



Universidad Autónoma Metropolitana

Unidad Xochimilco

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Licenciatura Química Farmacéutica Biológica

INFORME FINAL DE SERVICIO SOCIAL

“Diseño y caracterización de nanopartículas de Curcumina y Aceite de Neem para el tratamiento de cáncer de mama”

Alumno: Jesús Alberto Gaspar de Jesús

Tutores: Dr. Jorge Esteban Miranda Calderón

Dra. Lizbeth Martínez Acevedo

20 de junio de 2023

Dr. Jorge Esteban Miranda Calderón

Profesor Titular B.T.C

No. Eco. 38889

Dra. Lizbeth Martínez Acevedo

12332073

Índice

1.Introducción.....	2
2.Justificación.....	3
3.Marco teórico.....	5
El Cáncer	5
Cáncer de mama.....	5
Tratamiento.....	6
Nanotecnología.....	7
Curcumina.....	8
Aceite de Neem	9
4.Objetivos	11
Objetivo general.....	11
Objetivos específicos	11
5.Metodología.....	12
6.Resultados y discusión.....	17
7.Conclusiones.....	38
8.Referencias	39
9.Cronograma	42
10.Anexos Cartel presentado en el LVI Congreso Nacional y X Internacional de Ciencias Farmacéuticas	43

1. Introducción

El cáncer es un término que comprende un conjunto de enfermedades tumorales, donde su principal consecuencia es el crecimiento y la replicación de células sin control, las cuales son capaces de invadir otras partes del cuerpo diferentes a las de su origen (Arceo-Martínez et al., 2021). La cifra global de esta enfermedad incrementa rápidamente con un estimado de 19.3 millones de nuevos casos al año, se espera que para 2040 se registre una cifra máxima de 28.4 millones de casos (Farghadani & Naidu, 2022). Sin embargo, el cáncer de mama ha superado las expectativas por ser el tipo de cáncer más común a nivel mundial, aún por encima del cáncer de próstata y el de pulmón que años atrás se encontraban como las enfermedades predominantes en el mundo. No obstante, desde hace algunos años, la mortalidad ha decrecido gracias a la implementación de los programas de detección temprana y a la mejora de los tratamientos individualizados, ya que su objetivo es ofrecer tratamiento a quien realmente lo necesita, con fármacos no solo eficaces si no también con pocos efectos adversos (De Juan et al., 2018). En la actualidad, la industria farmacéutica ha realizado muchos esfuerzos para mejorar el impacto quimioterapéutico de los fármacos, siendo la nanotecnología de gran relevancia a la hora de optimizar estos tratamientos, reduciendo los efectos secundarios y mejorando el efecto terapéutico. En este contexto, se busca desarrollar la formulación de sistemas nanoestructurados de Aceite de Neem-Curcumina como tratamiento combinado para el cáncer de mama con la intención de disminuir el crecimiento de las células tumorales, tener un tratamiento dirigido y reducir los efectos tóxicos de la quimioterapia. La propuesta incluirá el empleo de materiales biodegradables, biocompatibles y naturales en la formulación. Se espera que los nanosistemas obtenidos presenten una alternativa innovadora para el tratamiento de cáncer de mama in vitro y se consolide una línea de investigación en el área de tecnología farmacéutica de la UAM-Xochimilco.

2. Justificación

En México a partir del 2006 se registró al cáncer de mama como el segundo tipo de cáncer más común en la población, siendo afectadas mujeres mayores de 25 años, con mayor prevalencia en aquellas de entre 50 y 59 años. (Cárdenas-Sánchez et al., 2015) Por otro lado, el tratamiento para esta patología es complejo y requiere la participación de un equipo multidisciplinario para poder brindar al paciente un tratamiento óptimo. La quimioterapia sigue siendo el tratamiento de elección para el cáncer de mama y su papel se vuelve crucial cuando el paciente se encuentra en un estado avanzado y metastásico, esta terapia actúa atacando las células que presentan un crecimiento rápido dentro del cuerpo, incluido las células cancerosas. Sin embargo, también destruye células sanas que por naturaleza se dividen rápidamente, tales como las células de folículos pilosos, uñas, boca, tracto digestivo y médula ósea. Por lo cual las reacciones adversas y la toxicidad de este tratamiento le confiere al paciente una menor resistencia a infecciones, náuseas, pérdida de cabello y vomito.

En la fase de tratamiento, la OMS enfatiza en que se debe dar uno o varios tratamientos: cirugía, radioterapia y tratamiento sistémico, y la elección de ellos debe basarse en pruebas científicas (OMS, 2021), de tal manera que la investigación de tratamientos combinados con compuestos provenientes de extractos naturales podría resultar importante para la prevención, control y tratamiento más eficaz del cáncer mama.

La nanotecnología se ha considerado una gran herramienta para optimizar el tratamiento del cáncer de mama, las nanopartículas en conjunto con principios activos de origen natural nos permiten la mejora del tratamiento, así como la reducción de efectos secundarios. Existe evidencia que demuestra que la curcumina presenta una amplia gama de actividades farmacológicas, dirigiéndose a varias proteínas reguladoras tales como las quinasas, factores de transcripción, receptores, enzimas, factores de crecimiento y moléculas relacionadas con la

apoptosis, así como el microARN, contrarrestando los tumores cancerígenos (Farghadani & Naidu, 2022). Por otro lado, el aceite de Neem presenta un alto potencial anticancerígeno, ya que induce a la apoptosis celular de MCF-7 y MDAMB-231, células presentes en el cáncer de mama. Además, se ha demostrado que reduce significativamente la viabilidad de estas células sin afectar a las células MCF-10A no tumorigénicas, lo que evidencia la seguridad del aceite de Neem hacia las células normales (Sharma et al., 2017). En este proyecto se espera que tanto la Curcumina como el aceite de Neem presenten adecuadas propiedades anticancerígenas al ser encapsulados en un sistema nanoparticulado, mejorando la eficacia del tratamiento farmacológico, a través del efecto antitumoral sinérgico.

3. Marco teórico

El Cáncer

Es una enfermedad que afecta cualquier zona del organismo, esta se caracteriza por un crecimiento celular autónomo y descontrolado, este crecimiento se debe a la veloz multiplicación de células anormales responsables de la producción de tumores los cuales son capaces de invadir órganos y diferentes tejidos a través del sistema sanguíneo o linfático (Salazar, 2014).

En la actualidad el cáncer es una de las principales causas de muerte a nivel mundial siendo así que en 2015 una de cada seis muertes fue causada por esta enfermedad (OMS, 2022). Sin embargo, hoy en día se han aplicado estrategias para la detección precoz de esta enfermedad lo que ha reducido de manera significativa el número de muertes ya que la mayoría de los tratamientos tienden a presentar poca eficiencia en estadios avanzados del cáncer (Sánchez, 2020).

Cáncer de mama

El cáncer de mama o también conocido como adenocarcinoma es denominada una enfermedad maligna que presenta una proliferación acelerada, desordenada y no controlada de células presentes en distintos tejidos de la glándula mamaria formando un tumor que tiene la capacidad de afectar a tejidos vecinos y metastatiza a órganos distantes del cuerpo, se tiene el conocimiento que esta enfermedad es originada por interacción de factores genéticos, ambientales y del estilo de vida del paciente (Ramírez, 2018). Este tipo de cáncer es más prevalente en mujeres y es el responsable del mayor número de muertes en esta población. De acuerdo con estimaciones en el año 2022 se presentaron 10 millones de defunciones (OMS, 2022), sin embargo, el pronóstico después de un diagnóstico de cáncer de mama ha mejorado presentando una disminución del 40% en mortalidad tras la introducción de programas de detección temprana y protocolos de tratamiento estandarizados. Este tipo de cáncer se puede clasificar según su origen de la siguiente manera:

- **Cáncer de mama esporádico:** presentado por pacientes que no tienen ningún antecedente familiar.
- **Cáncer de mama familiar:** presentado por pacientes con un historial familiar claro, se atribuye a la mutación de diversos genes.

- **Cáncer de mama hereditario:** gracias a la mutación de un solo gen (Palmero Picazo et al., 2021).

Tratamiento

El tratamiento se basa dependiendo de la etapa clínica en la que se encuentre el paciente, y se puede clasificar de la siguiente manera

Terapia local

- **Cirugía:** elimina la mayor cantidad de células cancerígenas como sea posible, se considera como tratamiento de elección a la mastectomía radical modificada, sin embargo, si se detecta en una etapa temprana, se puede realizar una tumorectomía donde el paciente puede conservar su seno (Arreola, 2007).
- **Radioterapia:** se utiliza rayos o partículas de alta energía para eliminar células cancerígenas (Arreola, 2007).

Terapia sistémica

- **Quimioterapia adyuvante:** quimioterapia posterior a un tratamiento quirúrgico, tiene como objetivo eliminar las células cancerosas que pudieron permanecer después de la cirugía, utilizada para evitar la recaída del paciente (Yustos et al. 2017).
- **Quimioterapia neoadyuvante:** quimioterapia administrada antes de la cirugía (Yustos et al. 2017).
- **Terapia hormonal:** utilizada en mujeres que presentan receptores positivos (ER-positivo y/o PR-positivo) después de la cirugía, para evitar la recaída (Yustos et al., 2017).
- **Terapia dirigida/biológica:** utilizada en casos donde la quimioterapia no es eficaz. El medicamento más utilizado es el trastuzumab, el cual inhibe la proliferación de células tumorales (Palmero et al., 2021).

Sin embargo, las terapias mencionadas presentan diversos efectos secundarios que impactan directamente en la calidad de vida del paciente tales como: anemia, caída de pelo, diarrea, dolor, fatiga, náuseas, vómitos y falta de apetito siendo estos los

más presentados (Tratamiento del cáncer de seno, s. f.). Razón por la cual, hoy en día la comunidad científica se ha centrado en desarrollar nuevos medicamentos con base en nanotecnología para resolver la problemática antes mencionada.

Nanotecnología

La nanotecnología se podría definir como el estudio y la manipulación de la materia en una escala nanométrica (0.1 a 100 nm) para la obtención de materiales, estructuras, sistemas y dispositivos funcionales (Foladori & Invernizzi, 2006). Los nanomateriales son materiales con propiedades morfológicas con una o más dimensiones en la nanoescala, estas moléculas pequeñas se sintetizan con elementos como el carbono y algunos metales. No obstante, estas pueden interactuar en el cuerpo humano obteniendo beneficios para la salud (Rodríguez, 2012).

En la actualidad gracias al avance en la tecnología y la medicina, existen una gran variedad de herramientas de diagnóstico y biosensores que permiten realizar a nivel molecular la detección de muchas enfermedades. Sin embargo, la nanotecnología no se limita a la detección, sino que nos permite crear dispositivos capaces de controlar, mejorar y tratar este tipo de afecciones contrarrestando los efectos secundarios provocados por tratamientos convencionales, a la fecha se ha reportado que se han desarrollado agentes terapéuticos en diferentes formas farmacéuticas contra el cáncer entre las cuales destacan las siguientes:

- **Liposomas** presentan una estructura esférica compuesta principalmente por lípidos, en su interior pueden contener un fármaco el cual puede liberarse en el tumor (Jesús, 2021).
- **Nanopartículas poliméricas y micelas** presentadas en forma de capsulas donde el polímero se mezcla en conjunto con el fármaco, estas son muy estables y pueden usarse para una liberación controlada del fármaco (Jesús, 2021).
- **Nanotubos de carbono** su estructura presenta una cavidad interna en la cual es posible enlazar un gran número de ligantes, al mismo tiempo pueden retener un fármaco (Jesús, 2021).

- **Nanopartículas metálicas** el fármaco puede formar enlaces covalentes o iónicos en la superficie, esto les da la capacidad de ser dirigidos a la zona tumoral mediante la aplicación de un campo magnético externo que se enfoque en un lugar específico del cuerpo y por esto logre una liberación exacta del fármaco (Jesús, 2021).

La mayoría de estas formas farmacéuticas contienen principios activos que de los cuales algunos presentan problemas fisicoquímicos como su baja solubilidad, baja biodisponibilidad y alta degradación. Con base en lo antes mencionado, la curcumina y el aceite de Neem podrían administrarse en nanosistemas y solucionar su baja solubilidad y poca biodisponibilidad. Además, de su potencial anticancerígeno, son compuestos naturales, biodegradables y biocompatibles razones por la cual se vuelven de mayor interés para la industria a la hora de desarrollar un posible tratamiento oncológico.

Curcumina

La curcumina es un metabolito secundario de la especia cúrcuma, extraído del rizoma molido de la planta *Cúrcuma longa*, pertenece a la clase de compuestos diarilheptanoide donde sus anillos aromáticos están unidos a través de una cadena de siete carbonos, los dos grupos arilos están sustituidos simétricamente con grupos metoxi y OH fenólicos en la posición orto, su cadena de siete carbonos presenta conjugación un resto enona y un grupo 1,3-diacetona ver figura 1 (Priyadarsini, 2013). Su valor de log P se encuentra dentro del intervalo de 2.5 a

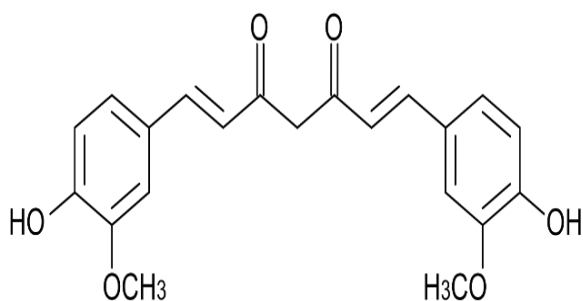


Figura 1 Estructura química de la curcumina. Adaptada de: Priyadarsini, K. I. (2013). *Chemical and structural features influencing the biological activity of curcumin. Current Pharmaceutical Design*, 19(11), 2093-2100. <https://doi.org/10.2174/13816121380528922>

3.6, indicando su baja solubilidad en agua de 3 a 6 g/mL. Sin embargo, es un compuesto fácilmente soluble en disolventes polares como el DMSO, metanol, etanol, acetonitrilo, cloroformo y acetato de etilo (Priyadarsini, 2014). Además, se ha reportado que presenta una alta inestabilidad ya que puede sufrir hidrólisis y foto degradación.

La curcumina recientemente es reconocida mundialmente como un alimento funcional gracias a sus propiedades promotoras de la salud debido a que presenta una amplia gama de actividades farmacológicas como lo son: propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, antibacterianas y anticancerígenas (Péret-Almeida et al., 2005).

Algunos estudios preclínicos evidencian que la curcumina ejerce un impacto contra el cáncer de mama al dirigirse e inhibir varias proteínas reguladoras, como las quinasas (IKK), ciclooxigenasas, lipoxigenasas, factores de transcripción, receptores, enzimas, factores de crecimiento, ciclo celular y moléculas relacionadas con la apoptosis (Durán et al., 2021).

Aceite de Neem

El aceite de Neem es un aceite vegetal extraído de las frutas y semillas del árbol de Neem (*Azadirachta Indica*) suele ser de color marrón y presenta un sabor amargo. Por otro lado, este aceite contiene una gran variedad de metabolitos, sin embargo, su principal agente terapéutico es la Azadiractina el cual pertenece al grupo de los tetrahidroterpenoides también conocidos como limonides, su estructura química está compuesta de un acetato, dos esteres metílicos, un alcohol terciario y secundario, un ester tiglato, un éter vinílico y un epóxido (Figura 2) (Macías & Pérez, 2021). De modo natural es un compuesto hidrófobo lo cual indica su insolubilidad

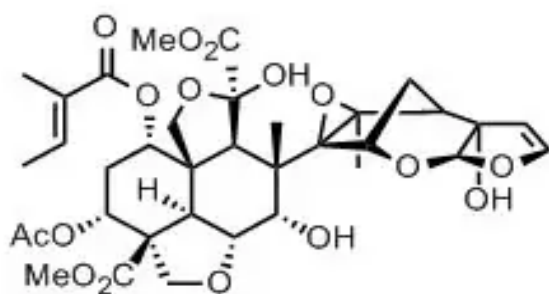


Figura 2 Estructura química de la Azadiractina. Adaptada de: García, G., [Universidad Central de Venezuela]. (2009). Extracción de aceite esencial de hojas del árbol de Neem (*Azadirachta indica* a. Juss), empleando microondas y ultrasonido como métodos de extracción [trabajo especial de grado]. Universidad Central de Venezuela.

en agua y para que en este pueda ser emulsionado debe ser formulado con surfactantes apropiados tales como el Tween 80 (Chauca, 2019). La Azadiractina es termolábil y fotosensible, por lo que requiere ser almacenada bajo condiciones especiales. El aceite de Neem presenta efectos analgésicos, antihelmínticos, antipiréticos, antisépticos, antisifilíticos, astringentes, diuréticos, antidiabético, además altera el ciclo celular e induce la apoptosis en

varios carcinomas a través de vías apoptóticas tanto extrínsecas como intrínsecas (Pijoan, 2004). Por otro lado, se ha reportado que induce a la apoptosis celular de MCF-7 y MDAMB-231, sin afectar a las células MCF-10^a no tumorigénicas presentes en el cáncer de mama, lo que evidencia la seguridad del aceite de Neem hacia las células normales. (Sharma et al., 2017)

Por otro lado, a pesar de que existen fármacos quimioterapéuticos y que estos desempeñan un papel fundamental en el control y el tratamiento en el cáncer de mama, su eficacia se ve limitada a consecuencia de los graves efectos secundarios; investigadores y científicos con el propósito de contrarrestar estos efectos se han enfocado en un cotratamiento de esta patología involucrando a la quimioterapia convencional con productos de origen natural para optimizar la eficacia del tratamiento farmacológico, a través del efecto antitumoral sinérgico.

4. Objetivos

Objetivo general

Desarrollar y caracterizar un sistema nanoparticulado con curcumina y aceite de Neem como tratamiento combinado para el cáncer de mama.

Objetivos específicos

- Conocer las propiedades fisicoquímicas de la curcumina y el aceite de Neem, para una correcta elección de excipientes.
- Establecer los excipientes adecuados y su concentración para la formulación de un sistema nanoparticulado de aceite de Neem y curcumina.
- Determinar el método de manufactura que se llevará a cabo para producir el sistema nanoparticulado de aceite de Neem y curcumina.
- Caracterizar el nanosistema: tamaño de partícula, potencial zeta y eficiencia de encapsulación.

5. Metodología

1. Pruebas de compatibilidad química y física de Aceite de Neem-Curcumina

Para estudiar la compatibilidad de los compuestos propuestos en este proyecto se realizaron estudios de compatibilidad química y física mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC) y espectroscopía IR, con la finalidad de determinar las posibles interacciones físicas o químicas de los dos compuestos (Aceite de Neem y Curcumina).

- **Materiales y métodos**

La curcumina fue adquirida de Sigma Aldrich® (75% pureza). El aceite de Neem fue donado por IA Soluciones para Negocio S. A de C. V.

- **DSC**

Los estudios de DSC se llevaron a cabo en el equipo DSC 214 Polyma de la marca NETZSCH® en charolas de aluminio no herméticas de la marca NETZSCH®, en un intervalo de temperatura de 0 a 250 °C con una velocidad de calentamiento de 10°/min. Se analizaron muestras de los compuestos solos y en combinación (mezcla física 1:1)

- **Espectroscopia IR**

Los espectros de IR se llevaron a cabo en el equipo Lambda 35 de la marca PerkinElmer®, se obtuvieron por reflectancia de cada muestra: curcumina, aceite de Neem y la mezcla 1:1 de ambos compuestos a temperatura ambiente.

2. Pruebas preliminares de solubilidad

- **Materiales y métodos**

La curcumina fue adquirida de Sigma Aldrich® (75% pureza). El aceite de Neem fue donado por IA Soluciones para Negocio S. A de C. V. Se realizaron pruebas de solubilidad en diferentes disolventes (etanol/agua 85/15, metanol/acetona 80/20, metanol y etanol) para encontrar la fase solvente óptima para los principios activos

(aceite de Neem y Curcumina) y el polímero (Zeína), la prueba se llevó a cabo en viales de cristal con capacidad de 8 mL. Se pesaron por separado 50 mg de Zeína, 20 mg de Curcumina y 100 mg de aceite de Neem respectivamente, posterior a ello se adicionaron 5 mL de cada solvente y se agitaron durante 10 min en una parrilla magnética, transcurridos los 10 min se extrajeron 4.5 mL de la solución y se dejó reposar el vial durante 12 h con la finalidad de evaporar todo el solvente. La solubilidad se determinó por la diferencia de peso inicial contra el peso final encontrado en cada vial una vez evaporado todo el solvente.

3. Obtención del nanosistema

- Materiales y métodos

Para la obtención del nanosistema se utilizó curcumina adquirida de Sigma Aldrich® (75% pureza) y aceite de Neem donado por IA Soluciones para Negocio S. A de C. V, con zeína, como agente de encapsulación y poloxámero 188 (Pluronic® F-68), como estabilizante.

La preparación de las nanopartículas se llevó a cabo por el método de desplazamiento de solvente, se empleó una solución de zeína al 1% pH 5.8, se tomaron 4 mL de esta solución y se agregó 1 mL de la disolución de principio activo (20 mg/mL para curcumina y 100 mg/mL aceite de Neem, respectivamente) para cada solvente (etanol/agua, metanol/acetona, etanol, metanol) o en el caso de nanopartículas blanco 1 mL de etanol. La fase solvente se inyectó con una bomba de infusión a 15 mL de la fase antisolvente (solución de poloxámero 188 al 2% pH 4.0) a una velocidad de 1 mL/min, una vez formadas las nanopartículas, la dispersión se mantuvo en agitación constante durante 24 h para la eliminación del disolvente. Finalmente, se aforo a un volumen final de 20 mL y se ajustó el pH a 4.0. Cada lote fabricado fue caracterizado por su tamaño de partícula, se realizaron varios lotes modificando algunos parámetros de proceso.

4. Optimización de la nano formulación

Para la optimización se realizó un diseño de experimentos para evaluar el efecto del solvente en el método de preparación de nanopartículas de curcumina y aceite de Neem con zeína, como agente de encapsulación y poloxámero 188 (Pluronic® F-68), como estabilizante.

La preparación de las nanopartículas se llevó a cabo por el método de desplazamiento de solvente, se empleó una solución de zeína al 2% con cada disolvente de prueba (fase solvente), se tomaron 10 mL de esta solución y se agregó 1 mL de la disolución de principio activo (20 mg/mL para curcumina y 200 mg/mL de aceite de Neem, respectivamente) o en el caso de nanopartículas blanco 1 mL de etanol. La fase solvente se inyectó con una bomba de infusión a 30 mL de la fase antisolvente (solución de poloxámero 188 al 2%) a una velocidad de 1 mL /min, una vez formadas las nanopartículas, la dispersión se mantuvo en agitación constante durante 24 h para la eliminación del disolvente. Finalmente, se aforo a un volumen final de 40 mL y se ajustó el pH a 4.0. Cada lote fabricado fue caracterizado por su tamaño de partícula, índice de polidispersidad, potencial zeta y eficiencia de encapsulación.

Diseño experimental

Se realizó un diseño factorial de niveles mixto 3^{14^1} : las variables independientes fueron el disolvente: metanol/acetona (80:20); etanol/agua (85:15); metanol; y el principio activo incorporado al sistema: sin principio activo (BCO); aceite de Neem (NE); curcumina (CU) y aceite de Neem: Curcumina (NE/CU), como se muestra en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Diseño factorial de niveles mixto $3^1 4^1$ para la obtención de nanopartículas de aceite de Neem, curcumina-zeína.

Lote	Disolvente	Tipo*
Lote 1	Metanol/Acetona	BCO
Lote 2	Metanol/Acetona	NE
Lote 3	Metanol/Acetona	CU
Lote 4	Metanol/Acetona	NE/CU
Lote 5	Etanol/Agua	BCO
Lote 6	Etanol/Agua	NE
Lote 7	Etanol/Agua	CU
Lote 8	Etanol/Agua	NE/CU
Lote 9	Metanol	BCO
Lote 10	Metanol	NE
Lote 11	Metanol	CU
Lote 12	Metanol	NE/CU

*BCO = NP Blanco; NE= sistema con aceite de Neem; CU= Sistema con curcumina;
NE/CU= Sistema con aceite de Neem y curcumina

5. Obtención del nanosistema final

La preparación de las nanopartículas se llevó a cabo por el método de desplazamiento de solvente, se empleó una solución de zeína al 0.5%, se tomaron 15 mL de esta solución y se agregó 5 mL de la disolución de principio activo (20 mg/mL para curcumina y 200 mg/mL aceite de Neem, respectivamente) en etanol/agua o 1 mL de etanol en el caso de Np blanco. La fase solvente se inyectó con una bomba de infusión a 85 mL de la fase antisolvente (solución de poloxámero 188 al 3% con un pH de 4.0) a una velocidad de 1.5 mL/min, una vez formadas las nanopartículas, la dispersión se mantuvo en agitación constante durante 24 h para la eliminación del disolvente. Finalmente, se aforo a un volumen final de 100 mL y se ajustó el pH a 4.0. Cada lote fabricado fue caracterizado por su tamaño de partícula, IPD, potencial zeta y eficiencia de encapsulación.

6. Caracterización del nanosistema

- Tamaño de partícula e índice de polidispersidad (IDP)

Los nanosistemas obtenidos se caracterizaron por su tamaño de partícula utilizando el método de dispersión dinámica de luz. Los estudios del tamaño de partícula se

llevaron a cabo en el equipo Zetasaizer Nano-ZS de la marca Malvern® con una celda M3-PALS de la misma marca Malvern® que además de proporcionarnos el tamaño de partícula nos ayuda medir la potencial zeta y la movilidad electroforética, en dónde se depositó 1.5 mL de cada lote preparado. Se analizaron muestras de los lotes con un solo principio activo (Curcumina o Neem) y en combinación (Curcumina/Neem).

- **Potencial ζ**

El potencial ζ es una medida de la magnitud de la repulsión o atracción electrostática entre las partículas, ya que es uno de los parámetros fundamentales que afectan la estabilidad del sistema, el potencial ζ se determinó con la técnica de movilidad electroforética con un Zetasaizer Nano-ZS de la marca Malvern® con una celda M3-PALS Se analizaron muestras de los lotes con un solo principio activo (curcumina o Neem) y en combinación (curcumina/Neem).

- **Eficiencia de encapsulación**

La eficiencia de encapsulación se define como la cantidad de principio activo que fue cargado o incorporado dentro del sistema nanoparticulado, relacionada con la concentración inicial utilizada. La cuantificación de Curcumina y Aceite de Neem antes y después de la carga en nanopartículas se realizó en un espectrofotómetro UV-VIS Lambda 35 de la marca PerkinElmer® a 426 y 225 nm respectivamente. Una vez realizados los lotes, se extrajeron 1.5 mL para posteriormente centrifugarlos a una velocidad de 12000 rpm durante 90 min, transcurrido el tiempo se extrajo 1 mL de sobrenadante que se colocó en 4 mL de etanol para su posterior lectura. Se elaboró una curva de calibración de Curcumina y de aceite de Neem utilizando como solvente etanol.

6. Resultados y discusión

Pruebas de compatibilidad química y física de Aceite de Neem-Curcumina

Los resultados de DSC se muestran en el Figura 3. Para la curcumina se presenta un pico correspondiente al punto de fusión (82.4 °C); en el caso del aceite de Neem no se presenta ningún evento endotérmico, dada la naturaleza líquida del aceite.

La curcumina empleada en este proyecto muestra estados amorfos, al no presentar el punto de fusión reportado, dentro del intervalo de 176-181°C, como lo mencionan Zahra Sayyar y colaboradores quienes en su investigación obtuvieron el punto de fusión de la curcumina en 175 °C (Sayyar & Jafarizadeh-Malmiri), por otro lado, Sharma y Pathak (2016) reportaron que el punto de fusión de la curcumina se encuentra en 182.4 °C, dichos puntos de fusión son atribuibles a la curcumina cristalina. Dado que se tiene una pureza de 75%, el punto de fusión fue diferente al esperado. Observando un pico ancho a 82.4 °C, la curcumina absorbe calor a medida que el compuesto se funde en esta temperatura. Las sustancias cristalinas suelen presentar picos de fusión bien definidos, mientras que las sustancias amorfas pueden mostrar transiciones más amplias. Lo que sugiere que la curcumina se presenta en forma amorfa. Al analizar la mezcla física de ambos compuestos, se observa un pico ancho con ruido que sugiere un desplazamiento de la temperatura de fusión de la curcumina, de 82.4 °C hasta 123.1 °C, lo que indica que la curcumina cambia al combinarse con el aceite de Neem presentando una compatibilidad química. Dicha información necesita ser complementada con el análisis de espectroscopia IR.

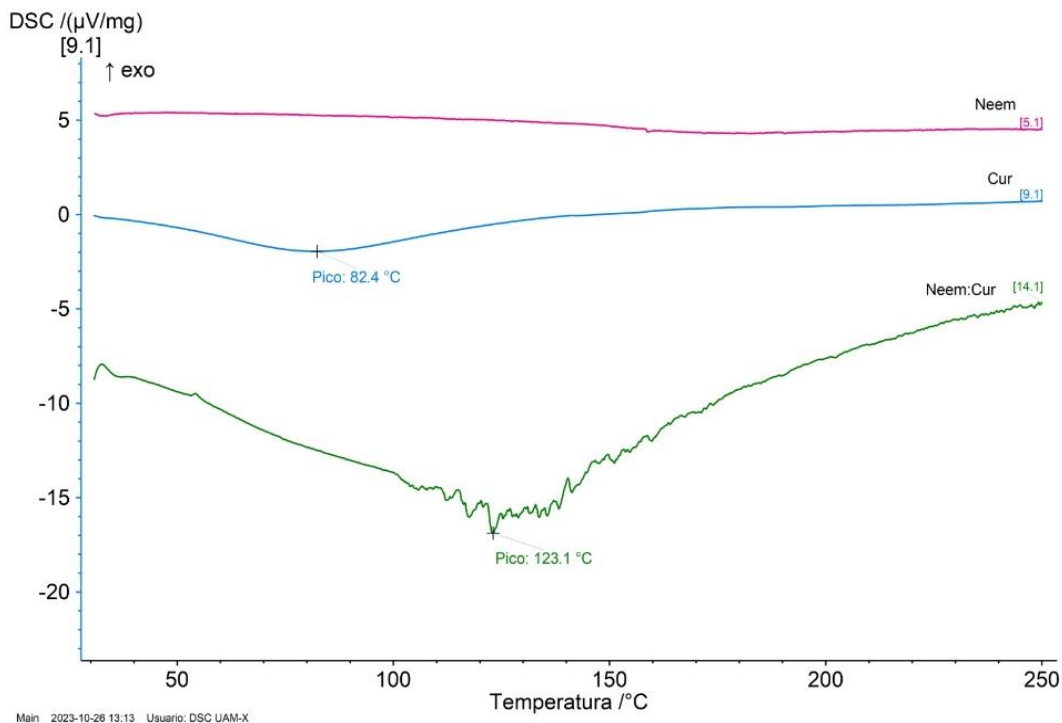


Figura 3. DSC de curcumina, aceite de Neem y la mezcla física (1:1).

Para observar más detalle las interacciones químicas de los compuestos estudiados se realizó el espectro de IR, los resultados se muestran en las figuras 4, 5, 6, 7 y 8.

El espectro infrarrojo (IR) de la curcumina, un compuesto natural que se encuentra en la cúrcuma, conocida por su vibrante color amarillo y diversas actividades biológicas. A continuación, se describen los grupos funcionales que componen el espectro IR de la curcumina (figura 4 y 5):

- Enlaces alquenos (C=C): La curcumina contiene dos dobles enlaces conjugados (alquenos) en su estructura. Las vibraciones de estiramiento C=C aparecen típicamente en la región de $1600-1680\text{ cm}^{-1}$ en el espectro IR. En la curcumina, se pueden esperar bandas de absorción de alrededor de $1600-1620\text{ cm}^{-1}$ debido a estos dobles enlaces.
- Grupo cetona (C=O): El grupo cetona de la curcumina, que forma parte de la estructura de la β -dicetona, produce vibraciones de estiramiento C=O. En el espectro IR, se observa una banda de absorción alrededor de $1660-1690\text{ cm}^{-1}$ debido al grupo carbonilo.

- Hidroxilo fenólico (OH): la curcumina tiene grupos hidroxilo fenólicos, que exhiben vibraciones de estiramiento O-H en el espectro IR. Estas vibraciones aparecen típicamente en la región de 3200-3600 cm^{-1} .
- Anillos aromáticos: Es posible observar bandas de absorción en el rango de 1450-1600 cm^{-1} debido a las vibraciones de flexión C-H en los anillos aromáticos.
- Conjugación: La conjugación de dobles enlaces y los electrones π deslocalizados extendidos en la estructura de la curcumina contribuyen a su característico color. La conjugación da como resultado un desplazamiento de las bandas de absorción C=C y C=O a números de onda más bajos.

Dichos resultados concuerdan con lo reportado por León et al. (2020) quien hace alusión principalmente a tres bandas débiles que aparecen en la región 1548 cm^{-1} atribuidas a enlaces C-H acoplados a movimientos del anillo. Las señales anteriormente mencionadas también se encuentran presentes en este análisis y son las señales de mayor interés ya que confirman la presencia de la curcumina.

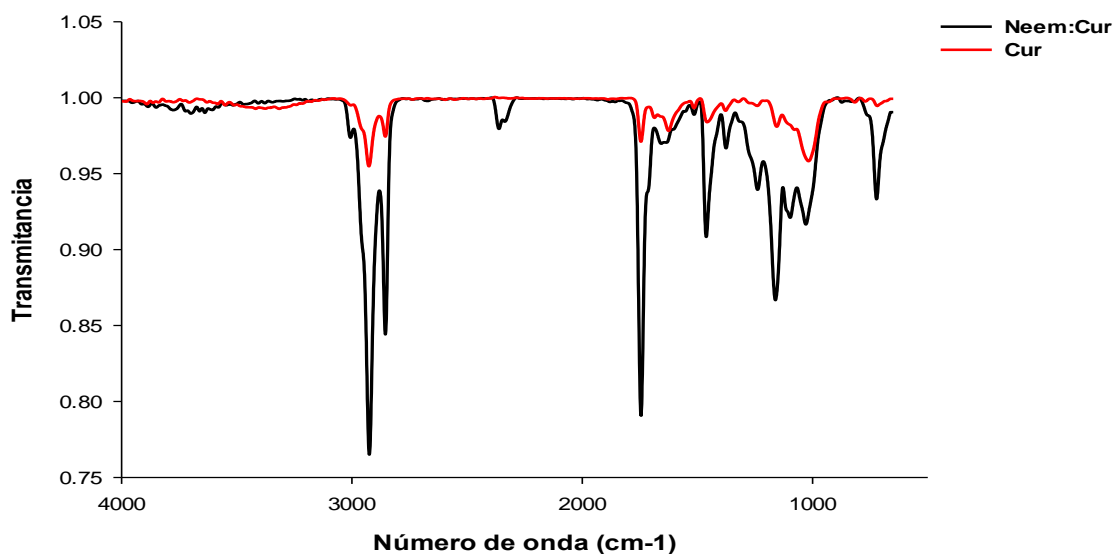


Figura 4: Espectro IR curcumina y mezcla física (Cur: Neem). Escaneo de 4000 a 500 cm^{-1} .

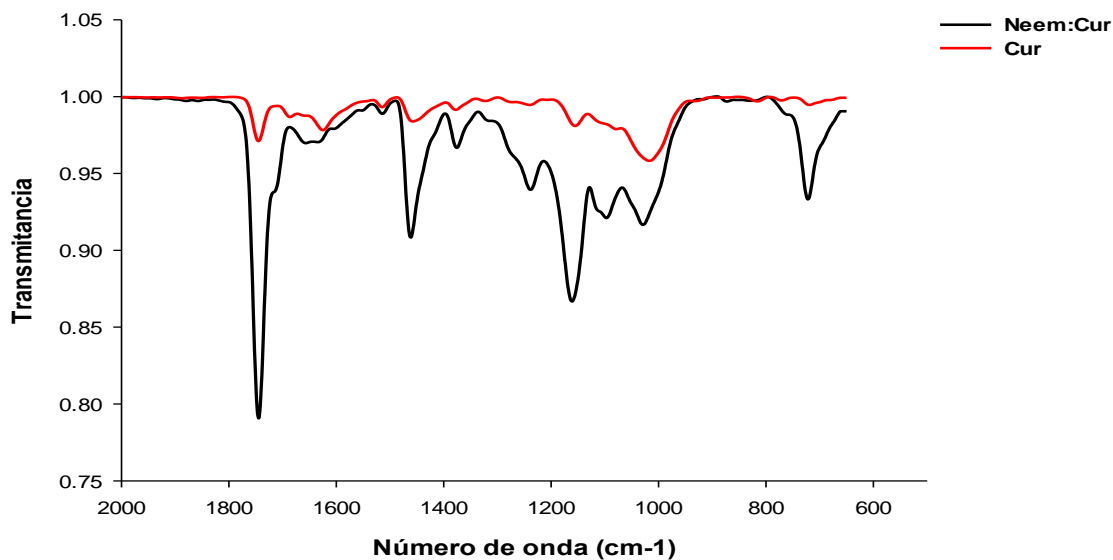


Figura 5: Espectro IR curcumina y mezcla física (Cur: Neem). Escaneo de 2000 a 500 cm^{-1}

Por otro lado, el espectro infrarrojo (IR) del aceite de Neem proporciona información valiosa sobre su composición molecular y grupos funcionales. El aceite de Neem se deriva de las semillas del árbol de Neem (*Azadirachta indica*) y es conocido por sus diversas aplicaciones, particularmente en agricultura y medicina tradicional. A continuación, se detallan los grupos funcionales que componen el espectro IR del aceite de Neem (Figura 6 y 7):

- Cadenas alifáticas (CH_2 y CH_3): el aceite de Neem se compone principalmente de triglicéridos, que constan de cadenas alifáticas. Los grupos CH_2 y CH_3 de estas cadenas presentan bandas de absorción en la región de $2800-3000\text{ cm}^{-1}$ debido a las vibraciones de estiramiento C-H.
- Ésteres ($C=O$): Los triglicéridos en el aceite de Neem contienen grupos funcionales éster ($C=O$), que resultan en vibraciones características de estiramiento del carbonilo. En el espectro IR se pueden observar fuertes bandas de absorción alrededor de $1740-1760\text{ cm}^{-1}$.
- Grupos hidroxilo (OH): el aceite de Neem también contiene grupos hidroxilo. Las bandas de absorción suelen aparecer en la región de $3200-3600\text{ cm}^{-1}$.

Estos resultados coinciden con lo reportado por García (2009) confirmando la presencia del aceite de Neem, por otro lado, nos ayuda a esclarecer las señales de los grupos funcionales de otros componentes de este aceite como lo son los terpenos, flavonoides y esteroides, ya que no se suelen observar con claridad a consecuencia de que su concentración en el aceite es baja, además las bandas pertenecientes a los enlaces $-CO$, $C=O$, $=C-H$ y $-CH$ que forman parte de la estructura molecular de los componentes mencionados anteriormente pueden estar solapados con las señales de los triglicéridos anteriormente descritas.

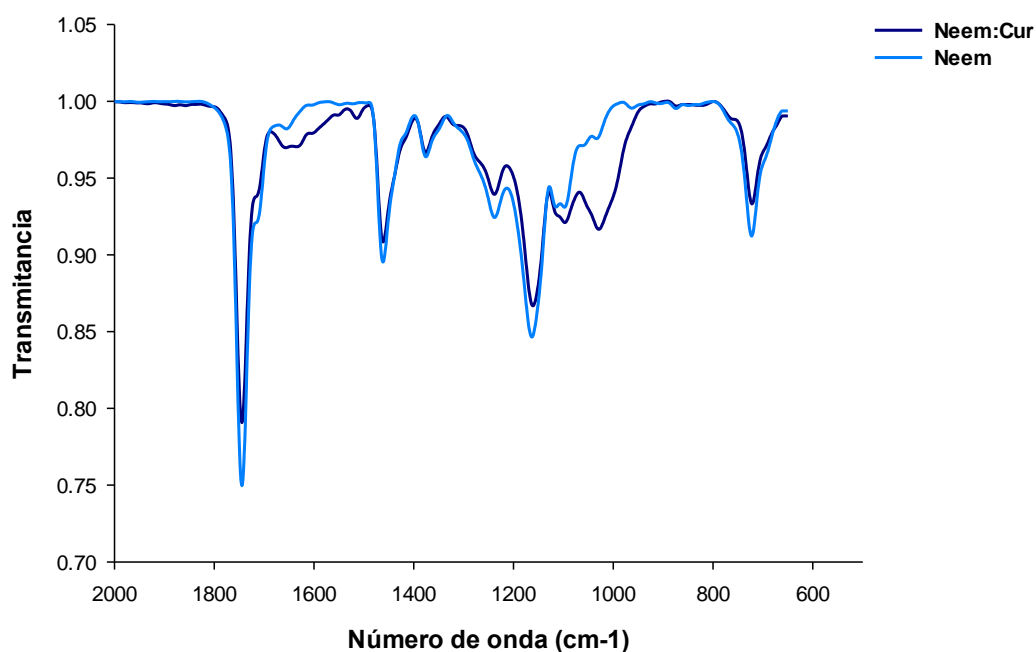


Figura 6: Espectro IR aceite de Neem y mezcla física (Cur: Neem). Escaneo de 2000 a 500 cm⁻¹

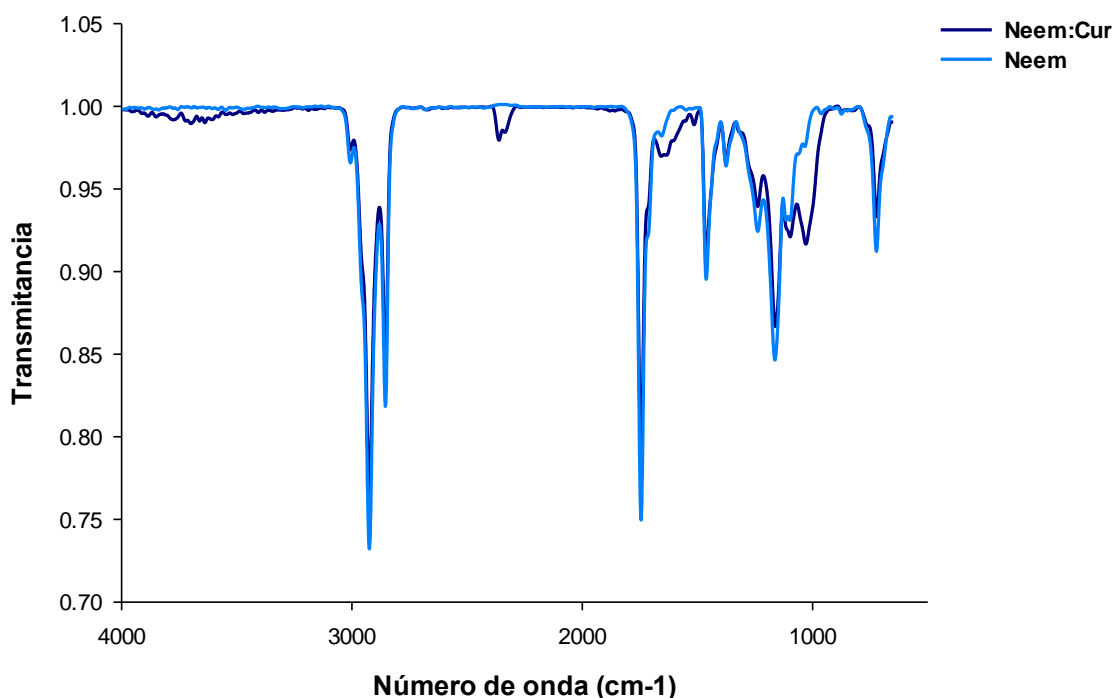


Figura 7: Espectro IR aceite de Neem y mezcla física (Cur: Neem). Escaneo de 4000 a 500 cm^{-1} .

Las posiciones e intensidades específicas de estas bandas pueden variar dependiendo de factores como el procesamiento y la pureza de los compuestos, o la incorporación de otros compuestos pueden causar cambios adicionales en el espectro. Los resultados de la evaluación de la mezcla física de curcumina y aceite de Neem por espectroscopia IR se muestran en las figuras 6, 7, 8 y 9. Observando las bandas características del aceite de Neem en el espectro correspondiente a la mezcla, aunque las bandas de curcumina son menos intensas se aprecian en dicho espectro. Teniendo bandas aditivas que corresponden a las bandas de los compuestos individuales, por lo que no se presenta una compatibilidad química. El resultado del DSC quizá se deba a la evaporación del agua presente en el aceite de Neem.

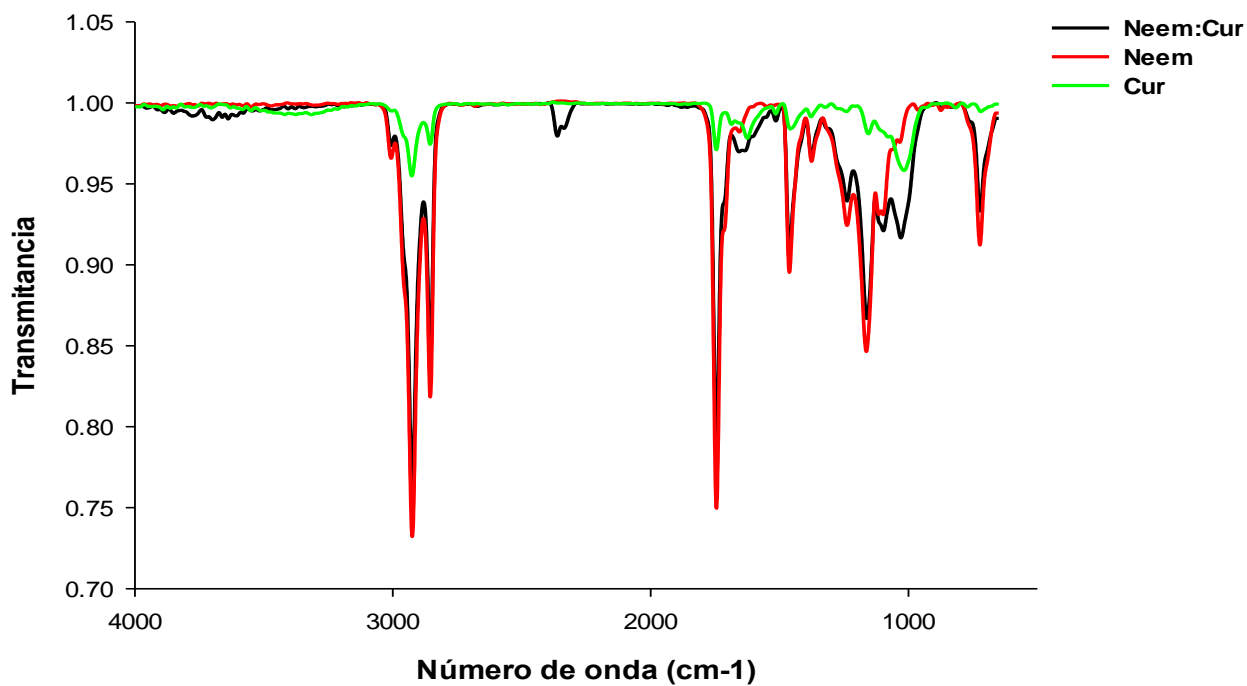


Figura 8: Espectro IR curcumina, aceite de Neem y mezcla física (Cur: Neem). Escaneo de 4000 a 500 cm^{-1}

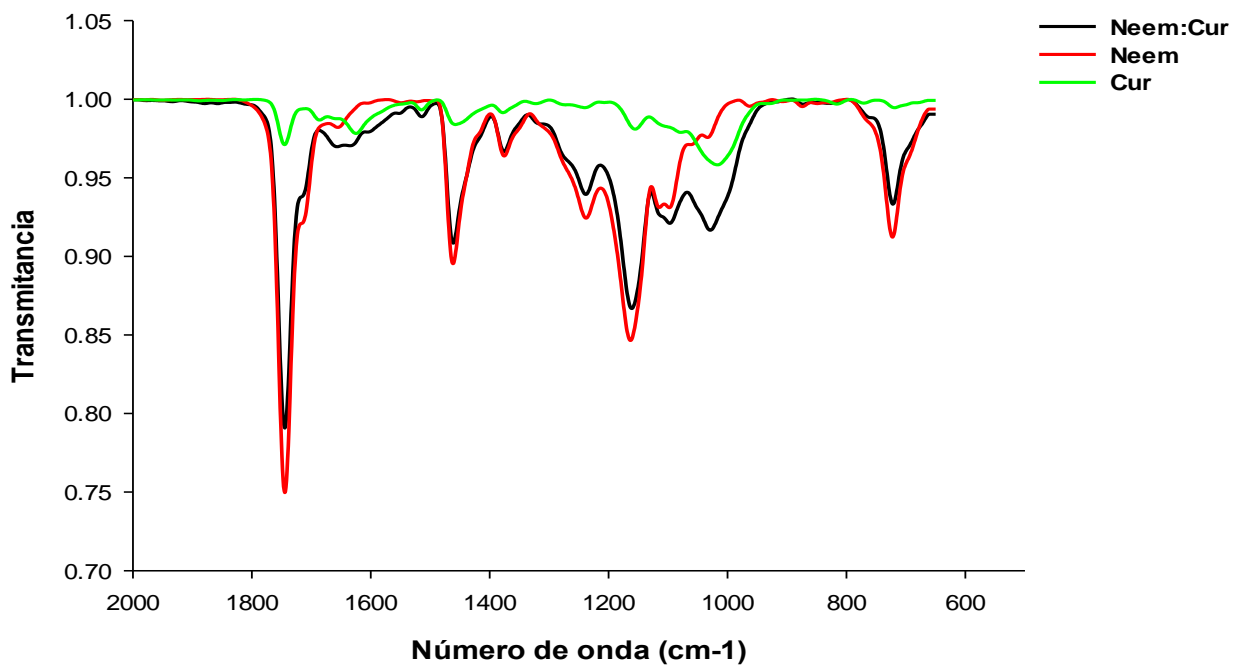


Figura 9: Espectro IR curcumina, aceite de Neem y mezcla física (Cur: Neem). Escaneo de 2000 a 500 cm^{-1}

La figura 10 muestra el traslape de los espectros, pareciera que las bandas correspondientes a la curcumina desaparecen en el espectro de IR de la mezcla física, teniendo bandas que corresponden a la señal del aceite de Neem. Sin embargo, las bandas más pronunciadas son de las cadenas alifáticas, seguido del grupo éster que se traslapan con las de la curcumina por ser menos intensas.

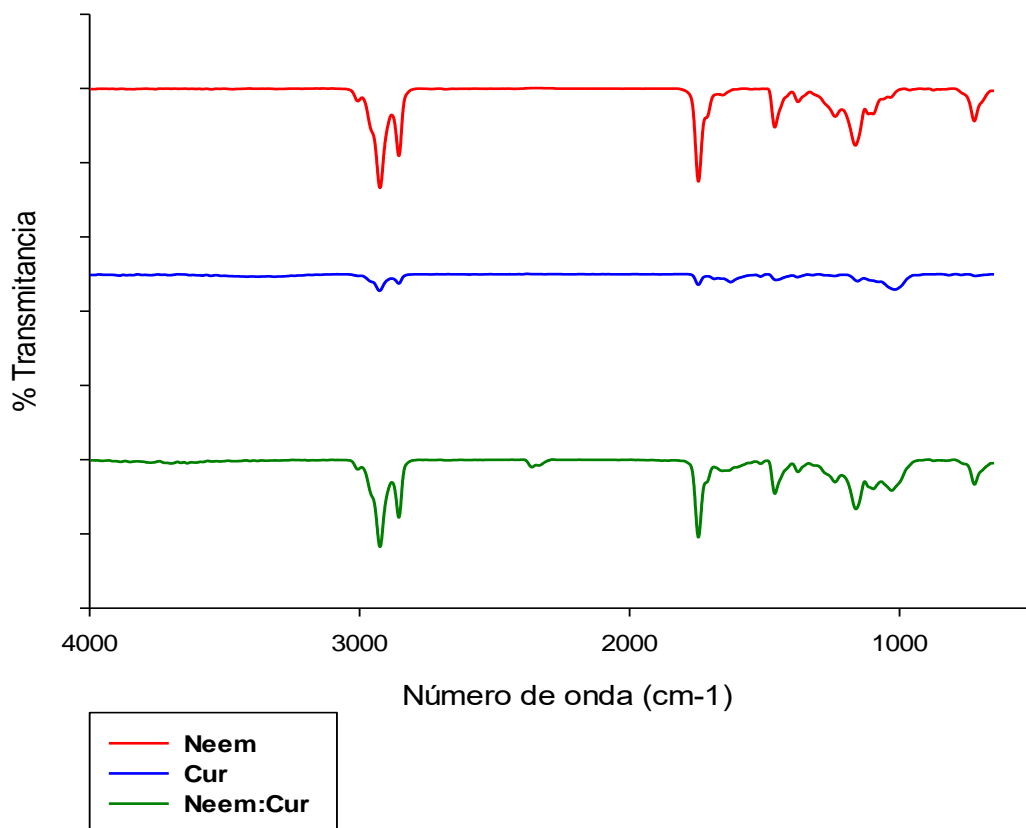


Figura 10: Espectros IR de los compuestos naturales: curcumina, aceite de Neem y la mezcla física (1:1)

Pruebas preliminares de solubilidad

Los sistemas de zeína como agente de encapsulación fueron preparados por el método de desplazamiento de solvente, el cual emplea una fase solvente que se dispersa en un antisolvente haciendo importante el estudio del efecto del solvente como una variable de proceso que afecta los atributos críticos de calidad de la formulación. De modo que, se requiere la elección adecuada del solvente para la

obtención de sistemas nanométricos monodispersos, estables y con alta eficiencia de encapsulación. Por lo cual, se realizaron pruebas de solubilidad en diferentes disolventes para encontrar la fase solvente óptima para los principios activos y el polímero, los resultados se muestran en la Tabla 2.

La solubilidad de la zeína fue similar en los disolventes probados, excepto en el etanol. Siendo este último empleado para la cuantificación de los principios activos. La limitante en la formulación fue la solubilidad de la curcumina, ya que fue baja en comparación con el aceite de Neem. Esto se puede explicar gracias a que la curcumina es una molécula anfipática es decir que tiene presente grupos hidrófilos e hidrófobos lo que le proporciona una capacidad de ser parcialmente soluble en agua y en disolventes orgánicos. (Vallespi, 2016)

Tabla 2. Solubilidad del aceite de Neem, curcumina y zeína en diferentes disolventes

Disolvente	Muestra	Concentración (mg/mL)
Etanol/Agua (85:15)	Zeína	9.33 ± 0.12
	Aceite de Neem	8.13 ± 1.75
	Curcumina	0.33 ± 0.23
Metanol/Acetona (80:20)	Zeína	8.87 ± 0.12
	Aceite de Neem	10.53 ± 0.83
	Curcumina	0.07 ± 0.12
Metanol	Zeína	9.67 ± 0.50
	Aceite de Neem	9.20 ± 0.53
	Curcumina	1.07 ± 0.31
Etanol	Zeína	3.53 ± 0.99
	Aceite de Neem	18.87 ± 0.64
	Curcumina	0.27 ± 0.64

El aspecto físico de las pruebas de solubilidad se presenta en la figura 11, donde se observan las disoluciones para la zeína, aceite de Neem y curcumina con diferente disolvente: metanol: acetona (Met/Acet), solución de Tween 80 (TW), metanol (Met) y etanol: agua (Et/Agua) para zeína, aceite de Neem y curcumina. La solución de Tween 80 se descartó al no solubilizar completamente los compuestos, se observó turbidez en los viales además de una gran inestabilidad de los compuestos, ya que al transcurrir unos minutos se notaba una completa sedimentación de los compuestos, demostrando la insolubilidad de algunos de ellos.

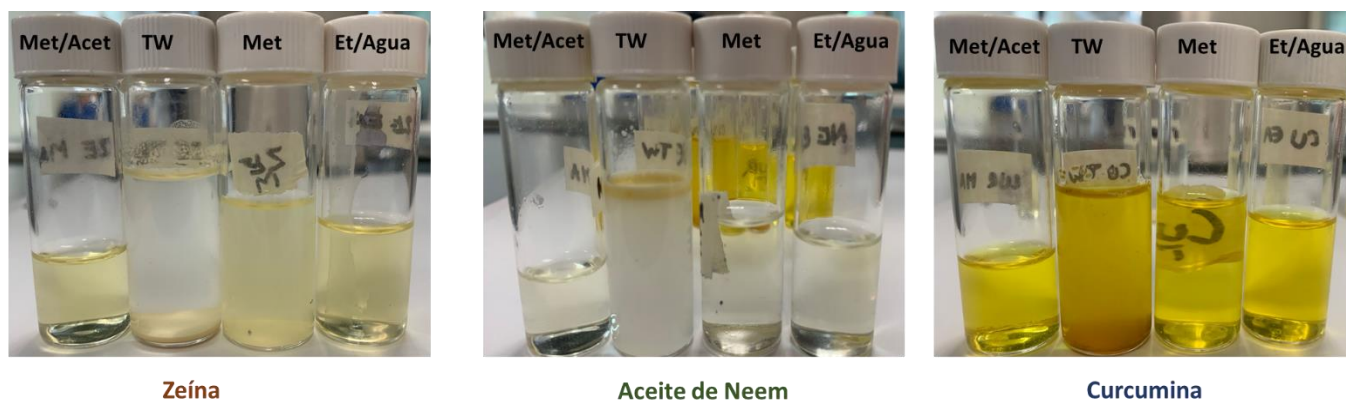
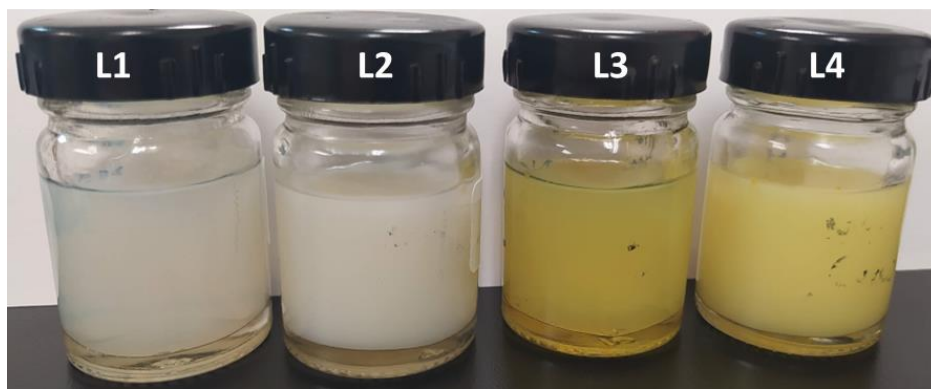


Figura 11: Aspecto visual de las pruebas de solubilidad en metanol: acetona (Met/Acet), solución de Tween 80 (TW), metanol (Met) y etanol: agua (Et/Agua) para zeína, aceite de Neem y curcumina.

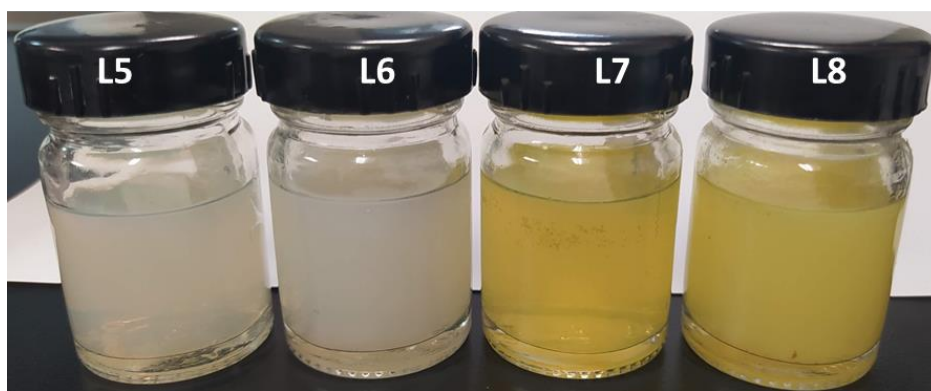
Obtención del nanosistema

Los resultados de tamaño de partícula de las nanopartículas de Zeína/Cúrcuma/Neem, Cúrcuma/Zeína y Neem/Zeína se muestran en la Tabla 3 a diferentes condiciones de formulación. Al incorporar los principios activos a la formulación el tamaño de partícula incremento a valores micrométricos lo cual se puede observar a simple vista, obteniendo lotes con mayor turbidez (figura 12) esto nos permiten identificar las variables de proceso y de formulación que se tendrán que ajustar para obtener tamaños nanométricos. Discutir cómo afecta la cantidad de polímero y estabilizante en los diferentes lotes.

Metanol/Acetona



Etanol/Agua



Metanol

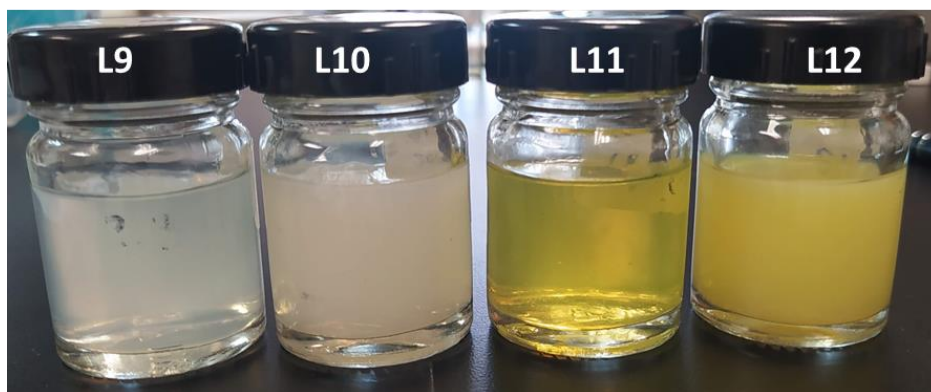


Figura 12: Aspecto visual de los lotes obtenidos de acuerdo con las condiciones de disolvente y tipo de principio activo incorporado del diseño experimental

Tabla 3. Características fisicoquímicas de las nanopartículas Zeína/Cúrcuma/Neem, Cúrcuma/Zeína y Neem/Zeína

Lote	Principio Activo	Método	Homogeneización	Condiciones	Observaciones
L1	Aceite de Neem (50mg) Cúrcuma (10mg)	Desplazamiento de solvente.	Agitación mediante parrilla magnética.	Solvente: Etanol/Agua (85:15) Polímero: Zeína al 1% Estabilizante: Poloxámero 188 al 2% Velocidad de inyección: 1 mL/min	Tamaño de partícula de 1.31 micrómetros. Aumento de tamaño conforme transcurren los días. No existe precipitación de los componentes.
L2	Aceite de Neem (50mg) Cúrcuma (10mg)	Desplazamiento del solvente.	Agitación mediante parrilla magnética.	Solvente: Metanol/Acetona (80:20) Polímero: Zeína al 1% Estabilizante: Poloxámero 188 al 2% Velocidad de inyección: 1 mL/min	Tamaño de partícula de 0.163 micrómetros. Aumento de tamaño conforme transcurren los días. Existe una precipitación transcurridos 1 día después de la elaboración
L3	Aceite de Neem (50mg) Cúrcuma (10mg)	Desplazamiento del solvente.	Agitación mediante parrilla magnética.	Solvente: Metanol Polímero: Zeína al 1% Estabilizante: Poloxámero 188 al 2% Velocidad de inyección: 1 mL/min	Tamaño de partícula de 0.324 micrómetros. Aumento de tamaño conforme transcurren los días. Existe una precipitación transcurridos 2 minutos después de la elaboración
L4	Aceite de Neem (50mg) Cúrcuma (10mg)	Desplazamiento del solvente.	Agitación mediante parrilla magnética.	Solvente: Etanol/Agua (85:15) Polímero: Zeína al 4% Estabilizante: Poloxámero 188 al 2% Velocidad de inyección: 1 mL/min	Tamaño de partícula de 1.31 micrómetros. Aumento de tamaño conforme transcurren los días. No existe precipitación de los componentes.

L5	Aceite de Neem (50mg) Cúrcuma (10mg)	Desplazamiento del solvente.	Agitación mediante parrilla magnética, posteriormente se sometió a un ciclo de homogenización con ultraturrax a 10,000 rpm	Solvente: Etanol/Agua (85:15) Polímero: Zeína al 1% Estabilizante: Poloxámero 188 al 4% Velocidad de inyección: 1 mL/min	Tamaño de partícula de 1.542 micrómetros. Aumento de tamaño conforme transcurren los días. No existe precipitación de los componentes.
L6	Aceite de Neem (50mg) Cúrcuma (10mg)	Desplazamiento del solvente.	Agitación mediante parrilla magnética, posteriormente se sometió a dos ciclos de homogenización con ultraturrax a 10,000 rpm	Solvente: Etanol/Agua (85:15) Polímero: Zeína al 1% Estabilizante: Poloxámero 188 al 4% Velocidad de inyección: 1 mL/min	Tamaño de partícula de 4.41 micrómetros. Aumento de tamaño conforme transcurren los días. No existe precipitación de los componentes.
L7	Cúrcuma (10mg)	Desplazamiento del solvente.	Agitación mediante parrilla magnética.	Solvente: Etanol/Agua (85:15) Polímero: Zeína al 1% Estabilizante: Poloxámero 488 al 4% Velocidad de inyección: 1 mL/min	Tamaño de partícula de 0.303 micrómetros. No presentan aumento de tamaño conforme transcurren los días. No existe precipitación de los componentes.
L8	Aceite de Neem (50mg)	Desplazamiento del solvente.	Agitación mediante parrilla magnética.	Solvente: Etanol/Agua (85:15) Polímero: Zeína al 1% Estabilizante: Poloxámero 188 al 4% Velocidad de inyección: 1 mL/min	Tamaño de partícula de 0.175 micrómetros. No presentan aumento de tamaño conforme transcurren los días. No existe precipitación de los componentes.

Optimización de la nanoformulación

Se realizó un diseño factorial de niveles mixto $3^1 4^1$: donde las variables independientes fueron el disolvente: metanol/acetona (80:20); etanol/agua (85:15); metanol; y el principio activo incorporado al sistema.

La caracterización de las nanopartículas fabricadas por el método de desplazamiento de solvente con zeína y poloxámero 188 a las diferentes condiciones del diseño experimental se presenta en la Tabla 4.

Tabla 4. Caracterización de las nanopartículas de zeína/poloxámero 188.

Lote	Característica	TP (nm)	IPD	ζ (mV)	Eficiencia Neem (%)	Eficiencia Curcumina (%)
1		3026 ± 196.8	0.65 ± 0.31	-6.92 ± 0.53	---	---
2		3093 ± 1017.5	1.00 ± 0.00	-1.38 ± 4.20	78.52 ± 0.05	---
3		3389.3 ± 1554	0.76 ± 0.22	-9.32 ± 0.85	---	85.34 ± 0.01
4		214.6 ± 40.5	0.29 ± 0.14	16.27 ± 0.21	88.60 ± 0.01	97.81 ± 0.00
5		140.9 ± 3.5	0.16 ± 0.02	19.03 ± 0.91	---	---
6		150.9 ± 4.3	0.19 ± 0.02	29.47 ± 2.30	75.69 ± 0.08	---
6		162.7 ± 1.8	0.32 ± 0.01	29.77 ± 0.70	---	81.61 ± 0.03
8		5707 ± 654.9	0.96 ± 0.08	13.90 ± 0.35	69.45 ± 0.04	85.66 ± 0.02
9		191.1 ± 15.1	0.40 ± 0.04	15.30 ± 0.26	---	---
10		15160 ± 4042.6	0.62 ± 0.49	-0.95 ± 0.20	76.47 ± 0.02	---
11		5204.7 ± 1483.4	0.78 ± 0.38	8.67 ± 0.53	---	80.32 ± 0.03
12		1665.7 ± 102.6	0.45 ± 0.43	-18.70 ± 0.61	85.69 ± 0.00	93.36 ± 0.01

El análisis estadístico del diseño experimental mostró que el disolvente fue un factor significativo para el tamaño de partícula ($p=0.034$) y potencial zeta ($p=0.000$) de los lotes fabricados, en la gráfica de efectos principales (figura 13 y 14) se observa que los valores bajos de tamaño de partícula se lograron con la combinación de disolventes y para las nanopartículas sin principio activo.

En cuanto al potencial zeta los valores más altos fueron con la mezcla etanol: agua, el cual presentó la mayor solubilidad del agente de encapsulación. La incorporación del principio activo no afectó significativamente el potencial zeta, por lo que se determinó que ni el aceite de Neem ni la curcumina afectan la carga de la partícula.

El resultado del IPD no se afectó significativamente por el disolvente, sin embargo, los valores más pequeños se obtuvieron con la mezcla etanol: agua teniendo partículas monodispersas. Con la incorporación del principio activo se aumenta el índice de polidispersidad y el tamaño de partícula.

Para la eficiencia de encapsulación de Neem fue significativo el disolvente $p=0.004$, la diferencia entre nanopartículas blanco y nanopartículas de Neem también fue significativa $p=0.000$, las gráficas de efectos principales muestran eficiencias alrededor del 80% para los lotes fabricados. En la eficiencia de curcumina, tanto el disolvente ($p=0.001$) como la incorporación del principio activo ($p=0.000$) resultaron significativas teniendo eficiencias entre 80-90%.

En resumen, el tamaño de partícula y la eficiencia de encapsulación se ven afectadas por el disolvente empleado, siendo el siguiente paso de la optimización, elegir el disolvente adecuado que, de tamaños de partícula nanométricos, IPD menores a 0.2 y eficiencias de encapsulación altas.

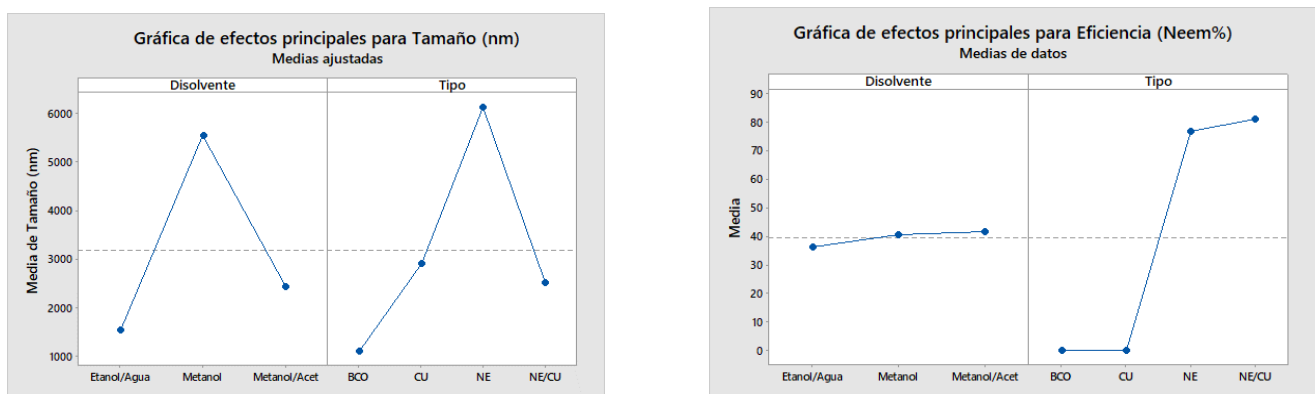


Figura 13: Gráfica de efectos principales del diseño experimental de nanopartículas. de aceite de Neem/Curcumina

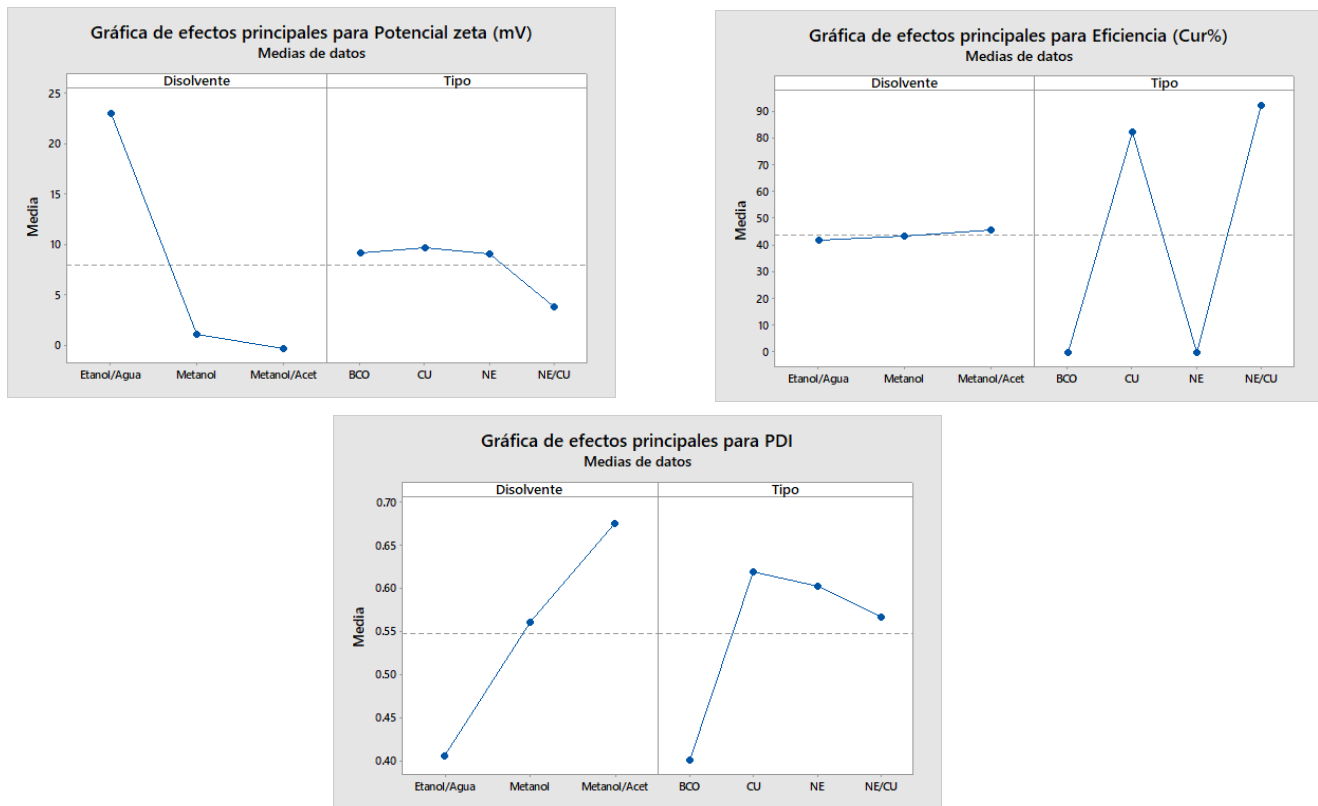


Figura 14: Gráfica de efectos principales del diseño experimental de nanopartículas de aceite de *Neem*/Curcumina

Las gráficas de las interacciones de los factores estudiados se muestran en la figura 15. En el caso del tamaño de partícula, con la mezcla de etanol: agua como fase solvente, la incorporación del principio activo de manera individual no incrementó el tamaño de partícula. Sin embargo, al adicionar la mezcla de aceite de *Neem*: curcumina se obtuvieron tamaños micrométricos, lo que se le atribuye a la capacidad de carga de la zeína, se encuentra reportado que su capacidad de carga es baja (22.75 μg) (Hernández, 2015).

Para el IPD, no se obtuvieron valores menores a 0.2, por lo cual se tiene que mejorar el método de desplazamiento solvente para obtener poblaciones de tamaño de partícula nanométricos y monodispersos.

El gráfico de potencial zeta muestra valores desde -19 mV a 29 mV, con la mezcla de etanol: agua se formaron dispersiones con potenciales zeta altos tanto para aceite de *Neem* como para la curcumina. Aunque, al incorporar la mezcla de los compuestos naturales el potencial disminuyó cerca de 10 unidades haciendo menos estable la dispersión. Para el caso de metanol: acetona los potenciales fueron bajos

y en metanol el potencial disminuyó considerablemente al adicionar la mezcla de los principios activos.

No se encontró diferencia de los solventes usados sobre la eficiencia de encapsulación del aceite de Neem y curcumina en los lotes fabricados.

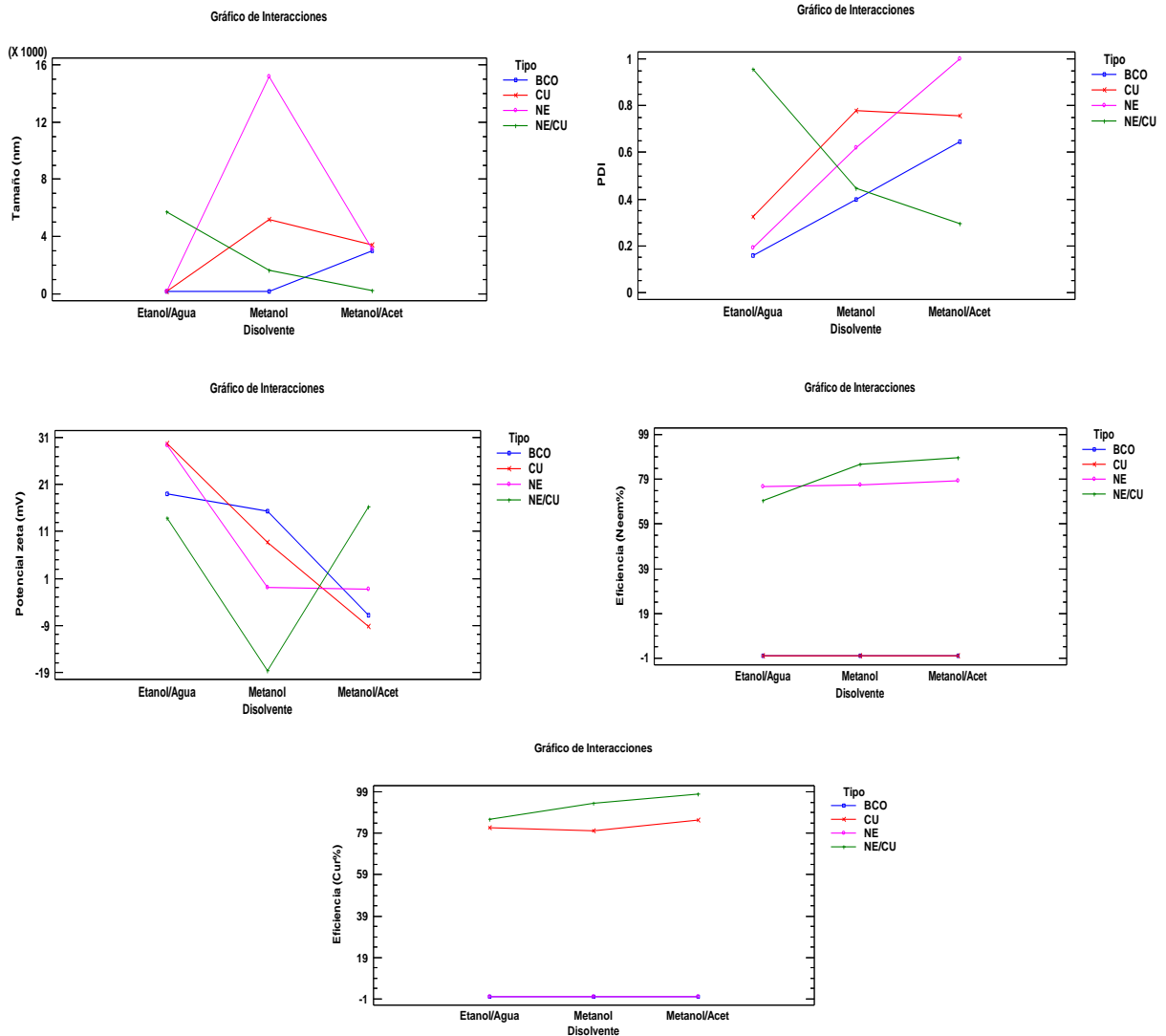


Figura 15: Gráfica de interacciones del diseño experimental de nanopartículas de aceite de Neem/Curcumina.

Obtención del nanosistema final

De acuerdo con los resultados obtenidos en el diseño experimental se determinó que las condiciones adecuadas para la obtención del nanosistema fueran las siguientes; una solución de zeína en etanol agua al 0.5% donde se encontrarían inmersos 20 mg de curcumina y 200 mg de aceite de Neem previamente solubilizados en 5 mL de etanol, esta solución sería inyectada con una bomba de infusión a una solución de poloxámero 188 al 3% con una velocidad de 1.5 mL/min en agitación constante, sin embargo tomando en cuenta los resultados anteriores se decidió realizar nanopartículas por separado, es decir nanopartículas de aceite de Neem y nanopartículas de curcumina ya que se obtenían mejores tamaños de partícula. Los resultados de la formulación final se encuentran en la Tabla 5.

Tabla 5. Caracterización de las nanopartículas de zeína/poloxámero 188 cargadas con los principios activos.

Lote	Característica				
	TP (nm)	IPD	ζ (mV)	Eficiencia Neem (%)	Eficiencia Curcumina (%)
CU 1	694.1 \pm 3.5	0.212 \pm 0.53	-0.888 \pm 0.53	----	83.50 \pm 0.05
CU 2	752.2 \pm 2.5	0.219 \pm 0.12	-2.45 \pm 4.20	----	84.2 \pm 0.05
CU 3	763.6 \pm 4.5	0.232 \pm 0.96	-2.6 \pm 0.85	----	85.34 \pm 0.01
CU 4	908.7 \pm 1.5	0.357 \pm 0.86	-4.63 \pm 0.21	----	----
CU 5	885.3 \pm 4.0	0.322 \pm 0.54	-5.32 \pm 0.91	----	----
CU 6	887.6 \pm 5.6	0.298 \pm 0.26	-5.79 \pm 2.30	----	----
NEEM 1	644.9 \pm 3.5	0.175 \pm 0.12	-11.6 \pm 0.70	83.33 \pm 0.03	----
NEEM 2	726.3 \pm 6.5	0.232 \pm 0.24	-10.8 \pm 0.35	84.13 \pm 0.04	----
NEEM 3	799.8 \pm 0.5	0.22 \pm 0.94	-10.9 \pm 0.26	----	----

Como se puede observar en los resultados de la tabla 5. En el caso del tamaño de partícula, la incorporación de los principios activos de manera individual no incrementó el tamaño de partícula y se logró obtener tamaños nanométricos. Otros autores obtuvieron tamaños más pequeños, entre 38 y 98 nm (Hernández,2016); De La Fuente et al. (2018) reportó un sistema nanoparticulado de curcumina con valores de tamaño de 45 nm; la diferencia de tamaño de partícula se debe al uso de técnicas de homogenización una vez que el sistema ya está formado como la ultrasonicación, la cual es una técnica utilizada para dispersar materiales en líquidos con la finalidad de romper los aglomerados y obtener tamaños de partícula más pequeños. En este estudio a pesar de no utilizar ninguna técnica de reducción de partículas se obtuvieron tamaños que se encuentran dentro del rango nanométrico lo cual nos ayuda a cumplir con el objetivo de ocupar la mínima cantidad de pasos en el proceso volviéndolo rentable y amigable con el ambiente. Para el IPD, no se obtuvieron valores menores a 0.2 a excepción del lote NEEM 1, por lo cual se tiene que mejorar el método para obtener poblaciones monodispersas.

En cuanto al potencial zeta se obtuvieron valores desde -0.888 mV a -10.9 mV. A pesar de que los valores de potencial ζ se encuentran en el rango de inestabilidad (-30 a +30 mV), tienen valores similares a los encontrados por Sari et al. (2014) quienes caracterizaron nanoemulsiones de curcumina, dicha curcumina fue solubilizada en triglicéridos de cadena media utilizando concentrado de proteína de suero y Tween 80 como tensoactivo. Los valores de potencial ζ obtenidos en este trabajo fueron de -6.9 ± 0.2 mV, la pequeña diferencia de los valores de potencial ζ pueden ser debido a que Sari et al. (2014) utilizaron una mezcla de surfactante con proteína como estabilizante del sistema, mientras que en este estudio se utilizó únicamente poloxámero 188.

De acuerdo con los resultados que se presentan en la Tabla 5 la eficiencia de encapsulación aumentó con el incremento de la concentración de curcumina adicionada en la formulación de los estudios preliminares y a la formulación optimizada, ya que se determinó la solubilidad de la curcumina en la mezcla de etanol/agua es de 0.33 mg/mL, lo cual supone que añadir una cantidad mayor reduciría la eficiencia de encapsulación dado a que el exceso de curcumina saldría

y no sería encapsulada. Lo anterior se ajusta a los resultados obtenidos ya que en la optimización del nanosistema se registraba una eficiencia del 97%, mientras que en la formulación final se registró una eficiencia del 80 al 86 % lo cual podría explicarse por el aumento en la concentración ya que al inicio era de 10 mg y se aumentó a 20 mg, sin embargo, estas eficiencias de encapsulación son superiores a las que se encuentran en la literatura ya que Maldonado (2021) obtuvo una eficiencia del 50.8 % al elaborar sus nanopartículas con copolímeros. Por otro lado, Ghobadi-Oghaz et al. (2022) obtuvo una eficiencia de encapsulación del 75 % al elaborar sus nanopartículas con zeína y recubrirlos con quitosán, lo cual hace alusión a que la formulación establecida en este estudio tiene la capacidad de encapsular en mayor proporción la curcumina y así poder cumplir un efecto terapéutico de mejor manera.

En cuanto respecta al aceite de Neem no se puede realizar una comparación con otros artículos, este es el primer estudio que utiliza este aceite en este tipo de forma farmacéutica y para el uso de la salud humana, este aceite únicamente se encuentra reportado como insecticida en solución o polvo.

7. Conclusiones

Se logro determinar la compatibilidad química y física a través del análisis de espectroscopia IR y DSC, observando que la curcumina y el aceite de Neem son incompatibles. De tal manera, que pueden mezclarse sin formar ningún tipo de compuesto químico y por lo tanto estar presentes en la formulación sin alterar su estabilidad física y química.

Se logro desarrollar y caracterizar un sistema nanoparticulado con curcumina y aceite de Neem como posible tratamiento combinado para el cáncer de mama, el cual se obtuvo mediante el método de desplazamiento del solvente, obteniendo tamaños de partícula nanométricos en poco tiempo y ocupando un método sencillo para la elaboración de este sistema, volviéndolo rentable y amigable con el ambiente. La ventaja de este estudio radica en que a diferencia de otras investigaciones que pretenden obtener nanopartículas de curcumina, en este se logró una mayor encapsulación de los principios activos, sin embargo, gracias a la caracterización de la formulación se determinó que el sistema no es monodisperso y estable por lo que se sugiere utilizar otro tipo de estabilizante o una mayor concentración de poloxámero 188.

Se busca que esta formulación al ser sometida a pruebas in vitro con células cancerígenas sea capaz de reducir el crecimiento de estas y consolidarse como un tratamiento dirigido que pueda reducir los efectos tóxicos de la quimioterapia, siendo este una alternativa innovadora para el tratamiento de Cáncer de mama, ya que la nanotecnología en la administración fármacos es prometedora para mejorar la eficacia y seguridad de los tratamientos, y la investigación en curso continúa explorando nuevos materiales y estrategias para una administración más eficiente y específica. En este sentido, la optimización de nuevas formulaciones con materiales naturales, biodegradables y biocompatibles hace que el desarrollo de nanopartículas puedan ser una mejora al tratamiento del cáncer de mama.

8. Referencias

Arceo-Martínez, M. T., López-Meza, J. E., Ochoa-Zarzosa, A., & Palomera-Sánchez, Z. (2021). Estado actual del cáncer de mama en México: principales tipos y factores de riesgo. *Gaceta mexicana de oncología*, 20(3), 101-110.

Arreola, L. del P. T. (2007). Cáncer de mama. Detección oportuna en el primer nivel de atención. *Instituto Mexicano Del Seguro Social*, 45(2), 157–166.

Chaucca, K. C. R. (2019). extracción y caracterización del aceite esencial de nim (*Azadirachta indica a. juss*) por lixiviación a partir de las semillas para su uso en repelentes de la zona kurt beer piura [tesis de licenciatura]. universidad nacional de piura.

Cárdenas-Sánchez, J., Bargalló-Rocha, E., Erazo-Valle, A., Chacón, A. P., Valero-Castillo, V., & Pérez-Sánchez, V. (2015). Consenso Mexicano sobre diagnóstico y tratamiento del cáncer mamario. *Gaceta Mexicana de Oncología*, 14(Supl 2), 2-55.

De Juan, A., Calera, L., Gutiérrez, L., Saiz, L., & Ruiz de la Fuente, M. (2018). Actualización del tratamiento del cáncer de mama. Servicio de Oncología Médica. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander. [Internet].

De La Fuente, I. G., Valerio, C., & González, V. (2018). Obtención de nanopartículas de curcumina, a partir del extracto de cúrcuma longa. *Química hoy chemistry sciences*, 8(2), 4. <https://doi.org/10.29105/qh8.2-229>

Durán, E. M., Moreno, D. H., Prado, M., Santiyán, M., Rodríguez, F. S., & López, M. P. (2021). Las nanopartículas y sus aplicaciones biomédicas.

Farghadani, R., & Naidu, R. (2022). Curcumin as an enhancer of therapeutic efficiency of chemotherapy drugs in breast cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(4), 2144.

Foladori, G., & Invernizzi, N. (2006). La nanotecnología: una solución en busca de problemas. *Comercio exterior*, 56(4), 326-334.

<https://biblat.unam.mx/es/revista/comercio-externo/articulo/la-nanotecnologia-una-solucion-en-busca-de-problemas>

García, G., [Universidad Central de Venezuela]. (2009). Extracción de aceite esencial de hojas del árbol de neem (*azadirachta indica* a. Juss), empleando microondas y ultrasonido como métodos de extracción [trabajo especial de grado]. Universidad Central de Venezuela.

Ghobadi-Oghaz, N., Asoodeh, A., & Mohammadi, M. (2022). Fabrication, characterization, and in vitro cell exposure study of zein-chitosan nanoparticles for co-delivery of curcumin and berberine. *International Journal of Biological Macromolecules*, 204, 576-586. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.02.041>

Hernández, S. (2015). Síntesis de nanopartículas de sílica funcionalizadas para capturar y concentrar proteínas de baja masa molecular y baja abundancia [Tesis de maestría]. Coordinación de ciencias en alimentos.

Hernández, K. H. H. (2016). Caracterización y digestión gastrointestinal de cápsulas líquidas de Curcumina (*Cúrcuma longa* L.). [Tesis de maestría]. Universidad Veracruzana.

Jesús, A. G. de J. (2021). Nanomateriales contra el cáncer. *Materia, Ciencia y Nanociencia*, 4(1), 18–31.

León, J. G., Estrada-Villegas, G. M., Olayo, R., Muñoz, E., Morales-Corona, J., Olayo-Valles, R., & Martínez-Hernández, R. C. (2020). Caracterización y estudio de liberación de curcumina cargada en microfibras de ácido poliláctico. *Revista de la Facultad de Ciencias*, 9(1), 125-141. <https://doi.org/10.15446/rev.fac.cienc.v9n1.81966>

Maldonado, R. A. M. C. (2021). Preparación de nanopartículas de copolímeros acrílicos mediante la técnica de polimerización en miniemulsión [Tesis de maestría]. CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN QUÍMICA APLICADA.

Palmero Picazo, J., Lassard Rosenthal, J., Juárez Aguilar, L. A., & Medina Núñez, C. A. (2021). Cáncer de mama: una visión general. *Acta Médica Grupo Ángeles*, 19(3), 354–360. <https://doi.org/10.35366/101727>

Pijoan, M. (2004). El neem. *ELSEVIER, Offarm*, 23(5), 128–133.

Priyadarsini, K. I. (2013). Chemical and structural features influencing the biological activity of curcumin. *Current Pharmaceutical Design*, 19(11), 2093-2100. <https://doi.org/10.2174/138161213805289228>

Priyadarsini, K. I. (2014). The chemistry of curcumin: From extraction to therapeutic agent. *Molecules*, 19(12), 20091-20112. <https://doi.org/10.3390/molecules191220091>

Péret-Almeida, L., Cherubino, A., Alves, R. J., Dufossé, L., & Glória, M. B. A. (2005). Separation and determination of the physico-chemical characteristics of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin. *Food Research International*, 38(8-9), 1039-1044. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2005.02.021>

Ramírez, M. E. (2018). Cáncer de mama. *Revista Médica Sinergia*, 2(1), 8–12. <https://doi.org/10.37980/im.journal.rmdp.2019828>

Rodríguez, F. D. del C. (2012). Fes-Cuautitlán Departamento De Ingeniería Introducción a Los Nanomateriales.

Salazar, J. G. de la G. (2014). El cáncer. In *Universidad Autónoma de Nuevo León* (Vol. 1, Issue 2).

Sari T.P., Mann B., Kumar R., Singh R.R.B., Sharma R., Bhardwaj M. y Athira S. 2014. Preparation and characterization of nanoemulsion encapsulating curcumin. *Food Hydrocolloids*, xxx (2014):1-7

Sayyar, Z., & Jafarizadeh-Malmiri, H. (2019). Temperature effects on thermodynamic parameters and solubility of curcumin O/W nanodispersions using different thermodynamic models. *International Journal of Food Engineering*, 15(1-2). <https://doi.org/10.1515/ijfe-2018-0311>

Sharma, R., Kaushik, S., Shyam, H., Agarwal, S., & Balapure, A. K. (2017). Neem seed oil induces apoptosis in MCF-7 and MDA MB-231 human breast cancer cells. *Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP*, 18(8), 2135.

Sharma, V., & Pathak, K. (2016). Effect of hydrogen bond formation/replacement on solubility characteristics, gastric permeation and pharmacokinetics of curcumin by application of powder solution technology. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 6(6), 600-613. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2016.05.015>

Sánchez, Y. B. (2020). Empleo de nanopartículas en el tratamiento del cáncer. In Universidad de Sevilla.

Tratamiento del cáncer de seno. (s. f.). American Cancer Society. <https://www.cancer.org/es/cancer/tipos/cancer-de-seno/tratamiento.html>

Vallespí, R. M. C. (2016). Curcumina y curcuminoides: química, estudios estructurales y propiedades biológicas. *Anales De La Real Academia Nacional De Farmacia*, 81(4), 278-310. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6651314>

Yustos, M. A. (2017). Cáncer de mama. *Medicine*, 12(34), 2011–2023.

9. Cronograma

Objetivo	Actividades a realizar	MES 1	MES 2	MES 3	MES 4	MES 5	MES 6
1	Elaboración del protocolo						
2	Capacitación en laboratorio						
3	Pruebas de compatibilidad						
4	Obtención y optimización del sistema nanoparticulado						
5	Caracterización del nanosistema						
6	Análisis de resultados						
7	Redacción de informe final						

10. Anexos Cartel presentado en el LVI Congreso Nacional y X Internacional de Ciencias Farmacéuticas

Los resultados obtenidos en esta investigación fueron presentados en el LVI Congreso Nacional y X Internacional de Ciencias Farmacéuticas con la finalidad de enriquecer el conocimiento de la comunidad farmacéutica.

