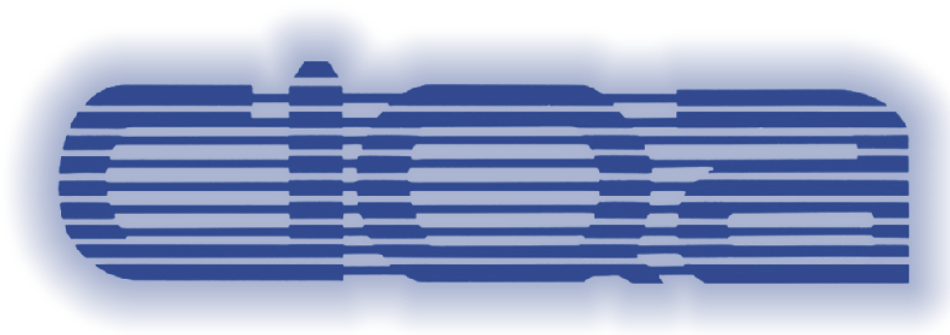


**CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN QUÍMICA APLICADA**



**TESIS**

**ELABORACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE POLÍMERO BIODEGRADABLE  
ESTABILIZADAS CON LA MEZCLA POLI(ALCOHOL VINÍLICO)-DODECIL  
SULFATO DE SODIO: EFECTO DE LA RELACIÓN MOLAR  
LÁCTIDO/GLICÓLIDO**

**PRESENTADO POR:**

**L.C.Q. HÉCTOR MARTÍNEZ MARTÍNEZ**

**PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**MAESTRO EN TECNOLOGÍA DE POLÍMEROS**

**ASESOR:**

**Dr. JORGE CARLOS RAMÍREZ CONTRERAS**

**SALTILLO, COAH.**

**ENERO 2012**

## ÍNDICE GENERAL

<b>1. RESUMEN</b> .....	1
<b>2. INTRODUCCIÓN</b> .....	2
<b>3. ANTECEDENTES</b> .....	4
<b>3.1. Generalidades</b> .....	4
<b>3.2. Polimerización en sistemas homogéneos</b> .....	5
<b>3.2.1. Polimerización en masa</b> .....	5
<b>3.2.2. Polimerización en solución</b> .....	5
<b>3.3. Polimerización en sistemas heterogéneos</b> .....	6
<b>3.3.1. Polimerización en suspensión</b> .....	6
<b>3.3.2. Polimerización en emulsión</b> .....	6
<b>3.4. Polímeros en la medicina</b> .....	7
<b>3.5. Generalidades del poli(láctido) (PLA)</b> .....	8
<b>3.5.1. Propiedades PLA</b> .....	9
<b>3.5.2. Biocompatibilidad del PLA</b> .....	9
<b>3.5.3. Aplicaciones del PLA</b> .....	10
<b>3.6. Generalidades del poli(glicólido) (PGA)</b> .....	11
<b>3.6.1. Propiedades del PGA</b> .....	11
<b>3.7. Generalidades del poli(láctido-co-glicólido) (PLGA)</b> .....	12
<b>3.8. Elaboración de las nanopartículas poliméricas mediante el método emulsión- evaporación</b> .....	12
<b>3.9. Elaboración de las películas poliméricas utilizando el método “solvent- casting”</b> .....	15
<b>3.10. Degradación del PLGA en forma de nanopartícula y/ó película</b> .....	16
<b>3.10.1. Efecto de Mw</b> .....	17
<b>3.10.2. Efecto de la composición LA/GA en el PLGA</b> .....	17
<b>3.10.3. Efecto del pH en el medio acuoso</b> .....	18
<b>3.10.4. Efecto del tamaño de la matriz polimérica</b> .....	18
<b>3.10.5. Efecto de la temperatura</b> .....	19
<b>4. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVO</b> .....	20

4.1. Objetivos específicos.....	20
<b>5. HIPÓTESIS.....</b>	<b>21</b>
<b>6. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.....</b>	<b>22</b>
6.1. Reactivos.....	22
6.2. Instrumentación analítica y equipos diversos.....	22
6.2.1. Instrumentación analítica.....	22
6.2.2. Equipos diversos.....	23
6.3. Síntesis de los polímeros vía ROP variando su relación molar láctido/glicólido (LA/GA).....	25
6.3.1. Purificación de los polímeros.....	26
6.3.2. Técnicas analíticas utilizadas en la caracterización de los polímeros.....	27
6.4. Elaboración de las nanopartículas poliméricas mediante el método emulsión- evaporación.....	28
6.4.1. Estudios realizados a las emulsiones de PLA y PLGA durante su elaboración.....	29
6.4.2. Estudios realizados a las emulsiones de PLA y PLGA durante almacenamiento.....	30
6.5. Elaboración de películas poliméricas.....	31
6.5.1. Estudios realizados a las películas durante almacenamiento.....	32
<b>7. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....</b>	<b>33</b>
7.1. Caracterización de los polímeros con diferente relación molar LA/GA obtenidos vía ROP.....	33
7.2. Caracterización de las emulsiones de PLA y PLGA durante su elaboración.....	37
7.3. Caracterización de las emulsiones de PLA y PLGA durante almacenamiento.....	40
7.3.1. Evolución del diámetro de partícula (Dp).....	40
7.3.2. Evolución de peso molecular (Mw y Mn).....	43
7.3.3. Evolución de pH.....	48
7.4. Caracterización de las películas de PLA y PLGA durante almacenamiento.....	50
<b>8. CONCLUSIONES.....</b>	<b>52</b>

<b>9. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>54</b>
<b>10. ANEXO.....</b>	<b>56</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b>	Síntesis del PLA vía ROP.....	9
<b>Figura 2.</b>	Degradación del PLA.....	10
<b>Figura 3.</b>	Síntesis del PGA vía ROP.....	11
<b>Figura 4.</b>	Síntesis del PLGA vía ROP.....	12
<b>Figura 5.</b>	Estructura química del PVA.....	13
<b>Figura 6.</b>	Estructura química del SDS indicando la parte hidrófoba e hidrófila de la cadena.....	14
<b>Figura 7.</b>	Representación esquemática de las diferentes fuerzas de repulsión entre dos partículas de polímero dependiendo del tipo de estabilizador.....	14
<b>Figura 8.</b>	Equipo de química combinatoria utilizado en la síntesis de los polímeros vía masa a 500 rpm y 130°C.....	23
<b>Figura 9.</b>	Espectros de <sup>1</sup> H-RMN del PLA y PLGA con diferente relación molar LA/GA en el copolímero.....	33
<b>Figura 10.</b>	Evolución de Mw y Mn de los polímeros sintetizados vía ROP al utilizar diferente cantidad de dímeros a polimerizar: A) 2.6g (Izq) y B) 7g (Der), en función de la composición experimental LA/GA (p/p) en el polímero.....	35
<b>Figura 11.</b>	Espectro de FTIR del PLA (transmitancia) y evolución de absorbancia a medida que incremento la relación GA en el PLGA.....	35
<b>Figura 12.</b>	Evolución de la Tg en función de la relación experimental LA/GA en el polímero al utilizar diferente cantidad de dímeros a polimerizar: A) 2.6g y B) 7g.....	36
<b>Figura 13.</b>	Evolución de Dp en las nanopartículas de PLA y PLGA (90.87/9.13 y 69.25/30.75) utilizando PVA de diferente Mw en una concentración de 15g/L (solo ó mezclado con SDS).....	38
<b>Figura 14.</b>	CPD inicial en las emulsiones de PLA y PLGA (90.87/9.13 y 69.25/30.75) en función de Mw del PVA y tipo de estabilizador (estérico y electroestérico).....	39
<b>Figura 15.</b>	Evolución de Dp de las nanopartículas de PLA y PLGA (90.87/9.13 y 69.25/30.75) almacenadas a 37.4°C utilizando un Mw del PVA= 13-23 y	

	una concentración de 15 g/L (solo ó mezclado con SDS).....	40
<b>Figura 16.</b>	Evolución de Dp de las nanopartículas de PLA y PLGA (90.87/9.13 y 69.35/30.75) almacenadas a 37.4°C utilizando diferente Mw del estabilizador: PVA= 31-50 KDa (lado izquierdo) y PVA= 85-124 KDa (lado derecho). La concentración de PVA se mantuvo constante en 15 g/L (solo ó mezclado con SDS).....	42
<b>Figura 17.</b>	Evolución de Mw en las nanopartículas de PLA y PLGA (90.87/9.13 y 69.35/30.75) almacenadas a 37.4°C utilizando un Mw del PVA= 13-23 KDa y una concentración de 15 g/L (solo ó mezclado con SDS).....	43
<b>Figura 18.</b>	Evolución de Mw en las nanopartículas de PLA y PLGA (90.87/9.13 y 69.35/30.75) almacenadas a 37.4°C utilizando diferente Mw del estabilizador: PVA= 31-50 KDa (lado izquierdo) y PVA= 85-124 KDa (lado derecho). La concentración de PVA se mantuvo constante en 15 g/L (solo ó mezclado con SDS).....	45
<b>Figura 19.</b>	Evolución del pH en las emulsiones de PLA y PLGA (90.87/9.13 y 69.35/30.75) almacenadas a 37.4°C utilizando diferente Mw del estabilizador: PVA= 31-50 KDa (lado izquierdo) y PVA= 85-124 KDa (lado derecho). La concentración de PVA se mantuvo constante en 15 g/L (solo ó mezclado con SDS).....	49
<b>Figura 20.</b>	Evolución de Mw y Mn en las películas de PLA y PLGA (90.87/9.13 y 69.35/30.75) sumergidas en una solución acuosa de buffer PBS a 37.4°C durante 28 días.....	50
<b>Figura 21.</b>	Evolución del pH de las soluciones acuosas que contenían las películas de PLA y PLGA (90.87/9.13 y 69.25/30.75) durante almacenamiento a 37.4°C.....	51
<b>Figura 22.</b>	Termogramas de DSC en función de la relación molar LA/GA.....	56

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b>	Formulaciones utilizadas en la síntesis de PLA y PLGA a 2.6 g totales.....	25
<b>Tabla 2.</b>	Formulaciones utilizadas en la síntesis de PLA y PLGA escalado a 7 g.....	25
<b>Tabla 3.</b>	Formulaciones y condiciones utilizadas en la elaboración de las nanopartículas de polímero vía emulsión-evaporación.....	28
<b>Tabla 4.</b>	Composición experimental LA/GA (p/p) en los polímeros determinada por <sup>1</sup> H-RMN.....	34

## ABREVIATURAS

<b>CPD</b>	Contenido de polímero disperso
<b>CMC</b>	Concentración micelar crítica
<b>Dp</b>	Diámetro de partícula
<b>g</b>	Gramos
<b>GA</b>	Acido Glicólico o glicólido
<b>KDa</b>	KiloDaltons
<b>LA/GA</b>	Láctido/glicólido
<b>LA</b>	Ácido láctico o láctido
<b>M/C</b>	Monómero/Catalizador
<b>Min</b>	Minutos
<b>Mn</b>	Peso molecular promedio en número
<b>Mw</b>	Peso molecular promedio en peso
<b>nm</b>	Nanómetros
<b>PGA</b>	Poli(ácido láctico) ó Poli(glicólido)
<b>pH</b>	Potencial de hidrógeno
<b>PLA</b>	Poli(ácido láctico) ó Poli(láctido)
<b>PLGA</b>	Poli(ácido láctico-co-glicólico) ó Poli(láctido-co-glicólido)
<b>PM</b>	Peso molecular
<b>ppm</b>	Partes por millón
<b>PVA</b>	Poli(alcohol vinílico)
<b>RM</b>	Relación molar
<b>ROH</b>	1-dodecanol
<b>ROH/C</b>	Alcohol/Catalizador
<b>ROP</b>	Polimerización por apertura de anillo
<b>rpm</b>	Revoluciones por minuto
<b>SDS</b>	Dodecil sulfato de sodio
<b>Tg</b>	Temperatura de transición vítrea
<b>%p/p</b>	Por ciento peso/peso



## 1. RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se reporta la influencia de la relación molar Láctido/Glicólido en la elaboración de nanopartículas poliméricas, al utilizar la mezcla poli(alcohol vinílico)-dodecil sulfato de sodio como estabilizador electroestérico y poli(alcohol vinílico) como estabilizador estérico (testigo). Para elaborar los polímeros con diferente relación molar Láctido/Glicólido se consideraron los siguientes valores teóricos: 100/0 para obtener poli(acido láctico), mientras que 88/12 y 64/36 para sintetizar poli(acido láctico-co-glicólico). Las polimerizaciones se llevaron a cabo por apertura de anillo (ROP, por sus siglas en inglés) a 130°C partiendo de los dímeros cíclicos Láctido y Glicólido, además de utilizar octanoato estañoso y 1-dodecanol como catalizador y co-catalizador, respectivamente. Una vez caracterizados los polímeros se procedió a elaborar las emulsiones por el método emulsión-evaporación, las cuales fueron estabilizadas con una concentración de poli(alcohol vinílico) de 15 g/L (solo o mezclado con dodecil sulfato de sodio) de diferente peso molecular (MW=13-23, 31-50 y 85-124 KDa) y posteriormente, almacenadas durante 28 días a 37.4°C en presencia de buffer fosfato salino (PBS). Durante la etapa de elaboración, fue posible obtener emulsiones coloidalmente estables al utilizar diferente MW de poli(alcohol vinílico) como estabilizador, donde la relación molar Láctido/Glicólido influyó en el valor de Diámetro de partícula. Asimismo, fue posible confirmar la formación del estabilizador electroestérico al utilizar la mezcla poli(alcohol vinílico)-dodecil sulfato de sodio durante la elaboración y almacenamiento de las emulsiones, debido a una mayor capacidad estabilizadora con respecto a la obtenida con poli(alcohol vinílico). Dicha estabilización electroestérica resultó novedosa desde el punto de vista científico, ya que no se ha reportado en nanopartículas de poli(acido láctico) y poli(acido láctico-co-glicólico). Además, de acuerdo a los resultados obtenidos en peso molecular y pH sugieren que la mezcla poli(alcohol vinílico)-dodecil sulfato de sodio promovió una menor difusión de agua hacia el interior de las nanopartículas que al utilizar solamente poli(alcohol vinílico). Finalmente, se estudió la degradación del poli(acido láctico) y poli(acido láctico-co-glicólico) en forma de película encontrándose que la degradación fue más pronunciada al incrementar la cantidad de Glicólido en el polímero, lo cual se corroboró con las mediciones de pH en las soluciones acuosas donde se mantuvieron inmersas.

## 2. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, los polímeros sintéticos tienen una gran ventaja sobre los polímeros naturales debido a su alta pureza. En particular, algunos de los polímeros sintéticos que han tenido mucho auge, sobre todo en el campo de la medicina, y que han sido aprobados por la Administración de Drogas y Alimentos (FDA, por sus siglas en inglés) son los de la familia de los poliésteres, como por ejemplo, el poli(ácido láctico) (PLA), el poli(ácido glicólico) (PGA) y el copolímero que se forma entre ellos, el poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA)<sup>(1,2)</sup>. Estos polímeros son de gran interés en el área biomédica por ser biocompatibles y biodegradables en el cuerpo humano, además de no presentar toxicidad y ser fácilmente desechados cuando se encuentran en el interior del organismo<sup>(1,2,3)</sup>.

En el caso del PLGA, hoy en día existe en la literatura un gran número de investigaciones que reportan su uso en forma de nanopartículas, como una alternativa prometedora en la liberación controlada de ciertos medicamentos en el tratamiento de pacientes con cáncer<sup>(2,4,5)</sup>. Uno de los métodos más utilizados para la elaboración dichas nanopartículas es el llamado emulsión- evaporación, el cual se caracteriza por partir de polímero preformado y utilizar altas velocidades de agitación (>10,000 rpm). Este método se basa en la emulsificación de una solución orgánica de polímero en una solución acuosa con estabilizador dando origen a la emulsión. Posteriormente, el solvente orgánico se elimina de la emulsión a presión reducida con el fin de dar rigidez a las nanopartículas dispersas en agua estabilizadas con tensoactivo<sup>(5)</sup>. Entre los tensoactivos más utilizados se encuentran los de tipo no iónico y en particular los de la familia poli(alcohol vinílico) (PVA). Sin embargo, no existen reportes en la literatura donde se haya combinado dicho estabilizador estérico con un estabilizador electrostático, particularmente con el dodecilsulfato de sodio (SDS), con el fin de originar un estabilizador de tipo electroestérico.

Por ello, en el presente trabajo de investigación se reporta la estabilidad coloidal de las nanopartículas poliméricas variando su relación molar LA/GA, utilizando como estabilizadores coloidales la mezcla PVA-SDS y PVA como testigo. La estabilidad coloidal se estudió al dar seguimiento a la evolución del diámetro de partícula ( $D_p$ ) en las emulsiones

durante su elaboración y almacenamiento. Además, durante almacenamiento también se estudió la degradación de las nanopartículas de PLA y PLGA mediante la determinación de los pesos moleculares y cambios en el pH de las emulsiones, así como también en forma de películas poliméricas.

### 3. ANTECEDENTES

#### 3.1 GENERALIDADES

Los polímeros son macromoléculas formadas por unidades repetitivas de bajo peso molecular llamadas monómeros. Por su origen, estas macromoléculas se clasifican generalmente en naturales, semi-sintéticos y sintéticos<sup>(6)</sup>.

Los polímeros naturales existen en la naturaleza y las biomoléculas que presentan los seres vivos son macromoléculas poliméricas. Ejemplos de estos polímeros son las proteínas, ácidos nucleídos, celulosa, quitina, hule o caucho natural, etc. En el caso de los polímeros semi-sintéticos estos se obtienen por transformación de polímeros naturales. Como por ejemplo la nitrocelulosa, caucho vulcanizado. Por otro lado, los polímeros sintéticos se obtienen por procesos industriales (polimerización) generalmente utilizando monómeros vinílicos (alquenos). Algunos ejemplos son nylon, poli(estireno), poli(cloruro de vinilo), poli(etileno), entre otros. Algo que caracteriza a los polímeros sintéticos es que pueden fabricarse en varias formas con morfología deseadas<sup>(6)</sup>.

Otra forma de clasificar a los polímeros se basa en la manera en que se sintetizan. Por ejemplo, los polímeros de adición se forman a partir de la polimerización de monómeros vinílicos (doble enlace carbono-carbono). Otro ejemplo, son los polímeros de condensación que se forman por la reacción de dos monómeros cada uno con dos grupos funcionales y se elimina alguna molécula pequeña, que a menudo es agua<sup>(7)</sup>.

Cuando solo se utiliza un tipo de monómero como materia prima la macromolécula formada recibe el nombre de homopolímero. Por otro lado, si las cadenas del polímero están compuestas por dos tipos de unidades monoméricas, el material recibe el nombre de copolímero<sup>(8)</sup>. Los materiales poliméricos tienen muchas propiedades, algunas de ellas son la cristalinidad, la resistencia al impacto, resistencia a solventes, resistencia química, flexibilidad, dureza, etc. No obstante, dichas propiedades no solo están relacionadas con su naturaleza química, sino también a factores químicos tales como la distribución y la magnitud

de la cristalinidad, la distribución de las longitudes de cadena, la naturaleza y cantidad de aditivos, como pueden ser las cargas, refuerzos y plastificantes, etc<sup>(9)</sup>.

### **3.2 POLIMERIZACIÓN EN SISTEMAS HOMOGENEOS**

Diversos procesos de polimerización se utilizan para elaborar polímero sintético, los cuales se diferencian generalmente por los ingredientes empleados durante la etapa de síntesis. A continuación se presentan algunos de los procesos de síntesis más utilizados mencionando en cada uno de ellos, algunas de sus características principales.

#### **3.2.1 Polimerización en masa<sup>(10)</sup>**

La polimerización en masa se caracteriza por utilizar como ingredientes monómero y catalizador. Dicho proceso es ampliamente utilizado en la fabricación de polímeros de condensación, donde las reacciones son ligeramente exotérmicas y la mayor parte de la reacción tiene lugar cuando la viscosidad de la mezcla es todavía lo suficientemente baja para permitir con facilidad el mezclado y la transferencia de calor. Por estas razones, el control de la polimerización es relativamente fácil. Por otro lado, la polimerización en masa con monómeros vinílicos se dificulta ya que la reacción es altamente exotérmica por lo que es difícil de controlar a medida que incrementa la conversión de monómero a polímero. Dicho incremento ocasiona que la viscosidad en el sistema aumente mientras que la transferencia de calor disminuya, problema común en masa.

#### **3.2.2 Polimerización en solución<sup>(10)</sup>**

La polimerización en solución se diferencia de la polimerización en masa en que además de utilizar monómero y catalizador, también se utiliza un solvente donde el polímero formado es soluble en él. A diferencia del proceso en masa, en solución se tiene mejor transferencia de calor lo que conlleva a mejor control durante la polimerización. No obstante, se tienen desventajas en dicho proceso ya que el solvente puede promover la transferencia de cadena del polímero, además de que es difícil separarlo del polímero al terminar la polimerización.

### **3.3 POLIMERIZACIÓN EN SISTEMAS HETEROGÉNEOS**

Diversos procesos de polimerización en medios heterogéneos también se utilizan para elaborar polímeros. Dos de los procesos más importantes en el ámbito industrial se mencionan a continuación.

#### **3.3.1 Polimerización en suspensión<sup>(10)</sup>**

Dicho proceso se caracteriza por utilizar como ingredientes el monómero, iniciador, bajas concentraciones de tensoactivo y agua. Una vez que el tensoactivo está disuelto en el agua y el iniciador en el monómero, dichas soluciones son mezcladas y son agitadas con el fin de formar una emulsión, donde las gotas de monómero formadas se mantienen estabilizadas con tensoactivo. A medida que transcurre la polimerización, las gotas de monómero se van haciendo cada vez más rígidas debido a la formación de polímero hasta que finalmente se obtienen partículas rígidas conocidas como perlas. Para algunas aplicaciones, las perlas de polímero pueden utilizarse directamente, mientras que para otras es necesaria su compactación. Este método se utiliza comercialmente para preparar polímeros vítreos, duros, tales como el poli(estireno), poli(metacrilato de metilo), poli(cloruro de vinilo), etc.

#### **3.3.2 Polimerización en emulsión<sup>(10)</sup>**

Este proceso se caracteriza por utilizar como ingredientes monómero, iniciador, tensoactivo y agua. Se diferencia de la polimerización en suspensión en dos aspectos importantes: el iniciador se disuelve en la fase acuosa, es decir, en el agua, donde las partículas de polímero producidas presentan tamaños alrededor o mayores a los 100 nm. Estas diferencias conllevan a cinéticas distintas lo que permite que se produzca un polímero de peso molecular elevado a altas velocidades de reacción. Cuando la concentración de tensoactivo en el agua se encuentra por arriba de la concentración micelar crítica (CMC) se da origen a la formación de micelas, las cuales son hinchadas con monómero una vez que es adicionado al sistema. Otra parte del monómero se encuentra en forma de gotas y el resto disuelto en agua. El modo en como procede la polimerización es el siguiente. Una vez que se aplica la temperatura deseada para

que el radical se forme en la fase acuosa, este se empieza a propagar (reacciona con moléculas de monómero) hasta que la cadena alifática alcanza cierto grado hidrófobo y se introduce en la micela hinchada con monómero para continuar su propagación; en este punto la micela hinchada recibe el nombre de partícula. Dicha partícula continúa creciendo gracias a la presencia de monómero el cual a su vez es restablecido por el monómero soluble en la fase acuosa a través de las gotas de monómero. Finalmente, la polimerización termina cuando ya no existen gotas de monómero, monómero soluble en la fase acuosa y monómero en el interior de las partículas. Los productos de una polimerización en emulsión son llamados látex sintéticos o látex poliméricos, pero normalmente se les llama solamente látex. Sin embargo, en el campo industrial se les conoce como emulsiones, el cual este término desde el punto de vista académico es incorrecto, porque una emulsión es una dispersión líquido-líquido y no una dispersión sólido-líquido, como es el caso de los látex.

Por otra parte, otro proceso menos común pero muy utilizado en la elaboración de polímeros biodegradables es la polimerización por apertura de anillo (ROP, por sus siglas en inglés)<sup>(10)</sup>. Este tipo de polimerización involucra monómeros cíclicos tales como éteres cíclicos, acetales, amidas (lactamas), esterres (lactonas) y siloxanos. Dicha polimerización depende de factores cinéticos y termodinámicos. El más importante para convertir un monómero cíclico en una unidad monomérica lineal (para el caso de polímero) es el factor termodinámico, esto es, la estabilidad relativa del monómero cíclico y de la estructura del polímero lineal.

Cabe mencionar que en el presente proyecto de tesis, el polímero que se va a elaborar va enfocado hacia aplicaciones medicas, por este motivo se proporciona al lector la siguiente información acerca de dichos materiales en esta rama de la ciencia.

### **3.4 POLÍMEROS EN LA MEDICINA**

En las últimas décadas se han elaborado un gran número de biomateriales que presentan propiedades diferentes a otros materiales (por ejemplo: polímeros ó cerámicos). El término de biomaterial se aplica a cualquier sustancia o combinación de sustancias, de origen natural o sintético, diseñadas para actuar interfacialmente con sistemas biológicos con el fin de evaluar,

tratar, aumentar o disminuir un tejido, órgano o función del organismo humano<sup>(1)</sup>. Particularmente, el término biocompatible se refiere a aquellos materiales que pueden implantarse en el ser humano por tiempo indefinido y no causar daño. Por otra parte, el término biodegradable de acuerdo con la sociedad europea de biomateriales, es un proceso en el cual agentes biológicos como enzimas o microbios juegan un papel dominante en el proceso de degradación<sup>(11)</sup>. En este último caso, los materiales y los sub-productos generados en el organismo no deben ser mutagénicos, carcinogénicos, antígenos y tóxicos, aunque sí compatibles con el tejido receptor y de fácil procesado para ser eliminados<sup>(1)</sup>.

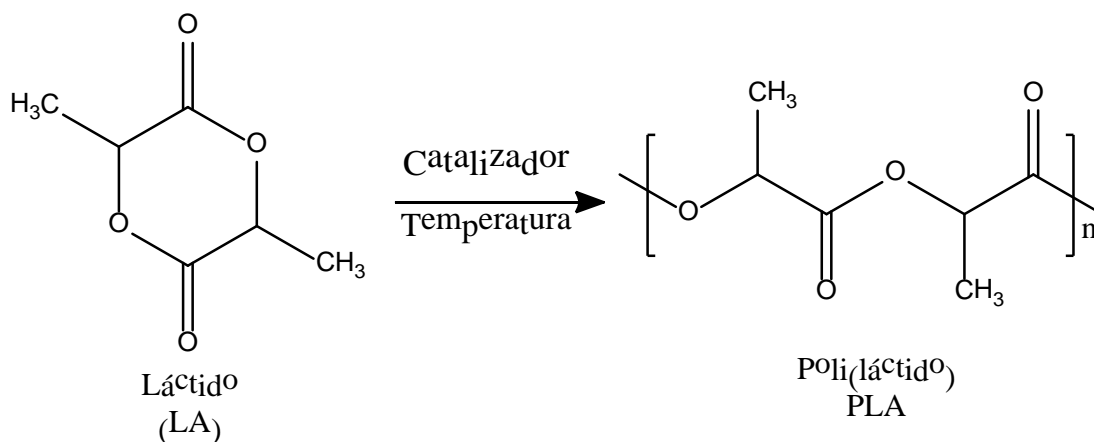
De acuerdo a su origen, los biomateriales pueden ser naturales<sup>(1)</sup> ó sintéticos<sup>(1)</sup>. Los naturales se caracterizan por ser materiales complejos, heterogéneos y difícilmente caracterizables y procesables. Algunos ejemplos son el colágeno purificado, fibras proteicas (lana, seda). Por otra parte, los materiales sintéticos se pueden utilizar en instrumentación y accesorios médicos (ejemplos: bolsas para suero o sangre, mangueras o tubos flexibles, adhesivos, pinzas, hilos de sutura, etc) además de aplicaciones temporales (ejemplos: suturas, los sistemas de liberación de fármacos e ingeniería de tejidos) o permanentes (ejemplos: prótesis o implantes ortopédicos, en dispositivos de fijación ósea). En el caso de las aplicaciones temporales, el material debe ser biocompatible y biodegradable con cinéticas de degradación muy específicas, mientras que en el caso de aplicaciones permanentes solamente biocompatible.

Algunos polímeros sintéticos biodegradables y biocompatibles que han tenido mucho auge, sobre todo en el campo de la medicina, y que han sido aprobados por la Administración de Drogas y Alimentos (FDA) son los de la familia de los poliésteres, como por ejemplo, el poli(ácido láctico) (PLA), el poli(acido glicólico) (PGA) y el copolímero que se forma al tener las dos unidades repetitivas de cada homopolímero en la misma macromolécula llamado poli(acido láctico-co-glicólico) (PLGA)<sup>(1,2,3)</sup>. En lo que respecta a este último, hoy en día se está investigando su uso en forma de nanopartícula como una alternativa prometedora en la liberación controlada de fármacos para el tratamiento de pacientes con cáncer<sup>(2,4,5)</sup>.



### 3.5 GENERALIDADES DEL POLI(LÁCTIDO) (PLA)

El PLA es un homopolímero termoplástico, amorfo o semi-cristalino, que ha sido ampliamente estudiado en aplicaciones como suturas biodegradables y diferentes implantes para la fijación de fracturas y para la elaboración de dispositivos vasculares. Generalmente, la síntesis del PLA se lleva a cabo mediante ROP del dímero cíclico del ácido láctico (LA) llamado lactido en presencia de octanoato estañoso como catalizador a una temperatura dada<sup>(1)</sup>. El polímero resultante puede ser altamente cristalino o amorfo dependiendo del diéster cíclico utilizado (formas ópticamente activas L y D); polímeros con alto nivel del isómero L pueden ser utilizados para producir productos cristalinos, mientras que con altos niveles del isómero D (mayores a 15%) resultan productos amorfos<sup>(12)</sup>. En la Figura 1 se muestra en forma esquemática la síntesis del PLA.



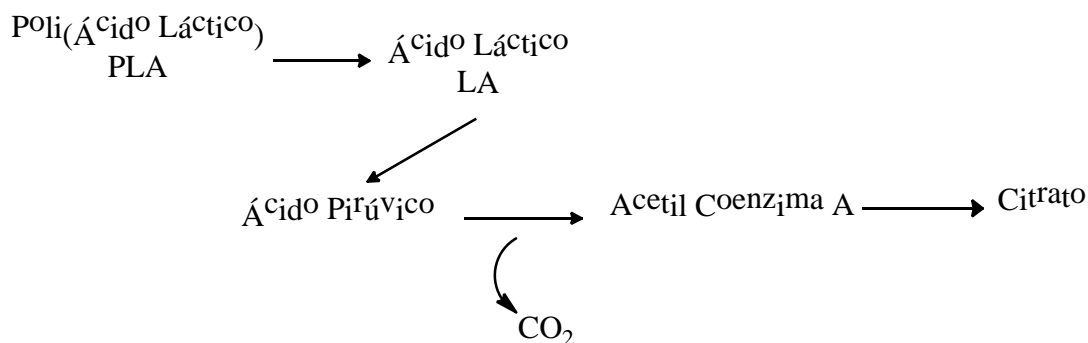
**Figura 1.** Síntesis del PLA vía ROP.

#### 3.5.1 Propiedades del PLA

El L-PLA es semi-cristalino, tiene una temperatura de fusión entre 173-178°C, tiene una temperatura de transición vítrea (Tg) entre 60-65°C, tiene un tiempo de degradación entre 18-24 meses. En cambio, el DL-PLA es amorfo con un valor de Tg entre 50-55°C y un tiempo de degradación entre 12-16 meses<sup>(1)</sup>.

### 3.5.2 Biocompatibilidad del PLA

El PLA se degrada inicialmente por hidrólisis, y su degradación puede ser acelerada in vivo por la presencia de enzimas, lo cual conlleva a la liberación del ácido láctico (LA), como se ilustra en la Figura 2. El LA es un intermediario común en el metabolismo de los carbohidratos en el organismo, por lo que su uso no representa problema desde el punto de vista toxicológico.



**Figura 2.** Degradación del PLA.

Una vez formado el LA es incorporado dentro de los procesos fisiológicos a nivel celular, donde continúa su degradación y da inicio a su ruta metabólica. Esta ruta comienza con la transformación de lactato a piruvato por la acción de la enzima lactato deshidrogenasa, una vez convertido en piruvato, este sufre una descarboxilación oxidativa para producir la acetilcoenzima A. Esta molécula puede entrar en el ciclo de ácido tricarboxílico (o ciclo del ácido cítrico), el cual se lleva a cabo a nivel mitocondrial obteniéndose como resultado adenosintrifosfato (ATP) por fosforilación oxidativa más agua y dióxido de carbono, los cuales son eliminados por la respiración y excretados por los riñones<sup>(1)</sup>.

### 3.5.3 Aplicaciones del PLA

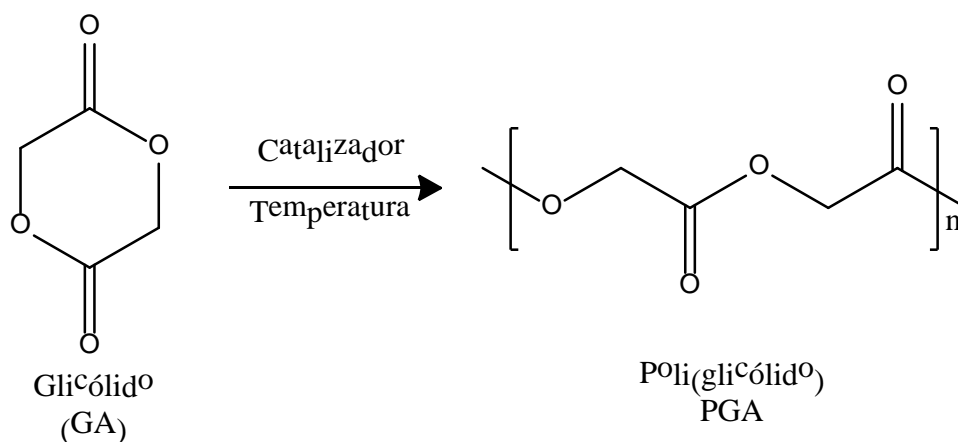
El PLA se ha utilizado en la elaboración de hilo para suturas además de clavos y tornillos para unir ligamentos y reparar meniscos, fijar fracturas y cirugía maxilofacial, entre otros usos. Recientemente, el PLA se ha investigado en ingeniería de tejidos como andamio reabsorbible para el crecimiento celular<sup>(1)</sup>. Lo que se busca con estos sistemas es proveer soporte mecánico

durante el crecimiento del tejido y que al mismo tiempo se vaya degradando en productos biocompatibles o bien, requerimientos más demandantes como la habilidad de incorporar células, factores de crecimiento al desarrollar estructuras porosas de tamaño deseado con propiedades mecánicas muy específicas dependiendo del área de aplicación<sup>(3,4)</sup>. También se ha utilizado el PLA en la elaboración de látices acuosos (nanopartículas de polímero dispersas en agua estabilizadas con tensoactivo) que pueden ser utilizados como sistemas de liberación de fármacos.

Belbella y col.<sup>(13)</sup> reportaron la degradación de microesferas de PDLLA de Mw = 25 KDa y 95 KDa en función del pH en el medio acuoso. Encontraron que a pH de 10.1 la degradación fue más pronunciada al utilizar un Mw de 95 KDa lo que se reflejó en una disminución en dicho valor, mientras que a pH de 2.2 la degradación predominó al emplear un Mw de 25 KDa. En cambio, a pH de 7.4 ambos polímeros tuvieron una degradación de tal solo el 50% con respecto a los valores alcanzados a pH ácido ó básico después de los 102 días de seguimiento.

### 3.6 GENERALIDADES DEL POLI(GLICÓLIDO) (PGA)

El PGA es un polímero amorfo que al igual que el PLA también se degrada hidrolíticamente. Dicho material se utilizó por primera vez en suturas y actualmente en fijaciones óseas (clavos óseos). La síntesis del PGA se puede llevar a cabo mediante ROP del dímero cíclico del ácido glicólico (GA) llamado glicólido en presencia de octoato estañoso como catalizador a una temperatura dada<sup>(1)</sup>. En la Figura 3 se ilustra la síntesis del PGA.



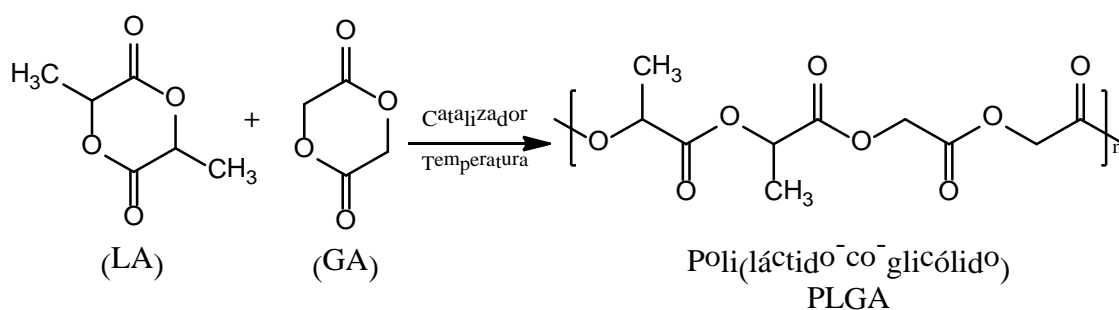
**Figura 3.** Síntesis del PGA vía ROP.

### 3.6.1 Propiedades del PGA

Las fibras obtenidas a partir del PGA se caracterizan por su alta resistencia. La rigidez dificulta su uso para suturas, excepto cuando se emplea como material trenzado. Al igual que el PLA, se degrada en el organismo dando una sustancia no tóxica que es metabolizada de la misma manera por el ciclo del ácido cítrico<sup>(1)</sup>.

### 3.7 GENERALIDADES DEL POLI(LÁCTIDO-CO-GLICÓLIDO) (PLGA)

El PLGA es un copolímero biodegradable y biocompatible que se encuentra formado por unión de las unidades repetitivas de cada uno de los homopolímeros (PLA y PGA) en la misma macromolécula. Generalmente, las relaciones molares van desde 50/50 hasta 75/25 (LA/GA), aunque existen algunas otras investigaciones donde esta relación ha sido hasta 90/10<sup>(5)</sup>. La síntesis del PLGA se puede realizar vía ROP utilizando los dímeros cíclicos del LA y GA en presencia de octoato estañoso como catalizador a una temperatura dada. En la Figura 4 se ilustra la síntesis del PLGA.



**Figura 4.** Síntesis del PLGA vía ROP.

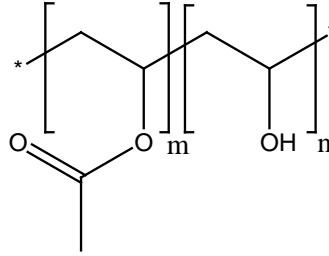
Diversos dispositivos implantables se han desarrollado con el PLGA entre los que destacan las pastillas, cilindros, nanopartículas y películas. Estos dos últimos dispositivos fueron los que se desarrollaron en el presente documento de investigación, por lo que a continuación se mencionan algunos de los aspectos más importantes que los caracterizan.

### **3.8 ELABORACIÓN DE LAS NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS MEDIANTE EL MÉTODO EMULSIÓN-EVAPORACIÓN**

En lo que respecta al uso de las nanopartículas de PLGA, se han utilizado como una alternativa prometedora en la liberación controlada de diversas sustancias (esteroides, agentes anti-cancerígenos, antibióticos, anestésicos y vacunas) a distintas zonas del organismo. Esto debido a la composición química (relación LA/GA en el PLGA) que presenta, aunado a las propiedades físicas tales como los pesos moleculares promedio en peso ( $M_w$ ) y número ( $M_n$ ), además de la  $T_g$ <sup>(1)</sup>.

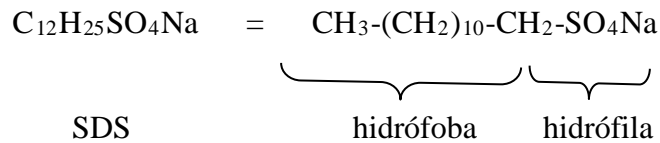
Existen diversos métodos para la elaboración de nanopartículas de polímero biodegradable, los cuales se dividen en dos clases: la primera clase la cual emplea a los monómeros como punto de partida, como por ejemplo la polimerización en emulsión o en microemulsión, y la segunda clase en la cual las nanopartículas son elaboradas a partir de los polímeros pre-formados (por ejemplo, obtenido vía proceso masa) utilizando diversos métodos entre los que destacan emulsión-difusión y emulsión-evaporación<sup>(1)</sup>. Este último, contempla el uso de cuatro componentes principales entre los que destacan el polímero, solvente orgánico, tensoactivo y agua. El polímero, el cual es disuelto previamente en la fase orgánica, es la materia prima con la cual se da origen a la elaboración de las nanopartículas dispersas en agua y estabilizadas con tensoactivo. Los tensoactivos más utilizados son los de tipo no iónico (no se disocian en agua por ser no polar) y en particular los de la familia del poli(alcohol vinílico) (PVA).

El PVA es un polímero sintético que a pesar de no disociarse en agua es soluble en ella. Además se caracteriza por ser buen emulsificador, inodoro, no tóxico y biodegradable. Dicho estabilizador se forma por la hidrólisis parcial ó total del poli(acetato de vinilo) (PVAc) dando origen a un copolímero formado por unidades repetitivas de acetato de vinilo (VAc) y alcohol vinílico (VA) en la misma molécula<sup>(14)</sup>. En la Figura 5 se ilustra la estructura química del PVA.



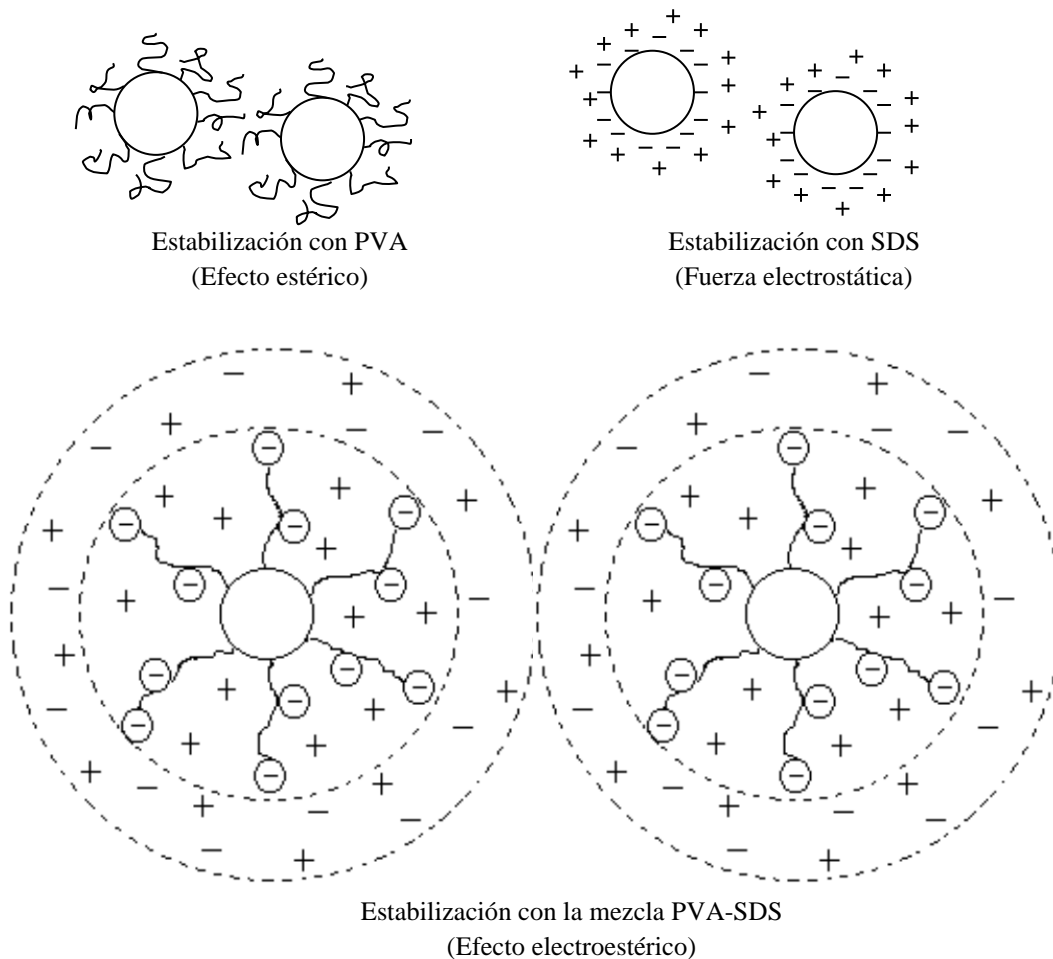
**Figura 5.** Estructura química del PVA.

Por otro lado, existen otros tensoactivos que tienen en su estructura molecular una parte hidrófoba que es afín a compuestos orgánicos y otra hidrófila que es afín al agua. A manera de ilustración, en la Figura 6 se muestra la molécula del compuesto dodecil sulfato de sodio (SDS) con su parte hidrófila e hidrófoba<sup>(15)</sup>.



**Figura 6.** Estructura química del SDS indicando la parte hidrófoba e hidrófila de la cadena.

Debido a las características que presenta el PVA, el tipo de estabilización que proporciona a las nanopartículas es diferente con respecto al del SDS. A manera de ilustración, en la Figura 7 se puede observar como la estabilidad coloidal con PVA se debe a efectos estéricos, mientras que al usar SDS a repulsiones electrostáticas. Asimismo, cuando ambos efectos se combinan se tiene un estabilizante de tipo electrostérico alrededor de las partículas, por lo que su estabilidad coloidal es mayor que si se tuviera un solo tipo de estabilizador (iónico o no iónico)<sup>(16,17)</sup>.



**Figura 7.** Representación esquemática de las diferentes fuerzas de repulsión entre dos partículas de polímero dependiendo del tipo de estabilizador.

Una vez descritos los cuatro componentes principales del método emulsión-evaporación, el procedimiento utilizado para la elaboración de las nanopartículas es el siguiente. Lo primero que se hace es disolver el polímero en la fase orgánica (por ejemplo: acetato de etilo, cloroformo, cloruro de metileno) y el estabilizador (ó tensoactivo) en el agua. Posteriormente, ambas soluciones son mezcladas en el mismo recipiente y emulsificadas a altas velocidades de agitación (por ejemplo: 17,500 rpm) con la ayuda de un ultraturrax por algunos minutos. Una vez formada la emulsión, el siguiente paso es la eliminación del solvente orgánico con la intención de dar rigidez a la nanopartículas dispersas en agua estabilizadas con tensoactivo.

Cabe manifestar que además de PVA en la elaboración de nanopartículas biodegradables (PLA y PLGA), también se ha utilizado SDS como estabilizador. Sin embargo, no existen reportes en la literatura donde se hayan mezclado dichos tensoactivos con el fin de

proporcionar una estabilización de tipo electroestérica a nanopartículas de polímero biodegradable. Tampoco existen reportes en lo referente a la influencia de la mezcla PVA-SDS como estabilizador coloidal en función de la relación molar LA/GA en las nanopartículas de PLGA. En cuanto al uso de la mezcla PVA-SDS, Ramírez y col.<sup>(16,17)</sup> reportaron que durante la polimerización en minisuspensión de estireno dicha mezcla estabilizaba mejor a las nano-partículas de poli(estireno) que el PVA solo, esto debido a que con la mezcla PVA-SDS el diámetro de partícula ( $D_p$ ) permaneció aproximadamente constante, mientras que con el PVA las nano-partículas fueron inestables y coagularon. Dicho comportamiento lo atribuyeron a que las moléculas de SDS (estabilizador electrostático) al mezclarse con las moléculas de PVA (estabilizador estérico) ocasionaron que esta últimas se extendieran para dar origen a un mecanismo de estabilización electroestérico, como fue inferido de las mediciones de viscosidad y tensión interfacial en medio acuoso.

### **3.9 ELABORACIÓN DE LAS PELÍCULAS POLIMÉRICAS UTILIZANDO EL MÉTODO “SOLVENT-CASTING”**

Típicamente, la elaboración de las películas aplicadas en el campo de ingeniería de tejido es por medio de la técnica conocida en inglés como solvent-casting, la cual se describe a continuación. Lo primero que se hace es disolver cierta cantidad de polímero en un solvente orgánico (por ejemplo acetato de etilo, cloroformo, THF). Posteriormente, esta disolución se coloca sobre una superficie especial (por ejemplo: teflón) a temperatura ambiente ( $\approx 25^\circ\text{C}$ ) y se deja reposar el tiempo necesario para que se lleve a cabo la evaporación del disolvente y dar origen a la película<sup>(18)</sup>. Para eliminar las trazas de solvente, ha sido necesario el uso de equipos a presión reducida en presencia de calentamiento.

Diversos grupos de investigación han reportado el empleo de la técnica solvent-casting para la elaboración de las películas [Lu y col.<sup>(19)</sup>, Vey y col.<sup>(18)</sup>, Zhang y col.<sup>(20)</sup>, Li y Vert<sup>(21)</sup>]. Una vez elaboradas, diversos estudios se han realizado enfocados a la degradación del PLGA en función de la composición LA/GA, Lu y col.<sup>(19)</sup>, Li y Vert<sup>(21)</sup>. Asimismo, existen reportes donde la liberación de algún fármaco (por ejemplo: paclitaxel) ha sido evaluada en función de la degradación del PLGA dependiendo de la relación LA/GA. Lisa Lao y col.<sup>(22)</sup>



### **3.10 DEGRADACIÓN DEL PLGA EN FORMA DE NANOPARTÍCULA Y/O PELÍCULA**

Uno de los mecanismos más atractivos para la degradación del PLGA bajo condiciones fisiológicas es la hidrólisis. Dicho proceso se puede resumir en cuatro etapas: 1) el agua penetra primero en la matriz de PGA, después en la región amorfa del PLA y por último en su región cristalina, 2) en cada caso, se da rompimiento al enlace covalente carbono-oxígeno perteneciente al grupo éster vía hidrólisis, dando origen a la formación de grupos terminales carboxílicos, 3) esto trae como consecuencia una disminución en el peso molecular por el rompimiento masivo de las cadenas poliméricas, 4) y por lo tanto el polímero empieza a perder peso (esta etapa llamada erosión se define como la pérdida de monómeros y oligómeros que se desprenden de la matriz polimérica)<sup>(23)</sup>.

La degradación del PLGA puede estimarse en forma indirecta mediante la medición de cambios físicos como el peso molecular ó Tg o bien, mediante la evolución de algunos cambios químicos como la composición LA/GA en el PLGA<sup>(24)</sup>. Además de estos cambios, la pérdida en esfuerzos mecánicos puede reflejar hasta cierto punto la degradación<sup>(25)</sup>.

Para el caso de liberación de fármacos, diversos agentes terapéuticos han sido formulados e incorporados al polímero con diversas formas tales como discos, películas y nanoesferas, entre otros<sup>(26)</sup>. La liberación del fármaco en estos dispositivos está gobernada por la difusión del mismo y degradación del polímero. Así, la penetración de agua en el polímero es un factor clave que determina la velocidad de degradación y como consecuencia, la velocidad de liberación del agente terapéutico. Entre los factores que pueden influir en la degradación se encuentran la composición LA/GA en el PLGA, cristalinidad en la matriz polimérica, concentración del buffer, entre otros<sup>(27)</sup>.

A continuación se muestran algunos de los factores que influyen en la velocidad de degradación del polímero y como consecuencia, en la liberación del fármaco:

### **3.10.1 Efecto de Mw**

Wang y col.<sup>(28)</sup> estudiaron la influencia de Mw sobre la degradación de películas de PLGA con una relación molar LA/GA de 72/28. Ellos observaron que al utilizar el PLGA con Mw= 1.317 KDa ocasionaba que la velocidad de degradación fuera mayor que al utilizar un Mw = 3.025 KDa. Este comportamiento también lo lograron observar en microesferas de PLGA almacenadas durante 53 días, donde al utilizar un Mw= 17 KDa experimentó mayor degradación que al utilizar un Mw= 41 KDa. Por otra parte, Wu y col.<sup>(29)</sup> observó algo similar en películas elaboradas con el mismo copolímero, donde al disminuir Mw empleando una relación molar LA/GA de 80/20, la velocidad de degradación fue más rápida.

### **3.10.2 Efecto de la composición LA/GA en el PLGA**

Otro factor que también influye en la velocidad de degradación es la composición LA/GA en el PLGA. En este caso, lo que determina dicho parámetro es que tan hidrófila ó hidrófoba es la matriz polimérica. Un alto contenido de GA como unidad repetitiva en el PLGA proporciona un carácter más hidrófilo a la cadena, dando origen a una mayor velocidad de degradación y como consecuencia, una mayor velocidad de liberación del fármaco<sup>(30)</sup>. Al respecto, Li<sup>(31)</sup> estudio la degradación del PLGA en forma de película en función de su composición LA/GA (85/15 y 75/25), manifestando que la velocidad de degradación fue más rápida conforme relación de GA en el PLGA fue mayor. Este comportamiento coincide con lo reportado en la literatura por otros investigadores al utilizar el mismo tipo de polímero con diferentes relaciones de LA/GA. Wu<sup>(32)</sup>.

### **3.10.3 Efecto del pH en el medio acuoso**

Se ha reportado que el pH del medio acuoso influye en la hidrólisis de los grupos ésteres presentes en el PLGA y como consecuencia, en la formación de los grupos ácidos carboxílicos terminales<sup>(30)</sup>. Al respecto, Wu y Wang<sup>(33)</sup> elaboraron películas de PLGA (relación molar de 50/50) para estudiar el efecto del pH a valores de 5, 7.4 y 9.4 sobre la velocidad de degradación a 37.4°C. Ellos observaron que la degradación del polímero fue mayor conforme

el pH en el medio acuoso disminuyó, lo que se reflejó en una disminución en Mw. Por otra parte, Holy y col.<sup>(34)</sup> estudio el mismo efecto pero utilizando películas porosas de PLGA 75/25 a 37°C durante 30 semanas. Entre lo reportado concluyó que a valores de pH de 7.4 y 6.4 existía el mismo patrón de degradación, mientras que a pH 5 la degradación fue más rápida.

#### **3.10.4 Efecto del tamaño de la matriz polimérica**

Diversos dispositivos de diferentes dimensiones y/o espesores se han elaborado para estudiar la degradación del PLGA. Entre los dispositivos elaborados se encuentran tabletas, discos, micro/nano esferas, películas y/o andamios. Para el caso de películas se han reportado espesores mayores a 0.2 mm con dimensiones variadas (de 3 a 5 cm de largo por 1 a 3 cm de ancho)<sup>(18,22,30)</sup>. Por ejemplo, Witt y Kissel<sup>(35)</sup> reportaron que el Mw del PLGA con relación molar LA/GA (50/50) disminuyó conforme incrementó la superficie del material debido a una mayor área de contacto con el agua, lo que propició la hidrólisis de los grupos esterés en el polímero. Este comportamiento se acentuó considerablemente cuando se utilizaron como dispositivos las nanopartículas de polímero<sup>(36)</sup>.

#### **3.10.5 Efecto de la temperatura**

Además de los factores descritos, la degradación del PLGA también depende de la temperatura<sup>(30)</sup>. Al respecto, Belbella y col.<sup>(13)</sup> elaboraron nanopartículas de PDLLA con el fin de almacenarlas a diferente temperatura (-18°C, 4°C y 37°C) a pH=7.4 durante un mes. Trascurrido este periodo fue claro que la degradación de las nanoesferas fue mucho más rápida a 37°C que a temperaturas menores. Dicho comportamiento coincide con lo reportado por Hakkarainen y col.<sup>(37)</sup> al evaluar películas PLGA sumergidas un medio acuoso a pH=7.4 durante 60 días de almacenamiento. Ellos observaron que a 60°C, el 56% del polímero se había hidrolizado, mientras que solamente un 20% de este material experimento hidrólisis a 37°C.

## 4. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVO

Los materiales poliméricos tienen una importante aplicación en el área de la medicina, siendo los polímeros biodegradables tales como el PLA y PLGA, algunos de los materiales más estudiados en forma de nanopartícula como dispositivos de liberación de fármacos. Dichas nanopartículas se han elaborado por diversos métodos entre los que destacan el de emulsión- evaporación, el cual se caracteriza por partir de polímero pre-formado. Como estabilizadores se han utilizado los de tipo no-iónico entre los que se encuentran los de la familia PVA. Sin embargo, se ha puesto poca atención en estudiar la influencia que pudiera tener la variación del Mw del PVA además de la composición LA/GA (p/p) sobre la estabilidad coloidal de las nanopartículas durante su elaboración y almacenamiento. Aunado a lo anterior, tampoco existen reportes en la literatura donde haya mezclado PVA con SDS para dar origen una estabilización de tipo electroestérica. Por ello, en el presente trabajo de investigación se pretenden estudiar los efectos de Mw del PVA (solo ó mezclado con SDS) y composición LA/GA (p/p) en las nanopartículas poliméricas. Asimismo, se estudiará como influyen cada una de estos efectos sobre la degradación de dichas nanopartículas (vía hidrólisis) y cambios en el pH de las emulsiones durante almacenamiento, incluyendo la formación de películas poliméricas para comparar las similitudes y diferencias que existen entre ambos dispositivos.

### OBJETIVO

Estudiar la estabilidad coloidal de las nanopartículas de poliméricas variando su relación molar LA/GA, utilizando como estabilizadores coloidales la mezcla PVA-SDS y PVA como testigo durante almacenamiento.

#### 4.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estudiar la polimerización en masa vía ROP a 130°C los dímeros cíclicos LA y GA variando su relación molar teórica: 100/0 para obtener PLA y 88/12 y 64/36 para sintetizar PLGA. Posteriormente, caracterizar los polímeros mediante diferentes técnicas analíticas (GPC, <sup>1</sup>H-RMN, DSC y FTIR).

- Estudiar la elaboración nanopartículas con los polímeros sintetizados mediante el método emulsión- evaporación, utilizando como estabilizadores coloidales la mezcla PVA-SDS y PVA como testigo, además de una concentración de 15 g/L de PVA (solo ó mezclado con SDS) y diferente valor de Mw de dicho estabilizador (13-23, 31-50 y 85-124 KDa). Posteriormente, las emulsiones se almacenan durante 28 días a 37.4°C en presencia de buffer fosfato salino (PBS) con el fin de estudiar su estabilidad coloidal (cambios en Dp), además de la degradación de los polímeros mediante los cambios en peso molecular (Mw y Mn) y pH en las emulsiones. Adicionalmente, se estudia la degradación de los polímeros sintetizados en forma de películas utilizando las mismas condiciones que en las nanopartículas.

## **5. HIPÓTESIS**

La estabilidad coloidal de las nanopartículas de PLA y PLGA (88/12 y 64/36 p/p) estará en función o dependerá del MW del PVA como estabilizador estérico. Asimismo, dicho comportamiento podrá mejorar al mezclar dicho tensoactivo con SDS al generar un estabilizador de tipo electroestérico.

El acomodo de las moléculas del estabilizador electroestérico (PVA-SDS) alrededor de las nanopartículas de PLA y PLGA (88/12 y 64/36 p/p) influirá en la difusión de agua hacia su interior, y como consecuencia, en la hidrólisis de las cadenas tipo poliéster.

## **6. METODOLOGIA EXPERIMENTAL**

### **6.1. REACTIVOS**

El 3,6-dimetil-1,4-dioxano-2,5-diona (D,L LA láctido al 98%), el 1,4-dioxano-2,5-diona (glicólido, GA al 99%), el poli(alcohol vinílico) (PVA) de diferente peso molecular promedio (Mw= 13-23, 31-50 y 85-124 KDa, hidrolizados del 87-89%), el octoato estañoso ( $\text{Sn}(\text{Oct})_2$  al 95%), el acetato de etilo (99.5%), el hexafluoroisopropanol (HFIP), el tolueno anhidro (99.8%), el 1-dodecanol (98%), el cloroformo deuterado (99.8% átomos de deuterio) y el buffer fosfato salino (PBS), todos provistos por Sigma Aldrich, fueron utilizados tal y como se recibieron. El dodecil sulfato de sodio (SDS) fue de la marca Fluka, mientras que el cloroformo y el metanol, ambos grado reactivo, de J.T. Baker. El cloroformo grado HPLC fue de la marca Tedia. El agua fue destilada y posteriormente des-ionizada al pasarse por columnas de intercambio iónico de la marca Cole-Palmer. El argón de ultra alta pureza (99.999%) fue proporcionado por INFRA México.

### **6.2. INSTRUMENTACIÓN ANALÍTICA Y EQUIPOS DIVERSOS**

#### **6.2.1. Instrumentación analítica**

- Cromatógrafo de Permeación en Gel (GPC) Alliance Waters modelo 2695 con detector de índice de refracción Waters modelo 2414. Como fase móvil se utilizó  $\text{CHCl}_3$  grado HPLC con un flujo de inyección de 1 ml/min.
- Resonancia Magnética Nuclear de Protón ( $^1\text{H}$ -RMN) Avance III de 500MHz marca Bruker utilizando  $\text{CDCl}_3$  ó una mezcla de  $\text{CDCl}_3$ /HFIP como disolventes del polímero.
- Calorímetro Diferencial de Barrido (DSC) modelo Q200 de TA Instruments a una velocidad de calentamiento o enfriamiento de 10°C/min con atmósfera de nitrógeno.

La velocidad de calentamiento ó enfriamiento fue de 10°C/min en atmosfera de nitrógeno.

- Espectrofotómetro de Infrarrojo (FTIR) Nicolet Magna 550, 25 barridos, 4cm<sup>-1</sup> de resolución, con una longitud de onda de 4000 a 400nm.

### 6.2.2. Equipos diversos

Para llevar a cabo la síntesis de los diferentes polímeros vía masa se utilizó el equipo de química combinatoria Chemspeed Technologies ASW 2000, en cual se muestra en la Figura 8.



**Figura 8.** Equipo de química combinatoria utilizado en la síntesis de los polímeros vía masa a 500 rpm y 130°C.

El equipo estuvo conformado por diversos accesorios entre las que destacan el conjunto de 16 reactores de vidrio de enchaquetados de 10 mL, una placa metálica con la cual se dio origen a la agitación de tipo orbital, un baño de aceite con el cual fue posible controlar la temperatura

de reacción, un baño de recirculación de agua que suministró cada una de las tapas encajadas de los reactores para que actuaran como condensadores, un tanque de argón de ultra alta pureza que se utilizó para inyectar el gas al sistema de reacción y polimerizar en atmósfera inerte y una computadora con software Autosuite Customer ASW2000 para Windows que ayudó a tener un mejor control en las condiciones involucradas durante la reacción (por ejemplo: rampas de calentamiento y enfriamiento a tiempos previamente establecidos). La caracterización de los polímeros de interés se realizó por GPC,  $^1\text{H-RMN}$ , DSC e FTIR.

Para elaborar las emulsiones vía emulsión- evaporación se utilizó el homogenizador Ultra-Turrax IKA T25 digital, equipado con un elemento de dispersión modelo S 25N-25F e intervalo de agitación desde 100 hasta 24,000 rpm. Para eliminar el acetato de etilo de las emulsiones y dar rigidez a las nanopartículas dispersas en agua estabilizadas con PVA ó PVA-SDS se utilizó un rotavapor Buchi R-210 acoplado a una bomba de vacío Buchi V-700. Para determinar el diámetro de partícula ( $D_p$ ) de las emulsiones (recién elaboradas y durante almacenamiento) se utilizó un dispersor de luz Zetasizer nano-S90 de Malven Instruments a  $25^\circ\text{C}$  y  $37^\circ\text{C}$ , realizando 3 mediciones de 10 escaneos por muestra reportándose el promedio. Para precipitar las nanopartículas de las emulsiones se utilizó una centrifuga marca Allegra 64R de Beckman Coulter con un rotor F-1010 adaptado para colocar hasta 10 tubos de 10 mL. Posteriormente, fueron secadas en una estufa de vacío Lab-line Duo-vac oven de Lab-line Instruments, Inc. conectada a una bomba de vacío Buchi V-700.

Las películas poliméricas se elaboraron sobre una parrilla de calentamiento marca Thermolyne con plato en cerámica de 18 x 18 cms con control de temperatura desde  $5^\circ$  hasta  $540^\circ\text{C}$  que tenía adherida una película de teflón para facilitar su recuperación al momento de formarse. Para eliminar el solvente residual se utilizó la misma estufa y bomba de vacío mencionada en el párrafo anterior inmediato. Para medir los espesores de las películas se empleó un Vernier digital marca Stainless.



### 6.3. SÍNTESIS DE LOS POLÍMEROS VÍA ROP VARIANDO SU RELACIÓN MOLAR LACTIDO/GLICÓLIDO (LA/GA)

Las síntesis del PLA y PLGA (variando la relación LA/GA) se llevaron a cabo en grupos. En el primer grupo mostrado en la Tabla 1 se utilizó una cantidad de dímeros totales (abreviado como “M”) de 2.6 g, mientras que en la Tabla 2 la cantidad incremento hasta 7g totales. En ambos casos, las polimerizaciones se realizaron utilizando el proceso masa con una velocidad de agitación de 500 rpm y temperatura de reacción de 130°C. Como catalizador se utilizó Sn(Oct)<sub>2</sub>, abreviado como “C”, mientras que como iniciador 1-dodecanol, abreviado como “ROH”, ambos previamente disueltos en tolueno anhidro (10% en peso con respecto a la cantidad total de monómeros utilizados) con el fin de facilitar su adición al sistema de reacción por las cantidades tan pequeñas utilizadas. Nótese como en ambos grupos de polimerizaciones se mantuvieron constantes las relaciones molares, abreviada como “RM”, del M/C y ROH/C en 2000 y 1, respectivamente.

**Tabla 1.** Formulaciones utilizadas en la síntesis de PLA y PLGA a 2.6 g totales.

Reactor	Relación LA/GA % w/w	Moles LA	Moles GA	RM M/C	Moles C	RM ROH/C	Moles OH
1	100/0	0.0180	0.0	2000	9.02E-06	1	9.02E-06
2	88/12	0.0159	0.0027		9.28E-06		9.28E-06
3	64/36	0.0115	0.0081		9.80E-06		9.80E-06

PM del LA= 144g/mol; PM del GA= 116.07g/mol; PM del C= 405.11g/mol; PM del ROH= 186g/mol

**Tabla 2.** Formulaciones utilizadas en la síntesis de PLA y PLGA escalado a 7 g.

Reactor	Relación LA/GA % w/w	Moles LA	Moles GA	RM M/C	Moles C	RM ROH/C	Moles OH
1	100/0	0.0486	0.0	2000	2.43E-05	1	2.43E-05
2	88/12	0.0427	0.0072		2.50E-05		2.50E-05
3	64/36	0.0311	0.0217		2.64E-05		2.64E-05

PM del LA= 144g/mol; PM del GA= 116.07g/mol; PM del C= 405.11g/mol; PM del ROH= 186g/mol

El procedimiento utilizado en las síntesis de los polímeros considerando las formulaciones mostradas en las Tablas 1 y 2 se describe a continuación. Una vez agregados los respectivos dímeros LA y/o GA, además del catalizador y el alcohol previamente disueltos en 0.26g

tolueno anhidro al sistema de reacción, se procedió a sellar bien el reactor y se mantuvo bajo atmosfera inerte al hacer pasar un flujo de Argón; en este momento se inició al calentamiento del reactor a 50°C a una velocidad de agitación de 500 rpm. Después de 5 min, la temperatura se incrementó gradualmente hasta llegar a 90°C, ahí se mantuvo en agitación durante 10 min para lograr una mejor homogeneización en la mezcla de reacción. Pasado este tiempo, la temperatura se incrementó gradualmente hasta alcanzar los 130°C y dar inicio a la polimerización. Una vez transcurridos los 90 min de reacción, la temperatura se disminuyó hasta 80°C con la finalidad de agregar manualmente volúmenes previamente establecidos de CDCl<sub>3</sub> grado reactivo ó HFIP e iniciar con la disolución del polímero y posterior recuperación. Después, la temperatura en el sistema de reacción se disminuyó hasta 50°C, manteniéndose así, el tiempo necesario hasta lograr la disolución total del polímero para ser recuperado. Cabe manifestar que el CDCl<sub>3</sub> grado reactivo se utilizó para disolver los polímeros donde las relaciones teóricas de LA/GA fueron de 100/0 y 88/12 %w/w, mientras que el HFIP en la relación teórica 64/36 %w/w.

### **6.3.1. Purificación de los polímeros**

La purificación de cada uno de los polímeros consistió en realizar ciclos de disolución-precipitación, utilizando como disolvente CDCl<sub>3</sub> ó HFIP y como precipitante metanol (grado reactivo y/ó grado industrial). Como el polímero fue previamente disuelto al final de la polimerización lo que procedió fue precipitarlo en 500 ml de metanol en presencia de agitación. La adición de la disolución de polímero se realizó gota a gota observándose la precipitación del mismo. Este procedimiento de disolución-precipitación se realizó hasta cuatro veces, esto con el fin de eliminar las impurezas que puedan estar presentes en el polímero, tales como dímero residual ó trazas de Sn(Oct)<sub>2</sub> y/o 1-dodecanol. Finalizados los ciclos, el polímero húmedo se colocó en una estufa de calentamiento a 50°C con vacío para su secado y de esta manera, dar paso a su caracterización analítica.

### 6.3.2. Técnicas analíticas utilizadas en la caracterización de los polímeros

Los polímeros de interés fueron caracterizados por diferentes técnicas analíticas tales como GPC,  $^1\text{H}$ -RMN, FT-IR y DSC. La preparación de cada una de las muestras se describe a continuación:

- GPC:  $\approx 15$  mg de polímero se disolvieron en 3 mL de  $\text{CHCl}_3$  grado HPLC ó 0.2 mL de HFIP para después completar su volumen hasta 2 mL con  $\text{CHCl}_3$  grado HPLC. Después, la disolución fue filtrada al pasarse por una membrana de teflón con tamaño de poro de 0.45 micras (filtros Milipore Millex LCR) y colocada en viales de 1.5 mL. Logrado lo anterior, se procedió a inyectar la disolución al equipo, en el cual se realizó previamente una curva de calibración hecha con estándares de poliestireno.
- $^1\text{H}$ -RMN:  $\approx 15$  mg de polímero se disolvieron en 1 mL de  $\text{CDCl}_3$  ó 0.2 mL de HFIP para después completar su volumen hasta 1 mL con  $\text{CDCl}_3$ . La disolución se realizó dentro de un tubo de vidrio para RMN el cual se mantuvo en un lugar fresco hasta antes de su análisis.
- FTIR:  $\approx 15$  mg de polímero y  $\approx 1$  gr bromuro de potasio (KBr) fueron colocados en un mortero de mano para su molienda. Lograda la mezcla, fue colocada en la prensa manual con la ayuda de una espátula para dar origen una pastilla. Dicha pastilla fue tomada con precaución con unas pinzas y sujeta en el portamuestras del equipo para su estudio.
- DSC:  $\approx 15$  mg de polímero se colocaron en una charola de aluminio con tapa. Después, la muestra tapada fue transferida a una prensa manual para dar origen una pastilla, la cual se colocó cuidadosamente sobre el portamuestras del equipo con la ayuda de unas pinzas para su análisis.

Una vez realizada la caracterización correspondiente a los polímeros de interés, se procedió a elaborar con cada uno de ellos dos de los dispositivos que típicamente se han utilizado en la liberación de fármacos como son las nanopartículas y películas. La elaboración de las nanopartículas se realizó vía emulsión-evaporación, mientras que las películas por la técnica de solvent-casting. Cada una de las metodologías se describe a continuación incluyéndose en cada caso, las caracterizaciones correspondientes y procedimientos utilizados.

#### 6.4. ELABORACIÓN DE LAS NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS MEDIANTE EL MÉTODO EMULSIÓN-EVAPORACIÓN

Para elaborar las nanopartículas de polímero vía emulsión-evaporación se utilizaron las formulaciones y condiciones mostradas en la Tabla 3. Tres grupos de emulsiones con diferente composición LA/GA en polímero fueron elaborados. Asimismo, en cada grupo tres PVA's de diferente Mw fueron utilizados a una concentración en 15 g/L. En todos los casos, el contenido de polímero disperso (CPD) estuvo alrededor del 0.75%w.

**Tabla 3.** Formulaciones y condiciones utilizadas en la elaboración de las nanopartículas de polímero vía emulsión-evaporación.

Polímero	PLA			PLGA					
	100/0			88/12			64/36		
Composición LA/GA, p/p	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Formulación, no.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Mw del PVA, KDa	13-23	31-50	85-124	13-23	31-50	85-124	13-23	31-50	85-124
<b>Disolución acuosa</b>									
PVA, g	2.24								
Buffer PBS, g	1.6425								
Agua, g	149.6								
<b>Disolución orgánica</b>									
Polímero, g	1.1775								
Acetato de etilo, g	155.4			155.4			10		
HFIP, g	0			0			40		
<b>Condiciones</b>									
Vel. de agitación, rpm	23,000								
Tiempo de agitación, min	3								
Temperatura, °C	25°C								

El procedimiento para elaborar cada una de las emulsiones descritas en la Tabla 3 se describe a continuación. En un vaso de precipitado de 500 mL que contenía agua destilada fueron disueltos el PVA y el buffer PBS. Por otro lado, en otro vaso de precipitado del mismo

volumen que contenía acetato de etilo (solo ó mezclado con HFIP) fue disuelto el polímero. Al momento de tener las dos soluciones listas, la disolución acuosa fue vertida en la disolución orgánica con el propósito de emulsionarla a altas velocidades de agitación durante cierto tiempo. Logrado lo anterior, la emulsión fue dividida en dos partes, la primera parte llamada testigo por tener solamente PVA como estabilizador estérico, mientras que a la segunda parte previamente estabilizada con PVA se agregó una cantidad conocida de SDS (0.1-1.5 g/L) para promover como mezcla PVA-SDS un estabilizador de tipo electroestérico. Después, cada una de las emulsiones fue colocada por separado en el rotavapor para eliminar el solvente orgánico y dar rigidez a las nanopartículas, las cuales permanecieron dispersas en agua estabilizadas con tensoactivo. Finalmente, las dos emulsiones fueron colocadas en frascos de vidrio con tapa para llevar a cabo los estudios correspondientes antes de ser almacenadas.

Cabe manifestar que el procedimiento descrito en el párrafo anterior corresponde a una formulación mostrada en la Tabla 3, con la cual se originaron a dos emulsiones (una estabilizada con PVA y la otra con la mezcla PVA-SDS). Por lo tanto, el haber empleado 9 formulaciones originó un total de 18 emulsiones, de las cuales 9 estuvieron estabilizadas con PVA (testigo), mientras que las otras 9 con la mezcla PVA-SDS, siendo la diferencia la composición LA/GA (w/w) y Mw del PVA además del ya mencionado tipo de estabilizador (estérico ó electroestérico).

#### **6.4.1. Estudios realizados a las emulsiones de PLA y PLGA**

Los estudios que se realizaron a cada una de las emulsiones recién preparadas fueron el Dp por dispersión de luz y el contenido de polímero disperso (CPD) en forma gravimétrica.

Para determinar el Dp se tomó una gota de la emulsión y se colocó en una celda plástica de 1 cm. Después, la gota se diluyó con una solución acuosa de SDS de 6 g/L hasta completar el volumen. Trascorridos 3 min de reposo, la celda fue colocada con precaución en el dispersor de luz para llevar a cabo la determinación.

Por otro lado, la determinación del CPD se realizó colocando un peso conocido de la emulsión (de 2 a 5 g) en una charola de aluminio previamente tarada. Después, la charola que contenía a la emulsión fue colocada sobre una parrilla de calentamiento ajustada a una temperatura de  $\approx 125^{\circ}\text{C}$ . Conforme pasó el tiempo, el agua y el acetato de etilo que se encontraban en la emulsión se fueron evaporando hasta quedar los sólidos de la emulsión (polímero, tensoactivo (s) y buffer). Después, la charola caliente fue retirada de la parrilla con la ayuda de unas pinzas y colocada sobre la mesa de trabajo. Finalmente, la charola fue nuevamente pesada con los sólidos de la emulsión. Para determinar el CPD se utilizó la siguiente ecuación:

$$\text{CPD (\% peso)} = \frac{[W (\text{charola} + \text{sólidos}) - W \text{ charola}] \times 0.23316843}{W \text{ emulsión}} \times 100$$

Donde:

- CPD (% peso) = contenido de polímero disperso en forma de nanopartícula en la emulsión
- W(charola + sólidos) = peso de charola de aluminio + peso de polímero + peso de tensoactivo + peso de buffer, g
- W charola = Peso de charola de aluminio, g
- 0.23316843 = Fracción peso de polímero en sólidos totales
- W emulsión = Peso de agua + peso de polímero + peso de tensoactivo (s) + peso de buffer, g

Una vez realizados los estudios correspondientes (Dp y CPD) a cada una de las emulsiones, se procedió a tapar perfectamente los frascos de vidrio que las contenían para continuar con la etapa de almacenamiento.

#### **6.4.2. Estudios realizados a las emulsiones de PLA y PLGA durante almacenamiento**

Las emulsiones, las cuales contenían las nanopartículas dispersas en agua estabilizadas con tensoactivo (PVA ó mezcla PVA-SDS) fueron colocada en una estufa a  $37.4^{\circ}\text{C}$  durante 28 días. Durante este tiempo, se efectuaron cinco muestreos a diferentes intervalos de tiempo (1, 7, 14, 21 y 28 días). Lo que se pretendió en esta etapa fue estudiar diversos factores tales como la estabilidad coloidal de las nanopartículas al dar seguimiento a la evolución de Dp por

dispersión de luz, la degradación de las nanopartículas al determinar los cambios en Mw por GPC y el pH. Cabe manifestar que la estabilidad coloidal de las emulsiones también se estudió a temperatura ambiente ( $\approx 25^{\circ}\text{C}$ ) con la finalidad de compararla con los resultados obtenidos a  $37.4^{\circ}\text{C}$ .

Para dar seguimiento a la evolución de Dp, el muestreo consistió en sacar de la estufa de calentamiento el frasco de la emulsión y tomar una gota por medio de una pipeta Pasteur. Posteriormente, la emulsión fue nuevamente colocada en la estufa a  $37.4^{\circ}\text{C}$  para continuar con su almacenamiento, mientras que la gota se utilizó para llevar a cabo la preparación de la muestra de acuerdo a lo especificado anteriormente en la sección 6.4.1.

Para determinar los cambios en Mw y composición LA/GA en el caso del PLGA fue necesario extraer las nanopartículas de PLA y PLGA cada una de las emulsiones como se describe a continuación. Una vez retirado el frasco de la estufa de calentamiento, 7 g de la emulsión fueron extraídos y vaciados en un tubo de teflón de 10 mL con tapa. Después, el tubo se colocó en la centrífuga a una velocidad de 18,500 rpm durante 18 min. Transcurrido este tiempo, el sobrenadante fue retirado del tubo de teflón mientras que las nanopartículas adheridas al fondo del tubo en forma de polvo y/o película de color blanco, fueron dispersadas en 7 mL de agua destilada para iniciar con la etapa de lavado. Dicha etapa consistió en realizar tres ciclos de dispersión-centrifugación utilizando la misma velocidad de agitación pero ahora durante 5 min. Lo que se pretendió con estos ciclos fue eliminar las trazas de tensoactivo (PVA ó mezcla PVA-SDS) o buffer PBS que pudieran existir en el polvo ó película polimérica, y de esta manera, obtener un polímero con una pureza tal que no afectara las caracterizaciones correspondientes. Terminado el tratamiento, el polímero se colocó en una estufa de calentamiento ( $35\text{-}40^{\circ}\text{C}$ ) durante 1h en presencia de vacío para eliminar el agua residual. Finalmente, el polímero seco fue utilizado para llevar a cabo la preparación de las muestras por GPC de acuerdo a lo especificado anteriormente en la sección 6.3.2.

## **6.5. ELABORACIÓN DE PELÍCULAS POLIMÉRICAS**

La elaboración de las películas se realizó por medio de la técnica solvent-casting. El procedimiento utilizado en cada una de ellos fue el siguiente. Se agregó 1g de polímero en 5

ml de solvente ( $\text{CDCl}_3$  ó mezcla  $\text{CDCl}_3/\text{HFIP}$  en una relación 4/1 v/v). Se dejó agitando por un lapso de una hora hasta tener el polímero disuelto. Después, se tomó la disolución del polímero con una pipeta Pasteur y se colocó sobre una parrilla de calentamiento a  $35^\circ\text{C}$  que tenía adherida una superficie de teflón. La temperatura de la parrilla se fue incrementando  $5^\circ\text{C}$  cada 90 min hasta llegar a una temperatura de  $60^\circ\text{C}$  observándose la formación de la película debido a la evaporación del solvente. Después, se mantuvo adherido alrededor de 24h a  $60^\circ\text{C}$  para iniciar con la eliminación de solvente residual. Finalmente, se apagó la parrilla de calentamiento y se desprendió con facilidad de la superficie de teflón teniendo cuidado de no quebrarla. Una vez despegada, la película se introdujo en una estufa con vacío a  $50^\circ\text{C}$  por 2h para eliminar las trazas de solvente aún presentes las cuales estuvieron alrededor del 0.01%. La película libre de solvente fue recortada cuidadosamente con tijeras en dimensiones de 4 X 2 cm y medido su espesor con la ayuda de un Vernier reportándose el promedio de 3 mediciones.

#### **6.5.1. Estudios realizados a las películas durante almacenamiento**

La caracterización de cada una de las películas recién elaboradas se realizó por GPC de acuerdo al procedimiento indicado previamente en la sección 6.3.2. Posteriormente, cada una de las películas fue colocada en una solución buffer fosfato (PBS) y almacenadas en una estufa de calentamiento a  $37.4^\circ\text{C}$  durante 28 días. Durante este tratamiento, se realizaron tres muestreos a diferentes periodos de tiempo (1, 7, 14, 21 y 28 días). Cada muestreo consistió en extraer cuidadosamente la película sumergida en la solución buffer fosfato (PBS) y cortar una tira con dimensiones de aprox. 0.3 X 0.8 cm. Después, la película de mayores dimensiones fue devuelta a la solución buffer para continuar con su almacenamiento a  $37.4^\circ\text{C}$ , mientras que la tira fue lavada con abundante agua destilada, secada con papel absorbente y colocada en una estufa con vacío a  $60^\circ\text{C}$  para llevar a cabo la preparación de las muestras por GPC y/o de acuerdo a lo especificado en la sección 6.3.2.

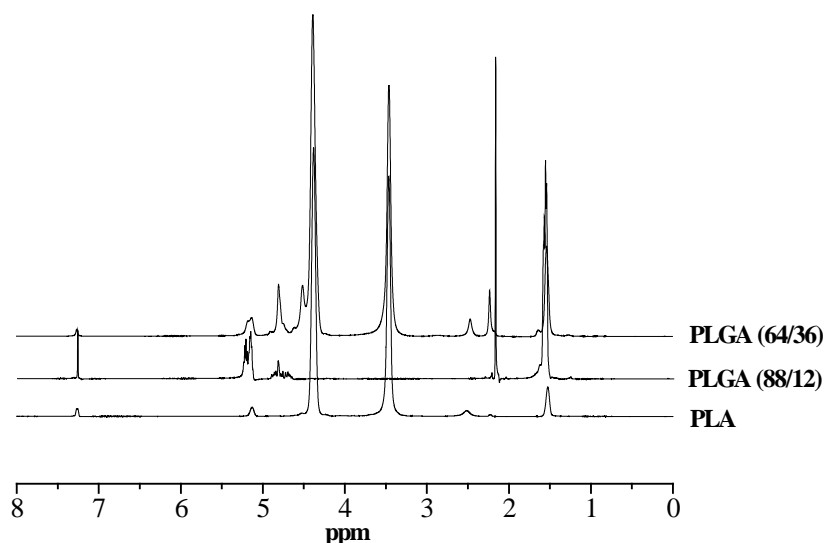


## 7. RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 7.1 CARACTERIZACIÓN DE LOS POLÍMEROS CON DIFERENTE RELACIÓN MOLAR LA/GA OBTENIDOS VÍA ROP

La síntesis de cada uno de los polímeros se realizó considerando la formulación indicada previamente en la sección experimental (ver Tabla 1 y 2). De acuerdo a lo mencionado en la parte de desarrollo experimental, se llevo a cabo la polimerización del homopolímero PLA y del copolímero PLGA manteniéndose constante la relación molar M/C y ROH/C en 2000 y 1, respectivamente.

En la Figura 9 se muestran los espectros de  $^1\text{H}$ -RMN en función de la relación molar teórica LA/GA utilizada (100/0, 88/12, 64/36 p/p). El espectro inferior corresponde al PLA (testigo) mientras que los espectros superiores corresponden al PLGA cada vez con mayor relación peso de GA en el copolímero.



**Figura 9.** Espectros de  $^1\text{H}$ -RMN del PLA y PLGA con diferente relación molar LA/GA en el copolímero.

Se puede observar como el espectro correspondiente al PLA muestran dos señales, una en 1.6 ppm y otra en 5.3 ppm, las cuales corresponden a los grupos metilo (-CH<sub>3</sub>) y metino (-CH-), respectivamente, las cuales coinciden con lo reportado en la literatura<sup>(38)</sup>. Asimismo, en los otros espectros que corresponden al PLGA se puede observar que, además de las dos señales ya mencionadas, aparece otra señal en 4.75 ppm, la cual de acuerdo a lo reportado en la literatura<sup>(38)</sup>, corresponde al grupo metileno (-CH<sub>2</sub>) del GA en el copolímero.

De acuerdo a los valores de integración obtenidos en los espectros de <sup>1</sup>H-RMN mostrados en la Figura 9, se calcularon las relaciones experimentales LA y GA en el polímero las cuales se muestran en la Tabla 4, en la cual se incluye también el testigo (PLA).

**Tabla 4.** Composición experimental LA/GA (p/p) en los polímeros determinada por <sup>1</sup>H-RMN.

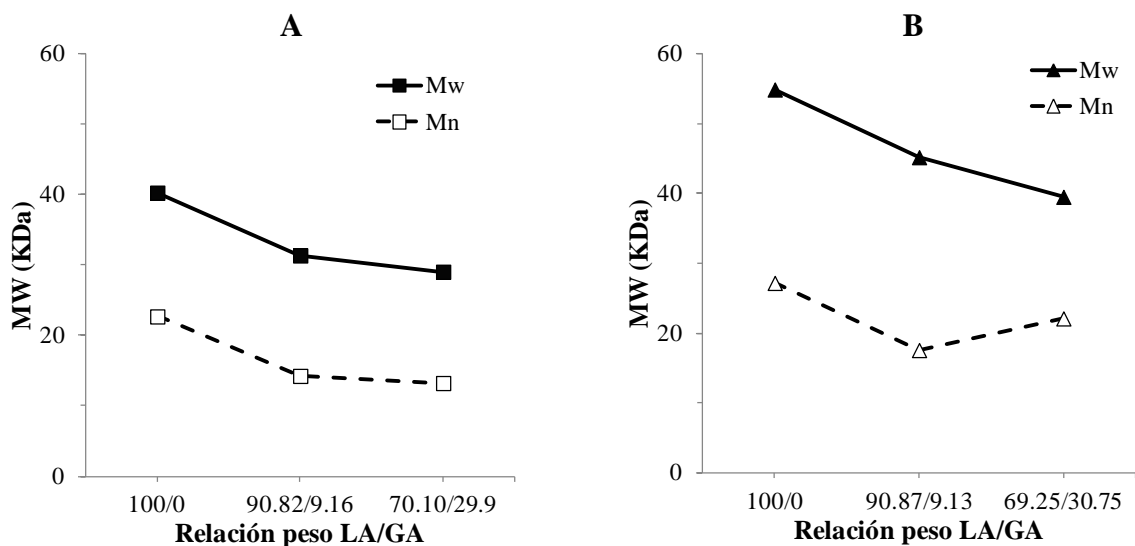
2.6 g			7 g		
Prueba	RM Teórica	RM Experimental	Prueba	RM Teórica	RM Experimental
1	100/0	100/0	1	100/0	100/0
2	88/12	90.82/9.16	2	88/12	90.87/9.13
3	64/36	70.10/29.9	3	64/36	69.25/30.75

En esta tabla se puede observar como las RM teóricas y las experimentales fueron muy parecidas ente sí, tanto al utilizar 2.6 como 7 g como dímeros totales en la polimerización, lo que indicó una buena polimerización en ambos sistemas de reacción.

En la Figura 10 se muestran los valores de los pesos moleculares (M<sub>w</sub> y M<sub>n</sub>) de los polímeros caracterizados por <sup>1</sup>H-RMN, en función de la composición experimental LA/GA (p/p) previamente determinada. Los resultados mostrados en la gráfica del lado izquierdo fueron obtenidos al utilizar 2.6 g como dímeros totales, mientras que en la gráfica del lado derecho se muestra todo lo correspondiente al haber utilizado 7g como parte de la formulación.

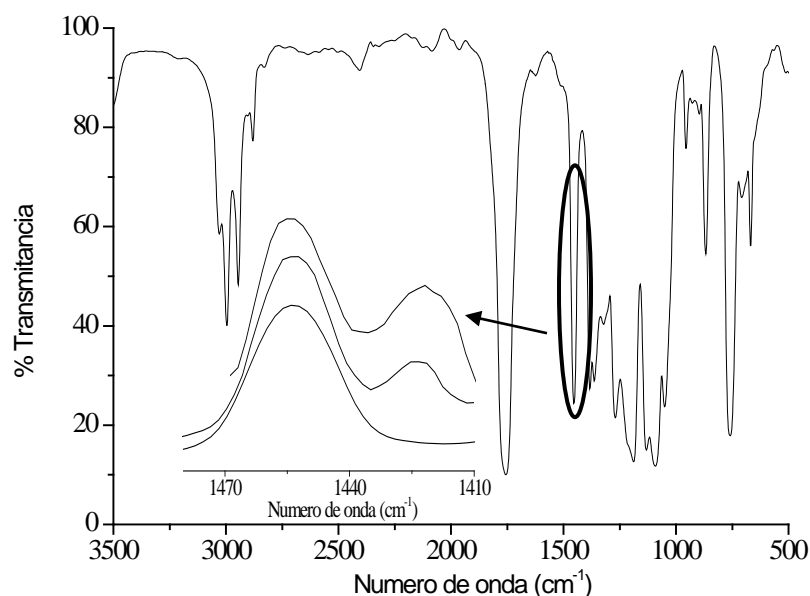
Se puede observar en la figura como M<sub>w</sub> y M<sub>n</sub> disminuyeron al utilizar 2.6 ó 7g de dímeros totales a medida de que la cantidad de GA en polímero aumentó, lo cual coincide con lo reportado con la literatura<sup>(38)</sup>. Sin embargo, nótese como los valores entre un sistema y otro resultaron hasta cierto punto diferentes. Estas variaciones se podrían atribuir a una deficiente

trasferencia de calor al utilizar mayor cantidad de materia prima lo que se reflejó en cambios cinéticos y como consecuencia, en los valores de peso molecular.



**Figura 10.** Evolución de Mw y Mn de los polímeros sintetizados vía ROP al utilizar diferente cantidad de dímeros a polimerizar: A) 2.6g y B) 7g, en función de la composición experimental LA/GA (p/p) en el polímero.

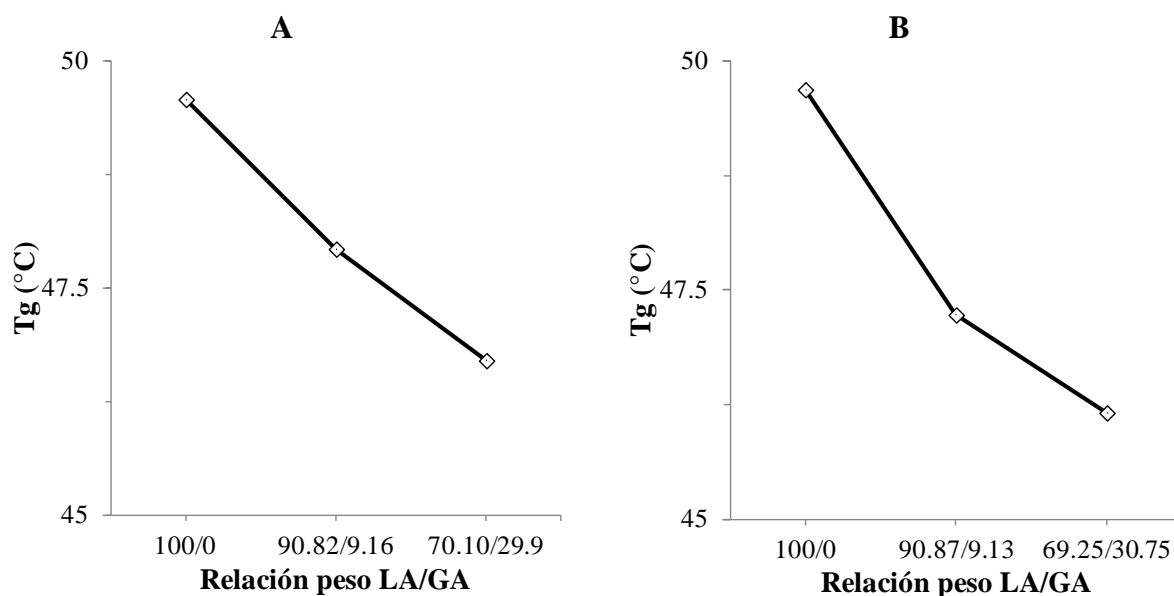
Por otra parte, en la Figura 11, se muestran los resultados de FTIR de los polímeros caracterizados por  $^1\text{H-RMN}$ . El espectro mostrado en por ciento de transmitancia corresponde al PLA, mientras que las señales graficadas en absorbancia corresponden al PLA y PLGA con diferente relación experimental LA/GA (p/p).



**Figura 11.** Espectro de FTIR del PLA (transmitancia) y evolución de absorbancia a medida que incremento la relación GA en el PLGA.

En el espectro del PLA mostrado en transmitancia se pueden observar dos picos cercanos a  $3000\text{ cm}^{-1}$  (región de metilos- metilenos), uno en  $1745\text{ cm}^{-1}$  (región de carbonilos), otra en  $1455\text{ cm}^{-1}$  ( $\delta_{\text{asl}}\text{ CH}_3$ ) y un grupo de picos en la región de  $1050$  a  $1300\text{ cm}^{-1}$  (bandas de C-O que indican la presencia del grupo éster). Además, se puede observar una región del espectro que se encuentra encerrada en un círculo y es mostrada en un recuadro en modo de absorbancia con los espectros correspondiente al PLGA de diferente composición LA/GA experimental. El espectro inferior que corresponde al PLA presenta un hombro en la región de  $1455\text{ cm}^{-1}$  atribuida a los estiramientos  $\delta_{\text{asl}}\text{ CH}_3$ . Asimismo, puede observar como aparece un segundo hombro alrededor de  $1425\text{ cm}^{-1}$  y cada vez se hace más pronunciado mientras que la señal de  $1455\text{ cm}^{-1}$  tiende a reducirse. La aparición de dicha señal corresponde a la presencia de GA ( $\delta_{\text{asl}}\text{ CH}_2$ ) en el PLGA. Estas señales concuerdan con lo reportado en la literatura<sup>(39)</sup>.

Otro estudio realizado a los polímeros fue la determinación de Tg, como se muestra en la Figura 12. Cabe manifestar que todos los termogramas obtenidos presentaron un valor de Tg lo que sugiere la formación de un polímero predominantemente al azar, además de que no presentaron endotermas de fusión lo que sugiere que todos los polímeros fueron predominantemente amorfos.



**Figura 12.** Evolución de la Tg en función de la relación experimental LA/GA en el polímero al utilizar diferente cantidad de dímeros a polimerizar: A) 2.6g y B) 7g.

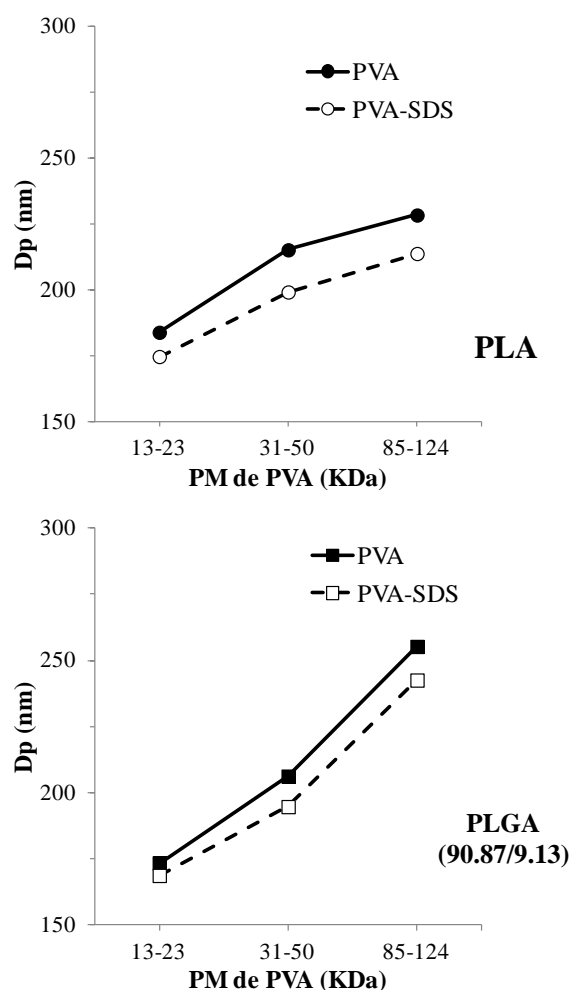
Se puede observar como el valor de Tg disminuye conforme la cantidad de GA en el polímero aumentó, tanto al utilizar 2.6 como 7 g como dímeros totales en la polimerización, lo cual coincide con lo reportado en la literatura<sup>(40)</sup>. Dicho comportamiento es común en copolímeros al azar donde el valor de la Tg se encuentra entre los valores correspondientes al de los componentes puros (Tg PLA= 50-55°C, Tg PGA= 36°C), además de que el desplazamiento de dicho valor depende en gran medida de las fracciones peso de los monómeros utilizados. Una vez caracterizados cada uno de los polímeros se procedió a elaborar las nanopartículas de PLA y PLGA (90.87/9.13 y 69.25/30.75) utilizando el método emulsión-evaporación (ver Tabla 3 de la sección experimental). Como estabilizador se utilizó PVA de diferente Mw en una concentración de 15g/L (solo ó mezclado con SDS), con el fin de estudiar la influencia de los estabilizadores electroestérico (mezcla PVA-SDS) y estérico (PVA) tanto al momento de la elaboración como durante su almacenamiento. Cabe mencionar que los polímeros utilizados en la elaboración de las nanopartículas fueron los obtenidos al utilizar los 7 g de dímeros (LA y GA), materiales que también fueron empleados en la elaboración de sus respectivas películas de acuerdo al procedimiento previamente mencionado en la sección experimental (sección 6.5).

## 7.2 CARACTERIZACIÓN DE LAS EMULSIONES DE PLA Y PLGA

En la Figura 13 se muestran los valores de Dp de las nanogotas presentes en las emulsiones recién preparadas de PLA y PLGA (90.87/9.13 y 69.25/30.75), en función del Mw del PVA y tipo de estabilizador (estérico ó electroestérico).

En las tres figuras se puede observar como a medida que incrementa el valor de Mw del PVA se promueve la formación de nanopartículas poliméricas de mayor Dp, tanto al utilizar la mezcla PVA-SDS como PVA solo como estabilizadores coloidales. Dicho comportamiento coincide con lo reportado en la literatura<sup>(41)</sup> el cual se atribuye al incremento de la viscosidad en la solución acuosa de PVA conforme el valor de Mw es mayor, por lo que al momento de elaborar las nanopartículas vía emulsión-evaporación, el esfuerzo de corte generado por el agente de dispersión (ultraturrax) se ve reducido reflejándose en mayores valores en Dp.

Además, nótese como los valores de Dp al utilizar la mezcla PVA-SDS (líneas punteadas) fueron menores que al utilizar PVA (líneas continuas). Dicho comportamiento se atribuye al estabilizador electroestérico al utilizar la mezcla PVA-SDS lo que originó que fuerzas de atracción-repulsión entre partícula-partícula fuera mayor de acuerdo al esquema mostrado en la Figura 7 (Antecedentes) evitando la coagulación de las mismas y como consecuencia, menores valores de Dp. En cambio, al utilizar PVA la estabilización que se obtuvo fue solamente de tipo estérica lo que propició una menor fuerza de repulsión entre partícula-partícula y con ello, mayores de Dp debido a la coagulación de las mismas. Otro efecto que se observa es el incremento de Dp conforme aumenta la

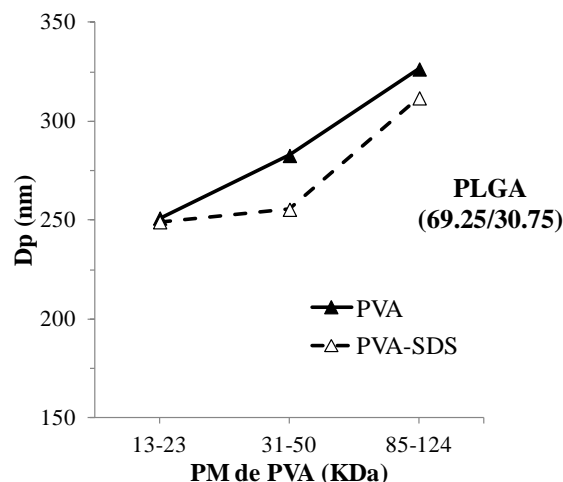


concentración de GA en el PLGA se puede atribuir a una menor estabilización de los tensoactivos.

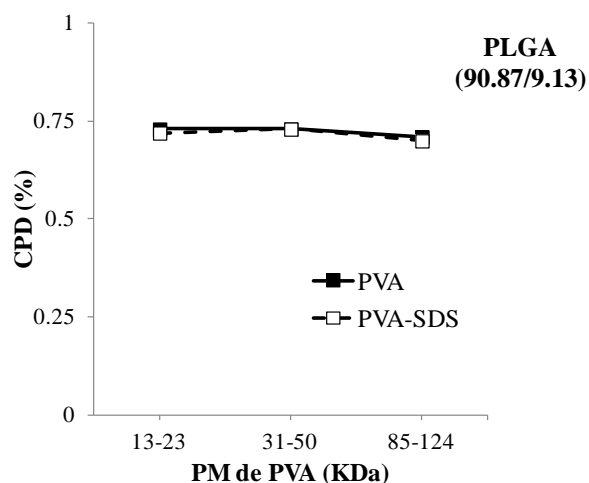
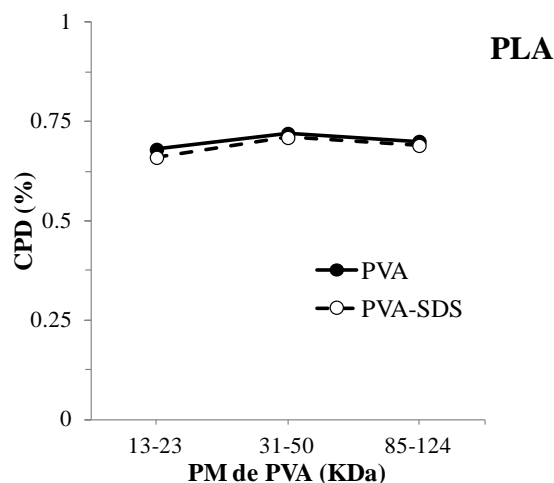
En la Figura 14 se muestra el CPD de las emulsiones de PLA y PLGA (90.87/9.13 y 69.25/30.75) en función del valor de Mw del PVA y tipo de estabilización (estérica y electroestérica). Se puede observar como el valor del CPD fue muy parecido tanto al utilizar la mezcla PVA-SDS (línea punteada) como PVA (línea continua),

independientemente del valor de Mw del PVA y tipo de estabilización. En todos los casos, el valor en el CPD experimental estuvo alrededor del 0.69%, es decir, muy cercano al valor teórico de 0.75%, lo que sugiere que es posible obtener emulsiones coloidalmente estables tanto al cambiar el valor de Mw del PVA como el tipo de estabilizador (estérico y electroestérico).

Finalizada la caracterización en Dp y CPD, se procedió a almacenar las 18 emulsiones a 37.4°C durante 28 días, esto con el fin de estudiar diversos factores tales como la estabilidad coloidal de las nanopartículas mediante los cambios en Dp, degradación del polímero vía hidrólisis mediante la determinación de los pesos moleculares y pH



**Figura 13.** Evolución de Dp en las nanopartículas de PLA y PLGA (90.87/9.13 y 69.25/30.75) utilizando PVA de diferente Mw en una concentración de 15g/L (solo ó mezclado con SDS).



en las emulsiones debido a formación de grupos ácidos a consecuencia de la hidrólisis en las cadenas poliméricas.

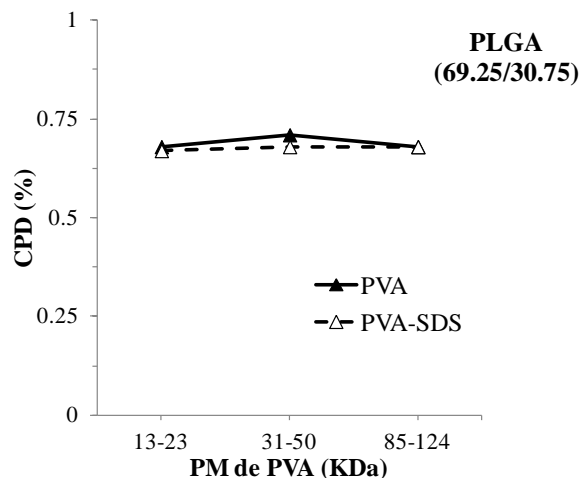
El análisis y discusión de los resultados se muestra de la siguiente manera. Primero, se plantea todo lo correspondientes a la evolución de Dp al utilizar el PVA con Mw= 13-23 KDa (solo ó mezclado con SDS). Después, dichos resultados son comparados con los obtenidos al utilizar PVA de mayor Mw (31-50 y 85-124 KDa) a fin de encontrar

similitudes y diferencias en cuanto a estabilidad coloidal se refiere. Este mismo patrón de análisis y discusión, el cual considera primero lo correspondiente al PVA de menor Mw y después a los de mayor Mw se utiliza en la evolución de peso molecular (Mw y Mn) y pH en las emulsiones.

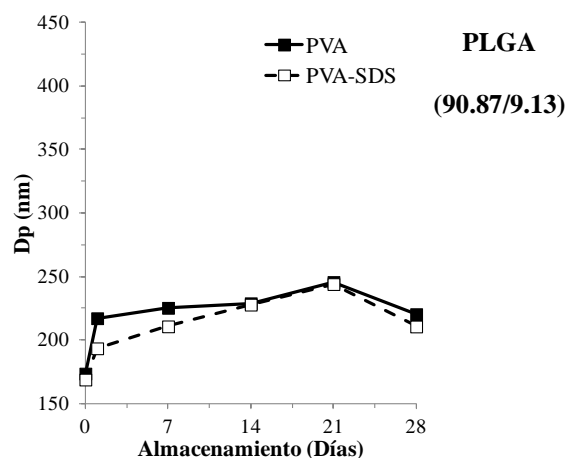
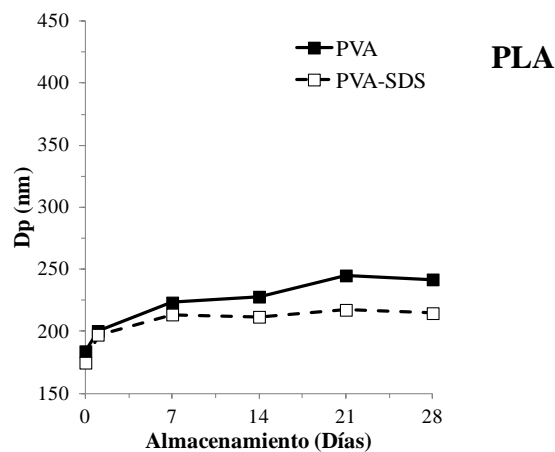
### 7.3. CARACTERIZACIÓN DE LAS EMULSIONES DE PLA Y PLGA DURANTE ALMACENAMIENTO

#### 7.3.1 Evolución del diámetro de partícula (Dp)

En la Figura 15 se muestra la evolución de Dp de las nanopartículas de PLA y PLGA (90.87/9.13 y 69.35/30.75) en función del

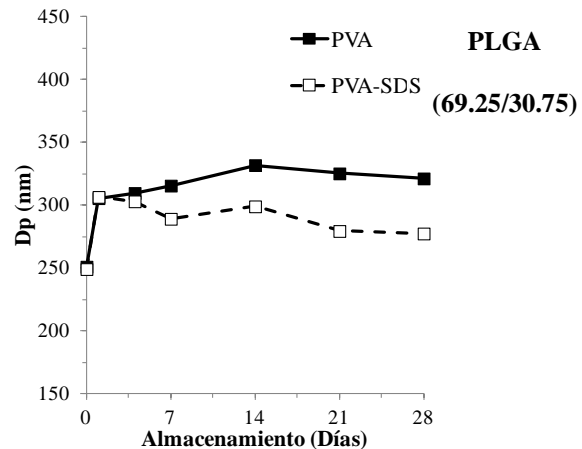


**Figura 14.** CPD inicial en las emulsiones de PLA y PLGA (90.87/9.13 y 69.25/30.75) en función de Mw del PVA y tipo de estabilizador (estérico y electroestérico).





tipo de estabilizador (mezcla PVA-SDS ó PVA). Nótese como los valores de Dp fueron en su mayoría menores al utilizar la mezcla PVA-SDS que PVA solo, en los tres casos. Este comportamiento respalda la formación del estabilizador electrostérico al utilizar la mezcla de tensoactivos, por lo que las nanopartículas tuvieron mayor fuerza de repulsion entre sí que al utilizar PVA lo que minimizó los eventos de coagulación reflejándose en menores valores de Dp. Además, puede observarse un incremento significativo en Dp al primer día de almacenamiento (segundo

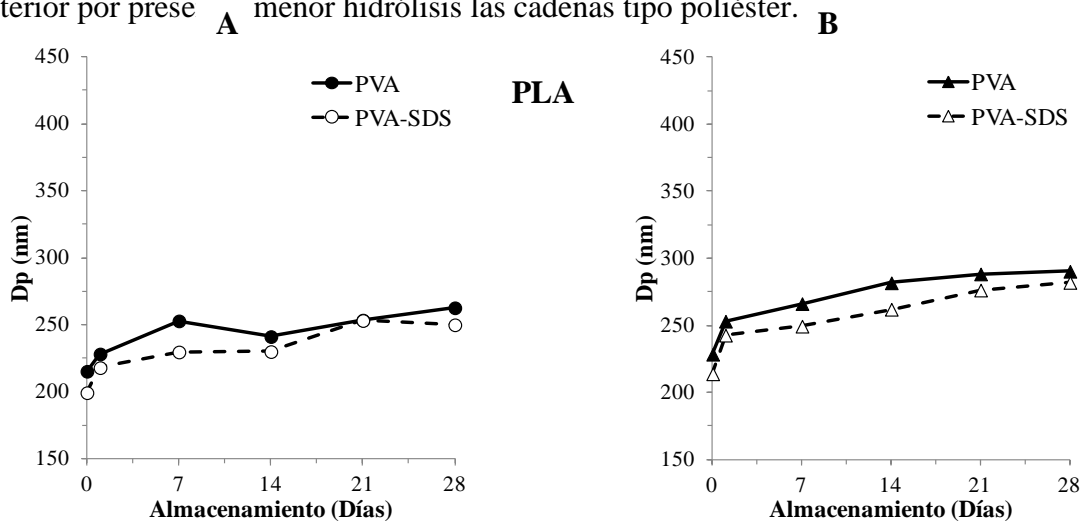


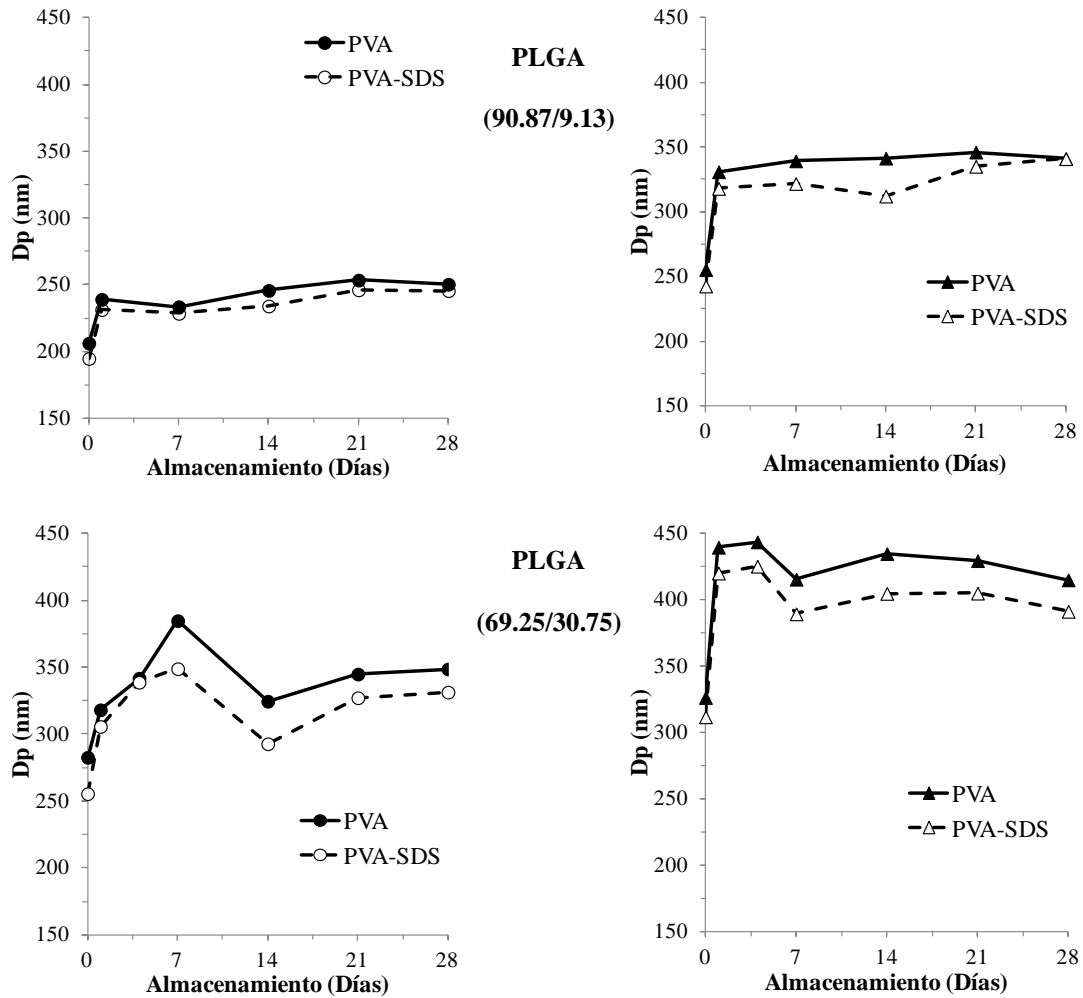
**Figura 15.** Evolución de Dp de las nanopartículas de PLA y PLGA (90.87/9.13 y 69.35/30.75) almacenadas a 37.4°C utilizando un Mw del PVA= 13-23 KDa y una concentración de 15 g/L (solo ó mezclado con SDS).

punto en las gráficas), no tan significativo con PLA, y después, valores aproximadamente constantes. Dicho incremento el cual fue más pronunciado conforme la cantidad de GA en el polímero aumentó, se podría atribuir a la existencia de una mayor cantidad de grupos GA como unidad repetitiva en la superficie de las nanopartículas, los cuales al tener un carácter más hidrófilo que las correspondientes con LA, ocasionaron que el estabilizador (PVA) minimizara de esta manera su capacidad estabilizadora. Asimismo, no se descarta que el incremento en Dp sea una consecuencia del hinchamiento de las nanopartículas, ya que al tener mayor cantidad de GA en las cadenas poliméricas (carácter más hidrófilo que él LA), dichas especies experimentaron mayor difusión de agua hacia su interior debido a la hidrólisis en las cadenas tipo poliéster ocasionando mayores valores en Dp. También se observa una tendencia de disminución en Dp, más notable cuando se incrementa la cantidad de GA el el PLGA.

Además, comparando dichos resultados con los obtenidos al utilizar PVA de mayor Mw (solo ó mezclado con SDS) mostrados en la Figura 16, puede notarse como las emulsiones presentaron un comportamiento de estabilidad coloidal muy parecido a 37.4°C, es decir, la mezcla PVA-SDS estabilizó mejor a las nanopartículas poliméricas que al utilizar PVA solo

debido a la formación del estabilizador electroestérico. Asimismo, se obtuvo un incremento importante en Dp al primer día de almacenamiento el cual, de acuerdo a lo discutido previamente, se podría atribuir a una menor adsorción del PVA y PVA-SDS y/o a la difusión de una mayor cantidad de agua hacia su interior conforme presentaron un carácter más hidrófilo como consecuencia de una mayor cantidad de GA en el PLGA. Cabe manifestar que una parte de las emulsiones indicadas en las Figuras 15 y 16 también fue almacenada a temperatura ambiente ( $\approx 25^{\circ}\text{C}$ ) para determinar la evolución de Dp. Al respecto, se encontró que la mezcla PVA-SDS estabilizó mejor las nanopartículas poliméricas que al utilizar PVA solo, además de que el incremento en Dp al primer día de almacenamiento fue menos pronunciado que al utilizar una temperatura de  $37.4^{\circ}\text{C}$ . Este último comportamiento se podría atribuir a diversos factores tales como una mayor capacidad de adsorción del PVA (solo ó mezclado con SDS) en la superficie de las nanopartículas debido a una menor temperatura en su superficie minimizando los eventos de coagulación y/o a una menor difusión de agua hacia su interior por prese



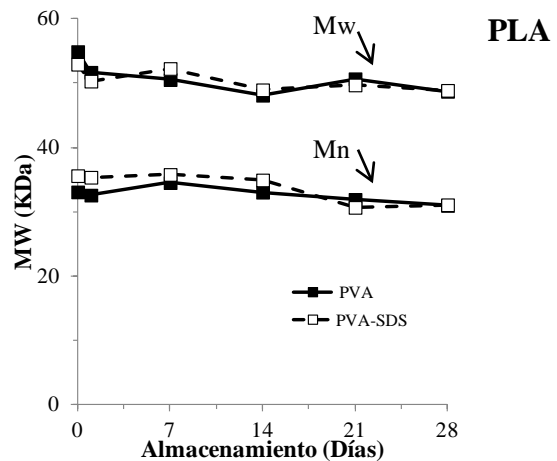


**Figura 16.** Evolución de Dp de las nanopartículas de PLA y PLGA (90.87/9.13 y 69.35/30.75) almacenadas a 37.4°C utilizando diferente Mw del estabilizador: A) PVA= 31-50 KDa y B) PVA= 85-124 KDa. La concentración de PVA es constante en 15 g/L (solo ó mezclado con SDS).

lo que redujo el hinchamiento de las mismas.

### 7.3.2 Evolución de peso molecular (Mw y Mn)

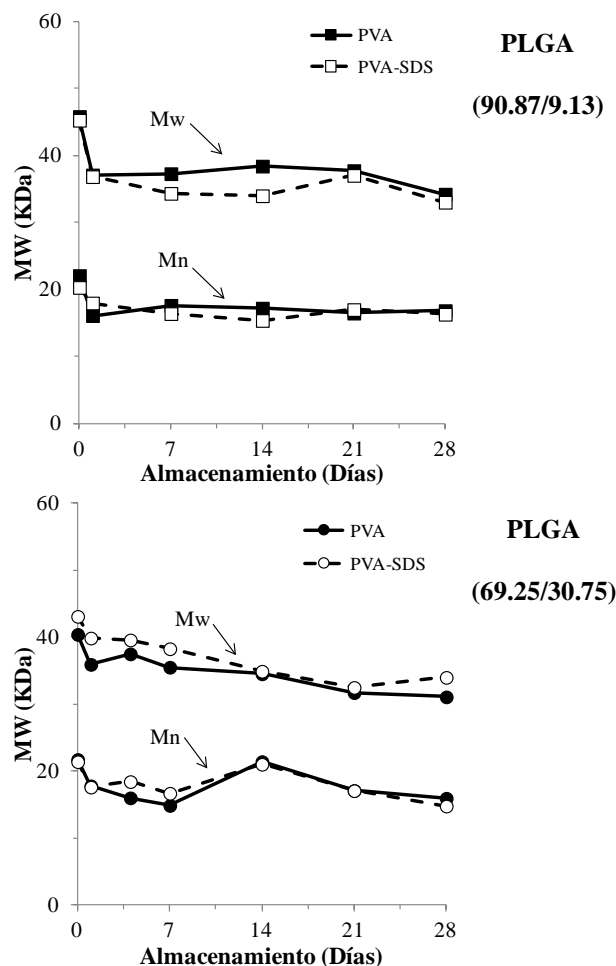
En la Figura 17 se presenta el comportamiento de los pesos moleculares en las nanopartículas de PLA y PLGA (90.87/9.13 y 69.35/30.75) utilizando como



estabilizador PVA de Mw= 13-23 KDa (solo o mezclado con SDS). Se puede observar como Mw o Mn disminuye al primer día de almacenamiento (segundo punto, símbolo lleno o vacío), tanto al utilizar la mezcla PVA-SDS como PVA solo y después, presenta comportamientos diferentes dependiendo de la composición del polímero. La caída en Mw ó Mn, la cual fue más pronunciada al utilizar PLGA (90.87/9.13 y 69.35/30.75), se atribuye a un carácter más hidrófilo de las cadenas poliméricas presentes en las superficies de las nanopartículas hacia el agua, ya que al tener mayor afinidad que las correspondientes con PLA, dichas cadenas se hidrolizaron más rápido que las de PLA lo que provocó rompimientos de cadena más pronunciados reflejándose en valores menores en Mw ó Mn<sup>(29)</sup>. Además, se ha reportado que otro de los factores que también influye en el grado de hidrólisis de las cadenas poliméricas es el peso molecular

del polímero, donde al ser menor el tamaño de las cadenas poliméricas el agua puede tener acceso más rápido a los grupos susceptibles al agua, y así, la hidrólisis es más rápida<sup>(28)</sup>. Por lo tanto, no se descarta que al tener valores menores de Mw ó Mn en las nanopartículas de PLGA que en las de PLA a tiempo cero de almacenamiento, se haya contribuido de alguna manera en la caída de los valores.

Por otro lado, al no observar valores menores de Mw ó Mn en el PLGA (69.25/30.75) al utilizar la mezcla PVA-SDS como estabilizador electroestérico que al usar PVA como estabilizador estérico, sugiere que no hubo efecto del SDS sobre la hidrólisis. Es decir la

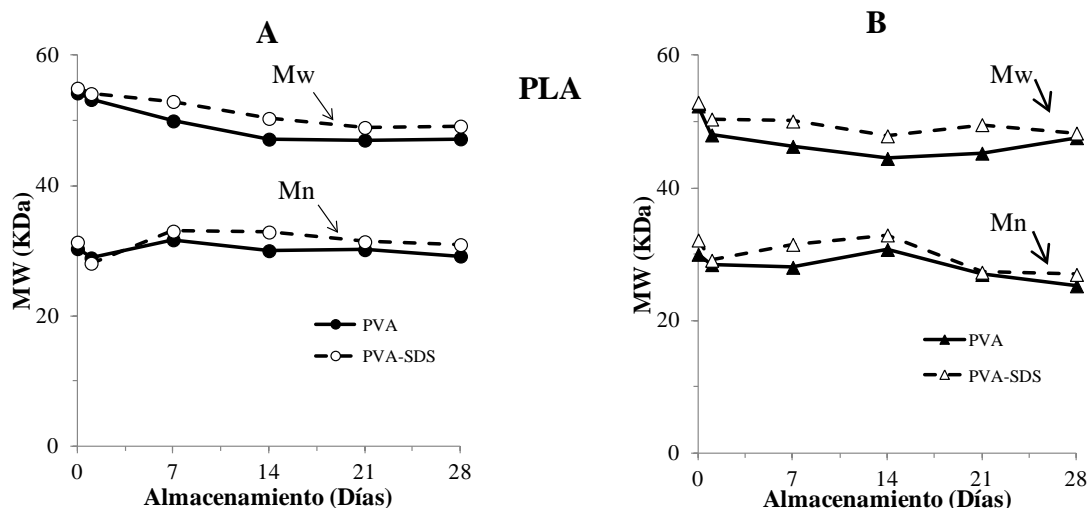


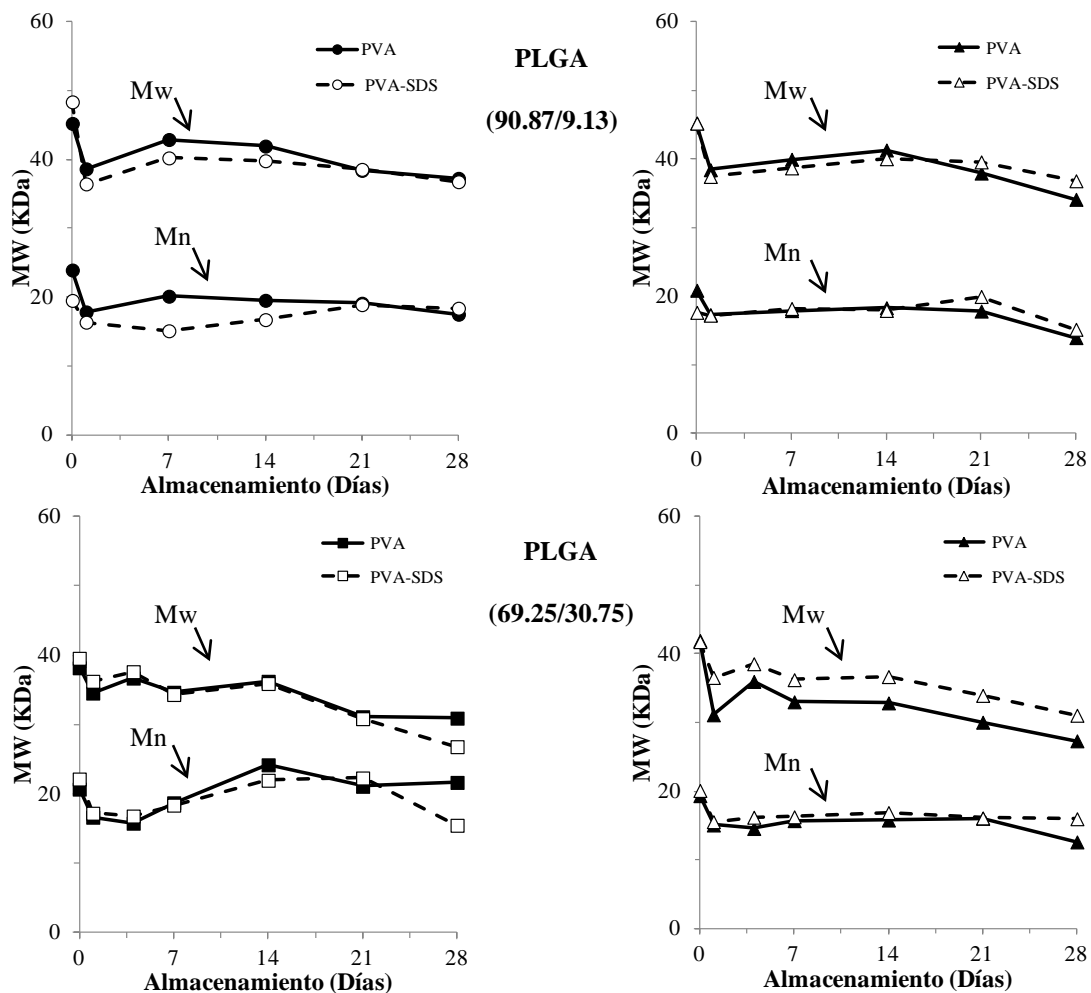
**Figura 17.** Evolución de Mw y Mn en las nanopartículas de PLA y PLGA (90.87/9.13 y 69.35/30.75) almacenadas a 37.4°C utilizando un Mw del PVA= 13-23 KDa y una concentración de 15 g/L (solo ó mezclado con SDS).

proporción de unidades de GA en la superficie no depende de la relación PVA-SDS. De haberse desorbido parcialmente el PVA al mezclarse con SDS, las cadenas poliméricas que conformaron las nanopartículas hubieran experimentado mayor grado de hidrólisis que al utilizar PVA solo, esto debido a la generación de una mayor área de contacto entre las nanopartículas y el agua, sin embargo, de acuerdo a los resultados obtenidos, esto no fue lo que sucedió.

En lo que respecta a la evolución de los pesos moleculares y en particular a lo observado en Mw después del primer día de almacenamiento, se puede notar como la disminución fue más pronunciada conforme la cantidad de GA en el polímero fue mayor. Este comportamiento corrobora lo discutido previamente donde los factores claves en la disminución de Mw a causa de la hidrólisis de las cadenas poliméricas, fueron la composición de GA en el polímero (por impartir mayor hidrofiliidad a la nanopartículas) además de su valor en Mw sin influir lo referente al tipo de estabilizador (estérico: PVA, ó electroestérico: PVA-SDS) por haber utilizando una alta concentración (15 g/L).

En la Figura 18 se muestran las evoluciones de Mw y Mn en las nanopartículas de PLA y PLGA (90.87/9.13 y 69.25/30.75) al utilizar mayor Mw de PVA como estabilizador (solo ó mezclado con SDS) durante almacenamiento. Estos resultados fueron comparados con los mostrados en la figura anterior inmediata con el fin de observar similitudes y diferencias, y en base a ello, llevar a cabo la discusión correspondiente.





**Figura 18.** Evolución de Mw y Mn en las nanopartículas de PLA y PLGA (90.87/9.13 y 69.35/30.75) almacenadas a 37.4°C utilizando diferente Mw del estabilizador: A) PVA= 31-50 KDa y B) PVA= 85-124 KDa. La concentración de PVA se mantuvo constante en 15 g/L (solo ó mezclado con SDS). En lo que respecta a las similitudes se pueden destacar las siguientes. La primera de ellas radicó en la evolución de Mw ó Mn, donde primero se presentó una caída en los valores al primer día de almacenamiento (la cual fue predominantemente mayor conforme la cantidad de GA en el polímero fue mayor) y después, una disminución lenta pero continua conforme avanzó el tiempo de almacenamiento. Este comportamiento se presentó tanto al utilizar el PVA con Mw= 31-50 KDa como al emplear el de Mw= 85-124 KDa (solos ó mezclados con SDS).

Además, al igual que lo observado en la Figura 17, tampoco fue posible diferenciar con claridad la contribución del tipo de estabilización (estérica ó electroestérica) sobre los cambios

en los pesos moleculares presentes en las nanopartículas. Por ejemplo, en la columna del lado izquierdo de la Figura 18 se muestran los resultados al utilizar diferente cantidad de GA en las nanopartículas manteniendo constante el valor de  $M_w$  del PVA en 31-50 KDa (solo ó mezclado con SDS). Al respecto, puede observarse como al utilizar el estabilizador electroestérico (líneas punteadas) se obtuvieron pesos moleculares muy similares que al utilizar solamente PVA (líneas continuas). Esto sugiere que al no existir una clara tendencia en la evolución de  $M_w$  ó  $M_n$  al emplear la mezcla PVA-SDS, todo parece indicar que existieron pocas diferencias entre ambos estabilizadores en cuanto a los cambios en peso molecular se refiere. Cabe manifestar que un comportamiento muy parecido fue el que se observó al utilizar el PVA de  $M_w=85-124$  KDa (columna del lado derecho), donde al mezclarlo con SDS se obtuvieron valores de  $M_w$  ó  $M_n$  muy similares en las nanopartículas ó bien, por arriba de los cuantificados al utilizar únicamente PVA como estabilizador llegando a la misma conclusión.

Por otro lado, las diferencias entre los resultados mostrados en las Figuras 17 y 18 se discuten a continuación. En este caso, el análisis se llevó a cabo considerando la variación en los valores de  $M_w$  del PVA manteniendo constante la composición de GA en la nanopartículas poliméricas. En lo que respecta a la evolución de los pesos moleculares del PLA, se puede observar como la disminución fue más pronunciada conforme el valor de  $M_w$  del estabilizador PVA aumentó (solo ó mezclado con SDS). Este comportamiento resulta congruente si se considera lo reportado por Olayo y col.<sup>(42)</sup>, quienes concluyeron mediante mediciones de tensión interfacial que el  $M_w$  del PVA desempeñaba un rol importante en lo referente a su adsorción en la interfase agua-fase orgánica. Al respecto, encontraron que las moléculas de PVA de mayor  $M_w$  experimentaban menor eficacia (protegen menos). Así, los grupos de GA aprovechan para situarse en la superficie de las partículas, por lo tanto mayor hidrólisis y menor  $M_w$ . En ambos casos, se presentaban en los grupos acetatos (parte menos hidrófila) localizados hacia los extremos de la cadena, los cuales disminuían en esta región para localizarse en el interior de la cadena dando origen a una menor cobertura superficial. Por lo tanto, la disminución en los valores de  $M_w$  ó  $M_n$  en las nanopartículas de PLA al utilizar mayor valor de  $M_w$  de PVA (85-124 KDa), sugiere que se tuvo una menor cobertura en su superficie lo que propició una mayor área de contacto entre ellas y el agua y como consecuencia, mayor grado de hidrólisis (menores valores en  $M_w$ ).

El comportamiento discutido en el párrafo anterior también se logró observar en las nanopartículas de PLGA, siendo más pronunciado el efecto al utilizar mayor cantidad de GA en el polímero, es decir, con una composición LA/GA de 69.25/30.75. En este caso, además de influir el Mw del PVA (85-124 KDa) también contribuyó la presencia de una mayor cantidad de GA en el polímero, la cual aportó un carácter más hidrófilo preferentemente en la superficie de las nanopartículas, lo que minimizó la capacidad estabilizadora del PVA debido a una menor adsorción de su parte hidrófoba (grupos acetato) en la superficie de las mismas.

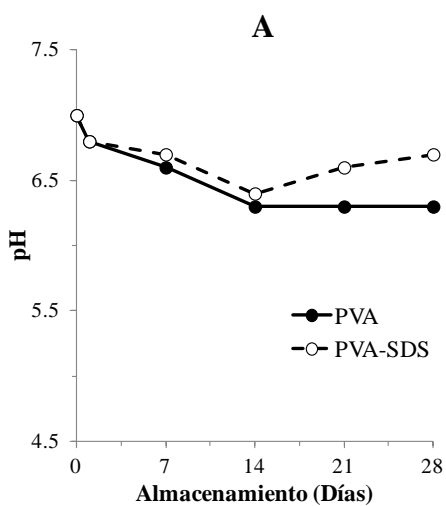
También puede observarse en la Figura 18 como algunos polímeros presentaron menor grado de hidrólisis (mayor Mw) al utilizar la mezcla PVA-SDS que PVA solo, lo que sugiere que el estabilizador electroestérico disminuyó en mayor ó menor grado la difusión de agua hacia el interior de las nanopartículas.

### **7.3.3. Evolución de pH en las emulsiones**

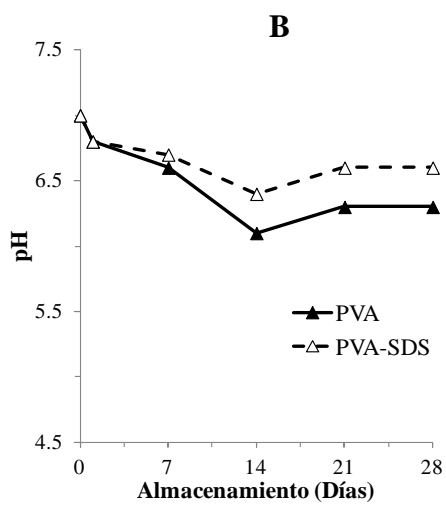
El comportamiento discutido en el párrafo anterior inmediato con respecto a la difusión de agua hacia el interior de las nanopartículas al utilizar la mezcla PVA-SDS, se logró corroborar indirectamente al dar seguimiento a la evolución de pH de los látex, como se muestra en la Figura 19. Nótese como en la mayoría de los casos, las emulsiones estabilizadas con la mezcla PVA-SDS (líneas punteadas) presentaron valores de pH superiores a las emulsiones estabilizadas con PVA (líneas continuas) después de un cierto tiempo de almacenamiento. Al ser mayores los valores de pH, indicó que las cadenas poliméricas estuvieron menos

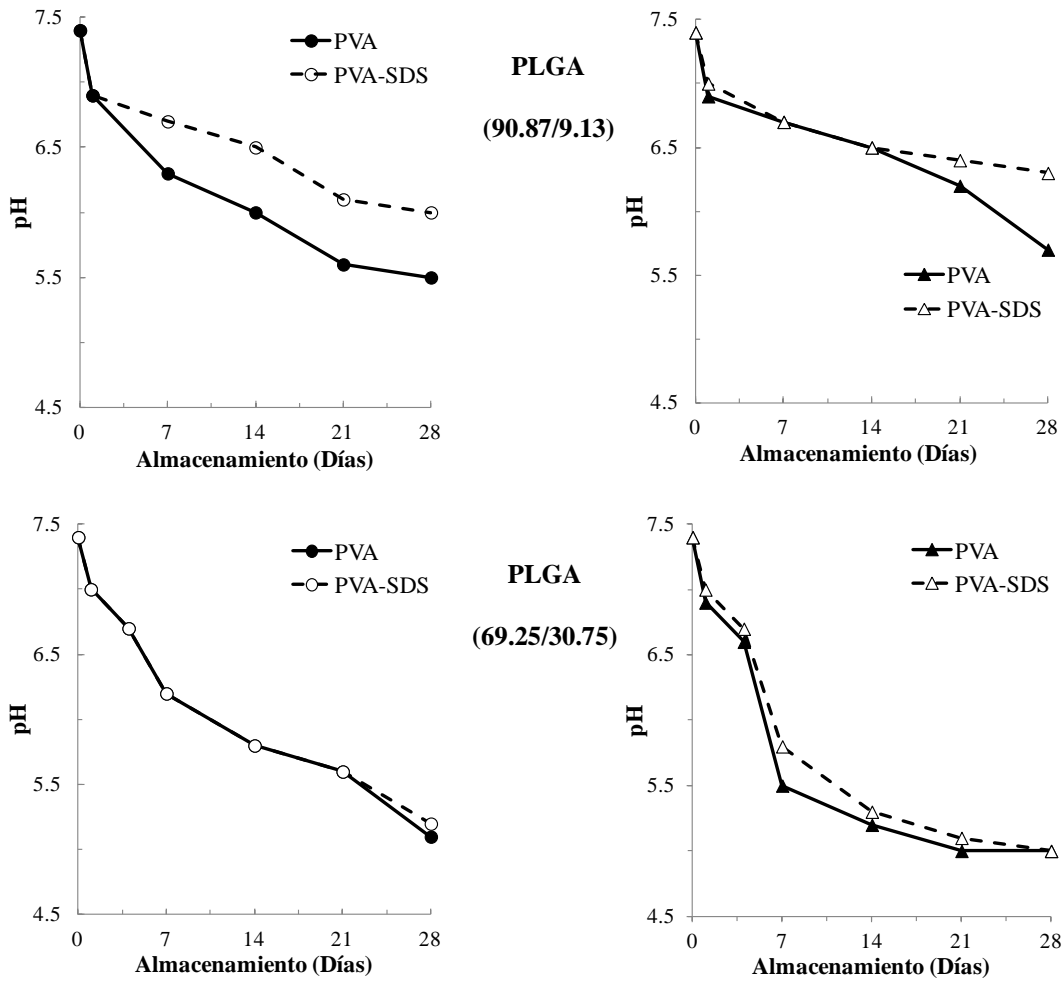


susceptibles a la hidrólisis en los grupos ésteres, lo que llevó a una menor concentración de grupos ácidos carboxílicos y en los látex.



**PLA**

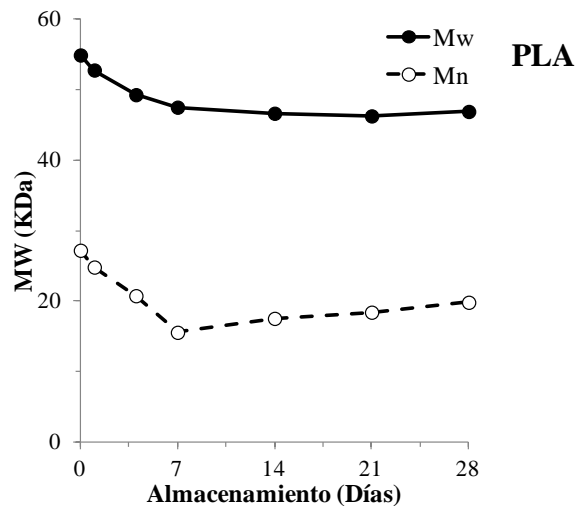




**Figura 19.** Evolución del pH en las emulsiones de PLA y PLGA (90.87/9.13 y 69.35/30.75) almacenadas a 37.4°C utilizando diferente Mw del estabilizador: A) PVA= 31-50 KDa y B) PVA= 85-124 KDa. La concentración de PVA se mantuvo constante en 15 g/L (solo ó mezclado con SDS).

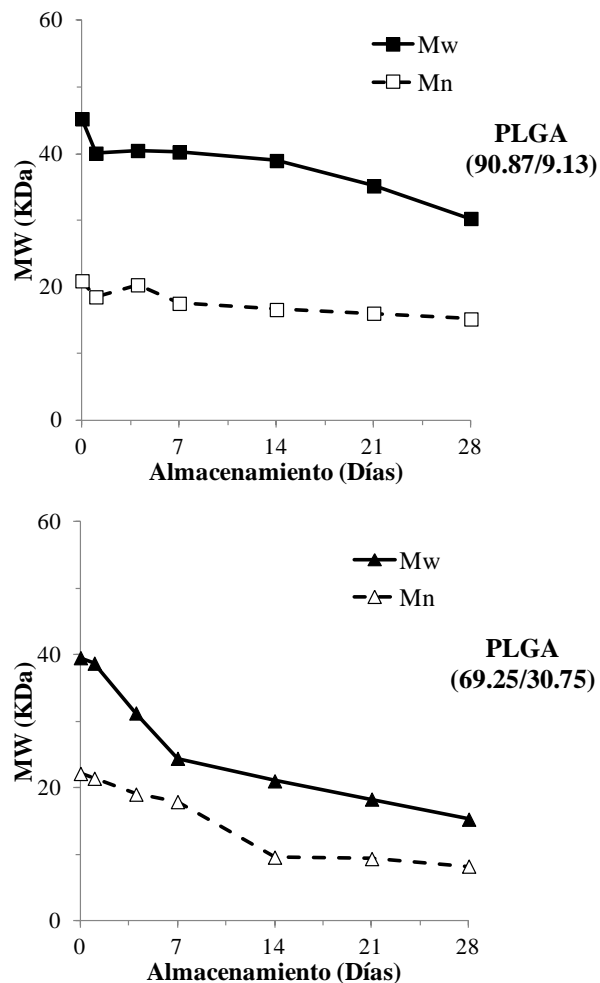
#### 7.4. CARACTERIZACIÓN DE LAS PELÍCULAS DE PLA Y PLGA DURANTE ALMACENAMIENTO

La elaboración de las películas se llevó a cabo de acuerdo a lo especificado previamente en la sección 6.5 (parte experimental) donde estas tenían un espesor de  $\approx 0.28$ mm. Puede observarse como la disminución de los pesos

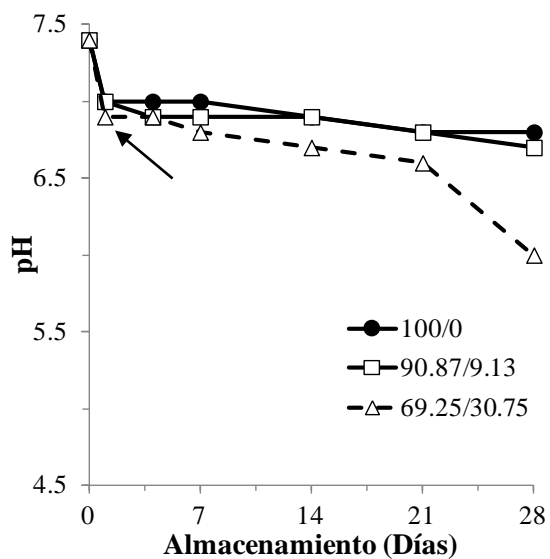


moleculares y en particular Mw, fue más pronunciada conforme la cantidad de GA en el polímero fue mayor. Este comportamiento coincide con lo observado previamente en las nanopartículas, el cual fue atribuido a la existencia de una mayor cantidad de polímero hidrófilo. Con esta característica, el polímero presentó mayor afinidad hacia el agua, lo que facilitó la hidrólisis de los grupos poliéster por cuestiones de polaridad.

Finalmente, en la Figura 21 se muestra la evolución de pH de las soluciones acuosas que contenían a las películas de PLA y PLGA indicadas en la columna del lado derecho (Figura 20). Nótese como en los tres casos se da una disminución pronunciada en el pH al primer día de almacenamiento (independientemente del tipo de polímero utilizado) y después, disminuciones lentas pero continuas el resto del almacenamiento. La caída en el pH coincidió con lo observado



**Figura 20.** Evolución de Mw y Mn en las películas de PLA y PLGA (90.87/9.13 y 69.35/30.75) sumergidas en una solución acuosa de buffer PBS a 37.4°C durante 28 días.



**Figura 21.** Evolución del pH de las soluciones acuosas que contenían las películas de PLA y PLGA (90.87/9.13 y 69.25/30.75) durante almacenamiento a 37.4°C.

en las nanopartículas, siendo ligeramente más pronunciada al existir una mayor cantidad de GA en el polímero (triángulo vacío indicado con una flecha). Dicho comportamiento se fue haciendo más evidente con el paso del tiempo debido a una mayor concentración de grupos ácidos carboxílicos y alcoholes, lo cual se corroboró con la disminución de Mw ó Mn mostrada en la Figura 20 debido a la hidrólisis parcial de los grupos ésteres.

## 8. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en esta investigación, fue posible preparar PLA y PLGA con características muy similares entre ellos (composición LA/GA, peso molecular y Tg) al incrementar la cantidad total de dímeros de 2.6 a 7 g.

Mediante el método emulsión-evaporación fue posible elaborar emulsiones de PLA y PLGA coloidalmente estables con un CPD de  $\approx 0.75\%$  al utilizar diferentes MW del PVA utilizando 15g/L (solo o mezclado con SDS). Asimismo, fue posible corroborar la formación del estabilizador electroestérico al mezclarse con SDS originando menores valores de Dp que al utilizar PVA solo, los cuales estuvieron en función de su peso molecular y composición de las nanopartículas formadas.

Durante almacenamiento se encontró que la mezcla PVA-SDS aportó mayor estabilidad coloidal que al utilizar PVA solo. Dichas diferencias sutiles pero importantes en Dp permitieron confirmar la formación del estabilizador electroestérico al mezclarse con SDS. Por otra parte, fue posible observar la influencia del tipo de estabilizador sobre la evolución de los pesos moleculares en las nanopartículas poliméricas, ya que la hidrólisis de las cadenas fue predominantemente menor, lo cual se sustentó con los resultados de pH en las emulsiones al presentar mayores valores que al utilizar PVA como estabilizador.

Finalmente, se elaboraron con éxito películas de PLA y PLGA mediante la técnica de solvent-casting. Durante almacenamiento se logró observar una mayor degradación del polímero vía hidrólisis al incrementar la cantidad de GA en el polímero, lo cual se corroboró al dar seguimiento a la evolución de pH en las soluciones acuosas donde se encontraron inmersas, siendo menores los valores conforme la cantidad de GA en el polímero fue mayor.

## 9. BIBLIOGRAFIA

1. <http://www.eis.uva.es/~macromol/curso05-06/medicina/principal.htm>
2. Frank X. Gu, Rohit Karnik, Andrew Z. Wang, Frank Alexis, Etgar Levy-Nissenbaum, Seungpyo Hong, Robert S. Langer, and Omid C. Farokhzad, *Nanotoday* 2007;2&3:14.
3. Avgoustakis K, *Current Drug Delivery* 2004;1:321.
4. Arruebo M, Fernández-Pacheco R, Ibarra MR, Santamaría J, *Nanotoday* 2007;2&3:22.
5. Astete CE, Sabliov CM, *J. Biomater. Sci. Polymer Edn* 2006;17&3:247.
6. Vela, Blanco, Carbonell; *Ciencia y tecnología de polímeros*; Primera edición; Editorial UPV; pp 9-10, 17, 23-25.
7. Kotz, Theichel, Weaver; *Química y reactividad química*; sexta edición; Editorial Thomson; pp 455, 459.
8. Cowie, Mc Kenzie; *Polymers: Chemistry and Physics of modern materials*; Segunda edición; Editorial Nelson Torres; pp 4
9. Seymour, Carraher,; *Introducción a la química de polímeros*; pp 47.
10. Odian; *Principles of Polymerization*; Cuarta edición; Editorial Wiley; pp 19-26
11. Lambert, Tang, Rogers; *Polymers in medical applications*; volume II; 7; 2001; Rapra review reports; pp 5,6.
12. Rajeev M, Vineet K, Haripada B, Upadhyay; *Journal of macromolecular science part C: Polymers review*; 2005-45; pp 325.
13. Belbella A.; Vauthier C.; Fessi H.; *Int Journal Pharmaceutical*; 129:95-102(1996)
14. SRI consulting CHE Report Polyvinyl alcohol, Published march 2007.
15. CIR publications. Final report of the safety assessment of sodium lauryl sulfate and ammonium laurel sulfate. *Journal of the American college of toxicology*; 1993, Volume II, No. 7; pp 127-181
16. Ramírez JC, Herrera-Ordoñez J, González VA, *Polymer* 2006; 47: 3336.
17. Ramirez JC, Herrera-Ordenez J, *European Polymer Journal* 2007; 43: 3819.
18. Vey E.; Miller A.; Saiani A.; *In vitro degradation of poly(lactic-co-glycolic) acid random copolymers*; *Macromolecules*; 2007; 251; 81-87.
19. Lu L.; Peter S.; Lyman M.; *Biomaterials*; 21: pp 1837-1845 (2000).
20. Li S.; Girod S.; Vert M.; *J controlled release*; 40: pp 4-53 (1996).

21. Li S.; Vert M.; *Journal Materials Science Mater Meds*; 1: pp123-130 (1990).
22. Lisa Lao.; Subbu S.; Paclitaxel release from single and double-layered poly(DL-lactide-co-glycolide)/poly(L-lactide) film for biodegradable coronary stent; *Journal of Biomedical Material research*; part A; 87: pp1-7 (2008).
23. Catiker E.; Guner A.; Degradation of PLA, PLGA homo and copolymers in presence of serum albumin: a spectroscopic investigation; *polymer International*; 49: pp 728-734; (2000).
24. Huang Y.; Min Qi.; Degradation of porous poly(D,L-lactic-co-glycolic acid) films based on water diffusion; *Journnal of Biomedical Material Research*; 80 A; pp 909-915; (2007).
25. Karp J; Davies J; Bone formation on two-dimensional poly(D,L-lactide-co-glycolide) (PLGA) films and three-dimensional PLGA tissue engineering scaffolds in vitro; *Journal of Biomedical Materials Research*; 64 A: pp 388-396; (2003).
26. Loo S.; Tan Z.; Chow Y.; Drug release from irradiated PLGA and PLLA multi-layered films; *Journal of Pharmaceutical Science*; 99; pp3060-3071; (2010)
27. Yan Zhang.; Zale S.; Sawyer L.; Effects of metal salts on poly(D,L-lactide-co-glycolide) polymer hydrolysis; *Journal of Biomedical Materials Research*; 34; pp 531-538; (1997).
28. Wang N.; Qiu JS.; Tailored polymeric materials for controlled delivery systems; ACS; Symposium Series 709; Washington DC; pp 242-254; (1998).
29. Wu X.; Wang N.; *Journal of Biomaterials Science; Polymer edition*; 12: pp21-34; (2001).
30. Alexis F.; Factors affecting the degradation and drug release mechanism of poly(lactic acid) and poly[(lactic acid)-co-(glycolic acid)]; *Polymer International*; 54; pp36-46; (2005).
31. Li S.; *Journal of Biomedical Materials Research (apply Biomaterials)*; 48; 342-353; (1999).
32. Wang N.; Wu XS.; Tailored polymeric materials for controlled delivery systems; ACS; Symposium series 709; Washington DC; pp 255-265; (1998).
33. Wu XS.; Wang N.; *Journal of Biomaterials Science; Polymer ed*; 12:21-34; (2001)
34. Holy C.; Dang S.; Davies J.; *Biomaterials*; 20; pp 1177-1185; (1999)
35. Witt C.; Kissel T.; *European Journal of Pharmaceutical (Biopharm)*; 51; pp 171-181; (2001)
36. Sahana D.; Mittal G.; PLGA nanoparticles for oral delivery of Hydrophobic drugs:

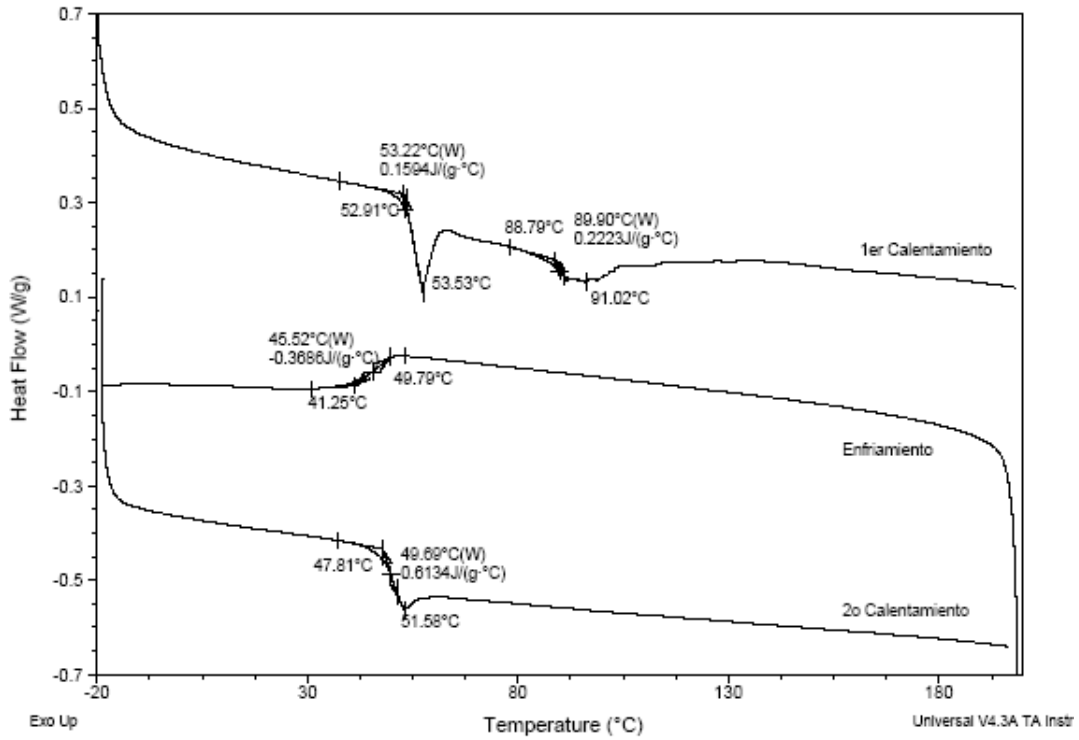
Influence of organic solvent on nanoparticle formation and release behavior in vitro and in vivo using estradiol as a model drug; *Journal of Pharmaceutical Science*; 97; 4; pp 1530-1542; (2008)

37. Hakkarainen M.; albertsson A.; Karlsson S.; *Polymer degradation stab*; 52; pp 283-291; (1996)
38. Kricheldorf H.; Kreiser-Saunders I.; *Polymer*; 36; pp 1253-1259; (1995)
39. Wang L.; Zhang Z.; *Journal of Polymer Research*; 17; pp77-82; (2010)
40. Deasy P.; Finan M.; *Journal of Microencapsulation*; 6; pp 369-378; (1989)
41. Ramírez J.C.; Vargas E.; Ortiz J.C; Hernández P.; Elaboración de Nanopartículas de PLA vía emulsión-evaporación: efecto de la concentración y tipo de PVA e influencia de la mezcla PVA-SDS durante almacenamiento; *Memorias de XXII congreso de la Sociedad Polimérica de México*; (2009).
42. Olayo R.; García E.; García-Corichi B.; Sánchez-Vázquez.; Álvarez J.; Poly(vinyl alcohol) as a stabilizer in the suspension polymerization of styrene: Effect of molecular weight; *Journal of Applied Polymer Science*; 67; pp 71-77; (1998).

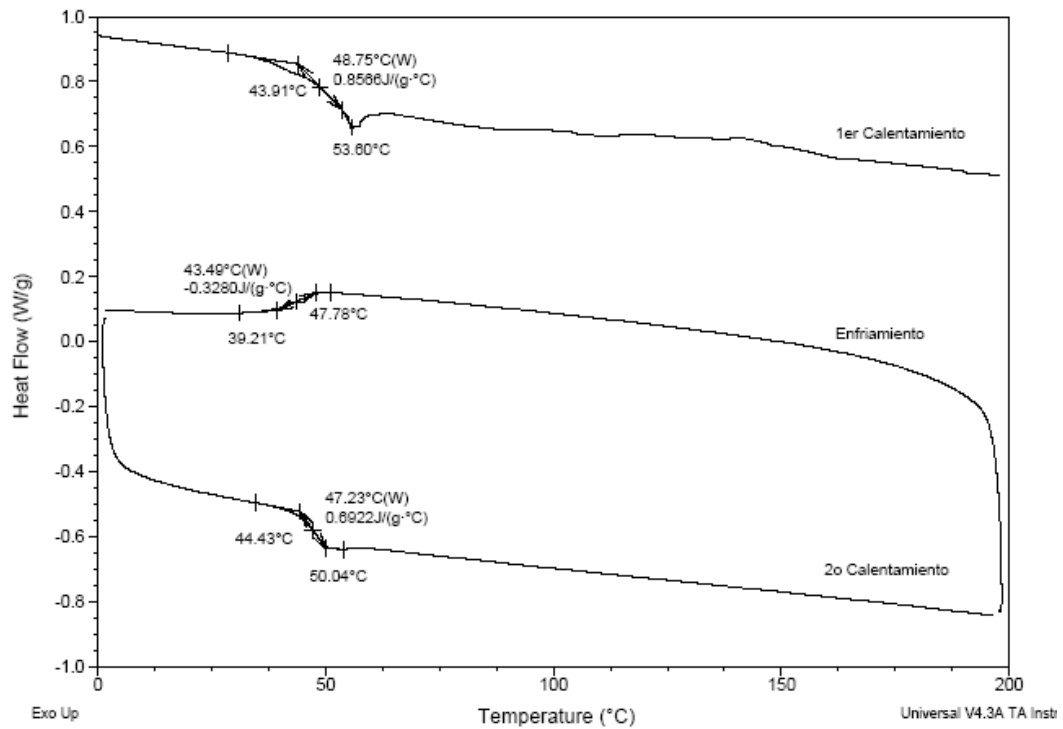


## 10. ANEXO

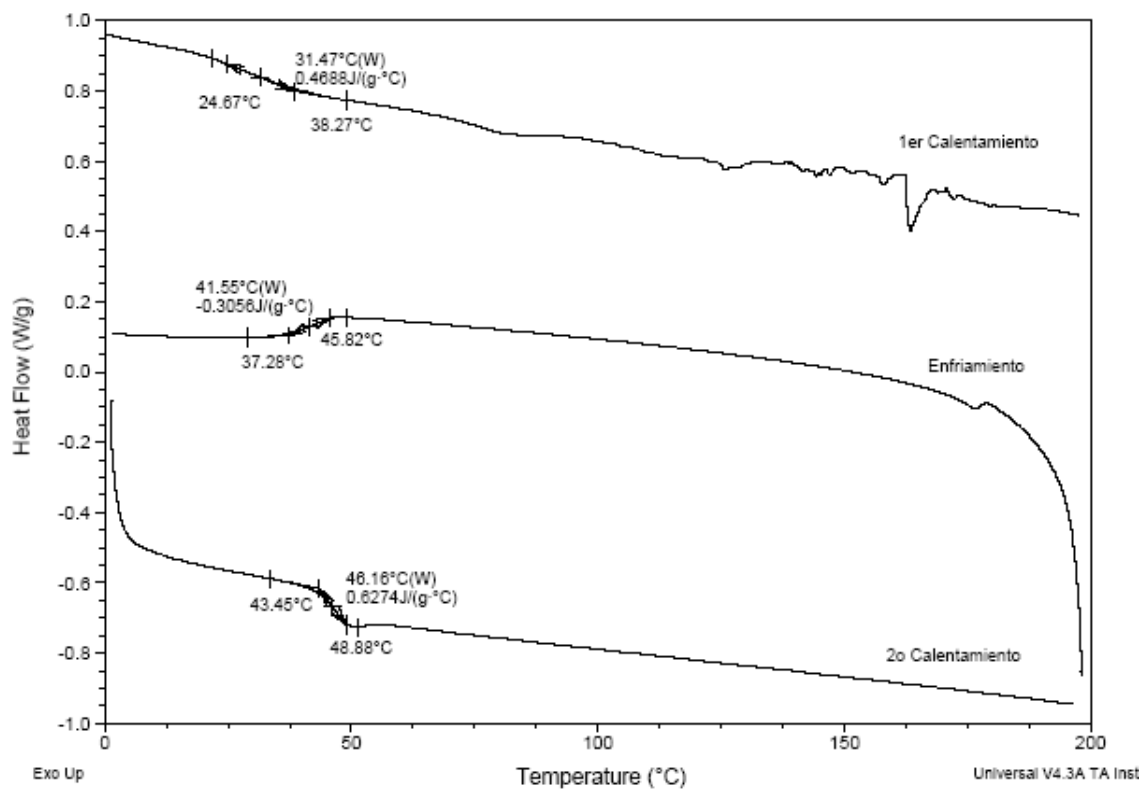
### A



### B



C



**Figura 22.** Termogramas de DSC en función de la relación molar LA/GA. A) PLA, B) PLGA (90.87/9.13), C) PLGA (69.25/30.75).