

7  
840



79859

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA  
UNIDAD XOCHIMILCO



DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD  
DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS

MAESTRÍA EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:  
DISEÑO Y PRODUCCIÓN DE FORMAS FARMACÉUTICAS

**“DESARROLLO DE POLIMEROSOMAS COMO SISTEMAS DE LIBERACIÓN  
CONTROLADA DE UN AGENTE ANTITUMORAL”**

COMUNICACIÓN IDÓNEA DE RESULTADOS QUE PARA OBTENER EL GRADO  
DE MAESTRA EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS

PRESENTA

**GABRIELA CRUZ RUIZ**  
MATRÍCULA 205382459

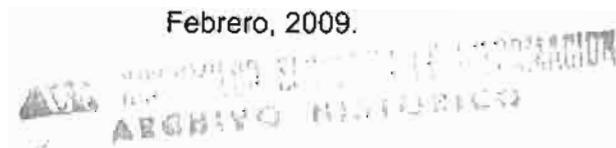
COMITÉ TUTORIAL

Tutor: M en C. Norma Angélica Noguez Méndez

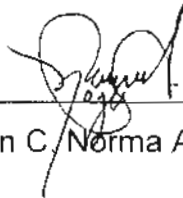
Asesor: Dr. Carlos Tomás Quirino Barreda

Asesor: Dr. Ángel Enrique Chávez Castellanos

Febrero, 2009.



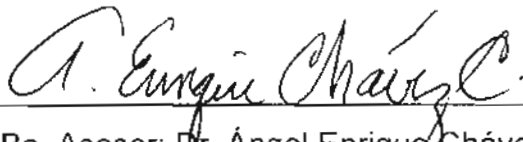
“DESARROLLO DE POLIMEROSOMAS COMO SISTEMAS DE LIBERACIÓN  
CONTROLADA DE UN AGENTE ANTITUMORAL”



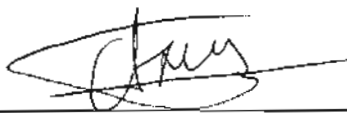
Vo. Bo. Tutor: M en C, Norma Angélica Noguez Méndez



Vo. Bo. Asesor: Dr. Carlos Tomás Quirino Barreda



Vo. Bo. Asesor: Dr. Ángel Enrique Chávez Castellanos



Gabriela Cruz Ruiz; Matrícula 205382459

“DESARROLLO DE POLIMEROSOMAS COMO SISTEMAS DE LIBERACIÓN CONTROLADA DE UN AGENTE ANTITUMORAL”



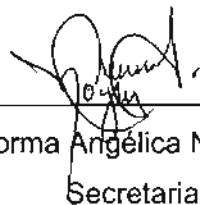
---

Dr. José Reyes Gasga  
Presidente



---

Dr. Efrén Hernández Baltazar  
Vocal



---

M en C. Norma Angélica Noguez Méndez  
Secretaria

**Resumen:**

La prevalencia de enfermedades como el cáncer nos ha llevado a la búsqueda de nuevas alternativas tecnológicas aplicadas al diseño de las formas farmacéuticas; por tal motivo en los últimos años se han realizado diversas investigaciones en este campo. En el presente trabajo se propone el desarrollo de un sistema de liberación controlada a base de polímeros para un agente antitumoral, que en un futuro pueda constituir una alternativa tecnológica para la administración más segura y eficiente contra este tipo de enfermedades.

Debido a que los sistemas de liberación controlada han tenido grandes avances con el uso de los polímeros, se desarrolló un polimerosoma (también llamado vesícula de polímeros), cuya membrana está formada por bloques de copolímeros anfipáticos y en su interior va a contener un compuesto biofuncional como puede ser un fármaco.

En este trabajo se buscaron diversos métodos y condiciones que permitieran la obtención de dicha estructura a partir de un copolímero formado por acrilatos [PBA-PAA]. Los métodos que se probaron fueron: la inyección utilizando codisolventes, la rehidratación de la película, la electroformación y la obtención por microfluidos mediante la formación de una doble emulsión.

Una vez que se consiguió la formación de los polimerosomas a base de [PBA-PAA], se evaluó cuál de las técnicas y condiciones utilizadas era la más adecuada para el encapsulamiento del fármaco con actividad antitumoral conocido como ciclofosfamida.

El encapsulamiento de la ciclofosfamida en el polimerosoma se realizó exitosamente con el método de microfluidos; posteriormente con estas microcápsulas se efectuó la prueba de secado-hidratación para comprobar su estabilidad y mediante un mecanismo de liberación de tipo químico (pH ácido); se observó que era posible que la ciclofosfamida encapsulada se liberara después de cierto tiempo, mediante la lisis de la membrana.

### **Agradecimientos Institucionales:**

A la **Universidad Autónoma Metropolitana**, por su apoyo al programa de Maestría en Ciencias Farmacéuticas para el desarrollo adecuado en sus aspectos teóricos y experimentales

Al programa de **Maestría en Ciencias Farmacéuticas** (UAM-Xochimilco), por permitir la realización de este trabajo en la búsqueda de proporcionar soluciones prácticas e innovadoras a los problemas de salud que presenta la población.

Este trabajo de investigación también fue posible gracias al apoyo y financiamiento a becarios establecido en el Padrón Nacional de Posgrados de Calidad (convenio 70662); del **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología** (CONACYT).

Un agradecimiento especial a **Harvard University** (School of Engineering & Applied Sciences / Department of Physics) por brindar su apoyo con sus instalaciones, recursos materiales y humanos; permitiendo realizar en su laboratorio algunos de los experimentos aquí presentados.

A **Rhodia** (Center for Research and Technology- Bristol), USA; por proporcionar los copolímeros utilizados en algunas de las técnicas utilizadas en esta investigación.

## **Agradecimientos:**

A **Dios** por permitirme llegar hasta este momento, por todo lo que me ha dado a lo largo de mi vida tanto personal como profesional, sin la fe en Él todo esto no hubiera sido posible.

A mi familia:

Gracias, los quiero y están presentes en cada día de mi vida así como en todas las metas alcanzadas.

**Mamá;** gracias por ser el apoyo incondicional que tanto necesitaba en los momentos difíciles, por cada uno de tus consejos, por enseñarme a ser perseverante y luchar por lo que quería, pero sobretodo porque eres un ejemplo a seguir.

**Papá;** por tu apoyo incondicional durante mi vida.

**Rocío;** por siempre confiar en mí y creer que algún día iba a llegar hasta este momento, por tu paciencia, y por todo lo que me has cuidado.

**Mario;** por impulsarme a ser mejor cada día.

A los colaboradores de este trabajo:

**M en C. Norma Angélica Noguez Méndez, Ing. Alejandro Rubio, Dr. Carlos Tomás Quirino Barreda y Dr. Ángel Enrique Chávez Castellanos**, por su amistad, paciencia y colaboración en la realización de este trabajo.

**Harvard University (School of Engineering & Applied Sciences / Department of Physics)** en especial al **Dr. David A. Weitz** y **Dr. Andrew S. Utada**, thank you for give me the chance to make some part of this work in your lab, it couldn't be possible if you don't help me with your knowledge, friendship and resources.

**Rhodia (Center for Research and Technology- Bristol)**, por apoyar este trabajo y proporcionar algunos recursos sin interés alguno.

A mis **amigos**:

Para llegar a este momento he pasado por múltiples etapas en mi vida en la cual cada uno ha sido especial, como son mis amigas de Secundaria y Preparatoria, mis amigos de Universidad, Especialidad y Maestría; así como los que he encontrado en mi vida profesional, en verdad gracias a cada uno de ellos por su apoyo, paciencia, y por ser parte de mi vida sin ustedes no sería la persona que hoy soy.

**Índice:**

Introducción	1
Antecedentes	3
1. Cáncer	3
2. Compuestos alquilantes del ADN	4
2.1 Compuestos mostaza	5
2.1.1 Ciclofosfamida monohidratada	5
a) Mecanismo de acción	5
b) Farmacocinética y farmacodinamia	7
c) Indicaciones terapéuticas	7
d) Precauciones	8
e) Inconvenientes del uso de fármacos	8
Anticancerígenos	
3. Sistemas de liberación controlada	9
4. Microencapsulación	9
a) Aplicaciones	10
5. Vesículas	11
a) Características de la membrana	12
b) Vesículas y transporte de fármacos	12
6. Polimerosomas	13
6.1 Características del polimerosoma	14
a) Copolímeros	14
a.1 Resonancia magnética nuclear (RMN)	14
a.2 Análisis térmico (DSC)	15
a.3 Cromatografía en permeación en gel (GPC)	15
a.4 Bicapas de copolímeros	15
a.5 Peso molecular del copolímero	15
a.6 Longitud de la cadena de copolímeros	16
b) Forma del polimerosoma	16
c) Grosor de la membrana	17
6.2 Prerrequisitos para la formación del polimerosoma	17

6.3 Preparación del polimerosoma	17
a) Rehidratación	18
b) Electroformación	19
c) Disolventes Orgánicos	20
d) Microfluidos	21
6.4 Liberación	22
6.5 Ventajas de los polimerosomas	23
6.6 Polimerosomas en la liberación de fármacos	24
6.7 Polimerosomas y cáncer	25
7. Características Fisicoquímicas de los Excipientes	26
a) Ácido acrílico	26
b) Acrilato de butilo	26
c) Hidroquinona	27
d) Copolímeros donados por Rhodia	27
Copolímero [PBA-PAA]	27
Terpolímero [(PBA-PDEGA)-PAA]	27
e) Agua destilada	28
f) Tolueno	28
g) Tetrahidrofurano	29
h) Glicerol	29
8. Características Fisicoquímicas del Principio Activo	30
a) Ciclofosfamida	30
Planteamiento del Problema	31
Hipótesis	32
Objetivos	33
a) General	33
b) Particulares	33
Metodología	34
1. Copolimerización al azar mediante distintas técnicas a partir de los monómeros de acrilato de butilo y ácido acrílico	35

2. Obtención del polimerosoma	36
a) Uso de codisolventes (inyección)	36
b) Rehidratación de la película	36
c) Electroformación	37
d) Microfluidos	37
3. Prueba de encapsulamiento del polimerosoma	40
4. Secado-hidratación del polimerosoma	40
5. Encapsulamiento del fármaco en el polimerosoma	40
6. Observación de la degradación de la membrana del polimerosoma cargado con fármaco	41
Resultados y Discusión	42
1. Copolimerización al azar mediante distintas técnicas a partir de los monómeros de acrilato de butilo y ácido acrílico	42
a) Luz UV 254 nm	42
b) Luz UV 302 nm	42
c) Microondas	42
d) Calentamiento	43
f) Sonicador	43
2. Obtención del polimerosoma mediante distintas técnicas	44
a) Inyección utilizando codisolventes	45
b) Hidratación de la película	45
c) Electroformación	45
d) Microfluidos	46
3. Prueba de encapsulamiento	52
4. Secado-hidratación del polimerosoma	52
5. Encapsulamiento del fármaco en el polimerosoma	53
6. Observación de la degradación de la membrana del polimerosoma cargado con fármaco	55
Conclusiones	58
Trabajo prospectivo	60

---

**Desarrollo de Polimerosomas como Sistemas de Liberación Controlada de un Agente Antitumoral**

---

Referencias	61
Anexo I	69
Anexo II	71

### **Introducción:**

El cáncer es uno de los problemas que aquejan la salud de la población a nivel mundial; en la búsqueda de alternativas para su tratamiento se han sintetizado diversos fármacos; (Brock, N. 1996) sin embargo, aun son limitadas las alternativas farmacéuticas para el control de la liberación de este tipo de moléculas activas y su administración. (Xu, J.P. y col., 2004)

El desarrollo de un nuevo medicamento implica la realización de estudios que permitan que éste sea administrado fácilmente y en las dosis convenientes, sin embargo, esta tarea no es fácil (Langer, R. 1990), sino que deben resolverse varios problemas que nos obligan a efectuar nuevas investigaciones y ensayos, en los cuales no sólo están involucrados los principios activos sino también los excipientes. (Bernard, B. y col., 2003) Debido a esto, en los últimos años se han desarrollado nuevas y diversas formas de sistemas de liberación de fármacos (Langer, R. 1990), los cuales necesitan ser estables, eficaces, seguros y de fácil administración; además de que la matriz y su envase deberán proporcionar protección al principio activo ante factores como la luz, oxígeno, humedad y temperatura, así como enmascarar olores, sabores y controlar la liberación del fármaco. (Ansel, H.C, y col., 1995)

Los principales beneficios de los sistemas modernos de liberación controlada de fármacos es la factibilidad de controlar la cinética de liberación con la subsecuente disminución de los efectos secundarios, la posibilidad de disminuir la dosis y aumentar los tiempos entre cada administración; dentro de éstos nuevos sistemas se encuentra el uso de transportadores, cuya función es llevar al fármaco al lugar de acción en la dosis y tiempo deseados. (Kinam P. y col., 2000). Estos sistemas denominados vectorizados o vehiculizados suelen formar vesículas o cuerpos micro o nanométricos los cuales presentan algunas ventajas sobre las formas farmacéuticas convencionales por el hecho de que la(s) moléculas(s) activas al liberarse no circulan en todo el organismo libremente. Así, el organismo es protegido de la posible toxicidad de los fármacos, mientras que éstos a su vez son

protegidos de la acción del organismo y del ambiente, al mismo tiempo que se mantiene su perfil de liberación predeterminado. (Bernard, B. y col., 2003)

Uno de los padecimientos para los que es importante conseguir la vectorización del fármaco es el cáncer, ya que los agentes citostáticos empleados suelen afectar órganos y tejidos sanos a los que llega de manera indiscriminada el fármaco cuando es administrado mediante una forma farmacéutica convencional. (Afsaneh, L. y col., 2002)

## Antecedentes:

### 1. Cáncer

Cáncer es el término que se atribuye a más de 100 enfermedades que pueden afectar cualquier parte del cuerpo. Otros términos utilizados son tumores malignos o neoplasias. (World Health Organization, 2006) Una característica que define al cáncer es la acelerada reproducción celular así como su rápido crecimiento, dichas células pueden invadir otros órganos provocando metástasis, lo cual puede causar la muerte. (Ketterong, F., 1995)

El cáncer es la principal causa de muerte a nivel mundial, anualmente se registran 7.6 millones de muertes, siendo así uno de los principales problemas de salud pública; a pesar de los avances en investigación y tratamiento, esta situación se torna crítica y de no implementarse estrategias de prevención y tratamiento, para el año 2025 se presentarán 15.5 millones de nuevos casos. (World Health Organization, 2006). Para México, este tipo de enfermedades son la segunda causa de muerte en la población general, representando un alto costo para el sistema nacional de salud. (INEGI, 2005)

Los tipos de cáncer suelen ser diferentes de acuerdo al género del paciente, pero los más frecuentes son:

- En hombres: pulmón, estómago, hígado, colon, esófago y próstata
- En mujeres: mama, pulmón, estómago, colon y cérvico uterino (World Health Organization, 2006)

En la actualidad encontramos diversos métodos disponibles para erradicar el cáncer, los cuales son:

- Cirugía
- Radioterapia
- Quimioterapia
- Tratamientos inmunológicos

- Terapia génica (Ketterong, F., 1995)

La quimioterapia en la actualidad es uno de los tratamientos más utilizados, y tiene sus inicios en 1940 con Goodman y Gilman. Debido al interés por este tipo de fármacos se observó un rápido desarrollo durante los años 50 y 60, dando como resultado la obtención y ensayo de distintos fármacos (Chabner, B y col., 2005), dentro de los cuales encontramos: (Brock, N., 1996)

- Antimetabolitos
- Alcaloides
- Compuestos alquilantes

En 1970 se observó que el uso de este tipo de fármacos provocaba diversos efectos adversos y en la búsqueda de la disminución de éstos se comenzó a utilizar las terapias combinadas. (Ketterong, F., 1995) En este sentido en 1990 apareció la terapia génica como una alternativa.

En la terapia del cáncer los fármacos sintéticos han jugado un papel importante y dentro de los más utilizados encontramos a los compuestos alquilantes. (Chabner, B y col., 2005)

## **2. Compuestos Alquilantes del ADN**

Los compuestos alquilantes del ácido desoxirribonucleico (ADN) han sido de gran interés por su uso como fármacos anticancerígenos; pueden ser definidos químicamente como electrófilos, ya que pueden reemplazar un átomo de hidrógeno en un grupo alquilo bajo ciertas condiciones fisiológicas. (Avendaño, C., 2001)

La mayoría de los compuestos alquilantes se activan dentro del organismo por medio de un metabolismo oxidativo en el cual interviene el citocromo P-450. La clase más importante utilizada es la de los compuestos mostaza y compuestos de platino. (Okita, R.T. y col., 1997)

## 2.1 Compuestos Mostaza

Fueron de los primeros compuestos alquilantes anticancerígenos desarrollados (Oliverio, V.T. y col., 1965); en este grupo podemos encontrar a la mecloretamina que fue el primer agente sistémico aprobado para uso en el cáncer; de igual forma, al clorambucilo y la ciclofosfamida. (Wikipedia, 2007)

Este grupo tiene la característica de actuar sobre los grupos alquilo del ADN, deteniendo así el crecimiento del tumor uniéndose con la guanina, evitando la replicación del ADN, lo cual impide que la célula se divida. (Denny, W. A., 2003)

### 2.1.1 Ciclofosfamida Monohidratada

Debido a que se observó que la concentración de fosfamidasa es mayor en las células neoplásicas que en las células normales, se estudiaron diversos fármacos alquilantes con estructura de fosforamida. (Avendaño, C., 2001) Así surgió la ciclofosfamida, desarrollada en 1958 por Norbert Brock y la compañía farmacéutica Asta, actualmente Baxter (Wikipedia, 2007) y fue aprobada por la Food and Drug Administration de los Estados Unidos de Norteamérica (FDA) como fármaco anticancerígeno en 1959, volviéndose así hasta nuestros días uno de los tratamientos más utilizados en diversos tipos de cáncer como son: linfomas, leucemias y tumores sólidos. (Chabner, B y col., 2005)

#### a) Mecanismo de Acción:

Si bien la ciclofosfamida está clasificada como un agente alquilante, con funciones de un fármaco citostático-antineoplásico, también posee propiedades inmunosupresoras (Sigma-Aldrich, 2006) y para que presente actividad terapéutica es necesario que la molécula original se transforme a su forma alquilante (4-hidroxiciclofosfamida) mediante su paso por el hígado en el cual es biotransformado por el citocromo P-450 (ver figura 1).

La bioactivación comienza con la oxidación en el carbono 4 (adyacente al NH), para dar el hidroxiderivado (4-hidroxiciclofosfamida). (Denny, W. A., 2003) Este

metabolito se abre espontáneamente para formar la aldofosfoamida, que ya es activa biológicamente, ésta puede ser metabolizada de dos maneras: una es con la intervención de la enzima aldehído deshidrogenasa que da como resultado un metabolito inactivo que es la carboxifosfoamida; y la vía no enzimática de la cual obtenemos dos metabolitos tóxicos que son: la fosforamida que es la responsable de la alquilación del ADN y la acroleína, responsable de los efectos adversos de dicho fármaco. (Avendaño, C., 2001)

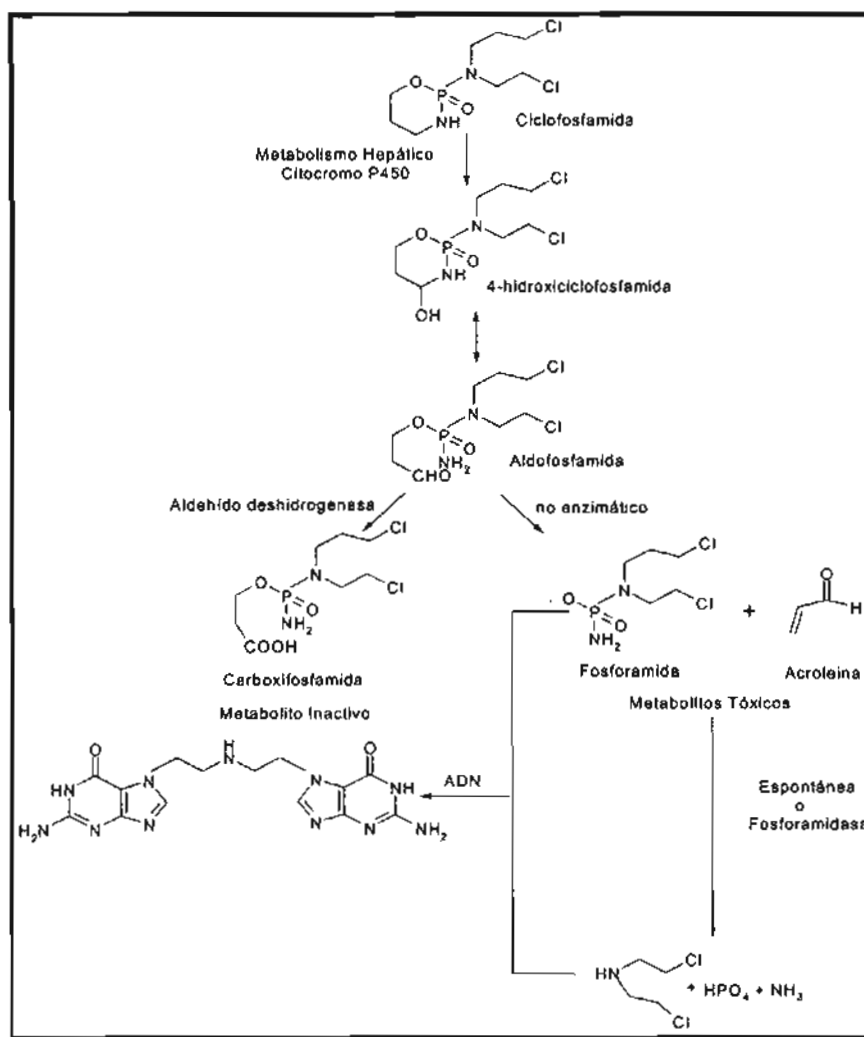


Fig. 1 Mecanismo de biotransformación y acción de la ciclofosfamida (Denny, W. A., 2003); (Avendaño, C., 2001)

*b) Farmacocinética y Farmacodinamia:*

A continuación se presenta una serie de datos importantes de este principio activo desde el punto de vista de la farmacocinética y farmacodinamia (Denny, W. A., 2003)

Absorción por vía oral: buena

Volumen de distribución: 0.48-0.71 L/kg

Unión a proteínas: 10-56%

Metabolismo: Hepático para formar sus metabolitos activos; aldofosfamida, fosforoamida y acroleína

Biodisponibilidad: >75%

Tiempo de vida media: 4-8horas

Excreción: Por vía urinaria

*c) Indicaciones Terapéuticas:*

La ciclofosfamida se utiliza en diversos tipos de cáncer como son:

- 1) Linfomas Malignos
- 2) Mieloma Múltiple
- 3) Leucemias: Leucemia linfocítica crónica, leucemia granulocítica crónica, leucemia monocítica, leucemia linfoblástica aguda
- 4) Neuroblastoma
- 5) Adenocarcinoma de ovario
- 6) Retinoblastoma
- 7) Carcinoma de mama
- 8) Cáncer de pulmón (Bristol-Myers Squibb Company, 2005)

También se ha utilizado para tratar enfermedades inmunológicas como:

- 1) Síndrome nefrótico
- 2) Granulomatosis de Wegener
- 3) Artritis reumatoide
- 4) La enfermedad injerto contra huésped
- 5) El rechazo después de los trasplantes de órganos. (Avendaño, C., 2001)

*d) Precauciones:*

Este fármaco presenta una alta toxicidad en pequeñas cantidades para las células no cancerígenas, por tal motivo su manejo es de sumo cuidado ya que puede causar diversos problemas de salud como son: carcinogénesis, mutagénesis, infertilidad, problemas en vías urinarias, toxicidad cardíaca, leucopenia, trombocitopenia, anemia, náusea, vómito, alopecia y úlceras. (Bristol-Myers Squibb Company, 2005)

*e) Inconvenientes del uso de fármacos anticancerígenos:*

El problema de esta clase de tratamientos es que algunos tumores responden bien a cierto tipo de fármacos; sin embargo aquellos pueden volverse resistentes, lo que nos lleva a una pérdida de eficacia del fármaco, además de que no sólo atacan células cancerígenas sino también las de otros tejidos. (Ketterong, F., 1995) Por todo esto es necesaria la búsqueda de alternativas farmacológicas y tecnológicas para disminuir o controlar este problema de salud. (Langer, R., 1990) Entre estas alternativas tecnológicas encontramos los sistemas de liberación controlada y su vectorización.

### 3. Sistemas de liberación controlada

Con el descubrimiento hecho en 1964 por Folkman y Long en el cual observaron que las moléculas de fármacos hidrofóbicas y de tamaño pequeño (bajo peso molecular), eran capaces de difundir a través de una pared de un tubo de silicón a una velocidad controlada, los sistemas de liberación controlada han ocupado un papel importante en el diseño de medicamentos. (Qiu, L.Y. y col., 2006)

Con el uso de los polímeros los sistemas de liberación controlada han tenido grandes avances, ya que ofrecen la posibilidad de desarrollar tecnologías para el control de la liberación logrando que los fármacos puedan ser liberados con una cinética de orden cero por periodos de días a años; además de que representan un alto potencial para aumentar la eficacia y a su vez disminuir los efectos secundarios. (Kinam P. y col., 2000)

Hoy en día el concepto de liberación de fármacos no sólo se encuentra limitado a prolongar la liberación de un fármaco; sino que también implica la distribución espacial en el organismo. (Qiu, L.Y. y col., 2006)

En la búsqueda de estas características se han desarrollado diversos sistemas de liberación controlada de fármacos en los cuales se utilizan polímeros y dentro de ellos encontramos: recubrimientos, tabletas, implantes o microcápsulas. (Vicent, H.K. y col., 1987)

### 4. Microencapsulación

La microencapsulación consiste en envolver pequeñas partículas sólidas, gotas de líquido o burbujas de gas en un recubrimiento. El material de recubrimiento (Hincal, A.A. y col., 2000) utilizado puede formar una cápsula que también es llamada acarreador, membrana, coraza o pared: ésta puede estar formada por

diferentes materiales tanto naturales o sintéticos, como: polímeros, hidrocoloides, azúcar, cera, o fosfolípidos. (Dubernet, C. y col., 2000)

En la actualidad se están desarrollando sistemas nanoencapsulados, pero la única diferencia entre una microcápsula y nanocápsula es su tamaño, una micropartícula mide 1-1000  $\mu\text{m}$ , mientras que una nanopartícula tiene un tamaño de 1-1000 nm, pero ambas pueden presentar diversas formas y composición en su membrana. (Thies, C., 1989) Estos sistemas son ideales para el encapsulamiento y liberación; sin embargo deben de presentar características de estabilidad, permeabilidad o porosidad; y robustez mecánica. (Nikova, T.A. y col., 2004)

*a) Aplicaciones:*

Sus aplicaciones están relacionadas con su tamaño, morfología y en especial del tipo de membrana que presenten, ya que esta última puede tener diversos grosores, lo que provoca una variación en el grado de permeabilidad. (Taylor, P. y col., 2003) Dentro de las aplicaciones más comunes encontramos:

- Células artificiales
- Transportadores de:
  - Proteínas
  - Péptidos
  - Enzimas
  - Hormonas
  - Anticuerpos
  - Fármacos
  - Pigmentos
  - Grasas
  - Electrolitos
- Adsorbentes

El uso de la micro y nanoencapsulación juega un papel importante en la industria farmacéutica; representando ciertas ventajas, entre las cuales encontramos:

(Hincal, A.A. y col., 2000)

- Conversión de líquidos en sólidos
- Mayor fluidez
- Protección a agentes medioambientales
- Almacenamiento de líquidos volátiles
- Separación de materiales incompatibles
- Enmascaramiento de sabores desagradables
- Protección frente a jugos y enzimas digestivas
- Disminución de la acción irritante local
- Prolongación en los tiempos de los niveles plasmáticos
- Mayor estabilidad
- Vectorización (Thies, C. 1989)

En ocasiones estas aplicaciones en Farmacia se ven afectadas por no tener una superficie de membrana que no sea reconocida por los fagocitos (Hincal, A.A. y col., 2000).

Dentro de los sistemas de microencapsulación encontramos diversas formas y una de las más estables, utilizadas y comunes son las vesículas.

### **5. Vesículas (latín: vesícula=pequeña burbuja)**

Son micro y nanopartículas o transportadores coloidales (Langer, R. 1990) de estructura cerrada, que pueden presentar una o más membranas formadas de moléculas anfipáticas (Nikova, T.A. y col. 2004) y que en su interior puede encapsular, proteger, transportar o liberar una sustancia. (Förster, S. y col., 2005) Están formadas por materiales como proteínas, lípidos, carbohidratos, tensoactivos o polímeros sintéticos. (Luo, L. y col., 2001)

Las vesículas tienen diversas aplicaciones como son: en las formulaciones para medicamentos, cosméticos, pinturas, como acarreadores de fármacos y en

modelos de membranas biológicas. (Poulain, N y col., 1996) Estas aplicaciones dependen de las características que presenta la membrana.

### *5.1 Características de la membrana*

Como ya se mencionó anteriormente, las características de la membrana: robustez, estabilidad y permeabilidad, determinan el desempeño de las vesículas y sus aplicaciones. (Discher, B. y col., 1999) Estas propiedades pueden ser ajustadas de acuerdo a las necesidades, (Förster, S y col., 2005) lo que ha provocado la búsqueda y desarrollo de diferentes tipos de vesículas como son: (Discher, B. y col., 1999)

- a) liposomas, formados principalmente de lípidos
- b) niosomas, hechos de estructuras no iónicas anfipáticas de tamaño similar que los lípidos
- c) peptosomas, formados por bloques de copolímeros que contienen cadenas de polipéptidos
- d) novasomas y niosomas multilaminares, desarrollados para aplicaciones tópicas y cosméticas.
- e) dendrímeros, formados de polímero
- f) polimerosomas, formados por bloques de copolímeros anfipáticos. (Förster, S y col., 2005) Son más robustas y con mayor estabilidad que los sistemas antes mencionados, por lo cual pueden tener múltiples aplicaciones. (Poulain, N y col., 1996)

### *5.2 Vesículas y transporte de fármacos*

Las micro o nanopartículas mejoran la liberación de fármacos y su almacenamiento, además de los principios activos hidrofílicos pueden ser incorporados en pequeños porcentajes. (Xu, J.P. y col., 2004) Dentro de los primeros sistemas que se desarrollaron están los liposomas, que fueron creados por Chang como membranas semipermeables, sin embargo el mayor problema de su aplicación es su estabilidad; esto ha llevado a la búsqueda de vesículas más

estables, específicas, con mejor biocompatibilidad de los materiales y que sean biodegradables. (Meng, F. 2003)

Una opción a este problema se presentó en años recientes con el uso de bloques de copolímeros (Vriezema, D. y col., 2003); desarrollándose a partir de éstos las vesículas poliméricas o polimerosomas, que han sido de gran interés después del primer informe hecho en 1990 (Goliath, 2005) por el grupo de científicos compuesto por Eisenberg, Bates y Discher; desde entonces los bloques de copolímeros anfipáticos, dendrímeros y derivados de fulerenos han sido notificados como formadores de vesículas, (Förster, S y col., 2005) y a su vez representan una opción como vehículos de liberación de fármacos. (Pata, V. y col., 2003)

#### **6. Polimerosomas (vesículas de polímeros)**

El uso de copolímeros anfipáticos permite la formación de vesículas; las cuales son una estrategia atractiva para obtener nuevas estructuras de encapsulación (Hamley, I.W., 2003). Estas estructuras son llamadas polimerosomas y son más que una vesícula tradicional formada por fosfolípidos; estas micro o nanopartículas pueden encapsular nano o picolitros de un fluido; (Discher, D. y col., 2002) además por la baja toxicidad que pueden presentar los copolímeros, las hace una estructura prometedora en aplicaciones destinadas a la liberación de fármacos, (Lorenceanu, E., y col. 2005) así como células artificiales o inclusive pueden actuar mimetizando las membranas celulares. (Meng, F. y col., 2003) Ver figura 2.

Las vesículas formadas por bloques de copolímeros tienen características similares a las que presentan las vesículas formadas por lípidos, pero con mayor resistencia, son más delgadas (Jones, R.L., 2004) y semipermeables, lo que les permite funcionar de manera similar a la membrana de las células (Business Communication Company. 2005) pero con una mayor estabilidad, ya que los polímeros son moléculas más largas que los fosfolípidos (Barry, P.L., 2003) y tienen un mayor peso molecular. Por tal motivo los polimerosomas han sido comparados con las cápsulas virales las cuales están compuestas por cadenas largas de péptidos. (Discher, D. y col., 2006)

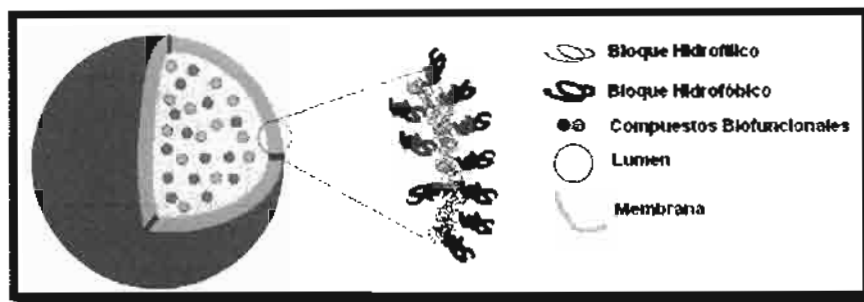


Fig. 2 Representación de un polimerosoma de tipo hidrofóbico (Meng, F. 2003)

### 6.1 Características del polimerosoma

Las estructuras formadas por copolímeros pueden presentar diversas formas, configuraciones poliméricas y pesos moleculares, lo cual permite tener diversas opciones, (Nikova, T.A. y col., 2004) es decir, dependiendo de la longitud y la naturaleza química de los copolímeros, serán las propiedades y características que van a presentar los polimerosomas, proporcionando estructuras más robustas que las de los liposomas. (Goliath, 2005)

#### a) Copolímeros

Para la obtención de copolímeros existen diferentes técnicas de copolimerización; síntesis al azar y reacciones de radicales de Madix. (Anseth, K. S. y col., 1996)

La información que se obtiene al caracterizar una muestra polimérica es muy valiosa, se usa para conocer y mejorar las propiedades del producto polimérico terminado y para controlar los procesos de producción.

Dentro de las técnicas para identificar el copolímero formado se encuentran: cromatografía de permeación en gel (GPC), resonancia magnética nuclear (RMN), calorimetría diferencial de barrido (DSC) y solubilidad.

#### a.1 Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

La resonancia magnética nuclear de proton (H-NMR) y la resonancia de ( $^{13}\text{C}$ -NMR) son las técnicas más importantes para el estudio de la estructura de los copolímeros, particularmente para copolímeros al azar. La interpretación del espectro de resonancia no sólo nos permite conocer la composición del polímero,

sino también la microestructura la cual determina las propiedades del material. (Bryant, W.M.D., 1962)

#### *a.2 Análisis Térmico (DSC)*

El análisis térmico se ha utilizado desde hace mucho tiempo para caracterizar sustancias. En su forma más simple lo empleamos para obtener puntos de fusión y a través de estas constantes físicas se puede identificar al compuesto problema. El análisis térmico se puede definir de acuerdo con Wendland como la técnica que nos permite medir cambios en las propiedades físicas y químicas de los sistemas como una función dinámica de la temperatura. Así cualquier propiedad del material que cambia cuando este se somete a un programa de calentamiento puede emplearse para su estudio térmico. (Palacios, A.J. y col., 1982)

#### *a.3 Cromatografía en Permeación en Gel (GPC)*

En los últimos años, se han presentado varios desarrollos a la técnica, los cuales han ampliado los usos potenciales de la técnica, no solamente como una herramienta analítica, sino también como una herramienta para la caracterización de polímeros. (Bryant, W.M.D., 1962)

#### *a.4 Bicapas de copolímeros*

Una bicapa de copolímeros consiste en 2 cadenas lineales de polímeros, y es análogo a un lípido, ya que presenta dos o más bloques que son anfipáticos, (Ding, J. y col. 1998) con una estructura similar a la que presentan los lípidos; es decir, primero se obtienen láminas de éstos y posteriormente se pueden formar micelas en un disolvente determinado. (Jones, R.L., 2004) Así, cuando se prepara un copolímero se debe considerar si éste es estable o no. (Poulain, N y col., 1996) Dentro de las características más importantes de un copolímero se encuentran:

#### *a.5 Peso molecular del copolímero*

Muchas características del polimerosoma se basan en la cadena de copolímeros que lo forman y algunas de éstas son: la solubilidad, (Discher D. y col., 2002)

estabilidad y simetría (Discher, B. y col., 1999). Los copolímeros utilizados en la formación de membranas deben de tener un peso aproximado de 2.0-20 kDa, lo cual está relacionado con el grosor de la membrana del polimerosomas dando aproximadamente de 8 a 21 nm de acuerdo a cada peso molecular. (Discher, D. y col., 2006)

#### a.6 Longitud de la cadena de copolímeros

Las cadenas largas de copolímeros pueden disminuir la permeabilidad de los polimerosomas. (Discher D. y col., 2002)

#### b) Forma del polimerosoma

Los polimerosomas pueden poseer diversas formas como se muestra en la figura 3; esto va a depender de las condiciones de preparación, (Förster, S y col., 2005) así como de factores como: la naturaleza del polímero, la longitud de la cadena de los polímeros, (Luo, L. y col., 2001), la composición del copolímero, la naturaleza del disolvente y la temperatura del sistema. (Soo, P.L. y col., 2004)

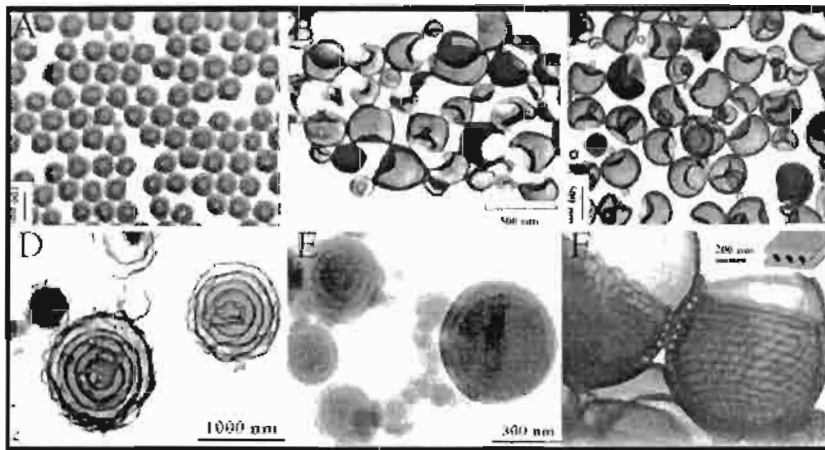


Fig. 3 Micrografía de diferentes tipos de vesículas. (a) Vesículas pequeñas y uniformes, (b) vesículas grandes y polidispersas, (c) vesículas atrapadas, (d) vesículas de vacío concéntrico, (e) cebollas, y (f) vesículas con tubos en la pared (Soo, P.L. y col., 2004).

### *c) Grosor de la membrana*

Esta característica es controlada por la variación del grado de polimerización de los monómeros; (Lorenceanu, E., y col., 2005) por lo tanto, el grosor de la membrana aumenta conforme se incrementa el peso molecular del copolímero. (Discher D. y col., 2002)

Las membranas de los polimerosomas son más delgadas que las que forman los fosfolípidos en las membranas naturales lo cual les permite una mejor interacción con las proteínas integrales de la membrana. (Förster, S y col., 2005)

### *6.2 Prerrequisitos para la formación del polimerosoma*

Para la elaboración de un polimerosoma existen ciertos aspectos importantes que deben de tomarse en cuenta:

- Aparentemente no todos los bloques de copolímeros pueden formar polimerosomas, es decir, se deben de cumplir ciertas características de composición. (Xu, J.P. y col., 2004)
- Para la formación de polimerosomas en agua, el bloque de copolímeros debe tener entre 20-40% de una fracción hidrofílica, que es la misma proporción que presentan los lípidos naturales. Cuando se presenta una fracción de 45-55% se forman micelas en forma cilíndrica y entre un 55-70% predominan las micelas esféricas. (Meng, F., 2003)
- Con bloques de copolímeros en los cuales uno de los polímeros tiene baja temperatura de transición vítrea, los polimerosomas se pueden formar directamente en un medio acuoso; en contraste, los copolímeros con bloques hidrofóbicos con alta temperatura de transición vítrea no pueden formar directamente los polimerosomas en un medio acuoso. (Afsaneh, L. y col., 2002)

### *6.3 Preparación del polimerosoma*

Los polimerosomas han recibido gran interés en los últimos años y se ha demostrado que pueden formarse a partir de bloques de copolímeros usando disolventes orgánicos, acuosos o una de mezcla de ambos. (Discher, D. y col.,

2001) La formación se lleva a cabo en dos pasos, el primero consiste en la formación de una bicapa anfipática y el segundo la formación de la vesícula (Förster, S y col., 2005) Ver figura 4.

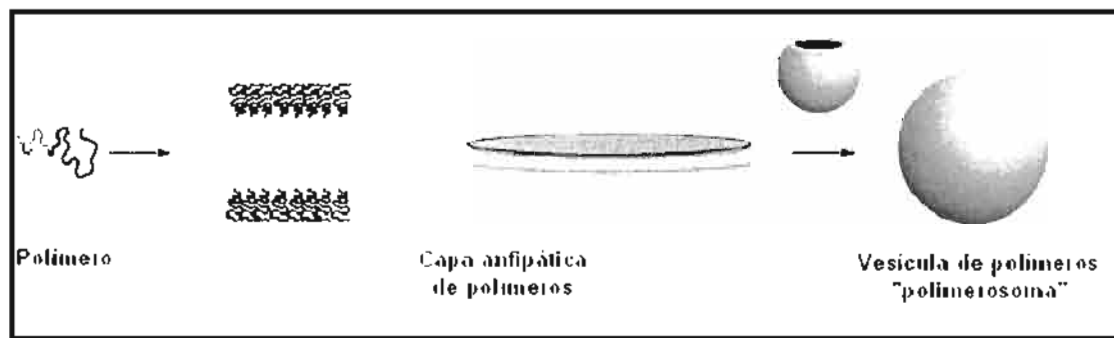


Fig. 4 Esquema estructural de una bicapa anfipática de polímeros y formación de la vesícula (Förster, S y col., 2005)

Algunos métodos que son utilizados para la preparación de liposomas pueden usarse en la preparación de polimerosomas, como son:

a) *Rehidratación de la membrana*

Consiste en un procedimiento simple en el que se rehidrata un bloque de copolímeros con una solución acuosa.

La parte anfipática se disuelve en un disolvente orgánico, con esta solución se recubre una superficie de vidrio, y se evapora con el uso de vacío (Bermudez, H., y col. 2002); posteriormente se adiciona una solución acuosa, la cual va a provocar la formación de la vesícula. (Förster, S. y col., 2005). Esta técnica es relativamente fácil de hacer ya que no se requiere de mucho equipo, sin embargo, las vesículas que se obtienen no son muy estables. (Menger, F.M y col., 1998)

El encapsulamiento de sustancias por este método se puede realizar por dos sistemas: En el primero la encapsulación y rehidratación de la capa puede realizarse al mismo tiempo, poniendo en la solución acuosa el material que se desea encapsular; y en el segundo el polimerosoma se forma y posteriormente se llena por medio de un proceso osmótico, sin embargo, en ambos casos el encapsulamiento tiene una baja eficiencia. (Lorenceanu, E. y col., 2005).

*b) Electroformación*

Se utiliza un campo eléctrico que en conjunto con una solución acuosa provoca un decrecimiento de la tensión superficial (Förster, S y col., 2005) y una diferencia en la constante dieléctrica en los bloques del copolímero, lo cual ocasiona una reorientación que induce la formación de la microsfera; éste es un método utilizado en la formación de vesículas de una membrana y de tamaño 10-100  $\mu\text{m}$  de diámetro. (Hamley I.W. 2003)

La electroformación fue inventada por Angelova y Dimitrov, utilizando una celda como la que se muestra en la figura 5, la cual consiste en dos alambres de platino con un diámetro de 0.5 mm, con un espacio entre éstos de 0.5 cm, en los cuales se deposita la solución de copolímeros. (Mathivet, L. y col., 1996)

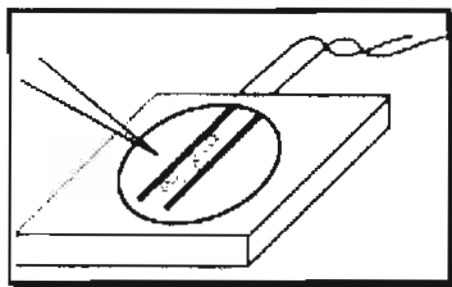


Fig. 5 Celda de electroformación para la obtención de vesículas  
(Estes, D.J y col., 2005)

Posteriormente se evapora el disolvente, lo que produce una película del copolímero en la superficie de los cables de platino, la formación de microsferas es posible utilizando un voltaje inicial de 0.2 V; posteriormente se aplica una frecuencia de 10 Hz y la celda se llena con una solución acuosa. La frecuencia se mantiene constante mientras que el voltaje se incrementa de 1-4 V; minutos después es posible observar las microsferas de una sola capa, las cuales se encuentran pegadas en el cable. Después de la aplicación del campo eléctrico la frecuencia se disminuye lentamente, lo cual provoca que las vesículas se desprendan del cable de platino, dichas vesículas son extraídas del medio con la ayuda de una micropipeta y un proceso de succión. Las vesículas que se obtienen por este método son estables por días e inclusive por semanas.

La electroformación puede hacerse también con el uso de placas recubiertas con material conductor como óxido de estaño-indio (ITO), separadas con una distancia de 0.3 mm con la ayuda de una membrana de silicón (ver figura 6). La solución de copolímeros se coloca en la placa recubierta, se evapora el exceso y se deja secar. Con la ayuda de una cámara de teflón se colocan los cables y se aplica el campo eléctrico iniciando con 1 V y 10 Hz de frecuencia, aproximadamente en dos horas se observarán las vesículas, las cuales se pueden extraer con una micropipeta. (Estes, D.J y col., 2005)

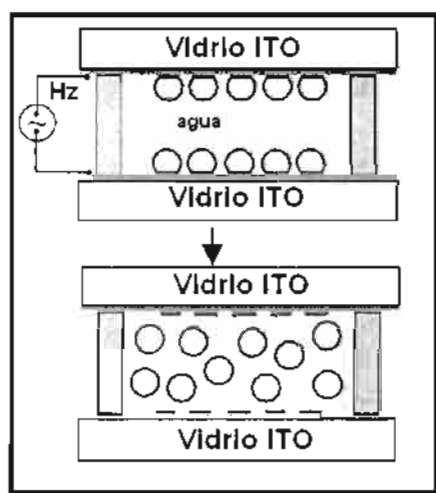


Fig. 6 Obtención de polimerosomas por electroformación con el uso de placas recubiertas con ITO (Taylor, P. y col., 2003)

### c) *Disolventes Orgánicos*

En este método primero es disuelto el bloque de copolímeros en un disolvente miscible en agua, por ejemplo, dioxano, tetrahidrofurano (THF) o dimetilfurano (DMF); posteriormente se adiciona agua, la cual incrementa la tensión interfacial provocando la formación de las vesículas. (Meng, F., 2003) Una vez que se obtuvieron los polimerosomas el disolvente se evapora con la finalidad de que dichas estructuras sean más estables. Cuando las vesículas se van a preparar a partir de copolímeros de alto peso molecular se requiere el uso de codisolventes. (Förster, S. y col., 2005)

d) *Microfluidos*

Con la ayuda de microcanales o dispositivos estos métodos se han ido convirtiendo en sistemas más robustos con los que se induce la formación de microcápsulas mediante el uso de fluidos inmiscibles, lo cual permite generar perfectas estructuras esféricas de encapsulación. (Essencial Science Indicador, 2007) El diámetro de estas partículas depende del tamaño de los capilares, los cuales se encuentran dentro de un rango de 10 – 100  $\mu\text{m}$ ; sin embargo también puede ser modificado mediante la variación en el flujo de cada fase. Como resultado se obtienen pequeñas gotas o cápsulas creadas en condiciones homogéneas y controladas. Como todo el proceso de formación de las microesferas se lleva a cabo en una distancia muy corta y a flujos muy rápidos, esta formación se realiza en milisegundos. (Joanicoy, M. y col., 2005) Con esta técnica se pueden obtener emulsiones monodispersas y es posible realizar este tipo de cápsulas en un solo paso, mediante la formación de una doble emulsión que consiste en una o más gotas pequeñas suspendidas en una gota más grande de un segundo líquido inmiscible; el cual es suspendido en un tercer líquido inmiscible. De esta manera se pueden generar dos tipos de emulsiones agua/aceite/agua (*w/o/w*) y la inversa aceite/agua/aceite (*o/w/o*).

El método de obtención de polimerosomas a partir de un sistema de doble emulsión es posible mediante la precipitación de un bloque de copolímeros y por la adición de un disolvente que no es afín a uno de los bloques del copolímero utilizado, (Utada, A.S. y col., 2005). Dicho copolímero se encuentra disuelto en un disolvente orgánico, el cual es la fase media del sistema, mientras que la fase interna y externa va a estar formada por soluciones acuosas. En el caso de una emulsión *w/o/w*; los polimerosomas son formados después de la completa evaporación del disolvente orgánico; esta técnica permite el control en el tamaño de los polimerosomas y a su vez la separación del fluido interno del externo, (Lorenceanu, E. y col., 2005) ya que el fluido intermedio actúa como una barrera adicional que separa a un fluido de otro, (Utada, A.S. y col., 2005) lo cual proporciona una encapsulación eficiente como se observa en la figura 7

(Lorenceau, E. y col., 2005) y es posible aumentar la liberación de sustancias tanto hidrofóbicas como hidrofílicas. (Nikova, T.A. y col 2004).

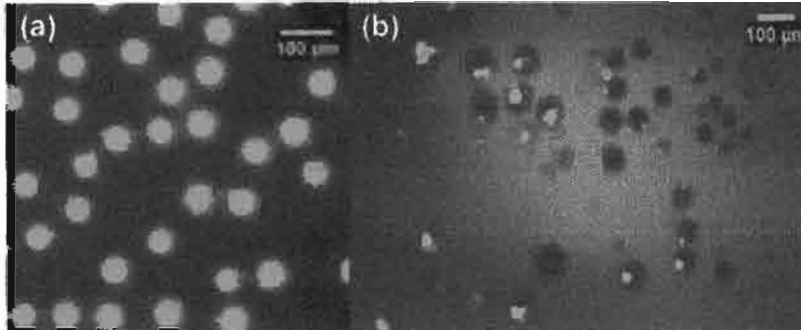


Fig. 7 (a) Polimerosomas obtenidos por la técnica de microfluidos en un sistema de doble emulsión, (b) polimerosomas obtenidos por un proceso de doble mezclado en un sistema de doble emulsión (Shum, A. H. C y col., 2008)

Este método representa un gran avance en las aplicaciones de los polimerosomas en las diversas industrias como son la farmacéutica, alimentaria, cosmética y química. (Powell, A., 2005) ya que las dobles emulsiones normalmente se hacen en dos pasos, el primero consiste formar una emulsión la cual va a contener a la fase interna y media, después en el segundo paso se realiza la emulsión por medio de un proceso de dispersión, lo cual provoca sistemas polidispersos, además de que no se tiene un control sobre el número de las gotas encapsuladas y las cápsulas formadas son poco estables. (Utada, A.S. y col., 2005)

En la caracterización de polimerosomas se pueden utilizar diversas técnicas las cuales son:

- a) Microscopía
- b) RMN
- c) Reología

#### 6.4 Liberación

Las condiciones de inicio de liberación del compuesto contenido en la vesícula pueden ser diversas; y van a depender del tipo de copolímero que forma la membrana así como de su peso molecular. (Qiu, L.Y. y col., 2006)

Dicha liberación puede ser mediante diversos mecanismos:

- 1) Físicos: difusión
- 2) Químicos: agentes de reducción, luz UV, cambio de pH, uso de temperatura
- 3) Biológicos: uso de enzimas (Ding, J. y col., 1998)

Las técnicas basadas en procedimientos químicos y biológicos son muy útiles en estudios exploratorios encaminados a observar la apertura o descomposición de la membrana para desarrollar otros sistemas de análisis que permitan identificar el mecanismo de la liberación y determinar su cinética.

### 6.5 Ventajas de los polimerosomas

La estructura que presentan los liposomas y los polimerosomas son similares, ambos están formados por capas anfipáticas como se muestra en la figura 8; (Förster, S. y col., 2005) sin embargo, los liposomas son poco estables tanto mecánica como biológicamente, (Ding, J. y col., 1998) en cambio, los polimerosomas representan múltiples ventajas sobre aquel tipo de vesículas, debido a que tienen una mayor estabilidad mecánica, mejor flexibilidad y permiten modificaciones en el grosor así como en la composición química de la membrana. (Pata, V. y col., 2003)

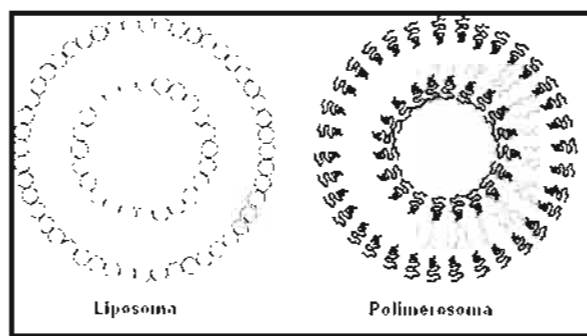


Fig. 8 Estructura típica de un liposoma y polimerosoma (Förster, S y col., 2005)

### 6.6 Polimerosomas en la liberación de fármacos

Las vesículas de liberación de fármacos deben de ser robustas con una liberación adecuada del fármaco, (Qiu, L.Y. y col., 2006) por tal motivo, debido a sus características mecánicas y de estabilidad, los polimerosomas tienen diversos usos, uno de los más potenciales es el transporte, ya que poseen un gran espacio en su lumen lo que puede ser benéfico en la administración de moléculas de origen biológico como las proteínas y los genes, (Ding, J. y col., 1998) así como distintos compuestos farmacéuticos. (Barry, P.L., 2003) Como se muestra en la figura 9.

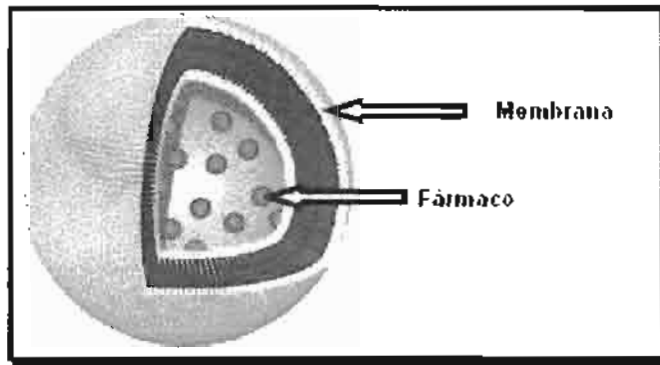


Fig. 9 Estructura de un polimerosoma cargado con fármaco (Encapson Innovative Block Copolymers)

Las aplicaciones de estas vesículas en la liberación de fármacos se puede ver beneficiada ya que los polimerosomas no sufren cambios en la tensión de la membrana por cambios en el voltaje. (Aranda-Espinoza. H. y col., 2001) Además, con el uso de polimerosomas podemos controlar la liberación del fármaco (Barry, P.L., 2003), lo cual nos permite aumentar el tiempo de circulación del fármaco en sangre, este tipo de vesículas representa una alternativa en los tratamientos con anticancerígenos permitiéndonos transportar agentes terapéuticos directamente al tumor, (Goliath, 2005) lo cual puede ser una propuesta importante para mejorar la relación costo beneficio del fármaco. (Ding, J. y col., 1998)

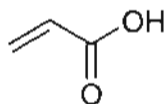
### 6.7 Polimerosomas y Cáncer

Cuando se administra un fármaco anticancerígeno por vía intravenosa, éste es distribuido por el cuerpo en base a las propiedades fisicoquímicas de la molécula. Sin embargo, las concentraciones indicadas terapéuticamente no llegan por completo al tejido que presenta el tumor, provocando una disminución en la efectividad de la terapia y para el resto de los tejidos tiene un efecto toxicológico. El uso de transportadores como los polimerosomas representa un avance en la terapia específica del cáncer; (Fattal, E. y col., 2002) ya que no sólo sirven para transportar al agente antitumoral sino que facilitan el paso por membrana celular, (Zhou, Y. y col., 2005) permiten la liberación del fármaco en diferentes sitios intracelulares y a su vez la disminución del tamaño de los tumores. (Ahmed, F. y col., 2005)

En la actualidad existen pocos estudios sobre el uso de polimerosomas en cáncer, sin embargo, las investigaciones son alentadoras; en estudios *in vivo* se ha observado la disminución considerable del tamaño del tumor en ratones después de la administración por vía intravenosa de polimerosomas que contienen doxorrubicina cuya membrana está compuesta por un copolímero formado [PEG-PS] (polietilenglicol-poliéster). (Discher, D. y col., 2006) En otro estudio que se utilizó el mismo fármaco pero se cambió la composición de la membrana por [PEO-PBD] (polietileno-polibutadieno), se observó una eficiencia similar a la que presentan los liposomas; por lo tanto dichas vesículas pueden ser utilizadas en la liberación controlada de fármacos. (Discher D. y col., 2002) Inclusive se ha observado que los polimerosomas disminuyen la depuración de hígado y bazo, por lo cual pueden circular por más tiempo en sangre; además el transporte y liberación de fármacos en el citosol, se encontraría limitado por el acarreador y la liberación del fármaco. (Ahmed, F. y col., 2005)

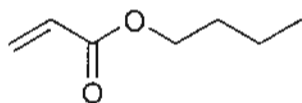
## 7. Características fisicoquímicas de los excipientes

### a) Ácido Acrílico (AA)



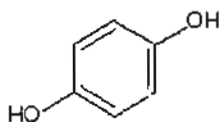
Fórmula Molecular:	C <sub>3</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>
Peso Molecular:	72.07
Punto de Ebullición:	139.0°C
Punto de Congelación:	13°C
Punto de Ignición:	50°C
Densidad:	1.051g/mL
Solubilidad:	Soluble en agua (Polymer Handbook, 1999)
Inhibidor:	Hidroquinona

### b) Acrilato de butilo (BA)



Fórmula Molecular:	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>
Peso Molecular:	128.17
Punto de Ebullición:	144.0-149.0°C
Punto de Congelación:	-64°C
Punto de Ignición:	39°C
Densidad:	1.051g/mL
Solubilidad:	Insoluble en agua (Polymer Handbook, 1999)
Inhibidor:	Hidroquinona

c) Hidroquinona



Sinónimo:	1,4-Benzenodiol
Fórmula Molecular:	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>
Peso Molecular:	110.11
Punto de Ebullición:	285.0-287.0°C
Densidad:	1.332g/mL
Solubilidad:	Soluble en agua (The Merck Index, 2000)

d) Copolímeros donados por Rhodia

Copolímero [PBA-PAA]

Copolímeros:	Poli butil acrilato- ácido poli acrílico
Peso Molecular:	15 000g/mol 7 500g/mol [PBA] 7 500g/mol [PAA]
Solubilidad:	[PBA] insoluble en agua [PAA] Soluble en agua
Índice de polidispersidad:	1.8 (Nikova, T.A. y col. 2004)

Terpolímero [(PBA-PDEGA)-PAA]

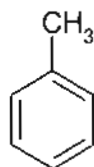
Copolímeros:	[(Poli butil acrilato - poli (di (etilenglicol) acrilato de etil éter) - ácido poli acrílico]
Peso Molecular:	15 000g/mol 7 500g/mol [PBA] 7 500g/mol [PAA]
Solubilidad:	[(PBA-PDEGA)] insoluble en agua [PAA] Soluble en agua

e) Agua Destilada

H<sub>2</sub>O

Fórmula Molecular:	H <sub>2</sub> O
Peso Molecular:	18.01
Punto de Ebullición:	100°C
Densidad:	0.992g/mL
Estado Físico:	Líquido
Color:	Translúcido
Solubilidad:	Completamente miscible en etanol (The Merck Index, 2000)

f) Tolueno



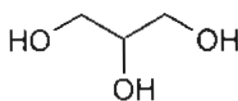
Sinónimo:	Metil benceno
Fórmula Molecular:	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub>
Peso Molecular:	92.14
Punto de Ebullición:	110.60°C
Densidad:	0.866g/mL
Estado Físico:	Líquido
Color:	Translúcido
Solubilidad:	Poco soluble en agua, completamente miscible en etanol, acetona, hexano y diclorometano (The Merck Index, 2000)

g) Tetrahidrofurano (THF)



Sinónimo:	Oxaciclopentano
Fórmula Molecular:	$C_4H_8O$
Peso Molecular:	72.11
Punto de Ebullición:	66.0°C
Densidad:	0.889g/mL
Estado Físico:	Líquido
Color:	Translúcido
Solubilidad:	Soluble en agua (The Merck Index, 2000)

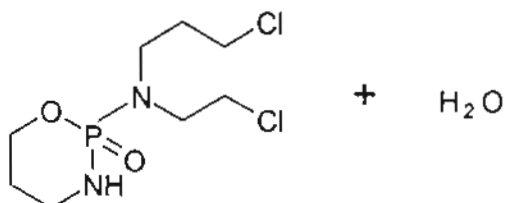
h) Glicerol



Sinónimo:	Propano-1,2,3-triol
Fórmula Molecular:	$C_3H_5(OH)_3$
Peso Molecular:	92.09g/mol
Punto de Ebullición:	290.0°C
Densidad:	1.261g/mL
Estado Físico:	Líquido
Color:	Translúcido
Solubilidad:	Poco soluble en agua, completamente miscible en etanol, acetona, hexano y diclorometano (The Merck Index, 2000)

## 8. Características fisicoquímicas del principio activo

### a) Ciclofosfamida Monohidratada:



Sinónimo:	Citoxan
Fórmula Molecular:	$C_7H_{15}Cl_2N_2O_2P \cdot H_2O$
Peso Molecular:	279.1
Punto de Fusión:	41-45°C
Estado Físico:	Sólido
Forma:	Cristal
Color:	Blanco (The Merck Index, 2000)
Solubilidad:	Soluble en agua (40mg/mL); parcialmente soluble en benceno, tetracloruro de carbono, dioxano; insoluble en éter. (Sigma-Aldrich 2006)

### **Planteamiento del Problema:**

El diseño y desarrollo de un vehículo que permita vectorizar compuestos anticancerígenos de modo que éstos se dirijan a las células blanco, potenciando así su efecto terapéutico y disminuyendo sus efectos adversos, requiere la realización de estudios de preformulación y formulación con aditivos que permitan obtener un sistema farmacéutico capaz de cumplir con la vectorización y con una liberación determinada del activo.

Para la vectorización de sustancias anticancerígenas, como es el caso del compuesto alquilante del ADN: ciclofosfamida, una opción tecnológica innovadora la constituye la formación de polimerosomas a partir de copolímeros anfipáticos, para lo cual se requiere estudiar los métodos y condiciones del sistema que permitan la formación de la vesícula y el encapsulamiento del fármaco, así como establecer los factores de estabilización del sistema y de la liberación del principio activo.

**Hipótesis:**

Sí en un sistema de doble emulsión en presencia de ciclofosfamida: la concentración del copolímero [PBA-PAA] se encuentra en un intervalo de 1.0-1.5% en peso, se obtendrá un polimerosoma capaz de encapsular dicho fármaco

**Objetivos:**

**a) General**

Determinar las condiciones de un sistema que permita la obtención de polimerosomas de ciclofosfamida

**b) Particulares**

1. Realizar la síntesis de un copolímero [PBA-PAA] por copolimerización al azar, determinando las condiciones experimentales para su obtención.
2. Seleccionar la metodología adecuada para el desarrollo de polimerosomas de [PBA-PAA].
3. Caracterizar los polimerosomas obtenidos por microscopia.
4. Probar la utilidad del método de formación de polimerosoma seleccionado en el encapsulamiento de un fármaco antitumoral.

**Materiales y Método:**

En el siguiente diagrama se muestra la metodología que se siguió durante el desarrollo de este trabajo:

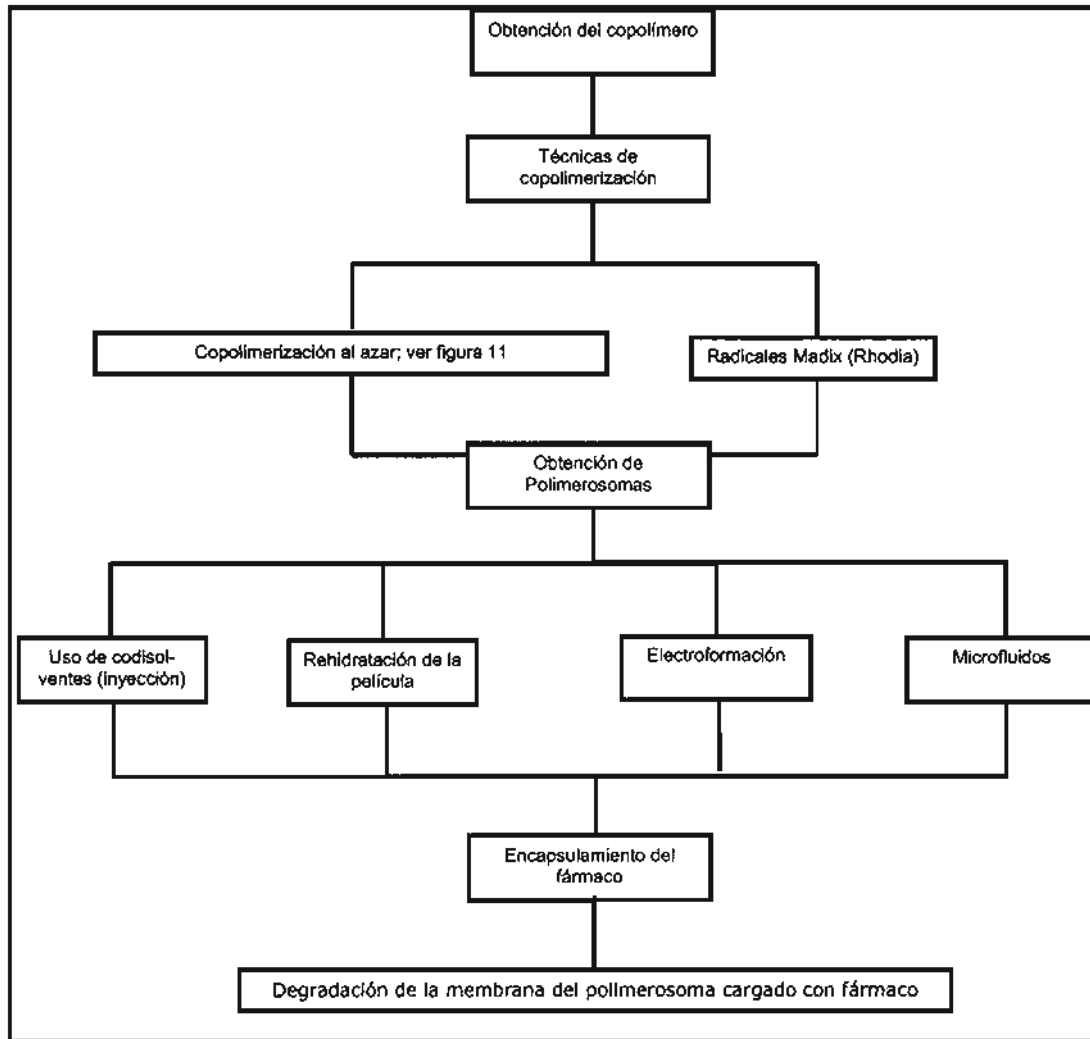


Fig. 10 Esquema general del proceso experimental seguido para la obtención del copolímero a partir de monómeros y su posterior transformación en las vesículas poliméricas o polimerosomas.

1. Copolimerización al azar mediante distintas técnicas a partir de los monómeros acrilato de butilo y ácido acrílico:

Para la obtención del copolímero formado por [PBA-PAA] se utilizaron los monómeros correspondientes; acrilato de butilo (BA) y ácido acrílico (AA), los cuales fueron adquiridos de Sigma-Aldrich. Para eliminar el inhibidor (hidroquinona) se realizó una destilación utilizando un rotavapor de la marca Büchi, modelo R-200, a 144°C y 141°C respectivamente, ocupándose para las pruebas el cuerpo de destilación de los monómeros. Debido a que se tiene como antecedente que la reacción de los monómeros es 2:1 en este estudio se mantuvieron las mismas condiciones y se probó el efecto del agente polimerizante: luz UV (254 y 302 nm), microondas (frecuencia 2450 MHz, potencia del magnetron 700 W), calentamiento (70 y 110°C) y sonicación, ver figura 10. Probando los iniciadores A, B y C, dependiendo de la técnica a utilizar.

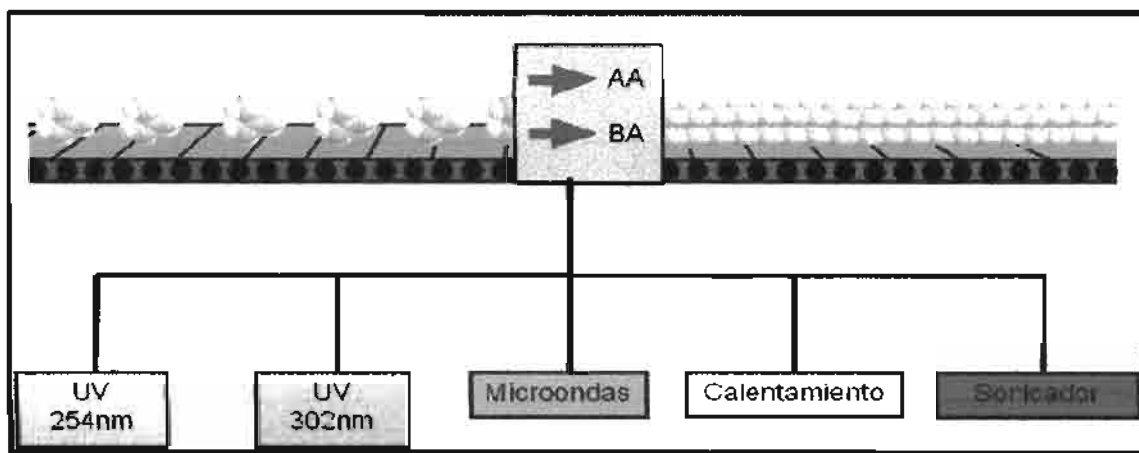


Fig. 11 Técnicas copolimerización al azar

*Procedimiento.* En un vaso de precipitados se colocaron 10 mL de AA, 5 mL de BA, y una cantidad definida de iniciador C.

Para la técnica de sonicación se evaluó el efecto del tiempo de exposición al movimiento ondulatorio a una temperatura de 75°C y 50% de amplitud. El

intervalo de tiempo fue de 10-20 minutos. Para eliminar el exceso de monómeros fue necesario el uso de vacío durante 24 h.

*Identificación y rendimiento del producto.* Para determinar las características del copolímero formado se realizaron las pruebas de solubilidad con una mezcla de THF/Tolueno; una vez que se determinó cual era el mejor copolímero en base a la solubilidad se determinó su peso molecular mediante la técnica de GPC. La determinación del producto de la reacción se calculó en función del peso del producto sólido haciendo el ajuste correspondiente considerando la densidad de los reactivos líquidos.

## 2. Obtención del polimerosoma:

### *a) Uso de codisolventes (inyección):*

Se preparó una solución de copolímero con una concentración de 1% en peso de copolímero [PBA-PAA] en una mezcla THF/Tolueno 50-50% en peso y se mantuvo en agitación por 24 h.

Para recibir y favorecer la formación de los polimerosomas se preparó una solución glicerol/agua 80:20.

Se utilizaron 2 bombas peristálticas marca VWR, las cuales fueron acondicionadas con 2 carretillas de microgoteo y en la punta de la manguera se contaba con una aguja de calibre 27; en una se colocó la solución de copolímero, en la otra 5 mL de agua, y en un matraz Erlenmeyer se colocaron 3 mL de la solución de glicerol/agua, se inyectaron ambas soluciones a un flujo volumétrico de 0.3 mL/min, con agitación constante.

### *b) Rehidratación de la película:*

Se preparó una solución de copolímero en una concentración de 4 mg/mL disueltos en THF. Se aplicó la solución a una placa de vidrio, evaporando el exceso con nitrógeno; se secó con el uso de vacío por 24 h, y posteriormente se rehidrató con agua destilada para la obtención de polimerosomas.

*c) Electroformación:*

El dispositivo utilizado se muestra en la figura 12. Para recubrir los cables de cobre fue necesario preparar una solución de copolímero en THF con una concentración de 4 mg/mL, secando el exceso de solución con una corriente de nitrógeno, posteriormente los cables se secaron en vacío por 24 h. Se colocaron en la cámara de teflón, la cual tiene una separación de 5mm entre los cables, la cámara se colocó sobre un portaobjetos con ITO (óxido de indio-estaño), y se hizo pasar la corriente eléctrica por los cables con una frecuencia de 10 Hz y un voltaje de 10 V, durante 90 min.

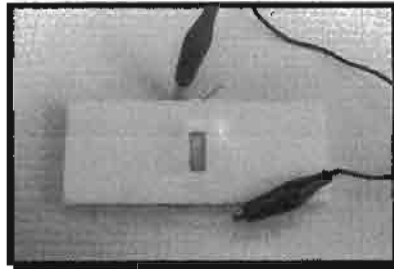


Fig. 12 Sistema para la formación de polimerosomas por el método de electroformación.

Para observar los resultados obtenidos se utilizó un microscopio marca Leica Modelo DMIRBE.

*d) Microfluidos:*

Este método de obtención de polimerosomas requiere el uso de un dispositivo que se muestra en la figura 13, el cual se construyó mediante el uso de capilares de vidrio y agujas; los capilares de 1 mm de diámetro fueron alargados con el equipo "flaming/brown micropipette puller" de la marca Sutter Instruments modelo P-67, el cual les proporciona el ángulo, mientras que la abertura de los capilares se realizó con el microscopio Microforge MF-830, obteniendo para el capilar de inyección una abertura de 20  $\mu\text{m}$  y para el de recolección o salida 65  $\mu\text{m}$ ; ambos capilares fueron insertados en un capilar cuadrado de 1 mm de lado.

Para la inyección de las fases que formarán los polimerosomas es necesario el uso de agujas sin punta con un calibre del número 27, las cuales fueron colocadas en el inicio y fin del capilar cuadrado y la tercera al final del capilar de entrada de la fase interna. En la figura 14 se muestra la representación esquemática del sistema de operación del dispositivo de la figura 13 y en la figura 15 se puede observar todo este sistema utilizado en el laboratorio de la Escuela de Ingeniería y Ciencias Aplicadas de la Universidad de Harvard.

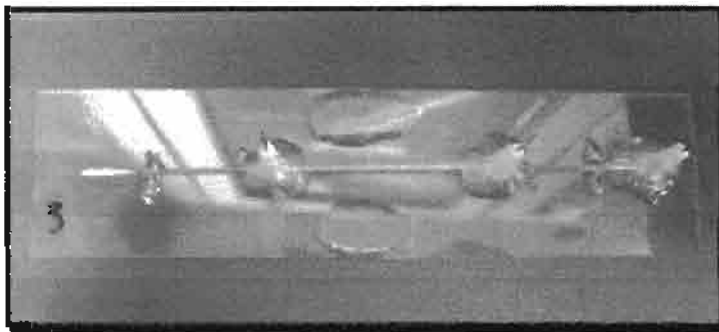


Fig. 13 Dispositivo utilizado para la formación de polimerosomas por el método de microfluidos

Para la obtención de polimerosomas por esta técnica se utilizaron los copolímeros proporcionados por Rhodia y el copolímero obtenido por sonicación.

Para cada experimento se prepararon las siguientes soluciones:

Fase Interna: mezcla glicerol-agua 5%

Fase Media: solución de copolímeros al 0.5% en peso en una mezcla de THF/tolueno 30-70%

Fase Externa: agua/glicerol 50-50%.

Las tres fases se inyectaron al dispositivo por medio de tres bombas de inyección programable, marca Harvard Apparatus, modelo PHD 200; las primeras condiciones de flujo a evaluar fueron las reportadas en la literatura (Utada, A. S. y col. 2005) y son las siguientes: fase interna 2500  $\mu\text{L}/\text{min}$ , fase media 450  $\mu\text{L}/\text{min}$  y fase externa 350  $\mu\text{L}/\text{min}$ .

De acuerdo a los resultados obtenidos se evaluaron tres condiciones más para la obtención de los polimerosomas:

- a) Fase interna 3750  $\mu\text{L}/\text{min}$ , fase media 450  $\mu\text{L}/\text{min}$  y fase externa 350  $\mu\text{L}/\text{min}$
- b) Fase interna 5000  $\mu\text{L}/\text{min}$ , fase media 1700  $\mu\text{L}/\text{min}$  y fase externa 650  $\mu\text{L}/\text{min}$
- c) Fase interna 250  $\mu\text{L}/\text{min}$ , fase media 500  $\mu\text{L}/\text{min}$  y fase externa 7000  $\mu\text{L}/\text{min}$

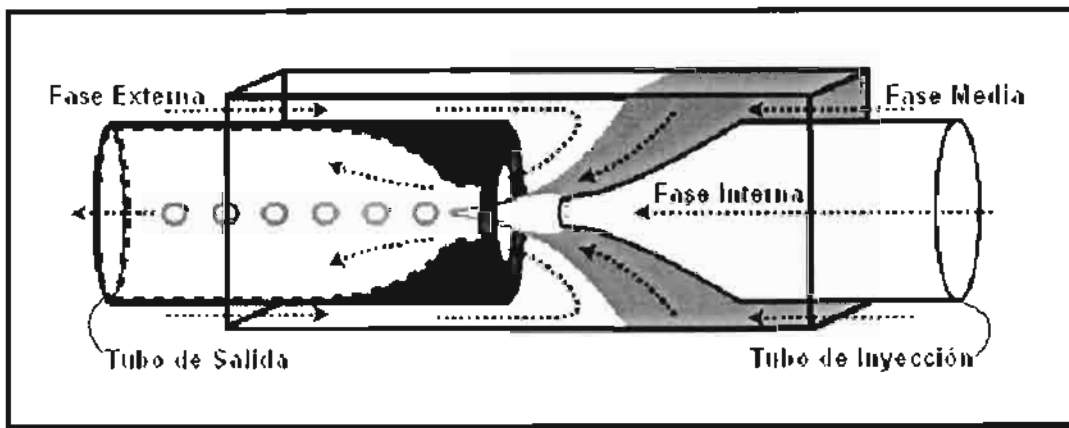


Fig. 14 Esquema microscópico del dispositivo utilizado para la formación de polimerosomas por el método de microfluidos (Utada, A.S. y col. 2005)

Para observar la formación de las vesículas se utilizó un microscopio marca Leica Modelo DMIRBE al cual se le adaptó una cámara de alta velocidad (Phantom V5.0)

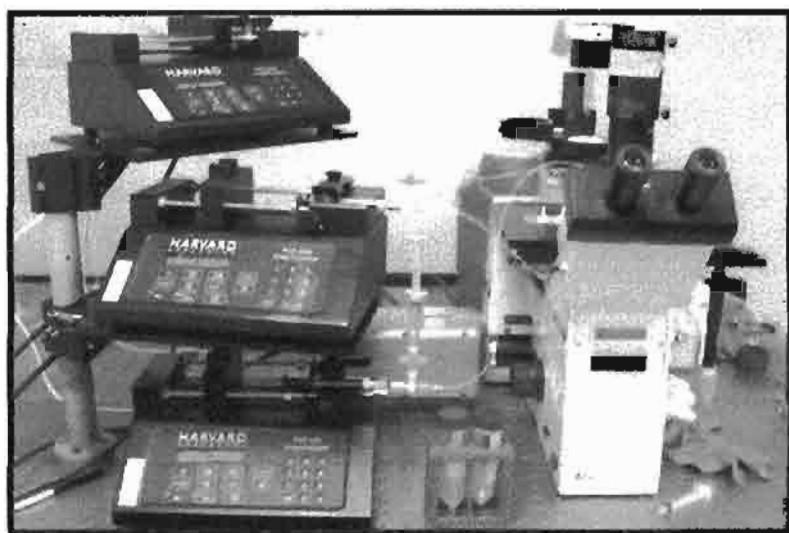


Fig. 15 Sistema utilizado para la obtención de polimerosomas por la técnica de microfluidos (Laboratorio de la Escuela de Ingeniería y Ciencias Aplicadas, Universidad de Harvard)

### 3. Prueba de encapsulamiento del polimerosoma:

Para verificar la formación de las vesículas mediante la técnica de microfluidos, con el bloque de copolímeros [PBA-PAA] [7500-7500] 15 000, se utilizó en 20 mg de la fase interna 20  $\mu$ g de fluoresceína como colorante que permitiera observar la capacidad del sistema para la formación y el encapsulamiento del polimerosoma.

### 4. Secado-hidratación del polimerosoma:

Se realizó una prueba de secado-hidratación, en la cual se dejaron evaporar los disolventes en los que se encontraban los polimerosomas y después de la evaporación se observaron las muestras en el microscopio; posteriormente se hidrataron con una solución de agua/glicerol 50-50%, y nuevamente se observaron en el microscopio.

### 5. Encapsulamiento del fármaco en el polimerosoma:

El encapsulamiento del fármaco se realizó mediante la técnica de microfluidos, la cual consiste en la formación de polimerosomas a partir de una doble emulsión

Como fase externa se utilizó una solución de agua/glicerol 50-50%; la fase media se constituyó de una solución al 0.5% en peso del copolímero formado por [PBA-PAA] [7500-7500], disuelto en THF/tolueno 30-70%; para la fase interna se preparó una solución de ciclofosfamida con una concentración de 10 mg/mL en una mezcla de glicerol/agua al 5%.

A partir de los resultados que se obtuvieron en la formación de los polimerosomas sin fármaco se utilizaron los siguientes flujos de alimentación para cada fase:

- a. Interna: 250  $\mu$ L/min
- b. Media: 500  $\mu$ L/min
- c. Externa: 7000  $\mu$ L/min

De acuerdo a la literatura publicada (Utada A.S. y col 2005) esta técnica asegura el encapsulamiento del fármaco sobre la base de que estando disuelto el activo en la fase interna éste quedará en el interior de la vesícula una vez formada la doble emulsión.

La cantidad teórica de fármaco encapsulado por el polimerosoma se calculará en base a la fórmula matemática para calcular el volumen de un cuerpo esférico.

$$V = \frac{4}{3} \pi r^3$$

#### 6. Observación de la degradación de la membrana del polimerosoma cargado con fármaco:

En un portaobjetos se colocó 0.5 mL de una dispersión de polimerosomas cargadas con fármaco y se le adicionó 1 mL de HCl 1M con un pH 1.2; dicha muestra se observó en el microscopio a diferentes intervalos de tiempo durante 60 h.

## Resultados y Discusión:

### 1. Copolimerización al azar mediante distintas técnicas a partir de los monómeros acrilato de butilo y ácido acrílico:

#### *Síntesis del copolímero:*

##### *a) Luz UV 254 nm*

La luz UV de 254nm no fue suficiente para iniciar la copolimerización de los monómeros sin destilar, en el caso del uso del iniciador A, tampoco fue suficiente ya que el reactivo no tenía la potencia que se requería para iniciar la reacción (Anexo I, tabla 1).

##### *b) Luz UV 302 nm*

No se obtuvo copolímero cuando únicamente se utilizó luz UV por 20 minutos, en la combinación de luz UV e iniciador A no se formó el copolímero, en el caso del uso de luz UV más iniciador B, vemos que se formó un gel, de consistencia dura y aspecto translucido (Anexo I, tabla 2).

En los resultados que se obtuvieron con el uso de luz UV 302 nm con un tiempo de exposición de 30 minutos se observa que con el uso de ésta no es suficiente para la formación del copolímero, cuando se hace la combinación de luz UV más el iniciador A, se obtiene un copolímero sin embargo la cantidad es muy poca, con el uso de luz UV 302 nm y el iniciador B se observa mayor cantidad de copolímero, el cual es un gel translúcido (Anexo 1, tabla 3).

##### *c) Microondas*

En los resultados se observa que el uso de microondas combinado con el iniciador C permite la formación de gran cantidad de copolímero, dando como resultado un sólido muy duro de color blanco, sin embargo no fue posible desprenderlo del tubo de ensayo, motivo por el cual no se determinó el rendimiento de la reacción (Anexo 1, tabla 4).

*d) Calentamiento*

En los ambos casos la temperatura con el uso del iniciador B no es suficiente como para producir el copolímero (Anexo 1, tabla 5).

*f) Sonicator*

Otro método utilizado para la formación del copolímero, fue el de sonicación, en el anexo 1, tabla 6 se muestran los resultados que se obtuvieron, se observa que la formación del copolímero fue posible mediante el uso del sonicator más el iniciador C,

El copolímero que se obtuvo por medio de la técnica de sonicación, es un sólido de color blanco; de aspecto duro e inodoro (figura 16); después de la aplicación de vacío fue posible eliminar los monómeros que no copolimerizaron. Además de la apariencia física se observa un cambio de los reactivos del estado líquido a sólido, la formación del copolímero [PBA-PAA], su peso molecular promedio en número ( $M_n$ ) es de 352 g/mol y su peso molecular promedio en peso ( $M_w$ ) es de 360 g/mol los cuales se determinaron por medio de GPC (figura 17).



Fig. 16 Copolímero [PBA-PAA], obtenido por el método de sonicación

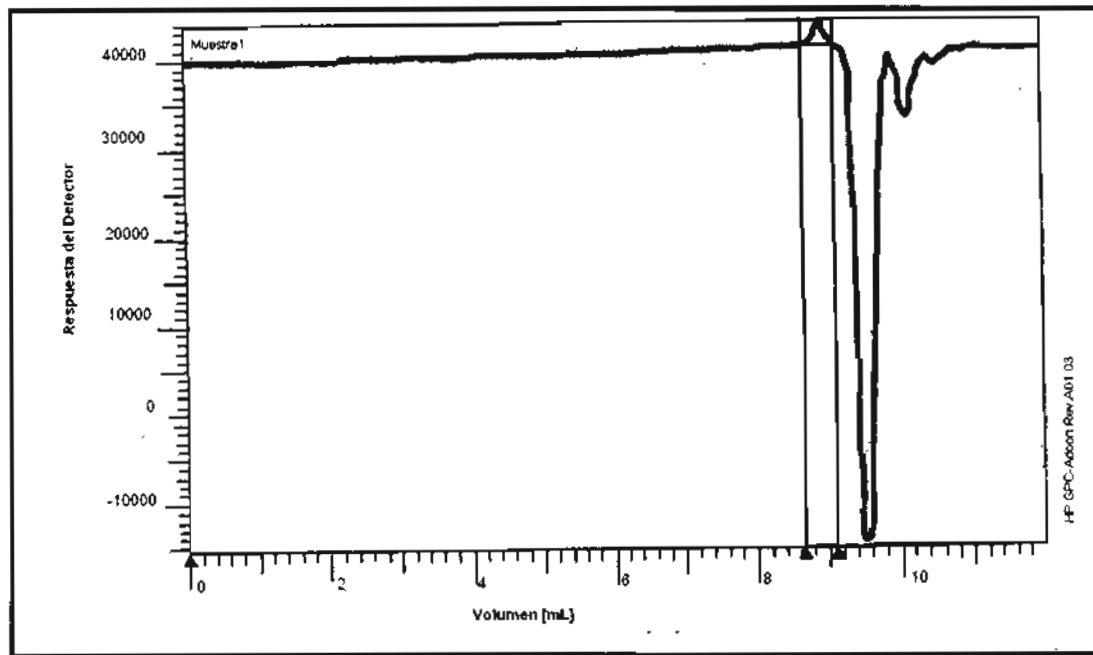


Fig. 17 GPC del copolímero [PBA-PAA], obtenido por sonicación.

El rendimiento total del copolímero por éste método fue de 83.45%, el cual fue alto comparado con otros métodos (luz UV, microondas y calentamiento), en los que las cantidades obtenidas son menores.

El copolímero es insoluble en agua, etanol, acetona y cloroformo, por pertenecer al grupo de los acrilatos, sólo fue posible solubilizarlo en THF.

## 2. Obtención del polimerosoma mediante distintas técnicas:

### a) Uso de codisolventes (inyección)

La obtención de los polimerosomas por esta técnica fue posible utilizando el copolímero que se obtuvo por el método de sonicación; los polimerosomas presentaban solo una membrana (fig. 18), sin embargo éstos fueron inestables, ya que en poco tiempo se rompían; además, junto con el fármaco se encapsulaba el disolvente utilizado para la formación de dichas estructuras; por estos motivos no fueron candidatos a ser utilizados en el encapsulamiento del fármaco.

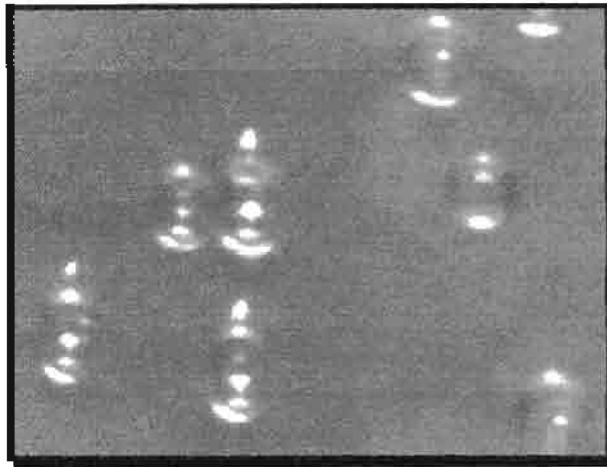


Fig 18. Polimerosomas de una sola membrana

*b) Hidratación de la película:*

Cuando se utilizó el copolímero [PBA-PAA] que se obtuvo por sonicación, por esta técnica no se obtuvieron polimerosomas; lo mismo sucedió con los copolímeros proporcionados por Rhodia: [(PBA-PDGEA)-PAA] y [PBA-PAA]; posiblemente por el peso molecular que presentaban los compuestos, no eran candidatos a esta técnica, lo cual se ve reflejado en la ineficaz formación de polimerosomas.

*c) Electroformación:*

Por este método no fue posible la obtención de polimerosomas con ninguno de los tres copolímeros; ([PBA-PAA]; [(PBA-PDGEA)-PAA] y [PBA-PAA]). En todos los casos sólo se observaba el desprendimiento de los copolímeros que recubrían los cables; se considera que la frecuencia de corriente utilizada no fue la adecuada, motivo por el cual no fue posible la formación de dichas estructuras.

Debido a la transición vítrea del PAA (-35°C) (Lorenceanu, E. y col. 2005) se pensó que era necesario aplicar un aumento de temperatura del sistema (80°C) (Discher, D. y col. 2006); sin embargo, no se observó cambio alguno.

*d) Microfluidos:*

Se probaron las diversas condiciones de flujo con los tres copolímeros; sin embargo, con el copolímero que se obtuvo por sonicación, formado por [PBA-PAA] no fue posible la obtención de polimerosomas; lo mismo sucedió con el terpolímero [(PBA-PDGEA)-PAA]. Lo anterior es debido a que nunca se logró un equilibrio entre los flujos de las fases, lo que es resultado de las características (peso molecular, longitud, conformación y distribución de las cadenas) de éstos.

La formación de polimerosomas con el copolímero [PBA-PAA] 7 500-7 500 para dar un peso total de 15 000 g/mol, fue posible con las 2 primeras condiciones de flujo ( a) Fase interna 3750  $\mu\text{L}/\text{min}$ , fase media 450  $\mu\text{L}/\text{min}$  y fase externa 350  $\mu\text{L}/\text{min}$  y b) Fase interna 5000  $\mu\text{L}/\text{min}$ , fase media 1700  $\mu\text{L}/\text{min}$  y fase externa 650  $\mu\text{L}/\text{min}$ ); sin embargo, las vesículas obtenidas no tuvieron las características buscadas (doble emulsión), además se observó que se presenta coalescencia de la fase interna del polimerosoma (figura 19), o inclusive las estructuras eran de diversos tamaños dando como resultado emulsiones polidispersas (figura 20).

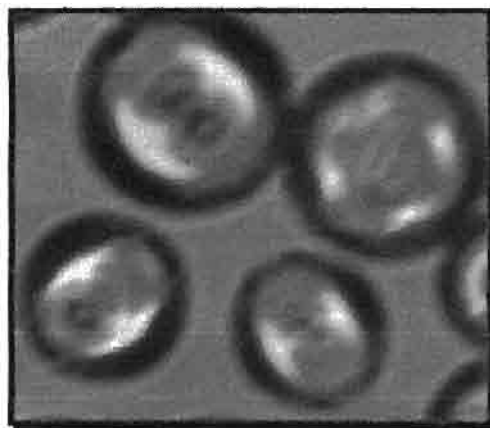


Fig. 19 Polimerosomas cuya fase interna presenta coalescencia

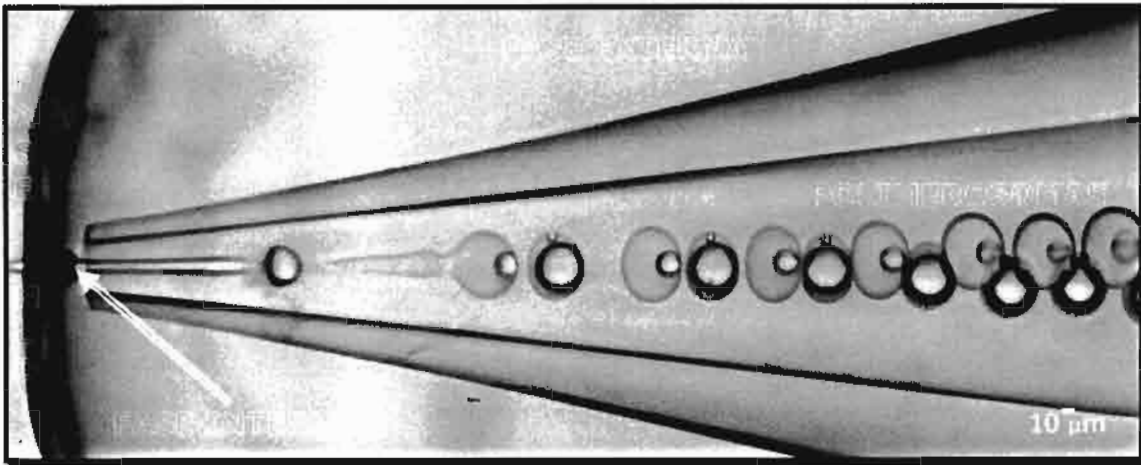


Fig. 20 Polimerosomas polidispersos en el dispositivo, vista microscópica.

Con las condiciones de: fase interna 5000  $\mu\text{L}/\text{min}$ , fase media 1700  $\mu\text{L}/\text{min}$  y fase externa 650  $\mu\text{L}/\text{min}$  fue posible la formación de las estructuras, por medio de un sistema de doble emulsión figura 21, en donde el polimerosoma esta en proceso de formación y en la figura 22, se presentan para su recolección.

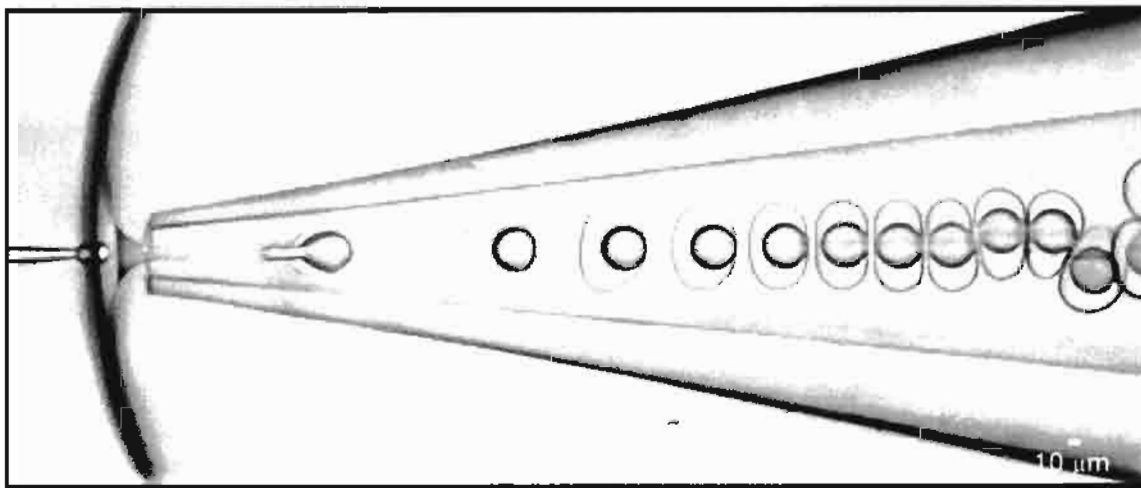


Fig. 21 Polimerosomas en el dispositivo, vista microscópica

Por medio de este método los polimerosomas que se obtuvieron fueron de tamaño micrométrico y uniforme..

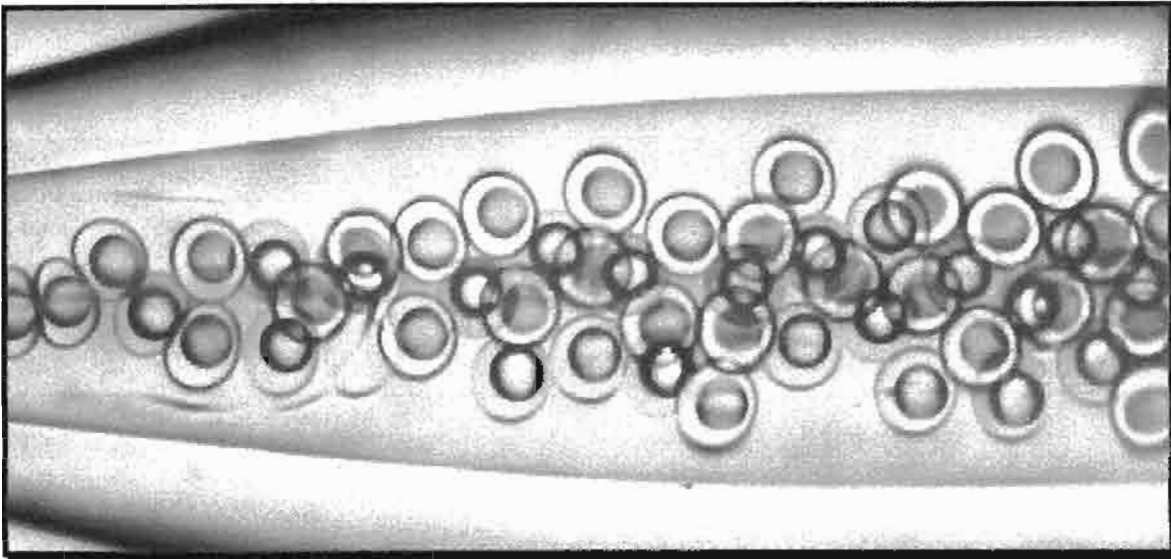


Fig. 22 Polimerosomas en el capilar de recolección

Los polimerosomas se recolectaron directamente de la salida del sistema, los cuales a simple vista se mostraban como una emulsión de color blanco; debido a su posible inestabilidad fue necesario recolectarlos en un medio acuoso (figura 23).

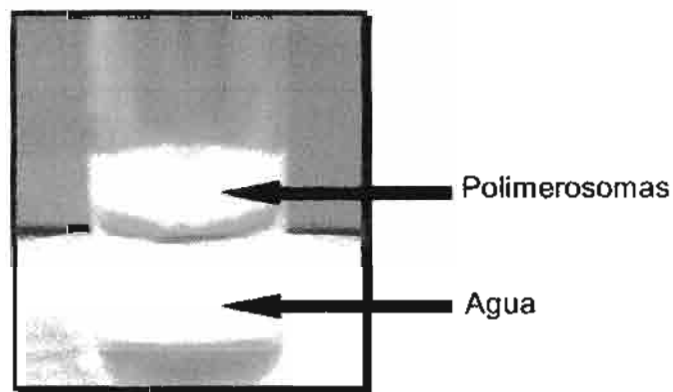


Fig. 23 Polimerosomas suspendidos en agua, contenidos en un tubo de ensayo de 10 mL; los cuales fueron obtenidos por el método de microfluidos.

Posteriormente los polimerosomas se observaron en el microscopio con la finalidad de verificar su estabilidad a la evaporación del disolvente con respecto a los tiempos marcados siendo éstos 5, 10, 20 y 25 minutos; durante los cuales las

vesículas demostraron ser estables, aún sin estar dispersos en la solución de glicerol/agua 50%-50%. Esto se puede observar en las figuras 24, 25, 26 y 27.

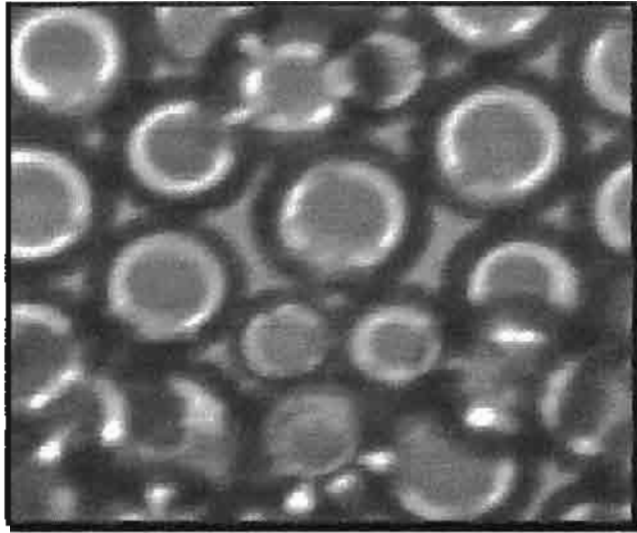


Fig. 24 Polimerosomas. Tiempo 5 minutos. Objetivo 40X

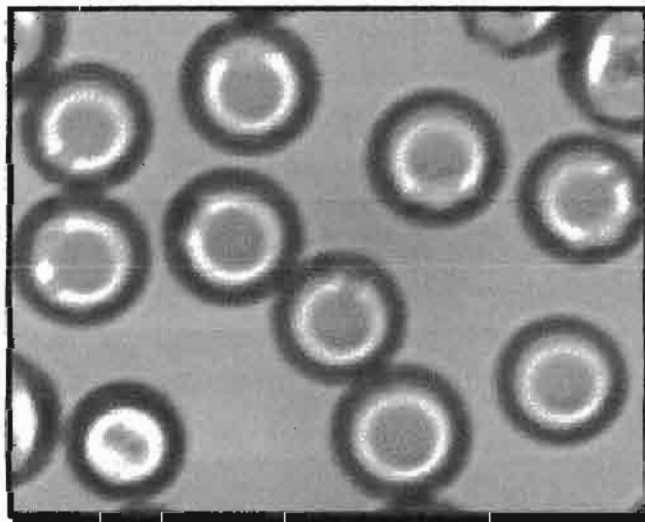


Fig. 25 Polimerosomas. Tiempo 10 minutos Objetivo 40X

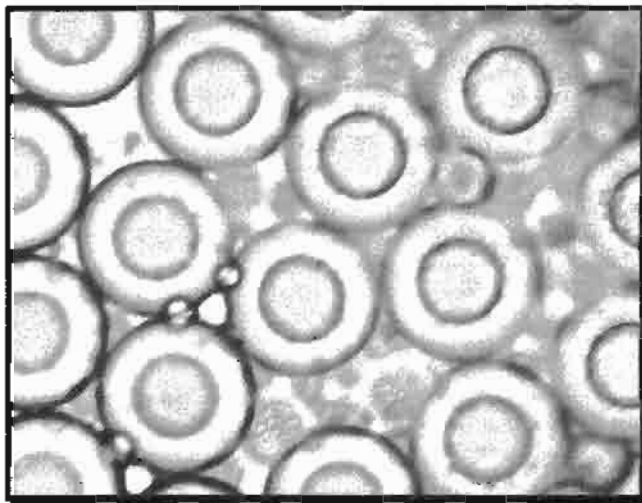


Fig. 26 Polimerosomas. Tiempo 20 minutos. Objetivo 40X

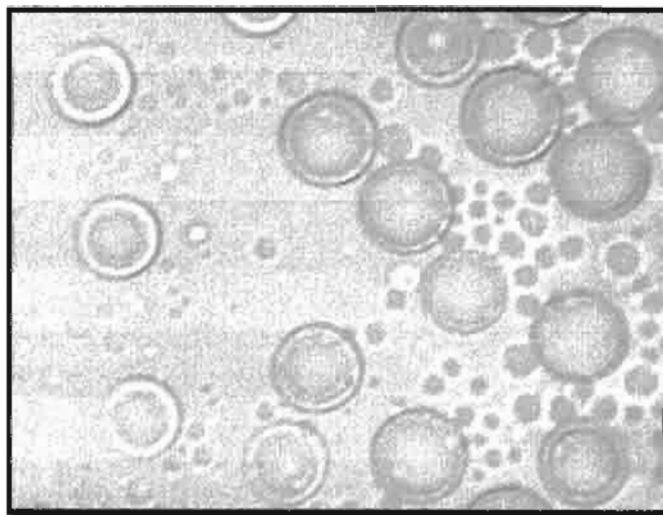


Fig. 27 Polimerosomas. Tiempo 25 minutos. Objetivo 40X

Los polimerosomas observados al tiempo de 25 minutos presentan una doble membrana, debido a que su formación fue por medio de un sistema de doble emulsión.

Cuando se probaron las últimas condiciones de flujo se pudo observar que en este método el tamaño de los polimerosomas depende del flujo de las diferentes fases. En la figura 28 el choque de fases tiene las siguientes velocidades: fase interna 5000  $\mu\text{L}/\text{min}$ , fase media 1700  $\mu\text{L}/\text{min}$  y fase externa 650  $\mu\text{L}/\text{min}$  dándonos polimerosomas de mayor tamaño, en cambio en la figura 29 al cambiar el flujo de las fases: fase interna 250  $\mu\text{L}/\text{min}$ , fase media 500  $\mu\text{L}/\text{min}$  y fase externa 7000  $\mu\text{L}/\text{min}$  se obtuvieron polimerosomas de menor tamaño (aproximadamente 18  $\mu\text{m}$ ).

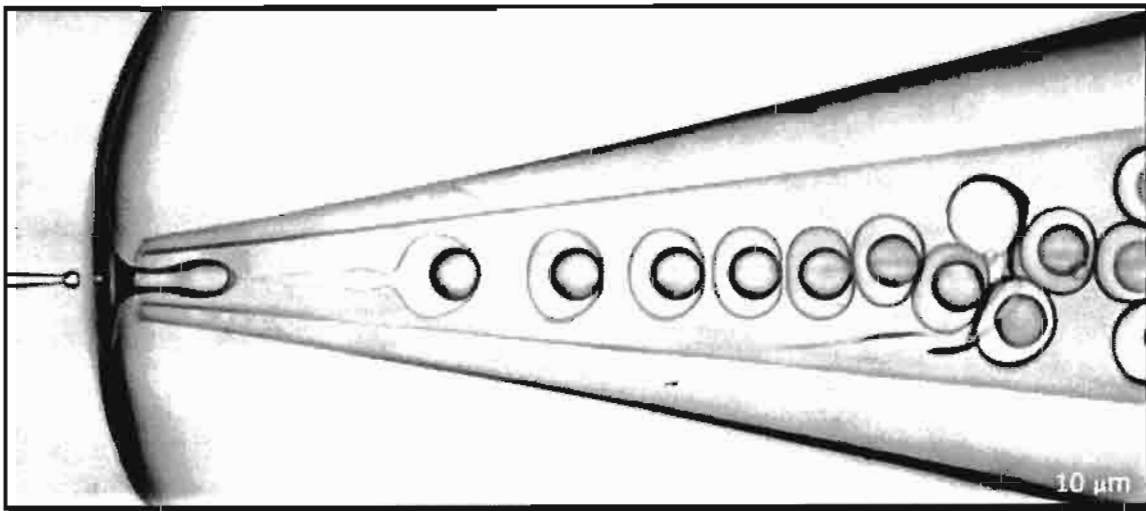


Fig. 28 Polimerosomas, método de microfluidos, flujo de las fases: Fase interna 5000  $\mu\text{L}/\text{min}$ ; fase media, 1700  $\mu\text{L}/\text{min}$  y fase externa 650  $\mu\text{L}/\text{min}$ .

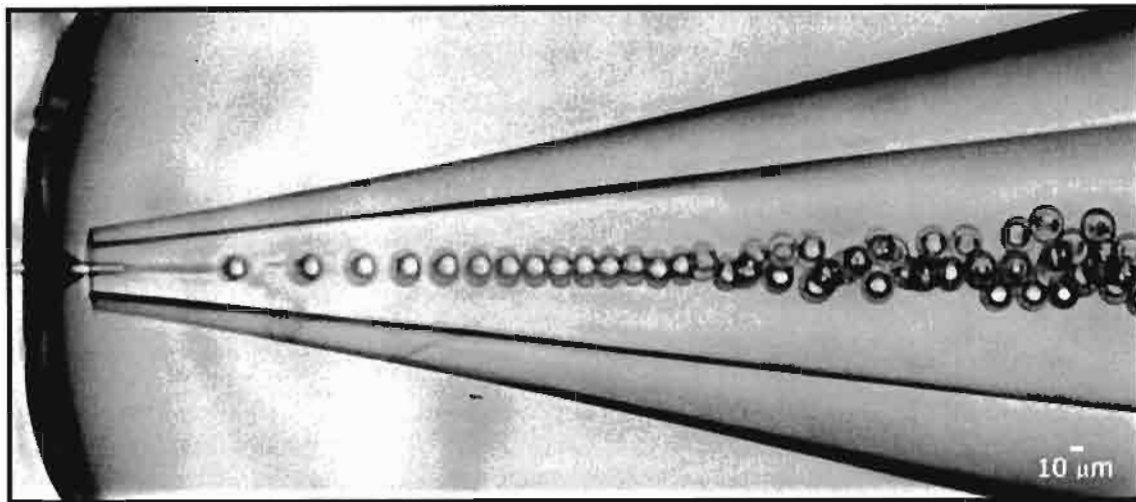


Fig 29. Polimerosomas, método de microfluidos, flujo de las fases: Fase interna 250  $\mu\text{L}/\text{min}$ ; fase media 500  $\mu\text{L}/\text{min}$  y fase externa 7000  $\mu\text{L}/\text{min}$ .

A partir de estos resultados se determinó que las mejores condiciones para encapsular el fármaco son las siguientes: fase interna 250  $\mu\text{L}/\text{min}$ , fase media 500  $\mu\text{L}/\text{min}$  y fase externa 7000  $\mu\text{L}/\text{min}$ , ya que permitieron obtener polimerosomas monodispersos, estables y con un menor tamaño.

### 3. Prueba de encapsulamiento:

Para realizar esta prueba se empleó fluoresceína con la finalidad de diferenciar el interior y el exterior del polimerosoma para su observación al microscopio, pero debido a la baja concentración de fluoresceína (1 $\mu\text{g}$  por 1 mL de fase interna), no se logró dicho objetivo, por lo que esta prueba tendrá que optimizarse en estudios posteriores.

### 4. Secado-hidratación del polimerosoma:

Esta prueba se realizó evaporando los disolventes (THF y el tolueno) utilizados en la formación de los polimerosomas, lo cual tuvo como finalidad secar la vesícula y el resultado se muestra en la figura 30 (a).

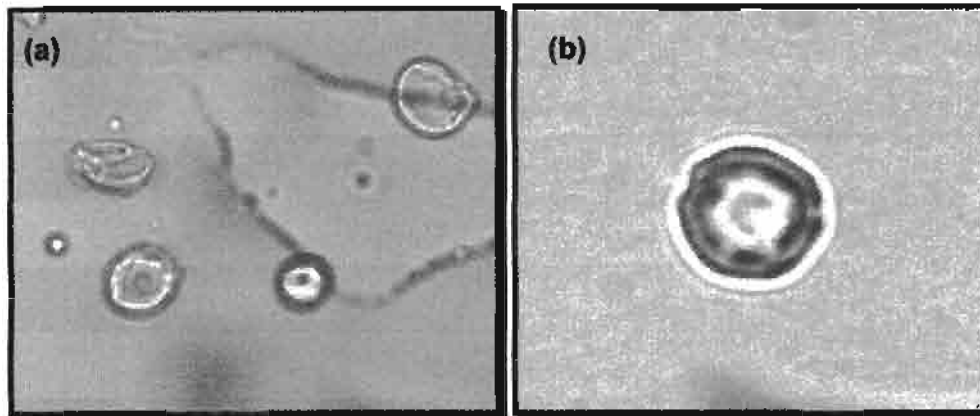


Fig. 30 (a) Polimerosomas sin disolvente; (b) polimerosoma reconstituido con glicerol/agua. Objetivo 40X

Posteriormente, los polimerosomas secos se hidrataron con una mezcla de glicerol/agua 50-50%, los cuales regresaron a su forma y tamaño (vesícula), con lo cual podemos decir que los polimerosomas obtenidos por la técnica de microfluidos son estables mecánicamente sin perder sus características físicas; como se puede observar en la figura 30 (b).

##### 5. Encapsulamiento de la ciclofosfamida en el polimerosoma:

El encapsulamiento del fármaco se realizó mediante la técnica de microfluidos utilizando los siguientes flujos: fase interna 250  $\mu\text{L}/\text{min}$ , fase media 500  $\mu\text{L}/\text{min}$  y fase externa 7000  $\mu\text{L}/\text{min}$ . Estas condiciones se definieron conforme a los resultados obtenidos en las pruebas de formación de polimerosomas sin fármaco. Las vesículas formadas se observan en las figuras 31 y 32; en cuyo interior del polimerosoma debe estar el fármaco. Como se puede observar las vesículas cargadas no presentan ninguna diferencia en su apariencia física con las que no contenían fármaco.

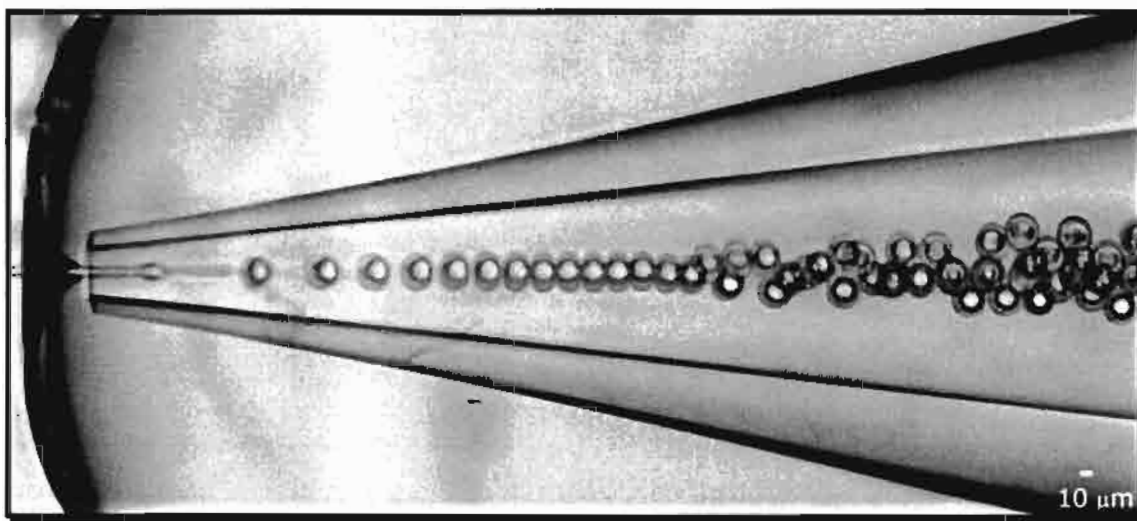


Fig. 31. Polimerosomas cargados con ciclofosfamida

Por este método es posible obtener aproximadamente 6 mL de polimerosomas por hora, de tamaño uniforme y manteniéndose en suspensión son muy estables al medio ambiente.

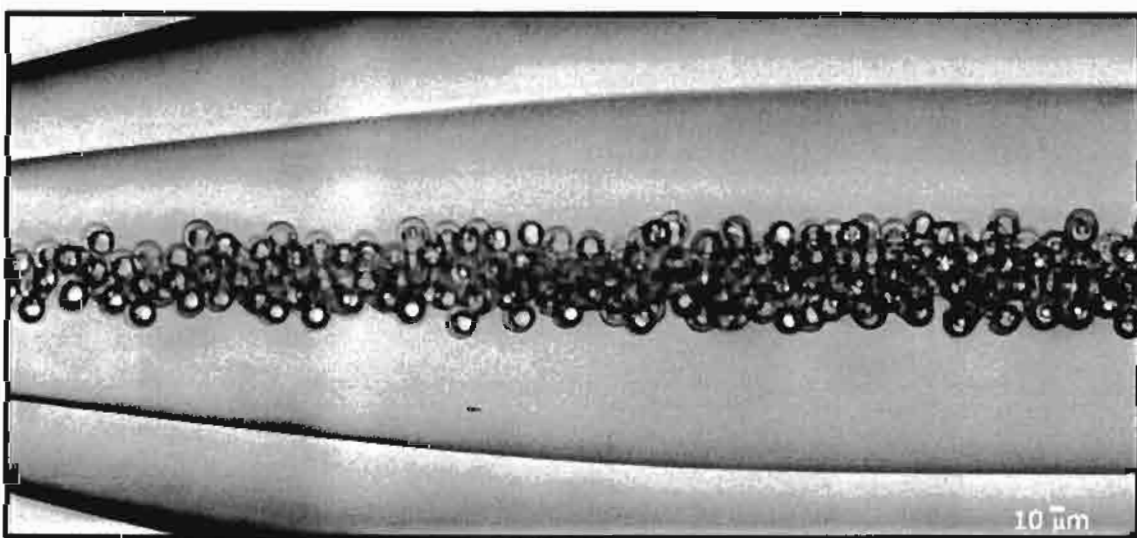


Fig. 32 Polimerosomas en el dispositivo cargados con ciclofosfamida

La cantidad teórica de fármaco encapsulado por el polimerosoma se calculó en base a la fórmula matemática para calcular el volumen de un cuerpo esférico.

$$V = \frac{4}{3} \pi r^3 \quad \text{Sustituyendo:} \quad V = \frac{4}{3} (3.1416) (9)^3 = 3053.63 \mu\text{m}^3$$

Para obtener los picogramos de fármaco contenidos en el polimerosoma fue necesario considerar la concentración inicial de fármaco (10 mg/mL), dando como resultado una cantidad de ciclofosfamida de  $3.053 \cdot 10^{-5}$ .

6. Observación de la degradación de la membrana del polimerosoma cargado con fármaco:

Debido a que los copolímeros en bloque obtenidos por el método de Madix dificultan que se lleve a cabo la liberación por mecanismos difusivos (Bouhadir, G. y col 1998) (Scott, R. y col 2002) en éste trabajo se propuso comprobar el efecto del pH sobre la lisis de la membrana empleando una solución de ácido clorhídrico 1 M a pH 1.2. Bajo estas condiciones se observó (figura 33) que la membrana no sufrió transformación entre 6 y 17 horas de exposición.

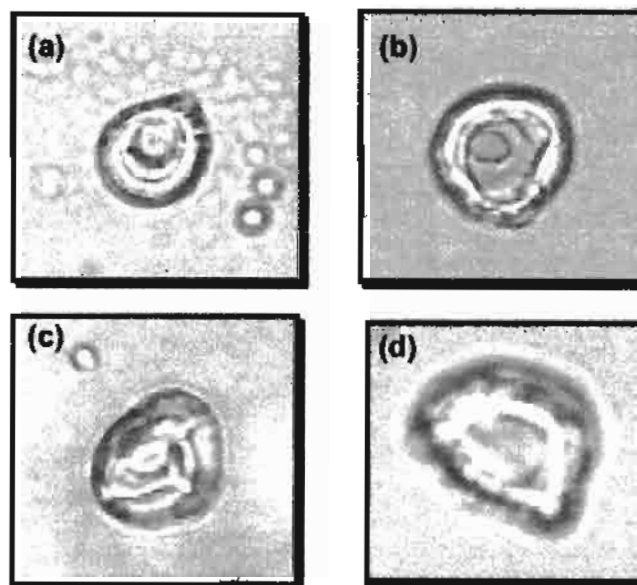


Fig. 33 Polimerosoma con HCl 1M; (a) 5 minutos; (b) 30 minutos; (c) 60 minutos; (d) 6 horas. Objetivo 40X.

Transcurridas 18 y 30 horas, ocurre la degradación de la membrana (figura 34). En una parte de ésta se observa el inicio de la formación de un poro (figura 34 a y b, respectivamente), por el cual el fármaco encapsulado en el polimerosoma puede ser liberado. A las 48 horas (figura 34 c), es más evidente la apertura de la membrana y a las 60 horas (figura 34 d), se observa que el polimerosoma se abrió completamente.

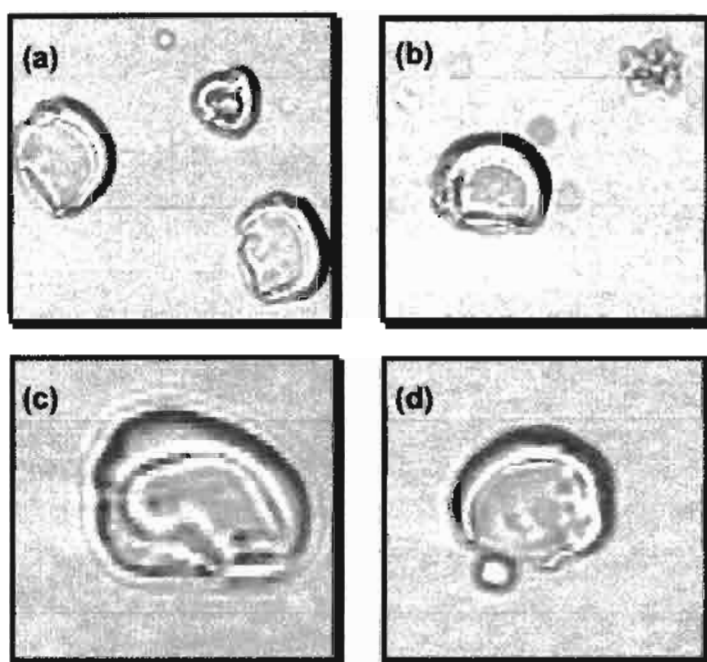


Fig 34. Polimerosoma con HCl 1M; (a) 18 horas; (b) 30 horas; (c) 48 horas; (d) 60 horas. Objetivo 40X.

La evaluación de la integridad de la membrana por exposición a diferentes condiciones de pH sólo se realizó en medio ácido debido a la pequeña cantidad del producto.

Con base a estos resultados se comprueba lo dicho por (Bouhadir, G. y col 1998) (Scott, R. y col 2002), en el que la membrana obtenida bajo las condiciones antes mencionadas sólo se rompe a pH ácido y alcalino; por lo que a partir de la información obtenida en este trabajo se abren distintas líneas de acción, entre las

que se pueden plantear: 1) Comprobar la formación de poros en la membrana por efecto de pH y en su caso; proponer una metodología analítica para determinar la cinética de liberación. 2) Anclar a la membrana molécula (s) que permitan vectorizar el sistema. (Kakizawa, Y. y col. 2002) (Hammer, D.A. y col. 2001). 3) Definir una forma farmacéutica para su administración. (Christian, D. y col. 2006)

## Conclusiones:

De los métodos utilizados para la obtención de los copolímeros de [PBA-PAA], el más adecuado fue el de sonicación, por el alto rendimiento y las características del copolímero, además de ser un método rápido.

Para el método de rehidratación de película y electroformación, el peso molecular y la conformación de los copolímeros utilizados determinan si se forma o no el polimerosoma.

Con la técnica de uso de codisolventes (inyección) y utilizando el copolímero obtenido por sonicación, cuya conformación es al azar, los polimerosomas son inestables; en cambio los polimerosomas obtenidos por la técnica de microfluidos, son estables cuando el copolímero está conformado por [PBA 7500-PAA 7500], con un peso total de 15000 Daltons.

Por comparación, mediante la técnica de microfluidos funciona mejor el [PBA-PAA] 7500-7500 Daltons versus [(PBA-PDGEA)-PAA] ya que éste último no permitió la obtención de estructuras por su diferencia de conformación aunque ambos presentaban el mismo peso molecular.

Comparando por la técnica de microfluidos funciona mejor el copolímero [PBA-PAA] 7500-7500 g/mol versus el copolímero [PBA-PAA] obtenido por sonicación ya que con éste último no fue posible la obtención de las estructuras, debido a que entre ellos tienen distinta conformación y peso molecular.

Los polimerosomas obtenidos por la técnica de microfluidos presentan una doble membrana, el tamaño de los polimerosomas en éste caso depende de las velocidades utilizadas en el sistema durante su obtención.

Los polimerosomas cargados con fármaco presentan un tamaño aproximado de 18  $\mu\text{m}$ .

Con la técnica de microfluidos es posible encapsular teóricamente  $3.053 \cdot 10^{-5}$  picogramos de ciclofosfamida contenidos en solución.

Con el sistema de microfluidos es posible obtener aproximadamente 50 mL de polimerosomas cargados con ciclofosfamida en un día de trabajo bajo condiciones de velocidades ideales.

Un medio con pH ácido (1.2) ejerce un efecto de degradación sobre la membrana polimérica a partir de las 18 horas de exposición resistiendo hasta las 60 horas, siendo posible que durante este lapso de tiempo se este liberando el fármaco; sin embargo es necesario realizar mayores estudios para definir el mecanismo de degradación y en su caso la cinética de liberación de las sustancias contenidas en el polimerosoma.

**Trabajo Prospectivo:**

Las metas establecidas para este trabajo se cumplieron sin embargo quedan como líneas de acción futura las siguientes:

- a) Desarrollar la metodología analítica para cuantificar la liberación del fármaco del polimerosoma.
- b) Realizar estudios de interacción entre los copolímeros y el fármaco.
- c) Determinar la estabilidad física y química del polimerosoma cargado.
- d) Optimizar el proceso de formación del polimerosoma por la técnica de microfluidos, para cubrir distintos objetivos entre ellos mejorar el rendimiento y lograr el escalamiento, analizar el efecto de distintos factores del proceso sobre la estabilidad mecánica y grosor de la membrana, entre otros.
- e) Realizar estudios preclínicos para observar la toxicidad y el comportamiento del polimerosoma *in vivo*.

**Referencias:**

- Afsaneh, L., Samuel, J. and Kwon, G.S. (2002). Poly(ethylene oxide)-block-poly(L-amino acid) Micelles for Drug Delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 54:169-190.
  
- Ahmed, F., Pakunlu, R.I., Srinivas, G., Brannan, A., Bates, F., Klein, M.L., Minko, T. and Discher, D. (2005). Shrinkage of a Rapidly Growing Tumor by Drug-Loaded Polymersomes: pH-Triggered Release Through Copolymer Degradation. *Molecular Pharmaceutics*. 3:340-350.
  
- Ansel, H.C. y Popovich N.G. (1995). *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*. 5<sup>th</sup> ed, Lea and Febiger, UK. pp. 92-93.
  
- Anseth, K.S., Scott, R.A. y Peppas, N.A. (1996). Effects of Ionization on the Reaction Behavior and Kinetics of Acrylic Acid Polymerizations. *Macromolecules*. 29: 8308-8312.
  
- Aranda-Espinoza. H., Bermudez, H., Bates, F. and Discher, D. (2001). Electromechanical Limits in Polymersomes. *Physical Review Letters*. 87: 1-4.
  
- Avendaño, C., 2001. *Introducción a la química farmacéutica*. 2<sup>a</sup> ed. Mc Graw Hill Interamericana. España. pp. 548-551.
  
- Barry, P.L. (2003). *Células Artificiales. Científicos financiados por NASA investigan métodos para diseñar células que puedan suministrar sangre deshidratada y medicinas de la era espacial*. [http://ciencia.nasa.gov/headlines/y\\_2003/29may\\_polimerosomes.htm](http://ciencia.nasa.gov/headlines/y_2003/29may_polimerosomes.htm) (22 Noviembre 2005)

- Bermudez, H., Brannan, A.K., Hammer, D., Bates, F.S. y Discher D. (2002). Molecular Weight Dependence of Polymersome Membrane Structure, Elasticity and Stability. *Macromolecules*, 35: 8203-8208.
- Bernard, B. Ma. J, Ganem, R.A., Melgoza. C.L. Ma. y Quintanar, G.D. (2003). *Sistemas de Liberación Controlada de Activos Farmacéuticos*. Tópicos Selectos de Tecnología Farmacéutica. 1ª ed, AFM, México. pp. 29-34.
- Bouhadir, G.; Charmot, D.; Corpart, P. and Zard S. (1998). "U.S. Patent 6,545,098".
- Bristol-Myers Squibb Company. (2005). *Cytoxan Hoja de Seguridad*. USA.
- Brock, N. (1996). The History of the Oxazaphosphorine Cytostatics. *Accomplishments in Cancer Research*. 23-33.
- Bryant, W.M.D (1962). Characterization of Polymers. *Journal of Polymer Science*. 56: 277.
- Business Communication Company. (2005). *Polymersomes Image Tumors, Could Deliver Chemotherapy*. Membrane & Separation Technology News. 23: 6 [http://www.amazon.com/exec/obidos/ASIN/B0009H3J0W/unsolvedmyste20?dev-t=1N1KDRV8PR8YK16817R2%26camp=2025%26link\\_code=xm2](http://www.amazon.com/exec/obidos/ASIN/B0009H3J0W/unsolvedmyste20?dev-t=1N1KDRV8PR8YK16817R2%26camp=2025%26link_code=xm2) (04 Diciembre 2007)
- Chabner, B and Robert, T. (2005). Chemotherapy and the war on cancer. *Nature Review|Cancer*, 5:65-72.
- Christian, D., Harada, T., Rajagopal, K., Mahmud, A. and Discher, D. (2006). *Polymersomes for Delivery of Drugs, RNAi, & Protein and as Model Self-*

*Assemblies*. <http://www.seas.upenn.edu/~discher/images/polymersome-poster.jpg>  
(08 Noviembre 2006).

- Denny, W.A. (2003). *Synthetic DNA-Targeted Chemotherapeutic Agents and Related Tumor- Activated Prodrugs*. Medical Chemistry and Drug Discovery. 6a ed, Wiley Interscience USA. pp. 51-57.
- Ding, J. and Liu, G. (1998) Water-Soluble Hollow Nanospheres as Potencial Drug Carriers. *Journal of Physical Chemistry*. 102: 6107-6113.
- Discher, D. y Ahmed, F. (2006) Polymersomes. *The Annual Review of Biomedical Engineering*. 8: 323-341.
- Discher, D., Bermudez, H., Lee, J., Discher, B., Hammer, D. and Bates, F. (2001) Polymersomes: Thermomechanical Properties Through *In vivo* Testing. *Bioengineering Conference*. 543.
- Discher, D. and Eisenberg, A. (2002). Polymer Vesicles. *Science*. 297:967-973
- Discher, B., Won, Y., Ege, D., Lee, J., Bates, F., Discher, D. and Hammer D.A. (1999). Polymersomes: Tough Vesicles Made from Diblock Copolymers. *Science*. 284: 1143-1146.
- Dubernet, C., Fattal, E. and Couvreur, P. 2000. *Nanoparticulate Controlled Release Systems for Cancer Therapy*. Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology. Marcel Dekker. USA. pp. 287-300.
- Encapson Innovative Block Copolymers. <http://www.encapson.com>. (10 Septiembre 2006)

- Essential Science Indicator. (2007). "A Research Front Map Interview with Dr. Andrew S. Utada". *Special Topic*. <http://www.esi-topics.com/mfd/interviews/RF-AndrewSUtada.html> (28 Noviembre 2007)
  
- Estes, D.J. and Mayer, M. (2005). Giant Liposomes in Physiological Buffer Using Electroformation in a Flow Chamber. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1712: 152-160.
  
- Fattal, E. and Vauthier, C. (2002). *Nanoparticles as Drug Delivery Systems*. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology. Marcel Dekker. USA. 2: 1864-1882.
  
- Förster, S. and Borchert, K. (2005). *Polymer Vesicles*. Encyclopedia of Polymer Science and Technology. John Wiley & Sons. USA. pp. 1-52.
  
- Goliath (2005). *Polymersomes Useful for Drug Delivery, Storage*. Membrane & Separation Technology News. 21: 10. [http://goliath.ecnext.com/coms2/gi\\_0199-3618437/Polymersomes-Useful-for-Drug-Delivery.html](http://goliath.ecnext.com/coms2/gi_0199-3618437/Polymersomes-Useful-for-Drug-Delivery.html) (31 octubre 2006)
  
- Hamley, I.W. (2003). Nanostructure Fabrication Using Block Copolymers. *Nanotechnology*. 14:R39-R54.
  
- Hammer, D.A. and Discher, D.E. (2001). Synthetic Cells- Self Assembling Polymer Membranes and Bioadhesive Colloids. *Annual Review Materials Resume*. 31: 387-404.
  
- Hincal, A.A. and Kas, S.H. (2000). *Microencapsulation Technology: Interfacial Polymerization Method*. Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology. Marcel Dekker. USA. pp. 271-285.

- INEGI (Instituto Nacional de Estadística, Geografía e informática), (2005). "4 de febrero día mundial contra el cáncer". *México en corto*. <http://www.inegi.gob.mx> (17 Septiembre 2006)
  
- Joanicot, M. and Ajdari, A. (2005). Droplet Control for Microfluidics. *Science*. 309: 887-888.
  
- Jones, R.L. (2004). Biomimetics Polymers Tough and Smart. *Nature Materials*. 3: 209-210.
  
- Kakizawa, Y and Kataoka, K (2002). Block Copolymer Micelles for Delivery of Gene and Related Compounds". *Advanced Drug Delivery Review*. 54: 203-222
  
- Ketterong, F. (1995). The History of the Oxaphosphorine Cytostatics. *Accomplishments in Cancer Research*. 23-33.
  
- Kinam, P. and Randall J. M. (2000), *Controlled Drug Delivery: Present and Future*. Controlled Drug Delivery Designing Technologies for the Future, American Chemical Society, USA. pp. 2-11.
  
- Langer, R. (1990). New Methods of Drug Delivery. *Science*. 249: 1527-1533.
  
- Lorenceau, E., Utada, A.S., Link, D.R., Cristóbal, G., Joanicot, M. and Weitz D.A. (2005). Generation of Polymerosomes from Double-Emulsions. *Langmuir*. 21: 9183-9186.
  
- Luo, L. and Eisenberg, A. (2001). Thermodynamic Stabilization Mechanism of Block Copolymer Vesicles. *Journal American Chemical Society*. 123:1012-1013.
  
- Mathivet, L., Cribier, S. y Devaux, P.F. (1996). Shape Change and Physical Properties of Giant Phospholipid Vesicles Prepared in the Presence of an AC Electric Field. *Biophysical Journal*. 70:1112-1121.

- Meng, F. (2003). *Artificial Cells Based on Biodegradable Polymersomes*. Twente University Press, Holanda. pp. 1-24.
- Meng, F., Hiemstra, C., Engbers, G. and Feijen, J. (2003). Biodegradable Polymersomes. *Macromolecules*. 36: 3004-3006.
- Menger, F.M. and Angelova, M.I (1998). Giant Vesicles: Imitating the Cytological Processes of Cell Membranes". *Access. Chemical Resume*. 31:189-797.
- Nikova, T.A., Vernita, D.G., Galder, C., Talingting, M.R., Bell, D.C., Joanicot, M., Zasadzinski, J.A. and Weitz, D. (2004). Swollen Vesicles and Multiple Emulsions from Block Copolymers. *Macromolecules* 37:2215-2218.
- Okita, R.T. y Soler, B.S. (1997). *Biotransformations: The cytochromes P450*. Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations. Wiley-Liss. USA. pp. 981-998.
- Oliverio, V.T. and Zubrod, C.G. (1965). Clinical Pharmacology of the Effective Antitumor Drugs. *Annual. Review of Pharmacology*. 5:335-356.
- Palacios, A.J., Flores R. H. y Guillot, J (1982). *Caracterización de Copolímeros*. Sociedad Química de México. México. pp. 15-25.
- Pata, V. and Dan N. (2003). The Effect of Chain Length on Protein Solubilization in Polymer- Based Vesicles (Polymersomes). *Biophysical Journal*. 85: 2111-2118.
- Polymer Handbook (1999), 4a ed. John Wiley, USA. pp. 2-3

- Poulain, N., Nakache, E., Pina, A. and Levesque, G., (1996). Nanoparticles from Vesicle Polymerization: Characterization and Kinetic Study. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*. 34: 729-737.
- Powell, A., (2005). Drops in Drops Hold Practical Promise. *Harvard Science Engineering and Technology*. <http://harvardscience.harvard.edu/node/4561> (15 Diciembre 2008)
- Qiu, L.Y. and Bae, Y.H. (2006). Polymer Architecture and Drug Delivery. *Pharmaceutical Research*. 23(1): 1-23.
- Scott, R., Ward, J.H. and Peppas, N.A. (2002). *Development of Acrylate and Methacrylate Polymer Networks for Controlled Release by Photopolymerization Technology*. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology. Marcel Dekker. USA. 2: 1864-1882.
- Shum, A.H. C and Weitz David (2008). "Microfluidics a Formulation Tool". <http://www.seas.harvard.edu/projects/weitzlab/andersonresearch/> (03 Noviembre 2008)
- Sigma-Aldrich (2006). *Product Information: Cyclophosphamide Monohydrate*. USA.
- Soo, P.L. and Eisenberg, A. (2004). Preparation of Block Copolymer Vesicles in Solution. *Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics*. 42: 923-938.
- Taylor, P., Xu, C., Fletcher, P.D.I., and Puanov, N. (2003). Fabrication of 2D Arrays of Giant Liposomes on Solid Substrates by Microcontact Printing. *Physical Chemistry*. 5:4918-4922.
- The Merck Index on CD Rom (2000) Version 12:1. USA.

- Utada, A. S., Lorenceau, E., Link, D.R., Kaplan, P.D., Stone, H. A. and Weitz, D.A. (2005). Monodisperse Double Emulsions Generated from a Microcapillary Device. *Science*, 308: 537-541.
  
- Vicent, H.K. y Robison, J.R. (1987). *Influence of Drug Properties and Routes of Drug Administration on the Design of Sustained and Controlled Release Systems*. Controlled Drug Delivery. Marcel Dekker. USA. pp. 4-9.
  
- Vriezema, D.M., Hoogboom, J., Velonia, K., Takazawa, K., Christianen, P.C., Maan, J.C., Rowan, A.E. y Nolte, R.J.M., (2003). Vesicles and Polymerized Vesicles from Thiphenes-Containing Rod-Coil Block Copolymers. Spontaneously Formed Vesicles. *Angewandte. Chemie. Ed*, 42 (7):772-776.
  
- Wikipedia (2007). *Cyclophosphamide*. <http://www.wikipedia.com> (25 Junio 2007)
  
- World Health Organization. (2006). "Cancer". <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/print.html> (27 Junio 2007)
  
- Thies, C. 1989. *Polymers: Biomaterials and Medical Applications*. Encyclopedia Reprint Series. John Wiley and Sons. USA. pp. 346-361.
  
- Xu, J.P., Chen, W.D. and Shen, J.C., (2004). Novel Biomimetic Polymersomes as Polymer Therapeutics for Drug Delivery. *Journal of Controlled Release* 107: 502-512.
  
- Zhou, Y. and Yan, D. (2005). Real-Time Membrane Fusion of Giant Polymer Vesicles. *Journal American Chemical Society*. 127:10468-10469.

Anexo I:

Monómeros	Iniciador	Tiempo (min)	Formación de Copolímero
AA-BA		10	X
AA-BA	A	10	X

**Tabla 1. Resultados obtenidos utilizando luz UV 254nm**  
 X. ausencia de copolímero +. Poca formación de copolímero ++. Moderada formación de copolímero +++ Gran cantidad de copolímero formado

Monómeros	Iniciador	Tiempo (min)	Formación de Copolímero
AA-BA		20	X
AA-BA	A	20	X
AA-BA	C	20	++

**Tabla 2. Resultados obtenidos utilizando luz UV 302nm, 20 minutos de exposición**  
 X. ausencia de copolímero +. Poca formación de copolímero ++. Moderada formación de copolímero +++ Gran cantidad de copolímero formado

Monómeros	Iniciador	Tiempo (min)	Formación de Copolímero
AA-BA		30	X
AA-BA	A	30	+
AA-BA	C	30	++

**Tabla 3. Resultados obtenidos utilizando luz UV 302nm, 30 minutos de exposición**  
 X. ausencia de copolímero +. Poca formación de copolímero ++. Moderada formación de copolímero +++ Gran cantidad de copolímero formado

Monómeros	Iniciador	Tiempo (min)	Formación de Copolímero
AA-BA		6	X
AA-BA	A	4	X
AA-BA	C	4	+++

**Tabla 4. Resultados obtenidos utilizando microondas**  
 X. ausencia de copolímero +. Poca formación de copolímero ++. Moderada formación de copolímero +++ . Gran cantidad de copolímero formado

Monómeros	Iniciador	Tiempo	Formación de Copolímero
AA-BA	B	24hrs-24hrs (110°C)	X
AA-BA	B	17hrs (70°C)	X

**Tabla 5. Resultados obtenidos utilizando calentamiento**  
 X. ausencia de copolímero +. Poca formación de copolímero ++. Moderada formación de copolímero +++ . Gran cantidad de copolímero formado

Monómeros	Iniciador	Tiempo (min)	Formación de Copolímero
AA-BA		10	X
AA-BA	C	10	+++

**Tabla 6. Resultados obtenidos utilizando sonicador**  
 X. ausencia de copolímero +. Poca formación de copolímero ++. Moderada formación de copolímero +++ . Gran cantidad de copolímero formado

Anexo II:



**Desarrollo de Polimerosomas como Sistemas de Liberación Controlada de un Agente Antitumoral**

**Objetivo:** determinar un método que nos permita la liberación de polimerosomas de ciclofosfamida.

**Materiales:** ácido acrílico (AA), acrilato de butilo (BA), peróxido de benzilo (BPO), copolímero de polibutil acrilato-acido poliacrílico (PBA-PAA), metano, tetrahidrofurano, glicerol, agua destilada y ciclofosfamida, rotación, sonicador, bombas peristálticas, cartillas de micrografía, generador de corriente eléctrica, digestión de micrografías, estándares de espesores, microscopio electrónico AFM-IR, brochas de juncos, cámara óptica, base inversa, microscopio de fluorescencia, cámara de alta velocidad, placas de vidrio con ITO, portabujes, vasos de precipitados, cartillas de vidrio, jeringas de vidrio y fileres de celulosa.

**Método:** las técnicas que se utilizaron para la obtención de polimerosomas fueron: uso de emulsiones aqueosas, fidelección de la película, electroformación y microfluidos mediante la formación de una doble emulsión. El copolímero utilizado en las técnicas anteriores de la reacción entre BA-AA utilizando peróxido de benzilo como iniciador y un sonicador para acelerar la reacción. El encapsulamiento del fármaco se realizó en la técnica de microfluidos y a los fileres apicales se les dio una punta de streaks microfluidos y con un mecanismo de liberación de tipo químico (pH) se hizo se liberó la fos de la membrana.

**Resultados:** los polimerosomas que se obtuvieron con la técnica de uso de emulsiones presentaban una sola membrana y eran inestables ya que en poca tiempo se formaban por el método de microfluidos se obtenían los polimerosomas los cuales tenían doble membrana, eran estables y con un tamaño de 100 nm. El encapsulamiento del fármaco se realizó en una emulsión para tener a un número que sea posible que la emulsión encapsulada se liberara mediante el pH de la membrana la cual se liberó mediante el cambio de pH.

**Conclusiones:** de las técnicas que se utilizaron, la de emulsiones y microfluidos polimerosomas estables a partir del copolímero PBA-PAA y se puede encapsular el fármaco, el polimerosomas es capaz de liberar la ciclofosfamida por medio de la fos de la membrana.

**CARTEL 55**

**Desarrollo de polimerosomas como sistemas de liberación controlada de un agente antitumoral**

*Ana Rita Gabriela, Miguel Ángel, Norma Angélica, María Bárbara, César, Juan y César Castellanos Estrada*

Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, Departamento de Ciencias Biológicas  
Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Ingeniería Química

**Introducción:** el cáncer es uno de los problemas que aquejan a la población, en la búsqueda de opciones para su tratamiento se han sintetizado nuevos fármacos, sin embargo, no son liberados las alternativas farmacológicas para el control de la liberación de estos por tal motivo se han desarrollado sistemas de liberación controlada que permiten la liberación con la posibilidad de eliminar efectos secundarios, mejorar la vida y a su vez proteger a los fármacos. Dentro de estos sistemas se encuentran las emulsiones, que pueden ser a base de diversos materiales como: diversos o bloques de copolímeros anfipáticos, las vesículas liberadas por fileres de copolímeros anfipáticos son conocidas como polimerosomas.

**Objetivo:** determinar un método que nos permita la liberación de polimerosomas de ciclofosfamida.

**Materiales:** ácido acrílico (AA), acrilato de butilo (BA), peróxido de benzilo (BPO), copolímero de polibutil acrilato-acido poliacrílico (PBA-PAA), metano, tetrahidrofurano, glicerol, agua destilada y ciclofosfamida, rotación, sonicador, bombas peristálticas, cartillas de micrografía, generador de corriente eléctrica, digestión de micrografías, estándares de espesores, microscopio electrónico AFM-IR, brochas de juncos, cámara óptica, base inversa, microscopio de fluorescencia, cámara de alta velocidad, placas de vidrio con ITO, portabujes, vasos de precipitados, cartillas de vidrio, jeringas de vidrio y fileres de celulosa.

**Método:** las técnicas que se utilizaron para la obtención de polimerosomas fueron: uso de emulsiones aqueosas, fidelección de la película, electroformación y microfluidos mediante la formación de una doble emulsión. El copolímero utilizado en las técnicas anteriores de la reacción entre BA-AA utilizando peróxido de benzilo como iniciador y un sonicador para acelerar la reacción. El encapsulamiento del fármaco se realizó en la técnica de microfluidos y a los fileres apicales se les dio una punta de streaks microfluidos y con un mecanismo de liberación de tipo químico (pH) se hizo se liberó la fos de la membrana.

**Resultados:** los polimerosomas que se obtuvieron con la técnica de uso de emulsiones presentaban una sola membrana y eran inestables ya que en poca tiempo se formaban por el método de microfluidos se obtenían los polimerosomas los cuales tenían doble membrana, eran estables y con un tamaño de 100 nm. El encapsulamiento del fármaco se realizó en una emulsión para tener a un número que sea posible que la emulsión encapsulada se liberara mediante el pH de la membrana la cual se liberó mediante el cambio de pH.

**Conclusiones:** de las técnicas que se utilizaron, la de emulsiones y microfluidos polimerosomas estables a partir del copolímero PBA-PAA y se puede encapsular el fármaco, el polimerosomas es capaz de liberar la ciclofosfamida por medio de la fos de la membrana.

**CARTEL 56**

**Estudio de diálisis de indometacina contenida en tres tipos de hidrogel metacrílico modificado**

*Cárdenas Rodríguez Hilda, Rojas Domínguez, María Dolores, López*

Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco

**Introducción:** los hidrogeles son sistemas poliméricos que pueden expandirse o contraerse, en presencia de determinados estímulos. Estos estructuras químicas han demostrado ser una plataforma adecuada para el diseño de matrices de liberación regulada de fármacos. La ventaja, debido a que la capacidad de hinchamiento, expansión, permite atravesar sus canales a los fármacos y posteriormente liberarlos en el medio de circulación protegiendo de esta a la célula. Los polímeros de base metacrílico, son los más estudiados por presentar las propiedades de biocompatibilidad y de biodegradación en sus propiedades físicas, químicas, se generan o seleccionan mediante el control de emulsiones, ósmosis, de rasteo o etilación.