



Saltillo, Coahuila a 21 de diciembre de 2021

Programa de Maestría en Tecnología de Polímeros

Coordinación de Posgrado

Presente

Por este conducto nos permitimos informar a esta coordinación que, el documento de tesis preparado por RONY ALEXIS MALDONADO CARRANZA titulado Preparación de nanopartículas de copolímeros acrílicos mediante la técnica de polimerización en miniemulsión el cual fue presentado el día 16 de diciembre de 2021, ha sido modificado de acuerdo a las observaciones, comentarios y sugerencias, realizadas por el Comité Evaluador asignado. Por tal motivo, avalamos que el documento adjunto corresponde a la versión final del documento de tesis.

Atentamente,

SINODALES

Dr. René Darío Peralta Rodríguez
Presidente

Dr. Enrique Javier Jiménez Regalado
Secretario

M.C. Hortensia Maldonado Textle
Vocal

ASESORES

Dra. Ma. Esther Treviño Martínez

Dr. Francisco Javier Enriquez Medrano



TESIS CON CARACTER ABIERTO

PROGRAMA: MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE POLÍMEROS

AUTOR: RONY ALEXIS MALDONADO CARRANZA FIRMA _____

TITULO: “Preparación de nanopartículas de copolímeros acrílicos mediante la técnica de polimerización en miniemulsión”

ASESORES: Dra. Ma. Esther Treviño Martínez FIRMA 

Dr. Francisco Javier Enriquez Medrano FIRMA 

El Centro de Investigación en Química Aplicada clasifica el presente documento de tesis como ABIERTO.

Un documento clasificado como Abierto se expone en los estantes del Centro de Información para su consulta. Dicho documento no puede ser copiado en ninguna modalidad sin autorización por escrito del Titular del Centro de Información o del Director General del CIQA.

Saltillo, Coahuila, a 16 de Diciembre de 2021



Sello de la Institución

Dr. Oliverio Santiago Rodríguez Fernández
Director General del CIQA

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN QUÍMICA APLICADA
Programa de Maestría en Tecnología de Polímeros

TESIS

Preparación de nanopartículas de copolímeros acrílicos mediante la técnica de
polimerización en miniemulsión

Presentada por:

RONY ALEXIS MALDONADO CARRANZA

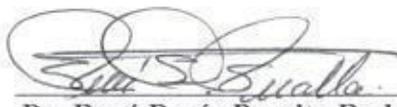
Para obtener el grado de:

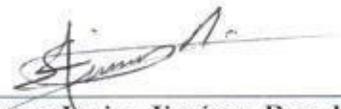
Maestro en Tecnología de Polímeros

Asesorado por:

Dra. Ma. Esther Treviño Martínez
Dr. Francisco Javier Enriquez Medrano

SINODALES


Dr. René Darío Peralta Rodríguez
Presidente


Dr. Enrique Javier Jiménez Ragalado
Secretario


M.C. Hortensia Maldonado Textle
Vocal



CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN QUÍMICA APLICADA
Programa de Maestría en Tecnología de Polímeros

TESIS

**Preparación de nanopartículas de copolímeros acrílicos mediante la técnica de
polimerización en miniemulsión**

Presentada por:

RONY ALEXIS MALDONADO CARRANZA

Para obtener el grado de:

Maestro en Tecnología de Polímeros

Asesorado por:

Dra. Ma. Esther Treviño Martínez
Dr. Francisco Javier Enriquez Medrano

DECLARACIÓN

Declaro que la información contenida en la Parte Experimental así como en la Parte de Resultados y Discusiones de este documento y que forman parte de las actividades de investigación y desarrollo realizadas durante el período que se me asignó para llevar a cabo mi trabajo de tesis, será propiedad del Centro de Investigación en Química Aplicada.

Saltillo, Coahuila a 16 de diciembre de 2021



RONY ALEXIS MALDONADO CARRANZA

Nombre y Firma

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN QUÍMICA APLICADA



TESIS

Preparación de Nanopartículas de Copolímeros Acrílicos Mediante
la Técnica de Polimerización en Miniemulsión

Presenta:

RONY ALEXIS MALDONADO CARRANZA

Para obtener el grado en:

MAESTRO EN TECNOLOGÍA DE POLÍMEROS

Asesores:

DRA. MARÍA ESTHER TREVIÑO MARTÍNEZ

DR. FRANCISCO JAVIER ENRIQUEZ MEDRANO

Saltillo, Coah., 16 de diciembre de 2021

Contenido

Dedicatoria	ix
Agradecimientos.....	x
Resumen	1
1 Introducción.....	3
2 Antecedentes.....	5
2.1 Nanopartículas poliméricas cargadas con fármacos	5
2.2 Métodos de obtención de nanopartículas poliméricas cargadas con fármacos.....	6
2.2.1 Emulsificación/evaporación de disolvente	6
2.2.2 Emulsificación/difusión de disolvente.....	7
2.2.3 Nanoprecipitación.....	8
2.3 Polimerización por radicales libres.....	9
2.4 Copolimerización.....	13
2.4.1 Tipos de copolimerización y copolímeros.....	15
2.5 Polimerización en emulsión	17
2.6 Polimerización en miniemulsión.....	20
2.6.1 Uso de monómeros reactivos como agentes hidrófobos en la formación de miniemulsiones	24
2.6.2 Aplicación de la técnica de polimerización en miniemulsión para encapsular principios activos	26
2.7 Curcumina	29
2.7.1 Propiedades fisicoquímicas de la curcumina.....	31
2.7.2 Propiedades terapéuticas de la curcumina	32
2.7.3 Estrategias para mejorar la biodisponibilidad oral de la curcumina.....	33
3 Objetivos.....	36
3.1 Objetivo general.....	36
3.2 Objetivos específicos	36
4 Hipótesis	37
5 Parte Experimental.....	38
5.1 Materiales y Equipos	38
5.3 Metodología	39
5.3.1 Curvas de calibración para determinar la concentración de curcumina por espectroscopia de UV-vis	39
5.3.2 Determinación de la solubilidad de la curcumina en diferentes medios	41

5.3.3	Preparación de las NPPs mediante la técnica de polimerización en miniemulsión	41
5.3.4	Diálisis de los látex.....	44
5.3.5	Cargado de NPPs con curcumina por un método de difusión-fisisorción.....	45
5.3.6	Pruebas de liberación de curcumina	46
5.3.7	Caracterización de materiales obtenidos	46
5.3.7.1	Diámetro de partícula del látex.....	46
5.3.7.2	Peso molecular del copolímero.....	46
5.3.7.3	Composición del copolímero de las NPPs.....	47
5.3.7.4	Propiedades térmicas	47
5.3.7.5	Análisis mediante espectroscopia infrarroja	47
6	Resultados y Discusión.....	48
6.1	Síntesis de NPPs mediante polimerización en miniemulsión	48
6.1.1	Análisis composicional del copolímero P(MMA-co-MAA) mediante RMN de ¹ H	55
6.1.2	Análisis térmico del copolímero P(MMA-co-MAA) mediante DSC.....	57
6.1.3	Análisis del copolímero P(MMA-co-MAA) mediante IR-KBr	58
6.2	Peso molecular del copolímero P(MMA-co-MAA).....	59
6.3	Solubilidad de la curcumina en los monómeros MMA, MAA y en agua	60
6.4	Síntesis de NPPs en presencia de curcumina	61
6.4.1	Análisis del copolímero P(MMA-co-MAA) mediante IR-KBr, RMN de ¹ H y DSC para confirmar el cargado de las NPPs con curcumina.....	65
6.5	Eficiencia de encapsulación (EE) y concentración de curcumina en los látex	67
6.6	Estabilidad coloidal de los látex.....	70
6.7	Pruebas de liberación.....	70
6.7.1	Cinética de liberación.....	74
7	Conclusiones.....	77
8	Trabajo futuro	79
9	Referencias bibliográficas.....	80

Índice de Figuras

Figura 2.1 Tipos de NPPs y su asociación con fármacos.....	5
Figura 2.2 Método de emulsificación/evaporación de disolvente para obtener NPPs cargadas con fármacos. ¹¹	7
Figura 2.3 Método de emulsificación/difusión de disolvente para obtener NPPs cargadas con fármacos ¹¹	8
Figura 2.4 Método de nanoprecipitación para obtener NPPs cargadas con fármacos ¹¹	9
Figura 2.5 Esquema de la polimerización por radicales libres del MMA iniciada con BPO.	10
Figura 2.6 Representación de un copolímero aleatorio.	15
Figura 2.7 Representación de un copolímero alternado.	15
Figura 2.8 Representación de un copolímero en bloques.....	16
Figura 2.9. Intervalos de una polimerización en emulsión convencional. ¹⁴	17
Figura 2.10 Comportamiento de la tasa de polimerización durante una polimerización en emulsión	18
Figura 2.11 Mecanismos de nucleación en una polimerización en emulsión de Sty (adaptada de la referencia 17).....	19
Figura 2.12 Mecanismo de nucleación en una polimerización en miniemulsión de Sty (adaptada de la referencia 17).....	21
Figura 2.13 Intervalos de polimerización en miniemulsión (adaptada de la referencia 21).	22
Figura 2.14 Acrilato de octadecilo (ODA)	25
Figura 2.15 Proceso de encapsulación de un material sólido mediante polimerización en miniemulsión (adaptada de la referencia 29).....	26
Figura 2.16 Extracción de la curcumina a partir de cúrcuma.....	30
Figura 2.17 Curcumina ($R_1 = R_2 = OCH_3$), demetoxicurcumina ($R_1 = OCH_3, R_2 = H$), bisdemetoxicurcumina ($R_1 = R_2 = H$).	30
Figura 2.18 Estructura de la curcumina en su forma (a) diceto y (b) ceto enólica.....	31
Figura 2.19 Diferentes materiales utilizados para mejorar la biodisponibilidad de la curcumina. ⁴⁹	34
Figura 5.1 Curva de calibración de curcumina en etanol.	39
Figura 5.2 Curvas de calibración de curcumina en etanol/agua (9/1; v/v) en diferentes espectrofotómetros: a) Shimadzu Multispec-1501 y b) Thermo Scientific Genesys 10S. .	40
Figura 5.3 Curvas de calibración de curcumina en a) Etanol/PBS 0.1 M a pH de 7.4 (1/1; v/v) y b) PBS 0.1 M a pH de 7.4/Tween® 80 (3 % p/v).	40
Figura 5.4 Sistema armado para llevar a cabo las reacciones de polimerización.....	43
Figura 5.5 Cargado de NPPs con curcumina por un método de difusión-fisisorción.	45

Figura 6.1 Curvas de conversión vs tiempo para la homopolimerización de Sty y copolimerización de MMA con MAA, mediante la técnica de polimerización en miniemulsión.	49
Figura 6.2 Evolución del D_p con el avance de la reacción en la homopolimerización de Sty y copolimerización de MMA con MAA mediante la técnica de polimerización en miniemulsión.	50
Figura 6.3 Evolución del N_p durante la polimerización del Sty mediante la técnica de polimerización en miniemulsión.	51
Figura 6.4 Evolución del N_p durante la copolimerización del MMA con MAA, mediante la técnica de polimerización en miniemulsión.	52
Figura 6.5. Espectro de RMN 1H del copolímero P(MMA-co-MAA).	55
Figura 6.6 Espectro de RMN 1H del copolímero P(MMA-co-MAA) obtenido cuando se utilizó ODA como agente hidrófobo.	56
Figura 6.7 Termograma de DSC del P(MMA-co-MAA) de experimento MOA.	57
Figura 6.8 Espectro IR-KBr del copolímero P(MMA-co-MAA).	58
Figura 6.9 Distribuciones de peso molecular del copolímero P(MMA-co-MAA) para ML y MOA.	59
Figura 6.10 Soluciones resultantes de las pruebas de solubilidad.	61
Figura 6.11 Conversión vs. Tiempo de las polimerizaciones de MMA/MAA 2/1 mol/mol con diferentes concentraciones de curcumina y limoneno	62
Figura 6.12 Evolución del D_p durante la copolimerización de MMA con MAA en presencia de curcumina y/o limoneno.	64
Figura 6.13. Evolución N_p durante la copolimerización de MMA con MAA en presencia de curcumina y/o limoneno.	64
Figura 6.14 Espectro IR-KBr de la curcumina (a) y de las NPPs cargadas (b) y libres (c)	65
Figura 6.15 Espectro de RMN de 1H de las NPPs cargadas con curcumina.	66
Figura 6.16. Termograma de DSC del P(MMA-co-MAA) cargado con curcumina.	67
Figura 6.17 Variación de la concentración de curcumina en los látex durante su almacenamiento.	69
Figura 6.18 Estabilidad coloidal de los látex durante su almacenamiento.	70
Figura 6.19. Látex cargados con curcumina mediante difusión-fisisorción (a) y polimerización in situ (b).	71
Figura 6.20. Perfiles de liberación de la curcumina en PBS 0.1 M.	72
Figura 6.21 Perfiles de liberación de la curcumina en PBS 0.1 M/Tween 80 (3 % p/v).	73
Figura 6.22 Representación de una NPP cargada por polimerización in situ (izquierda) y por difusión-fisisorción (derecha)	74
Figura 6.23 Modelos cinéticos de liberación de la curcumina cargada por difusión-fisisorción (●) y por polimerización in-situ (■).	75

Índice de Tablas

Tabla 5.1 Formulaciones empleadas en la preparación de las NPPs.....	42
Tabla 6.1. Variación en la composición del copolímero a diferentes conversiones de MOA	56
Tabla 6.2. Concentración y eficiencia de encapsulación de curcumina.	68
Tabla 6.3 Constantes de tasa de liberación y coeficientes de correlación de los diferentes modelos cinéticos	75

Lista de acrónimos

APS	Persulfato de amonio
BPO	Peróxido de benzoílo
C0	Código de la reacción con metacrilato de metilo/ácido metacrílico (2/1; mol/mol), acrilato de octadecilo, persulfato de amonio y curcumina (0 % p)
C0-DF	Nanopartículas poliméricas de la reacción C0 cargadas con curcumina por el método de difusión-fisorción
C1	Código de la reacción con metacrilato de metilo/ácido metacrílico (2/1; mol/mol), acrilato de octadecilo, persulfato de amonio y curcumina (1 % p)
C2	Código de la reacción con metacrilato de metilo/ácido metacrílico (2/1; mol/mol), acrilato de octadecilo, persulfato de amonio y curcumina (2 % p)
C3	Código de la reacción con metacrilato de metilo/ácido metacrílico (2/1; mol/mol), acrilato de octadecilo, persulfato de amonio y curcumina (3 % p)
C5	Código de la reacción con metacrilato de metilo/ácido metacrílico (2/1; mol/mol), acrilato de octadecilo, persulfato de amonio y curcumina (5 % p)
CUR	Curcumina
DCM	Diclorometano
D_p	Diámetro promedio de partícula
EE	Eficiencia de encapsulación
ES100	Eudragit [®] S100
FDA	Food and Drug Administration
HD	Hexadecano
k_d	Constante de tasa de descomposición
k_p	Constante de tasa de propagación
k_t	Constante de tasa de terminación
MAA	Ácido metacrílico
MHA	Código de la reacción con metacrilato de metilo/ácido metacrílico (2/1; mol/mol), hexadecano y persulfato de amonio
ML	Código de la reacción con metacrilato de metilo/ácido metacrílico (2/1;

	mol/mol), acrilato de octadecilo, persulfato de amonio y limoneno (1 % p)
MLC	Código de la reacción con metacrilato de metilo/ácido metacrílico (2/1; mol/mol), acrilato de octadecilo, persulfato de amonio, limoneno (1 % p) y curcumina (1 % p)
MMA	Metacrilato de metilo
M_n	Peso molecular promedio en número
MOA	Código de la reacción con metacrilato de metilo/ácido metacrílico (2/1; mol/mol), acrilato de octadecilo y persulfato de amonio
MOB	Código de la reacción con metacrilato de metilo/ácido metacrílico (2/1; mol/mol), acrilato de octadecilo y peróxido de benzoílo
M_w	Peso molecular promedio en peso
M_w/M_n	Polidispersidad del peso molecular
N_p	Número de partículas
NPPs	Nanopartículas poliméricas
NPs	Nanopartículas
ODA	Acrilato de octadecilo
P(MMA-co-MAA)	Copolímero poli(metacrilato de metilo-co-ácido metacrílico)
PBS	Solución buffer de fosfatos
SDS	Dodecilsulfato de sodio
SHA	Código de la reacción con estireno, hexadecano y persulfato de amonio
SHB	Código de la reacción con estireno, hexadecano y peróxido de benzoílo
SOA	Código de la reacción con estireno, acrilato de octadecilo y persulfato de amonio
SOB	Código de la reacción con estireno, acrilato de octadecilo y peróxido de benzoílo
Sty	Estireno
V_i	Tasa de iniciación
V_p	Tasa de polimerización
V_t	Tasa de terminación

Dedicatoria

A mi familia:

Araceli y César, mis padres.

César y Jairo, mis hermanos.

Ana, mi cuñada.

Abdiel, Ian y Natalia, mis sobrinos.

Agradecimientos

Gracias a Dios por la bendición de poder culminar este proyecto.

Ante la emergencia sanitaria, el aislamiento social y la crisis generada por el COVID-19, ha surgido en muchos de nosotros la capacidad de ser resilientes. Y es una bendición que, a pesar de los estragos físicos, mentales y emocionales que está dejando la pandemia, tengamos la oportunidad de seguir trabajando en nuestros objetivos.

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el otorgamiento de la beca para mis estudios de maestría. Al proyecto Ciencia Básica del CONACYT número A1-S-29092 por el apoyo financiero para la realización de este trabajo. Al Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA) por permitirme realizar este trabajo en sus instalaciones y por todo el apoyo brindado.

A mis asesores, Dra. Esther Treviño y Dr. Javier Enríquez, por la dirección de este trabajo, sus enseñanzas, comentarios y por su apoyo.

Al Comité Evaluador, Dr. René Peralta, Dr. Enrique Jiménez y M.C. Hortensia Maldonado, por sus observaciones y sugerencias encaminadas siempre a mejorar esta tesis de maestría.

A la Ing. Beatriz Reyes por su apoyo en las distintas etapas del desarrollo de este trabajo, tanto de forma remota como presencial. Así como la capacitación para uso de diversos equipos.

A Ángel Pablo y Elizabeth Reyes por sus comentarios y capacitación en el laboratorio, sin la cual el inicio de la parte experimental hubiera demorado más tiempo.

A la Lic. Maricela García y L.C.Q. Judith Cabello Romero por su apoyo en la caracterización por RMN; a la Q.F.B. Carmen Alvarado por su capacitación en el uso del equipo de espectroscopia de UV-Vis; al Ing. Ricardo Mendoza Carrizales por su apoyo en la caracterización de muestras por GPC, así como al M.C. José Díaz Elizondo por su apoyo técnico en algunos requerimientos del laboratorio.

A mis compañeros y amigos de laboratorio y de posgrado, por los gratos momentos y las palabras de ánimo en los momentos más difíciles.

Resumen

En el presente trabajo de tesis se reporta el uso de la técnica de polimerización en miniemulsión para la preparación de nanopartículas poliméricas (NPPs) del copolímero poli(metacrilato de metilo-*co*-ácido metacrílico) [P(MMA-*co*-MAA)], con una relación molar de 2:1. Se estudió el efecto del tipo de agente hidrófobo, hexadecano (HD) y acrilato de octadecilo (ODA), así como del tipo de iniciador, peróxido de benzoílo (BPO) y persulfato de amonio (APS). Para confirmar la efectividad de la metodología se llevaron a cabo polimerizaciones con estireno (Sty), donde se alcanzaron altas conversiones ($> 90\%$) y látex de poliestireno (PS) coloidalmente estables. Independientemente del tipo de agente hidrófobo e iniciador, el número de partículas, N_p , se mantuvo aproximadamente constante con el avance de la reacción, lo cual es característico de una polimerización en miniemulsión. Para el caso de la copolimerización de los monómeros acrílicos utilizado el iniciador soluble en la fase orgánica, BPO, se observó un comportamiento similar. No obstante, cuando se utilizó al iniciador soluble en la fase acuosa, APS, el incremento en el valor de N_p con el avance de la reacción indica una nucleación continua que no corresponde al mecanismo de una polimerización en miniemulsión. Lo anterior se atribuye a la combinación de un iniciador soluble en agua con monómeros de solubilidad en agua relativamente alta. En estas polimerizaciones se obtuvieron látex coloidalmente estables con D_p de ≈ 35 nm; además, se alcanzaron conversiones $\approx 100\%$ en cortos tiempos de reacción (alrededor de 20 min). Utilizando ODA y APS se llevó a cabo la copolimerización de MMA con MAA, en presencia de CUR (1, 2, 3 y 5 % en peso con respecto a la mezcla de monómeros). Al final se obtuvieron látex con 10 % en peso de NPPs con D_p de ≈ 20 nm. No se observó un efecto significativo de la concentración de CUR sobre la conversión de monómero o la estabilidad coloidal del látex. Sin embargo, al aumentar la concentración de CUR aumentó su concentración en el látex final (pasando de 0.87 a 2.6 g/L) mientras que la EE disminuyó (pasando de 85.6 a 50.8 %). Con las pruebas de liberación de la CUR se comprobó que el uso de las NPPs

facilita su liberación y se demuestra el uso potencial de estas NPPs para la liberación controlada de fármacos. Los resultados obtenidos se consideran de gran importancia en la búsqueda de opciones para mejorar la pobre biodisponibilidad oral de la CUR, la cual se atribuye a su extremadamente baja solubilidad en agua.

1 Introducción

En la actualidad, el desarrollo de principios activos en la industria farmacéutica va acompañado del diseño de sistemas de liberación controlada para incrementar su efectividad clínica. Entre las propiedades que se requieren de un sistema para el suministro de fármacos se destacan los siguientes: que el principio activo sea entregado directamente en el sitio de acción y que se tenga la menor cantidad de efectos secundarios. El uso de nanopartículas poliméricas (NPPs) como acarreadores de fármacos es una de las opciones más utilizadas para este fin, ya que existe una gran variedad de materiales a escoger para su preparación.¹

El copolímero de interés en el presente trabajo, P(MMA-*co*-MAA), es análogo en composición al Eudragit® S100 (ES100). Este producto está aprobado por la FDA (Food and Drug Administration) y se utiliza para la liberación controlada de fármacos en el colon. Debido a que su disolución ocurre a pH 7, tiene la capacidad de proteger el fármaco durante su trayecto por el estómago y el intestino delgado.²

La curcumina (CUR) es un polifenol natural que se obtiene de la cúrcuma y que ha generado un gran interés debido a sus múltiples efectos terapéuticos. Entre estos, destaca su efectividad para el tratamiento y prevención del cáncer de colon. A pesar de su gran potencial para aplicaciones médicas, la CUR no se considera un buen agente terapéutico debido a su baja absorción y a su rápida metabolización y eliminación del cuerpo humano. Por lo anterior, aumentar la biodisponibilidad oral de la CUR es un gran reto en la actualidad.³

En este documento de tesis se presentan los resultados obtenidos al utilizar la técnica de polimerización en miniemulsión para la obtención de NPPs de P(MMA-*co*-MAA) en una relación molar de 2:1 en presencia de CUR. Se estudió el efecto del tipo de agente

hidrófobo, hexadecano (HD) y acrilato de octadecilo (ODA), así como del tipo de iniciador, peróxido de benzoílo (BPO) y persulfato de amonio (APS).

Si bien el HD es el agente hidrófobo de mayor uso en las polimerizaciones en miniemulsión, por su extremadamente baja solubilidad en agua y bajo peso molecular, éste permanece en el producto final, por lo que su eliminación se convierte en un problema para muchas aplicaciones.⁴ Una alternativa es el uso de un monómero reactivo de alta hidrofobicidad como el ODA, ya que al final de la polimerización, el monómero formará parte del copolímero y no será necesaria su eliminación.

El principal reto del estudio se encontró en el establecimiento de la metodología (formulación y las condiciones de reacción) que permitiera llevar a cabo la polimerización en presencia de la CUR (debido a la gran cantidad de variables involucradas). No obstante, se logró el encapsulamiento de la CUR en las NPPs utilizando un método donde éstas quedan dispersas en agua y no es necesaria la eliminación de disolventes orgánicos y del agente hidrófobo. Este método podrá ser extrapolado para lograr el encapsulado de otros principios activos de alta hidrofobicidad.

2 Antecedentes

2.1 Nanopartículas poliméricas cargadas con fármacos

Las nanopartículas (NPs) son materiales que tienen un tamaño de entre 1 a 100 nm y existen en diferentes formas. Debido al tamaño a escala nanométrica, se incrementa en gran medida la relación área superficial/volumen lo que confiere a las NPs propiedades físicas y químicas únicas. Existen diferentes tipos de materiales que pueden ser utilizados para la síntesis de NPs (fulerenos, metálicos, cerámicos y poliméricos). Especialmente las nanopartículas poliméricas (NPPs) han despertado el interés de la comunidad científica para la administración de fármacos. Las NPPs pueden ser cargadas con compuestos activos que son atrapados dentro de su estructura o adsorbidos en la superficie. Las principales ventajas de las NPPs como portadores de fármacos incluyen su potencial uso para la liberación controlada, su capacidad para proteger el fármaco o principio activo y mejorar su biodisponibilidad. Además, en comparación con las micropartículas, las NPPs ofrecen una mejor absorción intracelular.⁵ Las NPPs cargadas con fármacos se clasifican en nanocápsulas y nanoesferas tomando en cuenta su morfología. En la **Figura 2.1** se observa una representación esquemática de este tipo de NPPs y la localización del fármaco en las mismas.

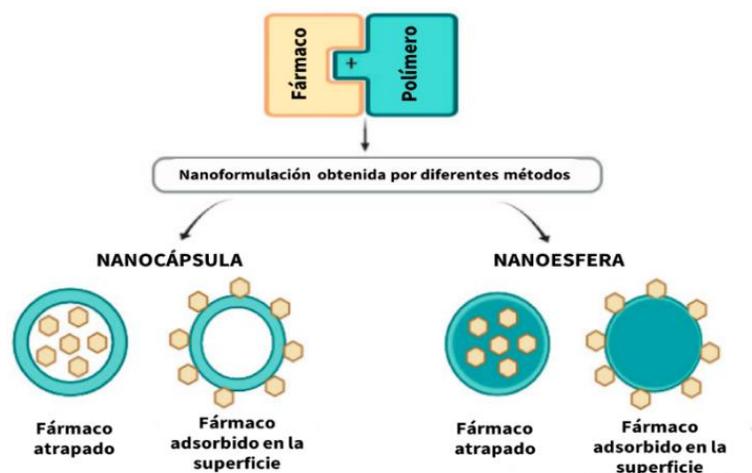


Figura 2.1 Tipos de NPPs y su asociación con fármacos.⁶

Las nanocápsulas son sistemas vesiculares donde, normalmente, el fármaco se encuentra localizado en una cavidad (núcleo líquido) rodeada por una membrana polimérica. Por su parte, las nanoesferas consisten en una matriz polimérica continua donde el fármaco se encuentra embebido. En ambos casos, puede presentarse el caso donde el fármaco se encuentre adsorbido en la superficie de las NPPs.⁷

2.2 Métodos de obtención de nanopartículas poliméricas cargadas con fármacos

Los métodos que se han desarrollado para la preparación de las NPPs cargadas con fármacos se clasifican en dos categorías principales: 1) preparación de las NPPs utilizando un polímero preformado y 2) preparación de las NPPs mediante una reacción de polimerización en presencia del fármaco.⁸

En las técnicas para obtener NPPs donde se utilizan polímeros preformados es común el uso de disolventes orgánicos para el polímero y el fármaco. Estos disolventes son altamente tóxicos por lo que, necesariamente, deben ser removidos de las NPPs. Las técnicas basadas en la polimerización de monómeros permiten el cargado de fármacos en las NPPs con una mayor eficiencia y en un solo paso de reacción. Las NPPs obtenidas por polimerización deben ser purificadas para eliminar compuestos del medio que pudieran ser tóxicos, por ejemplo, monómero residual, tensoactivo, etc.⁹

2.2.1 Emulsificación/evaporación de disolvente

La emulsificación/evaporación de disolvente, o solo evaporación de disolvente, es un método para preparar NPPs a partir de polímeros preformados que consta de dos pasos como se muestra en la **Figura 2.2**: la preparación de una emulsión de aceite en agua (o/w, por su nombre en inglés “oil-in-water”) y la evaporación del disolvente, siendo los más utilizados el diclorometano y el cloroformo. En primer lugar, se prepara la fase orgánica que consiste en un disolvente orgánico polar en el que se disuelve el polímero, así como el principio activo que es incluido en esta fase por disolución o dispersión. La fase orgánica se emulsiona en la fase acuosa que contiene, además de agua, un surfactante, usando

homogenización a alta velocidad o ultra sonicación. El polímero precipita en forma de nanoesferas en las cuales el principio activo está disperso en la matriz polimérica. Seguido de esto, el disolvente se evapora y sea aumentando la temperatura, bajo presión reducida o a temperatura ambiente con agitación continua. Cuando el disolvente se ha evaporado, las NPPs pueden ser recuperadas por centrifugación y posteriormente liofilizadas para su almacenamiento a largo plazo.¹⁰ Al formar una emulsión o/w en donde el agua es la fase continua simplifica el proceso y lo vuelve menos costoso ya que no es necesario reciclarlo y minimiza la aglomeración. Este método solo puede ser aplicado en fármacos liposolubles.¹¹

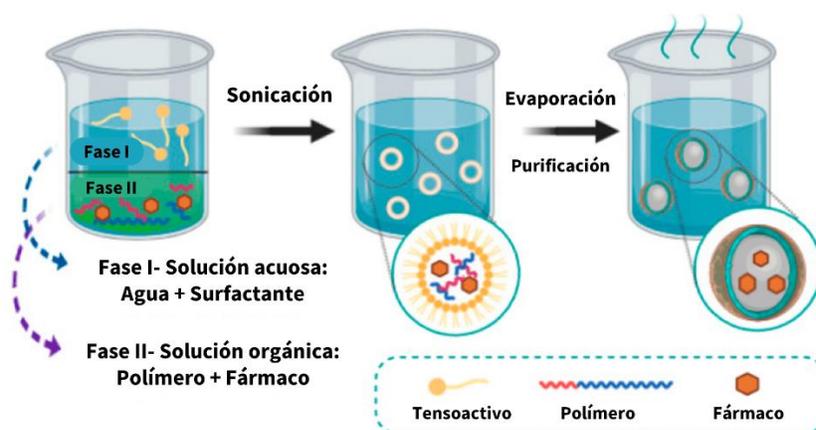


Figura 2.2 Método de emulsificación/evaporación de disolvente para obtener NPPs cargadas con fármacos.¹¹

2.2.2 Emulsificación/difusión de disolvente

El método de emulsificación/difusión de disolvente se ilustra en la **Figura 2.3**. Este método consiste en la formación de una emulsión o/w entre una solución acuosa con tensoactivo y un disolvente que contiene el polímero y el principio activo pero que, además, dicho disolvente tiene que ser parcialmente soluble en agua como lo son el alcohol bencílico o el acetato de etilo. El disolvente es saturado con agua para alcanzar un equilibrio termodinámico inicial en ambas fases. La dilución con agua en exceso induce la difusión del disolvente desde las gotas dispersas a la fase externa lo que da lugar a la formación de las nanopartículas. Finalmente, el disolvente es evaporado o filtrado. Generalmente se obtienen nanoesferas con un tamaño de 80 a 900 nm, pero si se añade un aceite a la fase orgánica también se pueden obtener nanocápsulas.

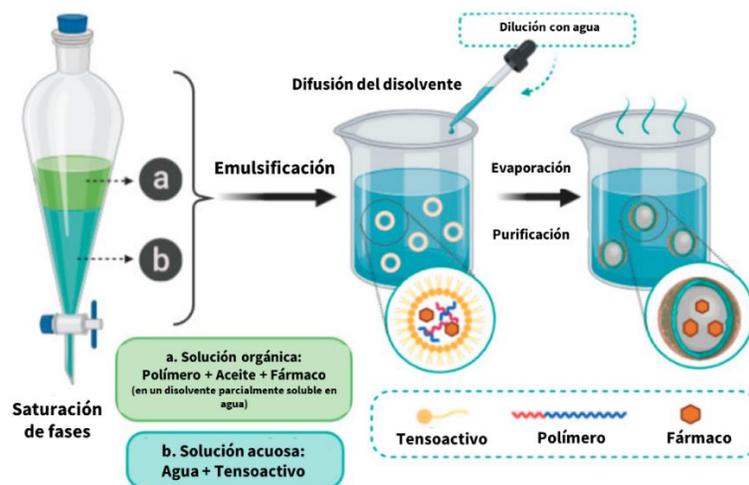


Figura 2.3 Método de emulsificación/difusión de disolvente para obtener NPPs cargadas con fármacos¹¹

Con este método se obtienen altas eficiencias de encapsulación que pueden ser mayores del 70 %, sin embargo, es posible que un fármaco hidrosoluble se difunda a la fase externa acuosa saturada durante la emulsificación lo que reduce esta eficiencia también presenta la desventaja del uso de grandes cantidades de agua que tienen que ser eliminadas de la suspensión.⁶

2.2.3 Nanoprecipitación

El método de nanoprecipitación también se conoce como método de desplazamiento de disolventes y requiere dos disolventes que sean miscibles (**Figura 2.4**). Se basa en la emulsificación espontánea de una fase orgánica interna, que contiene el polímero disuelto en un disolvente orgánico miscible como la acetona o el acetonitrilo, en la fase acuosa externa.

La nanoprecipitación es, justamente, la precipitación de un polímero preformado a partir de una solución orgánica y la difusión del solvente orgánico en el medio acuoso con tensoactivo opcional. El procedimiento consta de la disolución del polímero en un disolvente miscible en agua de polaridad intermedia, la solución que se obtiene se añade poco a poco a una disolución acuosa con agitación y, ya que la difusión espontánea de la disolución polimérica en la fase acuosa es rápida, las NPPs se forman instantáneamente.

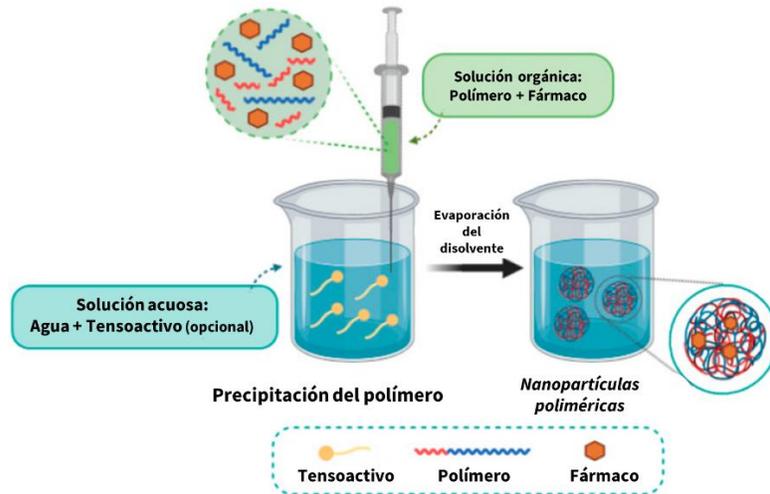


Figura 2.4 Método de nanoprecipitación para obtener NPPs cargadas con fármacos¹¹

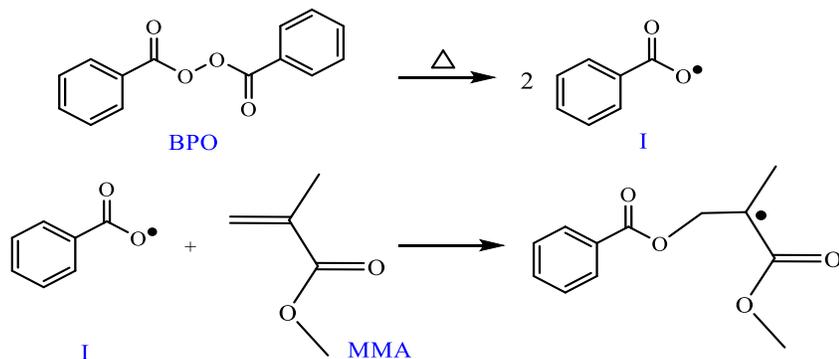
Con este método se obtienen partículas de tamaño bien definido, frecuentemente de alrededor de 170 nm, y una estrecha distribución de tamaño. Se pueden obtener esferas cuando el principio activo se disuelve o dispersa en la solución polimérica y cápsulas cuando el fármaco se disuelve previamente en un aceite que luego se emulsiona en la solución polimérica orgánica antes de que la fase interna se disperse en la fase externa de la emulsión.¹²

2.3 Polimerización por radicales libres

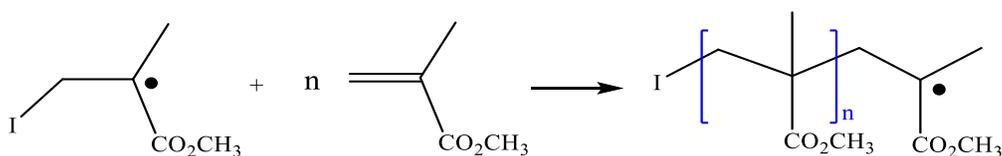
La polimerización radicalica ocurre entre monómeros insaturados o vinílicos. El mecanismo de la polimerización por radicales libres consta de tres etapas de reacción: la iniciación, donde se forman los radicales; la propagación, donde crecen los radicales para formar cadenas poliméricas y; la terminación, donde se detiene el crecimiento de las cadenas poliméricas. La principal característica de este tipo de polimerización es que hay formación de polímero de alto peso molecular desde los primeros momentos de la reacción. Lo anterior se debe a que la formación del radical (iniciación de la cadena) es seguida por la adición repetitiva y muy rápida de cientos o miles de unidades monoméricas (crecimiento de la cadena). Con el avance de la reacción, la concentración de monómero disminuye a medida que incrementa el número de moléculas de alto peso molecular. No obstante, el peso molecular del polímero es relativamente inalterado durante la

polimerización.¹³ En la **Figura 2.5** se representan las etapas de la polimerización por radicales libres del monómero metacrilato de metilo (MMA) con el uso del iniciador térmico peróxido de benzoilo (BPO).

1) Iniciación

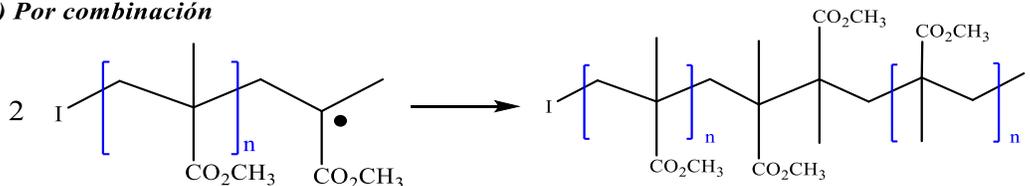


2) Propagación

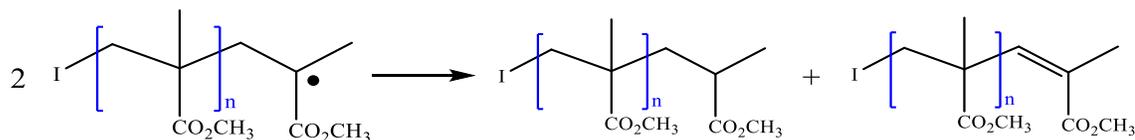


3) Terminación

a) Por combinación



b) Por desproporciónación



c) Por transferencia

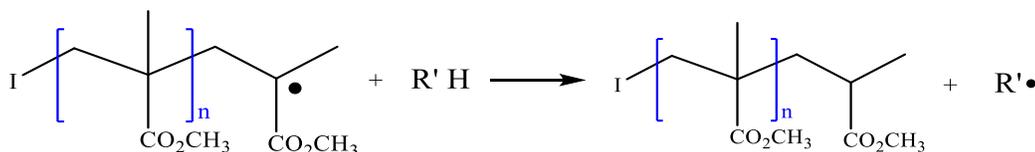


Figura 2.5 Esquema de la polimerización por radicales libres del MMA iniciada con BPO.

La etapa de iniciación involucra a su vez dos reacciones. La primera corresponde a la formación de radicales libres; usualmente por disociación homolítica de la especie iniciadora para producir un par de radicales que deben ser lo suficientemente energéticos para reaccionar con los compuestos vinílicos. Este paso es el que determina la tasa de iniciación que, en comparación con otros pasos del proceso de polimerización, es lento. Entre las reacciones que forman radicales libres se encuentran las descomposiciones térmicas de compuestos con grupos azo y peróxido. Los radicales también se pueden formar a partir de reacciones redox, descomposiciones inducidas por luz o por radiación ionizante. Los radicales formados en esta primera etapa se denominan radicales de iniciador o radicales primarios. La segunda reacción corresponde a la adición de la primera molécula de monómero al radical primario para generar el radical que iniciará la formación de la cadena polimérica. Los radicales formados en la segunda etapa se denominan radicales monoméricos.

La etapa de propagación consiste en la adición sucesiva de una gran cantidad (cientos o quizás miles) de moléculas de monómero mediante sus dobles enlaces hacia las cadenas de polímero en crecimiento. Cada adición crea un nuevo radical igual al anterior excepto que es más grande por una unidad monomérica. Este proceso, donde las cadenas crecen hasta formar un polímero de alto peso molecular, ocurre muy rápidamente, con valores de k_p (constante de tasa de propagación) en el intervalo de 10^2 - 10^4 L mol⁻¹s⁻¹.

Para obtener una expresión cinética de la tasa de polimerización, se asume que k_p y k_t son independientes del tamaño del radical, es decir, se asume la equireactividad entre radicales. El monómero desaparece en las etapas de iniciación y propagación, y la tasa a la cual se consume el monómero es sinónimo de la tasa de polimerización. La tasa de polimerización (V_p) está dada por la tasa de propagación debido a que el número de moléculas que reaccionan en la iniciación es extremadamente menor que el número de moléculas que reaccionan en la propagación, así que la tasa de iniciación (V_i) se puede omitir.

$$-\frac{d[\mathbf{M}]}{dt} = V_i + V_p = V_p$$

La tasa de polimerización se puede expresar como:

$$V_p = k_p[M \bullet][M]$$

Esta ecuación involucra k_p , la concentración de monómero $[M]$ y la concentración total de las cadenas radicáticas $[M \bullet]$. Este último valor es muy difícil de determinar cuantitativamente ya que su concentración es muy baja ($\sim 10^{-8}$ M), por ello, se supone un estado estacionario en el cual se asume que mientras la concentración de radicales aumenta al comienzo de la reacción, alcanza un valor constante casi instantáneamente. Este valor se mantiene a partir de entonces, y se supone que la tasa de cambio de la concentración de radicales libres se convierte rápidamente en cero durante la polimerización. En el estado estacionario, V_i y V_t son iguales ($V_i = V_t = 2 k_i [M \bullet]$) y esto permite resolver para $[M \bullet]$:

$$[M \bullet] = \left(\frac{k_d[I]}{k_t} \right)^{\frac{1}{2}}$$

Por lo tanto, la tasa de polimerización es:

$$V_p = k_p[M] \left(\frac{k_d[I]}{k_t} \right)^{\frac{1}{2}}$$

No todos los radicales primarios que se forman reaccionan con el monómero, algunos se pierden por reacciones secundarias. Por lo tanto, se utiliza un factor de eficiencia del iniciador (f). Este factor representa la fracción de radicales formados que dan lugar a la formación de una cadena polimérica. Considerando este factor, la expresión para la tasa de polimerización es:

$$V_p = k_p[M] \left(\frac{k_d[I]f}{k_t} \right)^{\frac{1}{2}}$$

En algún momento de la reacción, las cadenas poliméricas dejan de crecer y termina la reacción. La terminación puede ocurrir por una reacción bimolecular entre radicales; la cual a su vez puede ser por combinación (también llamada por acoplamiento) o, menos común, por desproporción (también llamada por dismutación). En la reacción por combinación, dos electrones de espín desapareados, cada uno en el extremo terminal de un macro radical diferente, se unen para formar un enlace covalente y una sola molécula de polímero inactiva. En la reacción por desproporción, un átomo de hidrógeno en posición

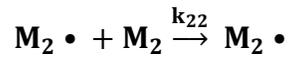
beta al centro radicalico se transfiere a otro y se obtienen dos moléculas de polímero inactivas, una saturada y otra insaturada (ver **Figura 2.5**).

Otra forma de terminación son las reacciones de transferencia de cadena. Este tipo de terminación no afecta la tasa de polimerización, siempre y cuando la tasa de reiniciación del radical formado sea comparable a la de propagación del radical original, pero sí alteran el peso molecular del producto. Una terminación prematura a través de transferencia resulta en un polímero de menor peso molecular que el esperado en otras formas de terminación. El resultado de una reacción de transferencia es una cadena de polímero inactiva y un nuevo radical libre capaz de iniciar la formación de una nueva cadena. Cuando el nuevo radical no es capaz de reiniciar la polimerización se trata de una *transferencia de cadena degenerativa*. Las moléculas que aceptan los nuevos radicales, es decir, que participan en la transferencia de cadena, pueden ser cualquiera de las presentes en el medio de reacción. Esto incluye al monómero, cadenas poliméricas inactivas, iniciador, disolventes y compuestos específicamente añadidos para esta función (agente de transferencia de cadena). La terminación puede ocurrir por una combinación de las reacciones anteriormente descritas. Las constantes de tasa de terminación (k_t) típicas están en el intervalo de 10^6 - 10^8 L mol⁻¹s⁻¹.¹³

2.4 Copolimerización

El mecanismo de polimerización en cadena anteriormente descrito se refiere a un solo tipo de monómero, por lo que se obtiene un homopolímero. Cuando se lleva a cabo la polimerización de más de una especie monomérica es posible la obtención de un copolímero. No obstante, de la reactividad de los monómeros en el sitio de la polimerización, depende que se obtenga un copolímero o una mezcla de homopolímeros. Para determinar la composición que tendría el copolímero, se hace una suposición útil y simplificada donde se supone que la reactividad de los radicales poliméricos está regida únicamente por las unidades monoméricas terminales, lo que se conoce como *modelo terminal de copolimerización*.¹⁴

En la copolimerización de dos monómeros, M_1 y M_2 , se podrán generar dos especies propagantes, $M_1\bullet$ y $M_2\bullet$, y, considerando el modelo terminal, habrá cuatro posibles reacciones de propagación (todas ellas irreversibles):



La tasa a la cual desaparece cada uno de los monómeros es equivalente a la tasa de adición al copolímero:

$$-\frac{d[M_1]}{dt} = k_{11}[M_1\bullet][M_1] + k_{21}[M_2\bullet][M_1]$$

$$-\frac{d[M_2]}{dt} = k_{12}[M_1\bullet][M_2] + k_{22}[M_2\bullet][M_2]$$

Si se dividen las dos ecuaciones se obtiene la relación de las tasas de adición de los monómeros al copolímero, es decir, la composición del copolímero:

$$\frac{d[M_1]}{d[M_2]} = \frac{k_{11}[M_1\bullet][M_1] + k_{21}[M_2\bullet][M_1]}{k_{12}[M_1\bullet][M_2] + k_{22}[M_2\bullet][M_2]}$$

Considerando el estado estacionario y los parámetros $r_1=k_{11}/k_{12}$ y $r_2=k_{22}/k_{21}$, se obtiene la ecuación de copolimerización o la ecuación de composición del copolímero:

$$\frac{d[M_1]}{d[M_2]} = \frac{[M_1](r_1[M_1] + [M_2])}{[M_2](r_2[M_2] + [M_1])}$$

La composición del copolímero es específicamente la relación molar de las dos unidades monoméricas en el copolímero. Los valores utilizados en la ecuación son las concentraciones de los dos monómeros en la alimentación y las relaciones de reactividad de los monómeros, r_1 y r_2 .

La tendencia de los monómeros a copolimerizarse se observa por los valores r . Un valor de r_1 mayor que la unidad significa que M_1 se añade preferentemente a $M_1\bullet$, mientras que un valor de r_1 menor que la unidad significa que se añade preferentemente $M_2\bullet$. Un valor de r_1 igual a cero significaría que M_1 es incapaz de homopolimerizar.

2.4.1 Tipos de copolimerización y copolímeros

Las copolimerizaciones pueden clasificarse en tres tipos con base en el producto de los valores de las relaciones de reactividad: $r_1r_2 = 1$, $r_1r_2 < 1$ y $r_1r_2 > 1$. El primer caso se conoce como *copolimerización ideal*, donde las especies propagantes muestran la misma tendencia a reaccionar con cualquiera de los monómeros. Cuando $r_1 = r_2 = 1$, se tiene un comportamiento *aleatorio (random)* o *Bernoulliano*. La composición del copolímero será la misma que en la alimentación (mezcla de comonómeros), con una colocación aleatoria de los dos monómeros a lo largo de la cadena de copolímero. En la **Figura 2.6** se representa un copolímero donde las unidades monoméricas tienen un acomodo al azar. Para el caso donde las relaciones de reactividad son diferentes ($r_1 > 1$ y $r_2 < 1$ o bien $r_1 < 1$ y $r_2 > 1$), uno de los monómeros será más reactivo hacia las especies propagantes y el copolímero contendrá una proporción mayor de este monómero, pero sigue siendo en una disposición aleatoria.



Figura 2.6 Representación de un copolímero aleatorio.

La copolimerización alternante ocurre cuando ninguna de las relaciones de reactividad de los monómeros es mayor a 1 ($r_1r_2 = 0$). En un caso extremo, tanto r_1 como r_2 son igual a cero y los dos monómeros están en cantidades equimolares en el copolímero con un acomodo alternante, no aleatorio, independientemente de la composición de la alimentación de los comonómeros (**Figura 2.7**).

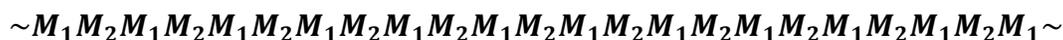


Figura 2.7 Representación de un copolímero alternado.

La copolimerización alternante moderada sucede cuando las relaciones de reactividad son pequeñas ($r_1 r_2 =$ valor pequeño, cercano a 0) o bien, un valor es pequeño y el otro es cero ($r_1 r_2 = 0$). El copolímero tiende a ser alternado, pero no es una estructura perfectamente alternada como el de la **Figura 2.7**.

Por último, la copolimerización en bloque, la menos común, tiene lugar cuando r_1 y r_2 son mayores que 1 ($r_1 r_2 > 1$) y hay una tendencia a formar bloques (**Figura 2.8**).



Figura 2.8 Representación de un copolímero en bloques.

Las propiedades de un polímero no solo dependen de su composición química como es el caso de las moléculas de bajo peso molecular. Los homopolímeros pueden diferenciarse entre ellos por el peso molecular, la distribución de peso molecular, las ramificaciones, el entrecruzamiento, etc. Cada uno de estos parámetros tiene influencia en sus propiedades, pero casi todas dependen del peso molecular. En el caso de los copolímeros, las propiedades también son dependientes de la composición y estructura (azar, alternado, bloques). Por ejemplo, en un copolímero al azar la T_g y algunas propiedades mecánicas cambian de acuerdo con las cantidades molares de los comonómeros.

El acomodo de las unidades monoméricas determina las propiedades del copolímero. Por ejemplo, el copolímero de etileno y norborneno con estructura al azar es un termoplástico amorfo mientras que en su forma alternada es un copolímero cristalino muy transparente porque los cristalitos tienen dimensiones inferiores a la longitud de onda de la luz visible.¹⁵

En los copolímeros en bloque a menudo se combinan las propiedades de los homopolímeros. Independientemente de la relación molar entre los monómeros, los copolímeros suelen tener dos valores de T_g , uno para el bloque de M_1 y otro para el bloque de M_2 . Más complejas son las dependencias con las propiedades mecánicas, donde la relación molar de los monómeros, el número de bloques, la longitud de los bloques y la alternancia de estos, tienen un efecto importante.¹⁵

2.5 Polimerización en emulsión

En una polimerización en emulsión convencional la fase dispersa está constituida por un monómero insoluble en agua, aunque siempre habrá una pequeña porción molecularmente (dependiendo de la solubilidad del monómero en agua). La fase continua está constituida por el agua y el iniciador es soluble en agua.¹⁴

En la **Figura 2.9** se presenta en forma esquemática lo que ocurre durante las tres etapas normalmente observadas en una polimerización en emulsión. Asimismo, en la **Figura 2.10** se representa el comportamiento de la tasa de polimerización durante estas mismas etapas.

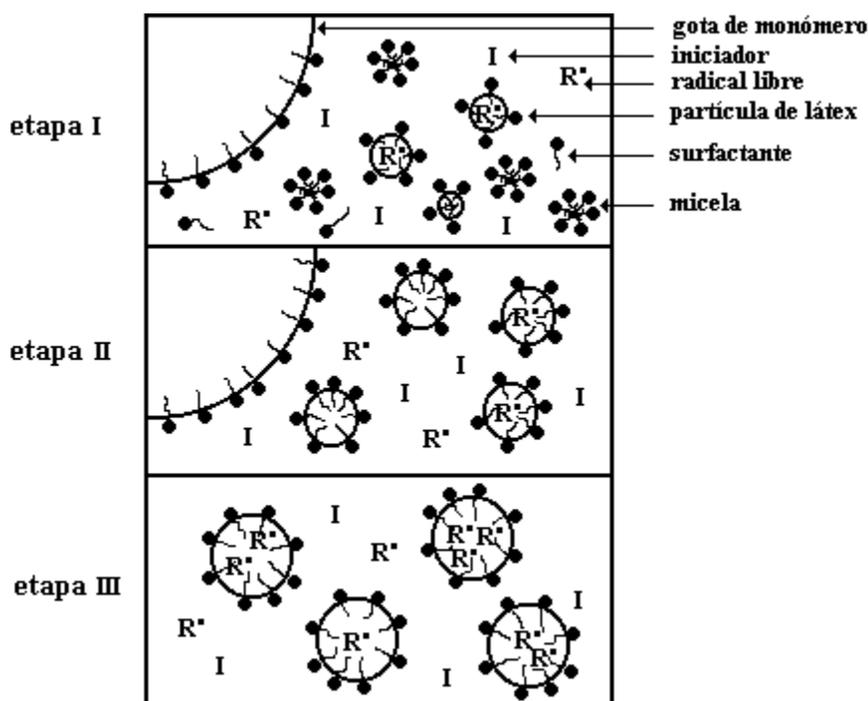


Figura 2.9. Intervalos de una polimerización en emulsión convencional.¹⁴

En las polimerizaciones en emulsión, la nucleación de las partículas ocurre en la etapa I, la cual usualmente se completa a bajas conversiones de monómero (2-10 %), cuando el monómero se encuentra en gotas relativamente grandes (1-10 μm). Esta nucleación ocurre cuando los radicales oligoméricos formados en la fase acuosa alcanzan un tamaño crítico que les permite entrar en las micelas hinchadas con monómero o los hace

insolubles en la fase continua por lo que precipitan tomando tensoactivo del medio. Debido a que hay más micelas que gotas de monómero en el sistema, la probabilidad de que estos radicales entren en las micelas es mucho mayor que la probabilidad de que entren en las gotas de monómero. Una vez iniciada la polimerización, el monómero que se consume dentro de las partículas es suministrado por las gotas de monómero por difusión a través de la fase acuosa. Las partículas en crecimiento toman para estabilizarse el surfactante con el que están formadas las micelas, ocasionando que estas últimas desaparezcan. En este momento se detiene la formación de partículas de polímero y finaliza la etapa I. Durante esta etapa la tasa de polimerización se incrementa debido a la generación de partículas.

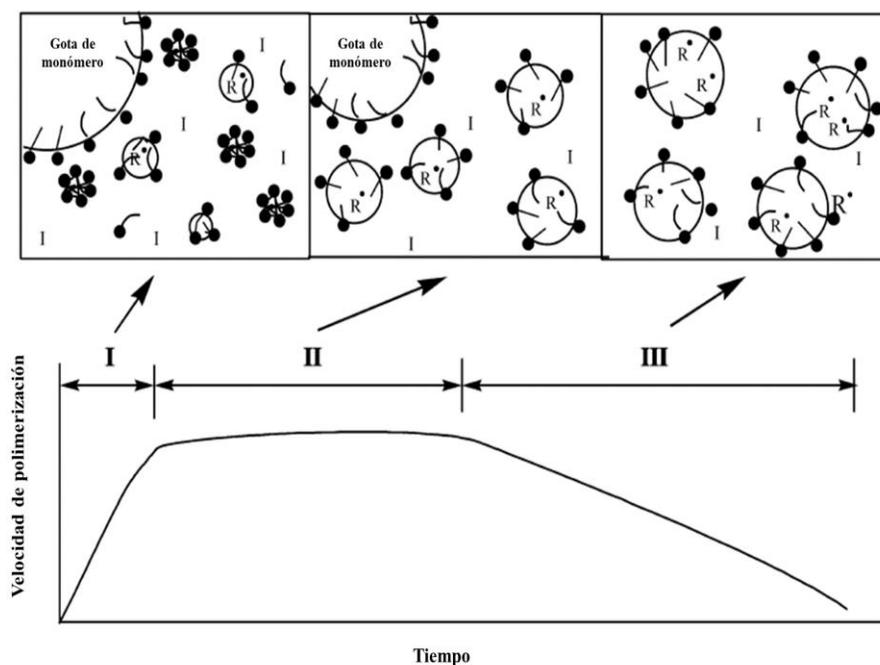


Figura 2.10 Comportamiento de la tasa de polimerización durante una polimerización en emulsión¹⁶

En la etapa II continúa la polimerización dentro de las partículas de polímero hinchadas con monómero, con el monómero abastecido por difusión desde las gotas. Estas gotas de monómero actúan como reservorios y la tasa de reacción es generalmente constante porque está gobernada por la tasa de difusión del monómero a través de la fase acuosa. La etapa III comienza cuando las gotas desaparecen y la polimerización continúa, pero éstas ya no aumentan de tamaño, hasta que reacciona todo el monómero que queda en

las partículas. En esta etapa la tasa de reacción disminuye a medida que se consume el monómero dentro de las partículas debido a que ya no existen gotas que lo suministren.¹⁴ Normalmente, al final de una polimerización en emulsión se logra el 100 % en conversión y el diámetro promedio de las partículas es de 50 a 200 nm.

El mecanismo de nucleación de las partículas puede proceder por dos procesos: nucleación micelar y nucleación homogénea, como se muestra en la **Figura 2.11**.¹⁷ La formación de radicales libres se inicia en la fase acuosa. Una vez generados, estos radicales pueden crecer en la misma fase acuosa reaccionando con el monómero disuelto en el agua para formar oligómeros. El mecanismo de nucleación micelar se origina por la entrada de radicales (primarios u oligoméricos) a las micelas, mientras que el mecanismo de nucleación homogénea consiste en la precipitación de radicales oligoméricos, los cuales se estabilizan con el surfactante que está disuelto en el medio continuo. El dominio de cualquiera de estos mecanismos de nucleación depende de la solubilidad del monómero en el agua.

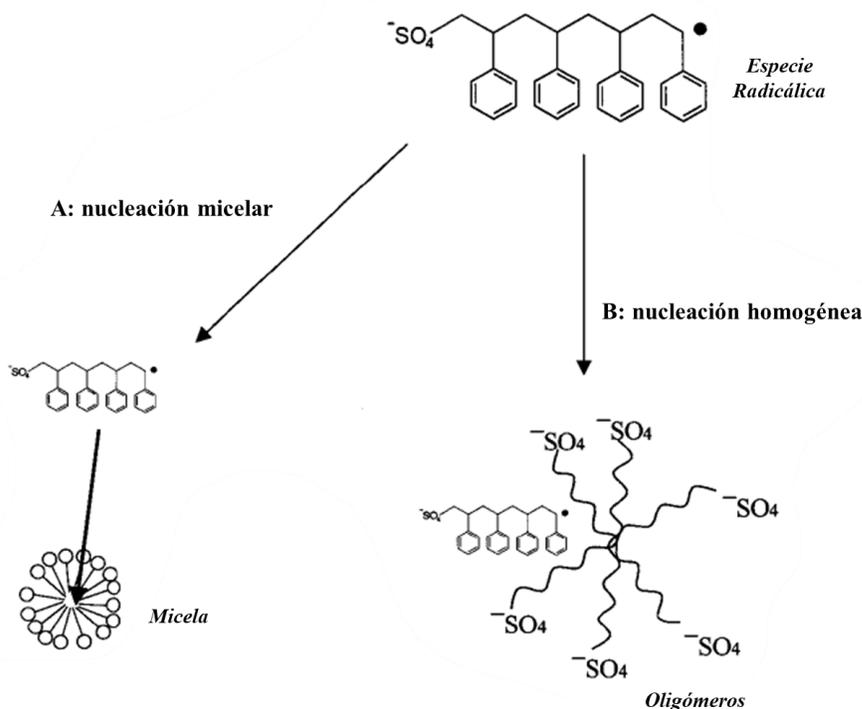


Figura 2.11 Mecanismos de nucleación en una polimerización en emulsión de Sty (adaptada de la referencia 17)

2.6 Polimerización en miniemulsión

El mecanismo mediante el cual se lleva a cabo la polimerización en emulsión convencional es muy diferente al mecanismo mediante el cual se lleva a cabo la polimerización en miniemulsión. Estas diferencias se basan en la distribución de los componentes en el sistema donde se lleva a cabo la polimerización (emulsión o miniemulsión). En una miniemulsión normal, el monómero se encuentra disperso en un medio continuo acuoso en forma de gotas estabilizadas con uno o varios agentes tensoactivos. Para lograr la formación de la miniemulsión es indispensable el uso de un tensoactivo adecuado y el uso de energía mecánica generada por un equipo de emulsificación eficiente (sonicador, homogeneizador de alta presión, sistema rotor-estator).

Para obtener una miniemulsión normal se prepara una fase acuosa que contiene agua y tensoactivo(s), y una fase orgánica constituida por el (los) monómero(s), el agente hidrófobo y, en algunos casos, un polímero preformado u otro material insoluble en agua que se desee incorporar. El proceso comienza con la mezcla de ambas fases por agitación mecánica formando una pre-emulsión, que luego es homogenizada hasta obtener la miniemulsión con diámetros de gota de 50 a 500 nm.¹⁸ En una miniemulsión, todo el tensoactivo disponible se adsorbe sobre la superficie de las mini-gotas y no se forman las micelas que están normalmente presentes en una emulsión convencional.¹⁴ Por esta razón, la nucleación de las partículas es primordialmente por la entrada de radicales (primarios u oligoméricos) a las mini-gotas de monómero como se observa en la **Figura 2.12**.

Se ha investigado el proceso de miniemulsificación por energía de ultrasonido, siguiéndolo mediante mediciones de tensión superficial y turbidimetría. Al comienzo del proceso, el tamaño de gotas se reduce rápidamente porque el tensoactivo de la fase acuosa migra a la interfase formada por el agua y el aceite (monómero). A medida que el tensoactivo es adsorbido en la superficie de las gotas, se incrementa la tensión superficial debido a la reducción de la concentración de tensoactivo libre en la fase acuosa. La dispersidad de la distribución de tamaño de gotas va disminuyendo con el tiempo de aplicación de la energía de ultrasonido (por procesos de ruptura y coalescencia de las gotas) hasta alcanzarse un estado estacionario en el cual las mediciones de turbidimetría y tensión superficial se vuelven constantes.

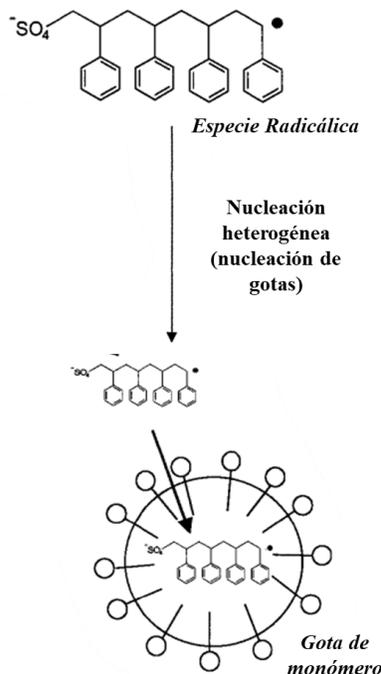


Figura 2.12 Mecanismo de nucleación en una polimerización en miniemulsión de Sty (adaptada de la referencia 17)

Generalmente, la sonicación se lleva a cabo en un recipiente refrigerado para eliminar el calor generado.¹⁹ El sistema resultante es termodinámicamente inestable y cinéticamente estable. Además, el uso de un agente hidrófobo (conocido también como coestabilizador) protege a las gotas de monómero resultantes contra la degradación difusional (maduración de Ostwald). Un ejemplo de agente hidrófobo es el hexadecano.

Cuando se adiciona iniciador al sistema, los radicales primarios inician la polimerización para transformar las gotas en partículas de polímero. En las polimerizaciones en miniemulsión no coexiste una fase de monómero separada (como en el caso de las polimerizaciones en emulsión).¹⁴ Si todas las gotas son “nucleadas”, entonces el número final de partículas es aproximadamente igual al número inicial de gotas. La nucleación directa de las gotas reduce (o evita) la difusión de componentes (monómero y surfactante) observada en las polimerizaciones en emulsión convencionales, y permite la incorporación de compuestos insolubles en agua (monómeros, polímeros preformados, catalizadores, agentes de transferencia, materiales inorgánicos) directamente en el sitio de la reacción.²⁰

En esta técnica de polimerización pueden usarse iniciadores solubles en agua o en aceite, pero la característica importante es que la reacción se lleva a cabo por polimerización del monómero en las mini-gotas. Tal y como se observa en la **Figura 2.13**, en la polimerización en miniemulsión no se presenta la etapa II de la polimerización en emulsión, donde el monómero consumido en las partículas es suministrado por las gotas de monómero. La etapa I corresponde a la nucleación de partículas; en comparación con la polimerización en emulsión y microemulsión, este intervalo es más corto y termina cuando se alcanza la tasa máxima de reacción (alrededor del 20 % de conversión). En miniemulsión, no existen gotas que suministren monómero, por lo que solo se observa una etapa donde la tasa de polimerización disminuye a medida que se consume el monómero dentro de las partículas (etapa III de una polimerización en emulsión). Durante esta etapa, la cinética sigue a la de una polimerización en masa o en suspensión (línea de puntos en la **Figura 2.13**). La etapa IV se observa como un incremento en la tasa de polimerización debido al aumento de la viscosidad dentro de las partículas y a una disminución en la tasa de terminación de las cadenas poliméricas.²¹

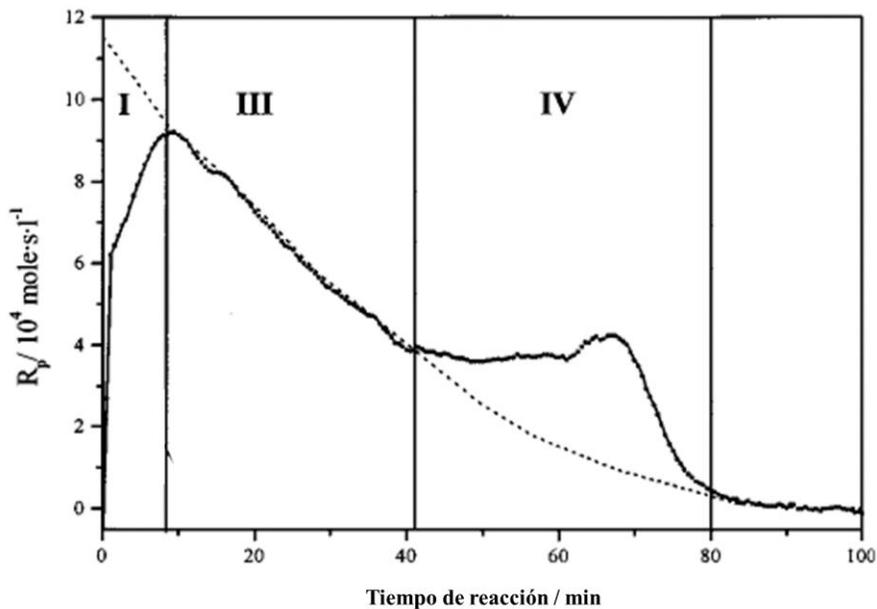


Figura 2.13 Intervalos de polimerización en miniemulsión (adaptada de la referencia 21).

No obstante, dependiendo de la formulación empleada para formar la miniemulsión, así como del proceso de homogeneización, pueden presentarse variaciones en el comportamiento previsto para una polimerización en miniemulsión:²²

- 1) Si hay un exceso de surfactante o la energía de homogeneización no fue suficiente, puede ser que no se obtenga una miniemulsión como tal, por lo que podría haber micelas y, en consecuencia, nucleación micelar.
- 2) Si se utiliza un iniciador soluble en agua, la generación de los radicales en la fase acuosa debería conducir a la formación de oligómeros suficientemente hidrófobos como para entrar en las mini-gotas de monómero (nucleación de las gotas). Sin embargo, pueden darse diferentes mecanismos de nucleación que ocurran en procesos paralelos a la nucleación en las mini-gotas. Esto sería fomentado por la formación de radicales en la fase acuosa que no sean suficientemente hidrófobos como para entrar a las mini-gotas de monómero, pero que alcanzan una longitud de cadena que los vuelva insolubles en agua para después precipitar (nucleación homogénea).
- 3) Además, si el agente hidrófobo tiene cierta solubilidad en agua como para difundirse de las gotas pequeñas a las más grandes, las mini-gotas de monómero pueden desaparecer por coalescencia con otras gotas y partículas de polímero, así como por degradación difusional.

Una de las ventajas que se tiene con esta técnica de polimerización es la posibilidad de encapsular compuestos hidrófobos.²³ Además, la polimerización en miniemulsión permite la síntesis de materiales complejos que no pueden producirse por otro método; materiales que tienen una amplia gama de aplicaciones que incluyen: adhesivos, recubrimientos, pigmentos para textiles, sistemas para la administración de fármacos, entre otros.²²

A continuación, se enlistan algunas de las características esenciales que debe cumplirse en una polimerización en miniemulsión:²¹

1. Las miniemulsiones en estado estacionario son estables contra la degradación por difusión.

2. La energía interfacial entre las fases oleosa y acuosa es mucho mayor que cero. Las moléculas de tensoactivo no cubren por completo la superficie de las gotas de la miniemulsión.
3. La formación de una miniemulsión requiere de energía mecánica de alto corte para alcanzar el estado estacionario.
4. La estabilidad de las gotas de miniemulsión frente a la degradación por difusión resulta de la presión osmótica en las mismas, la cual controla la difusión del monómero. La presión osmótica se crea mediante la adición de una sustancia que tiene una solubilidad en agua extremadamente baja, denominado hidrófobo o coestabilizador.
5. La polimerización en miniemulsión ocurre únicamente por nucleación de las gotas. Aunque se ha demostrado que la nucleación de partículas en la fase acuosa no puede ser eliminada por completo, incluso para la polimerización de un monómero altamente hidrófobo como el estireno, lo que da paso a un mecanismo de nucleación de partículas competitivo que implica tanto la nucleación de gotas de monómero como la nucleación homogénea.²⁴
6. El crecimiento de las gotas durante la polimerización puede ser suprimido.
7. La cantidad de tensoactivo requerida para formar la miniemulsión es menor a la requerida para la formación de una microemulsión, pero mayor a la requerida para la formación de una emulsión.

2.6.1 Uso de monómeros reactivos como agentes hidrófobos en la formación de miniemulsiones

El hexadecano ha sido el agente hidrófobo más ampliamente usado en las polimerizaciones en miniemulsión. Sin embargo, como ya se ha mencionado, éste debe ser eliminado del producto final para muchas aplicaciones debido a su toxicidad. En sustitución al HD se ha probado el uso de monómeros, iniciadores y agentes de transferencia de cadena. Los monómeros son la mejor alternativa debido a que los iniciadores y los agentes de transferencia de cadena afectan significativamente la cinética de polimerización.²⁵ Algunos de estos monómeros son el acrilato de octadecilo (ODA) o el metacrilato de

octadecilo, también llamados acrilato de estearilo y metacrilato de estearilo (SMA, del inglés *stearyl methacrylate*), respectivamente. Estos monómeros acrílicos son hidrófobos debido a la longitud de sus cadenas alquílicas como es el caso del ODA (**Figura 2.14**).²⁶

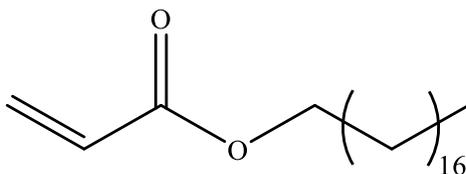


Figura 2.14 Acrilato de octadecilo (ODA)

En 2004, Ouzineb *et al.*²⁷ estudiaron el efecto de diferentes tensoactivos y co-estabilizadores en las polimerizaciones en miniemulsión de Sty y de metacrilato de butilo (BMA) iniciadas con persulfato de potasio (KPS). Se obtuvo un látex con D_p de 185.1 nm cuando se estudió el uso de una combinación de SDS/Triton X-405/ODA al 2 % p con respecto al Sty. Reportaron que la relación entre el número de mini-gotas de monómero iniciales (N_m) y el número de partículas (N_p), N_m/N_p , fue de 1.04; lo cual significa que todas las gotas de monómero iniciales fueron nucleadas y que prácticamente no se generaron nuevas partículas por otros mecanismos en el transcurso de la reacción. Para la polimerización del BMA reportaron un D_p de 152.3 nm y una relación N_m/N_p muy cercano a 1. Por otro lado, usaron el HD (10 % p con respecto al total de la formulación) y obtuvieron un látex con D_p de 101.6 nm. Para N_m/N_p , obtuvieron un valor 0.06; el cual atribuyen a que ocurrió la nucleación micelar. Concluyeron que es posible la nucleación de todas las mini-gotas de Sty y/o BMA con un sistema de estabilización que combina tensoactivos en cantidades razonables y un hidrófobo polimerizable (ODA).

En 2020, Medeiros *et al.*²⁸ reportaron la síntesis del copolímero de caucho de estireno-butadieno (SBR) utilizando HD y ODA como agentes hidrófobos. Agregaron una cantidad de 4 % p de HD u ODA, con respecto al Sty, y obtuvieron látex con D_p de 218 nm y distribuciones de tamaño de partícula (PDI) muy angostas, de 0.01 con ODA y 0.03 con HD. Reportaron valores de N_m/N_p de 1.3 con HD y 1.2 con ODA, por lo que asumieron que la nucleación fue preferentemente en las mini-gotas de monómero y que la nucleación

homogénea fue eliminada casi por completo. Concluyeron que es factible la sustitución del HD por ODA ya que obtuvieron látex estables y con propiedades similares.

2.6.2 Aplicación de la técnica de polimerización en miniemulsión para encapsular principios activos

La nanoencapsulación de principios activos (u otros materiales de interés a encapsular) ha sido objeto de un trabajo de investigación considerable en los últimos años. Muchos trabajos han intentado la nanoencapsulación a través de técnicas de polimerización en emulsión y miniemulsión, siendo ésta última una ruta más directa y reproducible para alcanzar este objetivo. Mediante el uso de esta técnica, si un sólido orgánico o inorgánico está contenido dentro de las mini-gotas de monómero, quedará encapsulado por polímero una vez que haya concluido la reacción de polimerización, tal y como se muestra en la **Figura 2.15**.²⁹

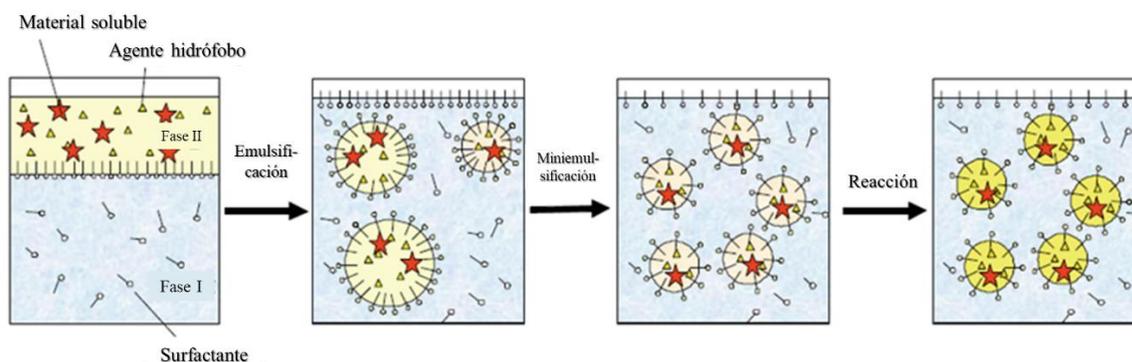


Figura 2.15 Proceso de encapsulación de un material sólido mediante polimerización en miniemulsión (adaptada de la referencia 29)

Como ya se ha mencionado anteriormente, la encapsulación de los fármacos ofrece ventajas sobresalientes como: (a) la reducción de los efectos secundarios tóxicos, (b) la protección del fármaco contra la degradación *in vivo*, (c) el mejoramiento en la atención del paciente al evitar numerosas inyecciones y (d) el logro de una farmacocinética más favorable.³⁰

El parámetro más crítico por considerar para incrementar el contenido del fármaco en las NPPs es la solubilidad (compatibilidad) del fármaco con el monómero y con el polímero. Por lo es de esperarse que la eficacia de la encapsulación disminuya significativamente para aquellos fármacos con baja solubilidad en el material encapsulante.

En 2007, Huang et al.³¹ prepararon NPPs de poli(cianoacrilato de *n*-butilo) (PBCA) mediante polimerización aniónica en miniemulsión con el propósito de encapsular paclitaxel para el tratamiento del cáncer. Estudiaron el efecto de la concentración de tensoactivo, la concentración de paclitaxel y el método de síntesis sobre la eficiencia de encapsulación (EE) y de cargado (LC). Para preparar la fase oleosa, disolvieron al paclitaxel en el cianoacrilato de *n*-butilo (BCA) utilizando energía de ultrasonido. Para formar la fase acuosa, disolvieron el tensoactivo pluronic F127 en una solución ácida. Como agente hidrófobo usaron el fármaco mismo, debido a su alta hidrofobicidad. Para formar las miniemulsiones homogenizaron con ultrasonido (110 W de potencia por 60 s). No añadieron un iniciador debido a que el BCA es un monómero extremadamente reactivo y la polimerización aniónica inició por los iones hidroxilo provenientes del agua del medio. Ellos también realizaron la síntesis y cargado de las NPPs utilizando la técnica de polimerización en emulsión. Mediante polimerización en miniemulsión, cuando utilizaron la concentración de paclitaxel del 1 % con respecto al monómero, obtuvieron un látex con D_p de 99.7 nm y alcanzaron una EE del 56.6 % y LC de 0.56 %. Con la polimerización en emulsión obtuvieron un látex con D_p de 56.2 nm y una EE de 18.0 % y LC de 0.18. Con estos resultados demostraron que la polimerización en miniemulsión es más efectiva para encapsular el paclitaxel. Los valores de D_p en la polimerización en miniemulsión lo atribuyeron a que no hubo una supresión efectiva de la degradación difusional. Encontraron que al aumentar la concentración del tensoactivo pluronic F127, el D_p disminuye, pero el PDI aumenta. Sugieren que lo anterior fue debido a un exceso de tensoactivo y a la baja eficiencia del paclitaxel como agente hidrófobo. También encontraron que la EE incrementa al aumentar la concentración del tensoactivo de 0.03 a 0.1 % (p/v), pero se mantiene constante de 0.1 a 0.5 % (p/v). Al aumentar el contenido de paclitaxel de 1 a 5 % p, en la polimerización en miniemulsión lograron incrementar de forma simultánea la EE hasta 80 % y la LC a 4 %. Esto es contrario a lo que ocurre en una polimerización en emulsión ya que para tener alta LC se necesita añadir una gran cantidad de fármaco, pero

esto resulta en una baja EE. Por último, realizaron pruebas de liberación *in vitro* con una solución buffer de fosfatos (PBS) pH 7.4 con 0.1 % p/v de Tween[®] 80 como medio de liberación. Los porcentajes de fármaco liberado tras 96 h fueron del 89.7 y 82.9 % para las NPPs cargadas de paclitaxel con una LC del 0.56 y 4 % (p/p), respectivamente.

En 2013, Fonseca et al.³² llevaron a cabo la polimerización en miniemulsión de MMA en presencia de praziquantel (PZQ) con el objetivo de obtener NPPs de poli(metacrilato de metilo) (PMMA) cargadas con PZQ para el tratamiento de la esquistosomiasis. Utilizaron aceite mineral farmacéutico como coestabilizador, SDS como tensoactivo, KPS como iniciador y bicarbonato de sodio en la fase acuosa. Homogenizaron durante 10 min con un equipo ultra turrax (agitación de 9500 rpm) o con un homogeneizador de alta presión (800 bar). La polimerización la llevaron a cabo a 60-90 °C con agitación de 1000 rpm durante 180 min. Encontraron que la temperatura de reacción tiene un importante efecto sobre la conversión del monómero. Obtuvieron las conversiones más bajas (≈ 50 %) a 60 °C y las más altas (≈ 95 %) a 90 °C. Esto puede deberse a que la movilidad de los radicales aumenta con la temperatura como resultado de la disminución de la viscosidad del sistema. Encontraron que el aumento de la concentración del iniciador no incrementa la conversión final del monómero. Observaron que la presencia de PZQ no afecta significativamente la tasa de reacción y pudieron alcanzar altas conversiones incluso con una gran cantidad del fármaco añadido. Notaron que las miniemulsiones preparadas con el ultra turrax fueron inestables y las fases se separaron en menos de 24 h; el D_p fue de ≈ 500 nm con una distribución de tamaños bimodal. En cambio, con el uso del homogeneizador de alta presión se lograron miniemulsiones que permanecieron estables por 4 meses, $D_p \approx 70$ nm y PDI de 0.10 a 0.62 con distribución unimodal. También con el homogeneizador de alta presión alcanzaron EE más altas, de hasta el 100 %.

En 2018, Jin et al.³³ sintetizaron NPPs de PBCA cargadas con 10-hidroxicamptotecina (HCPT) mediante polimerización en miniemulsión. La fase acuosa fue preparada con fosfolípidos de soja (PC), monoestearato de polietilenglicol (S100) y Tween 80 en medio ácido. Para la fase oleosa mezclaron HCPT, BCA y Miglyol[®] 840 (M840) en acetona. Mezclaron ambas fases y homogeneizaron con ultrasonido por 1.5 min a 300 W. Añadieron una solución básica y dejaron en agitación de 800 rpm por 12 h a temperatura

ambiente. Esta polimerización aniónica también fue iniciada por los iones hidróxido. El D_p del látex fue de 92.7 nm con un PDI de 0.118 y EE de 94.24 %, por lo que se considera que el uso de la técnica de polimerización en miniemulsión fue efectiva para el cargado de las NPPs con HCPT. En las pruebas de liberación, se registró una liberación del 40 % en pH 1.2 en 2 h y 60 % a pH 6.8 después de 4 h.

Por su parte, en 2020 Ferreira et al.³⁴ prepararon NPPs de poli(metacrilato de metilo-*co*-ácido acrílico) (P(MMA-*co*-AA)) cargadas con clioquinol (CQ), un agente quelante para el cobre y el zinc para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, a través de polimerización en miniemulsión. La fase acuosa la formaron disolviendo SDS y bicarbonato de sodio en agua destilada. La fase orgánica consistía en los monómeros, HD y CQ. Ambas fases las homogeneizaron con un homogeneizador de alta presión, 100 bar por 20 min. La polimerización la llevaron a cabo a 80 °C, con agitación de 500 rpm durante 2 h. El iniciador KPS fue añadido al medio de reacción una vez alcanzada la temperatura deseada. Se obtuvieron conversiones de monómero cercanas al 100 % en los primeros 20 min de reacción. Con la adición del CQ, los autores notaron una ligera disminución de la tasa de polimerización. Lo cual fue explicado como consecuencia de un pequeño efecto inhibitorio y por interacciones con el medio de reacción. El tamaño de las NPPs del copolímero fue de 99 nm y PDI de 0.13. En cambio, el tamaño de las NPPs cargadas con CQ fue de 61 nm y PDI de 0.12. La disminución del D_p de las NPPs cargadas lo atribuyeron a las interacciones entre los grupos funcionales polares del CQ y las cadenas poliméricas. Lograron una EE de 97 % al añadir CQ con una concentración del 1 % en peso. Al agregar CQ en mayor concentración, los látex fueron inestables. Finalmente, cuando realizaron la prueba de liberación en PBS a pH 7.4 y 37 °C, se registró 50 % de CQ liberado después de 9 h. Sus resultados de liberación se ajustaron al modelo cinético de Peppas, lo que indicó que la liberación estaba controlada por difusión.

2.7 Curcumina

La curcumina es un compuesto de origen vegetal que ha llamado la atención de los investigadores en diversos campos de la ciencia como la química, la biología y la medicina. Se trata de un polifenol hidrófobo que se extrae del rizoma de la planta *Curcuma longa*

(Figura 2.16), perteneciente a la familia del jengibre (*Zingiberaceae*), la cual se ha utilizado por siglos como especia y como remedio en la medicina tradicional asiática.³⁵

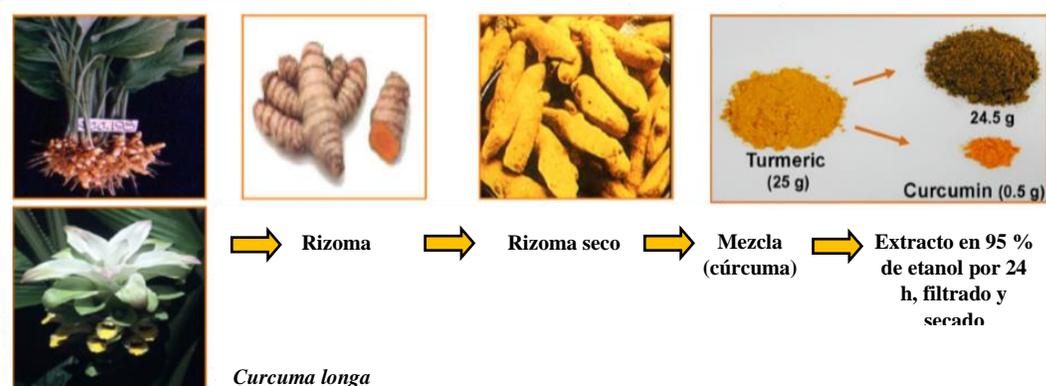


Figura 2.16 Extracción de la curcumina a partir de cúrcuma³⁶

La cúrcuma se compone por tres moléculas denominadas curcuminoides: el 77 % corresponde a la curcumina, la más abundante y la que ha sido identificada como el principio activo de la cúrcuma; el 17 % corresponde a la demetoxicurcumina y el 6 % a la bisdemetoxicurcumina (**Figura 2.17**).³⁷

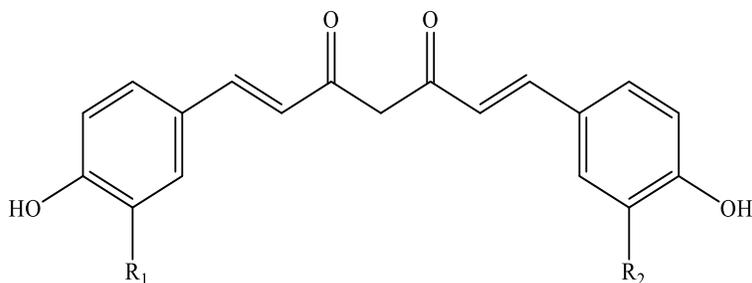


Figura 2.17 Curcumina ($R_1 = R_2 = OCH_3$), demetoxicurcumina ($R_1 = OCH_3$, $R_2 = H$), bisdemetoxicurcumina ($R_1 = R_2 = H$).

El polvo obtenido de la raíz de la cúrcuma, ingrediente principal del curri, contiene del 2-5 % de curcumina. Es utilizado como pigmento natural de alimentos y bebidas debido a su intenso color amarillo-anaranjado, esta coloración se debe a los grupos fenólicos. La curcumina ha sido aprobada por la FDA (*Food and Drug Administration*) en los Estados

Unidos como “generalmente reconocido como seguro” (*Generally Recognized as Safe, GRAS*).³⁸

Este compuesto ha sido utilizado en muchos países asiáticos: en la India como una especia en curris; en Malasia como antiséptico; en Japón como té; en Tailandia como cosmético; en Corea se utiliza en las bebidas y, en China, como colorante. Por otro lado, es utilizado en Estados Unidos en mostazas, quesos, mantequilla, papas fritas y colorante.³⁹

2.7.1 Propiedades fisicoquímicas de la curcumina

La curcumina, 1,7-bis(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadien-3,5-diona o bien diferuloilmetano muestra tautomerismo ceto-enólico (**Figura 2.18**), predominando la forma ceto (diceto) en soluciones ácidas y neutras y la forma enólica (ceto-enólica) estable en medios alcalinos y disolventes orgánicos.⁴⁰

En estado sólido, la curcumina es inodora y de color amarillo/anaranjado; tiene una temperatura de fusión de 183 °C y es sensible a la luz (sufre de una fotodegradación más rápida bajo luz visible que bajo luz UV). Su estructura química posee grupos hidroxilo y carbonilo que sufren cambios en su estado de ionización con la variación en el pH del medio. A $\text{pH} < 8$ la molécula es muy hidrófoba, por lo que es muy poco soluble, sin embargo, presenta buena estabilidad química, por lo que se recomienda que el cargado de las nanopartículas se lleve a cabo a $\text{pH} < 7$. Al aumentar el pH, la molécula es más hidrófila y soluble pero su estabilidad química disminuye drásticamente.⁴¹

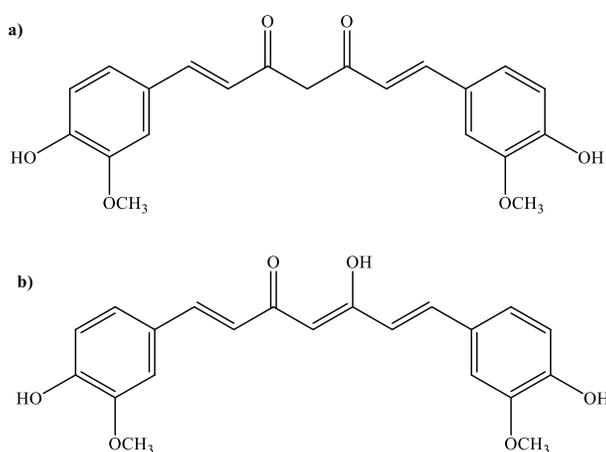


Figura 2.18 Estructura de la curcumina en su forma (a) diceto y (b) ceto enólica

Este compuesto tiene las propiedades de un indicador ácido-base. A $\text{pH} < 1$ la curcumina se encuentra en forma protonada y la disolución muestra una coloración roja. A pH de 1 a 7 está en su forma neutra y la disolución es de color amarillo brillante. Por último, a $\text{pH} > 7$ se encuentra desprotonada y es de color rojo. La transición de color es a pH 8-9, por lo que es útil para indicar alcalinidad.³⁶

Debido a los grupos ionizables, la curcumina tiene tres hidrógenos fácilmente disociables con constantes de disociación ($\text{p}K_a$) de 8.38 para el hidrógeno enólico, 9.88 para el hidrógeno fenólico y 10.51 para el fenilo.⁴²

2.7.2 Propiedades terapéuticas de la curcumina

Tradicionalmente, la curcumina ha sido utilizada como un agente antiinflamatorio, aunque numerosos estudios confirman su actividad quimiopreventiva en diferentes tipos de células cancerosas como las de páncreas, mama, próstata, pulmón, hígado, cerebro, colorrectal y otros.³

Se ha demostrado que la curcumina exhibe propiedades antioxidantes y antiinflamatorias que ayudan a la cicatrización de heridas. Además, es farmacológicamente segura incluso a dosis consideradas altas. Por ejemplo, se ha demostrado que el consumo de la curcumina es seguro hasta 8 g por día.⁴³ Es un potente antioxidante ya que elimina eficientemente una variedad de especies reactivas de oxígeno demostrando su potencial para tratar enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo (desbalance entre la producción de especies reactivas de oxígeno y defensas antioxidantes) el cual incrementa con enfermedades inflamatorias. Entre las enfermedades mediadas por el estrés oxidativo y que pueden mejorarse con el uso de curcumina se puede mencionar al Alzheimer, la aterosclerosis y estados de lesión tisular aguda (por ejemplo, daño traumático de la médula espinal y accidente cerebrovascular).⁴⁴

A la curcumina también se le atribuyen otros efectos como son el de ser hepato- y nefro-protector, supresor de trombosis, protector de infarto de miocardio, hipoglucémico y antirreumático.⁴⁵ Además, se conocen efectos benéficos en enfermedades oculares como la

uveítis crónica interna, la retinopatía diabética, el glaucoma, la degeneración macular relacionada con la edad y el síndrome del ojo seco.⁴⁶

2.7.3 Estrategias para mejorar la biodisponibilidad oral de la curcumina

Pese a las múltiples propiedades terapéuticas que se atribuyen a la curcumina existen también estudios donde se enfatiza la limitada eficacia de su actividad ocasionada por su baja biodisponibilidad en tejidos y plasma (aún a dosis altas); problema que se atribuye a su baja solubilidad en agua, su absorción deficiente y su rápida metabolización.⁴⁷

La extrema hidrofobicidad de la curcumina resulta en su pobre absorción en el torrente sanguíneo después de la ingesta oral. El primer paso hacia la absorción efectiva de cualquier fármaco o nutraceutico es su disolución inicial en el medio acuoso del tracto gastrointestinal, así que los fármacos altamente hidrófobos tienen una baja biodisponibilidad oral. La reducción del tamaño de partícula de los materiales que se utilizan para administrar fármacos de baja biodisponibilidad permite un aumento significativo en su solubilidad acuosa, velocidad de disolución y mejor absorción oral.⁴⁸

Se han explorado diferentes tipos de nanopartículas comestibles como sistemas de liberación para mejorar la solubilidad, estabilidad y biodisponibilidad de la curcumina. En muchos casos la curcumina es incorporada dentro de sistemas de liberación coloidal mediante la disolución en solventes orgánicos, sin embargo, este tipo de solventes pueden ser no aptos para consumo humano, además de que tienen un costo y son contaminantes al medio ambiente.³⁸

La biodisponibilidad de este compuesto se puede mejorar cuando se conjuga o se carga en diferentes tipos de nanomateriales que incluyen NPs de poli(ácido láctico-*co*-glicólico) (PLGA), NPs metálicas (de oro o plata), NPs de óxidos metálicos (magnetita y sílice), NPs de óxido de grafeno, NPs a base de lípidos (liposomas y lípidos sólidos), exosomas, hidrogeles y organogeles (**Figura 2.19**).⁴⁹

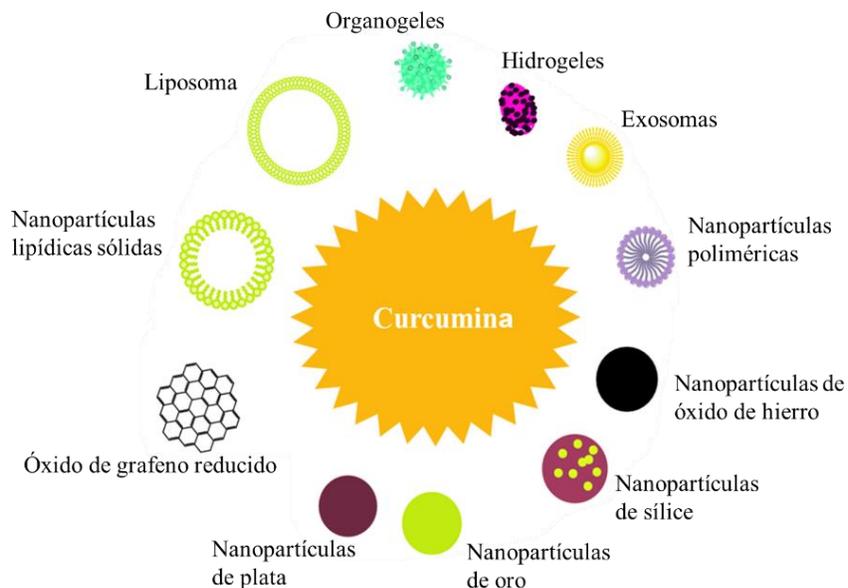


Figura 2.19 Diferentes materiales utilizados para mejorar la biodisponibilidad de la curcumina.⁴⁹

Las NPPs tienen una gama de ventajas en comparación con otros vehículos. Se caracterizan por ser mucho más estables en el tracto gastrointestinal; por lo que son útiles para la protección y liberación controlada de medicamentos. Debido a que la encapsulación de los fármacos en NPPs involucra solo a las interacciones de tipo electrostático entre el fármaco y el polímero, y no implica la modificación química de las moléculas del fármaco, se tiene la ventaja de minimizar los estudios adicionales de biodegradabilidad y toxicidad del fármaco.⁵⁰

La biodisponibilidad oral de la curcumina en ratas ha podido ser elevada, en 5 a 6 veces, cuando se administró encapsulada en partículas de PLGA con un D_p de aproximadamente 200 nm.⁵¹ En otro estudio, donde se encapsuló curcumina en partículas de PLGA de 158 nm, se observó también un aumento de 20 veces en la biodisponibilidad oral en ratas.⁵²

Diversos autores han preparado NPs de ES100 cargadas con curcumina.⁵³⁻⁵⁵ Como se mencionó anteriormente, el ES100 es la forma comercial del copolímero de interés en la presente investigación, el P(MMA-co-MAA), el cual es biodegradable y soluble a $pH > 7$ (por la ionización de sus grupos funcionales carboxilo), por lo que protege al fármaco en el estómago o intestino y lo libera en el colón.²

Se han encontrado reportes donde el ES100 es utilizado para preparar NPPs cargadas con curcumina y de este modo mejorar su biodisponibilidad. No obstante, las metodologías empleadas en estos trabajos involucran varios pasos y el uso de disolventes tóxicos.

Entre los diferentes métodos para la obtención de NPPs cargadas con fármacos, la polimerización en miniemulsión tiene la ventaja de que es posible llevar a cabo la encapsulación y formación de polímero en una sola etapa. Lo anterior se traduce en la simplificación de pasos comparado con las metodologías donde se utiliza un polímero preformado. Si el compuesto activo es altamente hidrófobo, como es el caso de la curcumina, no se difundirá hacia la fase acuosa durante la polimerización, por lo que se puede lograr una mayor eficiencia de cargado.

3 Objetivos

3.1 Objetivo general

Preparación de nanopartículas poliméricas (NPPs) de un copolímero acrílico mediante la técnica de polimerización en miniemulsión utilizando un monómero reactivo como agente hidrófobo y la encapsulación *in situ* de curcumina en estas NPPs empleando la misma metodología.

3.2 Objetivos específicos

1. Obtención de las NPPs de poli(metacrilato de metilo-*co*-ácido metacrílico), P(MMA-*co*-MAA), mediante la técnica de polimerización en miniemulsión utilizando acrilato de octadecilo, ODA, como agente hidrófobo.
2. Cargado de curcumina en las NPPs de P(MMA-*co*-MAA).
 - 2.1. Encapsulación de curcumina mediante polimerización en miniemulsión *in situ*.
 - 2.2. Cargado de curcumina posterior a la formación de las NPPs mediante un método de difusión-fisisorción.
3. Realizar estudios de liberación de la curcumina a pH de 7.4.

4 Hipótesis

1. Es factible el uso de ODA como agente hidrófobo en la obtención de nanopartículas del copolímero poli(metacrilato de metilo-*co*-ácido metacrílico) a una relación molar MMA: MAA de 2:1, mediante la polimerización en miniemulsión.
2. Es factible la encapsulación *in situ* de la curcumina con el copolímero poli(metacrilato de metilo-*co*-ácido metacrílico) mediante la técnica de polimerización en miniemulsión.

5 Parte Experimental

5.1 Materiales y Equipos

Material de vidrio básico de laboratorio, balanza analítica Ohaus Explorer EX224, parrillas de calentamiento con agitación magnética, sistema de purificación de agua Milli-Q[®] Direct, ultracentrífuga Beckman Coulter modelo XL-100K, espectrofotómetros de UV-vis Shimadzu Multispec-1501 y Thermo Scientific Genesys 10S, medidor de pH y conductividad Hanna Instruments modelo HI98130, reactor de vidrio enchaquetado de 100 mL, circulador de temperatura constante Fisher Scientific modelo 9510, agitador mecánico IKA RW 20, sonicador QSonica modelo Q700CA, dispersor de luz Microtrac Nanotrac Wave II Q, liofilizador Labconco Freeze Dry System/Freezone R45, cromatógrafo de permeación en gel (GPC) HP serie 1100, espectrómetro de resonancia magnética nuclear (NMR) Bruker de 400 MHz, equipo Discovery Series DSC/TGA (TA Instruments). Para las pruebas de liberación se utilizó una parrilla IKA RCT Basic provista de un sensor de temperatura, frascos ámbar de 100 mL, agitadores magnéticos y membrana de celulosa para diálisis MWCO 12400 (Sigma-Aldrich).

5.2 Reactivos

Los monómeros metacrilato de metilo (MMA, 98 % de pureza), ácido metacrílico (MAA, 99 % de pureza) y estireno (Sty, 99 % de pureza) fueron pasados por una columna empacada para remover el inhibidor. El peróxido de benzoilo (BPO, 99 % de pureza), persulfato de amonio (APS, 99.9 % de pureza), acrilato de octadecilo (ODA, 97 % de pureza), hexadecano (HD, 99 % de pureza), dodecilsulfato de sodio (SDS, 98.5 % de pureza), curcumina (≥ 94 % contenido de curcuminoides y ≥ 80 % de curcumina) y limoneno (97 % de pureza) se utilizaron sin purificación adicional. El agua utilizada en todos los experimentos fue desionizada (0.055 $\mu\text{S}/\text{cm}$). Para las pruebas de liberación se utilizó una solución buffer fosfato (PBS) pH 7.4 (1.0 M) y monooleato de sorbitán polioxietileno 20 (Tween[®] 80). Otros disolventes utilizados fueron: etanol anhidro (\geq

99.5 % de pureza), tetrahidrofurano grado HPLC (THF, ≥ 99.9 % de pureza), metanol grado reactivo (≥ 99.9 % de pureza), diclorometano (DCM, ≥ 99.8 % de pureza) y dimetilsulfóxido deuterado (DMSO-d₆, 99.9 % átomos D). Todos los reactivos y disolventes fueron obtenidos de Sigma-Aldrich.

5.3 Metodología

5.3.1 Curvas de calibración para determinar la concentración de curcumina por espectroscopia de UV-vis

Se preparó una curva de calibración utilizando como solvente etanol absoluto (**Figura 5.1**), midiendo la señal de absorbancia de la curcumina en 425 nm observada en el espectrofotómetro de UV-vis Shimadzu Multispec-1501. Esta curva se utilizó para determinar la solubilidad de la curcumina en los monómeros.

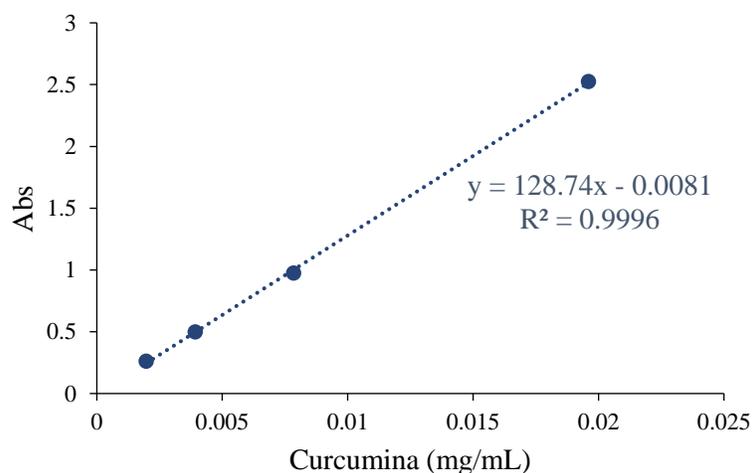


Figura 5.1 Curva de calibración de curcumina en etanol.

Por otro lado, con el propósito de obtener resultados más precisos en la determinación de curcumina cuando se analizó su concentración en los látex, se preparó una curva de calibración utilizando como solvente una relación etanol/agua (9/1; v/v). Con esta curva (**Figura 5.2**) se midió la concentración de curcumina en los látex cargados mediante polimerización en miniemulsión, en el látex cargado por el método de difusión-fisorción y en la determinación de la solubilidad de curcumina en agua y PBS.

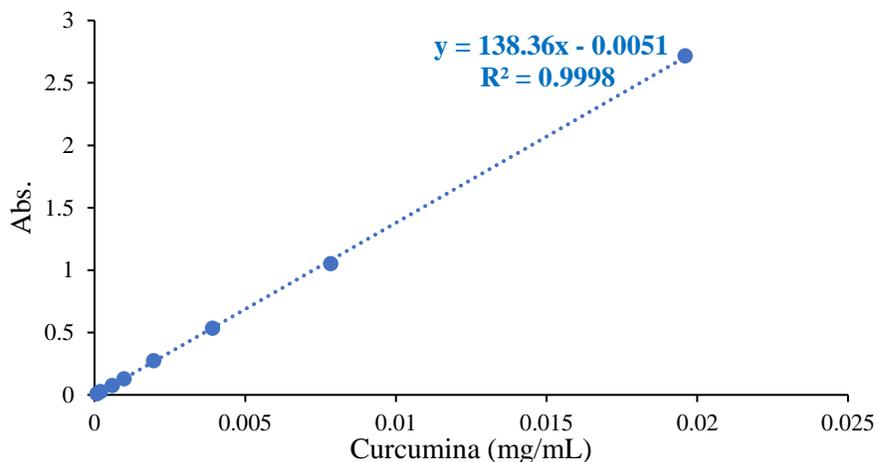


Figura 5.2 Curva de calibración de curcumina en etanol/agua (9/1; v/v)

Por último, se prepararon dos curvas con solución buffer en el equipo Thermo Scientific Genesis 10S; una de ellas utilizando una relación etanol/solución buffer fosfato (PBS) 0.1 M a pH de 7.4 (1/1; v/v) y la otra con la misma solución buffer, pero con Tween[®] 80 al 3 % p/v (**Figura 5.3**). Estas curvas se utilizaron para determinar la concentración de curcumina en las pruebas de liberación.

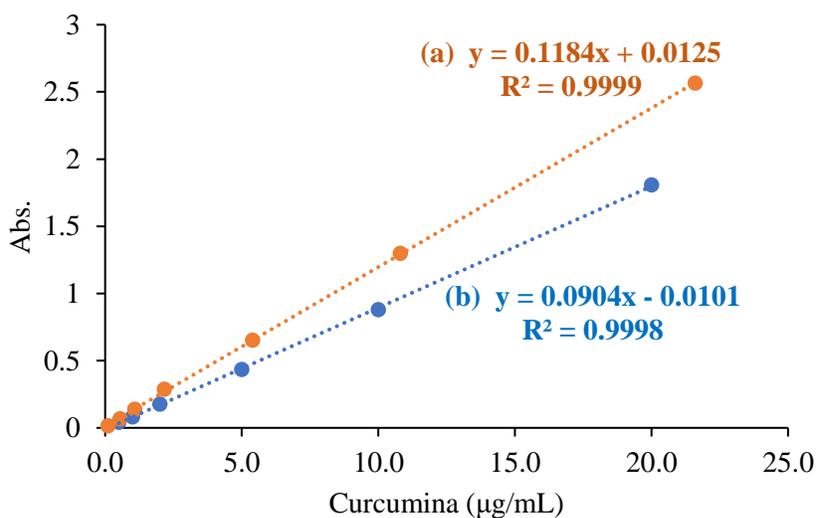


Figura 5.3 Curvas de calibración de curcumina en (a) Etanol/PBS 0.1 M a pH de 7.4 (1/1; v/v) y (b) PBS 0.1 M a pH de 7.4/Tween[®] 80 (3 % p/v).

5.3.2 Determinación de la solubilidad de la curcumina en diferentes medios

Se prepararon disoluciones saturadas con curcumina (1 % p) utilizando como disolventes MMA, MAA y la mezcla de los monómeros en una relación molar de 2/1. Las mezclas se sonicaron durante 5 min con una potencia de 60 W. Durante la sonicación, el vaso de precipitado fue colocado en un baño de agua con hielo para evitar el sobrecalentamiento. Después de la sonicación, los vasos de precipitado se colocaron en un baño con agua a una temperatura controlada de 25 °C y se dejaron con agitación magnética por 48 h. Las dispersiones se centrifugaron durante 1 h a 20,000 rpm a 25 °C. Se tomó una muestra y se midió el contenido de curcumina por espectroscopia de UV-vis. Las disoluciones se volvieron a centrifugar bajo las mismas condiciones y se tomó una muestra al finalizar cada ciclo de centrifugación para determinar el contenido de curcumina. Esto se hizo para asegurar que la concentración de curcumina permaneciera constante y se obtuviera un resultado más preciso de su solubilidad en los monómeros. Siguiendo la misma metodología, se determinó también la solubilidad de la curcumina en agua desionizada, en PBS 0.1 M y en la disolución PBS 0.1 M/Tween® 80 (3 % p/v).

5.3.3 Preparación de las NPPs mediante la técnica de polimerización en miniemulsión

Se llevaron a cabo una serie de polimerizaciones siguiendo la misma metodología, pero variando algunos de los componentes de la formulación con la finalidad de comparar las características de los látex obtenidos y de este modo comprender y fundamentar los resultados obtenidos. Se estudió el efecto de: 1) tipo de monómero (Sty y mezcla de MMA/MAA); 2) tipo de agente hidrófobo (HD y ODA) y 3) tipo de iniciador (BPO y APS). Se seleccionó la formulación que permitió la preparación de NPPs del copolímero acrílico y se llevaron a cabo las polimerizaciones en presencia de curcumina para lograr su encapsulamiento. En este caso se estudió el efecto de la concentración de curcumina en la mezcla de monómeros. De manera adicional, se realizaron dos polimerizaciones con limoneno como agente de transferencia de cadena para intentar reducir el peso molecular

del polímero y estudiar su efecto en el cargado con curcumina. Las formulaciones empleadas en los diferentes experimentos se concentran en la **Tabla 5.1**.

Tabla 5.1 Formulaciones empleadas en la preparación de las NPPs.

Código*	SHB	SHA	SOB	SOA	MHA	MOB	MOA	C1	C2	C3	C5	ML	MLC	
Componente														
								(C0)						
<i>Solución acuosa</i>														
Agua (g)	88.0	85.0	88.0	85.0	85.0	88.0	85.0	85.0	85.0	85.0	85.0	85.0	85.0	
SDS (g)	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	
<i>Solución oleosa</i>														
MMA (g)	—	—	—	—	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	
MAA (g)	—	—	—	—	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	
Sty (g)	10.0	10.0	10.0	10.0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
BPO (g)	0.1	—	0.1	—	—	0.1	—	—	—	—	—	—	—	
ODA (g)	—	—	0.4	0.4	—	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	
HD (g)	0.4	0.4	—	—	0.4	—	—	—	—	—	—	—	—	
Limoneno (g)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.5	0.5	
Curcumina (g)	—	—	—	—	—	—	—	0.1	0.2	0.3	0.5	-	0.1	
<i>Solución APS</i>														
Agua (g)	—	3.0	—	3.0	3.0	—	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	
APS (g)	—	0.1	—	0.1	0.1	—	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	

*Los códigos están definidos de la siguiente manera:

SHB: polimerización del Sty, con HD y BPO.

SHA: polimerización del Sty, con HD y APS.

SOB: polimerización del Sty, con ODA y BPO.

SOA: polimerización del Sty, con ODA y APS.

MHA: copolimerización de MMA/MAA 2/1 mol, con HD y APS.

MOB: copolimerización de MMA/MAA 2/1 mol, con ODA y BPO.

MOA/C0: copolimerización de MMA/MAA 2/1 mol, con ODA y APS.

C1: copolimerización de MMA/MAA 2/1 mol, con ODA, APS y 1 % de curcumina.

C2: copolimerización de MMA/MAA 2/1 mol, con ODA, APS y 2 % de curcumina.

C3: copolimerización de MMA/MAA 2/1 mol, con ODA, APS y 3 % de curcumina.

C5: copolimerización de MMA/MAA 2/1 mol, con ODA, APS y 5 % de curcumina.

ML: copolimerización de MMA/MAA 2/1 mol, con ODA, APS y 1 % de limoneno.

MLC: copolimerización de MMA/MAA 2/1 mol, con ODA, APS, 1 % de limoneno y 1 % de curcumina.

Para preparar la solución acuosa se pesaron, en un vaso de precipitado, 0.4 g de tensoactivo SDS y 88.0 g de agua. La mezcla se agitó suavemente hasta lograr la disolución total del SDS. En el caso de las polimerizaciones iniciadas con APS, la solución acuosa se preparó utilizando 85.0 g de agua; los 3.0 g de agua restantes se utilizaron para preparar una solución acuosa con 0.1 g de APS. Para preparar la solución oleosa se disolvieron 0.4 g de agente hidrófobo (HD u ODA) y 0.1 g de BPO, cuando se utilizó este tipo de iniciador, en

10.0 g de monómero (Sty o MMA/MAA en una relación 2/1 mol/mol). Para el caso de las miniemulsiones que se prepararon con curcumina, se pesó en un vaso de precipitado la cantidad suficiente para lograr la concentración deseada (1, 2, 3 y 5 % p respecto a los monómeros) y se dispersó en la mezcla de monómeros utilizando sonicación (60 W durante 2 min, con el vaso de precipitado en un baño de agua con hielo), después de lo cual se agregó y disolvió el ODA.

Para formar las miniemulsiones se mezcló la solución oleosa con la solución acuosa y se aplicó ultrasonido a una potencia de 50 W durante 30 min en 2 intervalos de 15 min. Durante la sonicación se sumergió el vaso de precipitado en un baño de agua con hielo, para evitar el calentamiento y la evaporación de los componentes de la mezcla. La mezcla formada se transfirió a un reactor de vidrio enchaquetado equipado con un sistema de reflujo y agitación mecánica. El sistema utilizado para llevar a cabo las polimerizaciones se muestra en la **Figura 5.4**.

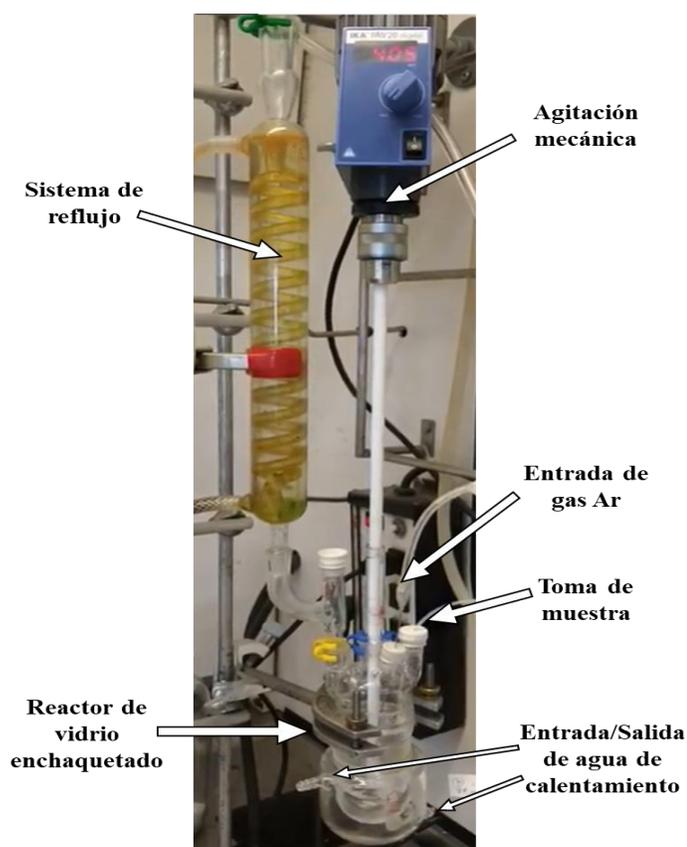


Figura 5.4 Sistema armado para llevar a cabo las reacciones de polimerización.

La mezcla añadida al reactor se purgó durante 1 h, a temperatura ambiente, con Ar (argón) grado UAP (ultra alta pureza) para desplazar el O₂ y evitar el retardamiento o inhibición de la reacción de polimerización. Pasado este tiempo, la mezcla de polimerización se llevó a la temperatura de reacción (70 °C) y se mantuvo una agitación constante de 650 rpm. Se consideró como tiempo inicial de la polimerización el momento en que se inició el calentamiento, ya que la temperatura de 70 °C se alcanzó en un tiempo muy corto de aproximadamente 5 min. Para el caso de las polimerizaciones iniciadas con APS, la solución acuosa se agregó a los 3 min de iniciado el calentamiento y se consideró como el inicio de la reacción de polimerización. Se tomaron muestras de 1 mL cada 5 minutos dentro de los primeros 30 minutos de reacción, y después cada 30 minutos hasta finalizar la polimerización, esto para determinar la conversión del monómero por gravimetría y el diámetro de partícula, D_p, por dispersión de luz dinámica (DLS). La concentración de curcumina cargada en los látex se determinó por espectroscopia de UV-vis. Para determinar la estabilidad coloidal de los látex se dio seguimiento al D_p durante varias semanas. También se siguió la concentración de curcumina en el látex para determinar la estabilidad química de esta molécula.

5.3.4 Diálisis de los látex

El surfactante de los látex que fueron utilizados para las pruebas de liberación fue eliminado mediante un proceso de diálisis. Para ello se utilizó una membrana de celulosa para diálisis (MWCO 12400) la cual fue sumergida en agua desionizada por al menos 24 h, para hidratarla y eliminar impurezas, antes de su uso. Se prepararon dispersiones de NPPs diluyendo los látex al 1 % en peso. Se llenaron las membranas con estas dispersiones y se cerraron por ambos extremos para formar unas “bolsas” que se introdujeron en una cubeta con 20 L de agua desionizada bajo agitación magnética y a 35 °C para favorecer la eliminación del tensoactivo. Cada 24h se tomó lectura de la conductividad eléctrica del agua de diálisis y se reemplazó con agua desionizada pura hasta que la conductividad eléctrica del agua de diálisis alcanzó un valor constante de 0.3 μS (aproximadamente 7 días).

5.3.5 Cargado de NPPs con curcumina por un método de difusión-fisorción

Para este método de cargado, se siguió la metodología previamente realizada en el grupo de trabajo.⁵⁶ El látex C0, diluido al 1 % en peso y dializado con la metodología descrita anteriormente, se cargó con curcumina con el propósito de obtener NPPs donde la curcumina se encontrase adsorbida en la superficie. Para esto, se añadieron 10 mL del látex a un vial que contenía 30 mL de una solución de curcumina en DCM al 0.1 % en peso. El vial se colocó en un baño de calentamiento a una temperatura controlada de 35 °C y con agitación magnética lenta para promover el burbujeo de la disolución de DCM con curcumina a través del látex. Una vez evaporado el DCM, el látex cargado se filtró y se determinó el D_p y la concentración de curcumina. El cargado se llevó a cabo por un proceso de difusión de las moléculas de curcumina de la fase orgánica a la fase acuosa y su posterior fisorción sobre la superficie de las NPPs presentes en el látex. El sistema se presenta en la **Figura 5.5**.



Figura 5.5 Cargado de NPPs con curcumina por un método de difusión-fisorción.

5.3.6 Pruebas de liberación de curcumina

Dentro de una bolsa, preparada con membrana de celulosa para diálisis (MWCO 12400), se colocaron de 6 a 7 mL de una solución preparada con PBS 1 M y 1 mg de curcumina, la cual estaba en forma libre o cargada en las NPPs (obtenidas mediante polimerización *in situ* o por el método de difusión-fisisorción). La bolsa se colocó dentro de un frasco ámbar, para proteger a la curcumina de la fotodegradación, y se añadieron 50 mL del medio de liberación previamente calentado a 37 °C. Como medio de liberación se probaron dos soluciones; una de PBS 0.1 M y otra de PBS 0.1 M/Tween® 80 (3 % p/v). El frasco se colocó en un baño de calentamiento a una temperatura controlada de 37 °C, bajo agitación magnética de 110 rpm. Se tomaron muestras de 5 mL del medio de liberación, a determinados intervalos de tiempo, y el volumen fue recuperado añadiendo la misma cantidad para mantener los 50 mL de fluido dentro del frasco. La cuantificación de la curcumina liberada se hizo por espectrofotometría de UV-Vis.

5.3.7 Caracterización de materiales obtenidos

5.3.7.1 Diámetro de partícula del látex

El diámetro promedio de las NPPs se determinó por DLS diluyendo 2 gotas de látex en 4 mL de agua desionizada. Cada muestra se analizó a 25 °C y se reporta el promedio de 7 corridas de 40 s.

5.3.7.2 Peso molecular del copolímero

Para la determinación del peso molecular, el copolímero seco se disolvió en una mezcla de THF/metanol (50/50; v/v) y se le añadieron unas gotas de una solución de trimetilsilildiazometano en hexano para metilar las unidades del MAA del copolímero. Se dejó evaporar el disolvente y, una vez seco, el copolímero metilado se disolvió en THF (6 mg/4 mL). Las muestras así preparadas se filtraron con un filtro de teflón de 0.2 µ y se analizaron en un cromatógrafo de permeación en gel cuya calibración se realizó con

estándares de poliestireno (PS), por lo tanto, los pesos moleculares obtenidos están referidos al PS.

5.3.7.3 Composición del copolímero de las NPPs

La composición de los copolímeros, su contenido molar de MMA y MAA, se determinó mediante espectroscopia de resonancia magnética nuclear de protón ($^1\text{H-RMN}$) de 400 MHz. De 15 a 20 mg del copolímero seco se disolvieron en 0.5 mL de DMSO- d_6 y se añadió a un tubo de cuarzo para este tipo de análisis.

5.3.7.4 Propiedades térmicas

Mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC) se analizó la temperatura de transición vítrea (T_g) del copolímero de las NPPs con y sin curcumina. Las muestras se analizaron en un intervalo de temperatura de 25 a 220 °C, a una tasa de calentamiento de 10 °C/min y atmósfera inerte.

5.3.7.5 Análisis mediante espectroscopia infrarroja

Se analizaron los grupos funcionales del copolímero para confirmar su síntesis y su cargado con curcumina. Para este análisis se prepararon pastillas de KBr con el copolímero liofilizado.

6 Resultados y Discusión

6.1 Síntesis de NPPs mediante polimerización en miniemulsión

Se llevó a cabo una serie de polimerizaciones utilizando Sty y HD, ya que se trata del monómero y el agente hidrófobo más estudiados en este tipo de reacciones.²⁹ De este modo comprobar que la metodología empleada funcionaba para una polimerización en miniemulsión. También se estudió el efecto del tipo de iniciador: BPO como iniciador soluble en la fase orgánica y APS como iniciador soluble en la fase acuosa. Posteriormente, se llevaron a cabo las polimerizaciones donde se utilizaron los monómeros acrílicos y el ODA como agente hidrófobo. En la **Figura 6.1** se presentan los resultados obtenidos de la evolución de la conversión de monómeros respecto al tiempo.

En el caso de las polimerizaciones con Sty, a 4 h de reacción, se lograron conversiones superiores al 90 %. Esto se consideró como un indicativo de que la metodología propuesta era la adecuada para llevar a cabo las polimerizaciones. Con respecto al efecto del tipo de agente hidrófobo se observó, para ambos tipos de iniciador, que la tasa de polimerización fue mayor cuando se utilizó ODA. Lo anterior podría explicarse porque la adición del ODA incrementó la concentración de monómero en la formulación y la tasa de polimerización depende en forma directa de la concentración de monómero. También se observó que la tasa de polimerización fue mayor cuando se utilizó el APS, para ambos tipos de agente hidrófobo, lo cual puede atribuirse a que la constante de descomposición del APS es aproximadamente el doble de la correspondiente al BPO.⁵⁷⁻⁵⁸ Una mayor cantidad de radicales activos tiene un efecto directo sobre la tasa de polimerización.¹⁷

Para el caso de las copolimerizaciones de los monómeros acrílicos se observó la misma tendencia en cuanto al efecto del tipo de agente hidrófobo y tipo de iniciador sobre la tasa de polimerización. Por otra parte, el que la tasa de polimerización en las

copolimerizaciones iniciadas con APS fuera mucho mayor puede atribuirse, en principio, a que los valores de k_p de estos monómeros son mucho mayores que el valor de la k_p del Sty.^{14,17}

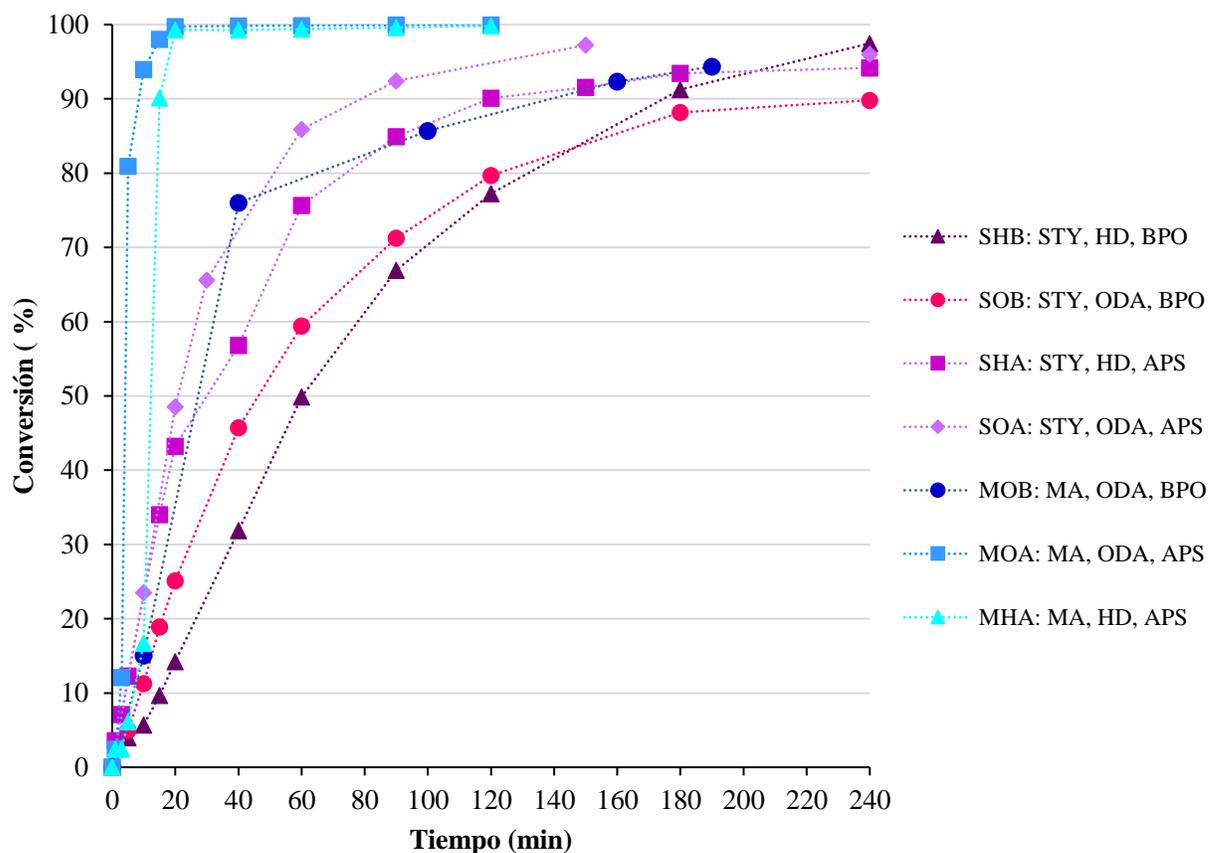


Figura 6.1 Curvas de conversión vs tiempo para la homopolimerización de Sty y copolimerización de MMA con MAA, mediante la técnica de polimerización en miniemulsión.

Una posible explicación a la retardación que se presenta en *MOB* con respecto a *MOA* y *MHA*, además del hecho de que el valor de k_d del BPO es menor que el del APS, es que la concentración de monómero en las mini-gotas de monómero fue menor debido a la alta solubilidad de los monómeros en el agua.⁵⁹ Por otra parte, ya que los radicales formados permanecieron en las mini-gotas de monómero,⁶⁰ se incrementó la probabilidad de que ocurrieran las reacciones de terminación por recombinación. Resultados similares han sido también reportados por Tsavalas *et al.*⁶¹ en la polimerización del MMA.

En la **Figura 6.2** se aprecia que el D_p mostró un incremento con el aumento de la conversión para el caso de la homopolimerización de Sty, independientemente del tipo de iniciador o del tipo de agente hidrófobo utilizado. Para el caso de la copolimerización de los monómeros acrílicos se observa un comportamiento similar cuando se utilizó BPO como iniciador, sin embargo, el D_p se mantiene aparentemente sin variación cuando se utilizó APS como iniciador.

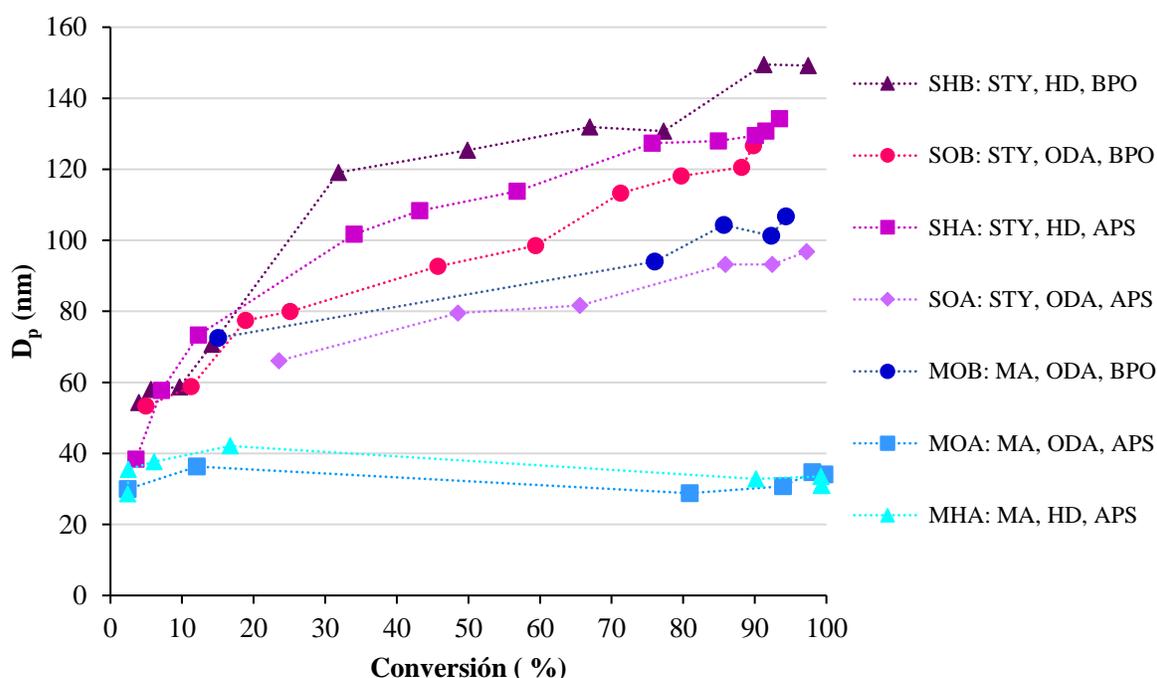


Figura 6.2 Evolución del D_p con el avance de la reacción en la homopolimerización de Sty y copolimerización de MMA con MAA mediante la técnica de polimerización en miniemulsión.

En una polimerización en miniemulsión típica, no se presenta el fenómeno de difusión de monómero a través de la fase acuosa, por lo que se esperara que al final de la reacción se haya formado una partícula por cada mini-gota de monómero.²¹ Si se hace la consideración de que los valores de D_p corresponden únicamente al polímero dentro de las partículas, ya que las muestras de látex analizadas fueron diluidas en un gran volumen de agua y el monómero sin reaccionar salió de las partículas; entonces, la conversión de monómero a polímero con el avance de la reacción explica el crecimiento observado en los

valores de D_p . Por otra parte, el comportamiento donde el valor de D_p permanece constante con el avance de la reacción, puede ser debido a la nucleación de nuevas partículas.

Para comprobar estas suposiciones, se hizo el cálculo del N_p para cada uno de los valores de D_p tomados a diferentes conversiones. Debido a la diferencia de al menos un orden de magnitud en los valores de N_p de las copolimerizaciones donde se utilizó APS como iniciador, impedía analizar con detalle el comportamiento observado para todas las polymerizaciones, por esta razón se prepararon dos diferentes gráficas. En la **Figura 6.3** se presentan los resultados obtenidos para la homopolimerización del Sty y la copolimerización donde se utilizó BPO como agente hidrófobo. En general, se puede considerar que el N_p se mantuvo constante después del 20 % de conversión; lo cual corresponde con lo comúnmente reportado para una polymerización en miniemulsión.

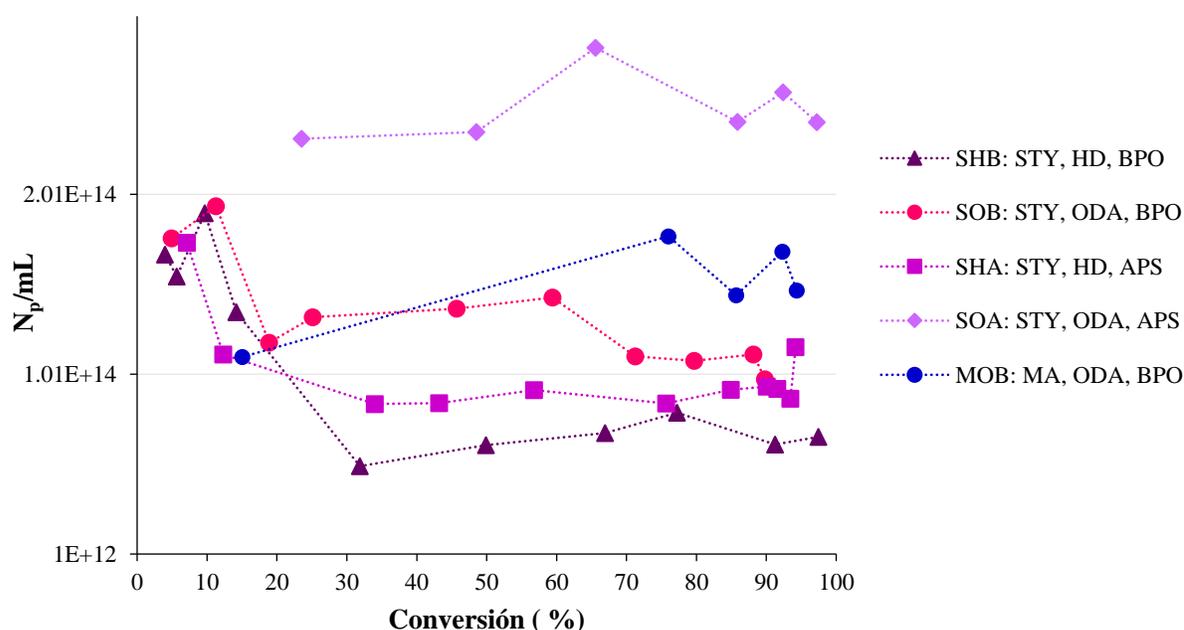


Figura 6.3 Evolución del N_p durante la polimerización del Sty mediante la técnica de polimerización en miniemulsión.

En la **Figura 6.4** se presentan los resultados obtenidos para las copolimerizaciones donde se utilizó APS como iniciador. En estos casos, no fue posible calcular el valor de N_p entre el 20 y 80 % de conversión porque la reacción fue extremadamente rápida y no fue posible la toma de muestras en este periodo. No obstante, el evidente incremento en el valor

de N_p es un indicativo de la nucleación secundaria. Por lo que se asume que el mecanismo de formación de las partículas no corresponde al reportado para una polimerización en miniemulsión.²¹

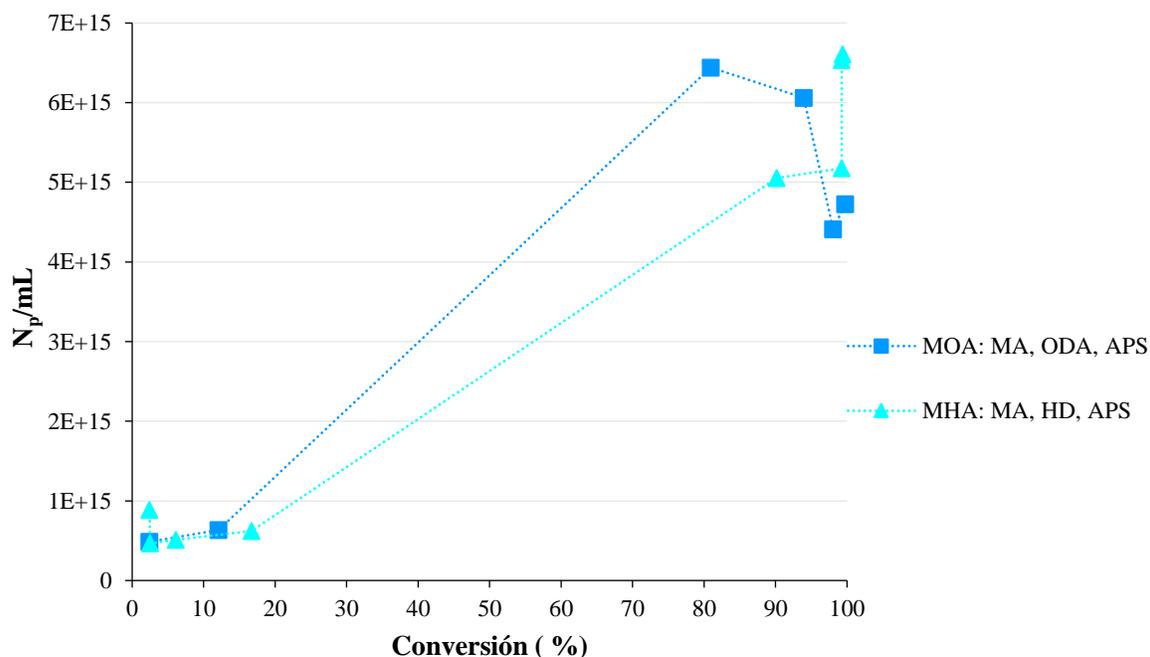


Figura 6.4 Evolución del N_p durante la copolimerización del MMA con MAA, mediante la técnica de polimerización en miniemulsión.

Estos resultados pueden ser considerados para explicar el comportamiento de la tasa de polimerización, ya que depende en forma directa del valor de N_p . De esta manera, se asume que, a mayor número de partículas, N_p , más rápida es la tasa de polimerización.²⁴ De acuerdo con los valores de N_p , la reacción debió ser más rápida en el siguiente orden: *MOA* > *MHA* > *SOA* > *MOB* > *SOB* > *SHA* > *SHB*. Sin embargo, de acuerdo con la **Figura 6.1**, las reacciones fueron más rápidas en el siguiente orden: *MOA* > *MHA* > *SOA* > *SHA* > *MOB* > *SOB* > *SHB*. Con lo cual se puede concluir que, bajo las condiciones estudiadas, la alta solubilidad en agua del iniciador APS en combinación con los monómeros MMA/MAA, que también tienen una alta solubilidad en agua, favorecen la formación de nuevas partículas lo que tiene una relación directa con el aumento de la tasa de polimerización.

Por otra parte, se puede decir que la inestabilidad coloidal de la miniemulsión durante la polimerización se debió a la combinación de monómeros con una alta solubilidad en agua con un iniciador soluble en agua. Es bien sabido que, en la polimerización en emulsión de monómeros polares, se favorece la nucleación homogénea. Debido a que se utilizan iniciadores solubles en la fase acuosa, la formación de los radicales primarios y oligoméricos se da en la misma fase acuosa. Cuando el radical oligomérico alcanza una longitud crítica precipita para dar lugar a la formación de una partícula tomando surfactante del medio para estabilizarse.¹⁴

El propósito en una polimerización en miniemulsión es iniciar la polimerización en cada una de las pequeñas gotas estabilizadas, sin que se produzcan grandes procesos de nucleación secundaria, que generarían nuevas partículas, o procesos de transporte de masa.²¹ En la polimerización en miniemulsión es posible evitar el fenómeno de maduración de Ostwald aún con el uso de un iniciador soluble en agua cuando se trata de un monómero no polar con baja solubilidad en agua, tal como se observó en el caso de la reacción *SHA*. Ahora bien, esto también es posible cuando se utilizan monómeros con mayor solubilidad en agua siempre que se utilice un iniciador hidrófobo, tal como se observó en el caso de la reacción *MOB*.

Uno de los comportamientos característicos de una miniemulsión con gotas eficientemente nucleadas y estabilizadas es la poca o nula variación del N_p en el transcurso de la reacción,⁶² así que es válido decir que las reacciones *MOA* y *MHA* no presentaron el comportamiento típico de una polimerización en miniemulsión, ya que ocurrieron procesos de nucleación secundaria. La nucleación homogénea para dar lugar a la formación de partículas secundarias fue favorecida porque tanto el MMA y el MAA tienen una solubilidad en agua relativamente alta (15 y 97 g/L, respectivamente)⁵⁹ y los radicales libres se generaron en la fase acuosa. Estos resultados contrastan con los observados durante la polimerización del Sty que es mucho menos soluble en agua (0.3 g/L).⁵⁹

Ahora bien, lo que permitió la nucleación homogénea en la copolimerización del sistema MMA/MAA fue la diferencia de solubilidad de estos monómeros en el agua. La homopolimerización del MAA en la fase acuosa hubiera conducido a la obtención de un

polímero soluble en agua (PMAA), el cual no precipitaría para dar lugar a la formación de una partícula. La adición del MMA a las cadenas poliméricas es la que proporciona un cierto nivel de hidrofobicidad que conduce a la precipitación y formación de nuevas partículas. Tanto Udagama *et al.*⁶³ como Lin *et al.*⁶⁴ soportan esta suposición, ya que encontraron que en la polimerización en miniemulsión de monómeros acrílicos la nucleación homogénea es más significativa en sistemas con el MMA y concluyen que esta nucleación puede ser limitada más no eliminada.

Los resultados presentados anteriormente son similares a los reportados por Peixoto *et al.*,⁶⁵ ellos también realizaron la síntesis del P(MMA-*co*-MAA) mediante polimerización en miniemulsión reportando una mayor conversión cuando usaron KPS en lugar de BPO, 93.3 % y 37.7 %, respectivamente. Cuando usaron BPO no detectaron nucleación secundaria, pero notaron una disminución de la estabilidad de la miniemulsión y obtuvieron un D_p final de 569 nm. Con KPS lograron tamaños de partícula más pequeños (172 nm), pero con presencia de nucleación secundaria.

En este punto, se determinó que la formulación de la reacción *MOB*, permitiría obtener mejores resultados en la encapsulación de curcumina, ya que no se observó el problema de nucleación secundaria y fue posible sustituir al HD por ODA. No obstante, las pruebas de polimerizaciones que se llevaron a cabo en miniemulsiones donde se utilizó al BPO como iniciador y en presencia de curcumina estuvieron completamente inhibidas, ya que no se registró un aumento en el contenido de sólidos desde el inicio hasta el final del tiempo de reacción (2 h). Se llegó a la conclusión de que el proceso de dispersión de la curcumina en la mezcla de monómeros, con la ayuda de energía de sonicación, afectaba la eficiencia del BPO. Se hicieron intentos para dispersar primero la curcumina y disolver después al iniciador, pero no se obtuvieron buenos resultados, por lo que se decidió que esta formulación no era la apropiada para encapsular a la curcumina. Se llevaron a cabo pruebas preliminares de polimerización utilizando al APS como iniciador y se obtuvieron los látex con buenos resultados por lo que se decidió continuar con la formulación de la reacción *MOA*.

6.1.1 Análisis de la composición del copolímero P(MMA-co-MAA) mediante RMN de ^1H

Debido a que las condiciones mediante las cuales se obtuvo el copolímero *MOA* fueron elegidas para preparar las NPPs cargadas, se seleccionó a este copolímero para determinar la variación en la composición con el avance de la polimerización. La composición molar del copolímero *MOA* se determinó a partir de su espectro de RMN de ^1H en DMSO-d_6 (**Figura 6.5**). Las composiciones de las muestras de P(MMA-co-MAA) tomadas a diferentes porcentajes de conversión se calcularon examinando las relaciones relativas de las intensidades de las señales correspondientes al hidrógeno ácido del grupo -COOH del MAA en un desplazamiento químico de 12.10 ppm y la del metilo del grupo éster -COOCH₃ del MMA en 3.55 ppm.

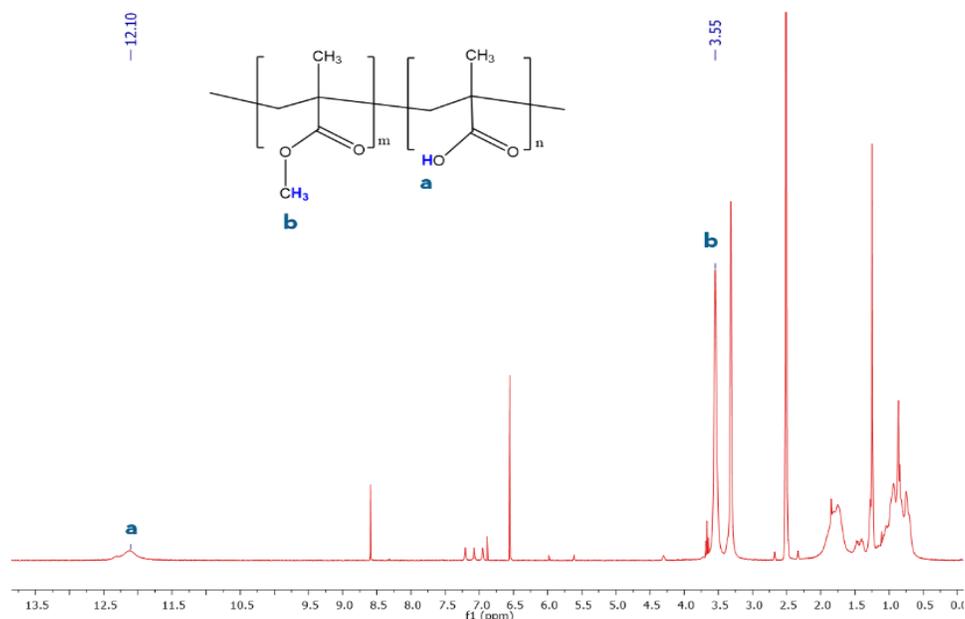


Figura 6.5. Espectro de RMN ^1H del copolímero P(MMA-co-MAA).

En la **Tabla 6.1** se presenta la variación en la composición del copolímero con el incremento en la conversión. De acuerdo con estos resultados, se puede notar que a bajas conversiones la composición del copolímero es rica en el monómero más reactivo y que, al final de la polimerización la composición del copolímero corresponde a la relación de la

mezcla de monómeros con la cual se preparó la miniemulsión (MMA/MAA: 66/33 % mol), lo cual era de esperarse porque se logró una alta conversión de la mezcla de monómeros.

Tabla 6.1. Variación en la composición del copolímero a diferentes conversiones de MOA

Conversión (% p)	MMA (% mol)	MAA (% mol)
12	71	29
29	70	30
81	69	31
94	69	31
99	68	32

Durante una copolimerización por radicales libres, la composición de las cadenas poliméricas dependerá de la reactividad relativa de los monómeros y de su concentración.¹⁴ Al estar en mayor concentración, el MMA tiene preferencia para adicionarse a las cadenas poliméricas al inicio de la polimerización. La relación final entre las unidades monoméricas MMA/MAA es de 2.05/0.95 mol/mol, lo que es muy cercano a la composición del copolímero comercial ES100, es decir 2:1.

Los resultados de RMN de ¹H del MOA también se utilizaron para determinar la presencia del ODA en el copolímero. En la **Figura 6.6** se muestra el espectro donde se identifica la señal que se utilizó para determinar la composición del polímero.

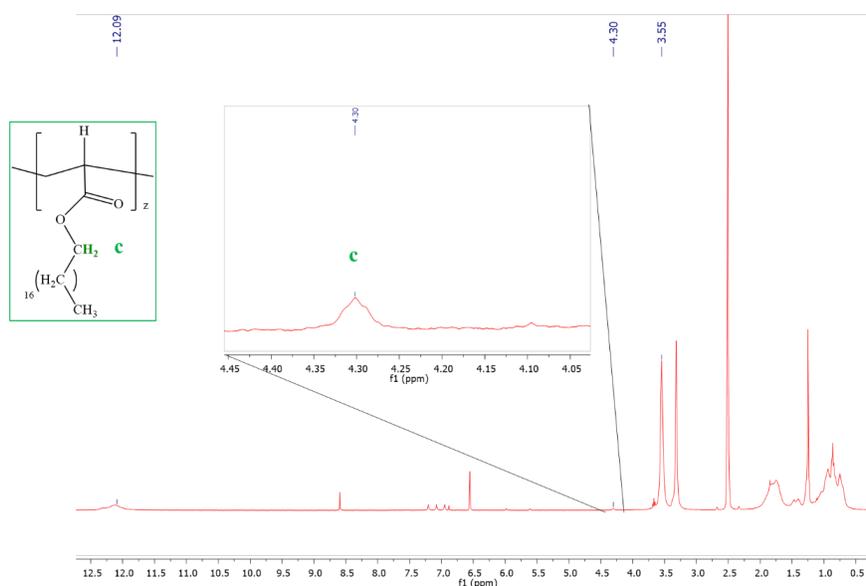


Figura 6.6 Espectro de RMN ¹H del copolímero P(MMA-*co*-MAA) obtenido cuando se utilizó ODA como agente hidrófobo.

En un desplazamiento químico de 4.33 ppm se observó un pico ancho que corresponde al $-O-CH_2-$ del ODA.⁶⁶ Al considerar el valor de integración de esta señal se calculó que la relación molar final de MMA/MAA/ODA es de 67.5/31.4/1.1 (% molar), lo cual es cercano a la relación de alimentación (66/33/1). Aunque esto sugiere que efectivamente el ODA reacciona y forma parte del copolímero, en la literatura consultada se encontró que los agentes hidrófobos reactivos no se consideran como unidades monoméricas en la composición del polímero obtenido por miniemulsión.^{27, 28, 64, 67}

6.1.2 Análisis térmico del copolímero P(MMA-co-MAA) mediante DSC

Siguiendo con la caracterización del copolímero resultante de *MOA* se utilizó la técnica de DSC para determinar el valor de la T_g del copolímero y descartar la presencia de homopolímeros de PMMA y/o PMAA. En la **Figura 6.7** se presenta el termograma del copolímero P(MMA-co-MAA) en donde se observa una sola T_g en 144.20 °C. Este resultado se determinó del termograma durante un segundo calentamiento. La ausencia de endotermas adicionales indican que no hay presencia de homopolímeros en el producto final. También nos indica que la estructura del copolímero obtenido fue completamente al azar.

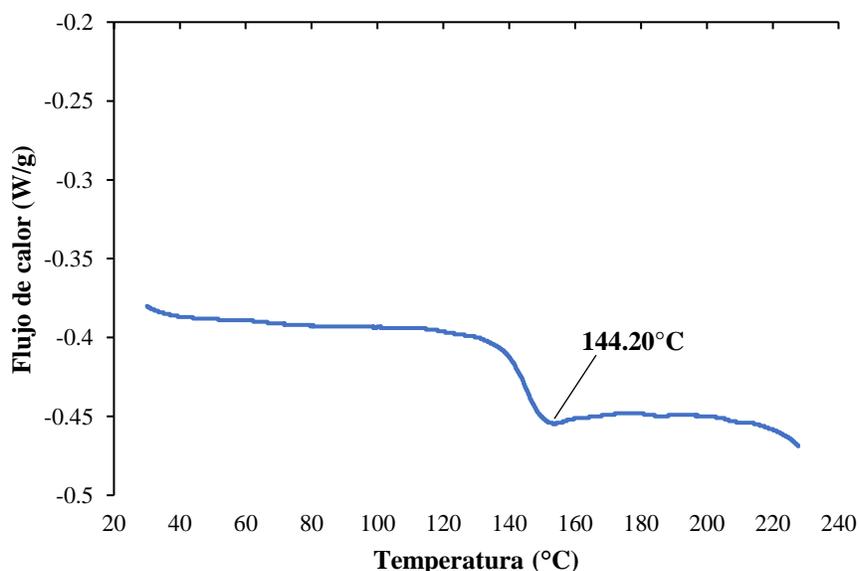


Figura 6.7 Termograma de DSC del P(MMA-co-MAA) de experimento *MOA*.

6.1.3 Análisis del copolímero P(MMA-co-MAA) mediante IR-KBr

La espectroscopia infrarroja provee información sobre los grupos funcionales presentes en un compuesto. En el espectro de IR del copolímero P(MMA-co-MAA) correspondiente al experimento *MOA* (Figura 6.8) se observa una amplia banda de absorción de 3600-3200 cm^{-1} debido al grupo -OH del MAA.

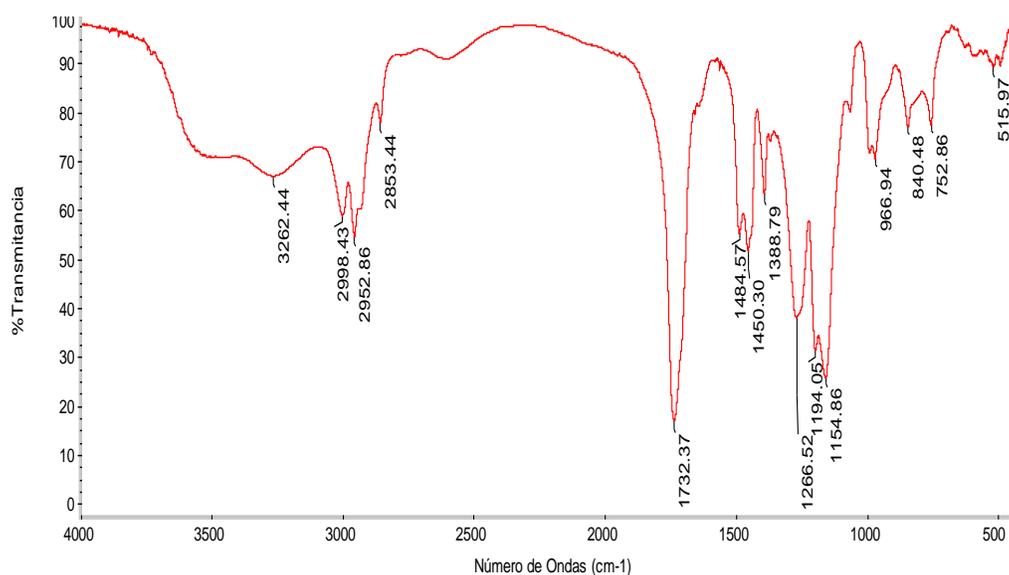


Figura 6.8 Espectro IR-KBr del copolímero P(MMA-co-MAA)

Los picos de absorción en 2998 cm^{-1} y 2952 cm^{-1} pueden ser atribuidos a la vibración de estiramiento de los grupos metilo - CH_3 y metileno - CH_2 - presentes en la cadena polimérica. El pico en 1732 cm^{-1} describe la vibración de estiramiento del enlace $\text{C}=\text{O}$, lo que confirma la existencia de los grupos carbonilo de las unidades monoméricas MMA y MAA. La banda en 1450 cm^{-1} se debe al doblamiento del - CH_3 mientras que la señal del enlace $\text{C}-\text{O}$ del éster se observa en 1154 cm^{-1} .⁶⁸ Esta técnica de caracterización, de fácil acceso y de rápida ejecución, es útil para la determinación de grupos funcionales por lo que es muy utilizada para evaluar sistemas poliméricos cargados con principios activos. Por lo pronto en esta sección se discutieron las bandas de los grupos presentes en el copolímero P(MMA-co-MAA), y más adelante serán discutidos los espectros obtenidos las NPPs cargadas con curcumina.

6.2 Peso molecular del copolímero P(MMA-co-MAA)

La **Figura 6.9** muestra la distribución de peso molecular del copolímero *MOA*. Del mismo modo se presenta la distribución cuando se utilizó limoneno como agente de transferencia en la reacción *ML*.

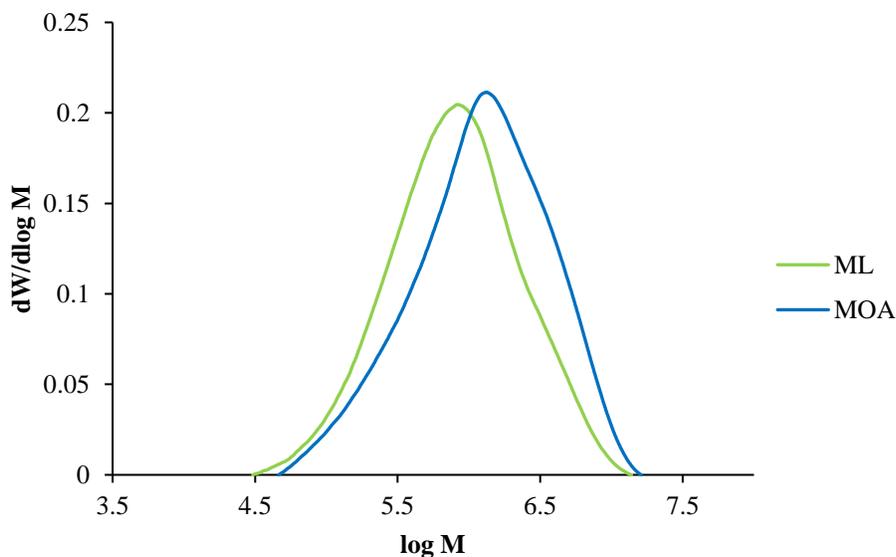


Figura 6.9 Distribuciones de peso molecular del copolímero P(MMA-co-MAA) para ML y MOA

Los pesos moleculares obtenidos para el experimento *MOA* fueron: M_n 650,100 g/mol y M_w 2,006,000 g/mol con una distribución monomodal y una polidispersidad M_w/M_n de 3.0. Comparado con el copolímero comercial ES100, el cual tiene valores de M_n y M_w de 24,000 g/mol y 40,000 g/mol, respectivamente,⁶⁹ es evidente que el copolímero preparado en este trabajo tiene un peso molecular considerablemente mayor debido a la técnica de polimerización empleada.

Se decidió llevar a cabo una polimerización en presencia de limoneno (1 % en peso respecto a los monómeros) del cual se sabe que actúa como agente de transferencia de cadena en la polimerización de monómeros acrílicos.⁷⁰ A pesar de que el limoneno redujo el peso molecular a valores de M_n 458,100 g/mol, M_w 1,316,000 g/mol y M_w/M_n de 2.8, estos siguen siendo muy altos en comparación con los del compuesto de referencia (ES100). Una

posible explicación al efecto del limoneno sobre el peso molecular se ofrece en el punto 6.4.

Llevar a cabo un estudio donde se evaluara el efecto de agentes de transferencia de cadena para el control del peso molecular no estaba considerado en el alcance de la presente investigación, por lo que se decidió proseguir con las reacciones de copolimerización en presencia de curcumina.

6.3 Solubilidad de la curcumina en los monómeros MMA, MAA y en agua

Cuando el material que se desea encapsular mediante la técnica de polimerización en miniemulsión es un compuesto soluble en la fase dispersa, la encapsulación es más eficiente porque dicho compuesto simplemente se disuelve en los monómeros antes de iniciar la polimerización y queda atrapado en las gotas de monómero de la miniemulsión. De acuerdo con lo establecido para el mecanismo mediante el cual ocurre este tipo de polimerizaciones, el material permanecerá atrapado dentro de las NPPs al término de la reacción de polimerización.

Tomando en cuenta lo anterior se determinó la solubilidad de la curcumina en los monómeros utilizados para la preparación de las NPPs. De esta manera, se encontró que la solubilidad de la curcumina en MMA y MAA es de 10.67 g/L (1.13 % en peso) y 3.03 g/L (0.29 % en peso), respectivamente. Asimismo, se determinó que la solubilidad de la curcumina en la mezcla de monómeros, a la relación molar utilizada en la reacción (MMA/MAA = 2:1), es de 9.30 g/L, lo que equivale al 1.00 % en peso. También se determinó que la solubilidad de la curcumina en agua es de 0.8 µg/mL, lo cual es cercano a algunos valores reportados de 0.6 µg/mL⁷¹ y 1.34 µg/mL.⁷² Las soluciones resultantes se muestran en la **Figura 6.10**.



Figura 6.10 Soluciones resultantes de las pruebas de solubilidad

A pesar de que la solubilidad de la curcumina en los diferentes solventes se hizo a 25°C, los valores obtenidos pueden tomarse como referencia para explicar los resultados obtenidos en la eficiencia de encapsulación de la curcumina. Por ejemplo, se podría considerar que la curcumina es suficientemente soluble en los monómeros y suficientemente insoluble en el agua, como para permanecer encapsulada al término de la polimerización *in situ*. Además, la extremadamente baja solubilidad de la curcumina en agua minimizaría su difusión hacia la fase continua durante la polimerización.⁷³

6.4 Síntesis de NPPs en presencia de curcumina

Como se mencionó anteriormente, se seleccionó la formulación *MOA (C0)* para hacer el cargado con curcumina porque la metodología empleada en esta reacción permite la adición del iniciador en el reactor una vez alcanzadas las condiciones de polimerización, evitándose una disminución de la eficiencia de éste durante el proceso de dispersión de la curcumina en la mezcla de monómeros. En la **Figura 6.11** se presenta el efecto de la concentración de curcumina, así como la presencia de limoneno, sobre la conversión del monómero y la tasa de polimerización.

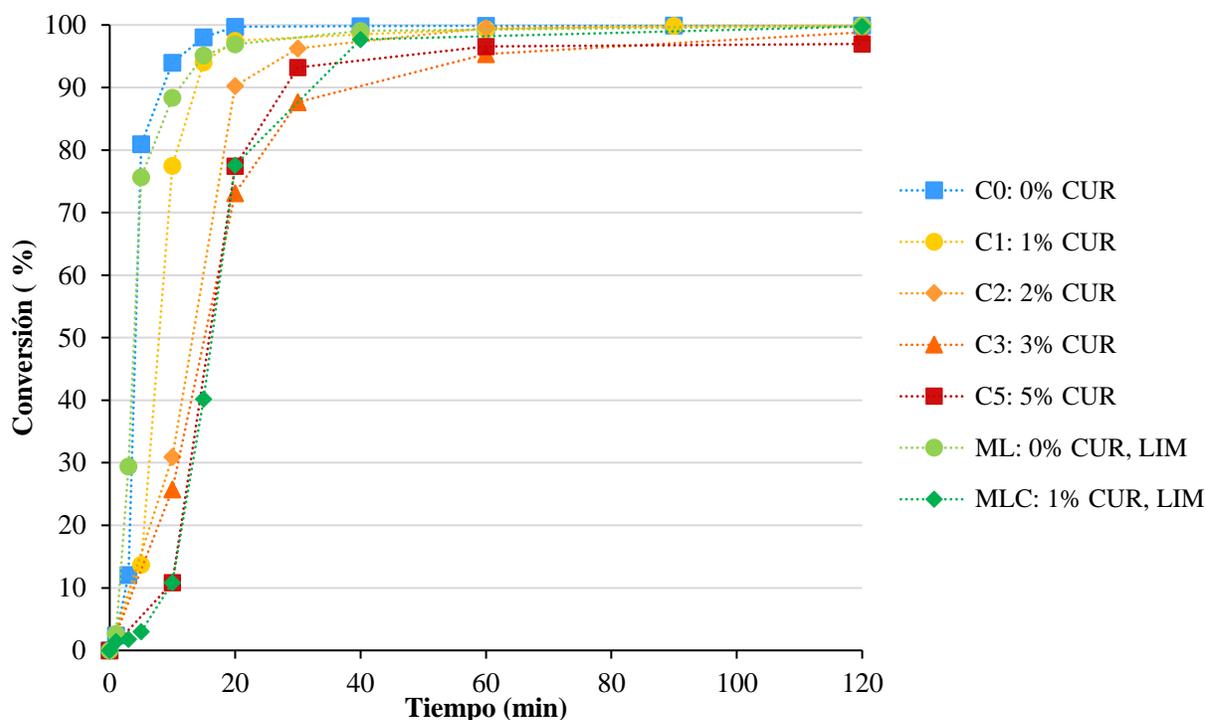


Figura 6.11 Conversión vs. Tiempo de las polimerizaciones de MMA/MAA 2/1 mol/mol con diferentes concentraciones de curcumina y limoneno

En las curvas de conversión vs. tiempo de la **Figura 6.11** se observa un efecto de retardación de la tasa de polimerización con el incremento en la concentración de la curcumina. No obstante, se obtuvieron conversiones cercanas al 100 % para las formulaciones con 1 % de curcumina y conversiones superiores al 95 % en el resto de los casos. La retardación en la polimerización puede adjudicarse a interacciones entre la curcumina y la matriz polimérica que limitan o dificultan el transporte de las unidades de monómero hacia el radical en crecimiento. De acuerdo con Oliveira *et al.*,⁷⁴ la adición de fármacos o principios activos en una polimerización por radicales libres tiene un efecto adverso sobre la tasa de polimerización, ya que observaron una disminución de la conversión de monómero al aumentar el contenido de amoxicilina en la polimerización de PVA/PVAc-co-PMMA. De la misma manera Udagama *et al.*⁶³ reportan la disminución de la tasa de polimerización al aumentar el contenido de compuestos hidrófobos en la síntesis de polímeros acrílicos mediante polimerización en miniemulsión.

Como se mencionó en los resultados de peso molecular del copolímero, un alto valor puede prolongar la disolución del copolímero en el organismo, por consiguiente, se llevó a cabo la polimerización probando un agente de transferencia de cadena para disminuir este peso molecular. Se seleccionó el limoneno ya que, además de ser un terpeno de origen natural, no tóxico que está presente en los aceites esenciales de muchas plantas cítricas, tiene un hidrogeno alílico que está reportado que es muy activo y permite la reacción de transferencia de cadena durante la polimerización de monómeros acrílicos.⁷⁰

Al analizar los resultados en la gráfica de la **Figura 6.11** se observó que, como era de esperarse, el limoneno prácticamente no tuvo efecto en la tasa de polimerización, como podemos observar en *ML* comparado con *C0*. Al añadir curcumina y limoneno en la misma reacción (*MLC*) se notó una disminución importante en la tasa de polimerización; la tasa de polimerización de esta reacción es muy similar a *C5* que contiene el mayor porcentaje de curcumina añadida.

En la **Figura 6.12** se aprecia la reducción del D_p en las reacciones con curcumina y limoneno, la cual se debe a la formación de nuevas partículas. Esto se puede comprobar al analizar la **Figura 6.13**, donde se presenta la variación de los valores de N_p con el avance de la reacción. Es claro que la presencia de curcumina y/o limoneno, incrementaron aún más la nucleación observada por el uso del iniciador soluble en agua en combinación con monómeros polares. Una posible explicación podría ser el que estos compuestos aumentan la hidrofobicidad de la fase orgánica, disminuyendo la fracción de equilibrio de los monómeros acrílicos dentro de las partículas. De ser así, se estaría favoreciendo la nucleación homogénea, lo que a su vez se traduce en la generación de nuevas partículas. Esta reducción en el D_p podría ser conveniente, dado que se sabe que las NPPs con tamaños menores que 50 nm de diámetro, específicamente aquellas de entre 10 a 30 nm, tienen una mayor capacidad para sortear las diversas barreras fisiológicas del cuerpo y atravesar la pared del intestino para entrar al torrente sanguíneo.⁷⁵

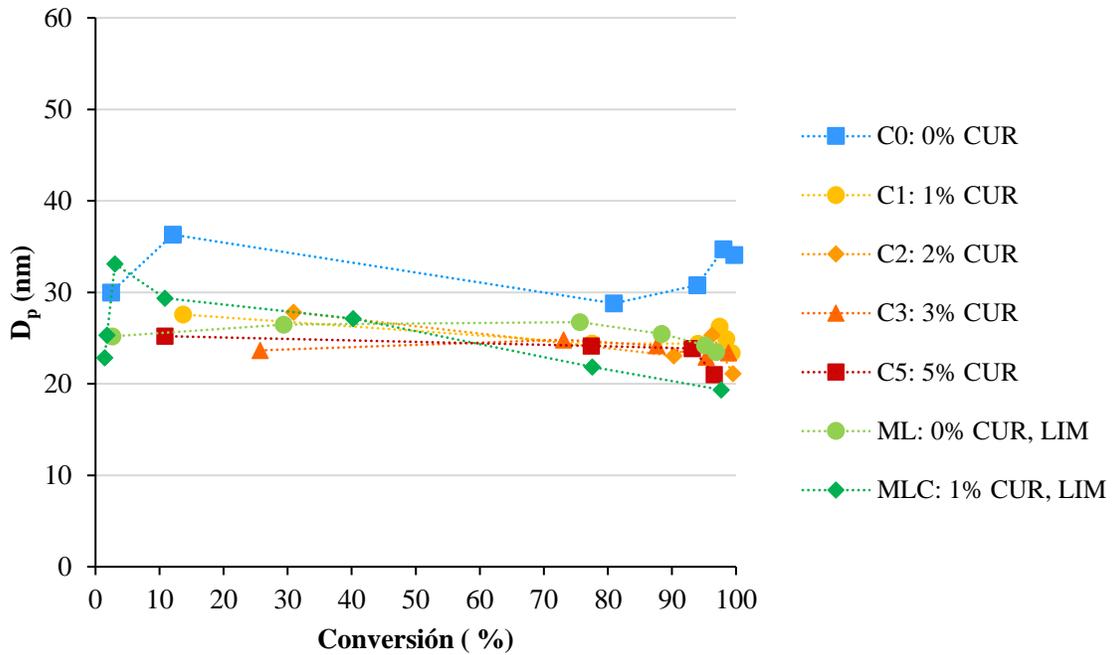


Figura 6.12 Evolución del D_p durante la copolimerización de MMA con MAA en presencia de curcumina y/o limoneno.

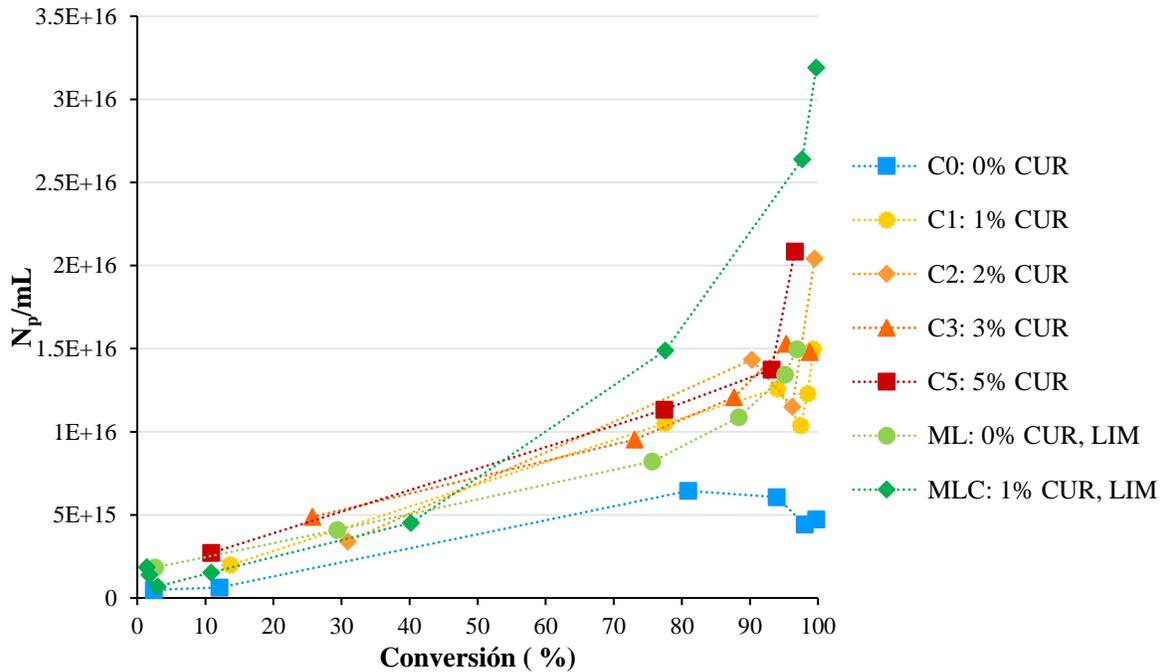


Figura 6.13. Evolución N_p durante la copolimerización de MMA con MAA en presencia de curcumina y/o limoneno.

6.4.1 Análisis del copolímero P(MMA-co-MAA) mediante IR-KBr, RMN de ^1H y DSC para confirmar el cargado de las NPPs con curcumina

En la **Figura 6.14** se compara el espectro IR de curcumina libre con el de las NPPs del copolímero P(MMA-co-MAA), tanto solas como cargadas con curcumina. En el espectro IR de la curcumina se observa la banda del grupo fenólico en 3511 cm^{-1} , que a menudo se utiliza para identificarla. Según Silva *et al.*,⁵³ el hecho de que esta banda no se observe en las NPPs cargadas con curcumina sugiere que ésta se encuentra dentro de las nanopartículas y también lo atribuyen a la interacción entre la curcumina y el copolímero, principalmente por puentes de hidrógeno. Otras señales características de la curcumina, que también están presentes en las NPPs cargadas con ella (C5), son los correspondientes al estiramiento del enlace C=C de la fracción aromática en $1629\text{-}1628\text{ cm}^{-1}$ y en $1602\text{-}1592\text{ cm}^{-1}$, además, en 1429 cm^{-1} se observa la señal correspondiente al doblamiento del enlace C-H. Cabe mencionar que todas estas señales no se observan en el espectro de las NPPs libres de curcumina (MOA).

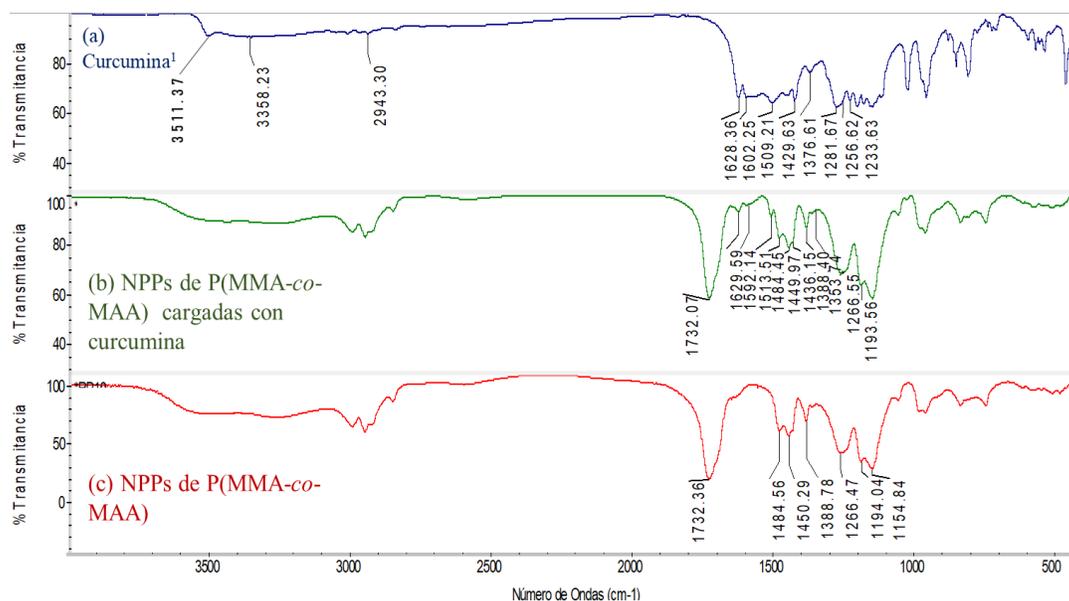


Figura 6.14 Espectro IR-KBr de la curcumina (a) y de las NPPs cargadas (b) y libres (c)

En la **Figura 6.15** se presenta el espectro de RMN de ^1H del látex C3 que corresponde a las NPPs cargadas con 3 % de curcumina. Las señales de referencia que se observaron para confirmar la presencia de la curcumina son: 7.3 ppm para el H del enlace doble $-\text{CH}=\text{CH}-$, 5.93 para el $-\text{CH}_2-$ que se encuentra en medio de los grupos carbonilo, y 3.84 para el H del grupo $-\text{OCH}_3$. Además, se observaron las señales de los hidrógenos aromáticos en el intervalo de 6 a 8 ppm.⁷⁶

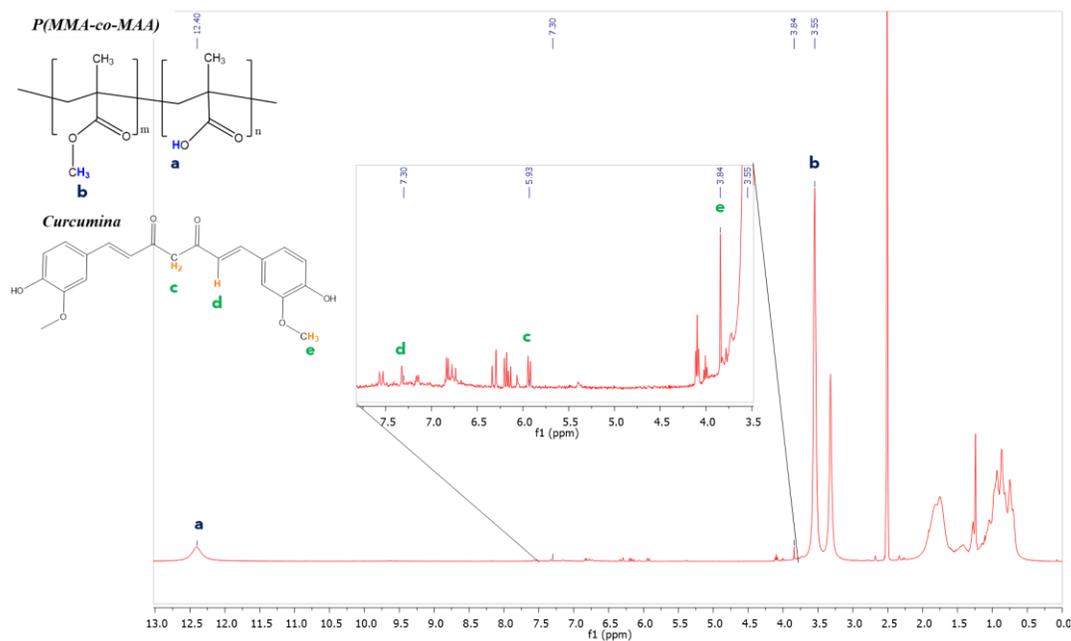


Figura 6.15 Espectro de RMN de ^1H de las NPPs cargadas con curcumina

En lo que se refiere a la evaluación de este sistema por DSC, la curcumina tiene un punto de fusión (T_m) de 183 °C,³⁹ y el hecho de que no se observe esta transición en el termograma de las NPPs cargadas de C5 (**Figura 6.16**) significa que la curcumina se encuentra en estado amorfo y que está efectivamente encapsulada. Este comportamiento sugiere también que se obtiene una disolución sólida que demuestra la fuerte interacción entre la curcumina y el copolímero.⁵⁴

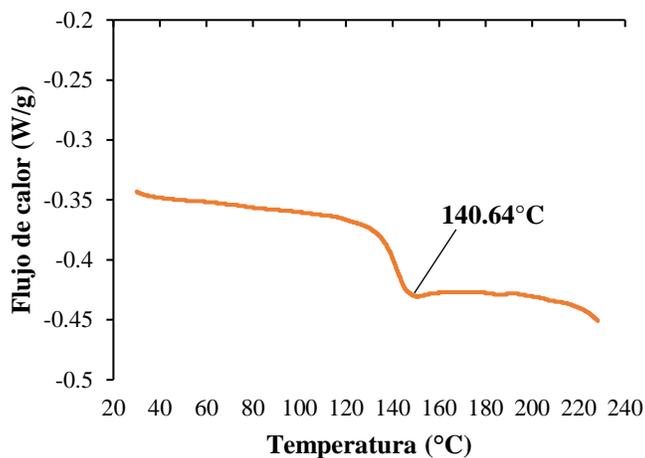
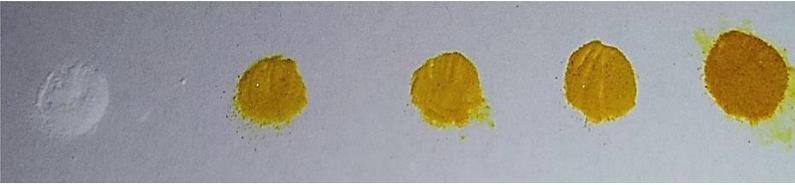


Figura 6.16. Termograma de DSC del P(MMA-co-MAA) cargado con curcumina.

6.5 Eficiencia de encapsulación (EE) y concentración de curcumina en los látex

A pesar de que la copolimerización de MMA/MAA con ODA y APS no tiene las características propias de una miniemulsión, la metodología empleada fue efectiva para la encapsulación de curcumina. De acuerdo con los resultados que se presentan en la **Tabla 6.2** la concentración de curcumina en los látex aumentó con el incremento en la concentración de curcumina en la formulación. No obstante, la eficiencia de encapsulación (EE) va disminuyendo. En el apartado anterior se determinó que la solubilidad de la curcumina en la mezcla de monómeros MMA/MAA es del 1 % en peso lo cual supone que añadir una cantidad mayor se reduciría la EE dado que el exceso de curcumina saldría de fase y no sería encapsulada. Lo anterior se ajusta a los resultados obtenidos; la mayor EE obtenida fue 85.6 % en *C1* y en *C5* se tuvo la menor eficiencia 50.8 %; aunque por otro lado se logró la mayor concentración de curcumina en el látex. La apariencia también es indicativa de la cantidad de curcumina que se logró encapsular, en vista de que la coloración amarilla de las NPPs, tanto dispersas en el látex como liofilizadas, se vuelve más intensa al aumentar su contenido de curcumina.

Tabla 6.2. Concentración y eficiencia de encapsulación de curcumina.

Látex					
NPPs liofilizadas					
	C0	C1	C2	C3	C5
Curcumina añadida (%p)	0	1	2	3	5
Curcumina en látex (g/L)	0	0.87	1.40	2.08	2.60
Eficiencia de encapsulación (%)	0	85.6	67.8	69.7	50.8

No se han encontrado antecedentes en donde se reporte la síntesis de NPPs del copolímero P(MMA-co-MAA) y su cargado con curcumina de forma simultánea. Algunos trabajos que utilizan el mismo copolímero, pero en su forma comercial, incluyen a Silva *et al.*⁵³ que han encapsulado curcumina mediante la técnica de miniemulsificación-evaporación con Eudragit S100 como material encapsulante y diclorometano (DCM) como disolvente, teniendo como resultado partículas con D_p de 232 nm y a EE 34.5 %. De igual manera, Prajakta *et al.*⁵⁴ prepararon NPPs de ES100 cargadas con curcumina, pero mediante la técnica de emulsión-evaporación con acetona como disolvente, y reportaron un tamaño de partícula de 97 nm y EE de 72.8 %. Por otro lado, Xiao *et al.*,⁵⁵ con el mismo método de emulsión-evaporación, fabricaron micropartículas de ES100 cargadas con curcumina con un diámetro de 2.14 μm y EE de 74.3 %.

Las metodologías utilizadas por estos autores involucran varios pasos para la preparación de las NPPs, a diferencia de la metodología utilizada en el presente trabajo, donde se logra la obtención y el cargado de NPPs en una sola etapa, sin el uso de disolventes tóxicos como el DCM. Además, el tamaño de las partículas es mucho más pequeño.

Para comprobar que el copolímero mantenía estable a la curcumina, evitando su sedimentación y/o degradación, se hizo un seguimiento de la concentración de curcumina en el látex durante varias semanas. De acuerdo con los resultados que se presentan en la **Figura 6.17** se puede decir que no se presentó un cambio significativo en la concentración de curcumina durante los primeros 49 días. Un análisis realizado a los 91 días, contados a partir de la preparación del látex, se registró una ligera disminución de la concentración, pero se conserva más del 80 % de la misma. Estos resultados permiten demostrar que la curcumina se mantiene estable, sin sedimentarse, y sin disminuir su concentración en el látex por al menos 7 semanas.

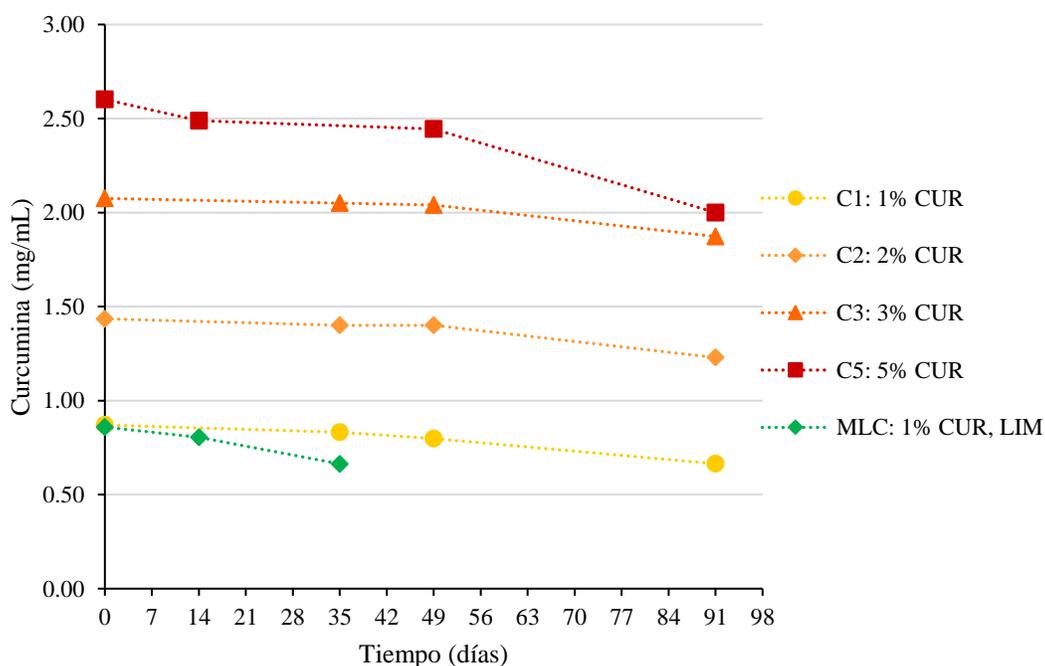


Figura 6.17 Variación de la concentración de curcumina en los látex durante su almacenamiento.

6.6 Estabilidad coloidal de los látex

Con la finalidad de determinar la estabilidad coloidal de los látex, durante su almacenamiento, se dio seguimiento a variaciones en el D_p (**Figura 6.18**). En ninguno de los látex de las copolimerizaciones de los monómeros acrílicos se presentan cambios significativos en el D_p , lo que se traduce en la ausencia de procesos de coalescencia por al menos 91 días.

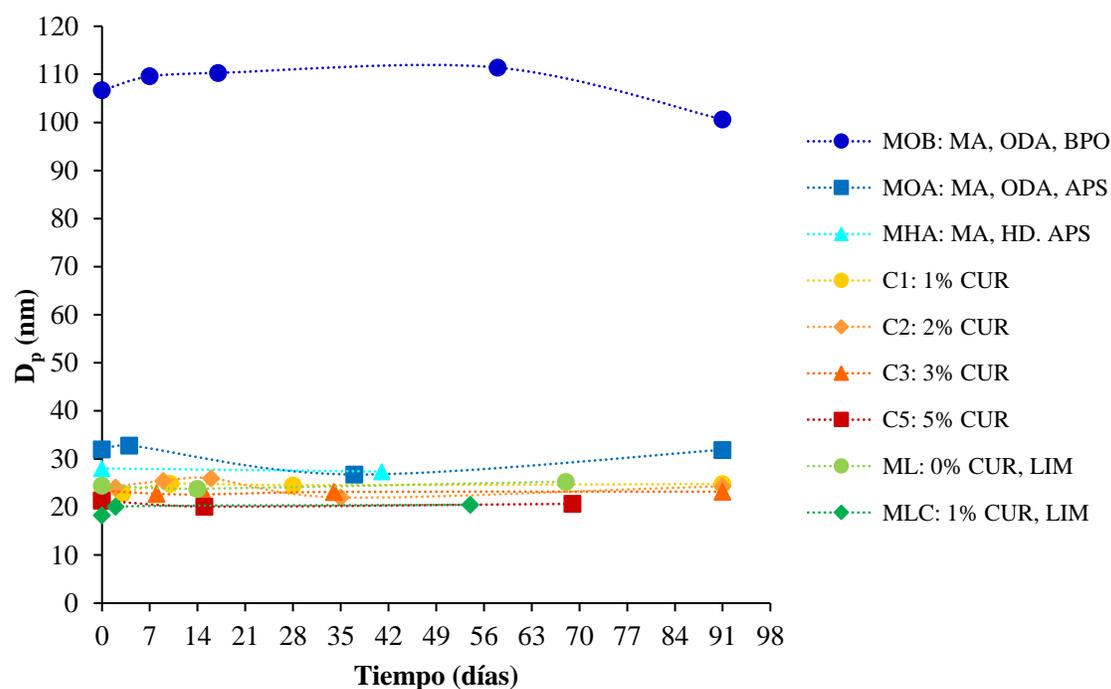


Figura 6.18 Estabilidad coloidal de los látex durante su almacenamiento.

6.7 Pruebas de liberación

Considerando que, no existe una técnica que nos permitiera determinar si la curcumina se encontraba encapsulada en las NPPs, o simplemente adsorbida en la superficie de las mismas, se tomó la decisión de llevar a cabo el cargado de NPPs sin curcumina (obtenidas en la reacción *C0*), utilizando una metodología de difusión-fisisorción desarrollada en una investigación anterior por el mismo grupo de trabajo.

El látex utilizado para el cargado por este método fue diluído al 1 % en peso de NPPs y fue dializado para retirar el surfactante. Al finalizar el cargado se obtuvo un látex con una concentración de curcumina de 0.38 g/L. Si se considera que este látex tiene un contenido de NPPs del 1 % en peso, se puede inferir que tiene aproximadamente 1.5 veces la concentración de curcumina que se logró encapsular en las NPPs del látex C5. En la **Figura 6.19** se presentan los látex utilizados para las pruebas de liberación. Como puede apreciarse, no es posible detectar a simple vista diferencias entre el aspecto físico de las NPPs cargadas mediante polimerización *in situ* (C5) y las cargadas por difusión-fisiorción (C0-DF).

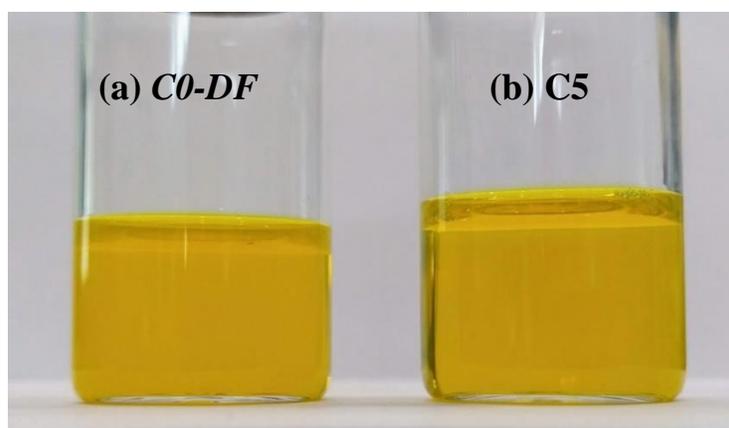


Figura 6.19. Látex cargados con curcumina mediante difusión-fisiorción (a) y polimerización *in situ* (b)

Generalmente, una prueba de liberación se realiza en condiciones controladas que simulen las condiciones internas del organismo humano para así poder correlacionar los resultados con el comportamiento de liberación que se tendría dentro del organismo. Considerando lo anterior, se realizó una primera prueba de liberación con PBS 0.1 M de pH 7.4 como medio de liberación a una temperatura de 37 °C. No obstante, debido a que la solubilidad de la curcumina en PBS es de tan solo 1.21 µg/mL (semejante al valor reportado de 1.60 µg/mL),⁷⁷ no fue posible determinar la curva de liberación porque se observó la inmediata saturación del medio con la curcumina.

Esto puede observarse en los perfiles de liberación que se presentan en la **Figura 6.20**, donde los puntos de inflexión representan el momento en que el medio de liberación

alcanzó la concentración de saturación de $\sim 1.2 \mu\text{g/mL}$. A partir de este punto, la concentración disminuye por la toma de una muestra, pero se vuelve a saturar. Al ser casi insoluble en PBS, no se detectó curcumina liberada en su forma libre. Se pudo haber aumentado el volumen del medio de liberación para así evitar la saturación, no obstante, la concentración de la curcumina liberada sería tan pequeña que se dificultaría su análisis mediante espectroscopia de UV-vis.

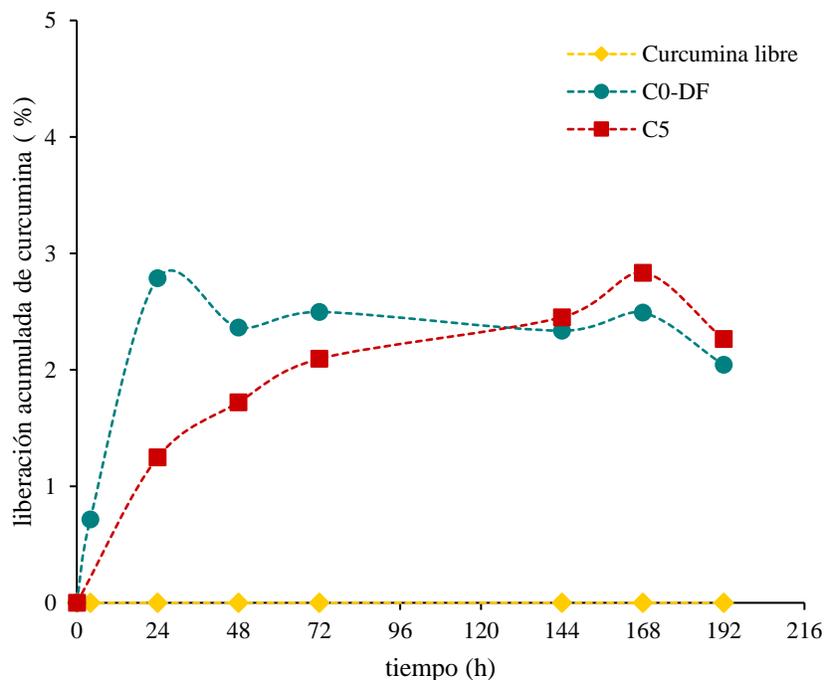


Figura 6.20. Perfiles de liberación de la curcumina en PBS 0.1 M

A pesar de la importancia de los estudios de liberación *in vitro*, de acuerdo con Weng *et al.*⁷⁸ no existe alguna norma regulada para este tipo de pruebas en los sistemas de administración de fármacos basados en NPPs. Por esta razón, diversos autores hacen adecuaciones al medio de liberación para favorecer la solubilidad del principio activo. Por ejemplo, Umerska *et al.*⁷⁹, Manzanares *et al.*⁸⁰ y Mutalik *et al.*⁷⁷ han agregado Tween 80 al PBS en una concentración de 0.1, 0.5 y 3.0 % p/v, respectivamente. Analizando lo anterior, se decidió utilizar la disolución de PBS 0.1 M/Tween 80 (3 % p/v) como medio de liberación.

Las curvas de liberación resultantes se presentan en la **Figura 6.21**. Se encontró que la solubilidad de la curcumina en la disolución de PBS 0.1 M/Tween 80 (3 % p/v) es 1275.7 $\mu\text{g/mL}$, lo cual equivale ≈ 1000 veces su solubilidad en PBS sin tensoactivo. Con el uso del tensoactivo se logró llevar a cabo las pruebas de liberación sin que se presentara el problema de saturación del medio.

Al igual que reportaron Manzanares *et al.*,⁸⁰ se registró una cantidad liberada de curcumina no cargada en NPPs de tan solo el 4.3 % en los 10 días que duró la prueba. En contraste, en un lapso de 72 h se logró la liberación del 95 % de la curcumina cargada en las NPPs por el método de difusión-fisorción y del 55 % en las NPPs cargadas mediante polimerización *in situ*. Estos resultados son sumamente prometedores para una posible aplicación de estas NPPs como sistemas de liberación controlada de fármacos.

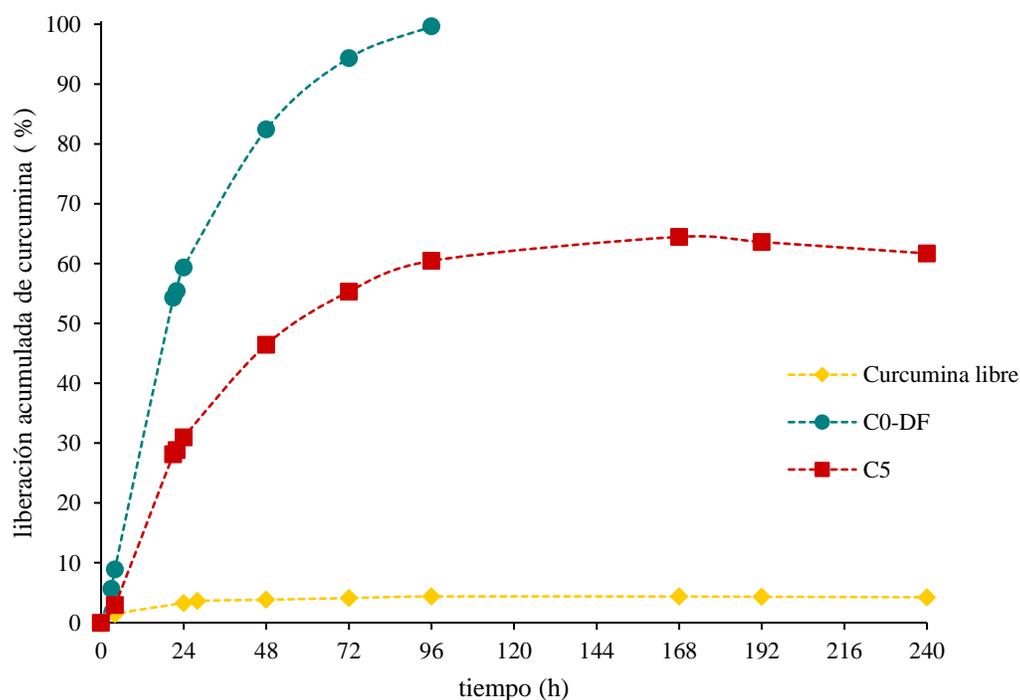


Figura 6.21 Perfiles de liberación de la curcumina en PBS 0.1 M/Tween 80 (3 % p/v).

Cuando se utiliza la técnica de cargado por polimerización *in situ* se espera que la curcumina se encuentre encapsulada dentro de las NPPs mientras que por el método de difusión-fisorción se supondría que se encuentre adsorbida en la superficie de las NPPs, tal como se muestra en la **Figura 6.22**. Los resultados de liberación sugieren que esta

suposición puede ser verdadera. En *C0-DF* la liberación es completa y rápida porque la curcumina se encuentra en la superficie de las NPPs y no hay una interacción muy fuerte con el copolímero. En cambio, en *C5* la liberación es más lenta porque la curcumina tiene que difundirse a través de la matriz polimérica, y no es completa porque hay curcumina que está interaccionando tan fuertemente con el copolímero en el interior de las NPPs que no permite su liberación.

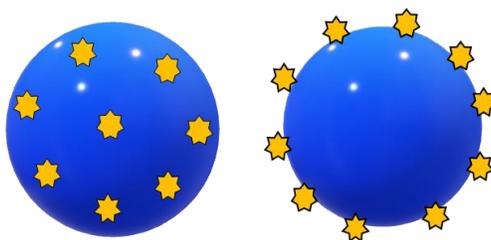


Figura 6.22 Representación de una NPP cargada por polimerización *in situ* (izquierda) y por difusión-fisisorción (derecha)

6.7.1 Cinética de liberación

Los modelos cinéticos pueden ser utilizados para inferir el (los) mecanismo(s) por el cual se lleva a cabo la liberación de un fármaco o principio activo. Existe un amplio número de modelos de los cuales se seleccionaron cuatro: orden cero, primer orden, Higuchi y Korsmeyer-Peppas y se graficaron como se muestra en la **Figura 6.23**.

En la **Tabla 6.3** se condensan los resultados de los parámetros calculados para cada modelo cinético. El valor del coeficiente de correlación (R^2) es el que nos permite establecer el modelo que mejor se ajusta a la cinética de liberación, entre más cercano sea a 1 mayor es la adecuación al modelo. En este sentido, se podría decir que el modelo de Korsmeyer-Peppas es el que mejor se ajusta para la liberación de la curcumina en las NPPs cargadas por los dos métodos.

Tabla 6.3 Constantes de tasa de liberación y coeficientes de correlación de los diferentes modelos cinéticos

Sistema	Orden cero		Primer orden		Higuchi		Korsmeyer-Peppas		
	R ²	k ₀ (% h ⁻¹)	R ²	k ₁ (h ⁻¹)	R ²	k _H (% h ^{-0.5})	R ²	k (% h ⁻ⁿ)	n
C0-DF	0.8326	0.017	0.9407	0.0009	0.9609	1.502	0.9979	0.018	1.116
C5	0.6651	0.003	0.7462	0.00006	0.8705	0.571	0.9341	0.013	1.036

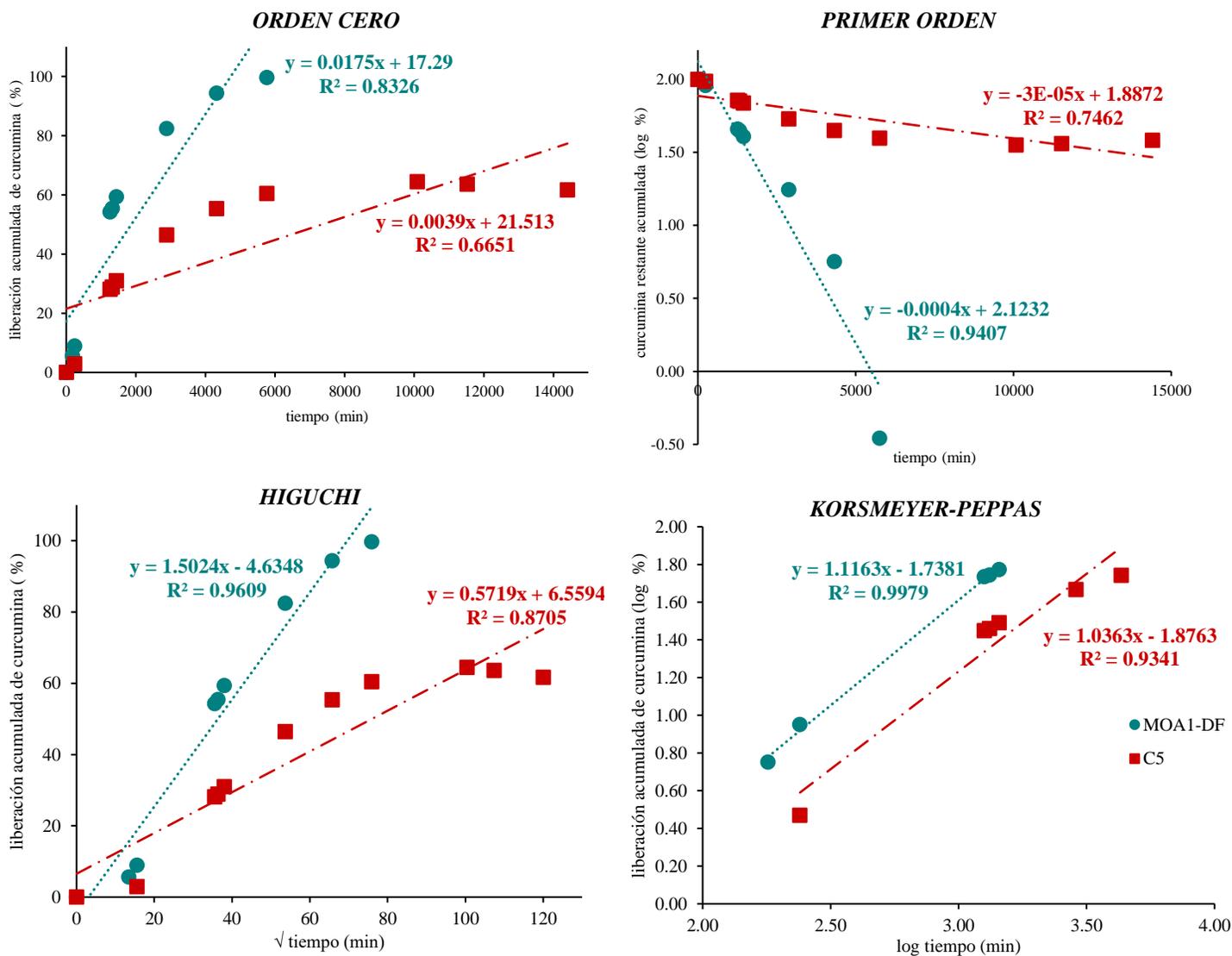


Figura 6.23 Modelos cinéticos de liberación de la curcumina cargada por difusión-fisorción (●) y por polimerización *in-situ* (■).

Para el modelo de Korsmeyer-Peppas se calcula el parámetro “ n ” con el cual se supone un mecanismo de liberación. Se presenta el Caso I cuando $n=0.5$ en donde la liberación está gobernada por difusión y el modelo sigue la ley de Fick. El Caso II es un modelo no Fickiano en donde predomina la liberación debido a procesos de hinchamiento y relajación de las cadenas poliméricas, y se subdivide en 3 casos: si $n=1$ se trata del Caso II en donde la liberación corresponde a una cinética de orden cero, si $0.5 < n < 1$ sería un caso anómalo entre difusión e hinchamiento y, finalmente, cuando $n > 1$ se presenta lo que se conoce como “super caso II”. La diferencia entre estos últimos 3 casos es la tasa de difusión del agua, siendo en el super caso II en donde se difunde con mayor tasa.⁸¹

De acuerdo con lo anterior, se presupone que *CO-DF* y *C5* son sistemas con una liberación debida al hinchamiento, esto es, a medida que el medio de disolución (agua) penetra rápidamente en la matriz (puesto que $n > 1$), el copolímero se hincha y su T_g desciende por debajo de la temperatura a la cual se lleva a cabo la prueba, por lo tanto, el copolímero hinchado pasa a un estado elástico que permite a la curcumina contenida en él difundirse hacia afuera.⁸² Esto también tiene sentido si consideramos que la T_g de copolímero obtenido es mucho mayor a la temperatura del experimento ya que si fuera menor, el estado elástico permitiría que la liberación ocurriría por difusión desde el inicio de la prueba. El sistema *CO-DF* también tiene una alta correlación con los modelos de primer orden e Higuchi, que se traduce en que la liberación también depende de la concentración de la curcumina y ocurre por difusión según la ley de Fick lo que tendría sentido ya que en este caso la curcumina se encuentra en la superficie de las NPPs.

7 Conclusiones

Se logró la preparación de NPPs del copolímero P(MMA-*co*-MAA)], en una relación molar de MMA-MAA de 2 a 1, mediante la técnica de polimerización en miniemulsión utilizando ODA como agente hidrófobo y APS como iniciador.

El copolímero obtenido a diferentes tiempos de reacción fue caracterizado por espectroscopia de H^1 -RMN, y se encontró una pequeña deriva en la composición. Sin embargo, el análisis térmico por DSC demostró que el copolímero tiene una composición casi homogénea, ya que solo se encontró una endoterma que corresponde a la T_g de copolímero en 144.20 °C.

En las polimerizaciones se alcanzaron conversiones cercanas al 100 % en tiempos cortos de reacción (≈ 20 min). Se encontró que es el tipo de iniciador el que tiene mayor efecto sobre la tasa de polimerización.

La evolución de D_p y N_p con el avance de la polimerización indican que se presentó la nucleación homogénea de partículas; por lo que la cinética no corresponde a la de una polimerización en miniemulsión. Este tipo de nucleación se atribuye a la alta solubilidad de los monómeros en el agua combinada con el uso de un iniciador soluble en agua (APS).

Aun cuando se determinó que la nucleación homogénea podía evitarse con el uso de un iniciador soluble en la fase orgánica (BPO), no fue posible utilizarlo en las polimerizaciones para encapsular curcumina, ya que la metodología mediante la cual se prepara la miniemulsión afecta la eficiencia del iniciador.

La presencia de curcumina durante la polimerización favoreció aún más la nucleación homogénea. También ocasionó el retardamiento de la tasa de polimerización, aunque se logró una alta conversión del monómero (> 95 %) y se obtuvieron látex con D_p de ≈ 20 nm que permanecieron coloidalmente estables hasta por 13 semanas.

Con la metodología empleada se logró el cargado *in situ* de curcumina en las NPPs. La concentración de curcumina en los látex aumentó con el incremento en la concentración de

curcumina en la formulación, obteniéndose un látex con 2.6 g/L de curcumina (≈ 1000 veces la solubilidad de la curcumina en agua). En cuanto a la EE, se observó una disminución con el incremento en la concentración de curcumina. El valor máximo se alcanzó para la concentración de 1 % de curcumina en la mezcla de monómeros (% EE ≈ 85.6 %).

Con el encapsulamiento de la curcumina en las NPPs se cumple con el propósito de protegerle contra la degradación. Se determinó que la concentración de curcumina en los látex permaneció prácticamente constante después de 7 semanas de almacenamiento y que y se conservó el 80 % de la misma después de 13 semanas.

Se logró disminuir el peso molecular hasta M_n 458,110 g/mol y M_w 1,316,461 g/mol utilizando limoneno como agente de transferencia de cadena. Mediante el análisis de IR se confirmó la formación del copolímero.

Las pruebas de liberación de curcumina se llevaron a cabo con PBS 0.1 M/Tween 80 (3 % p/v). En un lapso de 72 h se registró la liberación 4.3 % de curcumina cuando no estaba soportada en NPPs, mientras que se logró una liberación 55 % cuando se encontraba encapsulada en las NPPs cargadas mediante polimerización *in situ* y 95 % cuando se encontraba adsorbida en la superficie de NPPs cargadas mediante un método de difusión-fisorción.

La liberación más lenta e incompleta de la curcumina, desde las NPPs cargadas mediante polimerización *in situ*, sugiere que se encuentra encapsulada en las partículas. Por otra parte, la liberación rápida y total de la curcumina, desde las NPPs cargadas por difusión-fisorción, sugiere que se encuentra adsorbida en la superficie de las partículas.

El modelo cinético que mejor se ajusta a la liberación es el de Korsmeyer-Peppas. De acuerdo con este modelo, se asume que las NPPs cargadas por ambas metodologías son sistemas con una liberación gobernada por el hinchamiento de la matriz polimérica.

8 Trabajo futuro

El trabajo realizado en este proyecto de tesis representa una alternativa para solucionar la problemática en la aplicación terapéutica de la curcumina debido a su baja solubilidad en agua. No obstante, queda mucho trabajo por hacer en el futuro. Algunos de los aspectos que se consideran importantes de investigar son los siguientes:

- Optimización de las formulaciones para lograr limitar al máximo la nucleación continua.
- Estudiar a profundidad el efecto del agente hidrófobo reactivo en la cinética de polimerización y en las propiedades del copolímero.
- Evaluación del efecto citotóxico en líneas celulares sanas de las NPPs cargadas con curcumina por ambos métodos.
- Evaluación del efecto antineoplásico, bactericida, fungicida y larvicida de las NPPs cargadas con curcumina por ambos métodos.

9 Referencias

1. Y. Pathak et al., Informa Healthcare USA, Inc., N.Y., **2009**.
2. Madhavi, M.; Madhavi, K.; Jithan, A. *J. Pharm. Bioallied Sci.* **2012**, *4*, 164-71.
3. Talero, E.; Ávila, J.; Motilva, V. *Curr. Pharm. Des.* **2012**, *18*, 3939-3965.
4. Thickett, S.; Gilbert, R. *Polymer*, **2007**, *48*, 6965-6991.
5. Zielinska, A.; Carreiro, F.; Oliveira, A. *Molecules*, **2020**, *25*, 3731-3731.
6. Guterres, S.; Alves, M.; Pohlmann, A. *Drug Target Insights*, **2007**, *2*, 3731-3731.
7. Pinto, C.; Neufeld, R.; Ribeiro, A. *Nanomed.: Nanotechn, Biol., and Med.*, **2006**, *2*, 8-21.
8. Couvreur, P.; Dubernet, C.; Puisieux, F. *Eur J Pharm Biopharm*, **1995**, *41*, 2 - 13.
9. Kamaly, N.; Yameen, B.; Wu, J.; Farokhzad, O. *Chem. Rev.* **2016**, *116*, 2602–2663.
10. Soppimath, K.; Aminabhavi, T.; Kulkarni, A. *J Control Release*. **2001**, *70*, 1- 20.
11. Aftabrouchard, D.; Dorlker, E. *STP Pharma Sci.* **1992**, *2*, 365-80.
12. Galindo, S.; Alle´mann, E.; Fessi, H.; Doelker, E. *Pharm Res*, **2004**, *21*, 1428- 39.
13. Ravve, A., (2012). *Principles of Polymer Chemistry*. Illinois, EUA., Springer Science+Business Media.
14. Odian, G., (2004). *Principles of Polymerization, Fourth Edition*. New Jersey, EUA., John Wiley & Sons, Inc.

-
15. Braun, D.; Cherdrón, H.; Rehahn, M.; Ritter, H.; Voit, B. (2013) *Polymer Synthesis: Theory and Practice en Methods and Techniques for Synthesis, Characterization, Processing, and Modification of Polymers*. Springer.
16. Qiu, J.; Charleux, B.; Matyjaszewski. *Prog. Polym. Sci.* **2001**, *26*, 2083-2134.
17. Bechthold, N.; Landfester, K. *Macromolecules*, **2000**, *33*, 4682-4689.
18. Gugliotta, L. *Polimerizaciones Radicalarias Heterogéneas*, **2013**. Recuperado el 22 de mayo de 2020, de <http://www.gp.santafe-conicet.gov.ar/cursos/b/b.22.pdf>
19. Mittal, V. **2010**. *Miniemulsion Polymerization Technology*. John Wiley & Sons, Inc. New Jersey, USA.
20. Introducción A Las Dispersiones Coloidales De Polímeros Sintéticos. Recuperado el 22 de mayo de 2020, de <http://www.gp.santafe-conicet.gov.ar/cursos/a/a.22.pdf>
21. Landfester, K. *Top Curr. Chem.* **2003**, *227*, 075-123.
22. Asua, J. *Prog. Polym. Sci.* **2002**, *27*, 1283–1346.
23. Herk, A.; Landfester, K. *Adv. Polym. Sci.* **2010**, *233*, 1.
24. Chern, C.; Liou, Y.; Chen, T. *Macromol. Chem. Phys.* **1998**, *199*, 1315-1322.
25. Asua, J. *Eur. Polym. J.* **2018**, *106*, 30-41.
26. Darvishi, A.; Zohuriaan, M.; Bagheri, G.; Kabiri, K.; Bouhendi, H.; Bakhshi, H. *Designed Monomers and Polymers.* **2013**, *16*, 79-88.
27. Ouzineb, K.; Graillat, C.; McKenna, T. *J. Appl. Polym. Sci.* **2004**, *91*, 115-124.
28. Medeiros, A.; Bourgeat, E.; McKenna, T. *Polymers.* **2020**, *12*, 1476.
29. Schork, F.; Luo, Y.; Smulders, W.; Russum, J.; Butté, A.; Fontenot, K. *Adv. Polym. Sci.* **2005**, *175*, 129-255.

-
30. Vrignaud, S.; Benoit, J.; Saulnier, P. *Biomaterials*, **2011**, *32*, 8593-604.
31. Huang, C.; Chen, C.; Lee, Y. *Int. J. Pharm.* **2007**, *338*, 267-275.
32. Fonseca, L.; Nele, M.; Volpato, N.; Seiceira, R.; Pinto, J. *Macromol. React. Eng.* **2013**, *7*, 54-63.
33. Jin, X.; Asghar, S.; Zhu, X.; Chen, Z.; Tian, C.; Yin, L.; Ping, Q.; Xiao, Y. *Coll. Surf. B: Biointerf.* **2018**, *162*, 25-34.
34. Ferreira, I.; Barros, I.; Conceicao, H.; Pinto, J. *Macromol. React. Eng.* **2020**, *14*, 1-10.
35. Tsuda, T. *Food & Function*, **2018**, *9*, 705–714.
36. Goel, A.; Kunnumakkara, A.; Aggarwal, B. *Biochem. Pharmacol.* **2008**, *75*, 787.
37. Aggarwal, B.; Kumar, A.; Bharti, A.; *Anticancer Res.* **2003**, *23*, 363-398.
38. Peng, S.; Zhou, L.; Cai, Q.; Zou, L. *Food Hydrocolloids*, **2020**, *107*, 01-10.
39. Esatbeyoglu, T.; Huebbe, P.; Ernst, I. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2012**, *51*, 5308–5332.
40. Anand, P.; Kunnumakkara, A.; Newman, R. *Mol. Pharmaceutics*, **2007**, *4*, 807-818.
41. Ansari, M.; Ahmad, S.; Kohli, K.; Ali, J. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2005**, *57*, 132-138.
42. Bernabe, M.; Ramirez, M.; Romero, M.; Gonzadlez, E.; Rojas, A. *Spectrochim. Acta Part a-Mol. Biomol. Spectros.* **2004**, *60*, 1091-1097.
43. Gupta, S.C., Patchva, S.; Aggarwal, B. *The AAPS Journal*, **2013**, *15*, 195-218.
44. LoPachin, R.; Gavin, T.; Geohagen, B. *J. Neurochem.* **2011**, *116*, 132-143.
45. Deodhar, S.; Sethi, R.; Srimal, R. *Indian J. Med. Res.* **1980**, *71*, 632-4.
46. Pescosolido, N.; Giannotti, R.; Plateroti, A.; Pascarella, A.; Nebbioso, M. *Planta Med.* **2014**, *80*, 249-254.

-
47. Allegra, A. *Cancer Inv.* **2016**, *35*, 1-22.
48. Margulis, K.; Magdassi, S.; Seung, H.; Macosko, C. *J. of Colloid and Interf. Sci.* **2014**, *434*, 65-70.
49. Khandelwal, P.; (2019) *Curcumin in Therapeutics: From Molecule to Nanomaterials* en Singh D., Das S., Materny A. *Advances in Spectroscopy: Molecules to Materials*. Springer Proceedings in Physics.
50. Hartig, S.; Greene, R.; Dikov, M.; Prokop, A.; Davidson, J. *Pharm. Res.* **2007**, *24*, 2353–2369.
51. Xie, X.; Tao, Q.; Zou, Y.; Zhang, F.; Guo, M.; Wang, Y.; Wang, H. *Agric. Food Chem.* **2011**, *59*, 9280.
52. Tsai, Y.; Jan, W.; Chien, C.; Lee, W. *Food Chem.* **2011**, *127*, 918.
53. Silva, R.; Ferreira, M.; Alves, D.; Bona, E.; Leimann, F.; Cardozo, L.; Araújo, P.; Ferreira, S.; Goncalves, O. *Polímeros*, **2016**, *26*, 207-214.
54. Prajakta, D.; Ratnesh, J.; Chandan, K.; Suresh, S.; Grace, S.; Meera, V.; Vandana, P. *J. Biomed. Nanotechnol.* **2009**, *5*, 445-455.
55. Xiao, B.; Si, X.; Zhang, M.; Merlin, D. *Coll. Surf. B: Biointerf.* **2015**, *135*, 379-385.
56. Treviño, M.; Enríquez, J.; López, R.; Saade, H.; Reyes, B. *Patente.* **2018**.
57. Schneider, C.; Graillat, C.; Boutti, S.; McKenna, T. *Polymer Bulletin*, **2001**, *47*, 269-275.
58. Brandrup, J; Immergut, E.; Grulke, E. (1999) *Polymer Handbook*. John Wiley.
59. Barton, J. *Makromol. Chem., Macromol. Symp.* **1990**, *35/36*, 41-58.
60. Antonietti, M.; Landfester, K. *Prog. Polym. Sci.* **2002**, *27*, 1283-1346.
61. Tsavalas, J.; Luo, Y. *J. Appl. Poly. Sci.*, **2003**, *87*, 1825-1836.

-
62. Bizet, B.; Grau, E.; Cramail, H.; Asua, J. *ACS Appl. Polym. Mater.* **2020**, *2*, 4016-4025.
63. Udagama, R.; de las Heras, C.; Keddie, J.; Tsavalas, J.; Bourgeat, E.; McKenna, T. *Macromol. React. Eng.* **2014**, *8*, 622-638.
64. Lin, C.; Chiu, W.; Lu, H.; Meliana, Y.; Chem, C. *J. Appl. Polym. Sci.* **2010**, *115*, 2786-2793.
65. Peixoto, A.; Ferreira, I.; Ferraz, H.; Pinto, J. *J. Res. Updates Polym. Sci.* **2016**, *5*, 60-71.
66. Street, G.; Illsley, D.; Holder, S. *J. Polym. Sci.: Part A: Polym. Chem.* **2005**, *43*, 1129-1143.
67. Chern, C.; Lim, H.; Cala, N. *J. Appl. Polym. Sci.* **2009**, *112*, 173-180.
68. Mehta, R.; Chawla, A.; Sharma, P.; Pawar, P. *J. Adv. Technol. Res.* **2013**, *4*, 31-41.
69. Sigma-Aldrich. Recuperado de: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/376914?lang=es®ion=MX#productDetailSafetyRelatedDocs> el 11 de marzo de 2021.
70. Dubé, M.; Ren, S. *Int. J. Adhes. And Adhesives*, **2017**, *75*, 132-138.
71. Kurien, B.; Singh, A.; Matsumoto, H. Scofield, R. *ASSAY Drug Dev. Technol.* **2007**, *5*, 567-76.
72. Carvalho, D.; Takeuchi, K.; Geraldine, R.; Morua, C.; Torres, M. *Food Sci. Technol. Camp.* **2015**, *35*, 115–119.
73. Jyothi, N. *et al. Journal of Microencapsulation.* **2010**, *27*, 187-197.
74. Oliveira, M.; Melo, P.; Nele, M.; Pinto, J. *Macromol. Symp.* **2011**, *299/300*, 34-40.
75. Des Rieux, A.; Fievez, V.; Garinot, M.; et al. *J. Cont. Rel.* **2006**, *116*, 1-27.
76. Lestari, M.; Indrayanto, G. (2014) *Curcumin* en Brittain, H. *Profiles of Drug Substances, Excipients, and Related Methodology*. Elsevier Inc.

-
77. Mutalik, S.; Suthar, N.; Managuli, R.; Shetty, P.; Avadhani, K.; Kalthur, G.; Kulkarni, R.; *Int. J. of Biol. Macromol.* **2015**, 01-41.
78. Weng, J.; Tong, H.; Chow, S. *Pharmaceutics.* **2020**, *12*, 732.
79. Umerska, A.; Gaucher, C.; Oyarzun, F.; Fries, I.; Colin, F.; Villamizar, M.; Maincent, P. Sapin, A. *Antioxidants*, **2018**, *7*, 46.
80. Manzanares, L.; Licea-Claverie, A.; Oroz, I.; Bernaldez, J.; Díaz, F.; Licea-Navarro, A. *ACS Omega.* **2020**, *5*, 9171-9184.
81. Luciano, M. (2015). *Mathematical models of drug release en Strategies to Modify the Drug Release from Pharmaceutical Systems.* Woodhead Publishing.
82. Langer, R.; Peppas, N. *Biomaterials.* **1981**, *2*, 201-214