



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

---

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN  
INGENIERÍA

FACULTAD DE QUÍMICA

“SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE POLÍMEROS  
DE ÁCIDO LÁCTICO-CO-GLICÓLICO COMO  
SOPORTE PARA SISTEMAS FARMACÉUTICOS DE  
LARGA DURACIÓN”

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN INGENIERÍA

INGENIERÍA QUÍMICA – INGENIERÍA DE PROCESOS

P R E S E N T A :

I.Q. GRACIELA TAPIA MORALES

TUTOR

DR. RAFAEL HERRERA NÁJERA

2007





Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**JURADO ASIGNADO:**

Presidente: DRA. PATRICIA GUADARRAMA ACOSTA  
Secretario: M. EN C. MARCO ANTONIO URESTI MALDONADO  
Vocal: DR. JOSÉ MANUEL ROJAS GARCÍA  
1<sup>er</sup> Suplente: DRA. MARÍA JOSEFA BERNAD BERNAD  
2<sup>do</sup> Suplente: DR. RAFAEL HERRERA NÁJERA

Lugar donde se realizó la tesis:

LABORATORIO 213, CONJUNTO E, FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM

**TUTOR DE TESIS:**

DR. RAFAEL HERRERA NÁJERA

---

**FIRMA**

# **AGRADECIMIENTOS**

Al proyecto SAGARPA-CONACyT 568.

Al proyecto PAPIIT IN-103707.

A los miembros del H. Jurado por el tiempo invertido en la realización de este trabajo.

Al Dr. Rafael Herrera Nájera, por la dirección en la realización de este trabajo, por su enorme apoyo, por su compromiso, por ser un excelente profesor y una gran persona.

A la USAI, y en especial a la Q. Marisela Gutiérrez, por su ayuda en la realización de las pruebas de Espectroscopia de infrarrojo.

A todos mis compañeros del UNIPOL, Rodolfo Ruiz, Luis Alberto Apérez, Eidi Rodríguez, Esteban López, Isaac Rubens, Sergio, por hacer del laboratorio un lugar muy agradable, gracias por su compañía chicos, y en especial a Paola Beatriz, por su ayuda y apoyo en la caracterización por  $^1\text{H}$  RMN, a Alonso por su apoyo en las pruebas de GPC, a Mariano Rodríguez Bores, por su apoyo y por darle continuidad al proyecto, a Hugo Xicohtencatl por su ayuda, por ser una gran persona y un excelente amigo.

A mis profesores por su labor de enseñanza y compromiso.

A lita Sara, a lito Erasto, a George (Jorge Erasto Sánchez), a tía moma (Norma), por el cariño, el amor brindado a mis hijos y por permitirme ser parte de su familia.

A mis padres Carmen y Juan, porque el amor de los padres no tiene límites, gracias, por su apoyo y por su amor incondicional.

A mis hermanos, porque en cada momento sé que están allí, en especial a Elvia y Martha por las travesuras, los regaños, y por tantas cosas compartidas y a mi hermano Miguel porque cuando todo parece estar mal, siempre encuentra el lado positivo, gracias Mike.

A mis hijos Sergio y Jorge Emilio por llenar mi vida con su presencia, por ser unas maravillosas personitas y por enseñarme lo hermoso de ser mamá.

A mi esposo Sergio, por su amor, amistad, comprensión, por formar parte de mi vida y, por que sin su apoyo y compromiso no hubiera sido posible la realización de este trabajo.

# **DEDICATORIA**

A quienes forman una parte especial e importante en mi vida.

Mis padres Carmen y Juan

Mis hijos Sergio y Jorge Emilio

Mis hermanos

Mi Esposo Sergio

## ABREVIATURAS

PLA	poli(ácido láctico) (siglas en inglés).
PGA	poli(ácido glicólico) (siglas en inglés)
PLGA	polilactida-co-glicolida (siglas en inglés)
DSC	Calorimetría diferencial de barrido (siglas en inglés).
FTIR	Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (siglas en inglés)
GPC	Cromatografía de permeación en gel (siglas en inglés)
RMN <sup>1</sup> H	Resonancia magnética nuclear de Hidrógeno.
L-LA	L,L-lactida
D-LA	D,D-lactida
ROP	Polimerización por apertura de anillo (siglas en inglés)
SN <sub>2</sub>	Sustitución nucleofílica bimolecular.
SnOct <sub>2</sub>	Octoato de estaño.

---

RESUMEN-----	1
I. INTRODUCCIÓN-----	4
II.OBJETIVOS-----	8
III.ANTECEDENTES-----	10
III.1.- Generalidades -----	11
III.2.- Uso de PLGA en la liberación controlada de Fármacos -----	11
III.3.- Homopolímeros y copolímeros de ácido láctico/glicólico.-----	14
III.3.1.-Polilactida -----	14
III.3.2.-Poliglicolida-----	16
III.3.3.-PLGA -----	16
III.4.-Influencia del peso molecular en las propiedades del PLGA-----	18
III.5.-Influencia de las propiedades físicas sobre la resistencia mecánica en el PLGA.-----	19
III.6.-Métodos de polimerización-----	20
III.6.1.-Polimerización por apertura de anillo de esteres cíclicos.-----	20
III.6.2.-Polimerización por apertura de anillo catiónica.-----	22
III.6.3.-Polimerización por apertura de anillo aniónica-----	23
III.6.4.-Polimerización por apertura de anillo por coordinación-inserción.-----	23
III.6.4.1.-Iniciadores.-----	24
III.6.4.2.-Reacciones de transesterificación.-----	25
III.6.4.3.- Octoato de estaño.-----	27
III.7.- Síntesis de PLGAs con composición y peso molecular controlados.-----	28

---

---

III.8.- Caracterización -----	31
III.8.1.- Determinación del peso molecular.-----	31
III.8.2.- Espectroscopia de Infrarrojo -----	33
III.8.3.- Resonancia Magnética Nuclear -----	36
III.8.4.- Calorimetría Diferencial de Barrido -----	41
IV. DESARROLLO EXPERIMENTAL-----	45
IV.1.- Material y Equipos utilizados -----	46
IV.2.-Reactivos Utilizados-----	47
IV.3.-. Cantidades-----	47
IV.4.-Descripción del equipo y la síntesis de PLGA-----	49
IV.5.-Caracterización-----	50
IV.5.1.-Cromatografía de permeación en gel-----	50
IV.5.2.-Espectroscopia de Infrarrojo -----	51
IV.5.3.-Determinación de la composición -----	51
IV.5.4.-Calorimetría Diferencial de barrido-----	53
IV.6.-Experimentos realizados-----	53
V. RESULTADOS, DISCUSION-----	56
V.1.- Efecto de la concentración del catalizador sobre el PLA -----	57
V.2.-Determinación de la composición.-----	59
V.3.- Efecto del tiempo de reacción en la síntesis del PLGA -----	60
V.4.- Efecto del alcohol sobre el peso molecular y sobre la Tg -----	61

---

V.5.-Efecto del peso molecular sobre la Tg-----	63
V.6.-Efecto de la composición del PLGA sobre la Tg-----	64
VI.- CONCLUSIONES-----	66
VII.- BIBLIOGRAFÍA-----	69
APÉNDICES -----	75

# **RESUMEN**

---

## RESUMEN

Los polímeros biodegradables, como el poli(ácido láctico) y/o poli(ácido glicólico), han sido utilizados desde hace más de dos décadas como soportes en sistemas farmacéuticos debido a sus propiedades de biocompatibilidad, biodegradabilidad y resistencia mecánica. El uso de estos polímeros en aplicaciones farmacéuticas los ha convertido en un punto clave para el desarrollo de vías de suministro farmacéutico alternativo a las que comúnmente se utilizan. La capacidad de estos polímeros para ser formulados como vehículos depende de sus propiedades; de esta forma es muy importante el control en la síntesis. La síntesis de estos polímeros puede realizarse mediante dos rutas diferentes: policondensación y polimerización por apertura de anillo, siendo ésta última la más utilizada debido a que solo mediante esta ruta de síntesis se obtienen polímeros de alto peso molecular.

En general la síntesis de esta clase de polímeros se realiza mediante la polimerización por apertura de anillo vía coordinación inserción, utilizando como controlador de peso molecular el alcohol láurico, el octoato de estaño como catalizador, la lactida y la glicólida como monómeros y alto vacío (del orden  $10^{-3}$  mmHg), lo cual dificulta el control de la síntesis debido a las fluctuaciones y al control en el tiempo de evacuación, por lo que en este trabajo se realizó la síntesis de homopolímeros y copolímeros de los ácidos láctico y glicólico utilizando nitrógeno seco en lugar del alto vacío, lo que permitió el uso de condiciones menos drásticas en la síntesis.

De este modo se logró la obtención de PLA con pesos moleculares que van desde 20,000 hasta un máximo de 40,000 (g/mol).

PLGA con diferente contenido de ácido glicólico en un intervalo de 18% hasta 100% (% mol).

---

PLGA con 40%mol de ácido glicólico y con pesos moleculares que van desde 9,000 hasta 46,000 (g/mol).

El análisis térmico mostró que a excepción del PGA y PLGA con 78% mol de glicólico, los polímeros sintetizados son amorfos.

Se analizaron los efectos que tienen los distintos parámetros sobre el control de la síntesis de polímeros y copolímeros de ácido láctico y/o glicólico, mediante la polimerización de lactidas por apertura de anillo vía coordinación –inserción, tales como:

La composición (% mol de lactida y glicólida)

La concentración de catalizador (octoato de estaño)

La cantidad de alcohol adicionado ( alcohol lauríco o n-dodecanol)

El tiempo de reacción.

Las técnicas de análisis utilizadas para la caracterización de los polímeros fueron:

Espectroscopia de Infrarrojo (FTIR)

Cromatografía de Permeación en Gel (GPC)

Resonancia Magnética Nuclear (RMN  $^1\text{H}$ )

Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

La determinación de la composición de los polímeros por RMN  $^1\text{H}$  mostró que la relación Láctico/Glicólico al final es muy cercana a la de alimentación.

Se observó que el tiempo de reacción, la composición y la concentración del catalizador son factores que afectan el peso molecular.

Se demostró que el control del peso molecular puede lograrse por la adición de alcohol (n-dodecanol), debido a que existe una relación lineal log-log entre la cantidad de alcohol lauríco adicionada y el peso molecular obtenido.

# **INTRODUCCIÓN**

## INTRODUCCIÓN

Los polímeros de ácido láctico y de ácido glicólico han sido utilizados principalmente como materiales con aplicaciones biomédicas por más de treinta años<sup>1</sup>. Los primeros estudios sobre poliésteres alifáticos y copoliésteres en 1960s tuvieron como objetivo el desarrollo de materiales para implantes quirúrgicos y para la reparación de tejidos<sup>2-4</sup>. La amplia aceptación de las suturas realizadas con los polímeros de los ácidos láctico y glicólico, también conocidos como polilactida y poliglicolida respectivamente, les ha permitido ser considerados en una gran variedad de aplicaciones médicas como son: prótesis, implantes dentales, tornillos para huesos, clavos y placas para fijación temporal de fracturas internas y como vehículos en la liberación controlada de fármacos<sup>64-66</sup>.

En las últimas dos décadas, se ha estimulado el desarrollo de sistemas para la liberación controlada de hormonas así como de formas dosificadas de potentes fármacos que tienen como soporte polímeros de ácido láctico-co-glicólico (PLGA). La aceptada estabilidad en los procesos de fabricación de los sistemas polímero-fármaco, permiten la liberación controlada de estos péptidos los cuales han sido formulados como microesferas inyectables e implantes usando PLGA<sup>5,6</sup>. Ejemplos exitosos son Lupron® Depot and Zoladex®, los cuales utilizan ácido poliláctico-co-glicólico como plataforma.

La destacada biocompatibilidad, la no toxicidad y la naturaleza absorbible de los productos finales de la degradación que presentan los copolímeros de PLGA tales como; el ácido láctico y el ácido glicólico, justifican su uso en las áreas relacionadas con la salud humana<sup>1</sup>, más significativamente, los polímeros basados en ácido láctico y/o glicólico exhiben un

rango amplio de diversas propiedades fisicoquímicas por la variación de su composición (relación de láctico/glicólico en el polímero), como son: el peso molecular, la cristalinidad, y otros parámetros<sup>1</sup>.

Por ejemplo, el PLGA cristalino con elevado peso molecular es utilizado en la fabricación de tornillos y clavos útiles en la fijación temporal de huesos, así como en la fabricación de suturas quirúrgicas, en donde se requiere una alta resistencia mecánica<sup>7,8</sup>.

Por otro lado, el PLGA totalmente amorfo con bajo peso molecular es muy usado en aplicaciones para la liberación controlada de fármacos<sup>9,10</sup>.

Varias formas poliméricas como microesferas, microcapsulas, nanopartículas, tabletas implantes y películas han sido fabricadas usando PLGA para la liberación de distintas clases de fármacos.

El uso de estos sistemas reduce las altas concentraciones iniciales de fármacos que generalmente se suministran vía el uso de inyecciones comunes, lo cual logra mantener la concentración local o sistémica a nivel terapéutico, por periodos prolongados de tiempo. Este perfil de liberación constante sobre un cierto periodo de tiempo está determinado por la composición y el peso molecular de los copolímeros de ácido láctico y glicólico<sup>11,12</sup>.

De tal forma que las características de los polímeros de láctico/glicólico, se convierten en un punto clave en la investigación y formulación de sistemas de liberación controlada de fármacos.

En este sentido el presente trabajo se trata de una investigación acerca de las condiciones adecuadas de reacción para la síntesis de homo y copolímeros de ácido láctico y glicólico, con composición y peso molecular controlados.

## **OBJETIVOS**

## **OBJETIVOS**

### **Objetivos generales:**

Sintetizar y caracterizar una serie de homopolímeros y copolímeros de ácido láctico y glicólico que por propiedades físicas y químicas puedan ser utilizados como vehículos en sistemas farmacéuticos de larga duración.

### **Objetivos particulares:**

Determinar el efecto de los parámetros involucrados en la síntesis de PLA y PLGA sobre el control de la polimerización por apertura de anillo de lactidas vía coordinación – inserción, tales como:

- Composición
- Tiempo de reacción
- Concentración de catalizador
- Relación catalizador/controlador de peso molecular

# **ANTECEDENTES**

## ANTECEDENTES

### III.1.- Generalidades

Entre las diferentes clases de polímeros biodegradables, los poliésteres alifáticos termoplásticos como el poli(ácido láctico) (PLA), el poli(ácido glicólico) (PGA), y especialmente su copolímero el poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA) han generado un gran interés, debido a sus propiedades como biocompatibilidad, biodegradabilidad y resistencia mecánica.

Un polímero biodegradable o bioabsorbible es aquel que se degrada o divide químicamente en moléculas que son susceptibles de ser excretadas por las vías habituales como son; respiratoria, urinaria, fecal, etc<sup>1</sup>.

La biocompatibilidad de un polímero dado con el tejido, puede ser descrita en términos de las respuestas inflamatorias agudas y crónicas; además de las respuestas inflamatorias, la biocompatibilidad del polímero puede ser medida en términos de reacciones de sensibilidad e infecciones.

### III.2.-Uso de PLGAs en la liberación controlada de Fármacos.

Una de las aplicaciones más importantes de los polímeros de ácido láctico/glicólico y sus copolímeros es en la liberación controlada de fármacos. Estos polímeros son fácilmente formulados como vehículos de distintas clases de fármacos; vacunas, péptidos, proteínas y biomoléculas, además de contar con la aprobación de la FDA para su uso en seres vivos. La

liberación controlada no solamente tiene aplicaciones en medicina sino también en veterinaria y en agroquímica.

El uso de polímeros biodegradables como vehículos para la liberación controlada de fármacos empezó a explorarse a principios de los 70s<sup>13-14</sup>. Desde entonces, un gran número de investigaciones se han orientado al estudio de poliésteres en aplicaciones farmacéuticas.

Holland and Tighe<sup>15</sup> han reportado los perfiles de concentración típicos de un fármaco en el plasma sanguíneo con respecto al tiempo, los cuales permiten comparar los métodos tradicionales de administración<sup>15</sup> (oral, intravenosa) y la liberación controlada (Figura 1).

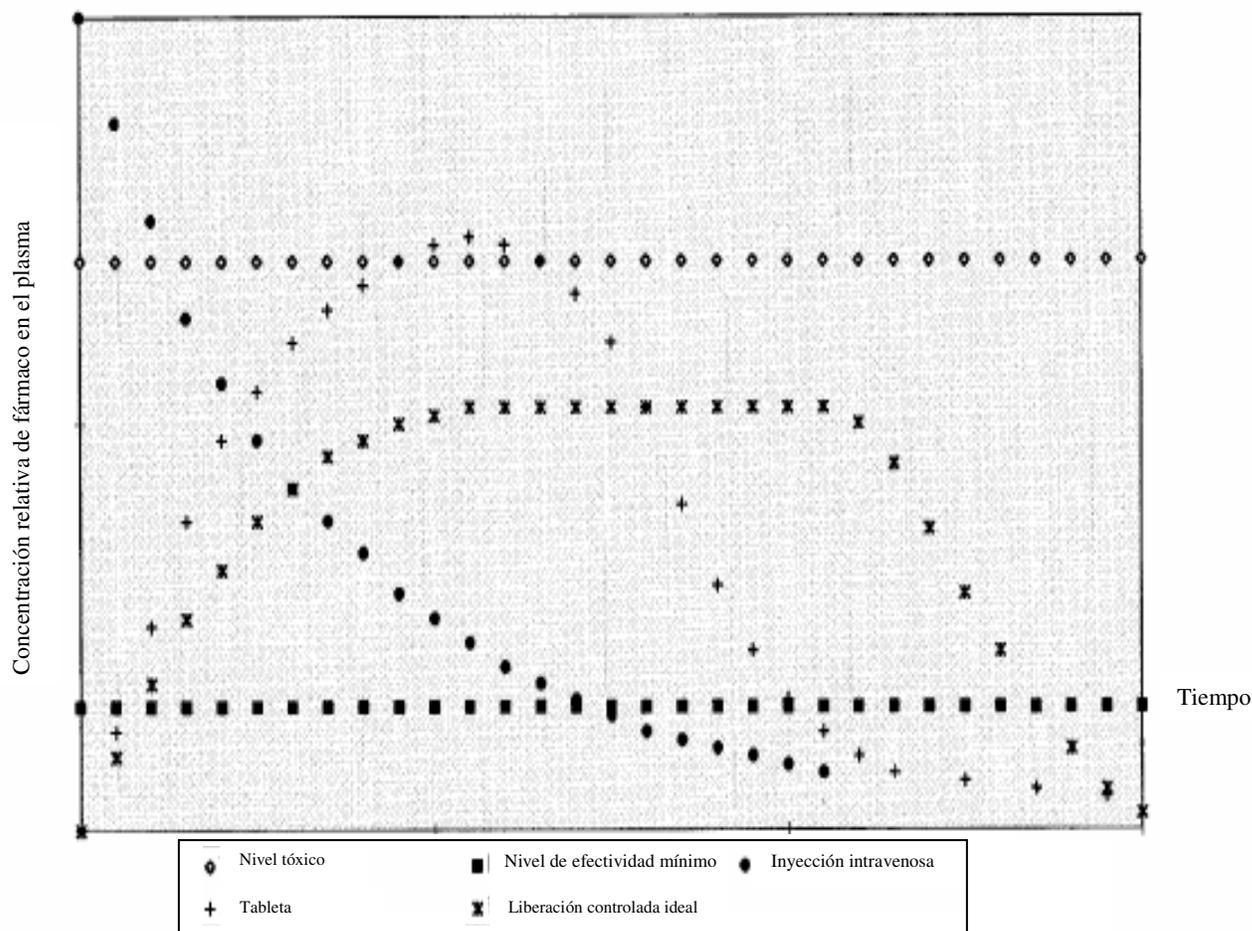


Figura 1. Perfiles de concentración del fármaco en plasma a través de distintas vías de administración

El sistema polimérico de liberación del fármaco involucra la incorporación al inicio del principio activo dentro de la matriz del polímero, su implantación en el paciente, la liberación del fármaco asociado a un mecanismo de difusión seguido de la hidrólisis en bloque del polímero.

Los sistemas poliméricos para la liberación de fármacos hechos a base de polímeros de ácido láctico/glicólico pueden mantener la liberación de fármacos desde unos días hasta

varios meses en un medio biológico. Ellos se degradan lentamente en pequeñas moléculas no tóxicas, como el ácido láctico y el glicólico, los cuales son metabolizados por glicólisis aerobia en  $\text{CO}_2$  y en  $\text{H}_2\text{O}$ , compuestos que son eliminados en su mayor parte por la respiración; por lo que no es necesaria la recuperación de estas matrices poliméricas.

### III. 3.-Homopolímeros y copolímeros de ácido láctico/glicólico.

Las propiedades físicas, químicas y biológicas del polímero, así como el tipo de fármaco deben conocerse antes de la formulación de cualquier dispositivo polimérico ya que influyen directamente otros factores, tales como la selección del proceso de microencapsulación del fármaco y el tiempo de liberación del mismo.

#### III.3.1.-Polilactida

Debido a la presencia de dos centros quirales, existen tres formas isoméricas del monómero de la lactida (figura 2)

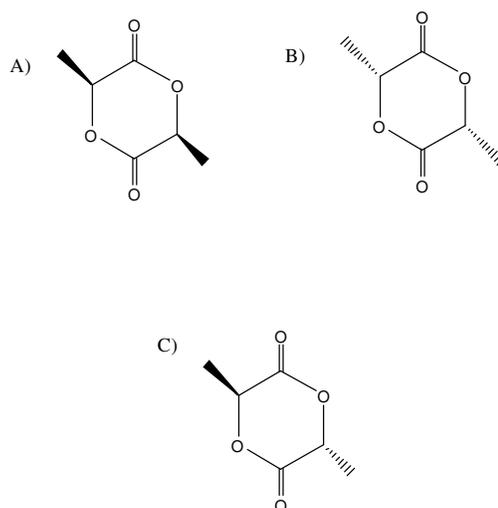


Figura 2. A) L-LA, B) D-LA y C) *meso*-LA

Las unidades de repetición con distinta configuración han sido utilizadas para producir estereocopolímeros donde las propiedades físicas y mecánicas, además de la velocidad de reacción, se ajustan fácilmente, esto se debe a que muchas de las propiedades de los polímeros resultantes dependen de la naturaleza de la cadena del polímero que se forma y en este sentido, el polímero resultante dependerá del tipo y la relación de estereoisómeros utilizados.

Por ejemplo, la polimerización de los diferentes estereoisómeros en el caso de la polilactida da como resultado la obtención de materiales con distintas propiedades. Los polímeros derivados de los monómeros L-LA o D-LA son materiales semi-cristalinos, relativamente rígidos, consecuencia de la alta regularidad de la cadena polimérica que se obtiene con el uso de estos estereoisómeros. La L,L-lactida y el D,D-lactida son normalmente denominados L-lactida y D-lactida , respectivamente.

Por otro lado, la polimerización de la mezcla racémica (D,L)-lactida o la meso-lactida resulta en la formación de un material amorfo<sup>16</sup>, resultado de las irregularidades en las cadenas que se forman.

Las aplicaciones de los polímeros de ácido láctico (polilactidas) dependen del estereoisómero usado en su preparación. La L-polilactida es utilizada en suturas, en la producción de materiales ortopédicos, como clavos, tornillos, etc, donde es necesaria una alta resistencia mecánica, mientras que la D,L-polilactida es utilizada en el mayor de los

casos como matriz de en sistemas poliméricos de liberación de fármacos ya que por ser un material amorfo mejora la dispersión del fármaco dentro de la matriz polimérica.

### III.3.2.-Poliglicolida

Fue el primero de los polímeros sintéticos usado como sutura quirúrgica<sup>17</sup>. La figura 3 muestra el monómero de glicólico y la estructura de su polímero, este poliéster alifático es biodegradable y exhibe una toxicidad insignificante cuando es implantado en tejido. Es también posible fabricar fibras de este poliéster con propiedades mecánicas satisfactorias.

El poliéster del ácido glicólico tiene un punto de fusión de alrededor de 219°C, y es difícil de disolver en la mayoría de los solventes orgánicos. A fin de producir materiales adecuados para aplicaciones médicas específicas, el ácido glicólico ha sido polimerizado con otros monómeros<sup>18</sup>.

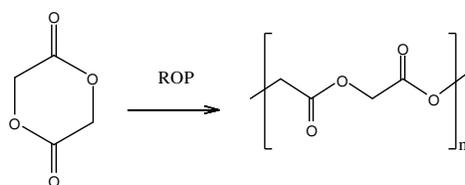


Figura 3. Estructura química de la glicolida y su unidad de repetición en el polímero

### III.3.3.-PLGA

La copolimerización es una herramienta importante para modificar las propiedades de los polímeros resultantes y ajustarlas a las necesidades de una aplicación dada.

La relación de láctico/glicólico en los copolímeros influencia un gran número de propiedades en un amplio rango, como son la cristalinidad, la resistencia mecánica, el peso

molecular y el índice de polidispersidad, el cambio estructural y la caracterización de los copolímeros involucra tres parámetros:

- a) estructura del copolímero
- b) la relación molar entre ambos monómeros
- c) La secuencia de los bloques en el copolímero

La presencia del ácido glicólico en el copolímero de PLGA presenta un doble efecto; por un lado mejora la resistencia mecánica del polímero y por el otro, aumenta la velocidad de la degradación hidrolítica.

Las propiedades físicas así como el peso molecular y el índice de polidispersidad afectan la resistencia mecánica del polímero y su capacidad para ser formulados como dispositivos para liberación de fármacos<sup>19-21</sup>. Además estas propiedades pueden controlar la velocidad de biodegradación del polímero e hidrólisis<sup>19,21</sup>.

La cristalinidad resultante del copolímero PLGA depende del tipo y de la relación de monómeros (lactida y glicolida) en la cadena del copolímero. Los PLGA sintetizados a partir del L-lactida y glicolida son copolímeros cristalinos mientras que los sintetizados a partir del D,L-lactida y glicolida son amorfos. Gilding and Reed han señalado que los PLGA cuyo contenido es menor al 70% del ácido glicólico son amorfos<sup>22</sup>. El grado de cristalinidad y el punto de fusión están directamente relacionados con el peso molecular de los polímeros.

La resistencia mecánica, el hinchado, la capacidad para sufrir hidrólisis y subsecuentemente la velocidad de biodegradación están directamente influenciadas por la cristalinidad de los PLGA<sup>19</sup>.

#### **III.4.-Influencia del peso molecular en las propiedades del PLGA**

Muchas de las actuales investigaciones sobre sistemas para la liberación de fármacos basadas en PLGA se enfocan a la síntesis de polímeros de altos pesos moleculares mediante la polimerización por apertura de anillo de los diesteres cíclicos del ácido láctico o el ácido glicólico, la lactida y/o glicolida<sup>23-25</sup>.

Si un dispositivo para el suministro del fármaco basado en PLGA de alto peso molecular es administrado por implantación, la matriz del polímero tomará aproximadamente de 6 meses a dos años en degradarse y será eliminada del cuerpo después de que el fármaco es liberado<sup>25,26</sup>.

Sin embargo, aunque los altos pesos moleculares del PLGA han demostrado tener muchas propiedades fisicoquímicas benéficas ( $T_g > 37^\circ\text{C}$ , alta resistencia mecánica, periodos largos de liberación de fármacos, etc.) éstas no son adecuadas bajo ciertas circunstancias, así como en aplicaciones para suministro de fármacos por corto tiempo.

Un ejemplo esta en la liberación de antibióticos y de medicamentos para el alivio del dolor después de una cirugía o un transplante de órgano. En estos casos, la liberación del fármaco puede requerir desde unos pocos días hasta 2 semanas.

La duración de la biodegradación y la bioeliminación del PLGA depende de la composición y el peso molecular del polímero<sup>27,28</sup>.

La biodegradación de los PLGA ocurre a través de 4 pasos consecutivos: hidratación, degradación inicial, degradación aguda, y solubilización<sup>1,29-31</sup>.

Ambas, degradación in vitro e in vivo de los copolímeros del PLGA en medio acuoso (degradación hidrolítica o biodegradación) ocurren a través de la ruptura de los enlaces de los grupos ester en su esqueleto<sup>19-21, 32-33,41</sup>.

La cadena del polímero sufre una degradación en masa y la degradación ocurre a velocidad uniforme por toda la matriz de PLGA<sup>19,41</sup>.

Thies y Bissery han reportado<sup>34</sup> que la biodegradación de los PLGAs ocurre a través de incisiones hidrolíticas de la cadena al azar del polímero hinchado<sup>34</sup>.

Los grupos carboxílicos terminales presentes en las cadenas del polímero se incrementan durante el proceso de biodegradación debido a que las cadenas individuales del polímero son fragmentadas, lo cual cataliza el proceso de biodegradación<sup>19,20</sup>.

### **III.5.-Influencia de las propiedades físicas sobre la resistencia mecánica en el PLGA.**

Temperatura de transición vítrea.

Los PLGA deben poseer una resistencia mecánica considerable, ya que los sistemas poliméricos formulados usando los PLGA son sometidos a un significativo esfuerzo físico<sup>19,20</sup>. Diferentes factores como el peso molecular, la composición del polímero, la cristalinidad, y la regularidad geométrica de las cadenas individuales afectan significativamente la resistencia mecánica del polímero<sup>19,20,32</sup>.

Dependiendo de la Tg (temperatura de transición vítrea) de los copolímeros de PLGA, éstos se encuentran en estado vítreo o elástico. Por ejemplo, si la Tg está por arriba de la temperatura fisiológica ( $>37^{\circ}$ ), los PLGA están en estado vítreo y por lo tanto, tienen una estructura de cadena bastante rígida la cual le da una significativa resistencia mecánica y pueden ser formulados como dispositivos de liberación de medicinas<sup>19,20</sup>.

Jamshidi et al. Han reportado que la Tg de los PLGAs decrece con el decremento del contenido de lactida en la composición del copolímero y con un decremento en su peso molecular<sup>35</sup>.

### **III.6.-Métodos de polimerización**

Las polilactonas y polilactidas pueden ser preparados por dos rutas diferentes, por la policondensación de ácidos hidroxicarboxílicos o por la polimerización por ruptura de anillo (ROP) de esteres cíclicos.

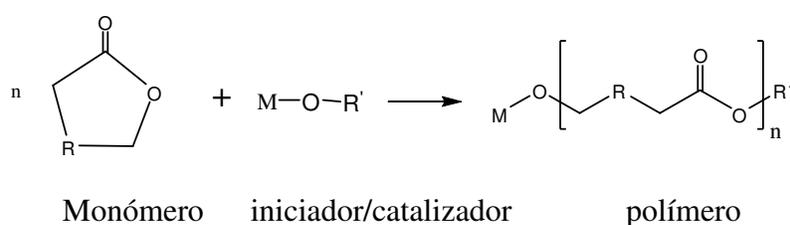
El primer método es relativamente simple y barato, sin embargo posee grandes desventajas debido a que , el peso molecular, la distribución de pesos moleculares y los grupos terminales son difíciles de controlar, más aún, la síntesis de copoliésteres con secuencias controladas no es posible.

#### **III.6.1.-Polimerización por apertura de anillo de esteres cíclicos.**

Las polilactonas y polilactidas de alto peso molecular son producidos mediante ROP de los correspondientes monómeros cíclicos.

En el caso de los PLGA, los monómeros utilizados son los ésteres cíclicos bimoleculares del ácido láctico (3,6-dimetil 1,4 dioxano-2,5-diona) y del ácido glicólico. (1,4-dioxano-2,5-diona.)

El poliéster es formado cuando el éster cíclico reacciona con el catalizador o el iniciador (Esquema 1).



Esquema 1. Representación esquemática de la ROP de un éster cíclico: R=CHR''

Cada macromolécula formada generalmente contiene al final de la cadena un grupo funcional que se origina en reacción de terminación y un término con un grupo funcional proveniente del iniciador. Por el cambio de catalizador o iniciador y la reacción de terminación, la naturaleza de los grupos funcionales puede modificarse de acuerdo a la aplicación de los polímeros. El tipo de iniciador y el grupo final juegan un papel muy importante en la determinación de la estabilidad térmica y estabilidad hidrolítica del poliéster resultante<sup>36-38</sup>. Además, grupos funcionales susceptibles a una reacción post-polymerización pueden ser introducidos dentro de la estructura del polímero mediante esta ruta de síntesis.

La reacción de apertura de anillo se lleva a cabo generalmente en masa, en solución (THF, dioxano, tolueno, etc), en emulsión o en dispersión<sup>39,40</sup>. Un catalizador o un iniciador es necesario para iniciar la polimerización.

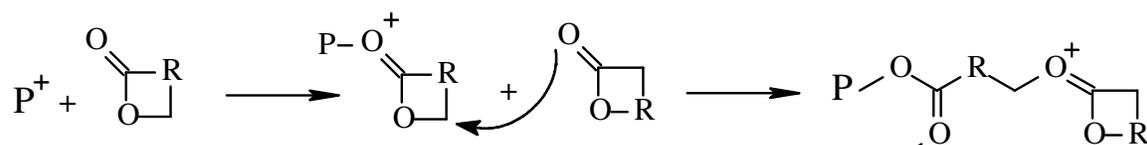
En la reacción de polimerización en masa la temperatura generalmente esta en un rango de 100-200°C, y se utiliza alto vacío del orden de  $10^{-3}$ mmHg, mientras que en solución la temperatura va de 0-25°C, esto es para minimizar las reacciones laterales (inter-intra transesterificación).

El mecanismo de polimerización depende del tipo de iniciador: los tres mejores son el carbocationico, el aniónico y el de inserción-coordinación, sin embargo solamente los dos últimos permiten obtener altos pesos moleculares.

La polimerización por coordinación-inserción ha sido muy usada en la síntesis de poliésteres alifáticos con estructura bien definida y por ser este tipo de polimerización el utilizado en este trabajo enunciaremos algunas de sus características y los otros métodos solo se describirán brevemente.

### III.6.2.-Polimerización por apertura de anillo catiónica.

La polimerización de lactidas y lactonas por apertura de anillo catiónica implica la formación de especies cargadas positivamente, las cuales son subsecuentemente atacadas por el monómero (Esquema 2). El ataque resulta en una apertura de anillo de las especies cargadas positivamente a través de un proceso de tipo  $S_N2$ .

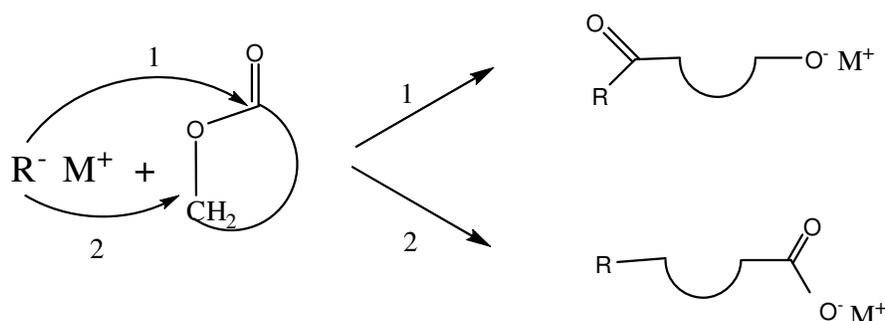


Esquema 2. Mecanismo de reacción en la polimerización por apertura de anillo de un éster cíclico por iniciación catiónica

La polimerización catiónica en la síntesis de polilactidas es de difícil control y frecuentemente sólo se forman polímeros de bajos pesos moleculares<sup>42</sup>.

### III.6.3.-Polimerización por apertura de anillo aniónica.

La polimerización aniónica por apertura de anillo de ésteres cíclicos ocurre mediante el ataque nucleofílico de un iniciador de carga negativa sobre el átomo de carbono del grupo carbonilo o bien sobre el carbono adyacente al oxígeno acilo, lo que da por resultado un poliéster lineal<sup>43,44</sup> (Esquema 3).



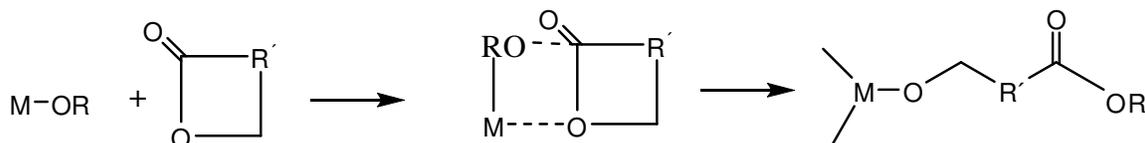
Esquema 3. Polimerización por apertura de anillo de anillo aniónica de lactonas.

Se ha reportado<sup>45</sup> que es posible el control en la síntesis y la obtención de altos pesos moleculares si la reacción se lleva a cabo en disolventes polares.

### III.6.4.-Polimerización por apertura de anillo por coordinación-inserción.

La polimerización por apertura de anillo pseudo aniónica es usualmente llamada polimerización por apertura de anillo por coordinación-inserción, debido a que la propagación procede por la coordinación del monómero a las especies activas, seguido por la inserción del monómero dentro del enlace oxígeno-metal mediante un reacomodo de electrones<sup>46,47</sup>. En el esquema 4 se presenta un esquema del mecanismo de coordinación-inserción. La cadena creciente permanece unida al metal a través del enlace alcóxido

durante la propagación. La reacción es terminada por hidrólisis formando un grupo final hidróxilo. Con el uso de iniciadores alcoxi sustituidos pueden producirse macromonomeros con grupos funcionales activos capaces de reaccionar nuevamente.



Esquema 4. Mecanismo de la polimerización de lactonas por coordinación-inserción.

La polimerización por coordinación-inserción ha sido ampliamente investigada ya que permite altos rendimientos de poliésteres bien definidos a través de un mecanismo viviente<sup>47</sup>. Cuando dos monómeros de reactividad similar son utilizados, pueden formarse copolímeros en bloque por la adición secuencial de los mismos en el sistema “viviente”<sup>48</sup>.

#### III.6.4.1.-Iniciadores

Los iniciadores más ampliamente usados son un gran número de alcóxidos y carboxilatos de aluminio y estaño. Debido a que los orbitales “p” libres del metal en estos compuestos permiten que estos reaccionen como iniciadores de coordinación y no como iniciadores aniónicos en este tipo de polimerización.

Estos iniciadores son capaces de producir polímeros estereoregulares con control de peso molecular y distribuciones de peso molecular estrechas.

Los carboxilatos son nucleófilos más débiles que los alcóxidos y se considera que tienen un comportamiento más bien de catalizador que de iniciador, Por lo que frecuentemente son usados junto con un alcohol como co-iniciador.

La polimerización con estos iniciadores organometálicos a altas temperaturas y/o largos periodos de reacción, favorecen las reacciones de inter-intra molecular transesterificación, ambas reacciones incrementan la polidispersidad del poliéster.

#### **III.6.4.2.-Reacciones de transesterificación.**

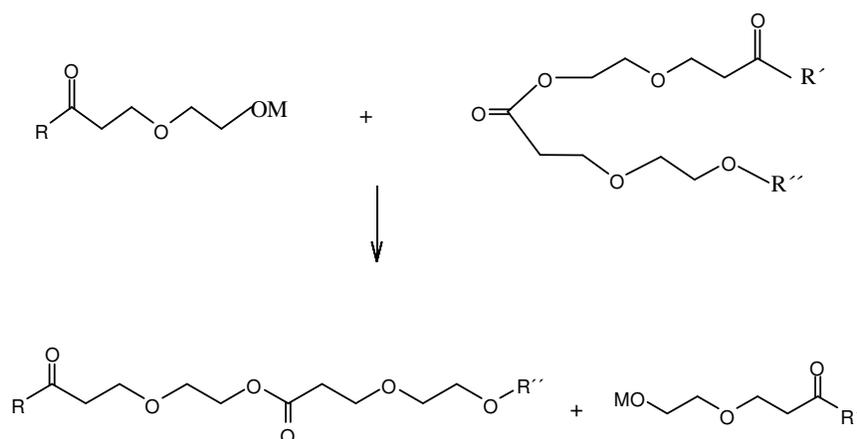
Los parámetros de reacción que influyen las reacciones de transesterificación son la temperatura, tiempo de reacción, el tipo y concentración de catalizador o iniciador, así como la naturaleza de la lactona o lactida<sup>49</sup>.

Las reacciones de transesterificación intermolecular modifican las secuencias en los copolímeros y evitan la formación de copolímeros en bloque.

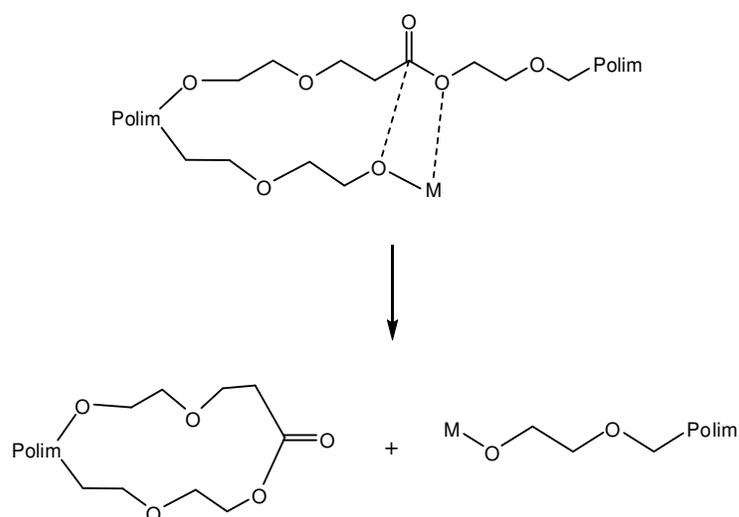
Las reacciones de transesterificación intramolecular, causan la degradación del polímero y la formación de oligómeros cíclicos<sup>50</sup>. Ambos tipos de transesterificación amplían la distribución de pesos moleculares promedio.

Como puede observarse en el esquema 5, cada esterificación intramolecular de forma aleatoria rompe la cadena del polímero. En esta forma, el ataque sobre la cadena del polímero conduce a un polímero residual libre y a un nuevo polímero modificado al azar. Por lo que un polímero con estructura tipo bloque puede ser convertido a un copolímero al azar después de sufrir “n” transesterificaciones.

## Transesterificación intermolecular



## Transesterificación intramolecular



Esquema 5. Reacciones de inter-intra transesterificaciones durante la ROP

La reactividad relativa de los diferentes iniciadores alcóxidos metálicos para la reacción de transesterificación depende del metal y es más baja para los alcóxidos de aluminio. Se ha podido establecer que esta reactividad varía en el siguiente orden<sup>51</sup>:



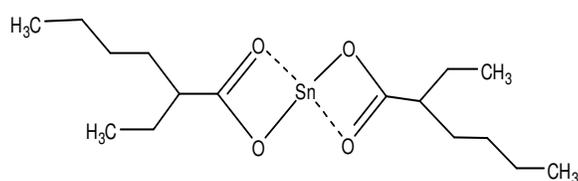
La alta flexibilidad del esqueleto de los poliésteres favorece a un incremento de las reacciones laterales (transesterificaciones).

Se ha visto que la configuración en las lactidas influencia en gran parte las reacciones de transesterificación que toman lugar durante la polimerización<sup>52</sup>. La contribución de los procesos de transesterificación en el caso de la D,L-lactida (D-LA) fueron mayores que los observados cuando la L,L-lactida(L-LA) fue polimerizada. Esta diferencia en el número de reacciones laterales fue atribuida a la rigidez de la cadena polimérica. El poli (D-LA) es más flexible que el poli (L-LA) debido a los bloques de lactida atácticos.

### III.6.4.3.- Octoato de estaño

El 2-etil hexanoato de estaño (II), comúnmente conocido como octoato de estaño ( $\text{SnOct}_2$ ) es el más común iniciador/catalizador. Es un catalizador muy efectivo y versátil, el cuál es fácilmente manejable y soluble en disolventes orgánicos comunes y en lactonas fundidas.

La Food and Drug Administration lo ha aprobado como un aditivo alimenticio y tiene la siguiente forma :

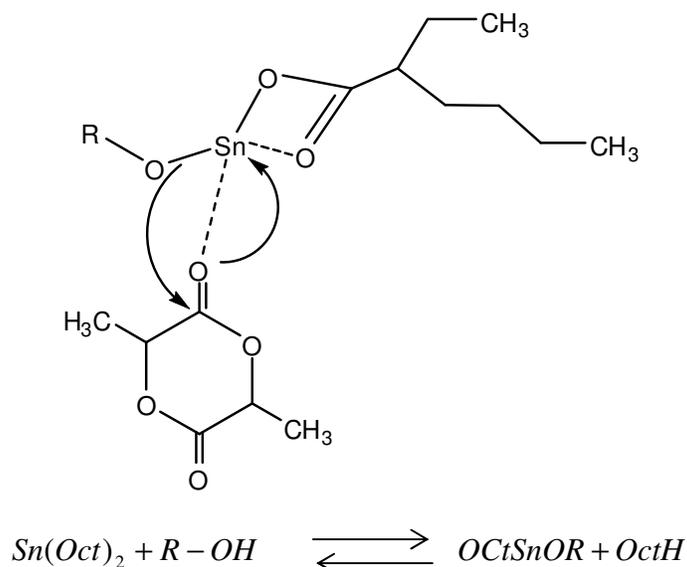


Esquema 6. 2-etil hexanoato de estaño (II)

La reacción con  $\text{SnOct}_2$  se lleva a cabo en presencia de alcohol, de lo contrario la iniciación real puede ser por impurezas que contengan hidrógeno<sup>54,55</sup>.

El mecanismo de polimerización propuesto por Peczek<sup>53</sup> y colaboradores sugiere que cuando el  $\text{SnOct}_2$  es mezclado con el alcohol, se forma un complejo inicial antes de que se lleve a cabo la polimerización. De esta forma, cuando se establece el equilibrio entre el

$\text{SnOct}_2$  y el alcohol, se produce la liberación del ácido y el complejo de  $\text{SnOct}_2$  es transformado en un alcóxido de estaño, lo cual ocurre antes del acomplejamiento y la apertura de anillo del monómero (esquema 7).



Esquema 7. Alcóxido de estaño (complejo que inicia la polimerización de lactonas).

El  $\text{SnOct}_2$  es un fuerte agente de transesterificación, por lo que los copolímeros resultantes normalmente tienen una microestructura aleatoria<sup>56</sup>.

### III.7.- Síntesis de PLGAs con composición y peso molecular controlados.

Debido a que la composición y el peso molecular de los polímeros juegan un papel muy importante en sistemas donde los polímeros son utilizados como vehículos, la selección del PLGA con cierta composición y peso molecular llega a ser un factor crítico en la investigación y formulación de sistemas de suministro y liberación controlada de fármacos.

La composición del PLGA puede ser controlada por el manejo adecuado de la relación molar de alimentación de los monómeros, sin embargo, en lo que se refiere al control del peso molecular en la síntesis de polímeros de ácido lactico/glicolico, como se verá más adelante, no es tan sencillo, debido a que el peso molecular depende de varios factores como son: la pureza del monómero, la temperatura de polimerización, el tiempo de polimerización, la concentración del catalizador, el grado de vacío y la cantidad de alcohol<sup>10,58-60</sup>.

En lo que se refiere al cuidado de la pureza de los monómeros se trata de un parámetro relativamente difícil de controlar. La inestabilidad y la naturaleza higroscópica de la lactida y la glicolida les permiten ser fácilmente hidrolizados a ácido láctico y glicólico respectivamente, cuando están en contacto con la humedad. La presencia de ácido láctico y glicólico en los monómeros pueden alterar significativamente el peso molecular del polímero resultante, por lo que la síntesis de estos polímeros generalmente se lleva a cabo utilizando alto vacío, del orden de  $10^{-3}$  mmHg.

Aunque la temperatura es un parámetro que puede ser fácilmente controlado, el límite superior y el límite inferior de temperatura para la polimerización de PLGA restringen el uso de este método en el control del peso molecular. Los polímeros formados sufren una depolimerización térmica a temperaturas por arriba del límite superior. El límite superior de temperatura es denominado Tc (ceiling point) y por encima de esta temperatura, la reacción es termodinámicamente desfavorable. Se ha encontrado que a temperaturas mayores a 190°C, estos materiales presentan un evidente decremento en el peso molecular promedio<sup>57</sup>.

Por otro lado, se ha demostrado que la relación entre el peso molecular y el tiempo de polimerización no es lineal, lo cual dificulta en cierta forma el uso de la curva de calibración si se quiere predecir el peso molecular de cualquier PLGA.

Más aún si se pretenden polimerizar PLGA de bajos pesos moleculares (< 10000 Da), el uso del tiempo de reacción para el control del peso molecular es difícil, la razón es que el 80% de monómeros son convertidos en polímero dentro de los primeros 30 minutos si la reacción se lleva a 220°C y una solución éterea de octoato de estaño (0.3%) es usada como catalizador<sup>22</sup>. Este período de tiempo es muy corto para el propósito de control.

En cuanto al control de peso molecular utilizando vacío, se ha encontrado que es posible la obtención de polímeros con distinto peso molecular por el control de vacío en el reactor mientras se mantengan los otros parámetros constantes (temperatura, concentración de catalizador, relación molar entre lactida y glicólida)<sup>58</sup>. Sin embargo, el grado de vacío es difícil de controlar de manera reproducible. Especialmente a altos niveles de vacío (< 1000 µmHg). Ya que éste se debe controlar en dos aspectos: el grado de vacío y el tiempo de evacuación, en consecuencia se debe minimizar la fluctuación de vacío en el reactor de polimerización. El tiempo de evacuación debe mantenerse constante para controlar en cada reacción el contenido de materiales volátiles (agua y/o éter) en el sistema de polimerización.

En cuanto al uso de alcohol como controlador de peso molecular, se han encontrado grandes ventajas debido a que se ha logrado la síntesis de PLGA con pesos moleculares

controlados y reproducibles ya que la cantidad de controlador de peso molecular (alcohol) puede ser medida fácilmente.

### **III.8.- Caracterización**

#### **III.8.1.- Determinación del peso molecular.**

El peso molecular y la polidispersidad del PLGA son dos parámetros importantes en la formulación de sistemas para liberación controlada de fármacos, debido a que estos parámetros están relacionados directamente con algunas de sus propiedades físicas. El peso molecular promedio  $M_n$ , se obtiene dividiendo la suma de los valores de los pesos moleculares individuales por el número de moléculas y se expresa como:

$$\overline{M_n} = \frac{\sum_{i=1}^{\infty} M_i N_i}{\sum_{i=1}^{\infty} N_i}$$

El peso molecular promedio en peso,  $M_w$ , se determina a través de experimentos en los que cada molécula o cadena contribuye a la medida final de acuerdo con su tamaño. Este valor es más sensible al número de moléculas pesadas y se expresa como:

$$\overline{M_w} = \frac{\sum_{i=1}^{\infty} N_i M_i^2}{\sum_{i=1}^{\infty} N_i M_i}$$

La relación  $M_w/M_n$  es una medida de la polidispersidad de las especies poliméricas en la muestra, y consecuentemente también se correlaciona con las propiedades de los polímeros. Uno de los métodos más utilizados para la determinación de la distribución de pesos moleculares y pesos moleculares promedio es la cromatografía de permeación en gel (GPC).

La cromatografía de permeación en gel o GPC (siglas en inglés) también es conocida como cromatografía de exclusión de tamaño debido a que su principio es el de separar a las moléculas de acuerdo a su tamaño molecular en solución. Las muestras en solución se introducen en una columna empacada con un material poroso y fluyen a través de ella por efecto de una fase móvil (disolvente).

El principio de la separación se basa en la diferencia de tamaño de las cadenas, pues las cadenas más pequeñas se alojaran en los poros del material de empaque y tardarán más tiempo en salir de la columna que las moléculas con cadenas más grandes, por lo que se puede decir que las columnas son selectivas en relación al tamaño y por consecuencia al peso molecular.

Estrictamente hablando, la separación está basada en el volumen hidrodinámico de las moléculas, el cual es el tamaño resultante de las cadenas en la solución, más que en el peso molecular por si mismo, pues las moléculas de polímero están solvatadas en el solvente lo que provoca que las moléculas pequeñas difunden a través de los poros de las partículas de gel y las más grandes difunden deficientemente y salen primero.

La mayoría de las columnas utilizadas en polímeros no acuosos utilizan como empaque partículas de gel de poliestireno - divinilbenceno entrecruzado las cuales funcionan para separar polímeros con pesos moleculares entre  $10^3$  y  $10^7$ . Acoplado al GPC se requiere un detector para monitorear continuamente la concentración de las moléculas de soluto en el disolvente y permitir así el análisis de los constituyentes en el compuesto. Los tipos más comunes de detectores son el diferencial del índice de refracción y el de espectroscopia de

ultravioleta o infrarrojo, y seguido de este se encuentra un integrador para calcular la curva de distribución.

Aunque el G.P.C. separa moléculas de acuerdo a su tamaño, no proporciona valores absolutos de peso molecular, sino valores relacionados con estándares de polímeros de pesos moleculares conocidos, los cuales son analizados bajo las mismas condiciones (columna, solvente y temperatura). Esta es una de las mayores limitaciones de este método, porque solo se tiene un número limitado de estándares, encontrándose entre los más comunes los de poliestireno.

Las Figuras 4 y 5 muestran un cromatograma típico de los polímeros estudiados.

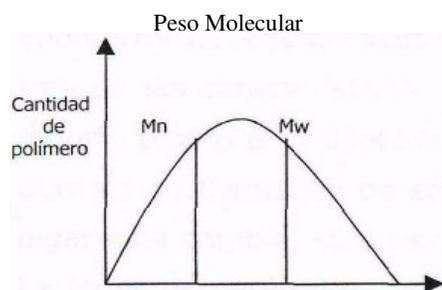


Figura 4



Figura 5

En el apéndice A se muestran algunos GPC de los polímeros sintetizados.

### III.8.2.- Caracterización Espectroscopia de Infrarrojo

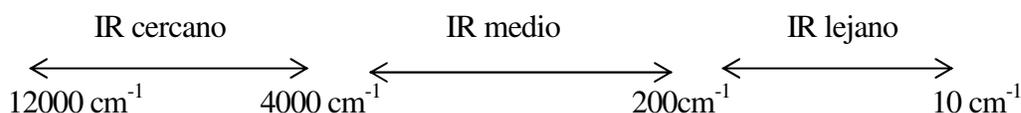
Dentro de las técnicas de caracterización que se aplican frecuentemente en el estudio de los polímeros una de las más conocidas es la espectroscopia de infrarrojo. En general la espectroscopia trata de la interacción de la radiación electromagnética con la materia. El espectro electromagnético completo se compone de distintas regiones de ondas

electromagnéticas (OEM) con diferentes longitudes de onda, destacando las regiones de microondas, infrarrojo, rayos X y rayos gama.

El fundamento de la espectroscopia está en la mecánica cuántica, pues mide las transiciones entre los niveles o estados de energía cuantizados. De este modo, la absorción o la emisión de fotones ocurre cuando un sistema atómico o molecular sufre una transición entre estados de energía. Cuando un fotón es absorbido su energía es utilizada para promover al sistema molecular a un estado de energía más alto; si el estado molecular tiene una energía elevada puede caer a un estado menor con la emisión de un fotón. El análisis espectroscópico de polímeros se interesa en los estados electrónicos, vibracionales y magnéticos, por lo que la energía total del sistema es la suma de varias contribuciones:

$$E_{total} = E_{electrónica} + E_{vibracional} + E_{rotacional} + E_{magnética}$$

En IR el tipo de interacción que resulta entre las OEM y la materia es la absorción, correspondiente a la energía de transición entre varios estados vibracionales y rotacionales. El espectro de IR se divide en tres regiones:



Debido a la gran variedad de posibles vibraciones en la mayoría de las moléculas, es prácticamente imposible hallar dos compuestos que tengan un espectro vibracional-rotacional idéntico. Las vibraciones de un átomo se describen con tres grados de libertad; por tanto, para un sistema de N átomos la solución posee  $3N$  valores de números de onda que satisfacen un conjunto de ecuaciones de movimiento y este número de grados de libertad es

igual al número de modos normales de vibración. Para una molécula no-lineal, seis de los grados de libertad corresponden a translaciones y rotaciones de la molécula, por lo que el número total de modos normales de vibración es  $3N-6$ .

Una condición básica para la absorción es que la frecuencia de la radiación absorbida debe corresponder a la frecuencia de un modo normal de vibración. Además, no todas las vibraciones se pueden detectar en el espectro de IR, únicamente se detectan aquellas vibraciones que van acompañadas de un cambio en el momento dipolar, pues implica una absorción.

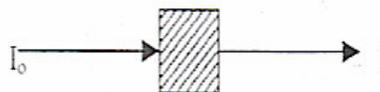
Existen dos tipos generales de vibraciones moleculares:

- ◆ Vibraciones de estiramiento: es un movimiento rítmico a lo largo del enlace que produce un incremento o una disminución en la distancia interatómica.
- ◆ Vibraciones de flexión: puede consistir de (a) un cambio en el ángulo de enlace entre enlaces con un átomo común, o (b) movimiento de un grupo de átomos con respecto al resto de la molécula sin movimiento de los átomos dentro del grupo con respecto uno del otro.

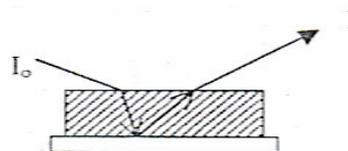
Para polímeros, cada macromolécula contiene grupos terminales y unidades repetitivas constitucionales. La concentración de los grupos terminales es relativamente más pequeña, por lo que sus señales son débiles; la mayor contribución en el espectro de absorción viene de las vibraciones de los átomos de la unidad repetitiva constitucional. Por esta razón, un espectro de infrarrojo es como la huella digital del polímero, pues no hay espectros que se puedan repetir y cada uno es característico del material.

Por otra parte, el espectro de absorción puede ser obtenido por tres métodos:

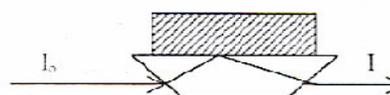
A. Transmisión



B. Reflexión



C. Reflectancia total atenuada



El más común de estos es el método de transmisión en el cual la fracción de la luz incidente que es absorbida (o transmitida) es la que se mide.

Hoy en día el método más usado es la espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR), pues esta técnica permite grabar un espectro entero, computarizarlo y transformarlo en pocos segundos. Una de las mayores ventajas que presenta es que elimina señales de ruido permitiendo la detección de señales débiles. Además se pueden realizar estudios con muestras a bajas concentraciones y análisis de monocapas y cristales.

### III.8.3.- Resonancia Magnética Nuclear.

La espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN) es un importante método para la caracterización de materiales y para determinar la composición de materiales poliméricos.

La importancia de RMN como técnica surge en parte porque las señales pueden asignarse a átomos específicos a lo largo de la cadena del polímero. Las propiedades de las señales de RMN dependen del ambiente magnético de los núcleos activos y de los campos locales que estos experimentan. Dado que el espectro de RMN es determinado por fuerzas locales, este método provee información única e invaluable para los polímeros a una escala atómica.

La observación de las señales de RMN es posible porque el núcleo tiene un momento angular, que está caracterizado por el número cuántico  $I$  (spin), el cual proviene de la mecánica cuántica. Aquellos núcleos que tienen  $I \neq 0$  tienen momentos magnéticos y  $2I + 1$  estados de spin. Estos estados se conocen como niveles de Zeeman y se dan normalmente como distribuciones de Boltzman. Las degeneraciones en los estados spin son aumentadas en el campo magnético y las transiciones entre los  $2I$  niveles pueden ser observadas, como se muestra en la figura 6 para  $I = 1/2$  e  $I = 1$

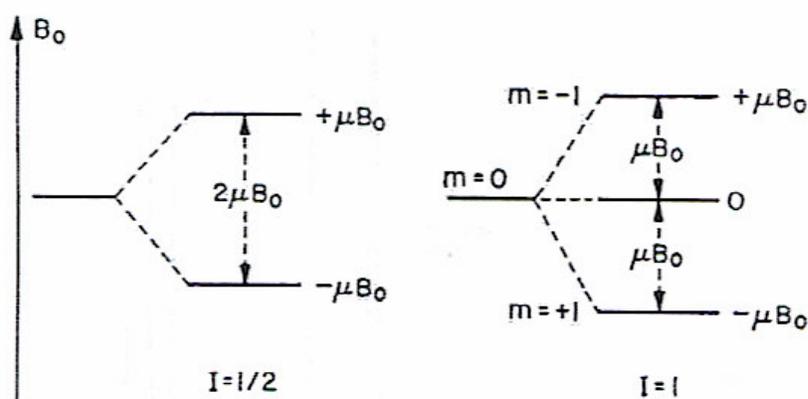


Figura 6. Niveles de energía magnética para núcleos de spin  $1/2$  y  $1$ .

La frecuencia de las señales depende del momento magnético y de la intensidad del campo magnético. La magnitud de los momentos magnéticos nucleares se define como la relación del momento magnético y el momento angular o radio giromagnético,  $\gamma$ , el cual se define como:

$$\gamma = \frac{2\pi\mu}{Ih}$$

donde  $\mu$ , es el momento nuclear y  $h$  es la constante de Planck. La frecuencia de observación  $\omega_0$  depende de la intensidad del campo magnético  $B_0$  mediante la relación;

$$\omega_0 = \gamma B_0$$

En la actualidad existen espectrómetros de RMN con intensidades de campos tan altas como 14.1 T (600 MHz para  $^1\text{H}$ ), pero para la mayoría de las aplicaciones no se requieren intensidades más altas. La sensibilidad del RMN depende del radio giro magnético y de la abundancia natural del núcleo activo. Sin embargo, a pesar de su baja abundancia, los núcleos como el carbono, silicio y fósforo son ampliamente estudiados.

Los parámetros espectrales de la RMN proveen información detallada para la caracterización de polímeros. Son de importancia primaria la frecuencia (o cambio químico), intensidad, ancho de la línea, constante de acoplamiento (J) y rapidez de relajación. En la figura 7 se especifican más claramente estos parámetros.

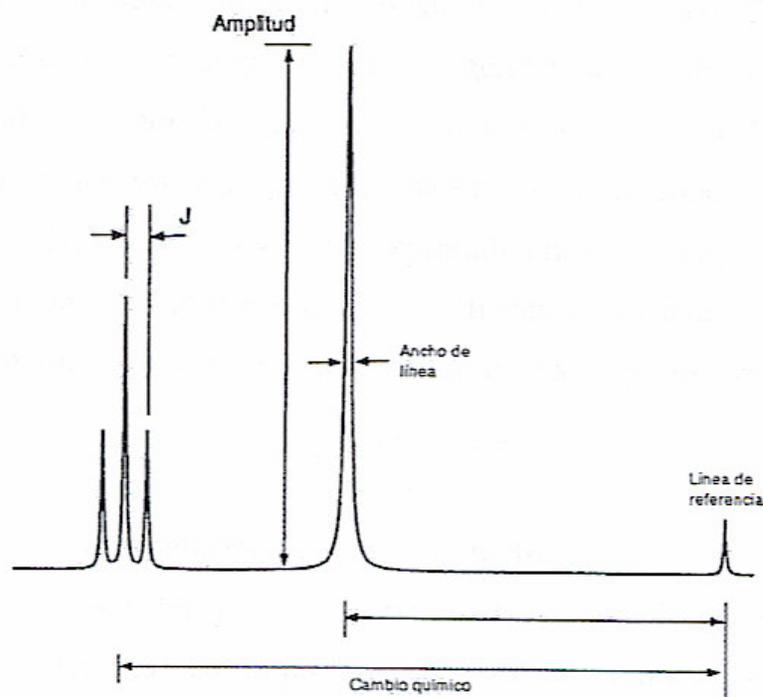


Figura 7. Parámetros de la RMN usados en caracterización de polímeros.

Se obtienen espectros de alta resolución porque las frecuencias para los átomos de la columna vertebral de la cadena y de los grupos "colgantes" son extremadamente sensibles al ambiente magnético local. Algunos polímeros con una microestructura compleja puede dar espectros de RMN bastante complejos que pueden ser analizados cuantitativamente porque las intensidades de las líneas dependen del número de núcleos. La anchura de las líneas y los tiempos de relajación son determinados por fluctuaciones atómicas locales en los átomos de la cadena polimérica. La anchura de las líneas puede determinarse directamente del espectro, mientras que los tiempos de relajación son medidos por monitoreo del regreso del sistema de los spin al equilibrio siguiendo alguna perturbación. Los tiempos de relajación de los polímeros son del orden de milisegundos a segundos pero dependen de los movimientos moleculares que ocurren.

En ausencia de otras interacciones, para una frecuencia aplicada y spin nuclear dados, la RMN debería observarse únicamente a un valor de intensidad de campo y esto debería resultar en un solo pico de absorción. Dado que el campo experimentado por el núcleo es modificado debido al escudo magnético creado por los electrones alrededor del núcleo. Entonces, el campo efectivo experimentado por el núcleo está expresado por:

$$B_{ef} = B_o(1 - \sigma)$$

donde  $\sigma$  es la constante de apantallamiento. La magnitud de  $\sigma$  depende del ambiente químico que está dado por la densidad de electrones alrededor del núcleo. Como consecuencia, el efecto es referido como un cambio químico. Por lo general, los cambios químicos se refieren a sustancias estándares, siendo la más aceptada el tetrametilsilano (TMS). El procedimiento usado para la comparación trae consigo la definición de un parámetro adimensional llamado cambio químico ( $\delta$ ), tal que  $\delta = (\sigma_{TMS} - \sigma) \cdot 10^6$  expresado en ppm, y el cual es independiente de las condiciones de operación. En la práctica, las mediciones realizadas son las frecuencias a las cuales los picos individuales ocurren y el cambio químico se expresa como:

$$\delta = \frac{V_{muestra} - V_{TMS}}{V_0}$$

donde  $v_0$  es la frecuencia de operación de el espectrómetro.

La RMN en solución para  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  es una de las herramientas más usadas para la caracterización de materiales. La importancia de este método es debido a la extrema sensibilidad de las señales de RMN con pequeños cambios en la estructura química de los polímeros, tal como aquellos que surgen de la estereoquímica, defectos y otros tipos de microestructura de polímeros.

### **III.8.4.-Calorimetría Diferencial de Barrido.**

La Calorimetría Diferencial de Barrido, comúnmente conocida como DSC, acrónimo del nombre inglés “Differential Scanning Calorimetry”, es la técnica experimental más frecuentemente usada en el estudio de sistemas macromoleculares como los biopolímeros, cuyas estructuras están estabilizadas por numerosas fuerzas débiles y, por consiguiente, son susceptibles de experimentar transiciones conformacionales y/o cambios de fase al calentar o enfriar en un determinado intervalo de temperatura.

Además del DSC existen otras técnicas para realizar el análisis térmico, entre las cuales se encuentran el análisis térmico diferencial (DTA), la termogravimetría, el análisis termomecánico (TMA) y el análisis mecánico dinámico (DMA).

En el DSC la muestra y un material de referencia se mantienen con una diferencia de temperatura entre ellos muy cercana a cero ( $\Delta T = T_m - T_r$ ) por medio de un programa computarizado de control de temperatura. Cualquier diferencia de energía (entalpía) entre la muestra y la referencia se registra en el programa, obteniéndose lo que se denomina un termograma  $dH/dt$  versus temperatura como el que se muestra en la figura.8. Los eventos térmicos que suceden en la muestra aparecen como desviaciones en la línea base del DSC, ya sea en dirección endotérmica o exotérmica, dependiendo de si se ha administrado más o menos energía a la muestra en relación al material de referencia. En el DSC, generalmente, las respuestas endotérmicas son usualmente representadas como positivas, es decir, por arriba de la línea base. Es importante aclarar que la línea base no siempre es fácil de establecer y de esto dependerá que los resultados sean lo más cercanos a la realidad. Las

muestras se analizan colocándolas en paneles de aluminio (para temperaturas menores a 500°C), pudiendo ser analizadas de tres maneras: a panel abierto; a panel semihermético y a panel hermético.

Debido a que los polímeros presentan historia térmica es necesario que cuando se analicen se aplique el mismo tratamiento para que los resultados sean comparativos. Por ejemplo, la  $T_g$  obtenida por DSC depende de la rapidez de calentamiento pues la transición vítrea es un fenómeno de relajación.

Cuando se presentan cambios abruptos en la pendiente o posición de la línea base seguramente existe una transición de segundo orden. A este tipo de transiciones pertenece la temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ), la cual recibe este nombre debido a que a esta temperatura hay un cambio en el movimiento de las moléculas que provoca que el material pase de un estado elastomérico a otro vítreo. La transición vítrea es una transición cinética pues por debajo de esta temperatura el movimiento de las moléculas disminuye de tal manera que los grados de libertad de los movimientos traslacionales, rotacionales y de rotación de los enlaces de las cadenas son cero, además de que los cambios de entropía son prácticamente nulos. Desde el punto de vista de la termodinámica la transición vítrea es una transición de segundo orden pues no existen transiciones abruptas de propiedades termodinámicas fundamentales como la entalpía o el volumen específico sino que las variaciones se dan en sus derivadas, como es la capacidad calorífica. No es una transición de fase ya que el polímero permanece como un material amorfo en estado sólido.

Por el contrario, la temperatura de fusión cristalina,  $T_m$ , es una transición de fase pues a esta temperatura el polímero pasa de ser un material amorfo a uno cristalino. Muchos de los

polímeros que conocemos presentan ambas transiciones, por lo que se conocen como materiales semicristalinos. Esto ocurre porque la mayoría de los polímeros presentan tanto dominios cristalinos como amorfos. Pueden existir polímeros que sean totalmente amorfos pero no hay polímeros totalmente cristalinos, entre otras razones porque en una muestra de polímero las cadenas son de diferentes tamaños por lo que no puede existir un ordenamiento total en el polímero.

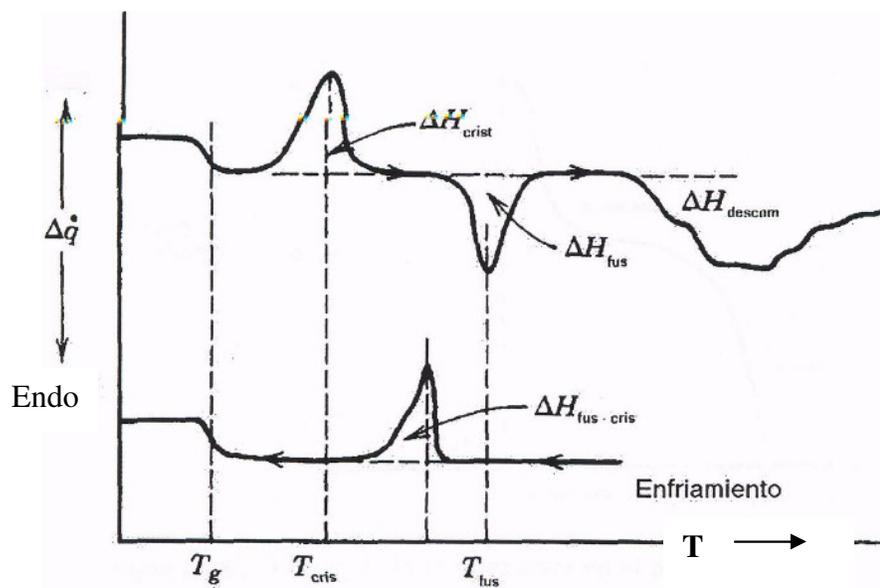


Figura 8. Termograma característico obtenido por DSC.

Una de las principales razones por las que es importante conocer las temperaturas de transición características de cada polímero es debido a la dependencia de las propiedades mecánicas del material respecto a estas. Por ejemplo, si la temperatura ambiente es mayor que la  $T_g$  de un polímero amorfo y la  $T_m$  es baja (cerca de la temperatura ambiente) entonces es probable que el comportamiento del material sea como un elastómero; por el contrario, si la temperatura ambiente es menor que la  $T_g$  del polímero el comportamiento

seguramente será el de un plástico o una fibra, dependiendo de la combinación de el resto de las propiedades del polímero como son la cristalinidad y la microestructura.

Desde el punto de vista de la reología, la  $T_g$  representa la temperatura en la que ocurre un cambio de comportamiento reológico, antes de la  $T_g$  el polímero se comporta como un material vítreo, después de la  $T_g$  el material comienza a comportarse como un material viscoelástico, es decir como un elastómero.

## **DESARROLLO EXPERIMENTAL**

## **DESARROLLO EXPERIMENTAL**

Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Polímeros (Laboratorio 213) de la Facultad de Química. Se llevó a cabo la síntesis en masa de polímeros y copolímeros de ácido láctico-co-glicólico con distinta composición, y con distinto peso molecular, esto se logró modificando algunas de las condiciones de reacción que afectan la síntesis de estos polímeros, tales como: relación láctico/ glicólico, el tiempo de reacción, la concentración de catalizador y la concentración de alcohol.

El procedimiento consistió en el cambio de un parámetro a la vez mientras se mantuvieron constantes el resto de ellos, de esta forma se pudieron determinar las condiciones de síntesis para lograr el control en la polimerización.

### **IV.1.-Material y Equipos utilizados**

Matraces aforados de 10 ml

Tubos de vidrio pyrex no. 9825

Vasos de precipitado de 50 ml

Jeringas de precisión con sello de teflón y llave de paso de 2.5 y 10 ml.

Jeringas de para preparación de muestras para GPC de 2.5 ml

Balanza analítica

Estufa de vacío

Reactor de vidrio de 25 ml., acoplado a un sistema que permite la entrada de nitrógeno y/o vacío.

Baño de silicón

Parrilla de calentamiento con control de termostato.

## **IV.2.- Reactivos Utilizados**

### **Monómeros**

D,L-Lactida (Purac Biochem)

Glicolida (Purac Biochem)

### **Catalizador**

Octoato de estaño grado reactivo analítico (Sigma Aldrich)

### **Disolvente**

Diclorometano grado reactivo analítico

### **Coagulante**

Metanol grado reactivo

### **Controlador de peso molecular**

Alcohol láurico (1-dodecanol) grado reactivo

### **Diluyente del catalizador y controlador**

Éter etílico grado reactivo

### **Atmósfera inerte**

Nitrógeno comprimido seco (Praxair 4.8)

## **IV.3.-Cantidades**

La cantidad de monómeros, de catalizador y de controlador de peso molecular se determinó de acuerdo a las siguientes relaciones:

### **A. Monómeros**

Debido a que la cantidad de monómeros adicionados al sistema de polimerización depende de la composición deseada, las distintas cantidades de lactida y glicolida fueron cuidadosamente pesadas y adicionadas directamente al reactor en cada una de las corridas.

**B. Catalizador**

Se utilizó octoato de estaño como catalizador, la cantidad de catalizador se determina a partir de cierto porcentaje en peso respecto a los monómeros, debido a que las cantidades de catalizador que se requieren en la síntesis son muy pequeñas éste último fue disuelto en éter seco. La cantidad de catalizador en cada uno de los experimentos se determinó utilizando la siguiente relación:

$$Vol_{cat} = \frac{(M_{monómeros})(\%catalizador)}{C_{catalizador}}$$

**C. Alcohol (controlador de peso molecular)**

En polimerización por apertura de anillo de diesteres cíclicos se utilizó lauril alcohol como controlador de peso molecular, la cantidad de alcohol pudo ser medida fácilmente ya que éste fue disuelto previamente en éter seco, como la cantidad de alcohol se determina en relación a la cantidad de monómeros se utilizó la siguiente relación:

$$Vol_{OH} = \frac{(M_{monómeros})(\%OH)}{C_{OH}}$$

#### **IV.4.-Descripción del equipo y la síntesis de PLGA**

La polimerización por apertura de anillo de los diesteres cíclicos de ácido láctico y/o ácido glicólico (lactida y/o glicolida) se llevó a cabo en masa.

El sistema de polimerización consta básicamente de un reactor de vidrio del 25 ml resistente a altas temperaturas ( $> 350^{\circ}\text{C}$ ), que es conectado a un sistema de válvulas que permiten la entrada de nitrógeno y/o vacío a través del reactor.

Cuenta además con un baño de silicón que es puesto sobre una parrilla de calentamiento con termostato, el baño es previamente calentado a  $145^{\circ}\text{C}$  y se mantiene con agitación continua para asegurar que el calentamiento sea homogéneo.

La polimerización en masa por apertura de anillo de lactidas se realiza en ausencia de cualquier tipo de solvente, y más aún, debe evitarse la entrada de humedad al sistema, debido a que el agua es un potente terminador de la cadena del polímero, por lo que la adición de reactivos se realiza en forma directa en el reactor, los monómeros son pesados directamente en el reactor en las cantidades necesarias en cada una de las corridas, la cantidad de catalizador y de controlador de peso molecular son medidas en jeringas de precisión de 2.5 ml y adicionadas directamente sobre los monómeros, para lograr que la mezcla de los reactivos sea homogénea se introdujo un agitador magnético y se procedió a conectar y a sellar cada una de las juntas que conectan al reactor con el sistema de válvulas para permitir la entrada de vacío y remover el éter del reactor que es usado como disolvente del catalizador y del controlador de peso molecular. Una vez logrado esto se introduce

nitrógeno y el reactor es sumergido en el baño de silicón a una temperatura de  $145^{\circ}\text{C}$ , a esta temperatura los monómeros son fundidos y los reactivos son mezclados completamente.

La polimerización se detiene a temperatura ambiente, por lo que el reactor es enfriado de forma rápida. Al polímero formado se adiciona cloruro de metileno y una vez disuelto se le agrega metanol para precipitarlo, finalmente, es colocado en una charola de aluminio y puesto en el desecador hasta su caracterización.

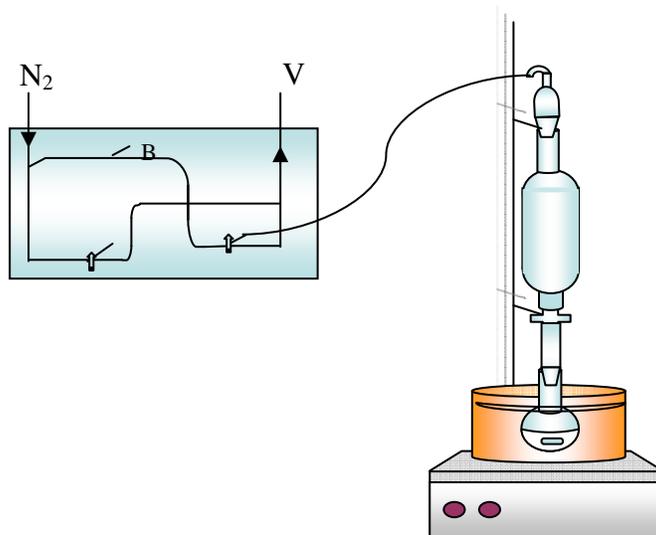


Figura 9. Esquema de polimerización de lactidas

## IV.5.-Caracterización

### IV.5.1.-Cromatografía de permeación en gel

La determinación de la distribución de pesos moleculares se realizó por cromatografía de permeación en gel (GPC) utilizando un equipo de Cromatografía de permeación en gel (GPC) con detector diferencial de índice de refracción, para determinar la distribución de pesos moleculares, peso molecular promedio en número ( $M_n$ ), peso molecular promedio en peso ( $M_w$ ), y polidispersidad ( $M_n/M_w$ ).

Las muestras que fueron analizadas se prepararon disolviendo el polímero seco en THF, procurando obtener una concentración de 0.0112 g /10 ml, posteriormente se filtraron utilizando filtros de membrana para muestras de HPLC (acrodiscos). Esta disolución fue inyectada en cromatógrafo Waters milenium 1090, el equipo utiliza como fase móvil THF con un flujo de 1 ml/min. y una temperatura de 35°C; el cálculo de los pesos moleculares se hizo tomando como referencia estándares de poliestireno.

En el apéndice A se muestran los GPC de algunos de los polímeros sintetizados.

#### **IV.5.2.- Espectroscopia de Infrarrojo.**

El análisis de la muestras por medio de la espectroscopia de infrarrojo fue utilizado para verificar la polimerización de los monómeros en cada uno de los experimentos realizados.

El análisis de infrarrojo se realizó en un espectrómetro de infrarrojo con transformada de Fourier (IR-TF) marca Perkin-Elmer, en un intervalo de longitudes de onda de 4000 – 400  $\text{cm}^{-1}$ , las pruebas se realizaron en película.

Las muestras se prepararon disolviendo una pequeña cantidad de polímero de 1-2 mg, en cloruro de metileno grado espectroscópico, una vez disuelto se colocó una pequeña cantidad sobre un cristal de AgCl y se deja evaporar el solvente, de esta forma se obtiene una película delgada, que fue analizada posteriormente.

En el apéndice B se pueden observar los espectros de infrarrojo de los polímeros sintetizados y los espectros de infrarrojo de los monómeros.

#### **IV.5.3.-Determinación de la composición**

El análisis por RMN de  $\text{H}^1$  se realizó en un espectrómetro Varian de 300 MHz con transformada de Fourier, a temperatura ambiente utilizando tetrametilsilano (TMS) como

referencia. Las muestras se prepararon disolviendo 20mg del polímero en 0.5ml de cloroformo deuterado (CDCL<sub>3</sub>).

La determinación de la composición de los polímeros de PLGA mediante RMN de H<sup>1</sup>, se llevo a cabo con base en el comportamiento de los hidrógenos pertenecientes al ácido láctico y al ácido glicólico en un campo magnético, los cuales son diferentes para cada monómero (Figura 10) y por consiguiente, pueden ser identificados por resonancia magnética nuclear de H<sup>1</sup> (Figura 11).

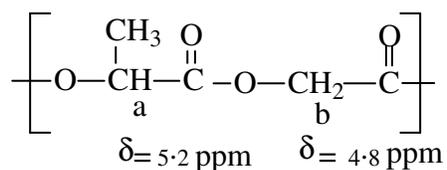


Figura 10

Si se asigna X al área integrada del pico del protón a y Y a la mitad del área integrada del pico del protón b, la composición del PLGA se obtiene mediante el uso de las siguientes relaciones:

$$\text{Fracción mol de ácido láctico} = X / (X+Y)$$

$$\text{Fracción mol de ácido glicólico} = Y / (X+Y)$$

$$\text{Relación molar de ácido láctico a ácido glicólico} = X/Y$$

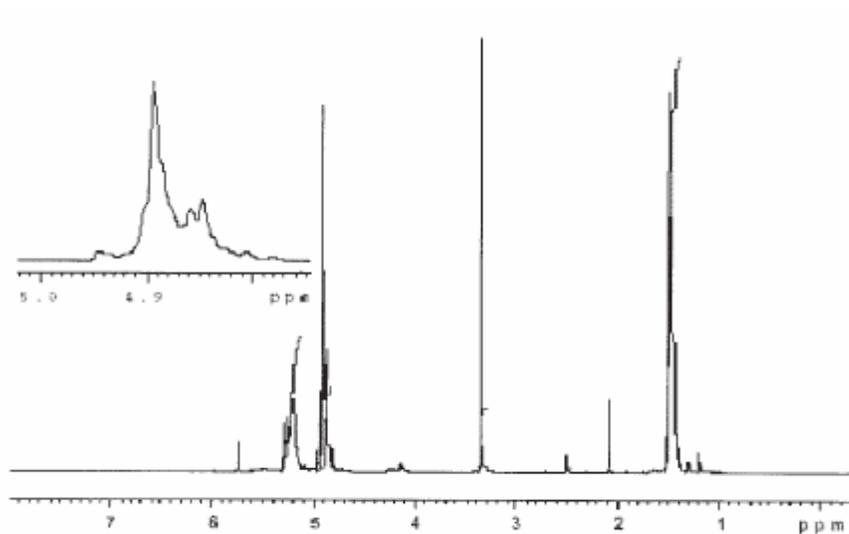


Figura 11. Espectro característico de  $^1\text{H}$  NMR (400MHz) de PLGA.

#### IV.5.4.-Calorimetría Diferencial de barrido

El análisis térmico de las muestras de PLAs y PLGAs se realizó mediante la calorimetría diferencial de barrido (DSC). La determinación de la temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) se realizó empleando un equipo Thermal Analyst 2100 de TA Instruments acoplado al DSC. La cantidad de muestra se varió en un intervalo de 10 a 20 mg, ésta fue colocada en un panel de aluminio que se coloca en la celda de análisis. La rampa de calentamiento fue de  $10^\circ \text{C}/\text{min}$  y las determinaciones se realizaron a panel abierto y en atmósfera de nitrógeno. El rango de temperaturas en el que se analizaron las muestras fue de  $-30^\circ\text{C}$  a  $100^\circ\text{C}$ ; las muestras se corrieron dos veces cada una y se utilizó nitrógeno líquido para bajar la temperatura en cada una de las corridas. El equipo fue calibrado previamente usando indio como estándar.

#### IV.6.-Experimentos realizados

Se ha mencionado que son varios los factores que afectan la síntesis de polímeros mediante la polimerización por apertura de anillo de lactidas, entre las que destacan: la temperatura,

la composición, el grado de vacío, el tiempo de polimerización, la concentración de catalizador y la concentración del co-iniciador (alcohol). Por lo que se llevaron a cabo una serie de experimentos con la finalidad de encontrar las condiciones adecuadas de reacción que permitieran la obtención de una serie de polímeros y copolímeros a base de ácido D,L-láctico y glicólico que por sus propiedades puedan ser usados como vehículos en sistemas farmacéuticos. En este sentido se realizaron distintas pruebas para determinar cuales son los efectos de variables tales como: composición, catalizador, tiempo de polimerización y concentración de controlador de peso molecular (1-dodecanol), en la polimerización en masa por apertura de anillo de lactidas.

Cabe mencionar que aunque el grado de vacío es un parámetro que afecta la síntesis de polilactidas, éste no se analizó debido a que la síntesis de PLA y PLGA se llevó a cabo en atmósfera de nitrógeno, lo que condujo a la síntesis de éstos polímeros y copolímeros en condiciones menos drásticas, pues como se mencionó anteriormente el vacío necesario en la síntesis es muy alto (del orden de  $10^{-3}$  mmHg).

#### **Efecto de la concentración de catalizador.**

Se realizó la síntesis de polímeros de ácido láctico variando la concentración de catalizador (octanoato de estaño II), manteniendo constantes: temperatura, tiempo de polimerización y concentración de 1-dodecanol, y se analizaron estos polímeros mediante GPC para determinar cual fue su efecto sobre el peso molecular de los polímeros obtenidos.

### **Efecto del tiempo de reacción**

Se realizó la síntesis de los polímeros con diferentes tiempos de polimerización manteniendo constantes: temperatura, composición, concentración de catalizador y concentración de 1-dodecanol y se analizó su efecto sobre el peso molecular mediante GPC.

### **Efecto del controlador de peso molecular ( 1-dodecanol) sobre el peso molecular**

Se realizó la síntesis de copolímeros de ácido D,L-láctico-co-glicólico variando la cantidad de alcohol, manteniendo constantes temperatura, composición, tiempo de polimerización, concentración de catalizador, y se determinó mediante GPC cual fue su efecto sobre el peso molecular.

### **Efecto del peso molecular sobre la Tg**

Se determinó cual es el efecto del peso molecular de PLGA sobre la temperatura de transición vítrea (Tg) mediante DSC.

### **Efecto de la composición sobre la Tg**

Se determinó cual es el efecto de la composición de PLGA sobre la temperatura de transición vítrea (Tg) mediante DSC.

## **RESULTADOS, DISCUSIÓN**

## RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

Como se ha mencionado anteriormente en este trabajo, uno de los objetivos es el control de la síntesis de PLA y PLGA debido a que el peso molecular y en el caso de los copolímeros la composición, son factores que afectan sus propiedades, mismas que están directamente relacionadas con su uso potencial como vehículos farmacéuticos.

Como se verá a continuación, con los experimentos realizados se obtuvieron una serie de resultados que permiten establecer cuales son los efectos que derivan de la modificación de cada uno de parámetros que afectan la síntesis de los PLA y los PLGA, lo que permitió el control sobre la polimerización por apertura de anillo vía coordinación- inserción de lactidas.

### V.1.-Efecto de la concentración del catalizador sobre el PLA

Se ha visto que la concentración del catalizador tiene un efecto importante sobre el peso molecular de los polímeros que se obtienen mediante la polimerización en masa por apertura de anillo de lactidas y que la relación que guardan no es lineal, por lo que en esta parte del estudio se trató de verificar cual es el efecto que tiene la concentración del catalizador sobre el peso molecular del PLA.

Nou Wang<sup>61</sup> y colaboradores han reportado la obtención de PLGAs con pesos moleculares de alrededor de  $10^5$  g/mol utilizando octanoato de estaño como catalizador en concentraciones de 0.03 wt %, 0.4 wt% de alcohol a una presión de 700 $\mu$ m Hg.

Sin embargo, se ha visto que el grado de vacío es difícil de ajustar, debido a las fluctuaciones en la presión de vacío alcanzada. En las síntesis de PLA y PLGA, las reacciones fueron llevadas a cabo en atmósfera de nitrógeno para evitar la entrada de aire al

sistema y por consiguiente la humedad, debido a que son factores que afectan la síntesis de los polímeros.

Por lo cual se trató de establecer cual es la concentración de catalizador que permitiera la obtención de PLA pesos moleculares relativamente altos, para poder fijar a que concentración de catalizador se llevarían a cabo los demás estudios.

Si observamos los resultados obtenidos en la tabla A, puede verse que un incremento en la concentración del catalizador de 0.09% a 0.12% significó el aumento en el peso molecular de casi el doble, de 0.12% a 0.15% el peso molecular del PLA no aumenta significativamente, y aunque ciertamente a 0.18% hay un aumento en el peso molecular del PLA obtenido, este no es muy significativo por lo que se prefirió establecer 0.12%, pues se ha reportado<sup>115</sup> que el octanoato de estaño (II) no puede ser removido totalmente por el método de purificación del polímero (disolución-precipitación). Los compuestos organometálicos de estaño son considerados tóxicos, por lo que es importante mantener la concentración de catalizador lo más baja posible considerando la importancia de la toxicidad si se requiere hacer uso de éstos poliésteres en sistemas farmacéuticos.

**Condiciones de reacción:**

Composición: 100 % PLA

Temperatura: 145°C

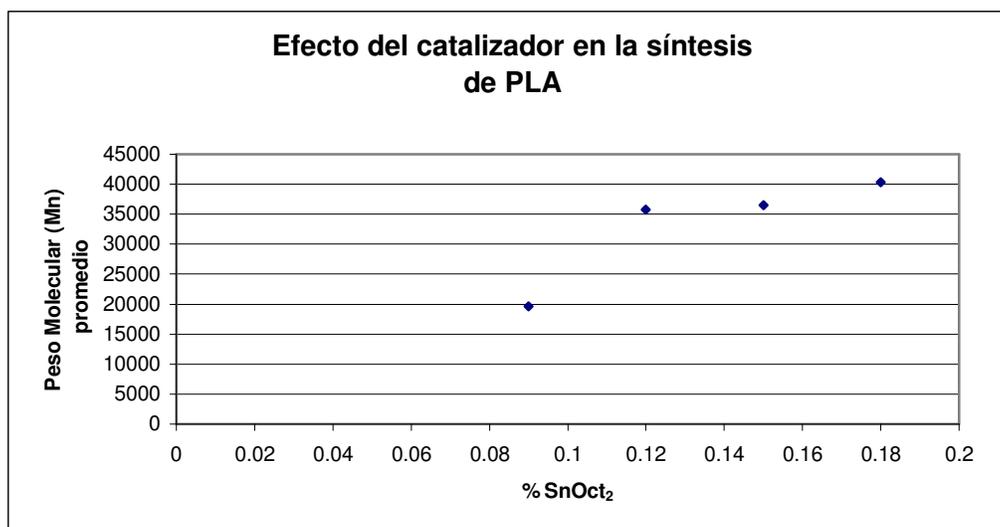
Tiempo: 3 h

% Alcohol: 0.4

**Tabla A**

Clave (PLA)	% SnOct <sub>2</sub>	Mn
DLS1G02	0.09	19600
DLS2G01	0.12	35800
DLS3G01	0.15	37300
DLS4G01	0.18	40300

En la gráfica A podemos observar que la relación entre la concentración de catalizador y peso molecular no es lineal lo cual dificulta de cierta forma el control sobre la síntesis de PLA, si es desea controlar el peso molecular con la cantidad de catalizador adicionada.



Gráfica A

## V.2.-Determinación de la composición en PLGA.

En el caso del PLGA, la composición determina un gran número de sus propiedades fisicoquímicas así como también su biodegradabilidad<sup>1</sup>. Por ello es muy importante conocer la composición cuando los PLGA son usados como vehículos para fármacos.

A continuación se presentan los resultados.

<b>Clave</b>	<b>% mol ácido glicólico (Alimentado)</b>	<b>% mol ácido láctico (Alimentado)</b>	<b>% mol ácido láctico (Obtenida)</b>	<b>% mol ácido glicólico (Obtenida)</b>
PLGA15G01	18.0	82.0	79.8	20.2
PLGA25G01	29.3	70.7	67.3	32.7
PLGA25G02	29.3	70.7	66.8	33.2
<b>PLGA35G02</b>	40.1	59.9	57.8	42.0

Podemos darnos cuenta que la composición de la alimentación tiene cierta diferencia con la composición determinada al final de la polimerización, lo que hace muy importante la determinación de esta última.

Sin embargo, aunque la composición de la alimentación tiene cierta diferencia con la composición determinada al final de la polimerización, esta no es muy significativa por lo que podemos asumir que ésta puede fijarse desde el inicio y tener un cierto control sobre la composición.

### **V.3.-Efecto del tiempo de reacción en la síntesis del PLGA**

#### **Condiciones de reacción:**

Composición PLGA 25 % glicólico

Temperatura 145°C

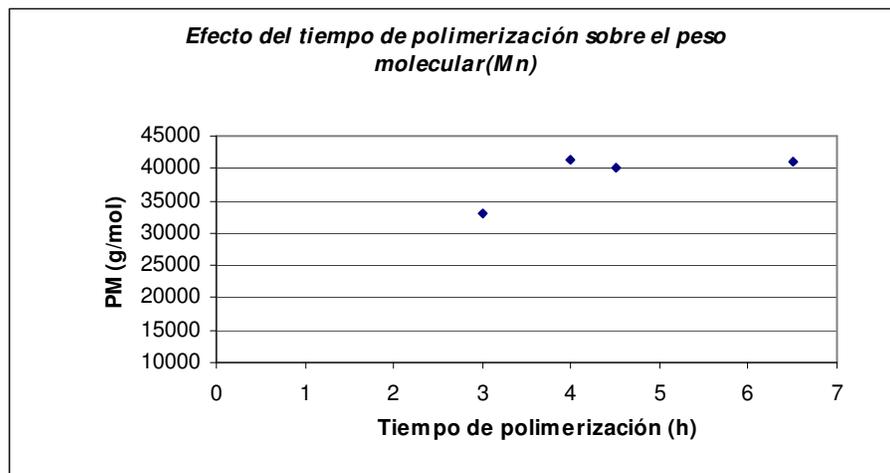
% alcohol: 0.4

% catalizador: 0.12

Se ha visto que el tiempo de reacción es un factor que también afecta el peso molecular en la síntesis de PLGA.

Como puede apreciarse en la gráfica B, el control del peso molecular no es posible con la modificación del tiempo de reacción, debido que la relación que guardan no presenta una tendencia clara, ya que existe un decremento en el peso molecular al pasar de 4 a 4.5h de reacción, sin embargo, este estudio permitió establecer el tiempo de reacción, en los estudios que se realizaron posteriormente.

Gráfica B



#### V.4.- Efecto del alcohol sobre el peso molecular de PLGA y sobre la Tg

El efecto de la adición de alcohol sobre el peso molecular y consecuentemente sobre la Tg se realizó una vez fueron establecidas las condiciones de polimerización, como son: composición, concentración de catalizador, temperatura y tiempo de polimerización y se modifico la cantidad de alcohol de acuerdo a las cantidades reportadas en la tabla B.

Tabla B

<b>Clave</b>	<b>Glicolida (%peso)</b>	<b>Glicolida (%mol)</b>	<b>Alcohol (%peso)</b>	<b>Peso molecular (Mn)</b>	<b>Tg (°C)</b>
PLGA35M05	35	40.06	0.1	46000	38.0
PLGA35G01	35	40.06	0.4	39400	35.5
PLGA35G3-01	35	40.06	1.1	25900	31.9
PLGA35G4-01	35	40.06	2.4	14600	26.2
PLGA35G5	35	40.06	3.6	9300	23.0

Con los resultados anteriores podemos comprobar que es posible el control del peso molecular mediante la adición de alcohol, puede observarse que el peso molecular decrece con el aumento en la concentración de alcohol. Esta relación puede ser observada en la gráfica C<sub>1</sub>.

De hecho, puede obtenerse una correlación lineal si se grafican el logaritmo del peso molecular promedio ( $M_n$ ) contra el logaritmo de la cantidad de alcohol adicionada como se muestra en la gráfica C<sub>2</sub>. El uso de esta correlación puede establecer el control en el peso molecular, es decir, se puede predecir el peso molecular del polímero de acuerdo a la cantidad de alcohol adicionada.

El efecto producido por la adición de alcohol al sistema de reacción se entiende, si se toma en cuenta que la polimerización por coordinación-inserción inicia cuando el complejo entre el octoato de estaño y el alcohol (co-iniciador) es formado; sin embargo, un exceso en el mismo funciona como un terminador de cadena.

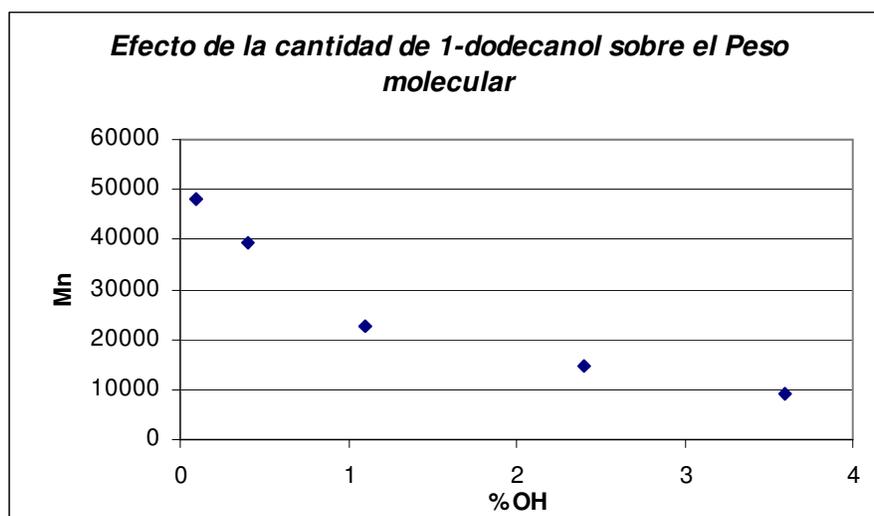
#### Condiciones de reacción:

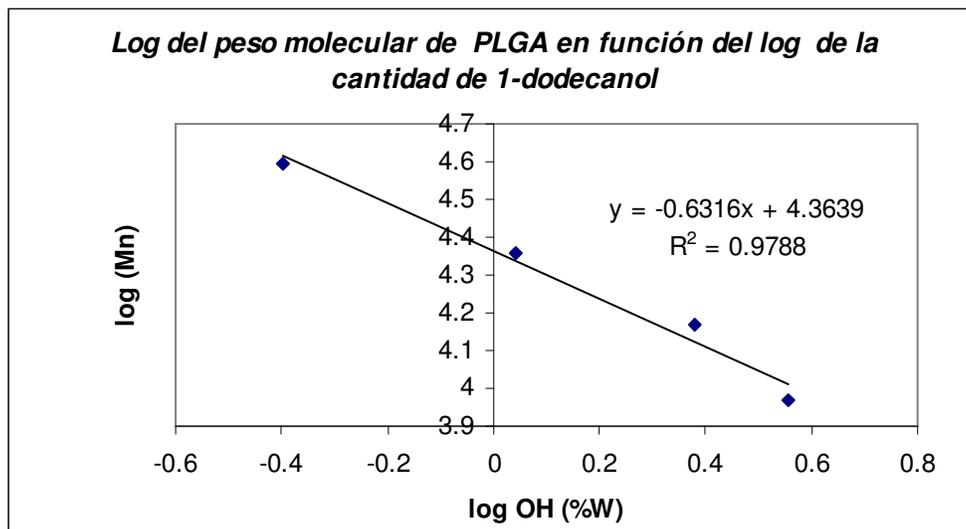
Temperatura 145°C

% catalizador: 0.12

Tempo de reacción: 3 h

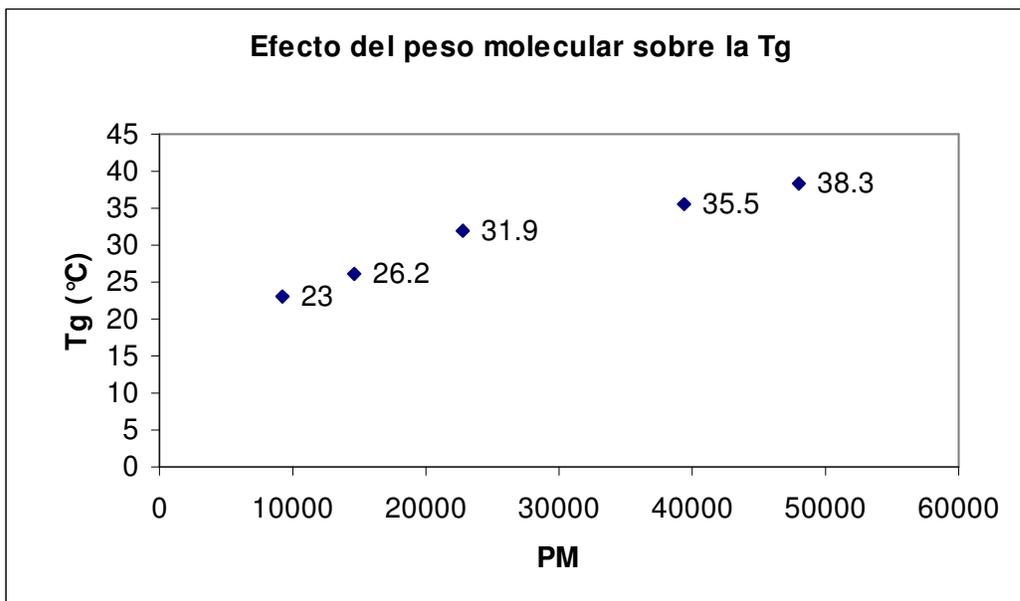
#### Gráfica C<sub>1</sub>



**Gráfica C<sub>2</sub>****V.5.-Efecto del peso molecular sobre la Tg**

Si se observa la tabla B y la gráfica D puede verse que la Tg del polímero es mayor conforme aumenta el peso molecular en el polímero. Este incremento en la Tg frecuentemente se atribuye a la disminución de la movilidad de la cadena polimérica cuando el peso molecular se incrementa<sup>1</sup>. Un incremento en la longitud de la cadena polimérica aumenta las interacciones inter e intra entre las cadenas del polímero así como también el enredamiento y empacamiento, lo que disminuye la movilidad de la cadena polimérica, y consecuentemente incrementa la Tg.

Gráfica D



#### V.6.-Efecto de la composición del PLGA sobre la Tg

El estudio de temperatura de transición vítrea en copolímeros con distinta composición muestra también un aumento de la Tg con el aumento de lactida en el copolímero. Los resultados pueden observarse en la tabla C y en la gráfica E, este fenómeno ha sido reportado por otros investigadores<sup>17</sup>. El efecto del contenido de ácido láctico sobre la Tg del PLGA puede explicarse por el mecanismo de la movilidad de la cadena. El grupo metilo extra que presenta la parte de ácido láctico incrementa la rigidez del polímero debido al impedimento estérico. La presencia de una mayor cantidad de ácido láctico en el PLGA reduce la flexibilidad de la cadena y por ende incrementa la Tg del copolímero.

Puede verse también que a excepción del PLGA con 78%mol de glicólico todos los copolímeros son amorfos, lo cual es congruente con la literatura la cual reporta que a partir de un contenido de 70% mol de glicólico el copolímero presenta zonas cristalinas.

**Condiciones de reacción:**

Temperatura 145°C

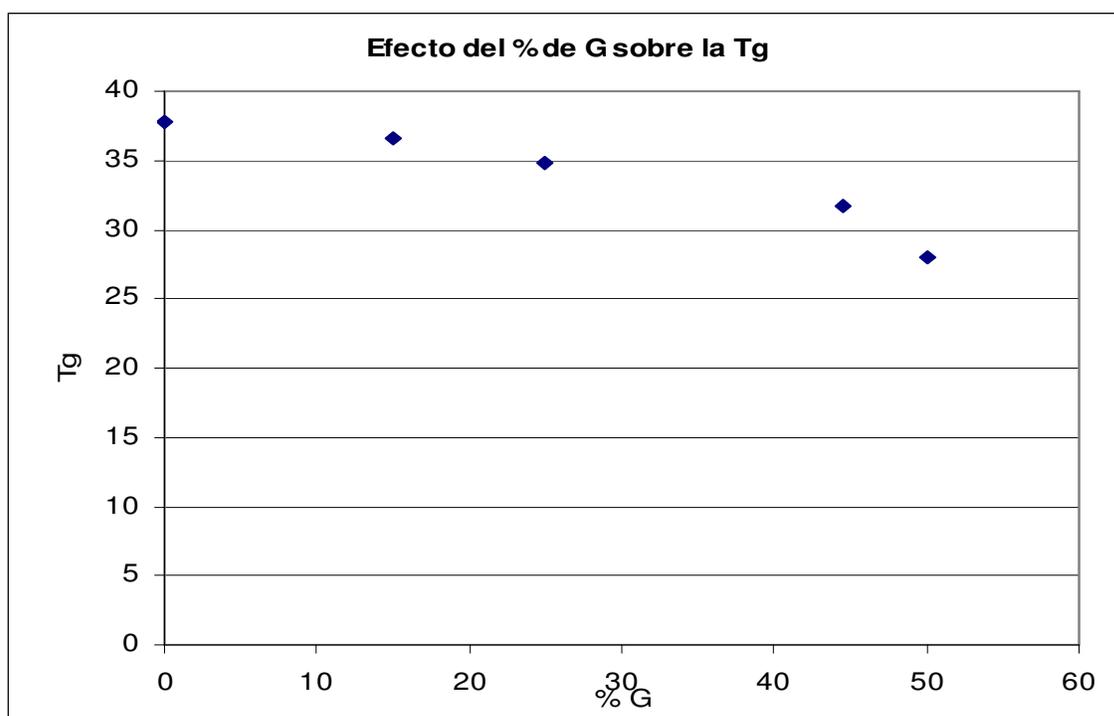
% alcohol: 0.4

% catalizador: 0.12

Tiempo de reacción: 3 h

**Tabla C**

<i>Clave</i>	<i>Glicolida (%peso)</i>	<i>Glicolida (%mol)</i>	<i>Peso Molecular (Mn)</i>	<i>Tg (°C)</i>	<i>T fusión (°C)</i>
DLS2G01	0	0	35770	37.8	
PLGA15G01	15	17.97	35060	36.6	
PLGA25G02	25	29.27	33120	34.8	
PLGA44M01	44	49.85	37523	31.7	
PLGA50G01	50	55.38	-	28	
PLGA75G01	75	78.83	-	31.0	194.86
PGA	100	100			226.79

Nota. El error asociado a la determinación de la  $T_g = \pm 1.2^\circ C$ **Gráfica E**

## **CONCLUSIONES**

## Conclusiones

Son varios los factores que afectan la síntesis de polímeros mediante la polimerización por apertura de anillo de lactidas, entre las que destacan: la temperatura, la composición, el tiempo de polimerización, la concentración de catalizador y la cantidad de co-iniciador (alcohol) adicionados, por lo que la selección adecuada de estos parámetros conduce a la obtención de polímeros con características específicas útiles para su uso como vehículos en sistemas farmacéuticos de larga duración, como son la composición y el peso molecular controlado.

La determinación de la composición de los polímeros por RMN  $^1\text{H}$  mostró que la relación Láctico/Glicólico al final es muy cercana a la de alimentación, por lo que esta última puede fijarse desde el inicio.

El análisis térmico mostró que todos los polímeros sintetizados, con excepción del PLGA (78%mol de glicólico) son amorfos, la cual es una de las características deseables en los polímeros que son factibles para ser usados como soporte de sistemas farmacéuticos.

La síntesis de PLA y PLGA es afectada por la entrada de aire al sistema debido a la humedad por lo que las reacciones se deben efectuar al alto vacío ó en atmósfera de nitrógeno, en este estudio se verificó que el uso de atmósfera de nitrógeno permitió la obtención de polímeros del peso molecular deseado.

Se observó que la relación entre la concentración de catalizador y peso molecular no es lineal, por lo que si se requiere controlar el peso molecular variando la concentración del catalizador esta se dificulta de cierta forma, más aún, los compuestos organometálicos de estaño son considerados tóxicos, por lo que es importante mantener la concentración de catalizador lo más baja posible considerando la importancia de la toxicidad si se requiere hacer uso de éstos poliésteres en sistemas farmacéuticos.

Se determinó que el tiempo de reacción también es un factor que afecta la síntesis de los PLGAs y por consiguiente su peso molecular, sin embargo, debido que la relación que guardan no presenta una tendencia clara, este no puede ser usado para fines de control en la síntesis.

En la síntesis de PLA y PLGA se logró establecer que es posible el control del peso molecular mediante la adición de alcohol (lauril alcohol). El control del peso molecular puede lograrse fácilmente por la adición de una cierta cantidad de alcohol (lauril alcohol), debido a que existe una relación lineal log-log entre la cantidad de lauril alcohol adicionada y el peso molecular obtenido, por lo que un aumento en la cantidad de alcohol conduce a un decremento en el peso molecular.

## **B I B L I O G R A F I A**

---

**Bibliografia**

- 1.- X. S. Wu, in: *Enciclopedia Handbook of Biomaterials and Bioengineering, Part A: Materials*, D. L. Wise, D. J. Trantolo, D. E. Altobelli, M. J. Yaszemski, J. D. Gresser and E. R. Schwartz (Eds), p. 1015. Marcel Dekker, New York (1995).
- 2.- Kulkarni, R. K.; Pani, K. C.; Newman, C.; Leonard, F. *Arch. Surg.* **1966**, *154*, 148.
- 3.- Schneider, A. K. U. S. Patent, 3,636,956, 1972.
- 4.- Schmitt. E. E.; Polistina, R. A. U. S. Patent, 3,463,158, 1969.
- 5.- Y. Ogawa, M. Yamamoto, S. Takada, H. Okada and T. Shimamoto, *Chem. Pharm. Bull.* **36**, 1502 (1988).
- 6.- B. J. A. Furr and F. G. Hutchinson, *J. Control Rel.* **21**, 117 (1992).
- 7.- S. Pulapura and J. Kohn, *J. Biomater. Appl.* **6**, 216 (1992).
- 8.- A. U. Daniels, M. K. O. Chang and K. P. Andriano, *J. Appl. Biomater.* **1**, 57 (1990).
- 9.- N. Wang and X. S. Wu, *J. Biomater. Sci. Polymer Edn* **9**, 75 (1997).
- 10.- M. Asano, H. Fukuzaki, M. Yoshida, M. Kumakura, T. Máximo, H. Yuasa, K. Imai and H. Yamanaka, *Drug Design Delivery* **5**, 301 (1990).
- 11.- H. Okada, T. Heya, Y. Ogawa and T. Shimamoto, *Chem. Pharm. Bull.* **36**, 1502 (1988).
- 12.- F. G. Hutchinson and B. J. A. Furr, *J. Control. Rel.* **13**, 279 (1990).
- 13.- Yolles, S.; Eldridge, J. E.; Woodland, J. H. R. *Polymer News* **1971**, *1*, 9.
- 14.- Yolles, S. *Polym. Sci. Technol.* **1975**, *8*, 245.
- 15.- Holland, S.J. and Tighe, B. J., in *Advances in Pharmaceutical Sciences*, Vol. 6, Academic, San Diego, CA, 1992, chap. 4, p. 101.
- 16.- Jamshidi K, Hyon S-H, Ikada Y (1988) *Polymer* 29:2229.
- 17.- Frazza EJ, Schmitt EE (1971) *J Biomed Mater Res Symp* 1:43.

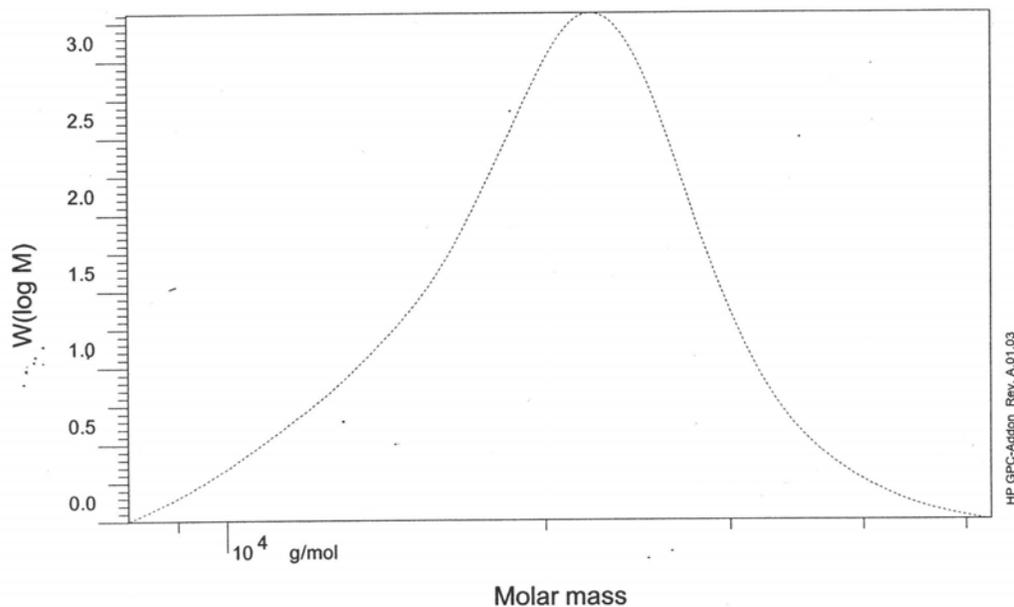
- 18.- Grijpma D, Pennings AJ (1994) *Macromol Chem Phys* 195:1633
- 19.- Wu XS. Synthesis and properties of biodegradable lactic/glycolic acid polymers.  
In: Wise et al., editors. *Encyclopedic Handbook of Biomaterials and Bioengineering*.  
New York: Marcel Dekker, 1995. p. 1015-54.
- 20.- Lewis DH. Controlled release of bioactive agents from lactide/glycolide polymers. In:  
Chasin M, Langer R, editors. *Biodegradable polymers as drug delivery systems*. New  
York: Marcel Dekker, 1990. p. 1-41.
- 21.- Kitchell JP, Wise DL. Poly(lactic/glycolic acid) biodegradable drug-polymer matrix  
systems. *Methods Enzymol* 1985; 112:436-48.
- 22.- Gilding DK, Reed AM. Biodegradable polymers for use in surgery.  
Poly(glycolic)/poly(lactic acid) homo and copolymers. *Polymer* 1979;20:1459-64.
- 23.- G. Spenlehauer, J. P. Benoit and M. Veillard, *J. Pharm. Sci.* **75**, 750 (1986).
- 24.- J. W. Fong, H. V. Maulding, G. E. Visscher, J. P. Nazareno and J. E. Pearson, in:  
*Controlled-Release Technology: Pharmaceutical Applications*, ACS Symposium  
Series 348, P.I. Lee and W. R. Good (Eds), p. 214. American Chemical Society,  
Washington, DC (1987).
- 25.- J. P. Benoit, in: *Drug Targeting*, P. Buri and A. Gumma (Eds), p. 149. Elsevier  
Science, Amsterdam (1988).
- 26.- G. Spenlehauer, M. Vert, J. P. Benoit and A. Boddart, *Biomaterials* **10**, 557 (1989).
- 27.- R. L. Dunn, J. P. English, J. D. Strobel, D. R. Cowsar and T. R. Tice, in: *Polymers in  
Medicine III*, C. Migliaresi, L. Nicolais, P. Guisti and E. Chiellini (Eds), p. 149.  
Elsevier Science, Amsterdam (1988).
- 28.- Alejandro Sánchez, José L. Vila-jato and Maria J. Alonso, *Int. J. Pharm.* **99**, 263  
(1993).

- 
- 29.- G. S. Kumar, *Biodegradable Polymers: Prospects and Progress*, p. 44. Marcel Dekker, New York (1987).
- 30.- W. Schnabel, *Polymer Degradation – Principles and Practical Applications*, p.179. Hanser International, Germany (1981).
- 31.- R. L. Kronental, in : *Polymer Science and Technology*, Vol. 8, *Polymers in Medicine and Surgery*, R. L. Kronental, Z. Oser and E. Marin (Eds), p. 119. Plenum Press, New York (1975).
- 32.- Jalil R, Nixon JR. Biodegradable poly(lactic acid) and poly(lactide-co-glycolide) microcapsules: problems associated with preparative techniques and release properties. *J. Microencapsulation* 1990;7:297-325.
- 33.-Tice TR, Tabiti ES. Parenteral drug delivery: fundamentals optimization, applications. New York: Marcel Dekker, 1991. p. 315-19.
- 34.- Thies C, Bissery M.C. Biodegradable microspheres for parenteral administration. In: Lim F, editor. *Biomedical applications of microencapsulation*. Boca Raton, FL:CRC Press, 1984. p.53-74.
- 35.- Jashimidi K, Hyon SH, Ikada Y. Thermal characterization of polylactides. *Polymer* 1988;29:2229-34.
- 36.-Degee P, Dubois P, Jerome R (1997) *Macromolcehem Phys* 198:1985.
- 37.-Pitt C, Gu Z-W (1987)*J. Controlled Release* 4:283.
- 38.- Jerome R, Henriouille-Granville M, Boutevin B, Robin J.J (1991)*Prog Polym Sci*.
- 39.- Sosnowski S, Gadzinowski M, Slomkowski S (1996) *Macromolecules* 29:4556
- 40.- Gadzinowski M, Sosnowski S, Slomkowski S (1996) *Macromolecules* 29:6404
- 41.- Cohen S, Alonso MJ, Langer R. Novel approaches to controlled – release antigen delivery. *Int. J. Technol. Assessment Health Care* 1994; 10(1):121-30.
-

- 
- 42.- Cherdron H, Ohse H, Korte F (1962) *Makromol Chem* 56:179
- 43.- Jérôme R, Teyssié P (1989) In: Eastmond GC, Ledwith A, Russo S, Sigwalt P (eds), *Comprehensive polymer science*. 1989, 3(1):501
- 44.- Penczek S, Slomkowski S (1987) *Progress in anionic ring-opening polymerization*. In: Hogen-Esch T, Smid J (eds), *Recent advances in anionic polymerization*. Elsevier, New York, Chap 19:275
- 45.- Jedlinski Z, Kurcok P, Kowalczyk M (1985)
- 46.- Löfgren A, Albertsson A-C, Dubois P, Jérôme R (1995) *J Macromol Sci Rev Macromol Chem Phys* C35(3):379
- 47.- Mecerreyes D, Jérôme R, Dubois P (1999) *Adv Polym Sci* 147:1
- 48.- Löfgren A, Albertsson A-C, Dubois P, Jérôme R, Teyssié P (1994) *Macromolecules* 27:5556
- 49.- Degée P, Dubois P, Jacobsen S, Fritz H-G, Jérôme R (1999) *J Polym Sci Polym Chem* 37:2413
- 50.- Kowalski A, Duda A, Penczek S (1998) *Macromolecules* 31:2114
- 51.- Dubois P, Ropson N, Jérôme R, Teyssié P (1996) *Macromolecules* 29:1965
- 52.- Bero M, Kasperczyk J (1996) *Macromol Chem Phys* 197:3251
- 53.- Kowalski A, Duda A, Penczek S (1998) *Macromol Rapid Commun* 19:567
- 54.- Löfgren, A.; Albertsson, A. C.; Dubois, P.; Jerome, R. *Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. Phys.* **1995**, C35, 379.
- 55.- Rafler, G.; Dahlmann, J. *Acta Polym.* **1992**, 43, 91.
- 56.- Choi, Y. K.; Bae, Y. H.; Kim, S. W. *Macromolecules* **1998**, 31, 8766.
- 57.- Jamshidi K, Hyon S-H, Ikada Y (1988) *Polymer* 29:2229
- 58.- S. H. Hyon, K. Jamshidi and Y. Ikada, *Biomaterials* **18**, 1503(1997)
-

- 59.-F. E. Kohn, J. W.A. Van Den Berg, G. Van De Ridder and J. Feijen, *J. Appl. Polym. Sci.* **29**, 4265 (1984).
- 60.-J. Nieuwenhuis, *Clin. Mater.* **10**, 47 (1992).
- 61.-Nuo Wang, Xue Shen Wu, Chao Le and Mei Fang Feng, *j. Biomater. Sci. Polymer Edn*, Vol. 11. No.3. pp. 301-318 (2000).
- 62.- R. K. Agarwal, D. H. Robinson, G. I. Maze, R. A. Reinhardt, *J. Controlled Release*, 23 (1993) 137-146.
- 63.- S. S. Shah, Y. Cha, and C. G. Pitt, *J. Controlled Release* 18, (1992) 261-270.
- 64.- Frazza, E. J.; Schmitt, E. E. *J. Biomed. Mater. Res. Symp.* **1971**, 1,43.
- 65.- Korenthal, R.L. Biodegradable polymers in medicine and surgery, In *Polymers in medicine and surgery*; Korenthal , R.L., Oser, Z., Martin, E., Eds.;Plenum Presss: New York, 1975;p119.
- 66.- Leenslag, J. W.;Pennings, A. J.; Bos, R.R. M.;Rozema, F. R.; Boering, G. *Biomaterials* **1987**, 8, 311.

<b>Sample :</b>	DLS1G02		
<b>Calibration file :</b>	E:\HPCHEM\1\DATA\CAL05\Calibracion140905_1.CAL		
<b>Integration from:</b>	6.372 ml	<b>Integration to :</b>	7.357 ml
<b>MHK - A (Cal.):</b>	1.000E+0	<b>MHK - K (Cal.):</b>	0.000E+0 ml/g
<b>Eluent :</b>	not defined	<b>Flowrate :</b>	1.000 ml/min
<b>Concentration :</b>	1.000 g/l	<b>Inject volume :</b>	20.000 ul
<b>Column 1 :</b>	PLGel MIXED C	<b>Temperature :</b>	0.000 C
<b>Detector 1 :</b>	RID A, Refractive Index Signal	<b>Delay volume :</b>	0.000 ml
<b>Operator :</b>	PAOLA	<b>Acquisition interval :</b>	0.430 sec

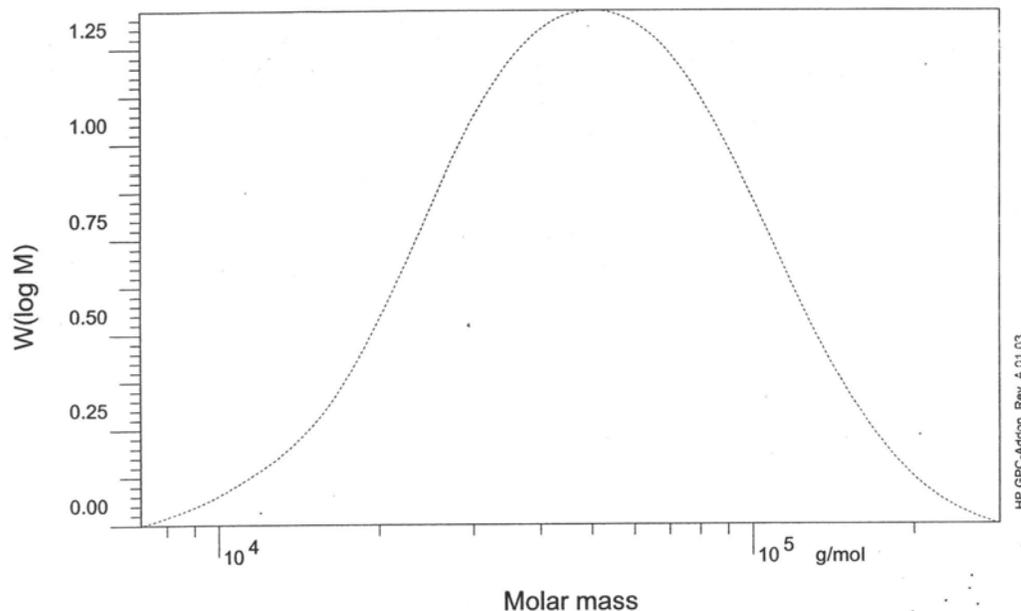


rid1A

<b>Mn :</b>	1.9618e4	g/mol
<b>Mw :</b>	2.1583e4	g/mol
<b>Mz :</b>	2.3579e4	g/mol
<b>Mv :</b>	2.1583e4	g/mol
<b>D :</b>	1.1002e0	
<b>[n]:</b>	0.000000	ml/g
<b>Vp :</b>	6.8327e0	ml
<b>Mp :</b>	2.2099e4	g/mol
<b>A :</b>	3.0735e2	ml*V
<b>10%</b>	1.3437e4	g/mol
<b>30%</b>	1.7944e4	g/mol
<b>50%</b>	2.1111e4	g/mol
<b>70%</b>	2.4334e4	g/mol
<b>90%</b>	2.9920e4	g/mol

**Path :** E:\HPCHEM\1\DATA\PAOLA\14110524.D  
**Date :** Monday 11/14/05 19:09:25

**Sign :**



<b>Sample :</b>	DLS4G01	<b>Integration to :</b>	7.417 ml
<b>Calibration file :</b>	Calibracion140905_1.CAL	<b>MHK - K (Cal.):</b>	0.000E+0 ml/gr
<b>Integration from:</b>	5.545 ml	<b>Flowrate :</b>	1.000 ml/min
<b>MHK - A (Cal.):</b>	1.000E+0	<b>Inject volume :</b>	20.000 ul
<b>Eluent :</b>	not defined	<b>Temperature :</b>	23.000 C
<b>Concentration :</b>	1.000 g/l	<b>Delay volume :</b>	0.000 ml
<b>Column 1 :</b>	....?	<b>Acquisition interval :</b>	0.430 sec
<b>Detector 1 :</b>	RID A, Refractive Index Signal		
<b>Operator :</b>	PAOLA		

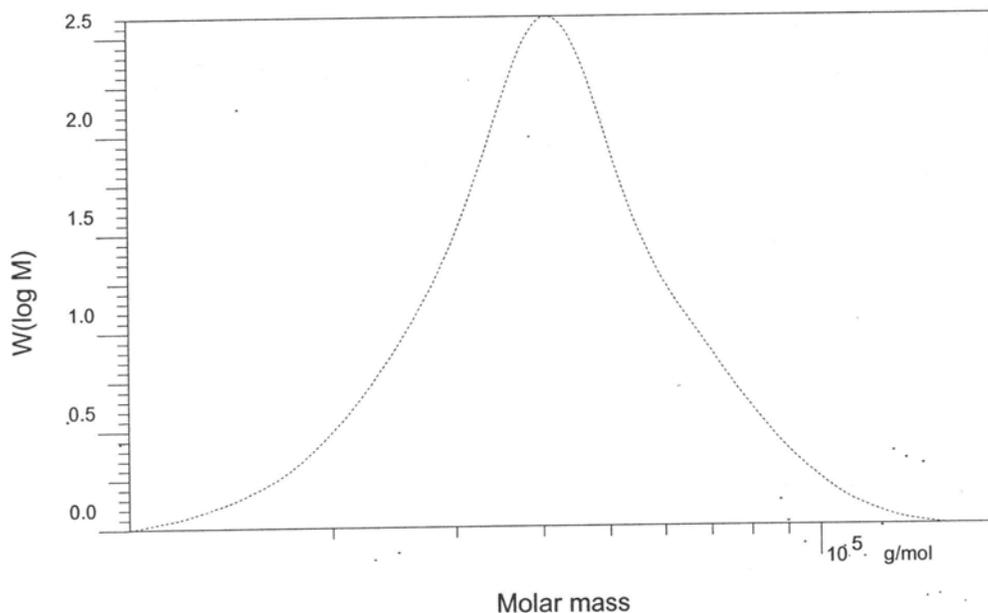
rid1A

<b>Mn :</b>	4.0334e4	g/mol
<b>Mw :</b>	6.0096e4	g/mol
<b>Mz :</b>	8.5528e4	g/mol
<b>Mv :</b>	6.0096e4	g/mol
<b>D :</b>	1.4900e0	
<b>[n]:</b>	0.000000	ml/g
<b>Vp :</b>	6.3792e0	ml
<b>Mp :</b>	5.2096e4	g/mol
<b>A :</b>	1.8094e3	ml*V
<b>10% :</b>	2.1535e4	g/mol
<b>30% :</b>	3.4976e4	g/mol
<b>50% :</b>	4.9792e4	g/mol
<b>70% :</b>	7.0763e4	g/mol
<b>90% :</b>	1.1296e5	g/mol

**Path :** E:\HPCHEM\1\DATA\PAOLA\23020623.D  
**Date :** Thursday 02/23/06 17:28:42

**Sign :**

<b>Sample :</b>	DLS3G01	<b>Integration to :</b>	7.239 ml
<b>Calibration file :</b>	E:\HPCHEM1\DATA\CAL05\Calibracion140905_1.CAL	<b>MHK - K (Cal.):</b>	0.000E+0 ml/g
<b>Integration from:</b>	5.764 ml	<b>Flowrate :</b>	1.000 ml/min
<b>MHK - A (Cal.):</b>	1.000E+0	<b>Inject volume :</b>	20.000 ul
<b>Eluent :</b>	not defined	<b>Temperature :</b>	0.000 C
<b>Concentration :</b>	1.000 g/l	<b>Delay volume :</b>	0.000 ml
<b>Column 1 :</b>	PLGel MIXED C	<b>Acquisition interval :</b>	0.430 sec
<b>Detector 1 :</b>	RID A, Refractive Index Signal		
<b>Operator :</b>	GRACIELA		



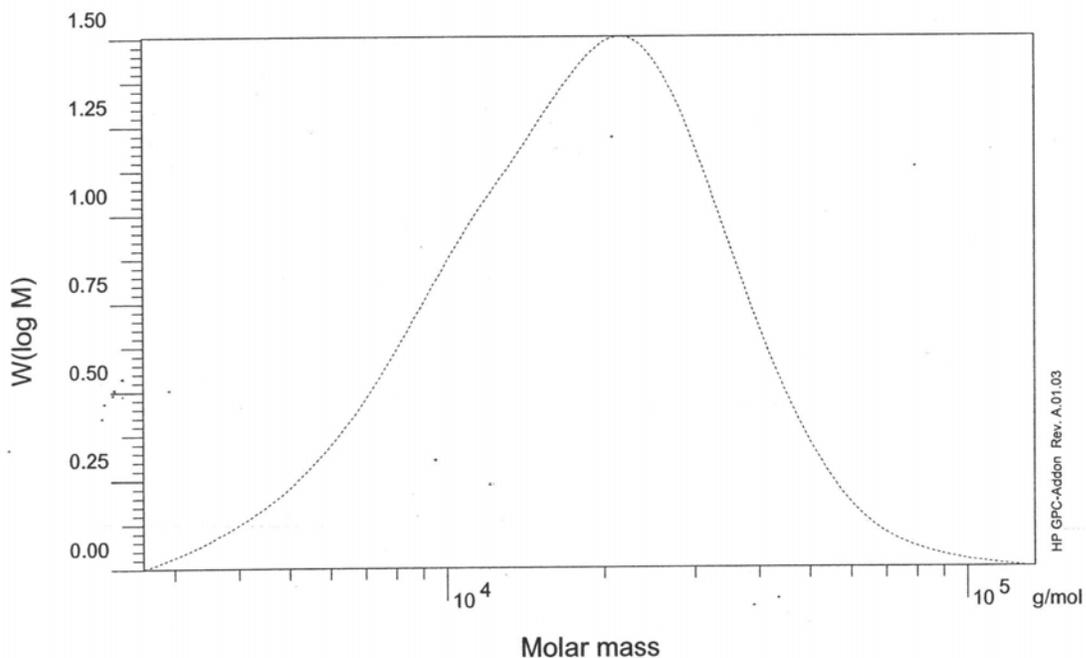
**rid1A**

<b>Mn :</b>	3.7364e4	g/mol
<b>Mw :</b>	4.4377e4	g/mol
<b>Mz :</b>	5.2471e4	g/mol
<b>Mv :</b>	4.4377e4	g/mol
<b>D :</b>	1.1877e0	
<b>[n] :</b>	0.000000	ml/g
<b>Vp :</b>	6.5087e0	ml
<b>Mp :</b>	4.0728e4	g/mol
<b>A :</b>	1.2808e3	ml*V
<b>10% :</b>	2.3860e4	g/mol
<b>30% :</b>	3.3642e4	g/mol
<b>50% :</b>	4.0839e4	g/mol
<b>70% :</b>	4.9616e4	g/mol
<b>90% :</b>	6.9866e4	g/mol

**Path :** E:\HPCHEM1\DATA\GRACIELA\27010605.D  
**Date :** Friday 01/27/06 16:43:46

**Sign :**

<b>Sample :</b>	PLGA35G4-01	<b>Integration to :</b>	7.904 ml
<b>Calibration file :</b>	E:\HPCHEM\1\DATA\CAL05\Calibracion140905_1.CAL	<b>MHK - K (Cal.):</b>	0.000E+0 ml/g
<b>Integration from:</b>	5.896 ml	<b>Flowrate :</b>	1.000 ml/min
<b>MHK - A (Cal.):</b>	1.000E+0	<b>Inject volume :</b>	20.000 ul
<b>Eluent :</b>	not defined	<b>Temperature :</b>	0.000 C
<b>Concentration :</b>	1.000 g/l	<b>Delay volume :</b>	0.000 ml
<b>Column 1 :</b>	PLGel MIXED C	<b>Acquisition interval :</b>	0.430 sec
<b>Detector 1 :</b>	RID A, Refractive Index Signal		
<b>Operator :</b>	PAOLA		

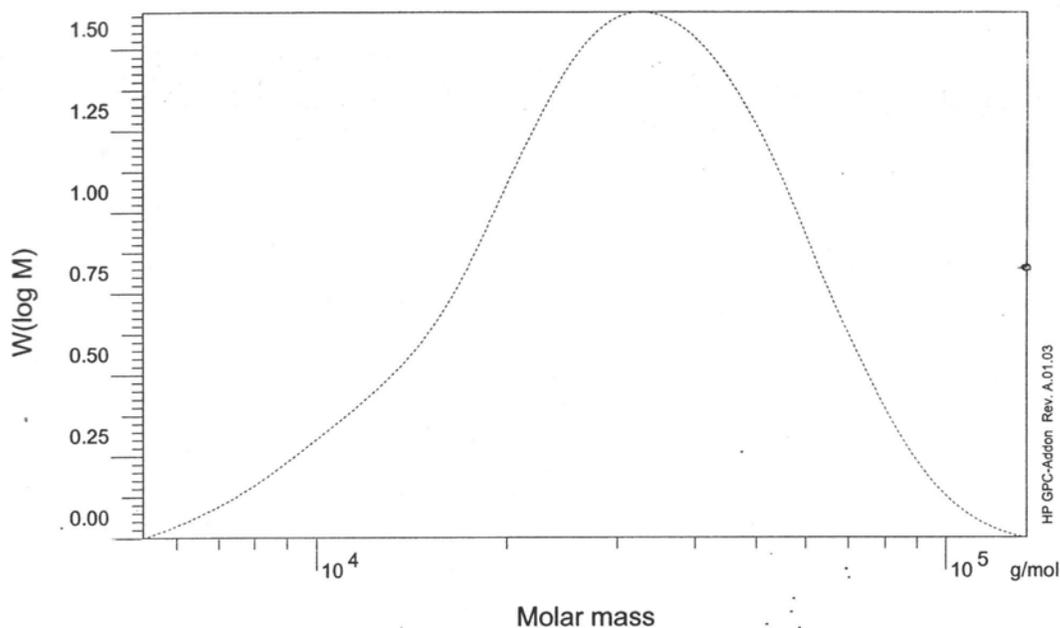


rid1A

<b>Mn :</b>	1.4663e4	g/mol
<b>Mw :</b>	2.1592e4	g/mol
<b>Mz :</b>	3.0308e4	g/mol
<b>Mv :</b>	2.1592e4	g/mol
<b>D :</b>	1.4726e0	
<b>[n] :</b>	0.000000	ml/g
<b>Vp :</b>	6.8472e0	ml
<b>Mp :</b>	2.1501e4	g/mol
<b>A :</b>	1.9332e3	ml*V
<b>10% :</b>	7.7285e3	g/mol
<b>30% :</b>	1.3116e4	g/mol
<b>50% :</b>	1.8686e4	g/mol
<b>70% :</b>	2.5500e4	g/mol
<b>90% :</b>	3.8705e4	g/mol

**Path :** E:\HPCHEM\1\DATA\PAOLA\06040608.D  
**Date :** Thursday 04/06/06 13:03:04

**Sign :**



<b>Sample :</b>	PLGA35G3-01	<b>Integration to :</b>	7.565 ml
<b>Calibration file :</b>	Calibracion140905_1.CAL	<b>MHK - K (Cal.):</b>	0.000E+0 ml/g
<b>Integration from:</b>	5.899 ml	<b>Flowrate :</b>	1.000 ml/min
<b>MHK - A (Cal.):</b>	1.000E+0	<b>Inject volume :</b>	20.000 ul
<b>Eluent :</b>	not defined	<b>Temperature :</b>	23.000 C
<b>Concentration :</b>	1.000 g/l	<b>Delay volume :</b>	0.000 ml
<b>Column 1 :</b>	....?	<b>Acquisition interval :</b>	0,430 sec
<b>Detector 1 :</b>	RID A, Refractive Index Signal		
<b>Operator :</b>	PAOLA		

**rid1A**

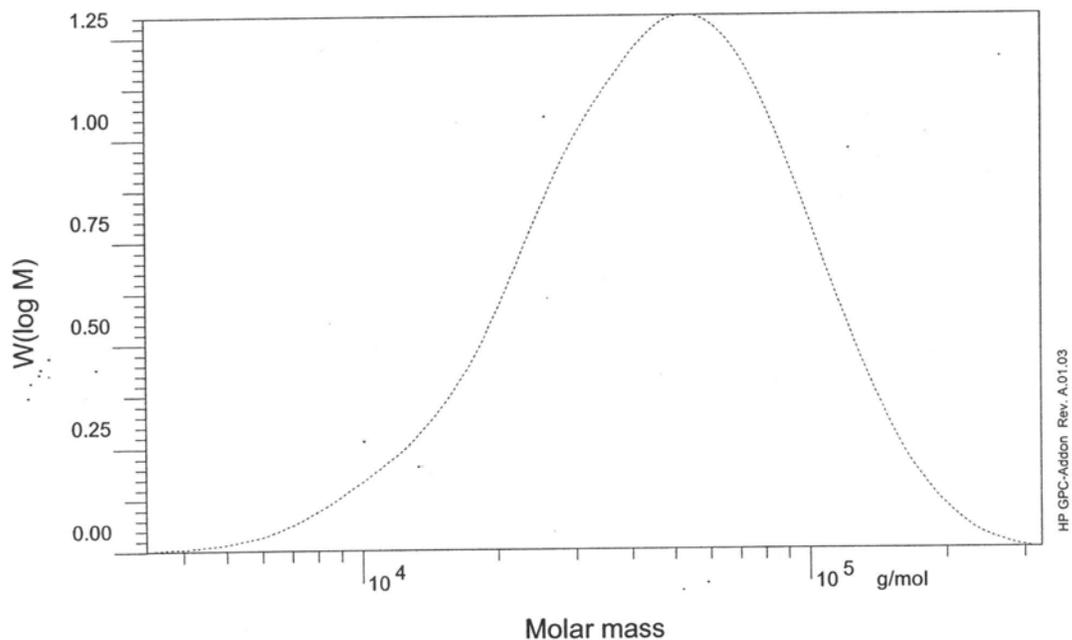
<b>Mn :</b>	2.5915e4	g/mol
<b>Mw :</b>	3.5451e4	g/mol
<b>Mz :</b>	4.5831e4	g/mol
<b>Mv :</b>	3.5451e4	g/mol
<b>D :</b>	1.3680e0	
<b>[n]:</b>	0.000000	ml/g
<b>Vp :</b>	6.6240e0	ml
<b>Mp :</b>	3.2756e4	g/mol
<b>A :</b>	1.0824e3	ml*V
<b>10%</b>	1.4197e4	g/mol
<b>30%</b>	2.3306e4	g/mol
<b>50%</b>	3.1598e4	g/mol
<b>70%</b>	4.2326e4	g/mol
<b>90%</b>	6.1864e4	g/mol

**Path :** E:\HPCHEM\1\DATA\PAOLA\06040607.D  
**Date :** Thursday 04/06/06 13:06:01

**Sign :**



<b>Sample :</b>	PLGA15G01		
<b>Calibration file :</b>	E:\HPCHEM\1\DATA\CAL05\Calibracion140905_1.CAL		
<b>Integration from:</b>	5.491 ml	<b>Integration to :</b>	7.796 ml
<b>MHK - A (Cal.):</b>	1.000E+0	<b>MHK - K (Cal.):</b>	0.000E+0 ml/g
<b>Eluent :</b>	not defined	<b>Flowrate :</b>	1.000 ml/min
<b>Concentration :</b>	1.000 g/l	<b>Inject volume :</b>	20.000 ul
<b>Column 1 :</b>	PLGel MIXED C	<b>Temperature :</b>	0.000 C
<b>Detector 1 :</b>	RID A, Refractive Index Signal	<b>Delay volume :</b>	0.000 ml
<b>Operator :</b>	GRACIELA	<b>Acquisition interval :</b>	0.430 sec



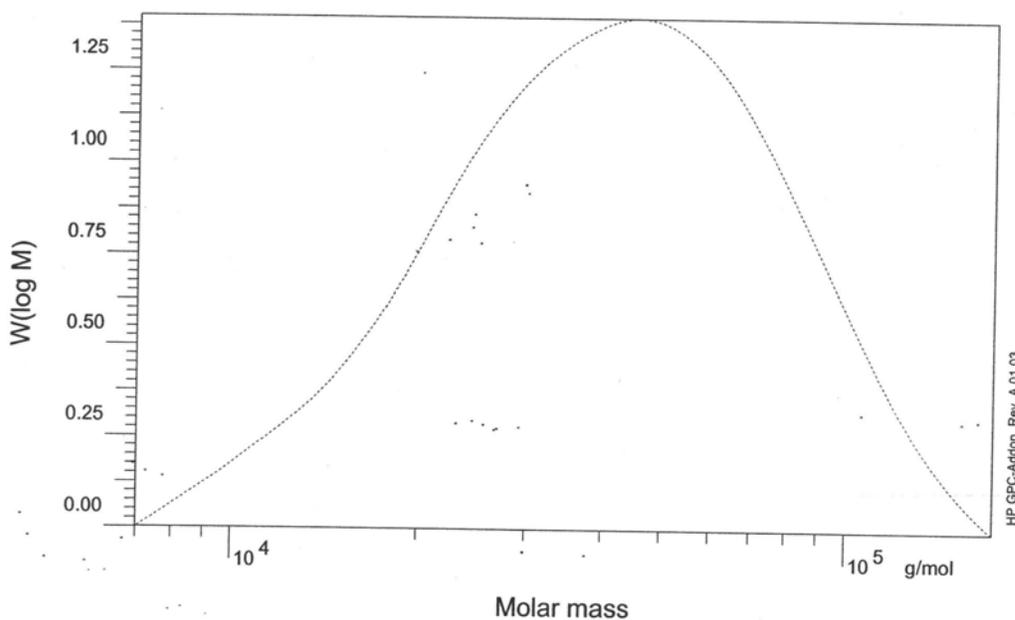
**rid1A**

<b>Mn :</b>	3.5064e4	g/mol
<b>Mw :</b>	5.7180e4	g/mol
<b>Mz :</b>	8.4030e4	g/mol
<b>Mv :</b>	5.7180e4	g/mol
<b>D :</b>	1.6307e0	
<b>[n]:</b>	0.000000	ml/g
<b>Vp :</b>	6.3503e0	ml
<b>Mp :</b>	5.5049e4	g/mol
<b>A :</b>	1.9093e3	ml*V
<b>10%</b>	1.8014e4	g/mol
<b>30%</b>	3.2313e4	g/mol
<b>50%</b>	4.7506e4	g/mol
<b>70%</b>	6.8067e4	g/mol
<b>90%</b>	1.0909e5	g/mol

**Path :** E:\HPCHEM\1\DATA\GRACIELA\27010606.D  
**Date :** Friday 01/27/06 16:47:57

**Sign :**

<b>Sample :</b>	PLGA25G02	<b>Integration to :</b>	7.427 ml
<b>Calibration file :</b>	E:\HPCHEM\1\DATA\CAL05\Calibracion140905_1.CAL	<b>MHK - K (Cal.):</b>	0.000E+0 ml/g
<b>Integration from:</b>	5.775 ml	<b>Flowrate :</b>	1.000 ml/min
<b>MHK - A (Cal.):</b>	1.000E+0	<b>Inject volume :</b>	20.000 ul
<b>Eluent :</b>	not defined	<b>Temperature :</b>	0.000 C
<b>Concentration :</b>	1.000 g/l	<b>Delay volume :</b>	0.000 ml
<b>Column 1 :</b>	PLGel MIXED C	<b>Acquisition interval :</b>	0.430 sec
<b>Detector 1 :</b>	RID A, Refractive Index Signal		
<b>Operator :</b>	PAOLA		



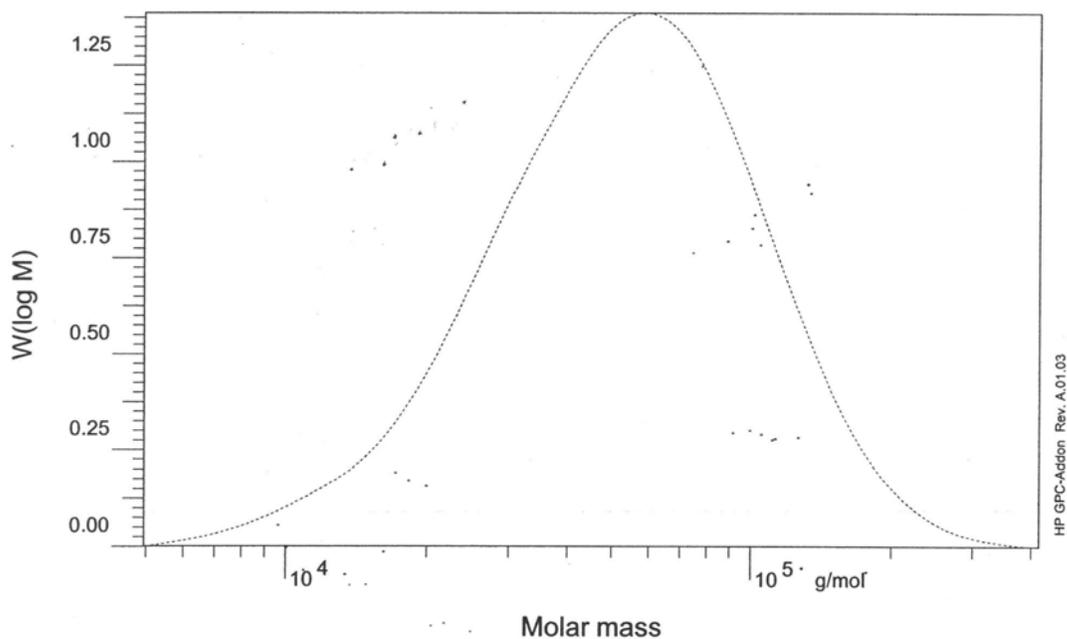
**rid1A**

<b>Mn :</b>	3.3117e4	g/mol
<b>Mw :</b>	4.7899e4	g/mol
<b>Mz :</b>	6.4778e4	g/mol
<b>Mv :</b>	4.7899e4	g/mol
<b>D :</b>	1.4464e0	
<b>[n] :</b>	0.000000	ml/g
<b>Vp :</b>	6.4438e0	ml
<b>Mp :</b>	4.6057e4	g/mol
<b>A :</b>	9.6285e2	ml*V
<b>10% :</b>	1.7531e4	g/mol
<b>30% :</b>	2.9052e4	g/mol
<b>50% :</b>	4.1322e4	g/mol
<b>70% :</b>	5.7734e4	g/mol
<b>90% :</b>	8.8139e4	g/mol

**Path :** E:\HPCHEM\1\DATA\PAOLA\23020624.D  
**Date :** Thursday 02/23/06 17:26:57

**Sign :**

<b>Sample :</b>	PLGA25G03	<b>Integration to :</b>	7.599 ml
<b>Calibration file :</b>	E:\HPCHEM\1\DATA\CAL05\Calibracion140905_1.CAL	<b>MHK - K (Cal.):</b>	0.000E+0 ml/g
<b>Integration from:</b>	5.389 ml	<b>Flowrate :</b>	1.000 ml/min
<b>MHK - A (Cal.):</b>	1.000E+0	<b>Inject volume :</b>	20.000 ul
<b>Eluent :</b>	not defined	<b>Temperature :</b>	0.000 C
<b>Concentration :</b>	1.000 g/l	<b>Delay volume :</b>	0.000 ml
<b>Column 1 :</b>	PLGel MIXED C	<b>Acquisition interval :</b>	0.430 sec
<b>Detector 1 :</b>	RID A, Refractive Index Signal		
<b>Operator :</b>	PAOLA		



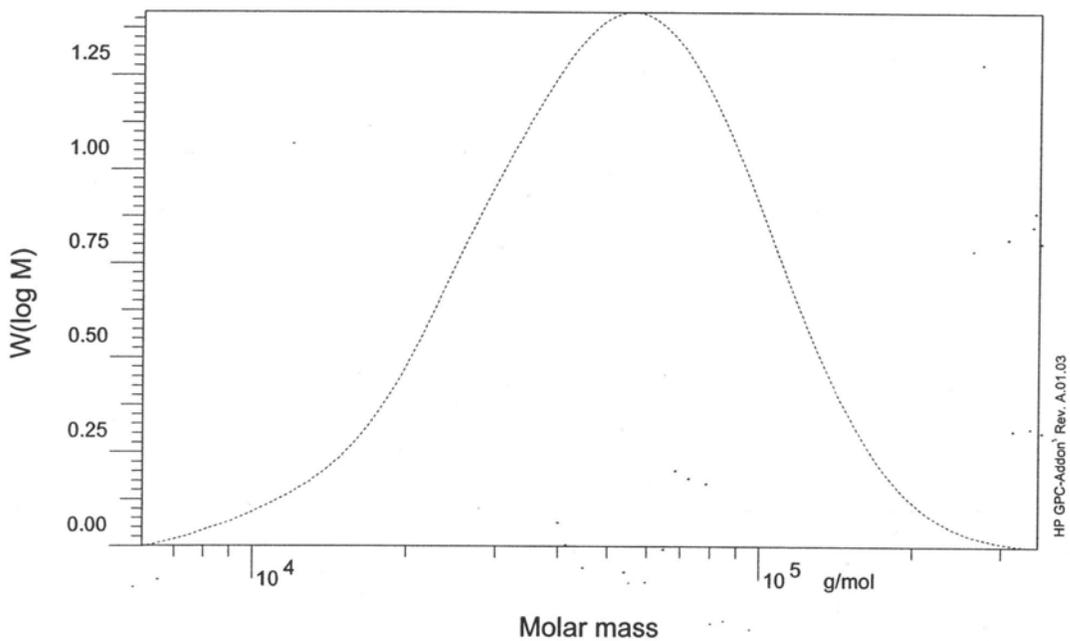
rid1A

<b>Mn :</b>	4.1166e4	g/mol
<b>Mw :</b>	6.4282e4	g/mol
<b>Mz :</b>	9.3095e4	g/mol
<b>Mv :</b>	6.4282e4	g/mol
<b>D :</b>	1.5615e0	
<b>[n]:</b>	0.000000	ml/g
<b>Vp :</b>	6.3072e0	ml
<b>Mp :</b>	5.9805e4	g/mol
<b>A :</b>	1.8357e3	ml*V
<b>10%:</b>	2.1667e4	g/mol
<b>30%:</b>	3.7607e4	g/mol
<b>50%:</b>	5.4016e4	g/mol
<b>70%:</b>	7.5783e4	g/mol
<b>90%:</b>	1.1959e5	g/mol

**Path :** E:\HPCHEM\1\DATA\PAOLA\09030601.D  
**Date :** Thursday 03/09/06 13:37:22

**Sign :**

<b>Sample :</b>	PLGA25G04	<b>Integration to :</b>	7.500 ml
<b>Calibration file :</b>	E:\HPCHEM1\DATA\CAL05\Calibracion140905_1.CAL	<b>MHK - K (Cal.):</b>	0.000E+0 ml/g
<b>Integration from:</b>	5.457 ml	<b>Flowrate :</b>	1.000 ml/min
<b>MHK - A (Cal.):</b>	1.000E+0	<b>Inject volume :</b>	20.000 ul
<b>Eluent :</b>	not defined	<b>Temperature :</b>	0.000 C
<b>Concentration :</b>	1.000 g/l	<b>Delay volume :</b>	0.000 ml
<b>Column 1 :</b>	PLGel MIXED C	<b>Acquisition interval :</b>	0.430 sec
<b>Detector 1 :</b>	RID A, Refractive Index Signal		
<b>Operator :</b>	PAOLA		



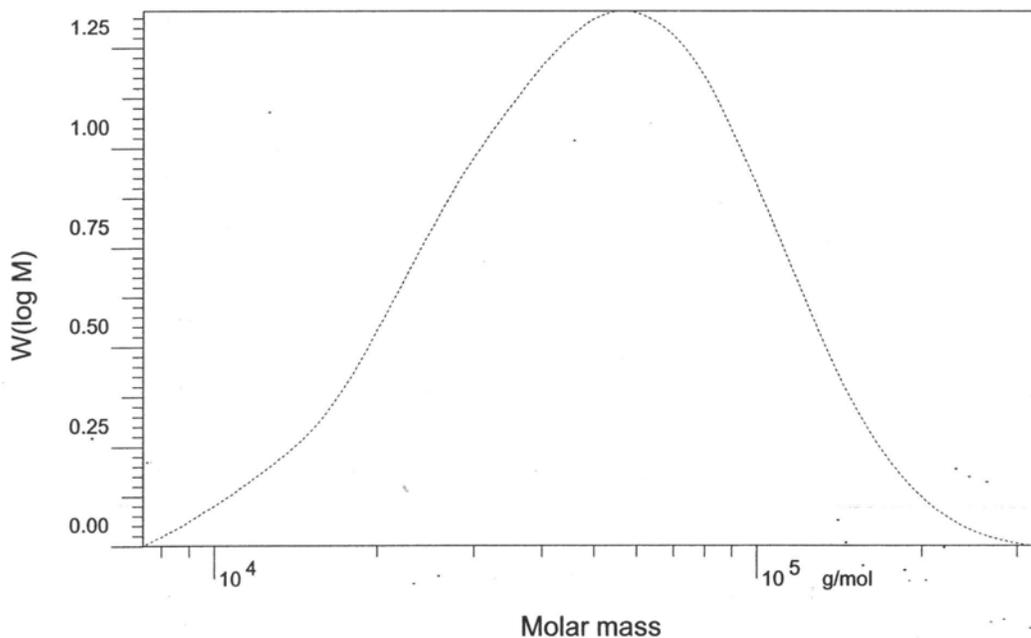
**rid1A**

<b>Mn :</b>	4.0907e4	g/mol
<b>Mw :</b>	6.1490e4	g/mol
<b>Mz :</b>	8.6912e4	g/mol
<b>Mv :</b>	6.1490e4	g/mol
<b>D :</b>	1.5032e0	
<b>[n] :</b>	0.000000	ml/g
<b>Vp :</b>	6.3287e0	ml
<b>Mp :</b>	5.7384e4	g/mol
<b>A :</b>	2.3695e3	ml*V
<b>10% :</b>	2.1800e4	g/mol
<b>30% :</b>	3.6672e4	g/mol
<b>50% :</b>	5.2080e4	g/mol
<b>70% :</b>	7.2581e4	g/mol
<b>90% :</b>	1.1329e5	g/mol

**Path :** E:\HPCHEM1\DATA\PAOLA\30030618.D  
**Date :** Thursday 03/30/06 17:09:05

**Sign :**

Sample :	PLGA25G05	Integration to :	7.400 ml
Calibration file :	E:\HPCHEM\1\DATA\CAL05\Calibracion140905_1.CAL	MHK - K (Cal.):	0.000E+0 ml/g
Integration from:	5.487 ml	Flowrate :	1.000 ml/min
MHK - A (Cal.):	1.000E+0	Inject volume :	20.000 ul
Eluent :	not defined	Temperature :	0.000 C
Concentration :	1.000 g/l	Delay volume :	0.000 ml
Column 1 :	PLGel MIXED C	Acquisition interval :	0.430 sec
Detector 1 :	RID A, Refractive Index Signal		
Operator :	PAOLA		

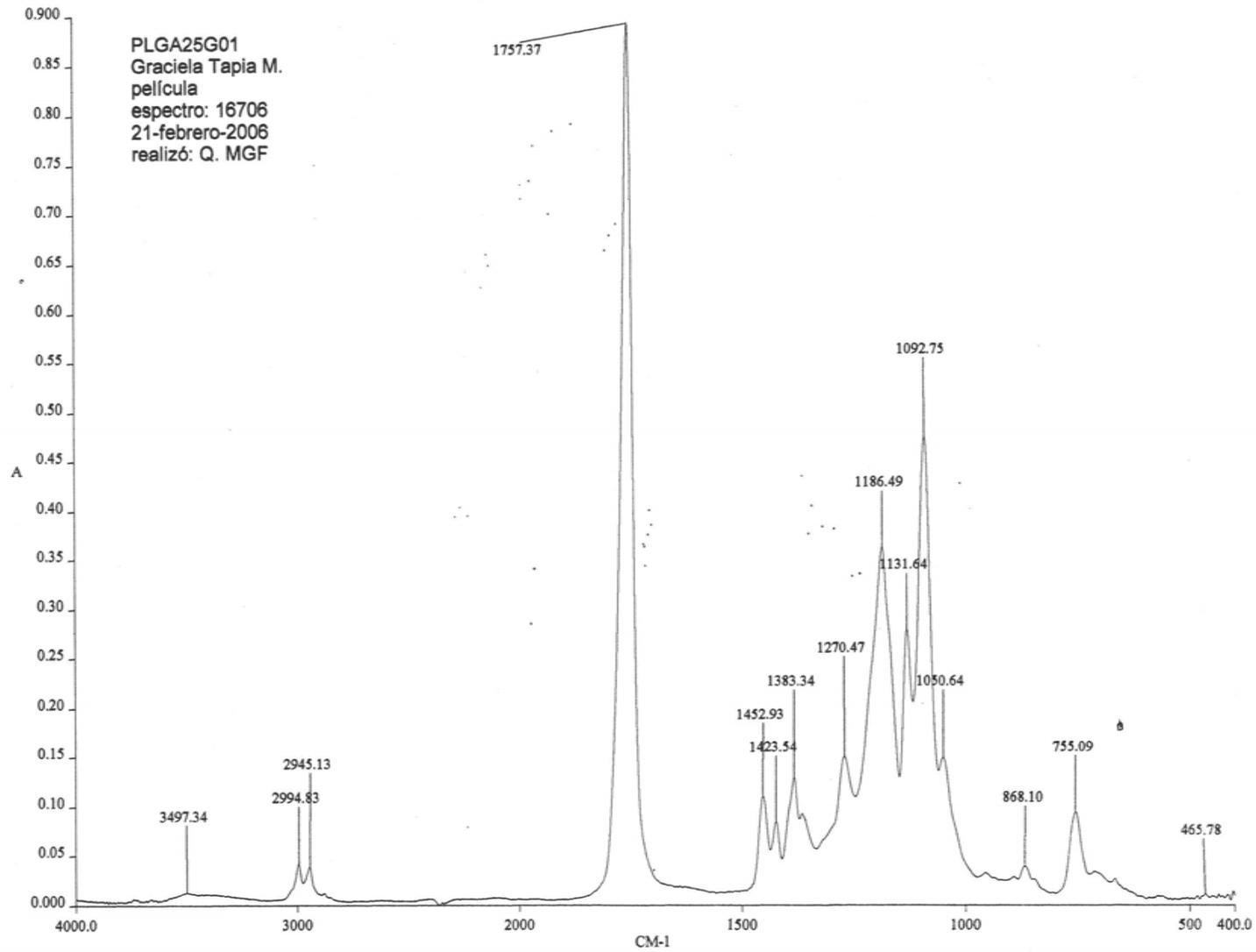


rid1A

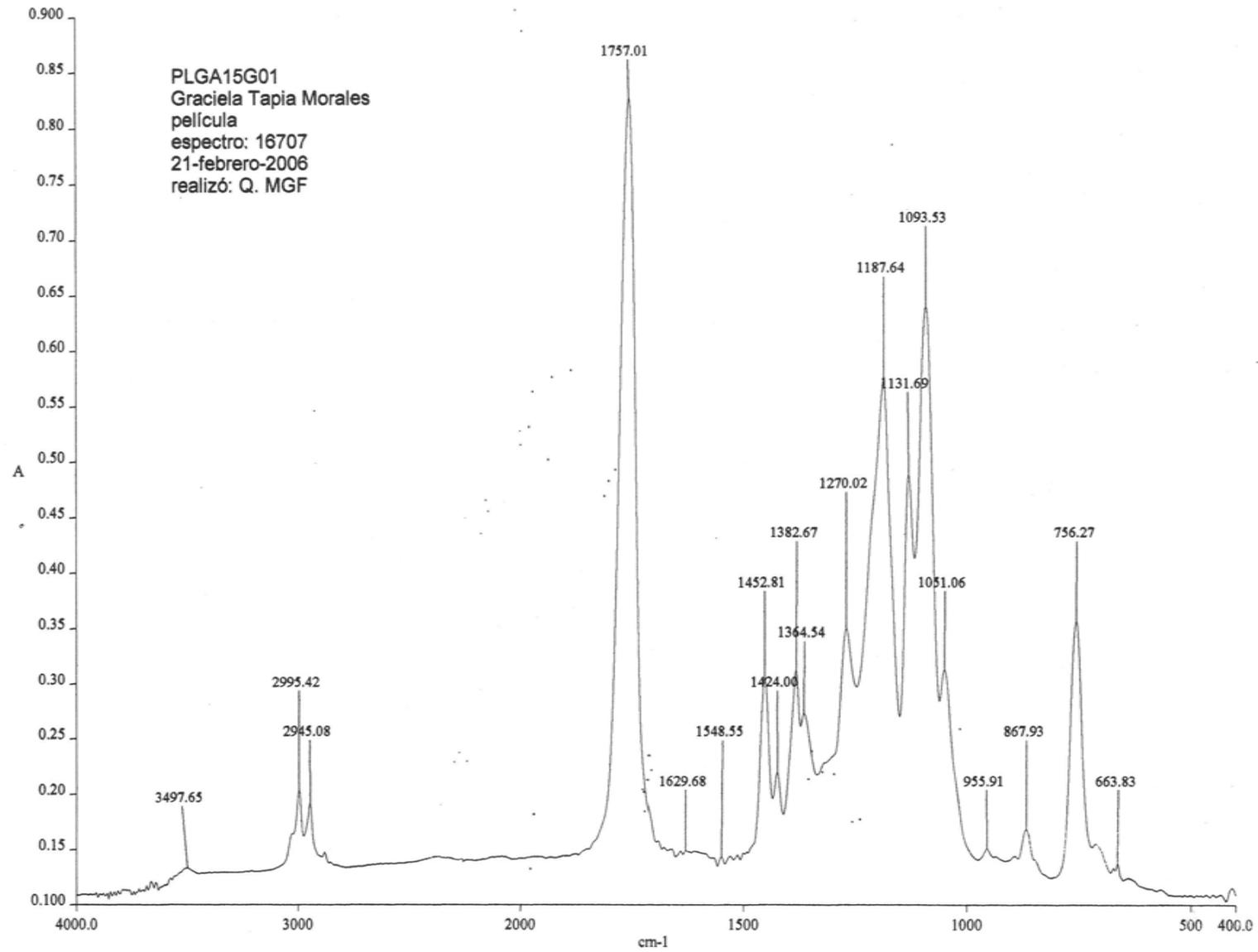
<b>Mn :</b>	4.0184e4	g/mol
<b>Mw :</b>	6.1163e4	g/mol
<b>Mz :</b>	8.7427e4	g/mol
<b>Mv :</b>	6.1163e4	g/mol
<b>D :</b>	1.5221e0	
<b>[n] :</b>	0.000000	ml/g
<b>Vp :</b>	6.3215e0	ml
<b>Mp :</b>	5.8180e4	g/mol
<b>A :</b>	1.4879e3	ml*V
<b>10% :</b>	2.0851e4	g/mol
<b>30% :</b>	3.5388e4	g/mol
<b>50% :</b>	5.1326e4	g/mol
<b>70% :</b>	7.2721e4	g/mol
<b>90% :</b>	1.1457e5	g/mol

Path : E:\HPCHEM\1\DATA\PAOLA\30030619.D  
 Date : Thursday 03/30/06 17:08:58

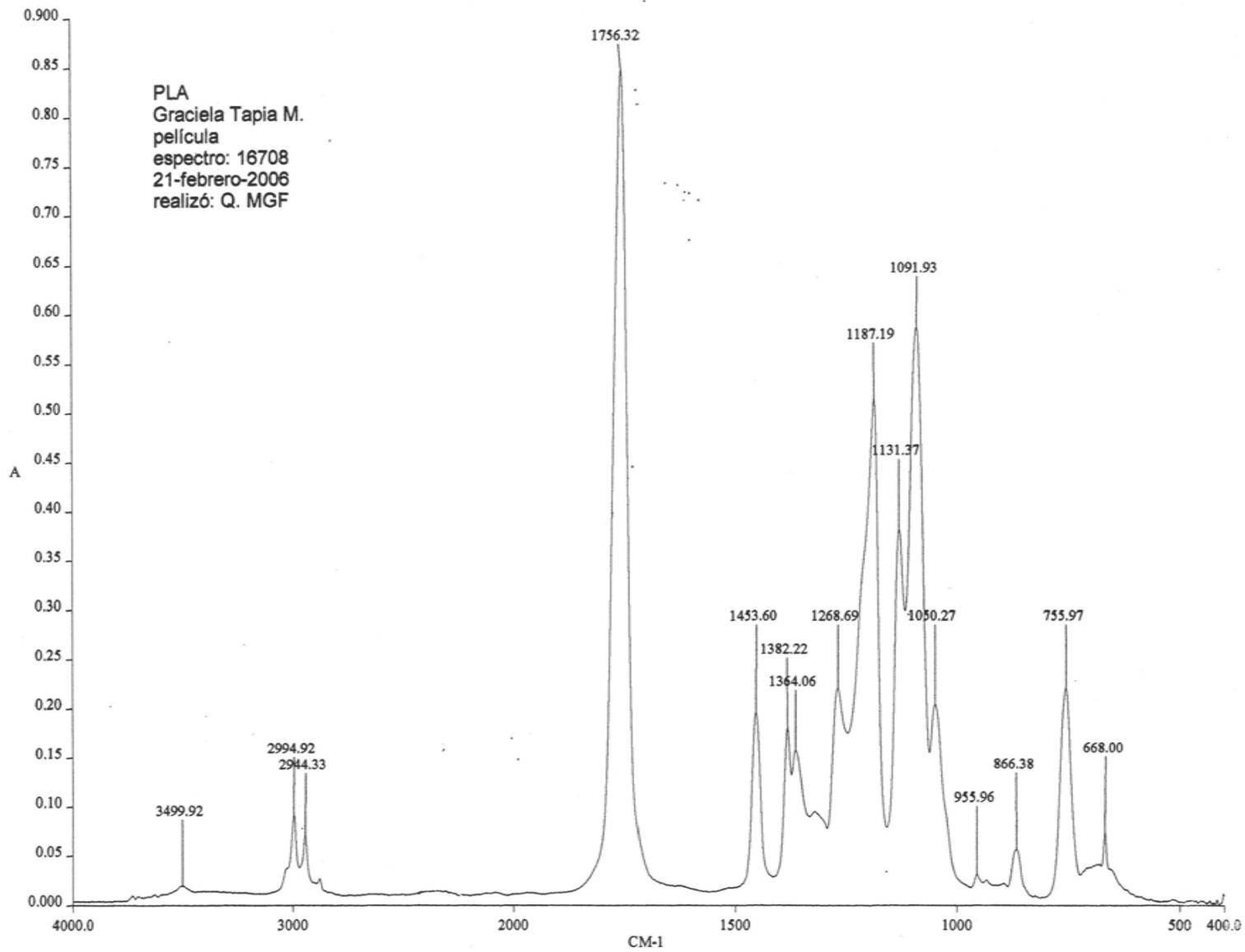
Sign :



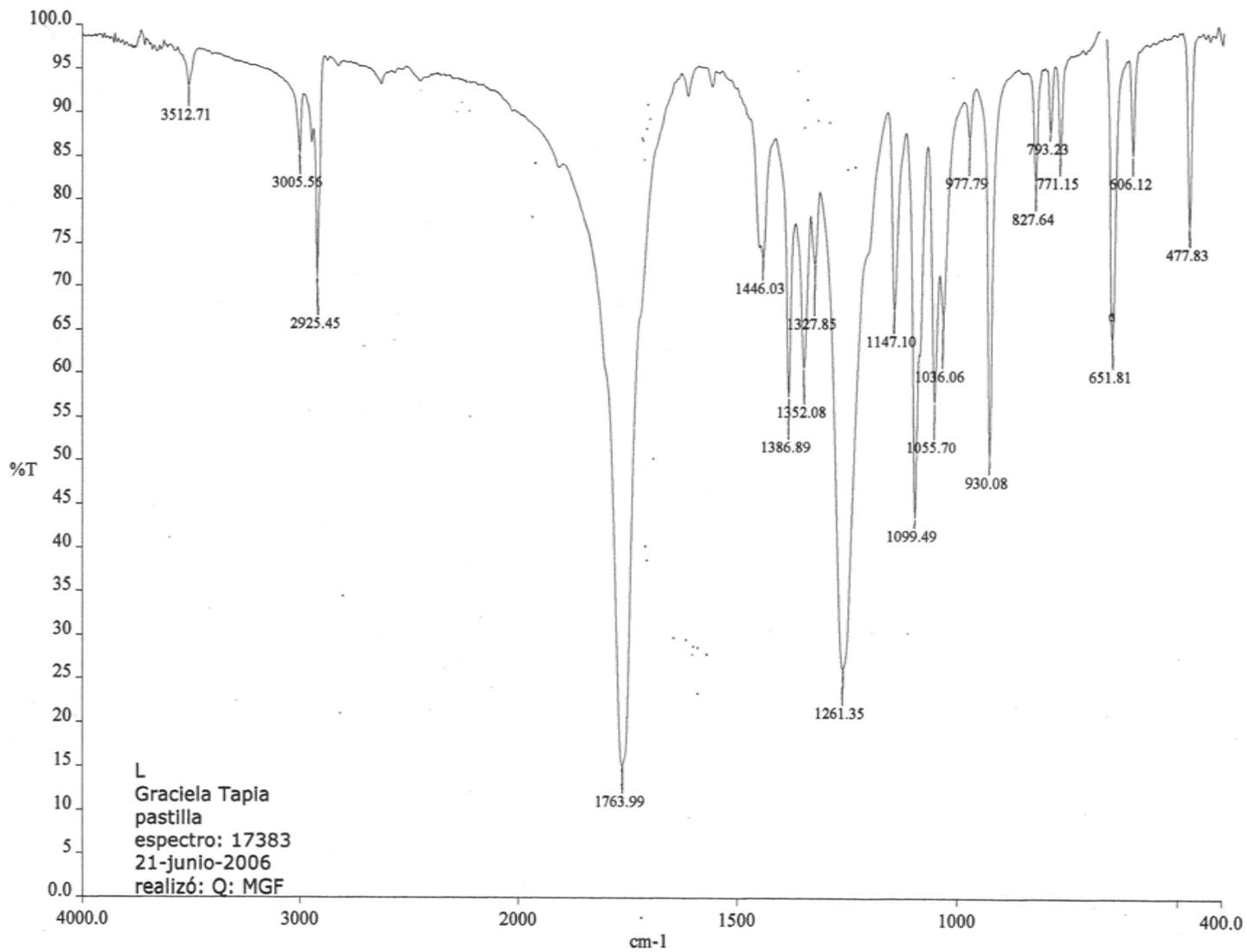
c:\pel\_data\spectra\rafael herrera\graciela tapia\16706gtm.asc - USAI, Facultad de Química, UNAM



c:\pel\_data\spectra\rafael herrera\graciela tapia\16707gtr.asc - USAI, Facultad de Química, UNAM

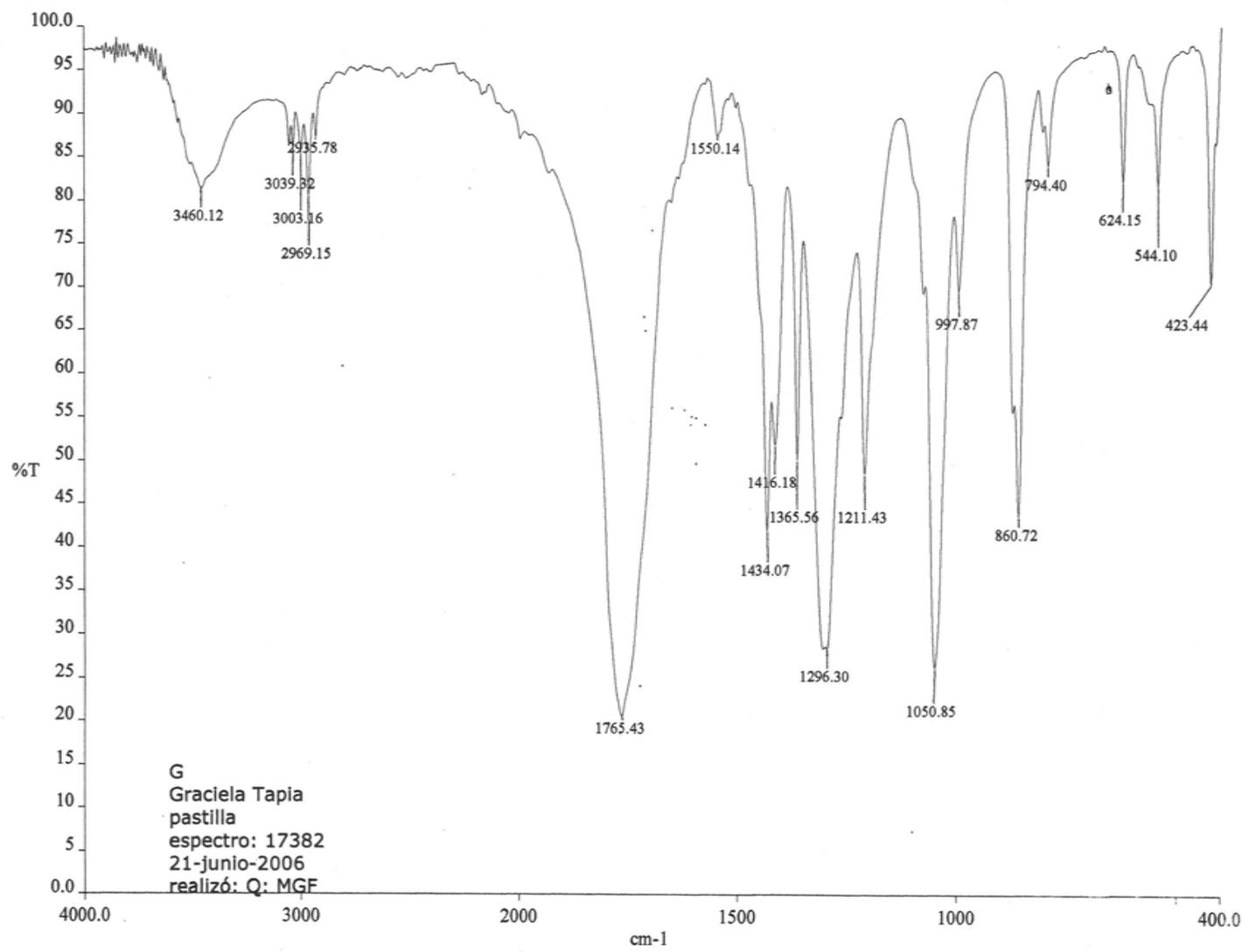


c:\pel\_data\spectra\rafael herrera\graciela tapia\16708gtm.asc - USAI, Facultad de Química, UNAM



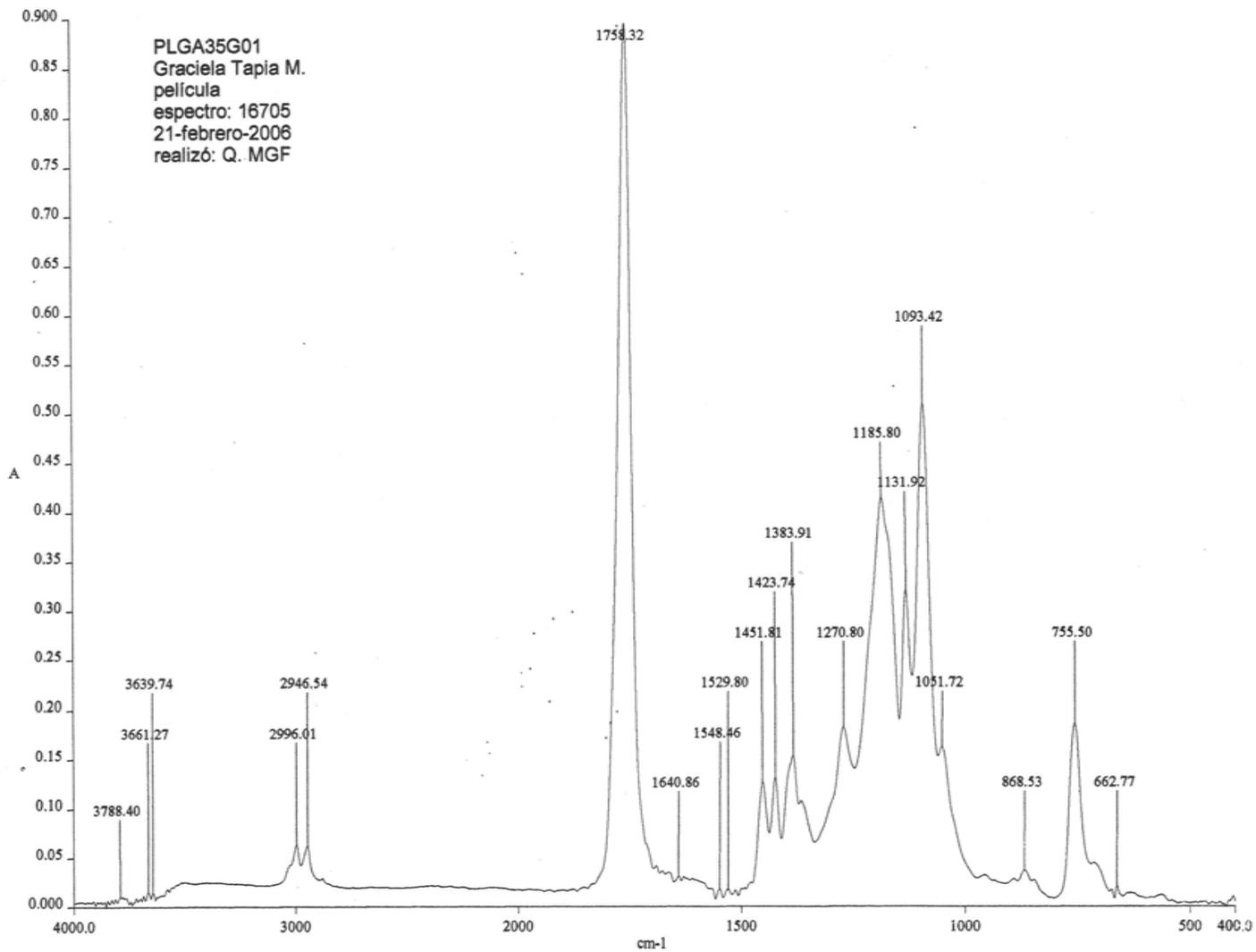
L  
 Graciela Tapia  
 pastilla  
 espectro: 17383  
 21-junio-2006  
 realizó: Q: MGF

c:\pel\_data\spectra\rafael herrera\graciela tapia\17383.asc - USAI, Facultad de Química, UNAM



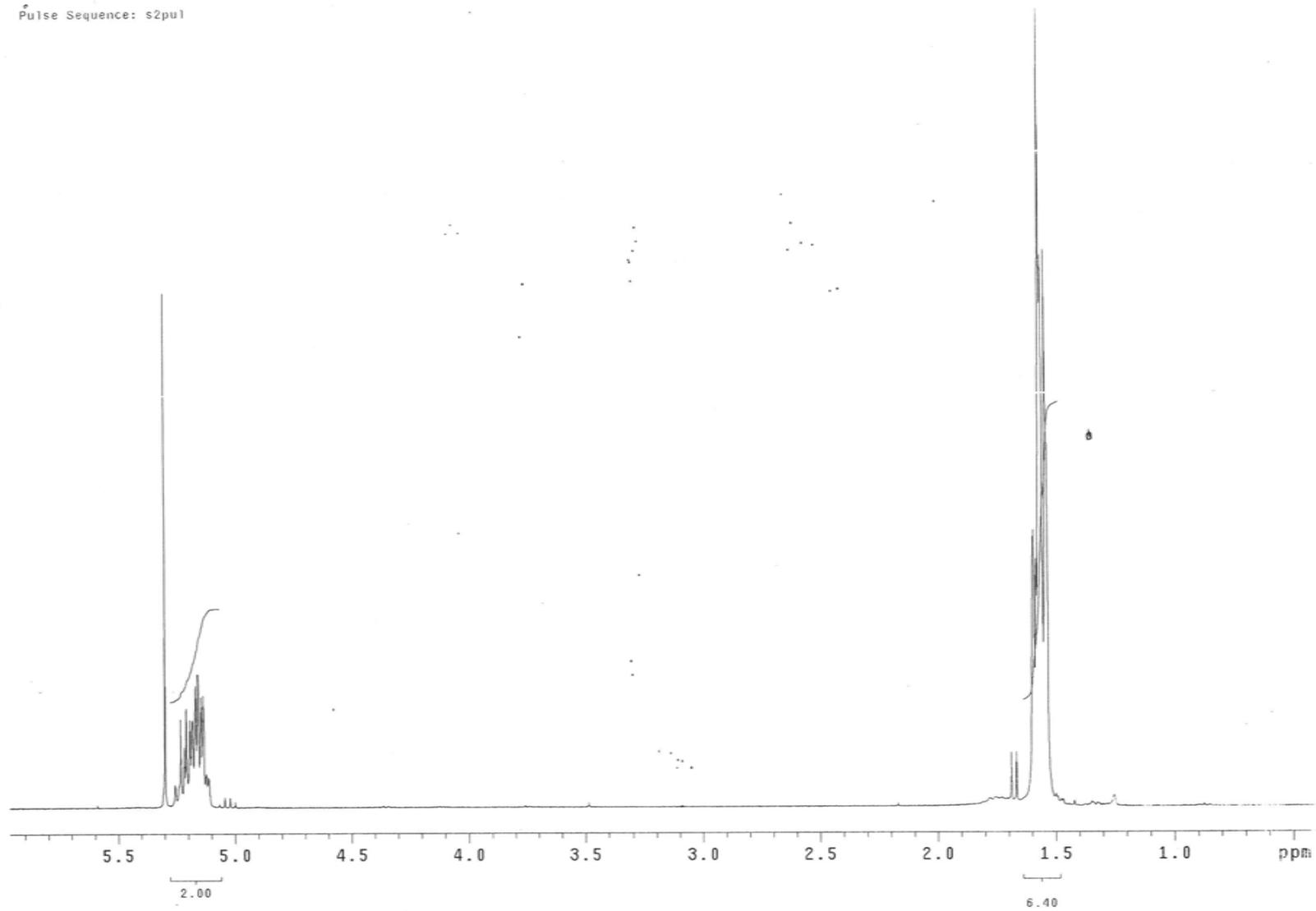
G  
 Graciela Tapia  
 pastilla  
 espectro: 17382  
 21-junio-2006  
 realizó: Q: MGF

c:\pel\_data\spectra\rafael herrera\graciela tapia\17382.asc - USAI, Facultad de Química, UNAM

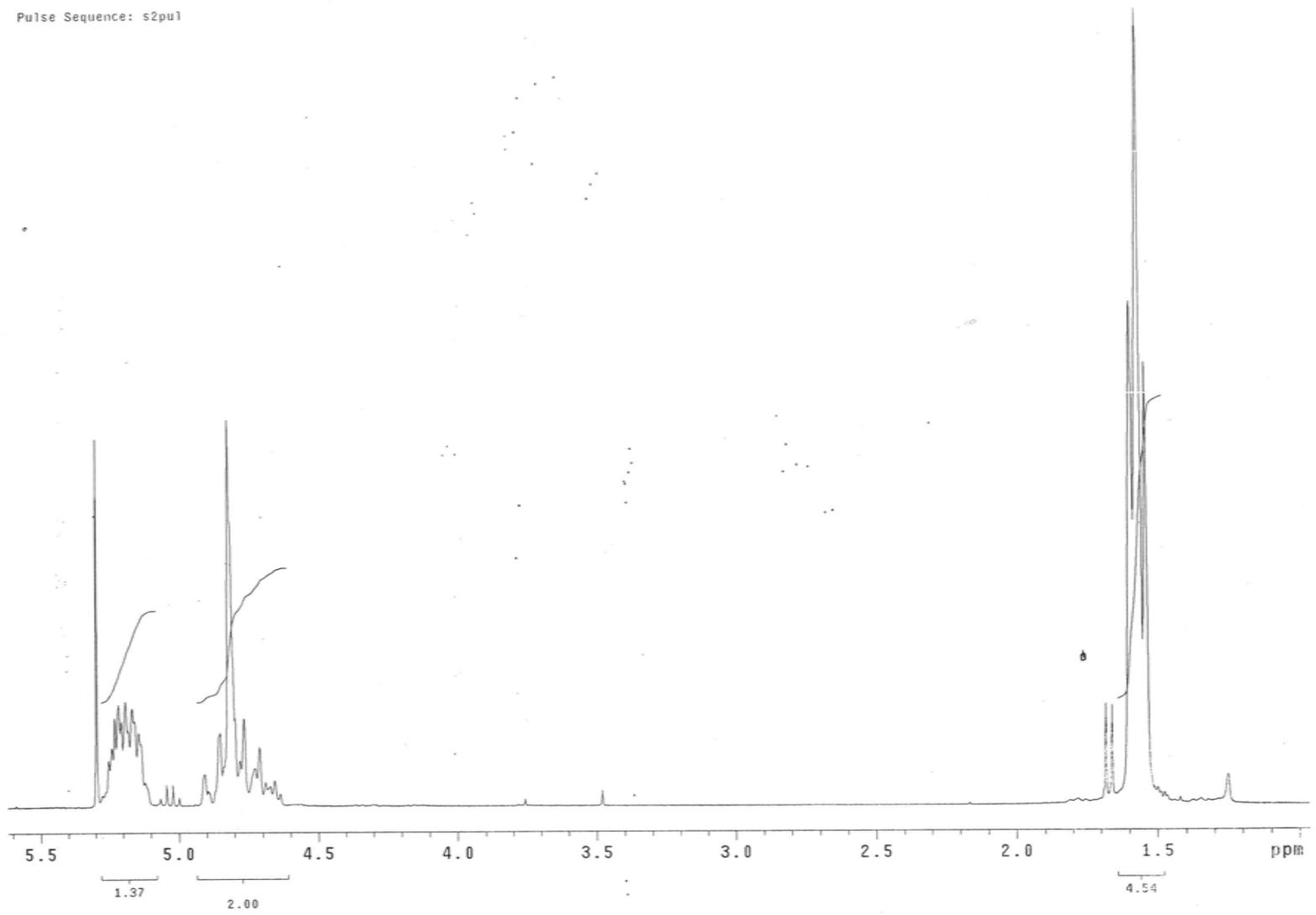


c:\pel\_data\spectra\rafael herrera\graciela tapia\16705gt.asc - USAI, Facultad de Química, UNAM

0124011\_01  
Graciela Tapia  
Dr. Rafael Herrera  
Ref. CDCl<sub>3</sub> 7.26 ppm  
\*  
Pulse Sequence: s2pu1

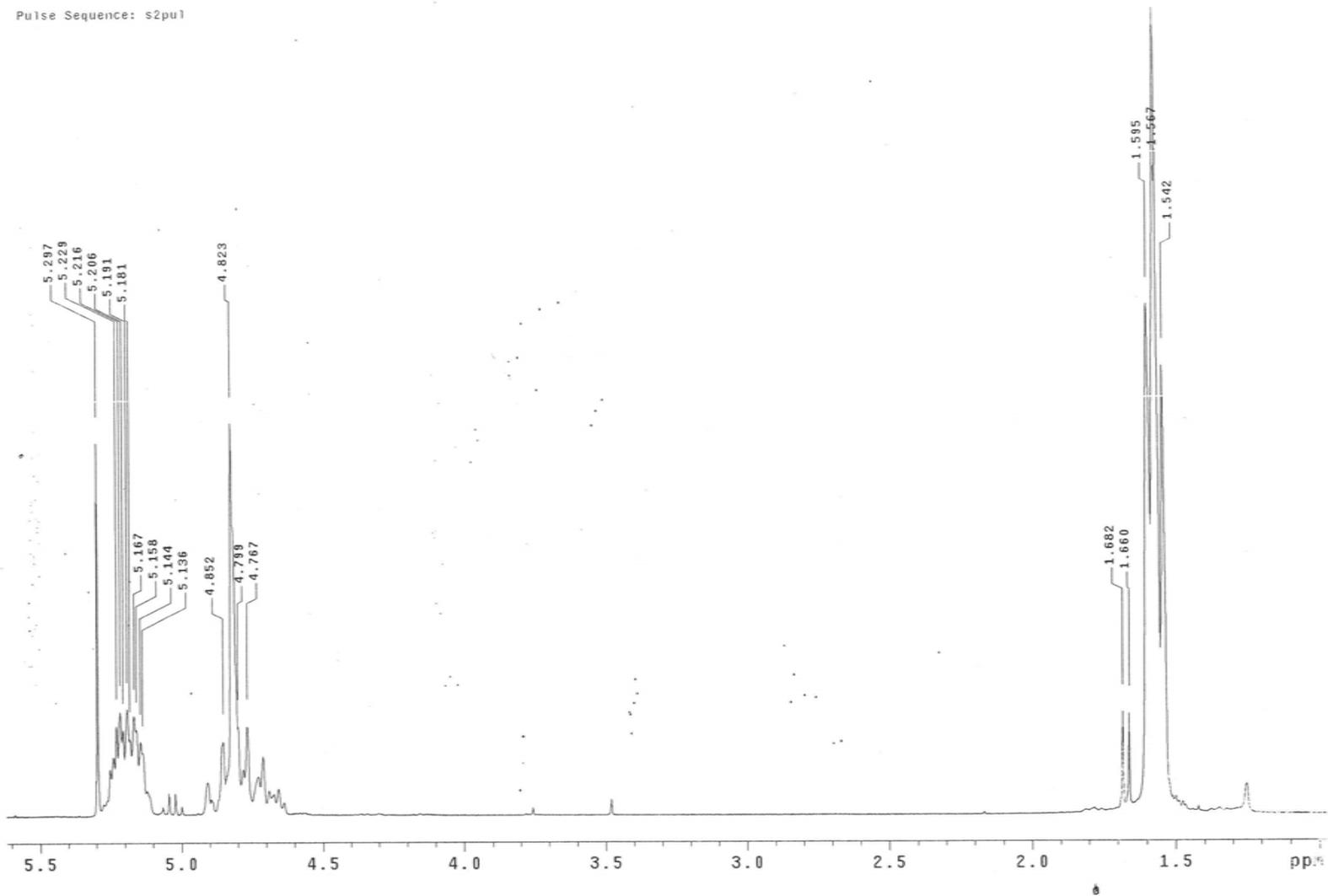


PLGA35G02\_1H  
Graciela Tapia  
Dr. Rafael Herrera  
Ref. CDCl3 7.26 ppm  
Pulse Sequence: s2pu1



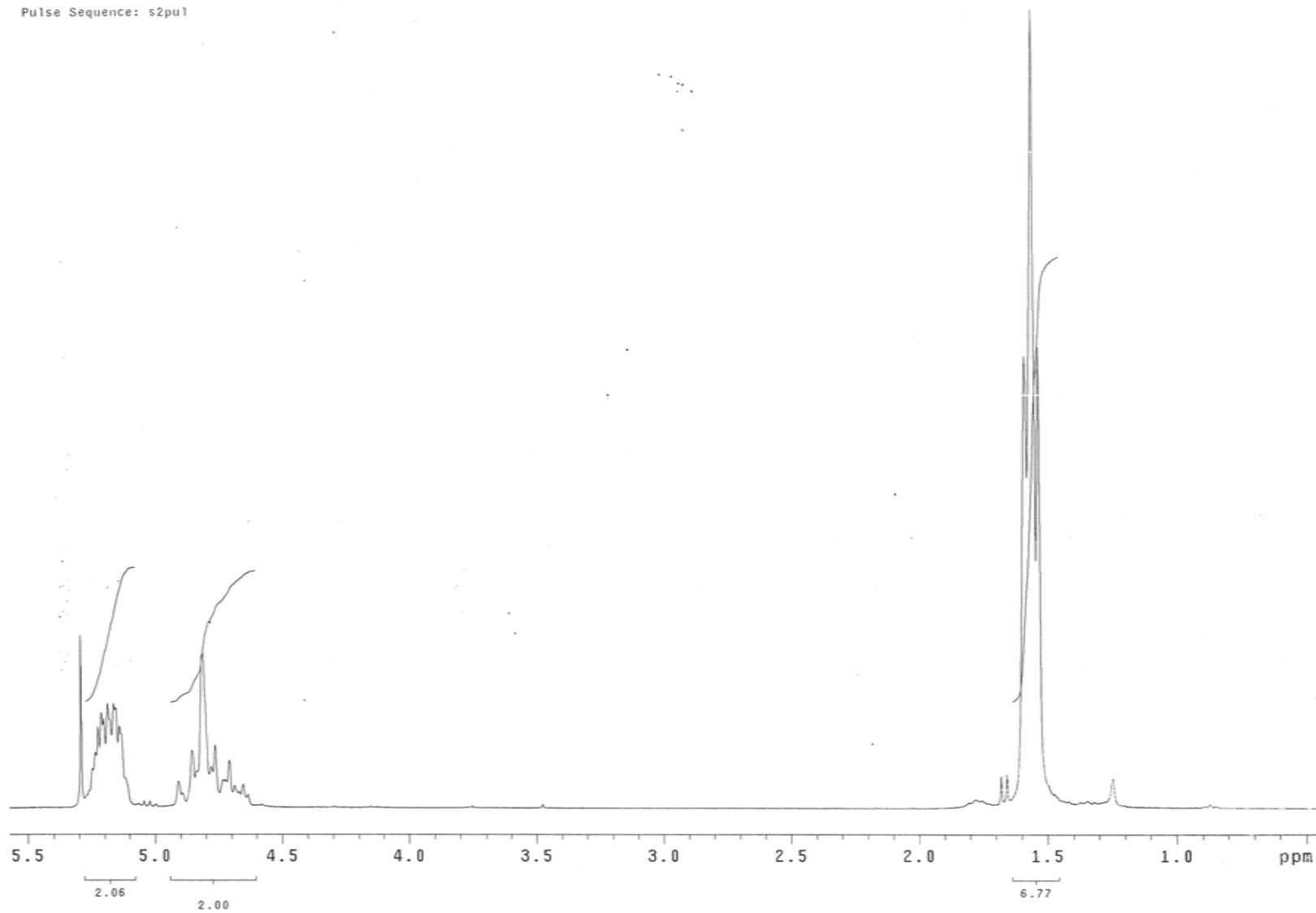
PL025002\_1H  
Graciela Tapia  
Dr. Rafael Herrera  
Ref. CDC13 7.26 ppm

Pulse Sequence: s2pu1



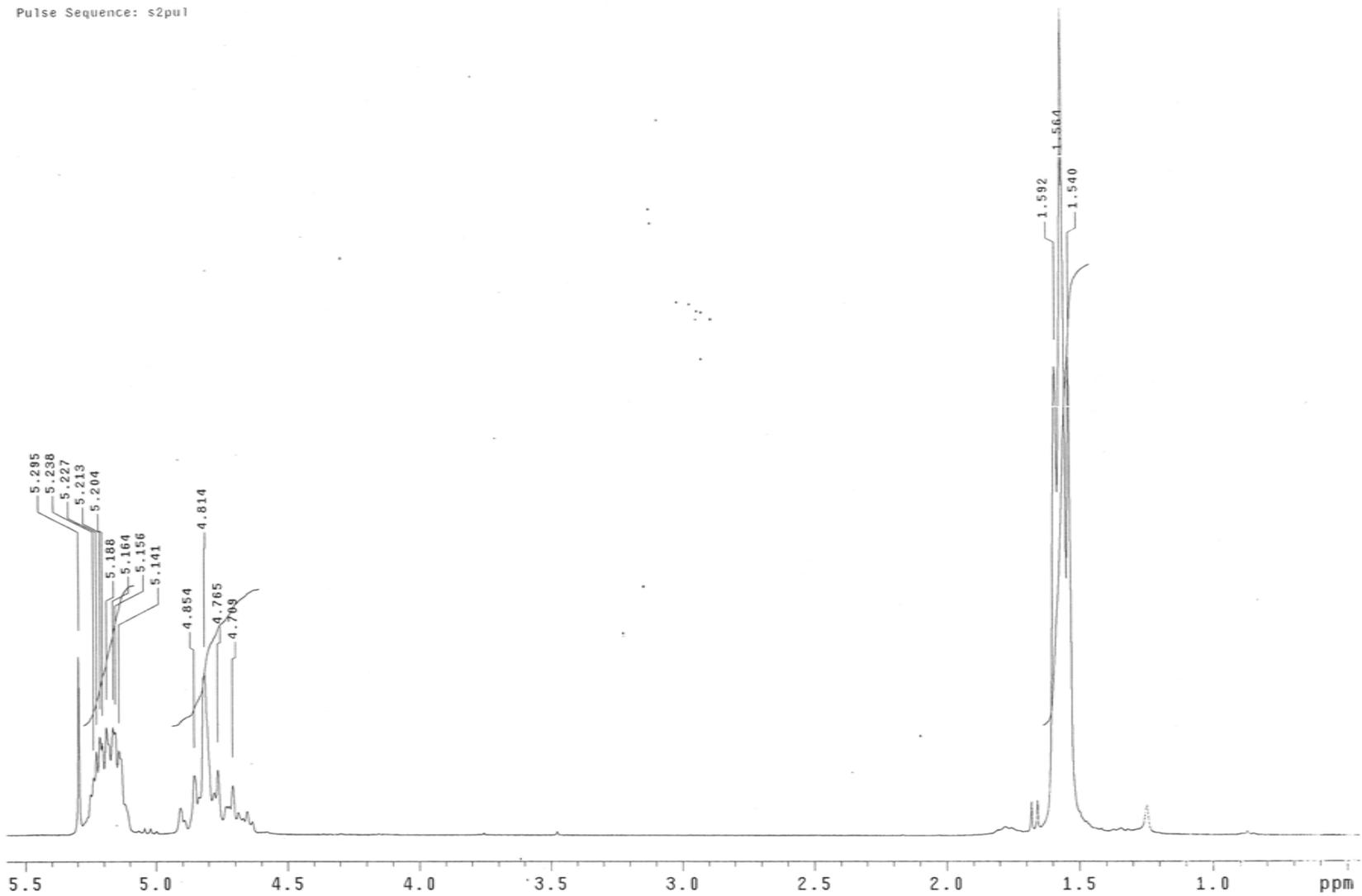
PLGA25601\_1H  
Graciela Tapia  
Dr. Rafael Herrera  
CDC13 7.26 ppm

Pulse Sequence: s2pu1

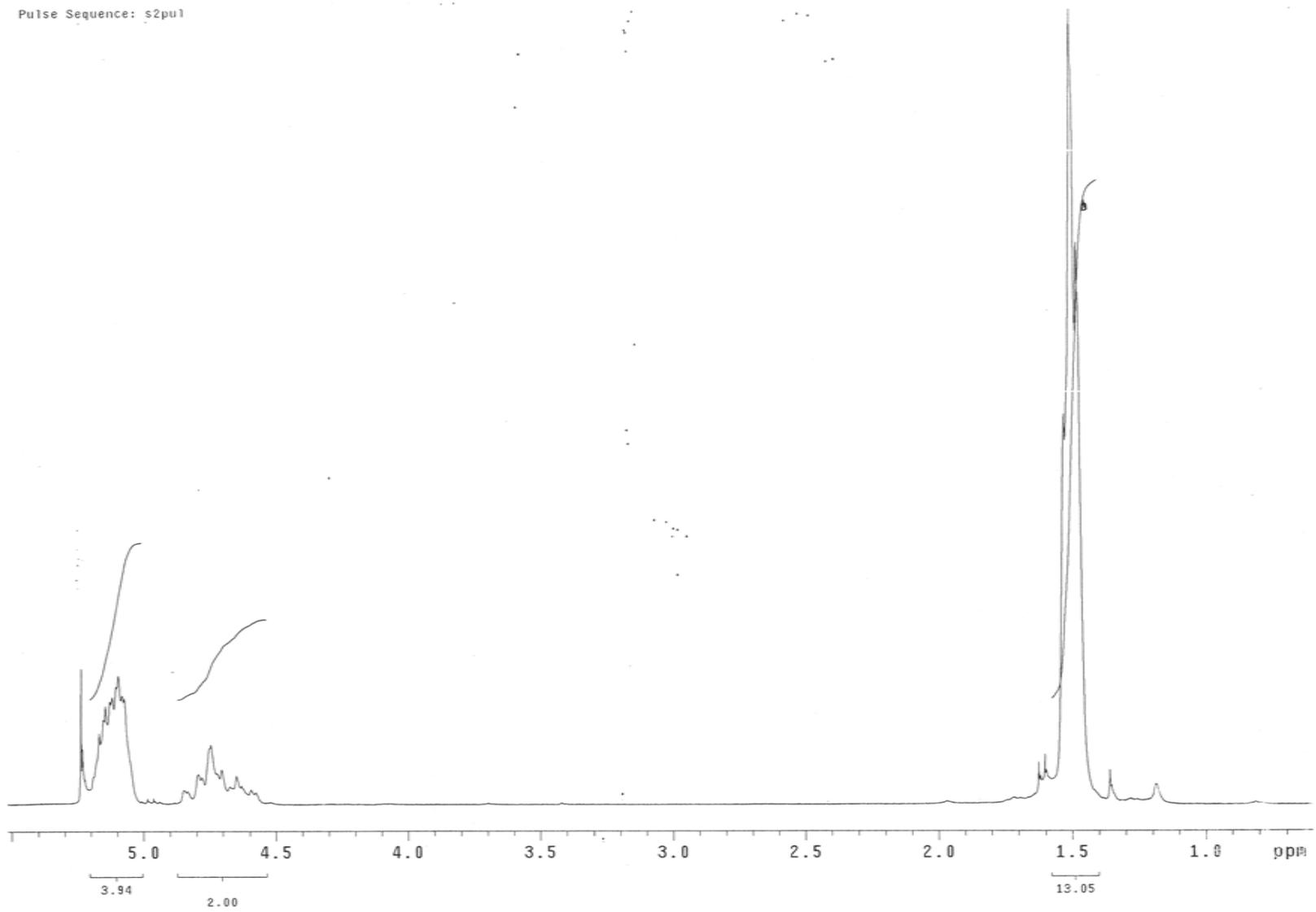


PLGA25G01\_1H  
Graciela Tapia  
Dr. Rafael Herrera  
CDC13 7.26 ppm

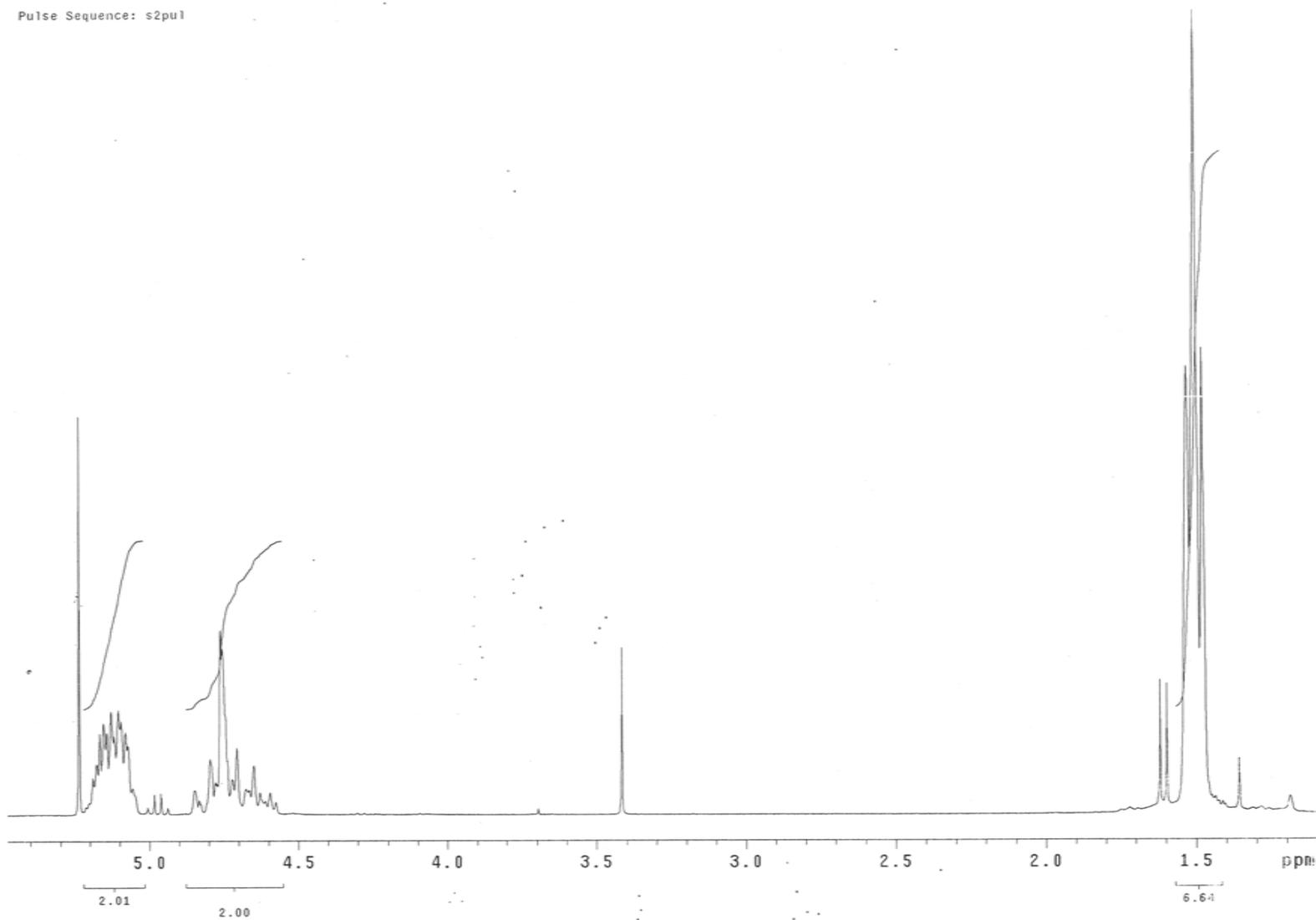
Pulse Sequence: s2pul



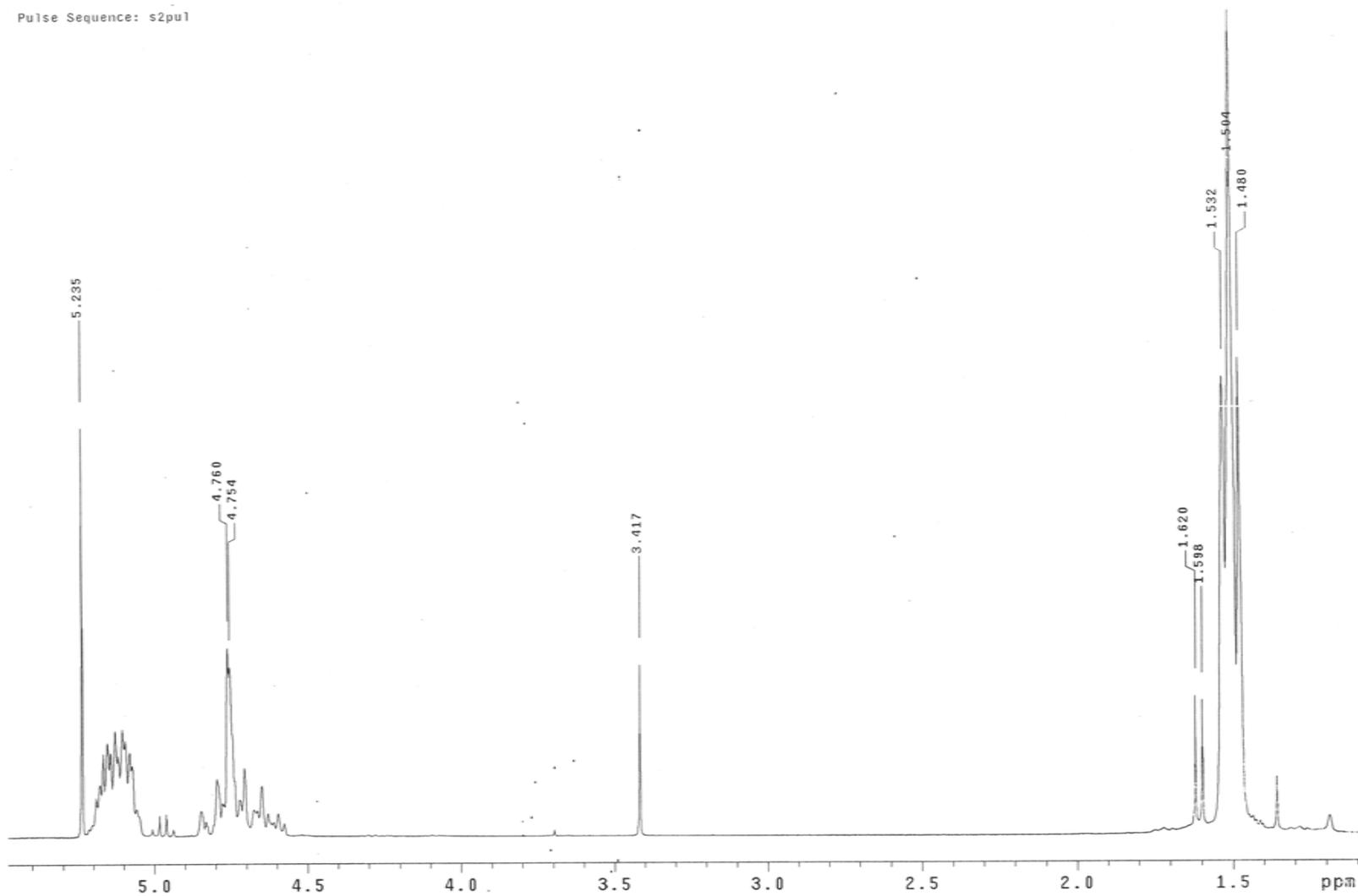
PLGA15C01\_1H  
Graciela Tapia  
Dr. Rafael Herrera  
Ref. CDC13 7.2 ppm  
Pulse Sequence: s2pu1



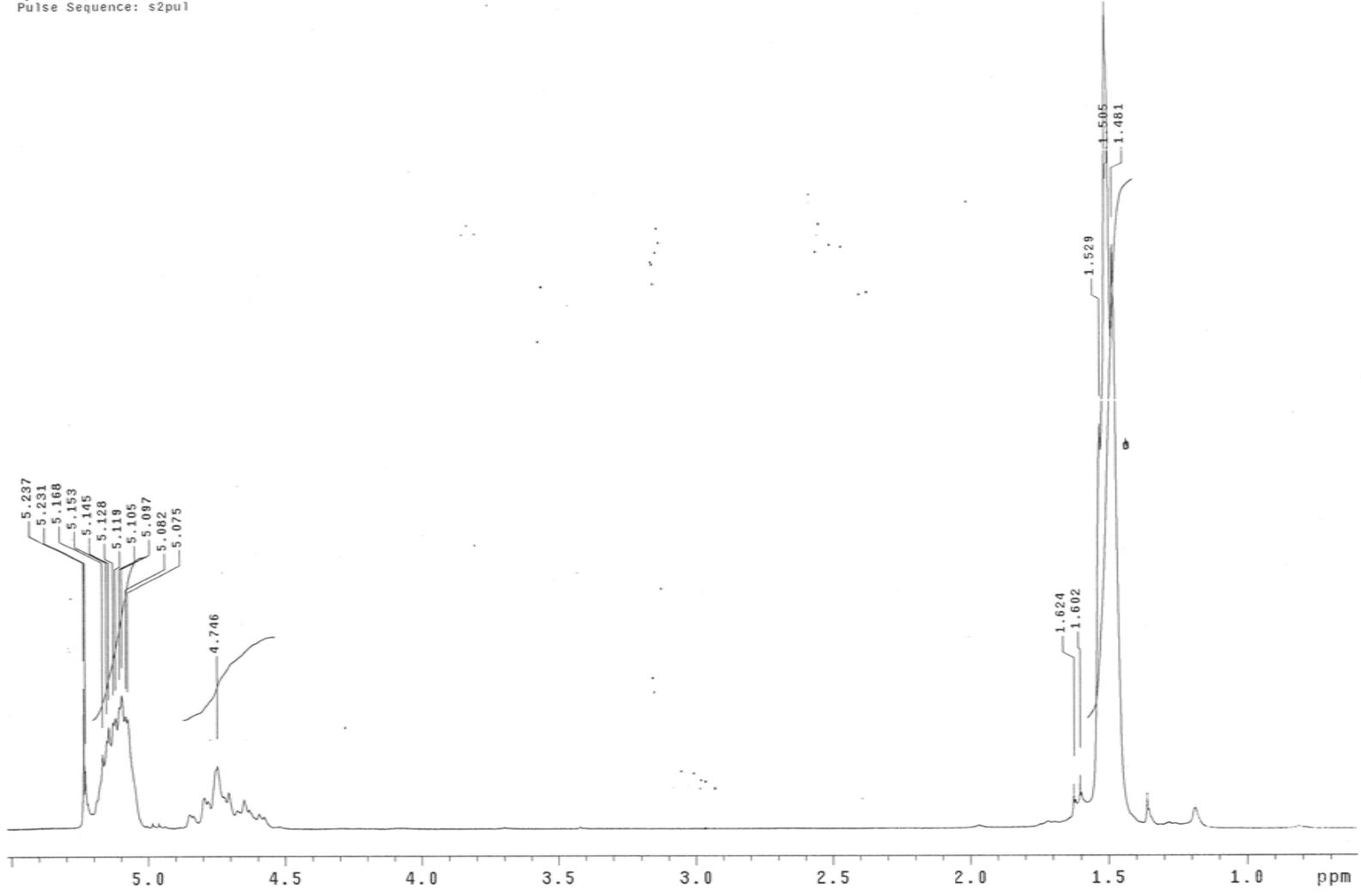
PLGA25G02\_1H  
Graciela Tapia  
Dr. Rafael Herrera  
Ref. CDC13 7.2 ppm  
Pulse Sequence: s2pu1



PLGA25G02\_III  
Graciela Tapia  
Dr. Rafael Herrera  
Ref. CDCl3 7.2 ppm  
Pulse Sequence: s2pu1



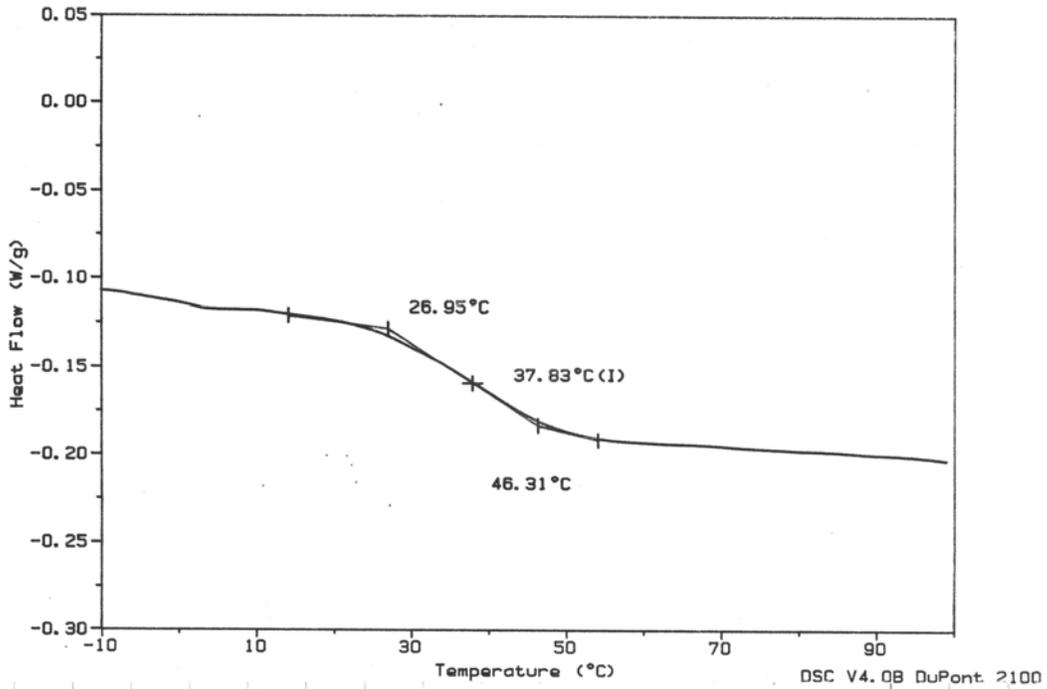
PLGA15001\_1H  
Graciela Tapia  
Dr. Rafael Herrera  
Ref. CDC13 7.2 ppm  
Pulse Sequence: s2pul



Sample: DLS2G01  
Size: 17.2000 mg  
Method: BIOPOLIMEROS

DSC

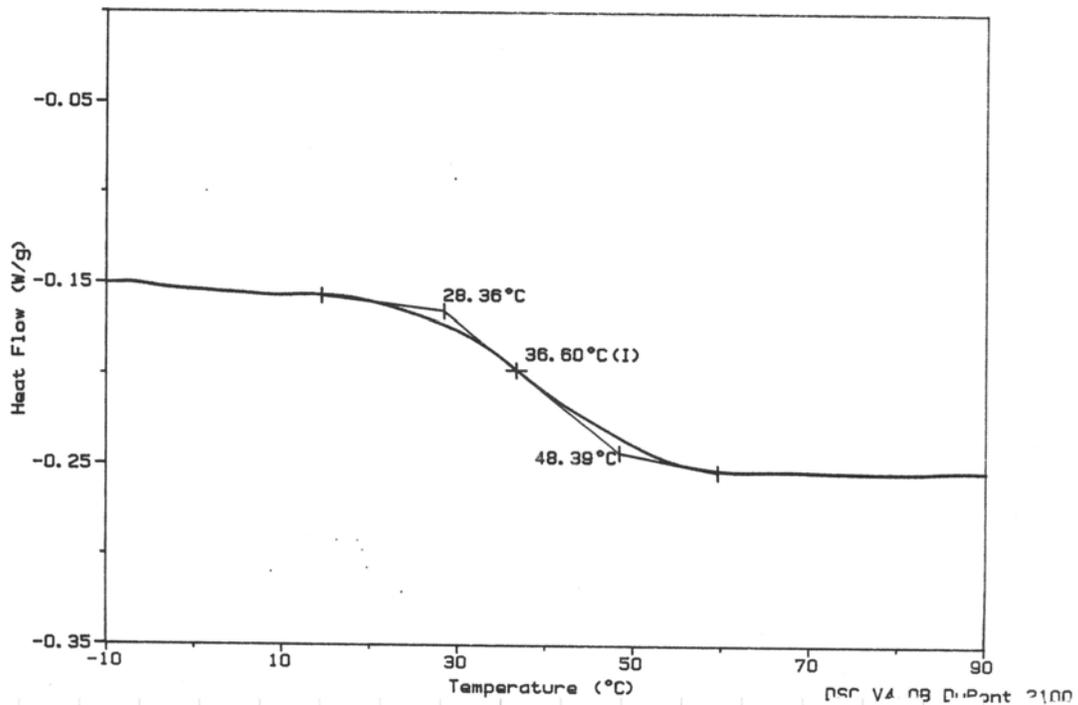
File: GRACIELA06.12  
Operator: GRACIELA  
Run Date: 22-Feb-06 18:14



Sample: PLGA15G01C4  
Size: 17.2000 mg  
Method: BIOPOLIMEROS

DSC

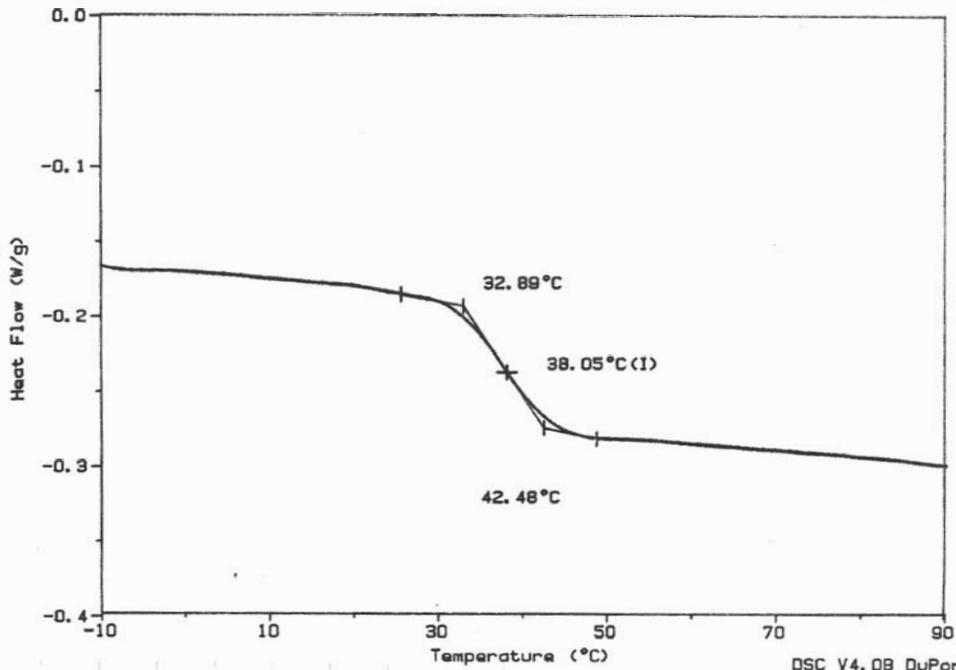
File: GRACIELA06.F  
Operator: GRACIELA  
Run Date: 22-Feb-06 16:22



Sample: PLGA35M0SC2  
 Size: 10.6000 mg  
 Method: BIOPOLIMEROS

DSC

File: GRACIELA06.40  
 Operator: GRACIELA  
 Run Date: 28-Apr-06 13:37

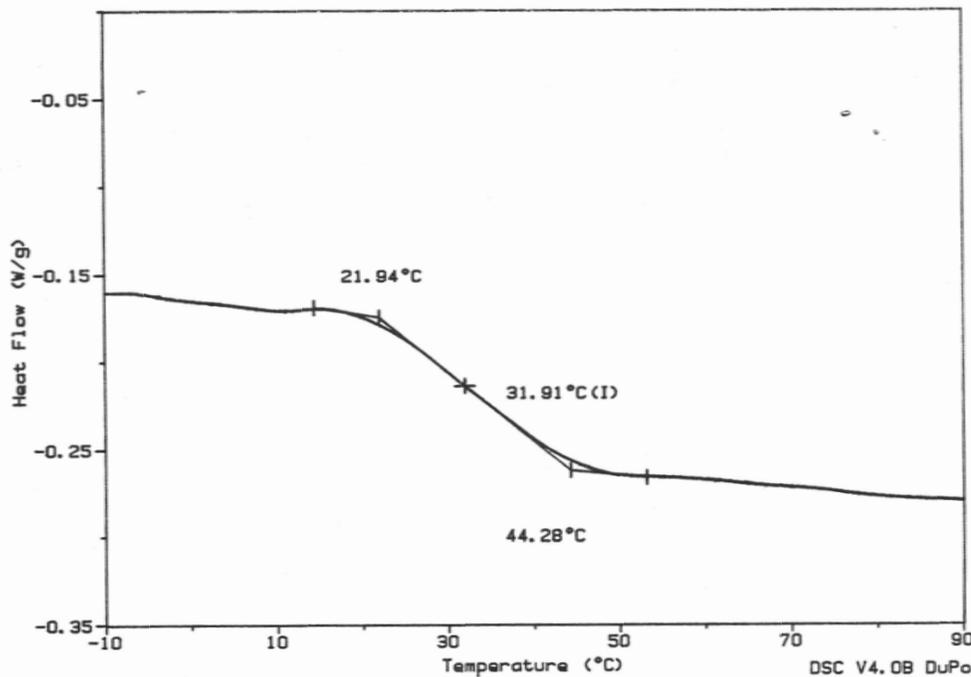


DSC V4.0B DuPont 2100

Sample: PLGA35G03-01C2  
 Size: 20.3000 mg  
 Method: BIOPOLIMEROS

DSC

File: GRACIELA06.46  
 Operator: GRACIELA  
 Run Date: 28-Apr-06 15:53

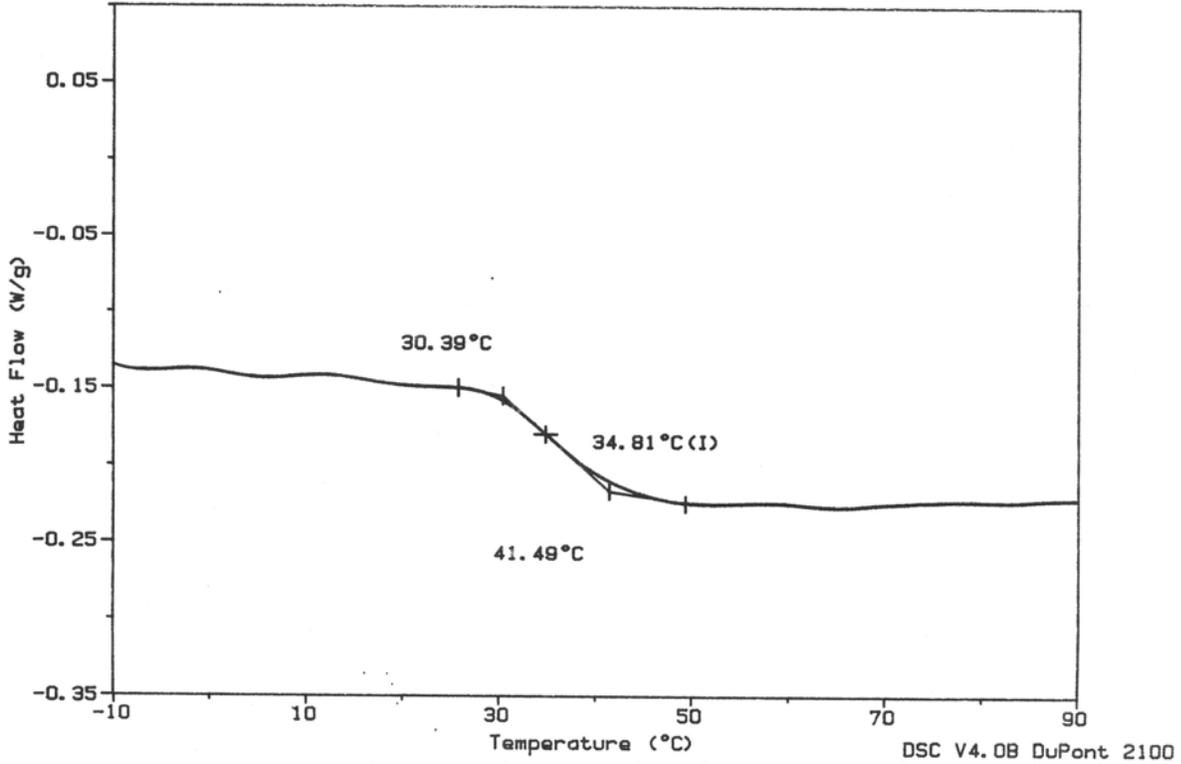


DSC V4.0B DuPont 2100

Sample: PLGA25G02C2  
Size: 17.8000 mg  
Method: BIOPOLIMEROS

DSC

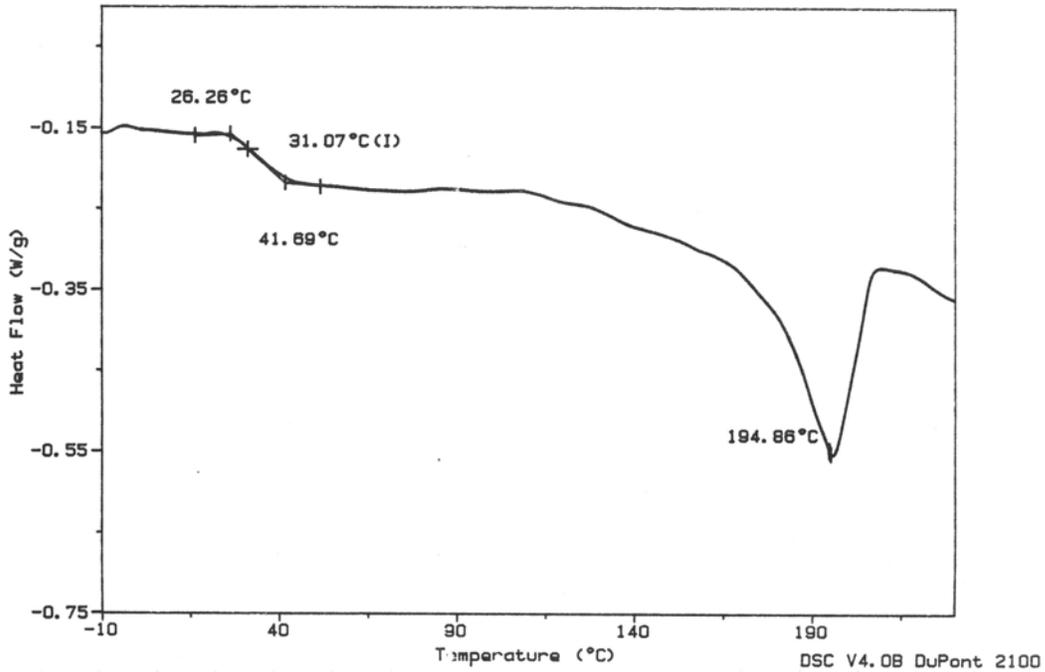
File: GRACIELA06.31  
Operator: GRACIELA  
Run Date: 15-Mar-06 11:07



Sample: PLGA75G01C1  
Size: 11.4000 mg  
Method: BIOPOLIMEROS

DSC

File: GRACIELA06.16  
Operator: GRACIELA  
Run Date: 10-Mar-06 12:04



Sample: PGAC1  
Size: 10.4000 mg  
Method: BIOPOLIMERS

DSC

File: GRACIELA06.15  
Operator: GRACIELA  
Run Date: 10-Mar-06 11:27

