

**Benemérita Universidad Autónoma de
Puebla**



Facultad de Ingeniería Química

**“Preparación, caracterización y evaluación
de microcápsulas del copolímero tribloque
termosensible con indometacina”**

Tesis presentada para obtener el título de:

Licenciado en Ingeniería en Materiales

Presenta:

Gerardo Pozos Sanchez

Directora de Tesis:

Dra. Valeria J. González Coronel

Co-Director de Tesis:

M.C. Marco Antonio González Coronel

Puebla, Pue. Agosto 2017



BUAP

Oficio No. FIQ/AC/889/2016
Asunto: Registro de Tema de Tesis

**C. GERARDO POZOS SANCHEZ
PASANTE DE LA LICENCIATURA
EN INGENIERÍA EN MATERIALES
P R E S E N T E:**

Por medio del presente me permito informarle, de la aprobación del Registro de Tema de Tesis de la Licenciatura en Ingeniería en Materiales cuyo título es el siguiente:

“PREPARACIÓN, CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE MICROCÁPSULAS DEL COPOLÍMERO TRIBLOQUE TERMOSENSIBLE CON INDOMETACINA”

Con el siguiente contenido:

INTRODUCCIÓN

CAPÍTULO 1	ANTECEDENTES
CAPÍTULO 2	METODOLOGÍA
CAPÍTULO 3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**CONCLUSIONES
BIBLIOGRAFÍA**

Directora de Tesis: DRA. VALERIA JORDANA GONZÁLEZ CORONEL
Co-Director de Tesis: M.C. MARCO ANTONIO GONZÁLEZ CORONEL

Lo cual me permito comunicarle para su conocimiento y fines consiguientes aclarando que la vigencia de este tema será **ÚNICAMENTE POR UN AÑO**.

ATENTAMENTE
“Pensar Bien, Para Vivir Mejor”
H. Puebla de Z., 7 de Septiembre de 2016

**M.I.C. MA. GPE. TITA VÁZQUEZ E. DE LOS MONTEROS
SECRETARIA ACADÉMICA**

C.c.p Directora de Tesis: DRA. VALERIA JORDANA GONZÁLEZ CORONEL
Co-Director de Tesis: M.C. MARCO ANTONIO GONZÁLEZ CORONEL
Minutario Facultad de Ingeniería Química



Facultad
de Ingeniería
Química

Av. San Claudio s/n, Col. San
Manuel, Ciudad Universitaria,
Puebla, Pue. C.P. 72570
01 (222) 229 55 00
Ext. 7250 y 7251



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA
CIUDAD UNIVERSITARIA

C.P. José Juan Morales Rodríguez
Director de la Administración Escolar
De la BUAP.
Presente

ASUNTO:
AUTORIZACIÓN
IMPRESIÓN DE TESIS

Por este conducto me permito presentar a Ud. al C. pasante de la carrera de Ingeniería en
Materiales

Gerardo Pozos Sanchez

Quién presenta como tema de tesis:

**Preparación, caracterización y evaluación de microcápsulas del copolímero
tribloque termosensible con indometacina**

La cual ha sido debidamente revisada y se autoriza para su impresión correspondiente.
Sin otro particular y para los fines que se estimen conducentes reitero mi distinción.

ATENTAMENTE

“Pensar Bien, para Vivir Mejor”

H. Puebla de Z., a 7 de Julio de 2017

Directora de Tesis
Dra. Valeria Jordana González Coronel

Agradecimientos

Comenzando por la asesora, Dra. Valeria González Coronel, me brindó su apoyo para la realización de este trabajo, al M.C. Marco Antonio González Coronel por el apoyo y facilidades en la Facultad de Ciencias Químicas.

Al Dr. Efraín Rubio Rosas, por apoyo y facilidades en el CUVyTT, Dr. Jenaro Valera Caselis por apoyo en el equipo TGA/DSC, Dr. Ricardo Agustín Serrano por apoyo en el equipo de difracción de rayos-X y al M.C. Erick Reyes Cervantes por el apoyo en SEM.

A los sinodales Dr. Daniel Cruz González y Dra. Nancy Tepale Ochoa por el apoyo y facilidades para el manejo del espectrofotómetro del UV-Vis. A la Dra. Shirley Carro Sánchez del Área de Ingeniería Química de la Universidad Autónoma de Tlaxcala, por sus facilidades para la purificación del copolímero.

Al PROMEP por la beca proporcionada a través del financiamiento otorgado al proyecto de la red Fluidos Complejos DSA/103.5/15/7492.

Dedicatorias

“Cuando pienses que es imposible, solo mírate en el espejo y sabrás que no hay límites”

Primero agradezco a Dios por darme la oportunidad de terminar lo que comencé, soy hombre de fe y eso nunca lo he negado. En segundo lugar, a mis padres, al Sr. Gerardo Pozos Álvarez y a la Sra. Rosa Leticia Sánchez Martínez, después de tanto, lo he logrado y voy por más metas, por su apoyo a mis ideas y negación hacia otras, pero aquí estamos.

A Ma. Auxilio Alejandra Ocotlán Sánchez Martínez, mi tía, en parte también por participar en este duro trabajo que llaman educación y guía de sobrinos, infinitas gracias, nunca sabré como regresar tanto amor y esfuerzo.

A mi tío el Sr. Jorge Aguilar Campos, consejos y anécdotas vividas, por su apoyo, comprensión y peleas para que me diera cuenta de que podía, gracias.

A mis hermanos, Alejandra Pozos Sanchez y Leonardo Pozos Sanchez, gracias por su apoyo y comprensión. Por estar ahí con un abrazo o con un problema. Siempre hemos avanzado.

A mis sobrinos, primos, tíos y abuelos, todos y cada uno de ustedes han contribuido con algo al día a día. Consejos, platicas, risas y burlas por todo eso muchas gracias. Ahora comenzaré con mi otra familia, aquella que se forma en las aulas y que uno se encuentra por este caminar que se llama vida estudiantil. Primero y por derecho de antigüedad: Raúl Mancilla Desiderio y Sandra Andrea Cortés Bonilla, quien iba a decir que 16 años después nos íbamos a ver convertidos en unos profesionistas, han estado ahí la pequeña gran familia que siempre está, saber que estamos a una sola llamada, que me han echado porras para culminación de este trabajo, gracias por estar ahí. A mis otros amigos que no son muy viejos: Axel Peña Cerezo, Miranda Rosario Sánchez Pérez, Andrea Silva Terrazas y Ma. Concepción Furlong Jara gracias por estar ahí, por vivir experiencias, por escuchar y demostrarme que siempre que uno tenga el valor se pueden realizar muchas cosas.

Desde hace diez años formo parte de la comunidad universitaria en 2007 ingresando a la preparatoria y conociendo amigos que se volvieron parte importante en mi vida y cuando se enteraron de que iba hacer tesis no se la creyeron, ellos son: Alejandra Morales Ruiz, Rosa Eliana Hernández Rivera, Domingo Alexis Valdetano Santamaria, Ma. Guadalupe González Vélez y Jacqueline Méndez San Martín, todos ustedes, estando y no, acompañándonos y viéndonos en nuestros tiempos muertos de universidad, experiencias y aventuras, gracias por todo.

Ahora por último y no menos importante la familia que formé en la universidad, esa que siempre estuvo ahí cuando fue la selección de materias, exámenes y exposiciones que hacíamos de un día para otro, eso hablando en la parte académica, pero también amigos de reuniones y alguna que otra trasnochada.

A continuación, los nombro a todos y cada uno de ustedes: Cyntia Denisse Farfán Palma, Patricia Victoria Pérez Luna, Karla de Lázaro Gasca y Cesar Mariscal Hernández cada uno de ustedes me enseñó algo que nunca olvidare, no sólo en el desarrollo de la tesis si no en el desarrollo personal, siempre los llevaré en mis pensamientos.

A mis amigos de otros colegios como son: María Torruco Juarez, Silvana Victoria Barahona Mendoza, Mary Carmen Neri González, Eva Liliana Castañeda Rodríguez, Loana Lecona Dordelly y Alejandra Meza Salgado, cada una de ustedes echándome porras, con alguno que otro reproche por mi tardanza, pero siempre apoyándome porque de eso se trata, de aprender y valorar lo que uno tiene.

Nombro también a las personas más temidas de mi generación pero que son muy valiosas y aunque compartí lo último de la licenciatura y durante el tiempo de tesis, me siento muy agradecido por eso: Arturo García Martínez, Gustavo Romero Gordillo, Andrés Gerardo Sanchez González, Maximiliano Vázquez Fuentes, Iván Valencia de Lima e Irving Fernández Cervantes, este último lo nombro solo porque no sabía dónde acomodarlo.

ÍNDICE

Introducción.....	x
Planteamiento del problema.....	xi
Justificación.....	xii
Objetivos.....	xiii

CAPÍTULO 1. ANTECEDENTES

1.1. Copolímero.....	1
1.2. Polimerización radicalica controlada/viviente	3
1.2.1. Polimerización Controlada por Reacciones Reversibles de Adición- Fragmentación (RAFT)	5
1.2.1.1. Mecanismo de polimerización RAFT.....	6
1.3. Polímeros Termosensibles.....	8
1.4. Comportamiento LCST y UCST	8
1.5. Liberación de fármaco.....	10
1.6. Microencapsulación de fármaco.....	11
1.6.1. Métodos de microencapsulación	11
1.7. Fármaco: Indometacina.....	12
1.8. Técnicas de caracterización.....	15
1.8.1. Análisis Termogravimétrico y Calorimetría de Barrido Diferencial (TGA/DSC)	15
1.8.1.1. Análisis Termogravimétrico (TGA)	15
1.8.1.2. Calorimetría de Barrido Diferencial (DSC)	15
1.8.2. Difracción de rayos-X	16

1.8.3.	Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)	17
1.8.4.	Espectroscopia UV-Visible	19

CAPÍTULO 2. METODOLOGÍA

2.1.	Origen y pureza de los reactivos utilizados	22
2.2.	Síntesis del monómero hidrófobo Dodecilacrilamida (DAM)	23
2.3.	Síntesis del copolímero tribloque termosensible P(DAM- <i>b</i> -NIPAM- <i>b</i> -AM) ..	24
2.3.1.	Primera etapa: síntesis de P(DAM)	24
2.3.2.	Segunda etapa: síntesis de P(DAM- <i>b</i> -NIPAM).....	25
2.3.3.	Tercera etapa: síntesis de P(DAM- <i>b</i> -NIPAM- <i>b</i> -AM)	26
2.4.	Elaboración de las cápsulas.....	27
2.5.	Caracterización de las cápsulas.....	28
2.5.1.	Análisis Termogravimétrico y Calorimetría de Barrido Diferencial (TGA/DSC)	28
2.5.2.	Difracción de rayos-X	28
2.5.3.	Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)	28
2.5.4.	Espectroscopia UV-Visible	28
2.5.4.1.	Evaluación de las cápsulas	29

CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1.	Análisis Termogravimétrico (TGA)	31
3.1.1.	Indometacina	31
3.1.2.	Copolímero tribloque P(DAM- <i>b</i> -NIPAM- <i>b</i> -AM)	32
3.2.	Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)	33
3.2.1.	Indometacina	33

3.2.2. Copolímero tribloque P(DAM- <i>b</i> -NIPAM- <i>b</i> -AM)	34
3.2.2.1. Estructura y peso molecular del copolímero.	35
3.2.3. Microcápsulas.....	36
3.3. Difracción de rayos-X de IMC, P(DAM- <i>b</i> -NIPAM- <i>b</i> -AM) y microcápsulas ...	38
3.4. Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) de IMC y microcápsulas.....	40
3.5. Espectroscopia UV-Visible (UV-Vis).....	41
3.6. Perfiles de liberación	42
Conclusiones.....	45
Bibliografía.....	46

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1. Fórmula para calcular la concentración de fármaco.....	29
---	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Clasificación de los copolímeros: 1. Copolímeros al azar, 2. Copolímeros alternados, 3. Copolímeros de bloques y 4. Copolímeros de injerto.	2
Figura 2. Diferentes tipos de agentes de transferencia de cadena.	5
Figura 3. Mecanismo de la polimerización RAFT con agentes tiocarbonilto.	7
Figura 4. Diagrama de fase mostrando la temperatura crítica superior de disolución (UCST) y la temperatura crítica inferior de disolución (LCST) superpuestas que muestran la separación de fases tanto al calentar como al enfriar.....	9
Figura 5. Diagramas esquemáticos de a) un sistema o/w y b) un sistema w/o. ...	12
Figura 6. Molécula de indometacina (IMC).....	14
Figura 7. Esquema del equipo de análisis de TGA/DSC.....	16
Figura 8. Representación de la Ley de Bragg.	17

Figura 9. Representación del principio básico de la Microscopía Electrónica de Barrido.	19
Figura 10. Diagrama de un espectrofotómetro con haz sencillo.....	20
Figura 11. Representación esquemática de la reacción de síntesis del monómero dodecilacrilamida.	23
Figura 12. Esquema de la reacción de síntesis de P(DAM).	24
Figura 13. Esquema de la reacción de síntesis de P(DAM- <i>b</i> -NIPAM).	25
Figura 14. Esquema de la reacción de síntesis de P(DAM- <i>b</i> -NIPAM- <i>b</i> -AM).....	26
Figura 15. Diagrama de elaboración de las microcápsulas IMC + P(DAM- <i>b</i> -NIPAM- <i>b</i> -AM).....	27
Figura 16. a) Termograma de la indometacina y b) Primera derivada para el cálculo de la T de máxima velocidad del proceso en general.	31
Figura 17. a) Termograma del copolímero tribloque y b) Primera derivada para el cálculo de la T de máxima velocidad del proceso en general.	32
Figura 18. Termograma de la indometacina.....	33
Figura 19. Termograma del copolímero tribloque P(DAM- <i>b</i> -NIPAM- <i>b</i> -AM)	34
Figura 20. Termograma de a) Microcápsulas1, b) Microcápsulas2 y c) Microcápsulas3	37
Figura 21. Patrones de difracción de rayos-X de indometacina, copolímero, microcápsulas1, microcápsulas2 y microcápsulas3.....	39
Figura 22. a) Fase α de la indometacina, b) Microcápsulas1, c) Microcápsulas2 y d) Microcápsulas3.	40
Figura 23. Espectro de absorción de a) IMC, b) Microcápsulas1, c) Microcápsula2 y d) Microcápsulas3.	42
Figura 24. Comparación de perfiles de liberación.	43

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Comparación de los sistemas NMP, ATRP y RAFT.	4
Tabla 2. Selección de polímeros con comportamiento LCST o UCST en la región de temperaturas de interés para aplicaciones biomédicas.	10

Tabla 3. Propiedades fisicoquímicas de la indometacina	14
Tabla 4. Lista de reactivos.	22
Tabla 5. Cantidades en gramos para el copolímero y el fármaco IMC.	27
Tabla 6. Aumento de la T_g de cada una de las etapas.	35
Tabla 7. Cantidades en gramos para el polímero y el fármaco indometacina.	36
Tabla 8. Valores de la T_c y T_g correspondientes a cada muestra.	37
Tabla 9. Comparación de las distancias planares de las cuatro primeras señales con mayor intensidad.	39

INDICE DE ABREVIATURAS

Abreviación	Significado
PRC/V	Polimerización Radicálica Controlada/Viviente.
RAFT	Polimerización Controlada por Reacciones Reversibles de Adición-Fragmentación.
CTA	Agente de Transferencia de Cadena
DSC	Calorimetría Diferencial de Barrido
T _g	Temperatura de Transición Vítrea
T _c	Temperatura de Cristalización
LCST	Temperatura Crítica Inferior de Disolución
UCST	Temperatura Crítica Superior de Disolución
BDB	Ditiobenzoato de Bencilo
ACVA	4-4 Azobis Ácido Cianovalérico
DAM	N-dodecilacrilamida
NIPAM	N-isopropilacrilamida
AM	Acrilamida
PDAM	Poli N-dodecilacrilamida
P(DAM- <i>b</i> -NIPAM)	Poli N-dodecilacrilamida bloque N-isopropilacrilamida
P(DAM- <i>b</i> -NIPAM- <i>b</i> -AM)	Poli N-dodecilacrilamida bloque N-isopropilacrilamida bloque Acrilamida
IMC	Indometacina
AINE	Anti-inflamatorio No Esteroideo

Introducción

La ciencia e ingeniería de materiales durante los últimos 20 años se ha desarrollado de manera exponencial en todas sus líneas de investigación, los materiales poliméricos que se encuentran en los artefactos de cocina, ropa, carcasas de computadoras, autos y demás tendrían otras características si la materia prima que se utiliza para crearlos se sintetizara con otras técnicas de polimerización [1].

Para obtener polímeros funcionales que posean ciertas características se propone el uso de técnicas modernas para sintetizarlos y lograr propiedades diferentes a las que se obtienen cuando se sintetizan por técnicas convencionales. El avance en tecnologías en el área de polímeros es un trabajo que se ha venido realizando desde hace varios años, por ejemplo, se han desarrollado nuevas técnicas de polimerización, las cuales ofrecen arquitecturas complejas y le dan características únicas al producto final. Estas características son usadas en campos como la petroquímica, la biomedicina, farmacéutica, entre otras [2,3].

La técnica de polimerización controlada por reacciones reversibles de adición fragmentación (RAFT, por sus siglas en inglés *Reversible Addition-Fragmentation chain-Transfer polymerization*), es una técnica que tiene la ventaja de controlar el tamaño molecular y la polidispersidad. En muchos de los casos le da al polímero características “inteligentes”, esto hace referencia a que el polímero reacciona a cualquier cambio o estímulo. Debido a estas propiedades se puede ocupar el material en el área farmacéutica, por ejemplo, para la encapsulación de sustancias activas, las cuales han sido objeto de estudio para brindarles protección cuando están expuestas a medios agresivos, logrando así un mejor rendimiento de tiempo de vida medio del fármaco [3,4].

Planteamiento del problema

La mitad de la población de la República Mexicana para el año 2010 eran jóvenes de entre 15 y 19 años, dentro de 50 años esta población envejecerá y presentará un alto índice de adulto mayor [5]. Al presentar un índice alto de envejecimiento de la población también existe la posibilidad de que este porcentaje presente enfermedades que se deban de tratar en hospitales de alta especialidad ya sea por parte del sector salud público o privado, actualmente algunas de estas enfermedades son tratadas con medicamentos que se administran por vía oral, los cuales llegan a ser agresivos con el sistema digestivo causando daños que disminuyen la calidad de vida del paciente [6].

El 1.2% de la población presenta artritis reumatoide, esta enfermedad tiene complicaciones como inflamaciones que no permiten el movimiento de las articulaciones y causa dolores fuertes, por lo cual se recomienda el consumo de un antiinflamatorio [6], en la mayoría de los casos se receta Indometacina, este medicamento solo puede ser consumido por adultos y mujeres que no estén embarazadas o lactando y su administración es vía oral, pero así como es un buen anti-inflamatorio, los pacientes llegan a presentar efectos secundarios como: dolor abdominal, diarrea, hemorragia gastrointestinal y pancreatitis, derivados del medicamento. La forma de administración del fármaco es de 3 a 4 veces al día en una cantidad de 25 a 70 mg, en presentación de liberación inmediata [7].

Así pues, se propone estudiar un copolímero termosensible tribloque de reciente creación como transportador de un fármaco muy estudiado, para efectos de comparación.

En este trabajo se encapsula la indometacina con un copolímero tribloque llamado Poli (DAM-*b*-NIPAM-*b*-AM). Lo anterior se propuso a partir de que este material presenta una transición de fase en solución acuosa a una temperatura de 45°C, dicha transición es la LSCT la cual puede ayudar a la liberación controlada y/o sostenida.

Justificación

La liberación prolongada de fármaco es una alternativa para disminuir el consumo de medicamento, reduciendo así las reacciones adversas que se presentan durante y después del tratamiento [8], un ejemplo de las consecuencias de la ingesta de medicina es la aparición de úlceras gástricas que provocan sangrado en las heces fecales [7].

Se propone un material que presenta una temperatura crítica inferior de disolución (LCST por sus siglas en inglés *Lower Critical Solution Temperature*) cercano a la temperatura corporal. A cierta temperatura el copolímero tribloque presenta un estado fuera de fase, por lo cual hay un cambio en su estructura [9] que puede ayudar a la liberación controlada y/o sostenida del fármaco.

Se ha reportado que el homopolímero poli N-isopropilacrilamida en solución acuosa sufre esta transición a 32°C. Sin embargo para su uso farmacológico se requiere que esta transición se presente a una temperatura más cercana a la corporal. Es por ello que anteriormente se hicieron estudios para proponer un copolímero tribloque compuesto por un bloque de N-isopropilacrilamida, un bloque de una N-alquilacrilamida (hidrófobo), y un bloque de acrilamida (hidrófilo). Viveros-Nava estudió la composición adecuada de cada bloque para aumentar la LCST.

Fue posible sintetizar esta estructura gracias a una de las técnicas de polimerización controladas CRP's. Se eligió la polimerización RAFT, debido a su versatilidad en cuanto a las condiciones de reacción, ya que es muy tolerante a impurezas en el medio de reacción y ello disminuye los costos de la síntesis; también hay disponibles un gran número de agentes de transferencia adecuados para acrilamidas; y lo más importante, los valores de polidispersidad reportados para sistemas similares son muy estrechos, lo que asegura obtener la estructura deseada.

Objetivos

Objetivo general

Preparar, caracterizar y evaluar cápsulas de copolímero P(DAM-*b*-NIPAM-*b*-AM) (sintetizado por polimerización RAFT) con indometacina.

Objetivos particulares

1. Sintetizar el monómero N-dodecilacrilamida, DAM.
2. Sintetizar el copolímero P(DAM-*b*-NIPAM-*b*-AM) por polimerización RAFT.
1ª Etapa: Sintetizar el primer bloque PDAM.
2ª Etapa: Sintetizar el copolímero P(DAM-*b*-NIPAM).
3ª Etapa: Sintetizar el copolímero P(DAM-*b*-NIPAM-*b*-AM).
3. Preparar las cápsulas de copolímero-indometacina.
4. Caracterizar por TGA/DSC para conocer la temperatura de transición vítrea (T_g) y la temperatura de cristalización (T_c) de las cápsulas y determinar si la presencia del fármaco modifica esas temperaturas del copolímero.
5. Caracterizar por XRD para determinar la presencia de estructura cristalina.
6. Caracterizar por SEM para observar la morfología y tamaño de las cápsulas.
7. Evaluar la liberación del fármaco de las cápsulas de copolímero-indometacina según la farmacopea, por espectroscopia UV-Vis.

Capítulo 1.

Antecedentes

1. Antecedentes

1.1. Copolímero

Un polímero es una molécula de masa molecular elevada que está conformada por muchas unidades pequeñas llamadas monómeros, que se van repitiendo, enlazándose unas a otras [10].

Cuando únicamente una especie de monómero es usada para construir una macromolécula, el producto es nombrado homopolímero, normalmente hace referencia a un polímero simple. Si las cadenas están compuestas de dos o más tipos diferentes de unidad de monómero, el material se conoce como un copolímero, estos están subdivididos en cuatro categorías principales [11]:

1. Copolímeros al azar: en el cual la distribución de los dos monómeros en la cadena es esencialmente al azar, pero influenciado por la reactividad del monómero individual (ver **Figura 1.**) [11].
2. Copolímeros alternados: con una colocación regular a lo largo de la cadena (ver **Figura 1.**) [11].
3. Copolímeros de bloques: compuestos de secuencias substanciales o de bloques de cada uno (ver **Figura 1**) [11].
4. Copolímeros de injerto: en los cuales los bloques de un monómero son injertados sobre una columna vertebral de otro polímero tal como ramas (ver **Figura 1**) [11].

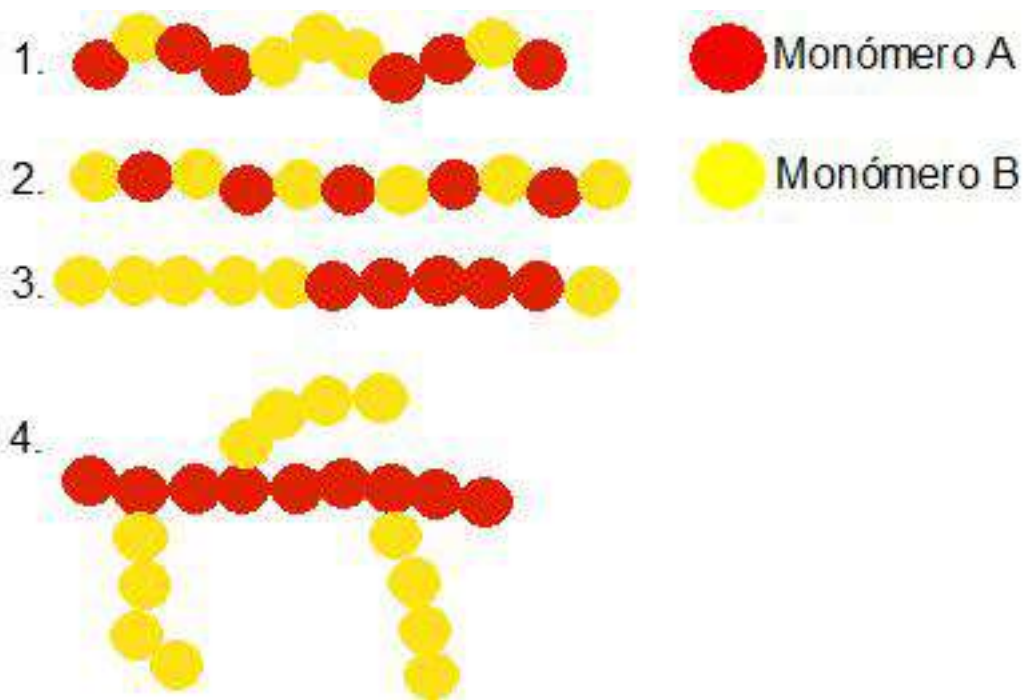


Figura 1. Clasificación de los copolímeros: 1. Copolímeros al azar, 2. Copolímeros alternados, 3. Copolímeros de bloques y 4. Copolímeros de injerto.

Una disposición del tipo A-B de un copolímero en un bloque tendría una diferente morfología que una disposición A-B-A aunque los radios del monómero sean idénticos, estos polímeros tienen la habilidad de autoensamblarse en nanodominios de seguimiento que son determinados por la química y la disposición de los diferentes bloques. Una variedad de nanomorfologías pueden ser creadas por un cambio en la disposición de los bloques, los radios de los monómeros y pesos moleculares de los bloques individuales y por la adición al sistema de un monómero diferente. Los copolímeros en bloques han sido empleados en una variedad de aplicaciones, más notables en resinas poliméricas de alto impacto, estos también se les ha encontrado aplicaciones en biomateriales por sus propiedades tanto mecánicas como biológicas. Hay varias aplicaciones para los copolímeros en bloques, incluidas las micelas para la liberación de fármacos, grupos bioactivos espaciados en una superficie, de control celular y de adhesión de proteínas [12].

En años recientes, el interés ha sido enfocado en la estructura de autoensamble de un copolímero de bloque de estímulo-respuesta, desde sus propiedades físicas y químicas que pueden ser estables para el medio externo. Por ejemplo, propiedades hidrofílicas e hidrófobas pueden ser causadas por la variación de pH, temperatura, campo magnético entre otras [13]. Estas características se logran a partir de la combinación de bloques con propiedades diferentes en una misma cadena por medio de una polimerización radicalica controlada o viviente (PRC/V), esto debido a que este tipo de polimerizaciones proveen tal control, que se pueden aprovechar para la obtención de ciertas estructuras, maximizando algunas propiedades [14].

1.2. Polimerización radicalica controlada/viviente

La polimerización convencional por radicales libres es un proceso comercial importante para preparar polímeros con altos pesos moleculares debido a que puede ser empleado para la polimerización de varios monómeros del tipo vinilo bajo condiciones de reacción moderadas, requiriendo la ausencia de oxígeno, pero tolerante al agua, y puede ser llevada a cabo sobre un amplio intervalo de temperatura (-80 a 250°C), pero la principal limitación de este tipo de polimerización es el control pobre sobre algunos elementos principales de las estructuras macromoleculares tales como el peso molecular, polidispersidad, funcionalidad final, arquitectura de cadena y composición [15].

Polímeros precisos con determinados parámetros estructurales controlados son accesibles mediante la polimerización radicalica controlada/viviente una característica especial de este tipo de polimerización es la existencia de un equilibrio entre las especies activas y durmientes, el intercambio de estas especies permite un crecimiento lento, pero simultaneo de todas las cadenas, aunque manteniendo suficientemente baja la concentración de los radicales para minimizar la terminación [15]. Los aspectos principales de los tres sistemas más efectivos actualmente para este tipo de polimerizaciones son comparados en la siguiente **Tabla**.

Tabla 1. Comparación de los sistemas NMP, ATRP y RAFT.

Características	Polimerización Mediada por Nitróxidos (NMP)	Polimerización Radicálica por Transferencia de Átomo (ATRP)	Polimerización Controlada por Reacciones Reversibles de Adición Fragmentación (RAFT)
Monómeros	Estirenos con TEMPO También acrilatos y acrilamidas usando nuevos nitróxidos. No se usa en metacrilatos.	Casi todos los monómeros con doble enlace activado. No se usa en vinil acetatos.	Casi todos los monómeros.
Condiciones	Elevadas temperaturas (>120°C para TEMPO). Sistema a base de agua. Sensible en presencia de oxígeno	Amplio intervalo de temperatura (-30 – 150°C). Sistema a base de agua. Tolerancia alguna a O ₂ e inhibidor con Mt ⁰ .	Temperaturas elevadas para monómeros menos reactivos. Sistema a base de agua. Sensible en presencia de oxígeno.
Grupos finales/ Iniciadores	Alcoxiaminas Térmicamente inestable. Relativamente caro. Requiere de química radical para transformaciones. Podría actuar como un estabilizador.	Haluros de alquilo Térmicamente estable. Fotoestable Económico y disponible. S _N , E o química radical para transformaciones. Intercambio de halógenos para mejorar la propagación cruzada.	Ditioesteres, yoduros y metacrilatos. Menos estable térmicamente y menos fotoestable. Relativamente económico. Química radical para transformaciones (S _N para RI) Color/Olor
Aditivos	Ninguno NMP puede ser acelerado con compuestos acilo.	Catalizador de metales de transición. Podría ser removido y reciclado.	Iniciador radical convencional. Puede disminuir la funcionalidad final. Puede producir demasiadas cadenas nuevas.

1.2.1. Polimerización controlada por reacciones reversibles de adición-fragmentación (RAFT)

Actualmente la polimerización controlada por reacciones reversibles de adición (RAFT) es la más versátil de las técnicas de PRC/V. Esta técnica fue planteada por el grupo CSIRO en 1998. Las herramientas sintéticas desarrolladas por polimerización RAFT y subsecuentes transformaciones permiten la polimerización de monómeros altamente funcionales bajo condiciones favorables (algunas veces en agua a temperatura ambiente sin necesidad de grupos de protección), para permitir complejos con arquitectura altamente controlada con cierta autonomía de respuesta a un estímulo externo [16].

El componente clave en controlar la polimerización RAFT es el agente de transferencia de cadena [16], estos son compuestos orgánicos simples que poseen la fracción de tiocarbonil (S = C – S) siendo más efectiva y versátil en inducir “vida” por transferencia de cadena reversible adición-fragmentación. Los cuatro tipos de agentes RAFT de ditiocarbonil son descritos en la **Figura 2**, donde se observa quien es Z y R, donde Z es el grupo de activación y estabilización de la cadena, R el radical libre que se libera y S es el enlace reactivo tiocarbonil, este tipo de agentes de transferencia ofrecen una amplia gama de copolímeros [15].

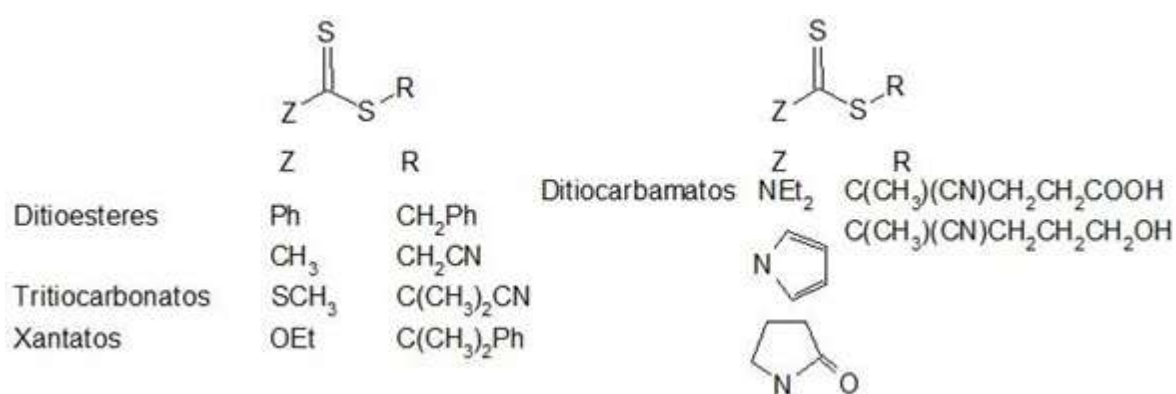


Figura 2. Diferentes tipos de agentes de transferencia de cadena.

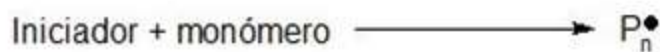
Algunas ventajas de la polimerización RAFT son:

1. La capacidad de controlar la polimerización de la mayoría de los monómeros que se polimerizan por polimerización radicalica. Estos incluyen monómeros de metacrilatos, metacrilamidas, acrilonitrilos, estirenos, dienos y vinil [17].
2. La tolerancia de funcionalidad sin protección en monómero y solvente (ejemplo, OH, NR₂, COOH, CONR₂ y SO₃H). Las polimerizaciones pueden ser llevadas a cabo en medio acuoso o prótico [17].
3. Compatibilidad con condiciones de reacción (por ejemplo: masa, soluciones acuosas u orgánicas, emulsión, mini-emulsión y suspensión) [17].
4. Fácil implementación y relativamente económico comparado con tecnologías similares [17].

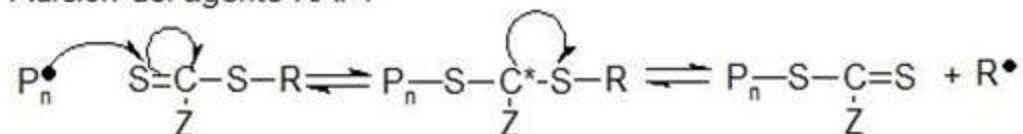
1.2.1.1. Mecanismo de polimerización RAFT

El mecanismo de la polimerización RAFT con los agentes tiocarbonitio implica una serie de pasos de adición-fragmentación. Para una polimerización convencional radicalica libre, la iniciación por descomposición de un iniciador lleva a una formación de cadenas de propagación. En las primeras etapas, la adición de un radical propagador (P_n•) al agente RAFT [S = C(Z)SR] seguido por la fragmentación del radical-intermedio da lugar a un agente RAFT polimérico y a un nuevo radical (R•) [15]. En la **Figura 3** se presenta el mecanismo de reacción de la polimerización RAFT.

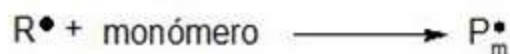
Iniciación y Propagación



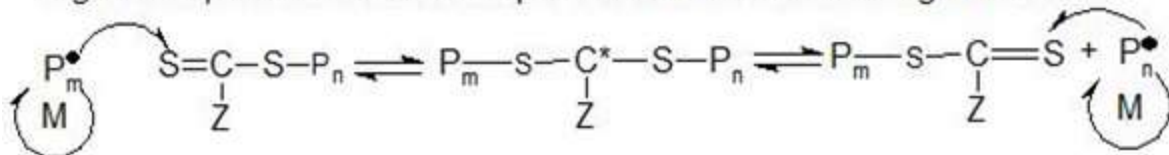
Adición del agente RAFT



Reiniciación



Lograr el equilibrio de la cadena por la reversible adición-fragmentación



En general

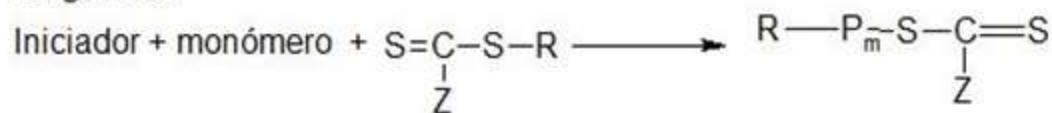


Figura 3. Mecanismo de la polimerización RAFT con agentes tiocarbonilto.

El radical R reinicia la polimerización debido a que reacciona con el monómero para formar un nuevo radical de propagación (P_m^\bullet). En la presencia de monómero, el equilibrio entre las especies de propagación activas (P_n^\bullet y P_m^\bullet) con el compuesto del polímero RAFT durmiente proporciona una misma probabilidad de crecimiento para todas las cadenas. Esta característica del proceso RAFT conduce a la producción de polímeros de estrecha polidispersidad. Cuando la polimerización está completa, la gran mayoría de las cadenas contiene la fracción tiocarbonilto como el grupo final [15].

Polímeros sintéticos y sus híbridos con moléculas biológicas se han utilizado cada vez más en la biotecnología, ciencias biomédicas y tecnologías farmacéuticas.

Desde mediados del siglo 20 se han ido desarrollando polímeros a los que se denomina inteligentes, esto debido a que reaccionan a un cambio en su ambiente o el medio donde se encuentran [18].

1.3. Polímeros Termosensibles

La clase de polímeros inteligentes son los que tienen la habilidad de responder hacia un cambio externo, un ejemplo la temperatura: una propiedad que los hace materiales útiles en un intervalo de aplicaciones. Los polímeros termosensibles son usados para aplicaciones biomédicas tales como la liberación de fármaco. Los polímeros sensibles a la temperatura exhiben VPTT (por sus siglas en inglés *Volume Phase Transition Temperature*), punto en donde el polímero presenta dos fases, causando un repentino cambio en el estado de solvatación. Los polímeros que son insolubles cuando se les aumenta la temperatura, tienen una temperatura crítica inferior de disolución (LCST, por sus siglas en inglés *Lower Critical Solution Temperature*), los sistemas que son solubles cuando se les aumenta la temperatura, tienen una temperatura crítica superior de disolución (UCST, por sus siglas en inglés *Upper Critical Solution Temperature*) [19]. A temperaturas más extremas, la mezcla se separa en dos fases. La temperatura máxima para la separación de fases se designa temperatura crítica superior de disolución, mientras que la temperatura mínima para la separación de fases se designa temperatura crítica inferior de disolución [20].

Los sistemas LCST y UCST no están restringidos para un ambiente de solvente acuoso, pero únicamente el sistema acuoso es de interés para aplicaciones biomédicas [19].

1.4. Comportamiento LCST y UCST

Si la temperatura de una disolución de polímero aumenta o disminuye, eventualmente el disolvente tiene un comportamiento termodinámico “malo”, esto se debe a que el sistema alcanza una temperatura más allá de la cual el polímero y el disolvente no son miscibles en todas las proporciones [20]. Las mezclas de polímeros pueden exhibir una variedad de comportamientos coexistentes,

incluyendo temperatura crítica superior de disolución (UCST), temperatura crítica inferior de disolución (LCST), y una combinación de ambas. Cuando ambas UCST y LCST están presentes, la separación de fases puede ser tal cual la región intermedia que es inmisible, como es el caso de un diagrama de bucle cerrado o miscible, como se muestra en la **Figura 4** [9].

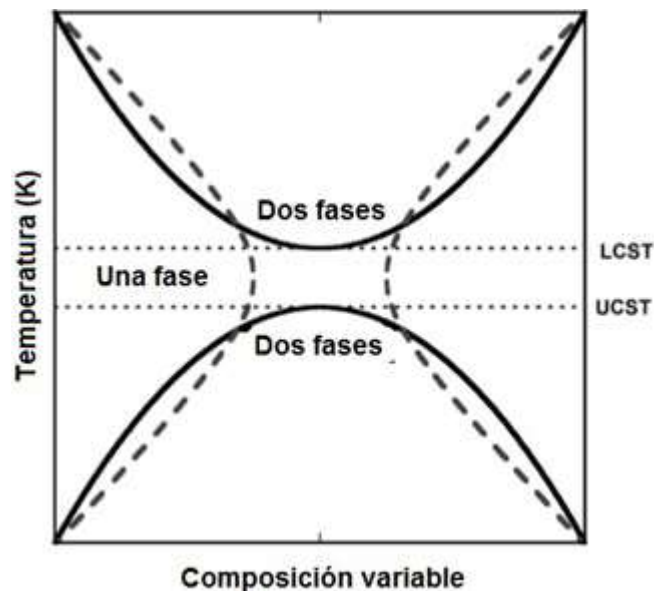


Figura 4. Diagrama de fase mostrando la temperatura crítica superior de disolución (UCST) y la temperatura crítica inferior de disolución (LCST) superpuestas que muestran la separación de fases tanto al calentar como al enfriar.

Por ejemplo, la poli N-isopropilacrilamida presenta una transición de fase, la cual es casi independiente de la concentración o del peso molecular. Entonces la temperatura de transición a cualquier concentración dada es casi idéntica a la LCST, en la **Tabla 2** se menciona una selección de polímeros con el comportamiento de LCST o UCST en soluciones acuosas [19].

Tabla 2. Selección de polímeros con comportamiento LCST o UCST en la región de temperaturas de interés para aplicaciones biomédicas.

Polímero	Temperatura de transición de fase en solución acuosa
Comportamiento LCST	
Poli (N-isopropilacrilamida)	30-34 °C
Poli (N,N-dietilacrilamida)	32-42 °C
Poli (metil-vinil-eter)	37 °C
Poli (N-vinilcaprolactama)	30-50 °C
Copolímero de bloque de poli (óxido de etileno) y poli (óxido de propileno)s	20-85 °C
Poli (pentapeptido) de elastina	28-30 °C
Comportamiento UCST	
PAAm/PAAc IPN	25°C

En la **Tabla** superior se observan las diferentes temperaturas que tienen los polímeros en sus respectivos comportamientos, ya sea LCST o UCST. EL copolímero tribloque P(DAM-*b*-NIPAM-*b*-AM) presenta una LCST de 45 °C, la cual se encuentra dentro del intervalo de las temperaturas de transiciones de fase para aplicaciones biomédicas [21].

1.5. Liberación de fármaco

El término liberación modificada define a las especialidades farmacéuticas que se han diseñado de tal forma que se ha modificado el lugar o la velocidad con la cual es liberado el principio activo. Habitualmente se utiliza la expresión “formas *retard*” para englobar diferentes sistemas de liberación, aunque estrictamente estas formas solamente corresponden a las de liberación retardada [22].

Algunas de estas liberaciones se realizan si el fármaco se encuentra en la superficie de algún material que le sirva como soporte, almacenado en el interior de otro material parecido a lo que sería un reservorio o encapsulado [23].

1.6. Microencapsulación de fármaco

Las técnicas de microencapsulación han sido desarrolladas para resolver los problemas de tiempo de vida medio de una sustancia activa. La microencapsulación puede envolver fármacos proteína/péptido en el interior y protegerlos de la degradación por enzimas, y que los pueda liberar a altas concentraciones durante tiempos prolongados [24]

1.6.1. Métodos de microencapsulación

En el siglo XXI la tecnología de la microencapsulación ha sido ampliamente aplicada a la liberación de fármaco. Las microcápsulas poliméricas biodegradables han recibido gran atención debido a sus características como agentes transportadores. Algunos de estos sistemas portadores de fármacos poseen alto potencial para varias aplicaciones en los campos terapéuticos y farmacéuticos tales como anti-inflamación, antibióticos, anti-tumor, proteínas y vitaminas. Estos tipos de biofarmacéuticos pueden ser producidos simplemente por un sistema aceite-en-agua (o/w, por su nombre en inglés *oil-in-water*) o en un sistema agua-en-aceite (w/o por su nombre en inglés *water-in-oil*). Generalmente, se usa un sistema o/w que hace referencia al proceso de emulsión en el cual el aceite es usado como una fase dispersa mientras el material soluble en agua (material hidrofílico) se emplea como un medio disperso durante el proceso de formación de microcápsulas. Sin embargo, un sistema w/o se refiere al proceso de emulsión el cual contiene el material soluble en agua (material hidrofílico) como la fase dispersa y el aceite como el medio disperso durante el proceso de elaboración [25].

El sistema o/w puede ser aplicado hacia los agentes solubles en aceite de liberación, incluidos los solubles en grasa, vitaminas A, D, E y K, tanto como los fármacos insolubles en agua (por ejemplo: Indometacina [26]). El sistema w/o puede ser aplicado hacia la liberación de agentes hidrofílicos, incluyendo vitaminas B y C

solubles en agua, antibióticos y fármacos quimioterapéuticos (por ejemplo: Cisplatin) [25]. En la **Figura 5** se muestra esquemáticamente los diagramas de un sistema o/w y w/o.

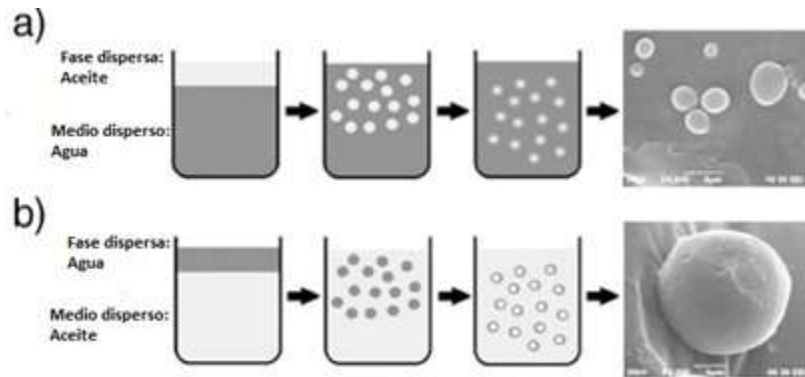


Figura 5. Diagramas esquemáticos de a) un sistema o/w y b) un sistema w/o.

Este tipo de metodología para la microencapsulación donde se obtienen microesferas (tamaños que van desde 1 – 800 μm) puede consistir de un núcleo activo rodeado de un material de revestimiento de espesor uniforme o no, en el interior de la microcápsula la mayoría de las veces está compuesto por el ingrediente activo a encapsular [27]. El uso de esta tecnología se debe a la protección que se le brinda al fármaco cuando se encuentre en medios tales como ácidos, alcalinos, oxidativos, entre otros [25].

1.7. **Fármaco: Indometacina**

El manejo farmacológico de la artritis reumatoide (AR) tradicionalmente se ha apoyado en tres grandes grupos de medicamentos: los anti-inflamatorios no esteroideos (AINE), los denominados fármacos modificadores de la evolución de la enfermedad y por último los corticosteroides orales o de aplicación local [28].

Los salicilatos y otros fármacos similares, utilizados para tratar las enfermedades reumáticas, comparten la propiedad de suprimir los signos y síntomas de la inflamación. Estos fármacos también ejercen efectos antipiréticos y analgésicos, pero son sus propiedades anti-inflamatorias las que los vuelven útiles para el control de los trastornos en los cuales el dolor se relaciona con la intensidad de los

procesos inflamatorios. Varios de los AINE se utilizan para indicaciones especiales éstos incluyen indometacina y ketorolac [28].

La indometacina, que se puso a la venta en 1963, es un derivado del indol. Es ligeramente más tóxica, pero en ciertas circunstancias resulta más eficaz que la aspirina. En el laboratorio, está entre los más potentes de los inhibidores de la síntesis de prostaglandinas. La indometacina se absorbe bien después de su administración oral, y se fija fuertemente a las proteínas plasmáticas. Su metabolismo se efectúa en el hígado, y el fármaco sin cambios y sus metabolitos inactivos se excretan en bilis y orina [28].

Para usos clínicos no se recomienda el uso de la indometacina como analgésico, no se utiliza en niños; sin embargo, es útil en situaciones especiales, incluyendo artritis gotosa aguda y espondilitis anquilosante además se ha observado que es eficaz en las afecciones inflamatorias extra-articulares como pericarditis y pleuresía, así como en el síndrome de Bartter. Las reacciones adversas que presenta este AINE son: con niveles de dosificaciones más altos, al menos una tercera parte de los pacientes presenta reacciones a la indometacina que requieren la suspensión del fármaco. Los efectos gastrointestinales pueden incluir dolor abdominal, diarrea, hemorragia gastrointestinal y pancreatitis. De 15 a 25 % de los enfermos experimenta cefalea, que puede relacionarse con desvanecimiento, confusión y depresión [29], diversos estudios han indicado que la dosificación recomendada más elevada de indometacina por vía oral (50 mg, 4 veces por día) produce menos pérdidas de sangre en las heces [7].

En la **Figura 6** se muestra la molécula de indometacina seguido de la **Tabla 3** donde se da a conocer las características del principio activo [26].

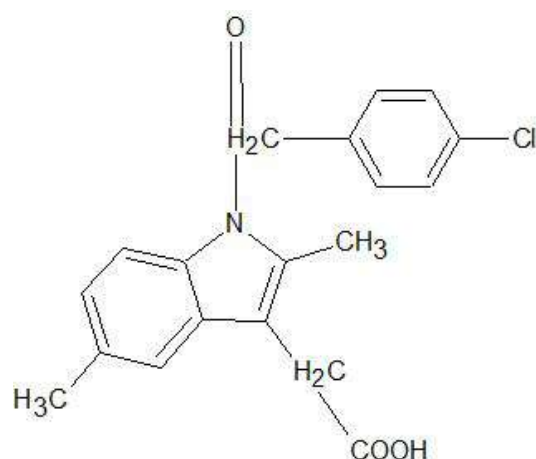


Figura 6. Molécula de indometacina (IMC).

Tabla 3. Propiedades fisicoquímicas de la indometacina

Nombre primario o nombre INCI	Indometacina (IMC)
Nombre Químico	1 -(4-clorobenzoil)-5-metoxi-2-metil-1H-indol-3-acético
Numero CAS	53-86-11
Monografía oficial	USP, BP
Formula estructural	C ₁₉ H ₁₆ ClNO ₄
Peso molecular	357,79 g/mol
Descripción Física	Polvo cristalino amarillo pálido o amarillo tostado, con un ligero olor característico.
Solubilidad USP	Prácticamente insoluble en agua, solubilidad 1 en 50 de alcohol, 1 en 30 de cloroformo y 1 en 40 de éter.
Condiciones de almacenamiento	Almacenar en lugar fresco, recipiente hermético y protegido de la luz.
Estabilidad	La principal degradación se da por una hidrólisis en la unión amida con la formación de ácido 4-clorobenzoico y 2-metil-5-metoxiindol-3-acetato, sufre procesos de oxidación
Punto de fusión	158-162°C
Máximos en el UV	230 nm y 281 nm

1.8. Técnicas de caracterización

La caracterización es fundamental para conocer composición, morfología, cristalinidad, etcétera, de un compuesto. A continuación, se describen brevemente las técnicas de caracterización utilizadas en este trabajo.

1.8.1. Análisis Termogravimétrico y Calorimetría de Barrido Diferencial (TGA/DSC)

1.8.1.1. Análisis Termogravimétrico (TGA)

En un análisis termogravimétrico (TGA por sus siglas en inglés *Thermogravimetric Analysis*) se registra continuamente la masa de una muestra, colocada en una atmósfera controlada, en función de la temperatura o del tiempo al ir aumentando la temperatura de la muestra (normalmente de forma lineal con el tiempo). La representación de la masa o del porcentaje de masa en función del tiempo se denomina termograma o curva de descomposición térmica [30].

La información que proporcionan los métodos termogravimétricos es más limitada ya que en este método una variación de la temperatura tiene que causar un cambio en la masa del analito. Por tanto, los métodos termogravimétricos están limitados en su mayor parte a las reacciones de descomposición y de oxidación y a procesos tales como la vaporización, la sublimación y la desorción [30].

1.8.1.2. Calorimetría de Barrido Diferencial (DSC)

En la calorimetría de barrido diferencial (DSC por sus siglas en inglés *Differential Scanning Calorimetry*) se usa una celda de medición que consiste en un horno y un sensor integrado con posiciones designadas para los platillos de muestra y de referencia. Las áreas del sensor están conectadas a termopares o incluso pueden formar parte del termopar. Esto permite registrar la diferencia de temperatura entre la muestra y el lado de referencia (señal DSC) y la temperatura absoluta de la muestra o del lado de referencia [30].

Es una técnica experimental dinámica que permite determinar la cantidad de calor que absorbe o libera una sustancia, cuando es mantenida a temperatura constante

durante un tiempo determinado, o cuando es calentada o enfriada a velocidad constante en un determinado intervalo de temperaturas. Como regla general, puede decirse que todas las transformaciones o reacciones donde se produce un cambio de energía, pueden medirse por DSC tales como [31]:

1. Medidas de capacidad calorífica aparente (fenómenos de relajación estructural) [31].
2. Determinación de temperaturas características de transformación o de transición tales como: transición vítrea, transición ferro-paramagnéticas, cristalización, transformaciones polimórficas, fusión, ebullición, sublimación, descomposición, isomerización, entre otras [31].
3. Determinar estabilidad térmica de los materiales y cinética de cristalización de estos [31].

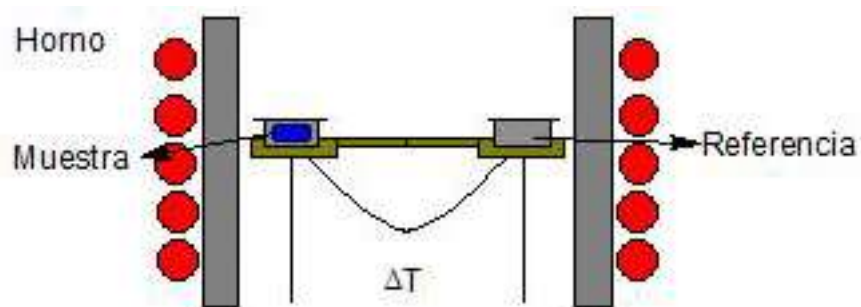


Figura 7. Esquema del equipo de análisis de TGA/DSC.

1.8.2. Difracción de rayos-X

Cuando los rayos X son dispersados por el entorno ordenado de un cristal, tienen lugar interferencias (tanto constructivas como destructivas) entre los rayos dispersados, ya que las distancias entre los centros de dispersión son del mismo orden de magnitud que la longitud de onda de la radiación. El resultado es la difracción [30].

Un haz de rayos X choca contra la superficie de un cristal formando un ángulo θ , una porción del haz es dispersada por la capa de átomos de la superficie. La porción no dispersada del haz penetra en la segunda capa de átomos donde, de nuevo, una

fracción es dispersada y la que queda pasa a la tercera capa. El efecto acumulativo de esta dispersión producida por los centros regularmente espaciados del cristal es la difracción del haz, de la misma forma que la radiación visible se difracta en una red de reflexión [30].

La difracción de rayos X proporciona un medio adecuado y práctico para la identificación cualitativa de compuestos cristalinos. El método de difracción de rayos X de polvo cristalino es el único método analítico capaz de suministrar información cualitativa y cuantitativa sobre los compuestos en una muestra sólida, esta técnica se basa en el hecho de que cada sustancia cristalina presenta un patrón de difracción único. Así, si se encuentra una igualdad exacta entre el patrón de una muestra desconocida y el de una muestra fiable, se puede dar por sentada su identidad química [30].

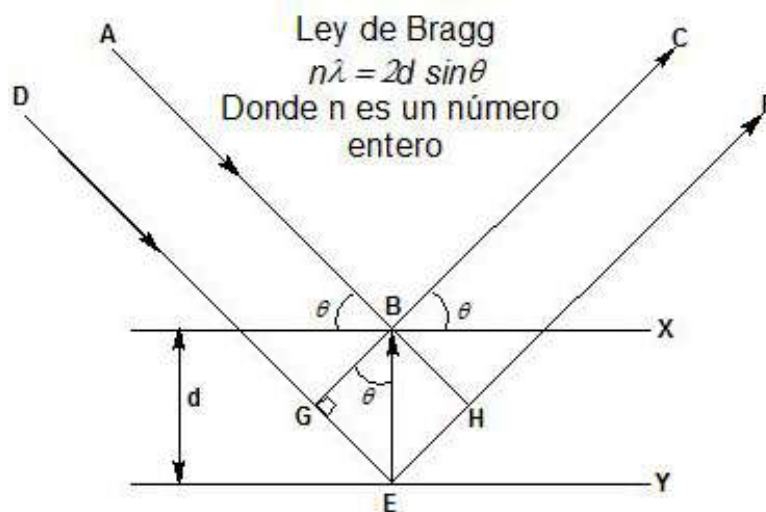


Figura 8. Representación de la Ley de Bragg.

1.8.3. Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

El Microscopio Electrónico de Barrido (SEM, por sus siglas en inglés *Scanning Electron Microscope*) permite la observación de materiales en escalas de nanómetros (nm) a micrómetros (μm). La utilidad del SEM estriba que puede observarse imágenes tridimensionales de la superficie de un gran número de

materiales. Su mayor aplicación es obtener imágenes topográficas en magnitudes de rango de 10- 10000 nm [29].

En un microscopio electrónico de barrido se barre mediante un rastreo programado la superficie del sólido con un haz de electrones de energía elevada y como consecuencia de ello se producen en la superficie varios tipos de señales. Estas señales incluyen electrones retrodispersados, secundarios y Auger; fotones debidos a la fluorescencia de rayos X y otros fotones de diversas energías. Todas estas señales se han utilizado en estudios de superficies, pero las más usuales son las que corresponden a: electrones retrodispersados y secundarios, en los que se fundamenta el microscopio de barrido de electrones y la emisión de rayos X, que se utiliza en el análisis con microsonda de electrones [30].

El microscopio electrónico de barrido proporciona información morfológica y topográfica sobre la superficie de los sólidos que normalmente es necesaria para entender el comportamiento de las superficies. Así, un examen por microscopía de electrones es a menudo la primera etapa en el estudio de las propiedades de las superficies de un sólido [30].

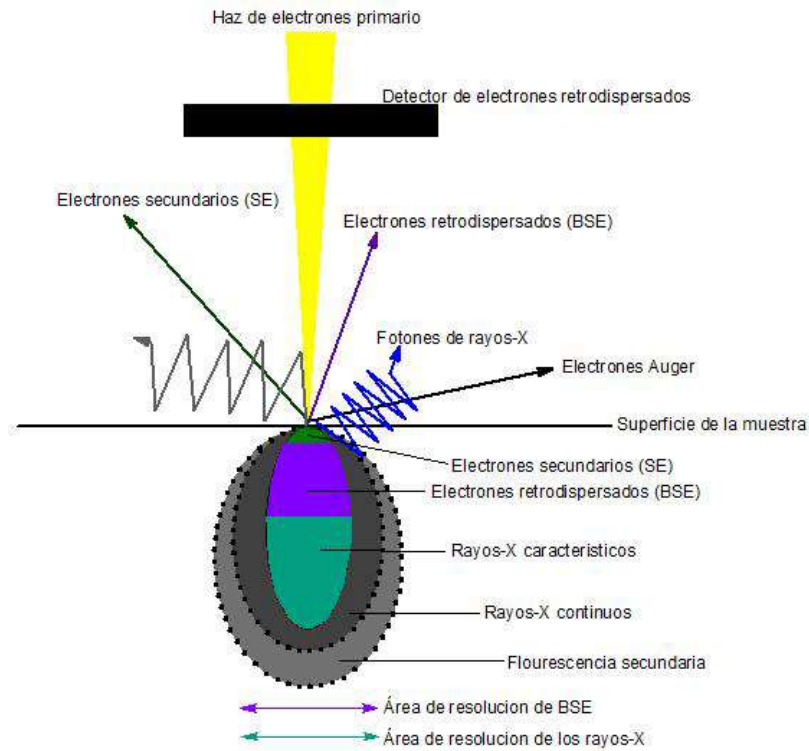


Figura 9. Representación del principio básico de la Microscopía Electrónica de Barrido.

1.8.4. Espectroscopia UV-Visible

En espectrometría de absorción molecular ultravioleta y visible se observan absorptividades molares que van desde cero hasta un máximo del orden de 10^5 . La absorción de radiación ultravioleta o visible por una especie atómica o molecular se puede considerar como un proceso de dos etapas, la primera de ellas consiste en una excitación electrónica seguida de un proceso de relajación que no es más que la terminación del estado de excitación de la especie excitada electrónicamente [30].

La absorción de UV-Vis resulta, generalmente, de la excitación de los electrones de enlace; como consecuencia, las bandas de absorción pueden correlacionarse con los tipos de enlaces de las especies objeto de estudio. Esta espectroscopia es por lo tanto válida para identificar grupos cromóforos en una molécula [30].



Figura 10. Diagrama de un espectrofotómetro con haz sencillo.

Capítulo 2.

Metodología

2. Metodología

2.1. Origen y pureza de los reactivos utilizados

En la **Tabla 4** se muestran los reactivos empleados para la síntesis del copolímero tribloque termosensible P(DAM-*b*-NIPAM-*b*-AM) y la elaboración de las cápsulas.

Tabla 4. Lista de reactivos.

Reactivo	Pureza (%)	Proveedor
4,4-azobis ácido cianovalerico	≥98.0	Sigma-Aldrich
1,4-Dioxano	≥99.8	Sigma-Aldrich
Aceite Mineral	-	Grupo Medina
Acetona	≥99.8	Sigma-Aldrich
Ácido clorhidrico	≥37	Sigma-Aldrich
Acrilamida	≥99	Sigma-Aldrich
Agua tridestilada	-	CTR
Alcohol metílico	-	CTR
Carbonato hidrogenado de sodio	-	Meyer
Cloruro de acriloloilo	97	Fluke
Cloruro de sodio	-	J.T. Baker
Ditiobenzoato de Benzilo	-	Previamente sintetizado
Dodecilamina	98	Sigma-Aldrich
Dimetilsulfóxido	99.93	Fermont
Éter de petróleo	≥95	Sigma-Aldrich
Hexano	99.8	J.T. Baker
N-isopropilacrilamida	≥97	Sigma-Aldrich
Sulfato de sodio	-	Meyer
Tetrahidrofurano	≥99	Meyer
Trietilamina	≥99.5	Sigma-Aldrich

2.2. Síntesis del monómero hidrófobo dodecilacrilamida (DAM)

En un matraz de bola de tres bocas, equipado con agitación magnética se introdujo dodecilamina (84.6 mmol) y trietilamina (90.4 mmol) en tetrahidrofurano (1,541 mmol). En un embudo de adición se colocó una solución de cloruro de acrililo y tetrahidrofurano. La solución de cloruro de acrililo (91.59 mmol) se agregó gota a gota al matraz que contenía tetrahidrofurano (616.4 mmol) y la amina debía estar a temperatura aproximada de 0°C por un lapso de dos horas (debido a que es una reacción muy exotérmica), después de que se agregó la solución, se dejó que el medio de reacción alcanzara la temperatura ambiente dejándola por 12 horas suplementarias [29].

Se observó un precipitado color beige que es el subproducto de la reacción (clorhidrato de trietilamina) el cual se filtró y desechó, el filtrado (el líquido amarillo que contiene el tetrahidrofurano y el monómero hidrófobo) se lavó tres veces con una solución de ácido clorhídrico al 10 % para neutralizar la trietilamina restante, enseguida se lavó con una solución de carbonato hidrogenado de sodio al 10%, y finalmente se le aplicó un lavado con una solución de cloruro de sodio al 10%. A la solución final se le retiró el agua filtrándola en presencia de sulfato de sodio, después se llevó al rotavapor para evaporar el exceso de tetrahidrofurano, a temperaturas no mayores de 60°C, una vez terminada la evaporación, se procedió a verter la solución de hexano con acetona (1:1) y se almacenó a temperaturas bajas durante 24 horas. Después se procedió a verter en un recipiente para la evaporación de los solventes a temperatura ambiente durante 24 horas [29].

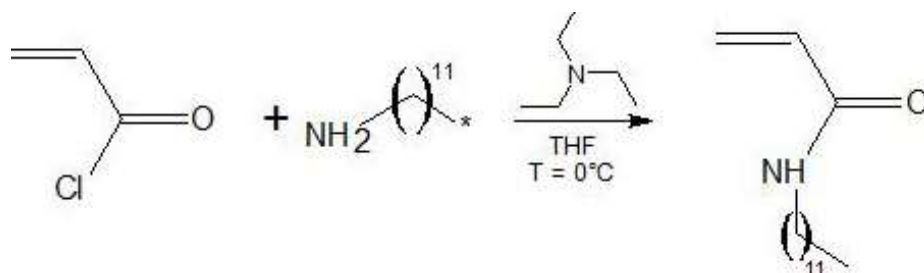


Figura 11. Representación esquemática de la reacción de síntesis del monómero dodecilacrilamida.

2.3. Síntesis del copolímero tribloque termosensible P(DAM-*b*-NIPAM-*b*-AM)

La síntesis de este copolímero se llevó a cabo en tres etapas:

2.3.1. Primera etapa: Síntesis de PDAM

En un tubo schlenk se introdujo el monómero DAM (6.695 mmol), el iniciador ACVA (0.446 mmol) y el agente de transferencia BDB (1.116 mmol), los componentes se disolvieron en 1,4-Dioxano al 85% (w/w), una vez que la mezcla fue homogénea se sometió a tres ciclos de desgasificación mediante la congelación del tubo con gas nitrógeno y un sistema de baño de agua fría, para eliminar la presencia de oxígeno en el tubo. La reacción se llevó a cabo en un baño de aceite a 60 °C durante 22 horas, la reacción se detuvo con un baño de agua fría [21, 29].

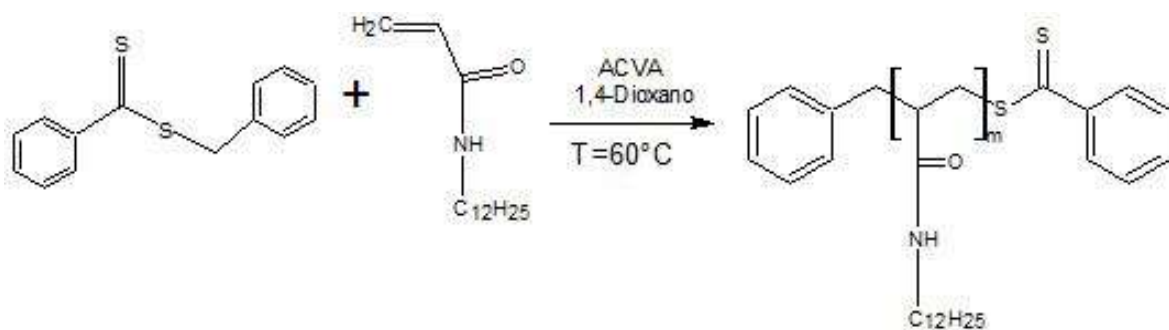


Figura 12. Esquema de la reacción de síntesis de P(DAM).

2.3.2. Segunda etapa: síntesis de P(DAM-*b*-NIPAM)

La segunda etapa se realizó in situ, es decir, a la solución de la primera etapa PDAM (0.674 mmol) se le agregó monómero NIPAM (59.348 mmol) y el iniciador ACVA (0.337 mmol), sin la purificación del macroagente, se disolvieron en 1,4-Dioxano al 75% (w/w), respecto a la masa agregada del iniciador y monómero, una vez que la mezcla fue homogénea, se llevó a cabo el proceso de desgasificación descrito en la primera etapa [21, 29].

La reacción se mantuvo durante 22 horas a 70°C. Para detener la reacción del matraz, se depositó en un baño de agua fría. La recuperación del copolímero fue por reprecipitación, se ocupó como agente precipitante éter de petróleo, una vez precipitado el polímero, se procedió a colocarlo en un liofilizador durante 24 horas para eliminar los disolventes lo mayor posible [21, 29].

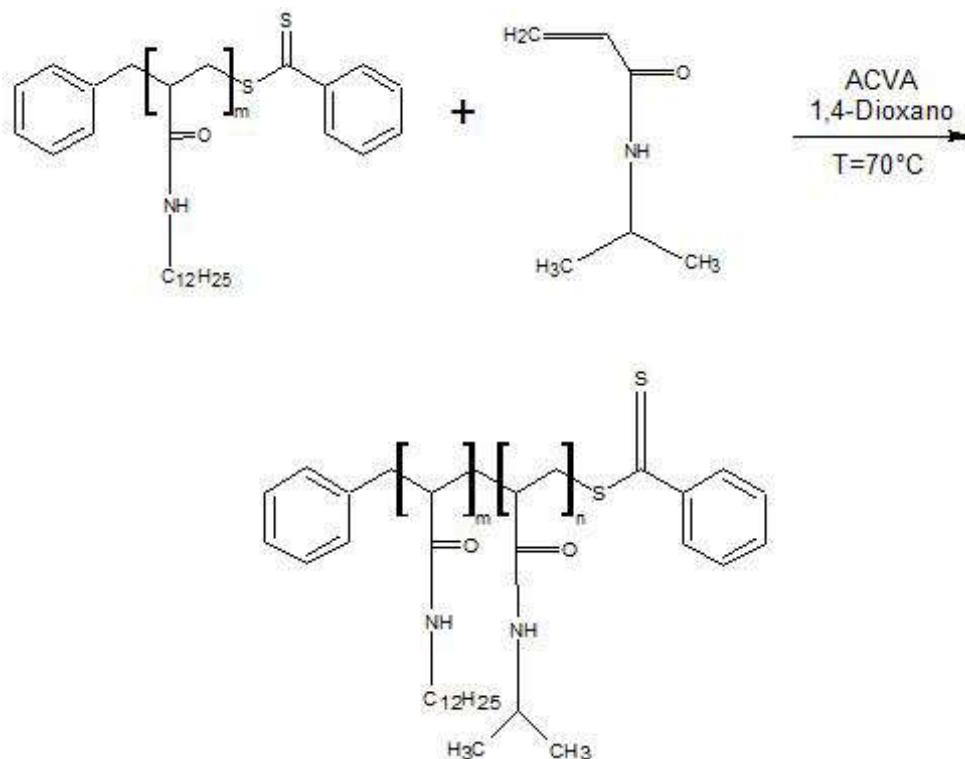


Figura 13. Esquema de la reacción de síntesis de P(DAM-*b*-NIPAM).

2.3.3. Tercera etapa: síntesis de P(DAM-*b*-NIPAM-*b*-AM)

Para la última etapa de síntesis conformado por DAM, NIPAM y AM se preparó una disolución con el copolímero P(DAM-*b*-NIPAM) (0.737 mmol), iniciador ACVA (0.368 mmol) y monómero acrilamida AM (14.738 mmol). Los cuales se disolvieron en DMSO al 75% (w/w), una vez que la mezcla fue homogénea, se eliminó el oxígeno por el proceso de desgasificación descrito en la primera etapa. La reacción se llevó a cabo en un baño de aceite durante 18 horas a una temperatura de 70°C. La reacción se detuvo en un baño de agua fría. La purificación del polímero fue por precipitación utilizando como disolvente precipitante agua tridestilada a 60°C, el polímero recuperado se secó durante 48 horas en un liofilizador [21, 29].

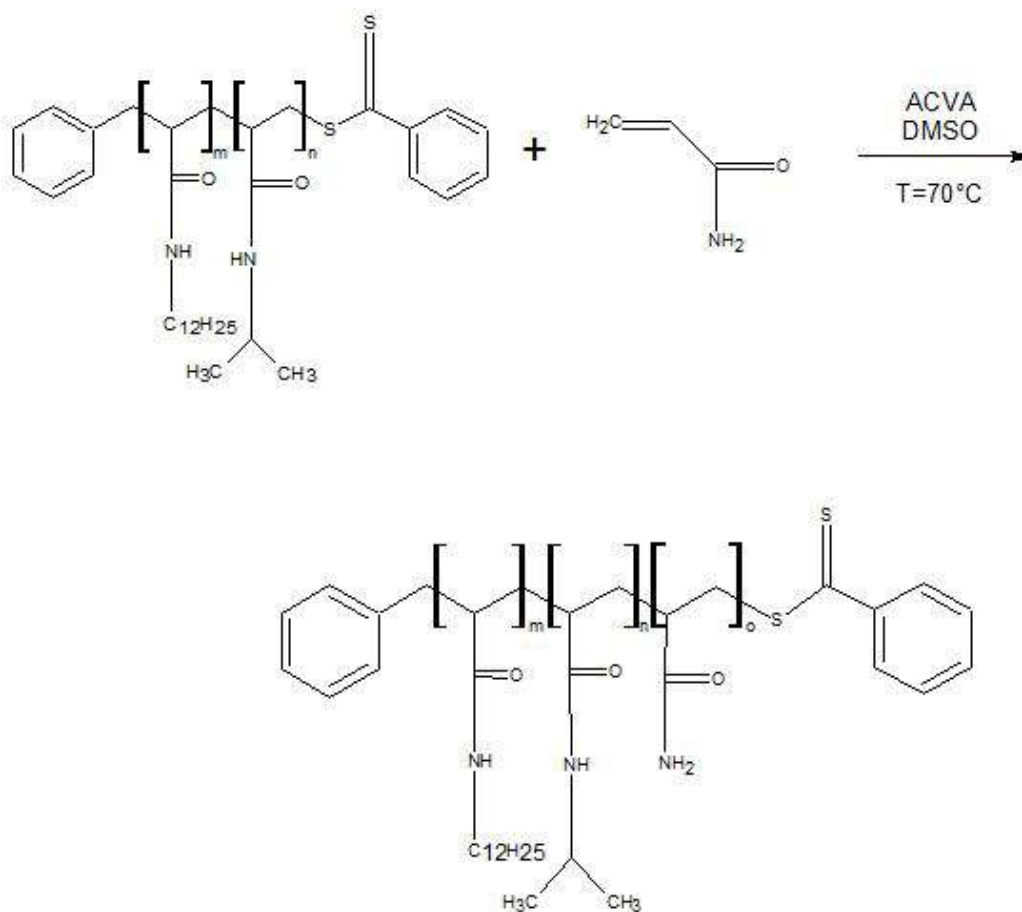


Figura 14. Esquema de la reacción de síntesis de P(DAM-*b*-NIPAM-*b*-AM).

2.4. Elaboración de las cápsulas

Las capsulas se prepararon a partir del copolímero y el fármaco indometacina, en aceite mineral y una solución de 0.1 N de HCl aforada con alcohol metílico [26].

Las concentraciones se muestran en la **Tabla 5**.

Tabla 5. Cantidades en gramos para el copolímero y el fármaco IMC.

Muestra	P(DAM- <i>b</i> -NIPAM- <i>b</i> -AM)	IMC
	g	g
1	0.5	1.0
2	1.0	1.0
3	1.5	1.0

Los compuestos se introdujeron en un reactor equipado con agitación durante 4 horas continuas a 4000 rpm, después se filtró la solución para recuperar las cápsulas, seguido de lavados con hexano, finalizando con un calentamiento para la evaporación de solventes a 70°C durante 6 horas [26].

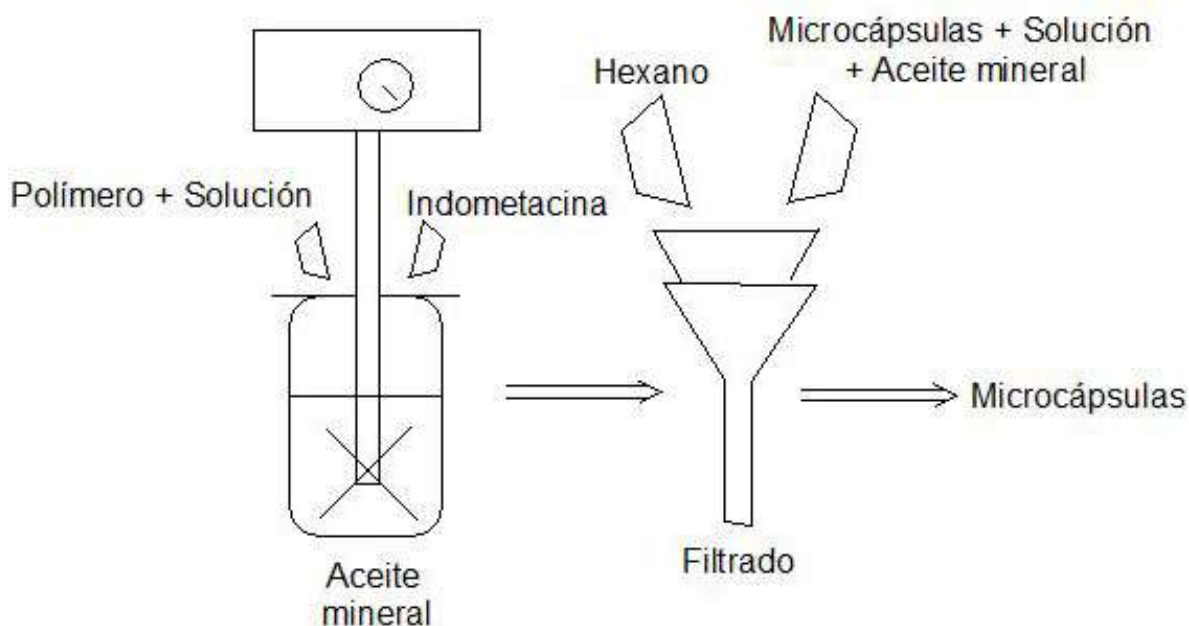


Figura 15. Diagrama de elaboración de las microcápsulas IMC + P(DAM-*b*-NIPAM-*b*-AM).

2.5. Caracterización de las cápsulas

2.5.1. Análisis Termogravimétrico y Calorimetría de Barrido Diferencial (TGA/DSC)

La temperatura de transición vítrea, fusión y cristalización de las capsulas se determinó por DSC en un equipo NETZSCH (STA 449 F# JUPITER) con flujo de nitrógeno, depositando 9 mg de muestra en un crisol de alúmina, el intervalo de temperaturas en el que se realizó el estudio fue de 25 a 600°C, con una velocidad de calentamiento de 10°C /min. Se determinó la T_g mediante una curva del flujo de calor por la masa analizada (mW/mg), contra la temperatura (°C). Se le aplicó a la curva de TGA la derivada por medio del software Origin 6, para obtener los valores de T_{max} de las muestras.

2.5.2. Difracción de rayos-X

Para determinar si hubo una encapsulación del fármaco tipo núcleo-coraza y determinar si el copolímero presentaba cristalinidad, se caracterizó mediante difracción de rayos-X usando un equipo marca BRUKER modelo D8 DISCOVER, para el método de polvos, con una longitud de onda de $Cu\ \alpha$ de 1.5401 Å, con las especificaciones de valores para 2θ de 5 a 70° con un tamaño de paso de 0.04° y un tiempo de paso de 5 s. La fase de identificación fue realizada mediante el uso de un programa computacional que tiene por nombre EVA V.9.0.

2.5.3. Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

Se utilizó un equipo marca JEOL modelo JSM6610 VL para poder observar morfología, este equipo también proporcionó información sobre la química del material sintetizado, por medio de la técnica EDS.

2.5.4. Espectroscopia UV-visible.

Se utilizó un espectrofotómetro marca UV-Genesys 105 UV-VIS. Se midió la absorbancia máxima a una longitud de onda de 318nm, usando la solución de SA de fosfatos (Fosfato monobásico de potasio hidróxido de sodio) como blanco de ajuste.

2.5.4.1. Evaluación de las cápsulas

Se ocupó el equipo DISOLUTOR el cual se operó con un baño térmico de agua a 37 °C (para asemejar la temperatura corporal), cada reactor contuvo 900 ml de solución de SA de fosfatos y 12.5 mg de cada muestra (cápsulas copolímero-fármaco y cápsula comercial según fuera el caso). Cada 15 minutos, durante 4 horas, se tomó una alícuota y se midió en su absorbancia máxima a 318 nm. Para calcular la concentración de fármaco en la mezcla se usó la siguiente fórmula [26]:

$$\text{Concentración} = CD \left(\frac{A_m}{A_{\text{ref}}} \right)$$

Ecuación 1. Fórmula para calcular la concentración de fármaco.

Donde:

C es cantidad por mililitro de la preparación de referencia.

D es factor de disolución de la muestra.

A_m es absorbancia obtenida con la preparación de la muestra.

A_{ref} es absorbancia obtenida con la preparación de referencia

Capítulo 3.

Resultados y discusión

3. Resultados y discusión

3.1. Análisis Termogravimétrico (TGA)

3.1.1. Indometacina

En Termogravimetría, es importante el análisis de la curva de TGA en conjunto con la primera derivada DTG, debido a que se obtiene un valor exacto de la temperatura en la cual el material presenta pérdida de componentes y por ende exhibe una transformación, en la **Figura 16** el termograma representa una descomposición de la indometacina en un proceso simple, esto quiere decir que el fármaco presenta una pureza elevada debido a que no se observó pérdida de masa por disolventes, obteniendo el valor de T_{max} de 351 °C.

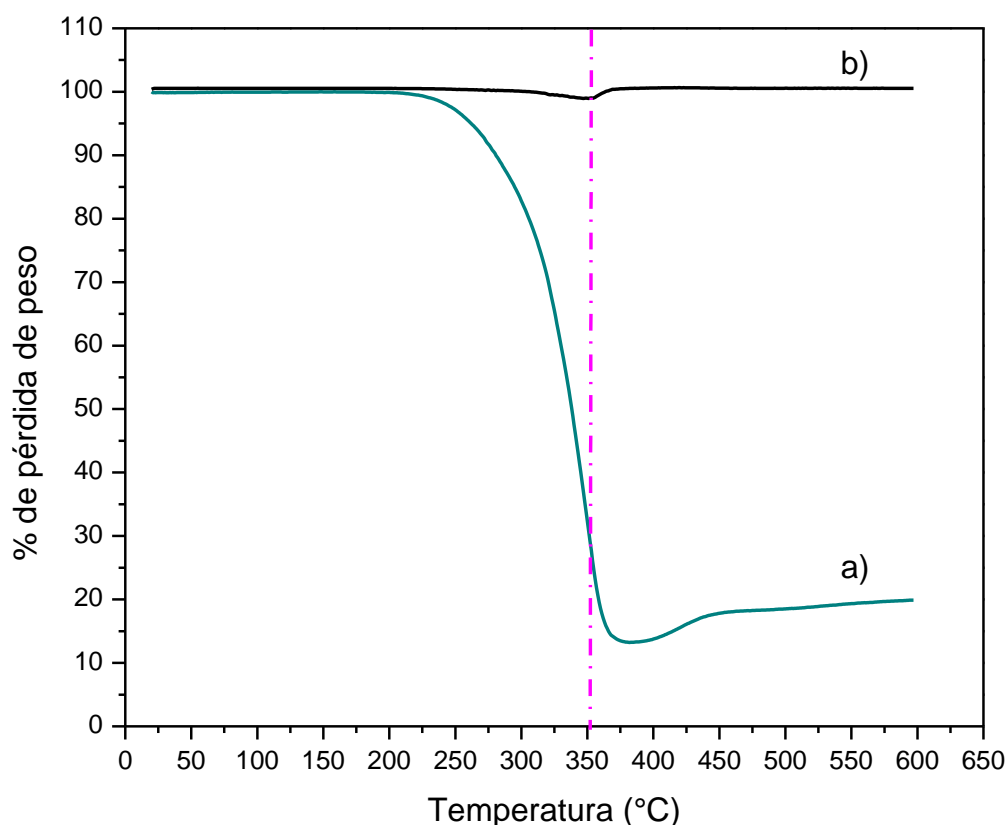


Figura 16. a) Termograma de la indometacina y b) Primera derivada para el cálculo de la T de máxima velocidad del proceso en general.

3.1.2. Copolímero tribloque P(DAM-*b*-NIPAM-*b*-AM)

En la **Figura 17** el termograma presenta una pendiente negativa, indicando la evaporación de solventes y desintegración de monómero residual, seguida de una descomposición del copolímero donde la temperatura de máxima velocidad del proceso en general es de 405°C, la cual se obtuvo con la derivada del TGA.

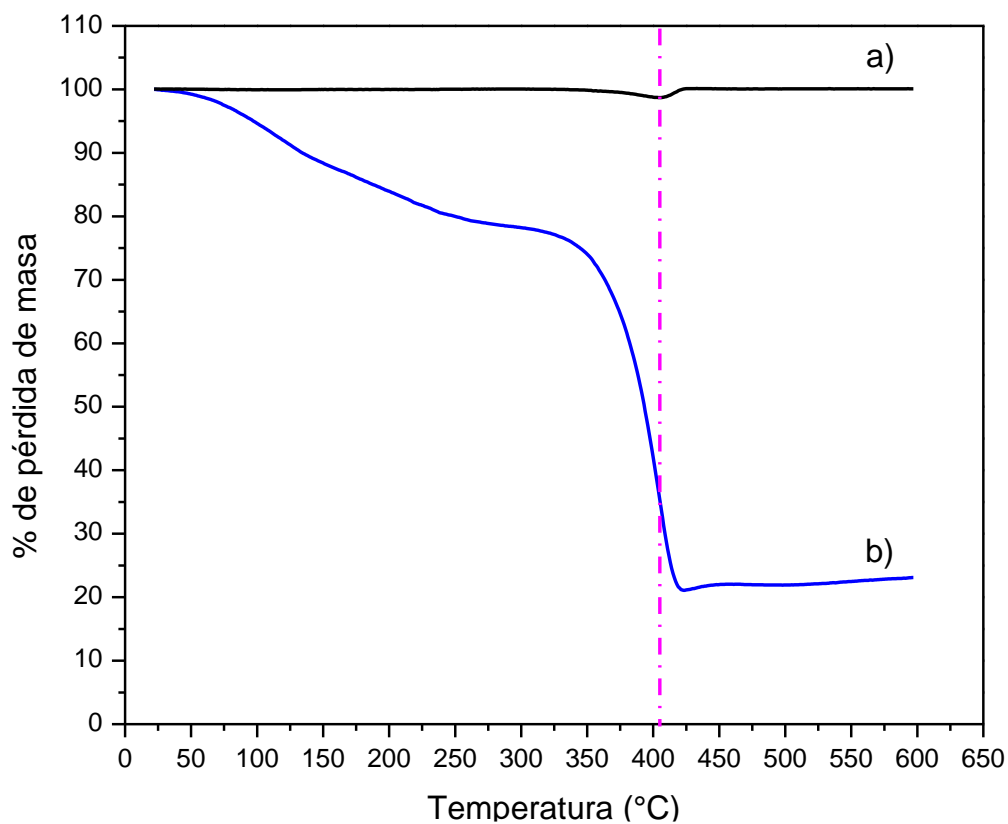


Figura 17. a) Termograma del copolímero tribloque y b) Primera derivada para el cálculo de la T de máxima velocidad del proceso en general.

3.2. Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

3.2.1. Indometacina

Mediante Calorimetría Diferencial de Barrido se obtiene información como son las temperaturas de transición vítrea, cristalización, fusión y descomposición; el termograma de la indometacina se presenta en la **Figura 18**, donde se observa a 164°C la temperatura de fusión (T_m), seguida de la temperatura de cristalización (T_c) a 349°C y por último la temperatura de descomposición (T_d) a 377°C. Comparando solamente la T_m reportada por la farmacopea, se concluye que se está trabajando con el fármaco en cuestión.

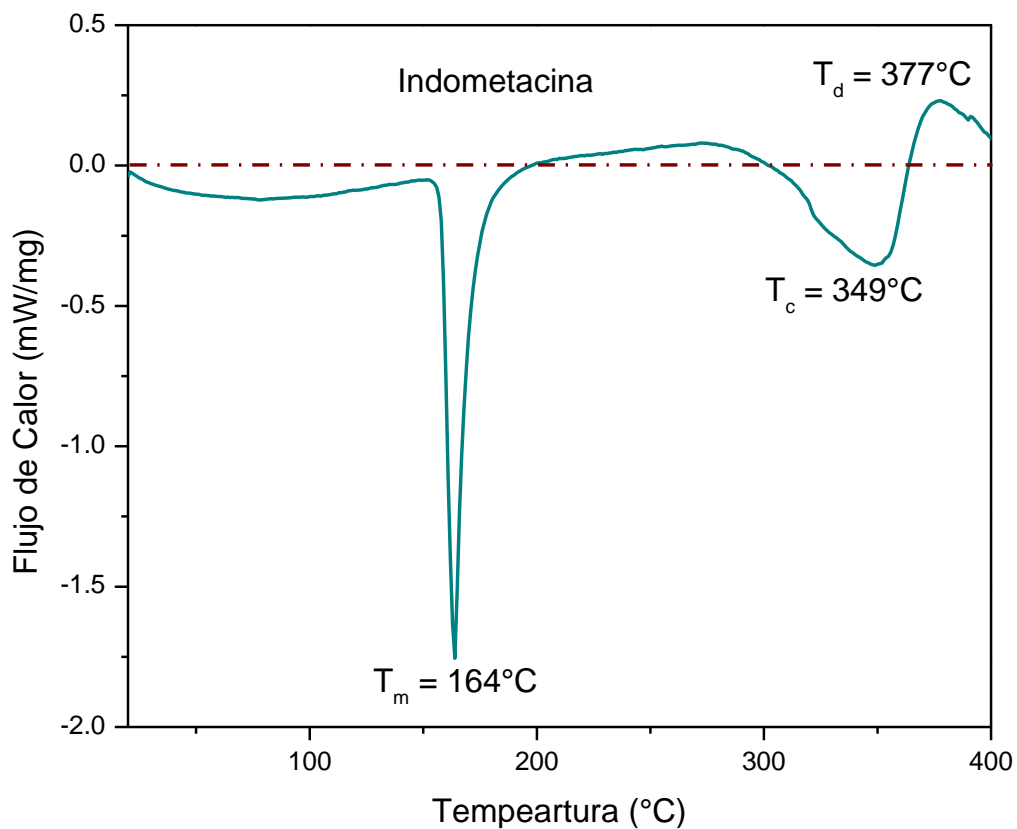


Figura 18. Termograma de la indometacina.

3.2.2. Copolímero tribloque P(DAM-*b*-NIPAM-*b*-AM)

Se realizó la identificación de las temperaturas características del polímero tales como: Temperatura de transición vítrea (T_g), Temperatura de cristalización (T_c) y Temperatura de fusión (T_m) comparando únicamente la T_g reportada anteriormente por Viveros y Delgadillo.

La T_g tuvo un valor de 147°C parecida a lo reportado, seguida de una T_c de 403°C y por último una T_d de 428°C (ver **Figura 19**). Según lo reportado por Viveros y Delgadillo se puede corroborar la obtención del copolímero debido al aumento de la T_g , calculándose en cada etapa y mostrando la siguiente **Tabla**.

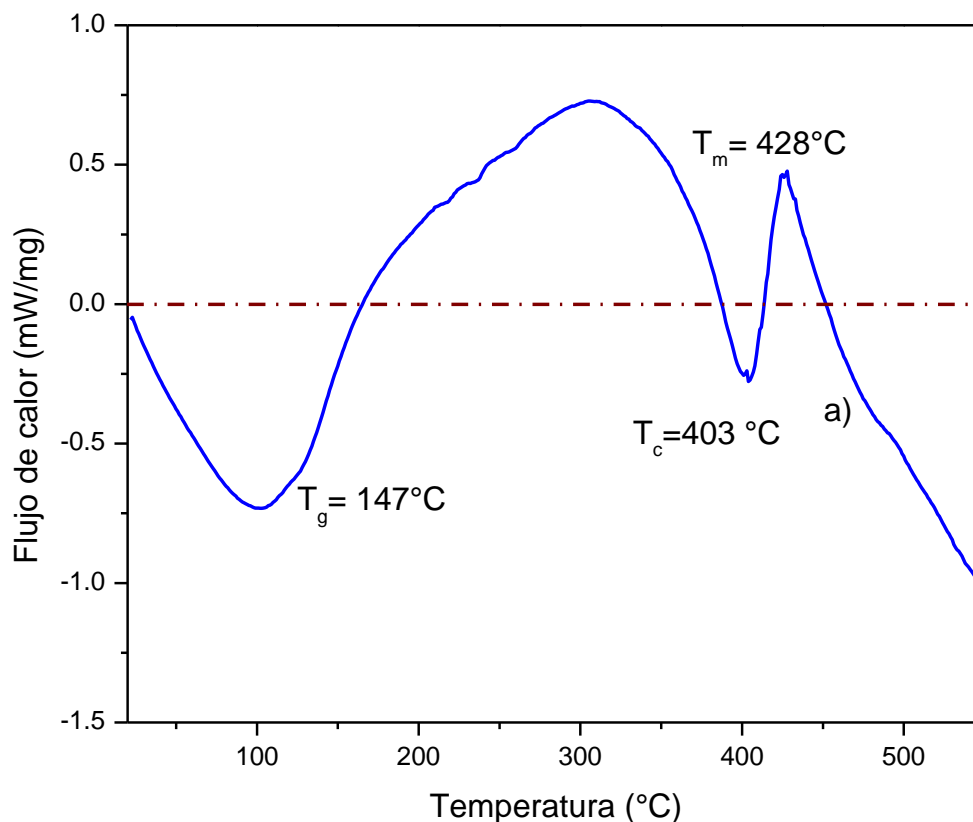


Figura 19. Termograma del copolímero tribloque P(DAM-*b*-NIPAM-*b*-AM)

En la **Tabla 6** se presentan los valores de la T_g de cada una de las etapas de síntesis del copolímero tribloque. Para una estructura así, se esperaría observar un inflexión por cada bloque, sin embargo solo se observa una inflexión (T_g) que se

desplaza a temperaturas mayores con la adición de cada bloque, esto se puede explicar debido a que los tres monómeros son base acrilamidas, variando únicamente los alquilos.

Tabla 6. Temperatura de transición vítrea, T_g de cada una de las etapas.

	PDAM	P(DAM-b-NIPAM)	P(DAM-b-NIPAM-b-AM)
T_g (°C)	94	106	147

3.2.2.1. Estructura y peso molecular del copolímero.

En estudios anteriores [32], se confirmó la incorporación de cada bloque por RMN¹H, teniendo las siguientes señales asignadas para el copolímero tribloque: 0.88 ppm -CH₂-CH₂-CH₃; 1 ppm -(CH₃-CH-CH₃); 1.2 ppm -CH₂-CH₂-CH₃; 1.4ppm -CH₂-CH; 2 ppm -CH₂-CH; 3.15 ppm -NH-CH₂-CH₂; 3.85 ppm -CH-NH; 7.3 ppm -NH.

Por cromatografía de permeación en gel, se determinó el peso molecular y polidispersidad de cada etapa. Los datos de peso molecular fueron los siguientes: PDAM 669 g/mol, P(DAM-b-NIPAM): 6751 g/mol, P(DAM-b-NIPAM-b-AM): 7130 g/mol; esto indica que los bloques se fueron incorporando de acuerdo a la alimentación en cada etapa de la síntesis. Los valores de polidispersidad fueron 1.23, 1.19 y 1.17 para cada etapa respectivamente; lo anterior significa que las estructuras obtenidas son monodispersas y que no se formaron homopolimeros, lo cual es de suma importancia, ya que esto nos asegura la formación de una estructura en bloque.

3.2.3. Microcápsulas

A cada una de las microcápsulas se le varió la cantidad en gramos del copolímero tribloque, manteniendo constante el peso del fármaco como se muestra en la siguiente **Tabla**.

Tabla 7. Cantidades en gramos para el polímero y el fármaco indometacina.

Muestra	P(DAM- <i>b</i> -NIPAM- <i>b</i> -AM)	IMC
	g	g
microcápsulas1	0.5	1.0
microcápsulas2	1.0	1.0
microcápsulas3	1.5	1.0

En la **Figura 20** se presentan las curvas endotérmicas de las microcápsulas preparadas donde se observó una modificación de la inflexión que sería la correspondiente a la T_c , se observaron dos o incluso tres inflexiones, las cuales son atribuidas a la presencia de una fase diferente de la IMC. Según lo reportado por Kaneniwa, N. se puede obtener una fase diferente del fármaco cuando esta se expone a una solución polar por periodos de tiempo no mayores a 4 horas, la fase que se obtiene es la indometacina en fase α .

El termograma de las microcápsulas1 señalada como a), tiene mayor semejanza a un termograma característico de la indometacina en fase α , mientras que los termogramas de las microcápsulas2 y microcápsulas3 señalados como b) y c) respectivamente presentan dos inflexiones en el intervalo de temperatura de 240 – 290 °C, atribuyendo que la cantidad de P(DAM-*b*-NIPAM-*b*-AM) tuvo influencia en la presencia de esas señales, observando que a igual o mayor cantidad de copolímero con respecto al fármaco puede presentar una modificación cercana a la T_c .

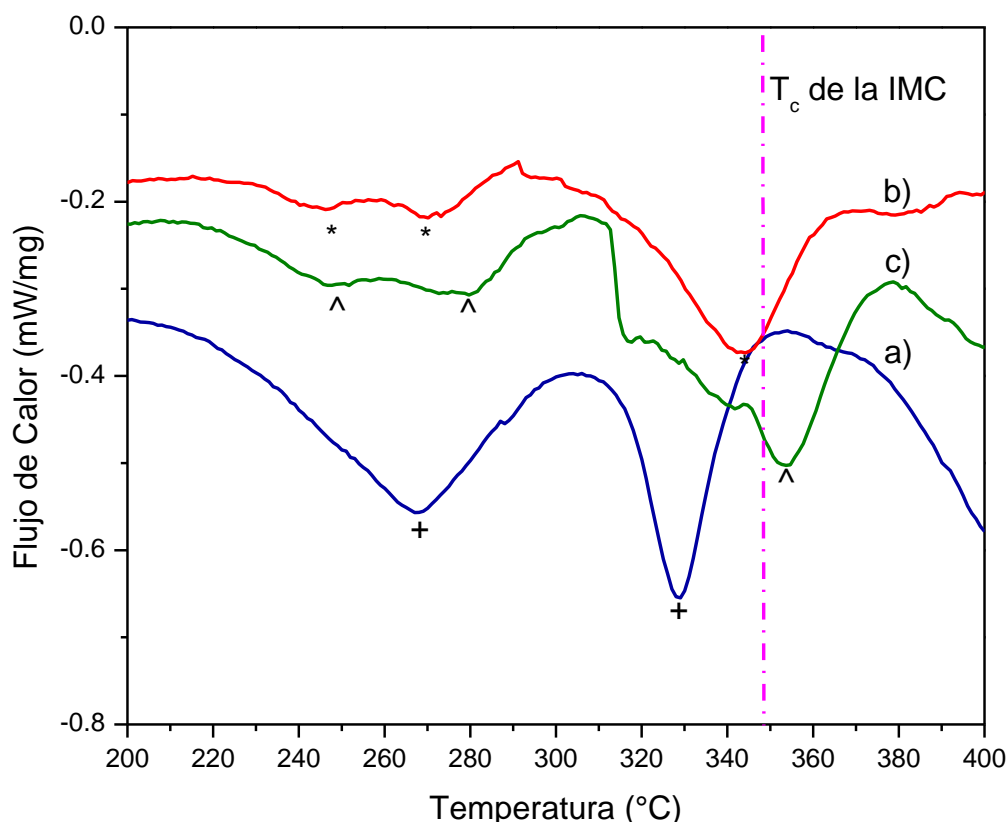


Figura 20. Termograma de a) Microcápsulas1, b) Microcápsulas2 y c) Microcápsulas3

Las curvas endotérmicas de las microcápsulas son muy parecidas al termograma de la indometacina pura, sin embargo, como hubo un cambio de fase cristalina, la temperatura de cristalización varía en cada muestra por lo que cada T_c se encuentra cerca de la T_c de la IMC pura. En la **Tabla 8** se muestra la T_c y la T_g de las microcápsulas, la T_c en general está entre 329 – 352°C mientras que la T_g se encuentra por valores menores y mayores a la T_g del copolímero, deduciendo que el cambio de fase del fármaco propició una modificación en las cadenas del P(DAM-*b*-NIPAM-*b*-AM).

Tabla 8. Valores de la T_c y T_g correspondientes a cada muestra.

	Copolímero	Indometacina	microcápsulas1	microcápsulas2	microcápsulas3
	°C	°C	°C	°C	°C
T_c	403	349	329	344	352
T_g	147	-	108	152	152

3.3. Difracción de rayos-X de IMC, P(DAM-*b*-NIPAM-*b*-AM) y microcápsulas

En la **Figura 21** se presentan los difractogramas de la indometacina, el copolímero P(DAM-*b*-NIPAM-*b*-AM) y las tres muestras de microcápsulas, el patrón de difracción de rayos X que corresponde a la indometacina mostró señales características en los ángulos de Bragg 2θ con valor de: 11.591, 16.637, 16.987, 19.585, 21.783, 23.981 y 26.599, que corresponden a la indometacina en fase triclinica de acuerdo a la ficha PDF 00-036-1700. El difractograma del copolímero tribloque no presenta cristalinidad, esto se debe a que el empaquetamiento de los bloques que lo componen no tienen un arreglo periódico que propicie la difracción, esto es porque es un material amorfo.

Las microcápsulas1, 2 y 3 presentan una disminución de la intensidad de las señales representativas del fármaco, con un ligero corrimiento hacia valores mayores del ángulo de Bragg 2θ debido a la aparición de la fase α de la IMC que se confirmó en los termogramas anteriores.

Las difracciones del fármaco no desaparecieron ni se observaron patrones de difracción de rayos X amorfos, pero sí con una desviación de la línea base; se presupone que la encapsulación del fármaco no se realizó en una forma núcleo-coraza como propone la literatura [27, 33], puesto que la cristalinidad de este no desapareció, pero se confirma la presencia de la fase α de la indometacina.

Debido a la presencia de una nueva fase cristalina de la IMC se presenta en la **Tabla 9** los diferentes valores de distancia planar la cual fue calculada a partir de la ecuación de la Ley de Bragg para las primeras cuatro señales más intensas del fármaco (11.591, 16.637, 16.987 y 19.585), comparando los valores calculados con los valores obtenidos de cada una de las microcápsulas.

Como se observa en la **Tabla 9**, la indometacina y microcápsulas1 presentan distancias planares parecidas por lo que se infiere que presentaron los mismos corrimientos en el ángulo de Bragg 2θ mientras que para las muestras microcápsulas2 y 3 presentan las mismas distancias entre ellas, observando una

disminución de la distancia, confirmando así el corrimiento de las señales hacia valores mayores del ángulo de Bragg 2θ , confirmando que el cambio de fase de la IMC y su deposición de esta sobre la superficie, modificó las distancias planares.

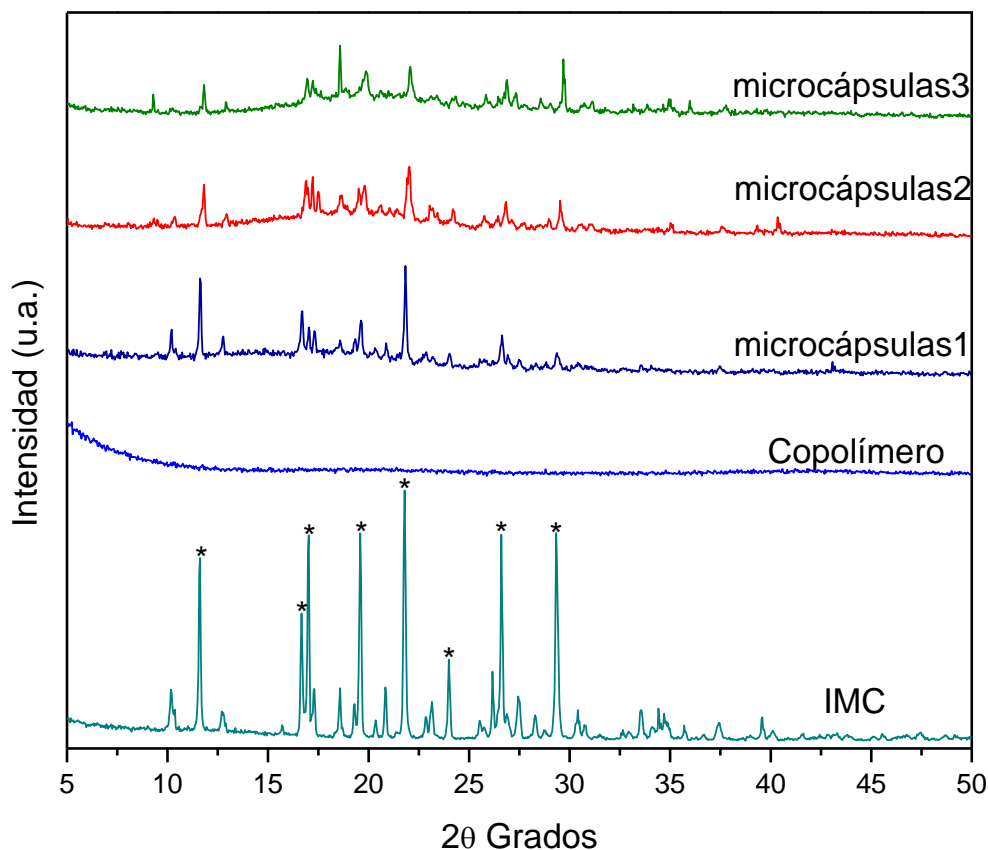


Figura 21. Patrones de difracción de rayos-X de indometacina, copolímero, microcápsulas1, microcápsulas2 y microcápsulas3.

Tabla 9. Comparación de las distancias planares de las cuatro primeras señales con mayor intensidad.

d_{hkl} indometacina (Å)	d_{hkl} microcápsulas1 (Å)	d_{hkl} microcápsulas2 (Å)	d_{hkl} mcápsulas3 (Å)
7.6117	7.6115	7.4829	7.4829
5.3144	5.3018	5.2394	5.2274
5.2026	5.2026	5.1426	5.1426
4.5268	4.5177	4.4995	4.4635

3.4. Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) de IMC y microcápsulas

Como se mencionó la Microscopía Electrónica de Barrido sirve para identificar la morfología de cualquier tipo de material, aunque existan algunas desventajas para la identificación cuando se trata de materiales que no propician la propagación de los electrones como es el caso de algunos materiales poliméricos.

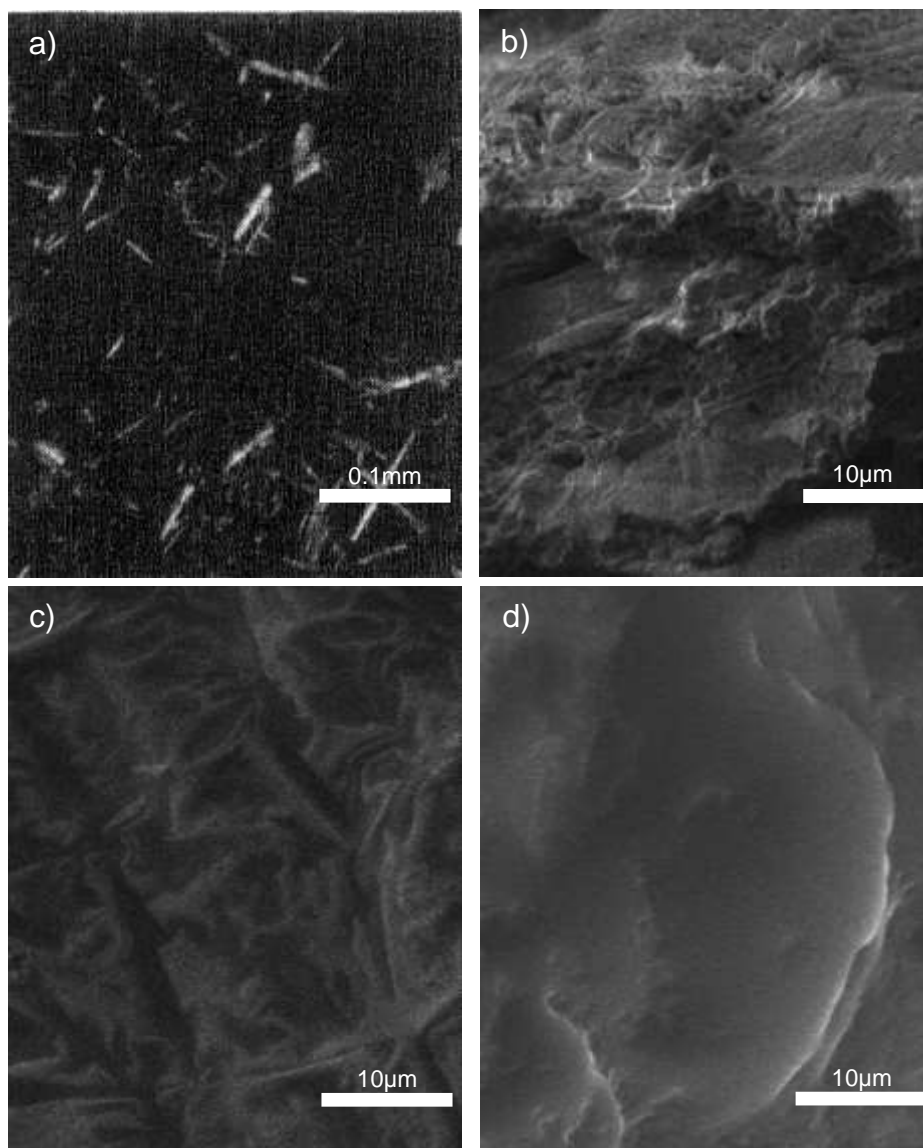


Figura 22. a) Fase α de la indometacina, b) Microcápsulas1, c) Microcápsulas2 y d) Microcápsulas3.

Según lo reportado por Kaneniwa, N., la morfología de la indometacina en fase α son filamentos que semejan agujas tal como se observa en **Figura 22 a)**, una vez que se realizó el proceso de encapsulamiento la morfología cambia, se observan aglomerados de estos filamentos tanto en la **Figura 22 b) y c)**.

En el inciso **d)** no se observa la morfología de aglomerados como en las anteriores, si no que la imagen muestra capas lisas las cuales están delimitadas, dichas capas muestran un área mayor a 10 μm .

3.5. Espectroscopia UV-Visible (UV-Vis)

El espectro de absorción en las regiones del ultravioleta y visible es útil para detectar la presencia de ciertos grupos funcionales que actúan como cromóforos [28]. La Farmacopea menciona que para evaluar la liberación del fármaco mediante la espectroscopia UV-Vis, se debe de medir la absorbancia a la longitud de onda de 318 nm pero en este caso se observó un ligero corrimiento del espectro hacia longitudes mayores debido a la modificación de fase de la indometacina, tal como lo muestra la **Figura 23**, obteniendo la absorbancia en valores de 318 nm a 321 nm.

Se realizó la evaluación por triplicado de cada muestra de microcápsulas, para obtener un promedio y realizar los cálculos que se mencionan en la metodología logrando obtener el perfil de liberación y hacer la comparación entre cada relación copolímero-fármaco.

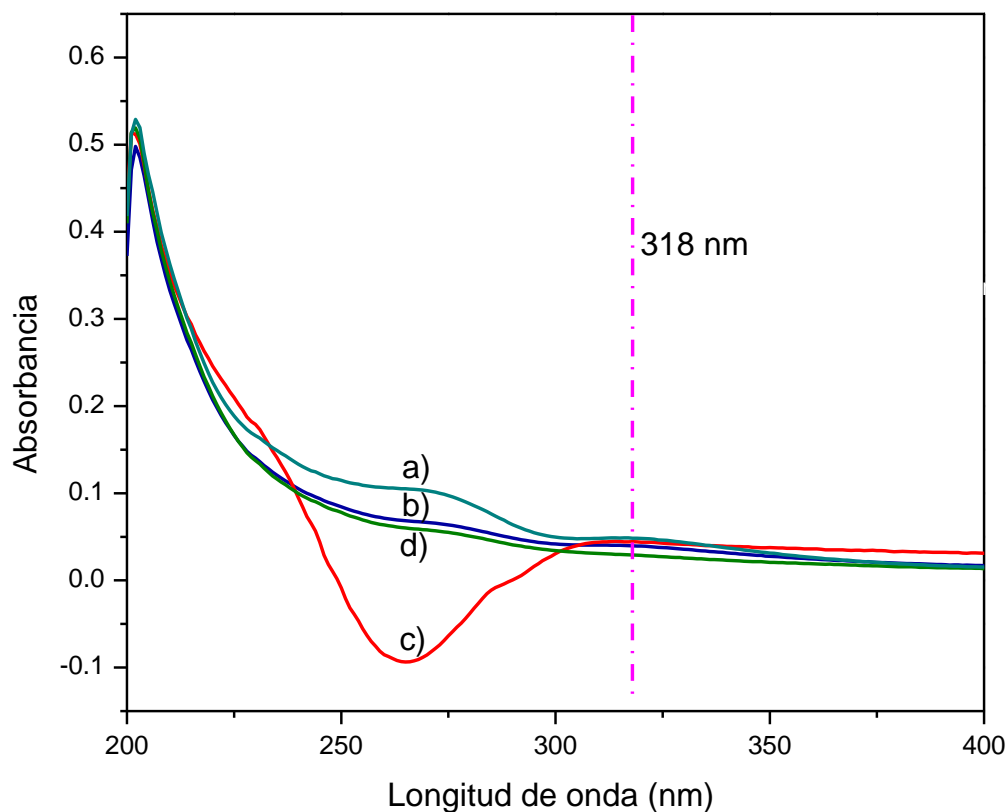


Figura 23. Espectro de absorción de a) IMC, b) Microcápsulas1, c) Microcápsula2 y d) Microcápsulas3.

3.6. Perfiles de liberación

Es importante mencionar que se propuso dicho copolímero tribloque debido a su arreglo conformacional en solución acuosa, a 37°C. Es decir, que este copolímero con dos bloques hidrófilos y uno hidrófobo, a temperatura ambiente, tienen un arreglo micelar parecido al núcleo-coraza; sin embargo, a 37°C sufren una inversión de micela. Es así que se propone que, a temperatura ambiente, las micelas de copolímero contengan al fármaco y que, al aumentar la temperatura, debido al cambio conformacional liberen el fármaco.

La prueba de disolución consiste en evaluar la concentración del fármaco con el tiempo, en este caso contenido en las microcápsulas, aunque también se comparó con una tableta comercial, esta se encuentra recubierta por una gelatina que cuando

se desintegra, va liberando al fármaco mientras que en las microcápsulas se encuentra la IMC sobre la superficie del copolímero tribloque.

Se usaron cantidades equivalentes de fármaco debido a que la cápsula comercial indica que el contenido de indometacina es de 125 mg y en relación a las microcápsulas estas también tenían la misma cantidad de fármaco. El perfil muestra que la determinación cuantitativa que se realizó del fármaco en todas las muestras señala que la liberación de la capsula comercial que tiene a la indometacina, fue en forma lineal, la cuantificación del fármaco tuvo un comportamiento constante durante el desarrollo de la prueba, es decir que el fármaco in-vitro muestra una liberación sostenida.

En la **Figura 24** se encuentran concentrados los perfiles de liberación para comparación, la muestra microcápsulas3 presenta un comportamiento gráfico parecido al de la cápsula comercial solo que la cuantificación de este es mucho menor, la muestra microcápsulas2 muestra una tendencia de mayor liberación de fármaco entre el minuto 165 hasta el 195, sin embargo, esta liberación cesa y por tanto su cuantificación. Las microcápsulas1 exhibe poca concentración de fármaco en los primeros 100 minutos, en el minuto 225 alcanza el mismo nivel de concentración de IMC que la capsula comercial y el minuto 240 muestra una mayor cantidad de concentración. Infiriendo que si se hubiera seguido la cuantificación probablemente la liberación hubiera sido mayor que la comercial.

La liberación de las microcápsulas1 comparada con las microcápsulas2 y 3 es mejor, y que, si bien al compararla con la comercial y encontrar que en el minuto 225 ambas liberan la misma concentración de fármaco, afirmando que la muestra 1 a pesar de la baja cuantificación en los tiempos menores a 225 asegurando que la liberación de la indometacina es visible. Tal vez no adecuada pero el comportamiento muestra una liberación gradual en aumento.

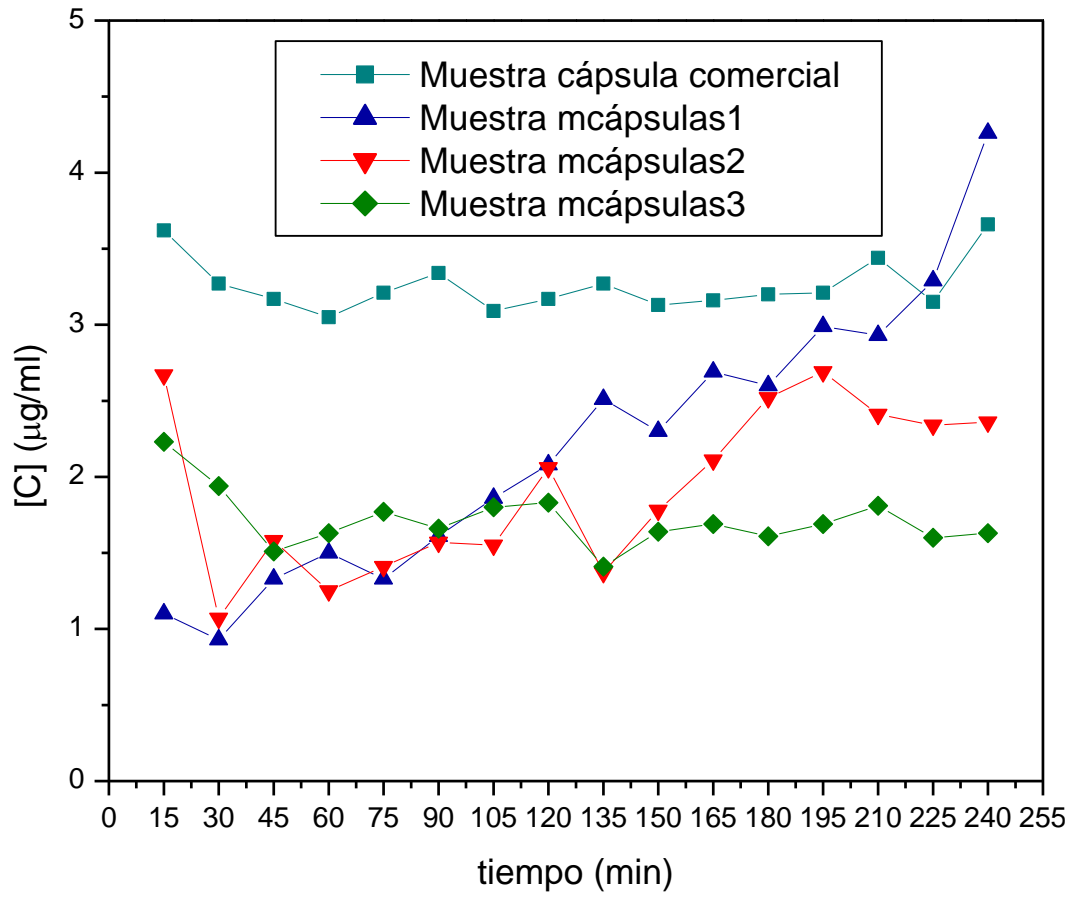


Figura 24. Comparación de perfiles de liberación.

Conclusiones

Se sintetizó el copolímero tribloque P(DAM-*b*-NIPAM-*b*-AM) mediante la técnica de polimerización RAFT y se comprobó que la adición de bloques fue la correcta debido al aumento de la T_g .

Se observó en los termogramas de las microcápsulas que se obtuvo otra fase de la IMC debido a la exposición de esta con una solución polar (alcohol metílico).

La difracción de rayos X comprobó que no hubo una encapsulación si no que se depositó en la superficie de las microcápsulas, la sustancia activa, debido a que se observan las señales de la indometacina y, si se hubiera presentado una encapsulación núcleo-coraza las señales representativas del fármaco hubieran desaparecido, formando un patrón amorfo, representativo del copolímero.

En la Microscopia Electrónica de Barrido no se observaron superficies esféricas del tipo núcleo-coraza, no obstante, se observan aglomerados y superficies lisas dependiendo de la concentración del copolímero en cada muestra. Lo que corrobora los resultados de DRX.

Las microcápsulas¹ presentan una liberación gradual, en contraste con la capsula comercial ya que presenta una liberación inmediata, las microcápsulas² y ³ presentan el tipo de liberación inmediata, pero en menor concentración, lo que las hace no capaces de compararse contra la de liberación inmediata.

Bibliografía

1. Vallet Regi, M. (2016). *Biomateriales*. Madrid, España: Consejo superior de investigaciones. 54-57
2. Takemoto, k., Ottenbrite, M., Kamachi, M. (1997). *Functional monomers and polymers*. New York, EEUU: Library of Congress Cataloging-in-Publication Data. 3-11
3. Boyer, C., Bulmus, V. *et al.* (2009). Bioapplications of RAFT polymerization. *Chem. Rev.*, 11(109), 5406-5408
4. Smith, A. E., Xu, X., McCormick, C.L. (2010). Stimuli-responsive amphiphilic (co) polymers via RAFT polymerization. *Progress in Polymer*, 35, 45-93.
5. (2017) *Instituto Nacional de Estadística y Geografía*. México: INEGI. Recuperado de <http://www.inegi.org.mx/>
6. Consejo de Salubridad General. (2010). *Diagnóstico y tratamiento de artritis reumatoide del adulto*. D.F., México: Secretaria de Salud. 8-10
7. (2009). *P.R. Vademécum*: Informed, S. A. de C. V. 1003.
8. Suñé Negre, J.M. (2012). *Nuevas aportaciones galénicas a las formas de administración*. Nápoles, Barcelona: Fundación promoción médica. 30-31
9. Clarck, E. A., Lipson, J.E.G. (2012). LCST and UCST behavior in polymer solutions and blends. *Polymer*, 35, 536-545.
10. Wade, L.G. Jr. (2004). *Química orgánica*. Madrid, España: Pearson Educación, S. A. 1182
11. J.M.G. Cowie, V.A. (2007). *Polymers: chemistry and physics of modern materials*. EEUU: CRC Press Taylor & Francis Group. 2-4
12. Schricker, R. S., Palacio, M., Bhushan, B. (2014). Modulating protein adhesion and conformation with block copolymers surfaces. *Handbook of Nanomaterials Properties*, 1343-1374
13. Wang, H., An Y., Huang, N., Ma, R., Shi, L. (2008). Investigation of the cononsolvency effect on micelization behavior of polystyrene-b-poly(N-isopropylacrilamide). *Journal of colloid and interface science*, 317, 637-642.

14. Matyjaszewski, K., (2006). Controlled/living radical polymerization: state of the art in 2005. *American Chemical Society*, 2-9
15. Matyjaszewski, K. & Davis, T.P. (2002). *Handbook of radical polymerization*. New York, EEUU: Wiley Interscience, 632, 662-665
16. Smith, A.E. *et al.* (2010). Stimuli-responsive amphiphilic (co)polymers via RAFT polymerization. *Progress in polymer science*, 35, 45-93.
17. Moad, G., Rizzardo, E., & Thang, H. S. (2010) Reversible Addition Fragmentation Chain Transfer (RAFT) polymerization. *Material Matters*, 5.1(2).
18. Cassano, R. & Trombino S. (2015) Drug delivery systems: smart polymeric materials. En F. Puoci. (Ed.), *Advanced polymers in medicine* (pp. 341-370). New York, EEUU: Springer International Publishing AG Switzerland.
19. Gandhi, A., Paul, A., *et. al.* (2015). Studies on thermoresponsive polymers: Phase behaviour, drug delivery and biomedical applications (Review). *Asian journal of pharmaceutical sciences*, 99-107.
20. Billmeyer, F.W. (1978). *Ciencia de los polímeros*. BARCELONA: REVERTÉ, S.A. 40-41
21. Delgadillo Pérez, K. (2014). *Determinación de la LCST por turbidimetría y reología del copolímero tribloque termosensible Poli (DAM-b-NIPAM-AM)*. (Licenciatura). Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ingeniería Química, Puebla.
22. (2003). *Formas farmaceuticas de liberación modificada*. *Infac*, 11(8), 38
23. Zelikin, N. A. (2010). Drug realaging polymer thin films: New era of Surface-mediated drug delivery. *American Chemical Society*, 4(5), 2494
24. Ma, G. (2014). Microencapsulation of protein drugs for drug delivery: Strategy, preparation, and applications. *Journal of Controlled Release*, 193, 324-340.
25. Lam, P. L., Gambari, R. (2014). Advanced progress of microencapsulation technologies: In vivo and in vitro models for studying oral and transdermal drug deliveries Review. *Journal of Controlled Release*, 178, 25-45.

26. *Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos*. (2004). D.F. México.
27. Ramos Francisco, O.J. (2006). *Terapia biológica de las enfermedades reumáticas*. D.F., México: Masson Doyma México, S.A.
28. Nalawade, P. B. & Gajjar K. A. (2016). Microencapsulation of lutein extracted from marigold flowers (*Tagetes erecta* L.) using full factorial design. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 33, 7587.
29. Bertram, K. (1999). *Farmacología básica y clínica*. D.F., México: El Manual Moderno, S.A. de C.V.
30. Skoog D. *et al* (2001). *Principios de análisis instrumental*. Madrid, España: McGraw-Hill. 865-875, 297-299, 577-606, 323-353.
31. Suriñach, S. (1992). La calorimetría diferencial de barrido y su aplicación a la Ciencia de Materiales. *Bol. Soc. Esp. Ceram. Vidr.*, 31(1), 11-17
32. Viveros Nava, E. L. (2012). *Síntesis y caracterización del copolímero tribloque termosensible Poli (DAM-b-NIPAM-b-AM)*. (Maestría). Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ingeniería Química, Puebla.
33. Kaneniwa, N., Otsuka, M. & Hayashi T. (1985). Physicochemical characterization of indomethacin polymorphs and the transformation kinetics in ethanol. *Chem. Pharm. Bull.*, 33(8), 3447-3455.
34. Khan, A. I., Serra, A. C. *et al* (2013). Continuous-flow encapsulation of ketoprofen in copolymer microbeads via co-axial microfluidic device: Influence of operating and material parameters on drug carrier properties. *International Journal of Pharmaceutics*, 441, 809-817.