–941.
- Monge, M. (2009). Nanopartículas de plata: métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas. *An. Quím.*, 105(1), 33–41.
- Montiel Vaquer, L. (2012). Manejo de las úlceras cutáneas de origen tumoral; cutánides. *Revista Internacional de Grupos de Investigación en Oncología*, 1(2), 52–59.
- Morales J., M. J. (2009). Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata por la ruta Sol-Gel a partir de nitrato de plata. *Rev Soc Quím Perú.*, 75(2), 177–184.
- Nita L.E., N. M. (2012). Cross-Linking Structural Effect of Hydrogel Based on 2-Hydroxyethyl Methacrylate. *Industrial & Engineering Chemistry Research*(51), 7769–7776.
- Orozco-Guareño E., H. S.-S. (2011). Estudio del hinchamiento de hidrogeles acrílicos terpoliméricos en agua y en soluciones acuosas de ión plumboso. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 10(3), 465–470.

- Pal A., S. S. (2009). Microwave-assisted synthesis of silver nanoparticles using ethanol as a reducing agent. *Materials Chemistry and Physics*, 114, 530–532.
- Pantaleón López, R. (2009). *Nanocomposites de sílice y polimetilmetacrilato. Caracterización por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier*. Universidad Carlos III de Madrid.
- París R., M.–F. A.–G. (2013). Synthesis and characterization of poly (ethylene glycol)–based thermo–responsive polyurethane hydrogels for controlled drug release. *Polymers Advanced Technologies*(24), 1062–1067.
- Patel, A. (2010). Physically crosslinked polyurethane hydrogels for biomedical applications (Tesis doctoral). *Canada, The University of Western Ontario*.
- Peppas N.A., H. J. (2006). Hydrogels in Biology and Medicine: From Molecular Principles to Bionanotechnology. *Advanced Materials*, 18, 1345–1360.
- Pescador Rojas , J. (2006). Nanopartículas Bimetálicas de Au–Ag: Síntesis, Caracterización y su Aplicación para el Transporte Térmico (Tesis de maestría). *Mexico D.F., Instituto Politecnico Nacional*.
- Roldán M.V., F. A. (2005). Nanopartículas Metálicas con formas diversa. *Anales AFA*, 17, 212–217.
- Rueda X., A. d. (2008). Guías de práctica clínica para el tratamiento del carcinoma basocelular. *Rev Asoc Col Dermatol*, 16(2), 102–117.
- Ruiz Estrada , G. (2014). Desarrollo de un sistema de liberación de fármaco basado en nanopartículas magnéticas recubiertas con polietilenglicol para el tratamiento de diferentes enfermedades (Tesis doctoral) . *Madrid, Universidad Autónoma de Madrid*.
- Sáez V., H. E. (2003). Liberación controlada de fármacos. Aplicaciones Biomédicas. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 4, 111–122.
- Sáez V., H. E. (2003). Liberación controlada de fármacos. Hidrogeles. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 4, 21–91.
- Saha N., S. A. (2011). Polymeric Biomaterial Based Hydrogels for Biomedical Applications. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 2, 85–90.
- Sakai , T. (2008). Design and Fabrication of a High–Strength Hydrogel with Ideally Homogeneous Network Structure from Tetrahedron–like Macromonomers. *Macromolecules*, 41, 5379–5384.

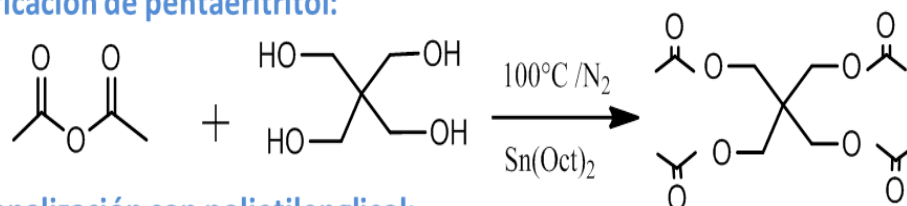
- Schramm O. G., M. M.-F. (2009). Polymeric nanocontainers with high loading capacity of hydrophobic drugs. *Soft Matter*, 5, 1662–1667.
- Sifontes A.B., M. L. (2010). Preparación de nanopartículas de plata en ausencia de polímeros estabilizantes. *Quim. Nova.*, 33(6), 1266–1269.
- Skardal A., Z. J. (2010). Bioprinting vessel-like constructs using hyaluronan hydrogels crosslinked with tetrahedral polyethylene glycol tetracrylates. *Biomaterials*, 31, 6173–6181.
- Soto D., O. H. (2012). Métodos para preparar hidrogeles químicos y físicos basados en almidón: una revisión. *LatinAm. Metal. Mat.*, 32(2), 154–175.
- Taguchi T., X. L. (2005). Encapsulation of chondrocytes in injectable alkali-treated collagen gels prepared using poly(ethylene glycol)-based 4-armed star polymer. *Biomaterials*, 26, 1247–1252.
- Torgersen J., Q. X.-H. (2013). Hydrogels for Two-Photon Polymerization: A Toolbox for Mimicking the Extracellular Matrix. *Advanced Functional Materials*, 23, 4542–4554.
- Xia B., C. Q. (2012). Preparation of Hybrid Hydrogel Containing Ag Nanoparticles by a Green in Situ Reduction Method. *Langmuir*, 28, 11188–11194.
- Yang Y.Q., Z. B. (2013). pH-sensitive micelles self-assembled from multi-arm star triblock co-polymers poly(ϵ -caprolactone)-*b*-poly(2-(diethylamino)ethyl methacrylate)-*b*-poly(poly(ethylene glycol) methyl ether methacrylate) for controlled anticancer drug delivery. *Acta Biomaterialia*, 9, 7679–7690.
- Yang, T. (2012). Mechanical and swelling properties of hydrogels (Tesis doctoral). *Estocolmo, Instituto Real de Tecnología de Estocolmo*.
- Yeshchenko O.A., D. I. (2012). Size and temperature dependence of the surface plasmon resonance in silver nanoparticles. *Ukr. J. Phys.*, 57(2), 266–277.
- Yin H., Y. T. (2004). Large-scale and size-controlled synthesis of silver nanoparticles under microwave irradiation. *Materials Chemistry and Physics*, 83, 66–70.
- Zaarour M., E.-R. M. (2014). Photochemical preparation of silver nanoparticles supported on zeolite crystals. *Langmuir*, 1–23.
- Zanella, R. (2012). Metodologías para la síntesis de nanopartículas: controlando forma y tamaño. *Mundo Nano*, 5(1), 69–81.

- Zhao X., H. J. (1998). Novel Degradable Poly(ethylene glycol) Hydrogels for Controlled Release of Protein. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 87(11), 1450–1458.
- Zhao X., X. Y. (2014). Microwave–assisted synthesis of silver nanoparticles using sodium alginate and their antibacterial activity. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 444, 180–188.
- Zhou S., D. X. (2003). Biodegradable poly(e–caprolactone)–poly(ethylene glycol) block copolymers: characterization and their use as drug carriers for a controlled delivery system. *Biomaterials*, 24, 3563–3570.

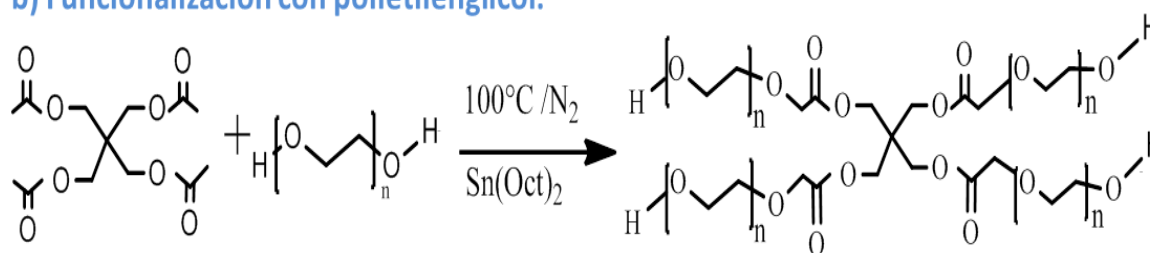
ANEXOS

Anexo 1

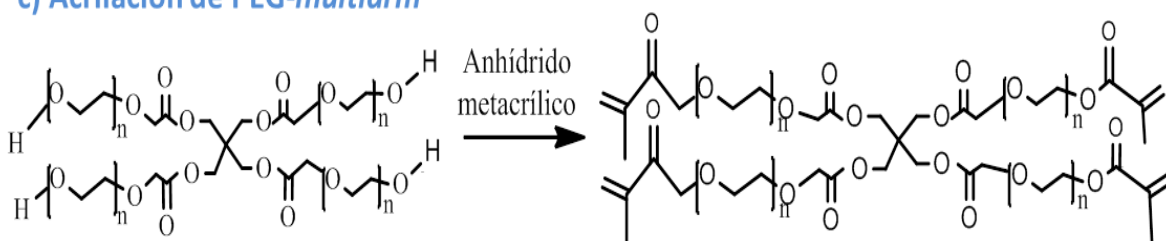
a) Esterificación de pentaeritritol:



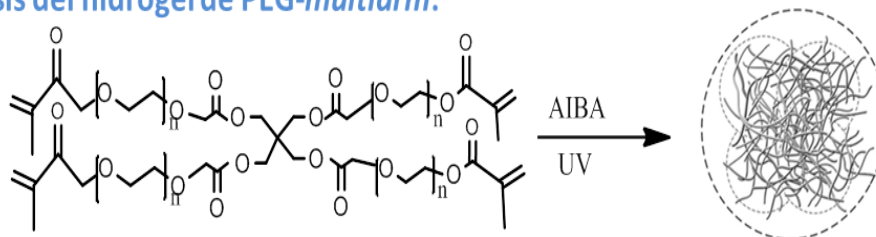
b) Funcionalización con polietilenglicol:



c) Acrilación de PEG-multiarm



d) Síntesis del hidrogel de PEG-multiarm:



Anexo 2

