

---

---

**POSGRADO EN CIENCIA E INGENIERÍA DE MATERIALES**

“MATERIALES MESOPOROSOS ORDENADOS  
BIFUNCIONALIZADOS DE SÍLICE COMO SISTEMAS DE  
LIBERACIÓN CONTROLADA DE CEFALEXINA: APLICACIÓN EN  
TECNOLOGÍAS DE REGENERACIÓN ÓSEA”

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

**MAESTRA EN CIENCIA**

**E INGENIERÍA DE MATERIALES**

P R E S E N T A :

**Q. ZULEMA VARGAS OSORIO**

Tutor: Dra. María Cristina Piña Barba



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

<b>PRESIDENTE</b>	<b>JURADO ASIGNADO</b>
<b>VOCAL</b>	<b>Dr. Gustavo Tavizón Alvarado</b>
<b>SECRETARIO</b>	<b>Dr. Abel Moreno Cárcamo</b>
<b>2do. VOCAL</b>	<b>Dra. María de Lourdes Chávez García</b>
<b>3er. VOCAL</b>	<b>Dra. María Elena Villafuerte Castrejón</b>
	<b>Dra. María Cristina Piña Barba</b>

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ LA TESIS:**  
Departamento de Química Inorgánica y Bioinorgánica de la Facultad de Farmacia,  
UCM España. Laboratorio de Biomateriales, IIM UNAM.

**CO-TUTORAS (UCM)**  
**Dra. María Vallet Regí**  
**Dra. Montserrat Colilla Nieto**

**COMITÉ TUTORAL**  
**Tutor Principal: Dra. María Cristina Piña Barba**  
**Dr. Pedro Bosch Giral**  
**Dr. Modesto Javier Cruz Gómez**

**SUSTENTANTE**  
  
**Zulema Vargas Osorio**

## DEDICATORIAS

A mi mamita querida, que no tengo más que halagos para ella, quiero decirle que para mí, ella es la madre, mujer y amiga perfecta. Tú eres mi estándar a seguir, es una gran fortuna para nosotros 4 formar parte de tu vida. Todos los días, doy gracias a Dios por haberte puesto en mi camino, le pido que nunca te aleje de mi lado y por el amor, la felicidad y la salud de todos nosotros. Te amo muchísimo, te deseo todo el éxito del mundo.

Dady, eres mi apoyo, me encanta compartir tiempo contigo, y aunque me regañes cada vez que jugamos tenis juntos, no me importa porque solo quiero estar contigo el tiempo que sea posible. Gracias a tí, aprendí a luchar y buscar día a día nuevos retos y negocios. Tus pláticas me motivan a ser una mejor persona, al mismo tiempo me llenan de energía para emprender una vida más feliz y enfocada a objetivos. Te agradezco infinitamente que hayas adoptado a mis babies, principalmente a mi kikis.

Andreuchis a pesar de que me quieras fuera de la casa, jaja, yo sé que no puedes vivir sin mí, obvio ni yo sin tí. Sabes que te amo, aunque te grito y te regaño mucho, lo único que quiero es que estés muy bien y seas muy feliz. Siempre puedes contar con mi apoyo, platicarme lo que sea, que yo te sabré escuchar, y si necesitas algo, hasta por debajo de las piedras lo buscamos.

Dani, aunque ya no somos tan unido como cuando eramos niños, lo cual extraño mucho, quiero que sepas que estoy a tu lado a cada paso que das. Tú al igual que Andi son demasiado talentosos y están llenos de cualidades, sólo hace falta que las exploten. Tu eres mi gallo, te presumo con todos, estoy muy orgullosa de los dos, pónganse las pilas y vamos a hacer business.

Yos, a pesar de todo lo ocurrido, siempre has estado a mi lado apoyándome y amándome incondicionalmente. Eres mi chatito y voy a luchar porque esto sea maravilloso, que no nos falte nada y porque seamos felices.

A mis amigas Luisa, Laura, Alexandra y Caro, quiero decirles que sin ustedes mi estancia en España no hubiera sido única. Las quiero mucho, a pesar de la distancia, la amistad es un vínculo indestructible, como yo las considero. Cuentan conmigo para lo que necesiten, yo sé que algún día volveremos a cruzar nuestros caminos. Marcelo no creas que me olvide de tí, gracias amigo por todos los paseos que nos diste a las chicas y a mí, fueron muy divertidos, gracias a tí, conocí muchos lugares espectaculares. Les deseo a todos mucho éxito.

A la Dra. Cris, que la quiero mucho, que siempre me ha apoyado y que cree en mí, le deseo que todo lo que anhele se haga realidad.

Karlita, Isma, Gerardo, Dani, David, Naye.. y a todos los chicos del lab., simplemente les digo que me encanta estar y compartir con ustedes, hay una vibra espectacular y un ambiente de brothers, no cabe duda de que son personas maravillosas.

A todos mis amigos en general, que me han acompañado y amenizado las clases, que me han hecho reir y por el simple hecho de ser mis amigos, muchísimas gracias, espero verlos pronto, para seguir cotorreando.

A Montse y a la Dra. Vallet y a todos mis compañeros de la UCM, gracias por abrirme sus puertas y apoyarme con todo. Fue una experiencia maravillosa, aprendí muchísimo y me divertí de la misma forma, espero verlos pronto, mis mejores deseos.

Por supuesto que no podían faltar mis babies, que aunque no van a leer ésto, les agradezco todos los momentos de felicidad que me han brindado, son unos maravillosos seres, llenos de sorpresas. Les prometo que siempre los voy a querer y cuidar.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Dra. Cris por toda su comprensión, apoyo, tiempo y por hacerme sentir como en casa.

A la Dra. María Vallet por darme todo su apoyo y atenciones. Por compartir todo su equipo de laboratorio y por brindarme una experiencia sin igual.

A CONACyT por la beca otorgada durante la realización de mi Maestría. A la UNAM y a la DGAPA por el apoyo económico brindado, en el proyecto PAPIIT (IN104008).

Al rectorado de la UCM por la beca otorgada, por mi alojamiento en el Colegio Mayor "Miguel Antonio Caro", y por todo el apoyo en general.

A todo el personal del IIM y de la Facultad de Farmacia de la UCM que hicieron posible la culminación exitosa de este trabajo. Por la determinación y caracterización de mis muestras, y por el apoyo en los trámites.

Al comité tutorial por su apoyo y confianza

Al jurado por la revisión de esta tesis, sus buenas críticas y sugerencias.

A todos los profesores de la Maestría, porque sin ellos, yo no sabría lo que se ahora.

Y a mi amada UNAM porque siempre me ha arropado y a su lado me he desarrollado física, social, moral e intelectualmente.

## ÍNDICE GENERAL

1.	INTRODUCCIÓN	1
2.	ANTECEDENTES	3
2.1.	El Hueso	4
2.1.1.	Composición y Estructura del Hueso	4
2.1.2.	Anatomía e Histología del Hueso	5
2.1.3	Propiedades Mecánicas del hueso	6
2.2	Mecanismos Biológicos de Regeneración Ósea	8
2.3	Técnicas de Regeneración y Reparación Ósea	11
2.3.1.	Tipos de Injertos	11
2.3.1.1.	Autoinjerto	11
2.3.1.2.	Aloinjerto	12
2.3.1.3.	Isoinjerto ó Injerto Singénico	12
2.3.1.4.	Xenoinjerto ó Heteroinjerto	12
2.3.2.	Ingeniería de Tejidos	13
2.3.3.	Biomateriales	15
2.4.	Sólidos Porosos	16
2.5.	Materiales Mesoporosos Ordenados de Sílice	18
2.5.1.	Materiales Mesoporosos Ordenados de Sílice Modificados Orgánicamente	23
2.5.1.1.	Método de Co-condensación	24
2.5.1.2.	Método de Post-síntesis	24
2.5.2.	Aplicaciones Biomédicas de los Materiales Mesoporosos Ordenados de Sílice	25
2.5.2.1.	Sistemas de Liberación Controlada de Fármacos y Otras Entidades Biológicas	26
2.6	Cefalexina	30
3.	HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	31
3.1.	Hipótesis	31
3.2.	Objetivo General	31
3.2.1.	Objetivos Específicos	31
4.	METODOLOGÍA	33
4.1.	Materiales y Métodos de preparación	33
4.2.	Síntesis de SBA-15	33
4.3	Funcionalización de SBA-15 por el Método de Co-condensación	34
4.4	Técnicas Experimentales de Caracterización	35
4.4.1.	Fluorescencia de Rayos-X (FRX)	35
4.4.2.	Análisis Químico Elemental	35
4.4.3.	Análisis Térmico Diferencial y Termogravimétrico (ATD/ATG)	35
4.4.4.	Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (IRTF)	36

## ÍNDICE GENERAL

4.4.5.	Difracción de Rayos X (DRX)	36
4.4.6.	Porosimetría de Adsorción de N <sub>2</sub>	36
4.5	Ensayos de Adsorción y Liberación de Cefalexina desde Matrices Mesoporosas	38
4.5.1	Materiales	38
4.5.2.	Ensayos de Carga	38
4.5.3.	Ensayos de Liberación	40
	4.5.3.1. Primer Ensayo de Liberación	40
	4.5.3.2. Segundo Ensayo de Liberación	40
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	42
5.1.	Material SBA-15	42
5.1.1.	Caracterización por Difracción de Rayos X (DRX)	42
5.1.2.	Caracterización por Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (IRTF)	43
5.1.3.	Caracterización por Análisis Térmico Diferencial y Termogravimétrico (ATD/ATG).	43
5.1.4.	Caracterización por Porosimetría de Adsorción de N <sub>2</sub> .	44
5.2.	Materiales SBA-15 Funcionalizados con Grupos Fosfato y Amino por el Método de Co-condensación	45
5.2.1.	Caracterización por Difracción de Rayos X (DRX)	45
5.2.2.	Caracterización Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (IRTF)	47
5.2.3.	Caracterización por Espectroscopia de Fluorescencia de Rayos X (FRX)	49
5.2.4.	Caracterización por Análisis Químico Elemental	50
5.2.5.	Caracterización por Análisis Térmico Diferencial y Termogravimétrico (ATD/ATG)	53
5.2.6.	Caracterización por Porosimetría de Adsorción de N <sub>2</sub> .	54
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN (CARGA Y LIBERACIÓN DE CEFALEXINA)	58
6.1.	Ensayos de Carga de Cefalexina	58
6.2.	Ensayos de Liberación de Cefalexina	66
7.	CONCLUSIONES	73
8.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75
9.	ANEXO 1. PRUEBAS DE EXTRACCIÓN	80
9.1.	Pruebas de Extracción	82



## 1. INTRODUCCIÓN

Las cerámicas con aplicaciones médicas son un interesante campo de investigación y desarrollo para la obtención de biomateriales útiles en la fabricación ó fijación de implantes. Es posible diseñar nuevas cerámicas, sintetizarlas y caracterizarlas, para que, dentro de un campo multidisciplinario como es el de los biomateriales, puedan ser punto de partida para ensayos mecánicos, estudios en cultivos celulares, ensayos *in vitro* e *in vivo*, en los que participen científicos de diversos campos del conocimiento y que conduzcan a la fabricación de implantes. Las demandas sociales, las necesidades clínicas, el desarrollo tecnológico y la dirección legislativa han promovido el avance de los biomateriales, experimentado una evolución espectacular en los últimos 50 años.

Los biomateriales son materiales implantables en un organismo vivo. En la actualidad es posible sustituir casi todas las partes de un cuerpo humano. La discapacidad física y la edad están ligadas en forma estrecha. Los biomateriales se fabrican con componentes naturales ó artificiales, que por necesidad deben ser compatibles biológicamente con el cuerpo humano, éstos se utilizan para reparar ó reemplazar un tejido natural dañado, por ejemplo, huesos, dientes, piel... y en un futuro próximo, tejidos de órganos como hígado, riñones, entre otros. El objetivo que se persigue al utilizar biomateriales es salvar vidas, mejorar la calidad de vida, reducir el sufrimiento y contribuir a llegar en mejores condiciones al final de nuestra vida.

El empleo de materiales inertes para la sustitución de tejidos vivos ha evolucionado hacia el diseño de compuestos bioactivos y biodegradables para la reparación de los tejidos vivos. La nueva tendencia es desarrollar biomateriales de tercera generación destinados a inducir la regeneración de los tejidos. Hoy en día, los médicos emplean el enfoque de la biónica para la reparación del cuerpo humano en todos los ámbitos (tecnologías de implante, ortopedia, oftalmología...) mediante el uso de biomateriales que pertenecen a las dos primeras generaciones. La medicina regenerativa es actualmente el foco de investigación, ya que se sumerge por completo en los biomateriales de tercera generación los cuales se convertirán en una realidad en un futuro próximo.

Las biocerámicas de tercera generación, tienen como objetivo proporcionar un andamiaje apropiado para las células, permitiéndoles realizar su trabajo de regeneración ósea. El desarrollo de éstas está basado en el estudio de la ingeniería de tejidos óseos apoyándose en tres grandes pilares: las células, las señales (factores bioquímicos) y los andamios. Estos tres elementos juegan un papel clave en los

procesos que promueven la formación de hueso, es decir, la osteogénesis, osteoinducción y osteoconducción.

Las matrices mesoporosas representan una nueva generación de materiales de estructura única, que muestran orden a escala mesoscópica. Éstas presentan propiedades sobresalientes: estructura mesoporosa estable, elevadas áreas superficiales (aprox.  $1000 \text{ m}^2/\text{g}$ ), volúmenes de poro grandes (aprox.  $1 \text{ cm}^3/\text{g}$ ), distribuciones del diámetro de los mesoporos estrechas y modulables (2-50 nm) y mesoestructuras de canales de poros homogéneos organizados en forma hexagonal (2D) ó cúbico (3D).

La posibilidad de funcionalizar las superficies cerámicas con distintas moléculas orgánicas, de diferente naturaleza y tamaño, por medio de su adhesión al sustrato, así como la posibilidad de nanoestructurar de manera fisicoquímica y topográfica la superficie es de suma importancia en el diseño de biomateriales. Un valor añadido en la fabricación de implantes cerámicos será incluir fármacos tales como antibióticos, antiinflamatorios, anticancerígenos, entre otros, para ser posteriormente liberados de forma gradual. Sin duda alguna, si la distribución de poros de la matriz cerámica es ordenada, la adsorción y liberación del fármaco correspondiente será homogénea teniendo el valor añadido de lograr resultados reproducibles. Los parámetros que rigen la adsorción y la liberación de fármacos dependen principalmente de las propiedades texturales, estructurales y químicas de la matriz cerámica.

El proceso de funcionalización se logra con los materiales mesoporosos de sílice. Éstos actúan como matrices anfitrionas de una amplia gama de fármacos, cargándolos *via* interacciones débiles (fuerzas de Van Der Waals) y liberándolos a nivel local (directamente en la zona afectada). Por lo que son ideales como sistemas de liberación controlada de fármacos y pertenecen a la tercera generación de biomateriales enfocados a la regeneración ósea.

La síntesis, la caracterización y la funcionalización de la superficie de los sistemas mesoporosos ordenados de sílice, así como la carga y liberación de *cefalexina* a partir de éstos, es el propósito del presente trabajo de tesis.

La *cefalexina* es el fármaco elegido en este estudio, por su espectro de actividad antibacteriana frente a bacterias *gram* positivas entre otras, teniendo un mecanismo de acción similar a las penicilinas, siendo muy utilizado cuando se presentan infecciones óseas y aquellas debidas a implantes dentales.

### 2. ANTECEDENTES

Los cambios tecnológicos caracterizados por la automatización, los sistemas computarizados, la robotización y la microelectrónica afectan el proceso de trabajo y el de producción. Estos cambios han sido un proceso rápido, con poco tiempo para la adaptación y el entrenamiento de la fuerza laboral en el nuevo proceso productivo, significando riesgos aparentemente nuevos que originan altas tasas de accidentes industriales y de enfermedades ocupacionales relacionadas con las maquinarias; que no cumplen los criterios ergonómicos ni las adecuadas consideraciones antropométricas; ejemplos: estrés profesional, problemas músculo-esqueléticos, alteraciones circulatorias, visuales entre otras.<sup>3</sup>

Hoy en día, las enfermedades relacionadas con el sistema músculo-esquelético representan la causa más común de incapacidad física y afectan a cientos de millones de personas en todo el mundo.

En México 8 de cada 10 accidentes de trabajo tienen como resultado lesiones músculo-esqueléticas; en su mayoría, se presentan en industrias, oficinas e inclusive el hogar. Este tipo de lesiones se traduce en consecuencias fatales para los trabajadores, pues de cada ocho accidentados sólo dos se reintegran a la vida productiva sin lesiones o secuelas, informó la doctora Frida Medina, jefa del Servicio de Fracturas Expuestas y Polifracturas del Hospital de Traumatología Magdalena de las Salinas, del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS). En un año ocurrieron en México mil 412 defunciones por riesgos laborales, y 411 mil accidentes de trabajo, los cuales son la primera causa de incapacidad temporal en el país y representan 81% de los riesgos registrados por el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS).<sup>4</sup> De acuerdo con estadísticas oficiales, se informó que en México es preocupante que los accidentes de trabajo ocurran en la edad productiva, de los 20 a 40 años, de los cuales ocurren en 62 % a hombres y 38 % a mujeres.

Las lesiones causadas por accidentes de tráfico y por la guerra producen una elevada demanda de dispositivos para la regeneración y reparación ósea. De hecho, las lesiones por accidentes de tráfico están aumentando rápidamente, actualmente representan un 25% de los gastos del sector salud en los países desarrollados.<sup>5</sup>

Existen algunas deformidades y enfermedades relacionadas con el sistema músculo-esquelético que dejan lisiados a muchos niños y les privan de un desarrollo normal. Por todos los accidentes y las enfermedades músculo-esqueléticas que existen en el mundo, podemos ver que el desarrollo reciente de áreas de investigación como la ingeniería tisular brindan un apoyo y posibles soluciones a gran parte de estos problemas. En el caso en concreto de los huesos, las biocerámicas han resultado ser las mejores para el tratamiento y reparación de estos padecimientos.<sup>6</sup>

### 2.1. EL HUESO

El objetivo del sistema esquelético es proteger los órganos internos y vulnerables como el cerebro, el encéfalo, el corazón y los pulmones, proporcionar uniones cinemáticas rígidas y lugares de inserción muscular, y facilitar la acción muscular y el movimiento corporal. El hueso posee propiedades estructurales y mecánicas únicas que le permiten desarrollar estas funciones. Además, cabe considerarlos como órganos receptáculos del tejido hematopoyético. El hueso está entre las estructuras más duras del cuerpo; solo la dentina y el esmalte de los dientes son más duros. Es uno de los tejidos más dinámicos y metabólicamente activos en el cuerpo y permanece activo a lo largo de toda la vida. Es un tejido ricamente vascularizado que tiene una excelente capacidad de autorreparación y puede alterar sus propiedades y configuración en respuesta a cambios de demanda mecánica.<sup>7</sup>

#### 2.1.1. COMPOSICIÓN Y ESTRUCTURA DEL HUESO

El tejido óseo es un tejido conectivo especializado cuya composición sólida se adapta a sus funciones de sostén y protectoras. Está formado por células, una matriz extracelular orgánica de fibras y una sustancia fundamental producida por las células. La característica distintiva del hueso es su alto contenido de materiales inorgánicos, en forma de sales minerales, que se combinan íntimamente con la matriz orgánica. El componente inorgánico del hueso hace el tejido duro y rígido, mientras que el componente orgánico proporciona al hueso su flexibilidad y elasticidad. La composición del hueso difiere dependiendo del lugar, edad, historia dietética y presencia de enfermedad.

En el hueso humano normal, la proporción mineral o inorgánica está constituida por calcio y fosfato, en forma de pequeños cristales que se parecen a los cristales de hidroxapatita sintética con la composición  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , forman del 60 al 70 % del peso seco del hueso dándole una consistencia sólida. El agua constituye el 5-8 % y la matriz orgánica forma el resto del tejido. El hueso sirve como reservorio para los minerales esenciales del cuerpo, como el fósforo, magnesio, sodio y particularmente el calcio.<sup>7</sup>

El material óseo está inmerso en fibras de proteína de colágena de diferente orientación las cuales constituyen la porción fibrosa de la matriz extracelular (matriz orgánica). La fase orgánica de la matriz extracelular del hueso determina la estructura y las propiedades mecánicas y bioquímicas de éste. Aproximadamente el 90 % de la fase orgánica está formada por colágena tipo I, mientras que el 10 %

restante está formada por proteínas no-colagénicas, otros tipos de colágeno, lípidos y otras macromoléculas (sustancia fundamental). Las proteínas no-colagénicas: los factores de crecimiento y citocinas, proteínas osteoinductivas, osteonectina, osteopontina, osteocalcina, sialoproteína, los proteoglicanos y otras fosfoproteínas y fosfolípidos, representan una pequeña cantidad en cuanto al volumen total del hueso, pero contribuyen enormemente a las funciones biológicas de éste.<sup>8</sup>

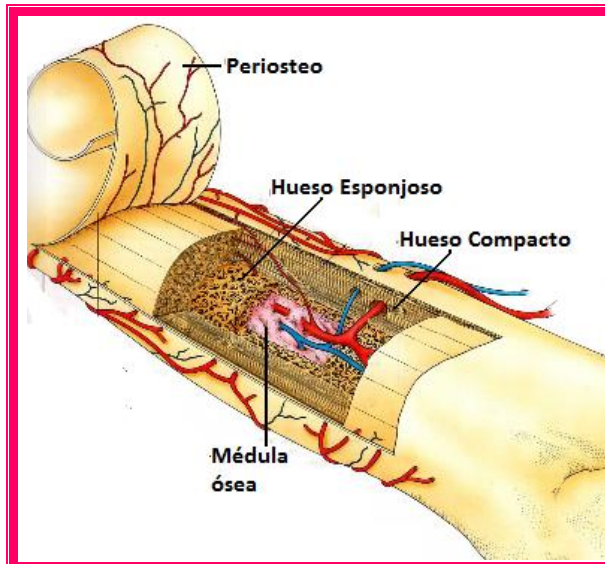
La colágena es una proteína de muy baja solubilidad y es la componente estructural principal de la matriz ósea. La sustancia fundamental gelatinosa que rodea a las fibras mineralizadas de colágena está compuesta principalmente de polisacáridos proteínicos, ó glucosaminoglicanos (GAG), fundamentalmente bajo la forma de complejas macromoléculas llamadas proteoglicanos (PG). Los GAG sirven como una sustancia de cimentación para las capas de fibras mineralizadas de colágeno.

El agua es bastante abundante en el hueso vivo, componiendo hasta el 25% de su peso total. Aproximadamente el 85 % del agua se encuentra en la matriz orgánica, alrededor de las fibras de colágeno, en la sustancia fundamental, y en las celdillas de hidratación que rodean los cristales óseos. El restante 15 % se localiza en los canales y cavidades que alojan a las células óseas y transportan los nutrientes al tejido óseo.<sup>8</sup>

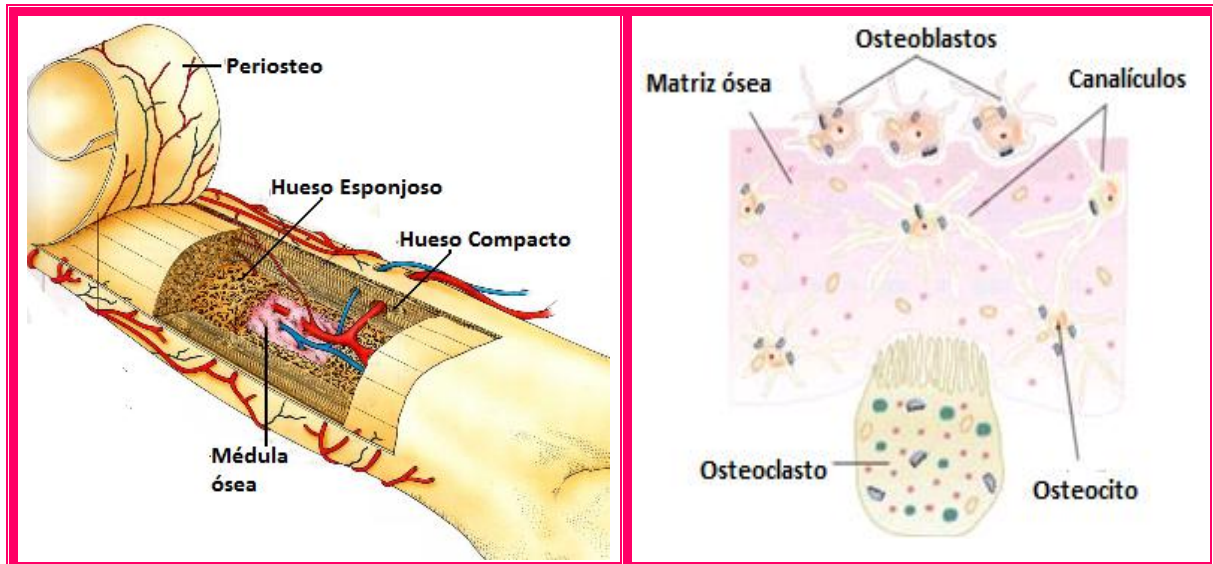
### 2.1.2. ANATOMÍA E HISTOLOGÍA DEL HUESO

Clásicamente los huesos se han dividido en largos cuando predomina una de sus dimensiones sobre las otras dos, cortos cuando no predomina ninguna de sus tres dimensiones y planos cuando predominan dos de sus dimensiones sobre la tercera. Desde el punto de vista de su estructura histológica, el hueso se clasifica en hueso inmaduro y hueso maduro, el hueso inmaduro es el primer hueso que resulta por osificación endocondral durante el desarrollo embrionario. Es progresivamente enlazado por hueso maduro y hacia la edad de un año ya no se observa hueso inmaduro. También se forma hueso inmaduro, por ejemplo en la curación de las fracturas el cual también será reemplazado más tarde. Este tejido óseo tiene gran cantidad de fibras colágenas regularmente entrelazadas, es celular y contiene menos sustancia cementante y menos mineral que el hueso maduro.<sup>8,9</sup> El hueso maduro se puede dividir así mismo en dos grandes tipos desde el punto de vista histológico, en compacto ó cortical y en esponjoso, figura 2.1. La distribución de estos tejidos óseos es diferente según el tipo macroscópico de hueso. El hueso maduro es menos celular y contiene más sustancia cementante y más mineral que el hueso inmaduro.<sup>8,9</sup>

**Figura 2.1. Anatomía del hueso.**



**Figura 2.2. Células óseas.**



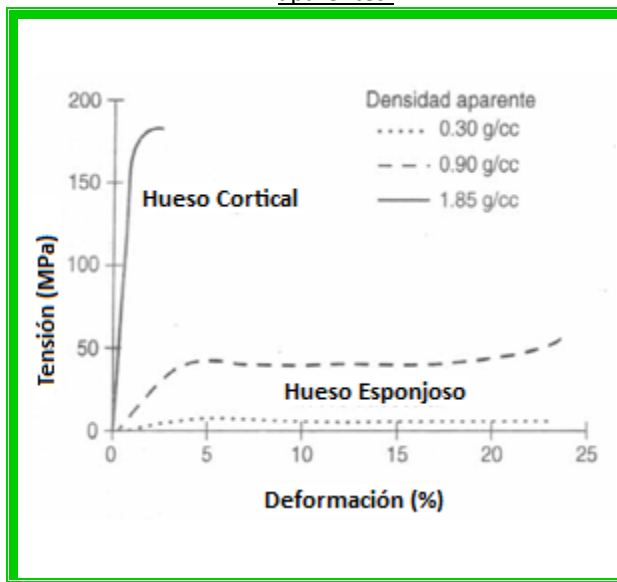
En cuanto a las células que forman parte del tejido óseo (figura 2.2), los osteoblastos son esenciales para el proceso de la osteogénesis, ya que sólo ellos producen la matriz en la que más tarde se producirá la osificación. Cuando el osteoblasto se ha rodeado a sí mismo de la matriz, se encuentra ubicado en la laguna y pasa a denominarse osteocito. Existen otras células en el tejido óseo, los osteoclastos, que son grandes células polinucleadas que se encuentran en las superficies óseas sin protección y son capaces de resorber el hueso. El calcio sólo puede eliminarse del hueso gracias a las células osteoclasticas.<sup>11, 12, 13, 14</sup> El periosteo es una membrana de color blanquecino, rica en vasos y nervios, que rodea la superficie exterior del hueso, a excepción de las partes que se hayan recubiertas por cartílago articular y de las zonas de inserción de tendones y ligamentos. Podemos considerar en él dos partes, una superficie fibroelástica, con función de sostén, y otra interna, con presencia de osteoblastos.<sup>17</sup>

### 2.1.3. PROPIEDADES MECÁNICAS DEL HUESO

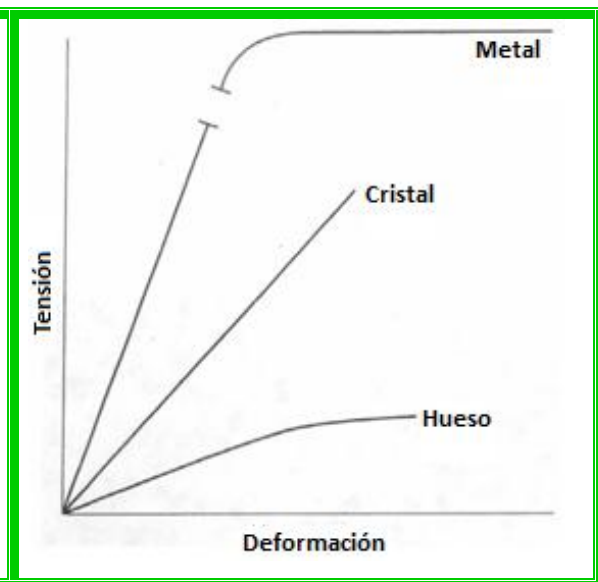
Biomecánicamente, el tejido óseo puede ser considerado como un material compuesto por dos fases (bifásico), con los minerales como una fase y la colágena y la sustancia fundamental como la otra. Por lo tanto está compuesto por un elemento fuerte y vidriado incrustado en uno más débil y flexible.<sup>7,15</sup> El sistema esquelético soporta cargas de diferentes tipos debido a las diversas actividades de un individuo, tanto compresivas como de tracción ó de cizalladura.<sup>16</sup> Las propiedades mecánicas difieren en los dos tipos de hueso. El hueso cortical es más rígido que el hueso esponjoso, soportando mayor tensión pero menos deformación antes del colapso. El hueso esponjoso *in vitro* puede soportar hasta un 50% de deformación antes de empezar a tensionarse, mientras que el hueso cortical cede y se fractura cuando la deformación excede de 1.5 a 2.0 %. Debido a su

estructura porosa, el hueso esponjoso tiene una gran capacidad para el almacenamiento de energía.<sup>10</sup> La diferencia física entre los dos tipos de tejidos óseos se cuantifica en términos de la densidad aparente del hueso, que se define como la masa de tejido óseo presente en una unidad de volumen de hueso (gramos por centímetro cúbico [g/cm<sup>3</sup>]). La figura 2.3 detalla las cualidades típicas de tensión-deformación del hueso cortical y esponjoso con diferentes densidades óseas medidas bajo condiciones similares.<sup>7</sup>

**Figura 2.3.** Curvas tensión-deformación del hueso cortical y trabecular con diferentes densidades aparentes.



**Figura 2.4.** Curvas esquemáticas de tensión deformación para los tres materiales expuestos.



El hueso cortical humano es considerado como un material ortotrópico, la resistencia mecánica del hueso, depende de la dirección en la cual es cargado el hueso y si el hueso es cargado a flexión, compresión o tracción. Por todo esto, no es posible especificar la resistencia o las propiedades elásticas del hueso cortical con un único valor. Una mejor forma es examinar la curva de tensión-deformación para el tejido óseo bajo las circunstancias de medición. Curvas de tensión-deformación del metal, el vidrio y el hueso, figura 2.4.

Las variaciones en la rigidez se reflejan en las diferentes pendientes de las curvas en la región elástica. El metal tiene la pendiente más grande y es por tanto el material más rígido. La porción elástica de la curva para el vidrio y el metal es una línea recta, mostrando un comportamiento linealmente elástico; el hueso prácticamente no cede hasta que se alcanza el límite de elasticidad. En comparación, la medición precisa del hueso cortical muestra que la porción elástica de la curva no es recta sino ligeramente curvada, indicando que el hueso no es linealmente elástico en su comportamiento, si no que se tensa en algún punto durante la carga en la región elástica. La tabla 2.1, detalla las propiedades mecánicas de los biomateriales seleccionados para la comparación.<sup>7</sup>

**Tabla 2.1.** Propiedades mecánicas de los materiales biomecánicos.

	<b>Tensión final (MPa)</b>	<b>Módulo (GPa)</b>	<b>Elongación (%)</b>
<b>Metales</b>			
Aleaciones Co-Cr			
☉ Férula	600	220	8
☉ Forja	950	220	15
Acero inoxidable	850	210	10
Titanio	900	110	15
<b>Polímeros</b>			
Cementos óseos	20	2	2-4
<b>Cerámica</b>			
Alúmina	300	350	<2
<b>Biológico</b>			
Hueso cortical	100-150	10-15	1-3
Hueso esponjoso	8-50	-	2-4
Tendón, ligamento	20-35	2-4	10-25

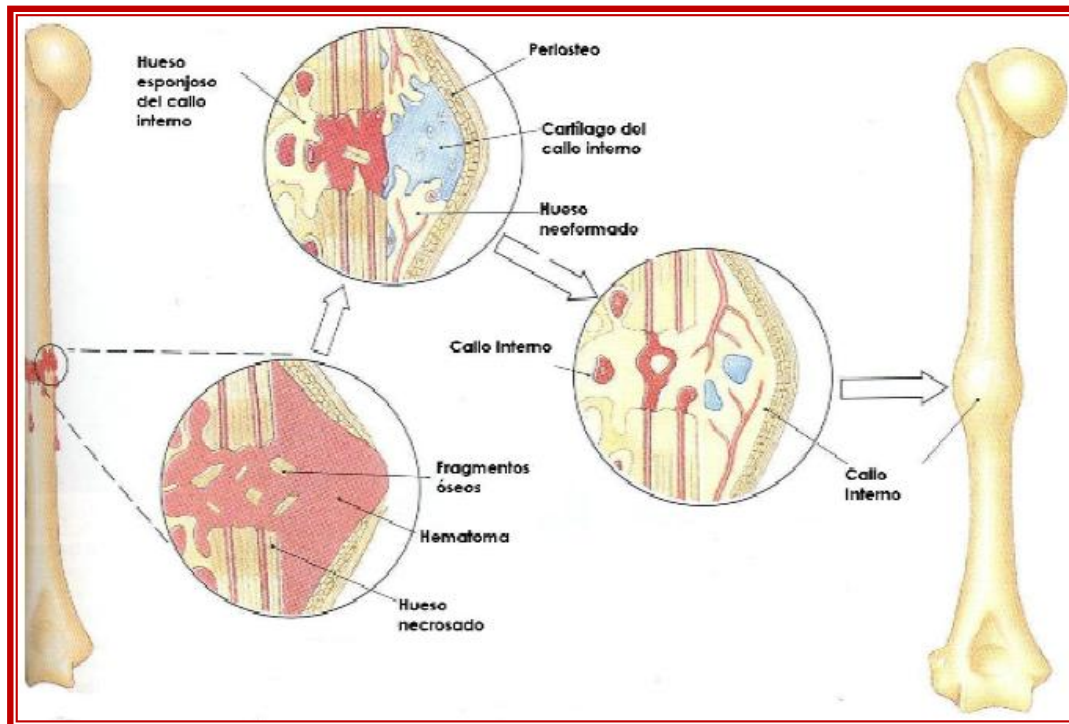
**2.2. MECANISMOS BIOLÓGICOS DE REGENERACIÓN ÓSEA**

La regeneración de defectos en el tejido óseo está influenciada por diferentes factores entre los cuales se mencionan el tipo de hueso, es decir, si se trata de hueso cortical o esponjoso, el lugar y el grado de severidad de la fractura o defecto, el grado de fijación durante el período de curación, la especie y la edad del individuo. A continuación se describen las diferentes etapas que tienen lugar durante la consolidación de los diferentes defectos óseos, figura 2.5.

La primera etapa se conoce como *hemostasis* se refiere a la cadena de sucesos que ocurren cuando hay pérdida de sangre, es el mecanismo de coagulación. Se da cuando hay una ruptura del hueso causada por la fractura, o por algún procedimiento de implantación. La cual resulta en la formación de un coágulo de sangre ó hematoma, que conlleva a la formación de un coágulo de fibrina y permanece usualmente por pocos días pero en algunos casos puede prolongar su presencia hasta dos semanas.<sup>18</sup> Además de la formación del coágulo de sangre, existen otros mecanismos que tienen lugar durante la etapa de la hemostasis. Inicialmente, se lleva a cabo la vasoconstricción transitoria en los extremos de los vasos sanguíneos que han sido dañados durante el trauma, limitando la cantidad de sangre que entra en el tejido dañado. A continuación se da la retracción del coágulo, la cual condensa el tapón hemostático y reduce el lugar de la herida. Esta retracción es causada por las fuerzas de tracción generadas por las plaquetas activadas, lo cual resulta en la condensación de las fibras de fibrina en el coágulo.<sup>19</sup>



**Figura 2.5.** Esquema representativo del mecanismo de restauración del hueso.



Estos primeros eventos son importantes en el proceso de reparación ósea en presencia de un biomaterial, por tres razones: (a) En primer lugar, se debe considerar que los primeros componentes biológicos que interactúan con el material implantado son las proteínas y macromoléculas, antes que las células. Las células acudirán posteriormente e interactuarán con las proteínas adheridas al implante. (b) En segundo lugar, se ha visto que la liberación de citocinas y factores de crecimiento provenientes de las plaquetas que conforman el hematoma, tienen un efecto estimulante en la regeneración de fracturas.<sup>20</sup> De hecho, los factores de crecimiento derivados de las plaquetas (PDGF) han demostrado ser mitogénicos para las células óseas y los factores de transformación de crecimiento b (TGF- $\beta$ ) han demostrado estar presentes en el trombo formado por la fractura y promueven la formación de colágeno tipo I en las células óseas. (c) En tercer lugar, en caso de haber implantado un material, se ha observado que la rugosidad del sustrato influye sobre el número y grado de activación de las plaquetas<sup>22</sup> y que la topografía de la superficie del sustrato influye sobre la aglomeración de los glóbulos rojos. Como consecuencia de la hemostasis, la circulación se revierte hacia aquellos vasos que no hayan sido estropeados y se anastomosan con partes de vasos intactos. Esto ocurre a través de los canales de Volkman. Al cesar la circulación hay una falta de oxígeno y se da la necrosis del tejido circundante. La necrosis es un fenómeno bastante complejo, que involucra una serie de señales (químicas, mitogénicas, entre otras) que conllevan a la destrucción del coágulo por medio de leucocitos. Inicialmente son los neutrófilos los más numerosos y luego se unen los macrófagos. Ambos tipos de células llevan a cabo la destrucción del coágulo sanguíneo y del tejido necrosado a través de mecanismos de fagocitosis intracelulares y extracelulares.<sup>23</sup>

El proceso de hemostasis es seguido por la *formación de un tejido granuloso*. Esta etapa típicamente dura aproximadamente unas 3 semanas.<sup>26</sup> A medida que los macrófagos se aproximan al centro de la herida (ya sea fractura ó lugar de implantación), el sistema de vascularización en desarrollo actúa como drenaje para los metabolitos y productos de degradación. La demanda de O<sub>2</sub> se incrementa dentro del coágulo, donde aún no se ha establecido la vascularización suficiente, resultando en un incremento local de la concentración de lactato. El aumento de la concentración de lactato, junto con los ácidos y enzimas lisosomales liberadas durante la destrucción del tejido necrosado, disminuyen notablemente el pH del entorno. La disminución en el gradiente de concentración de O<sub>2</sub> provee la señal quimotáctica para las células endoteliales y mesenquimales, las cuales dan lugar a la angiogénesis.<sup>24</sup>

La angiogénesis se inicia predominantemente a partir de las vénulas postcapilares, donde las células endoteliales degradan la membrana subendotelial, migran y proliferan para formar nuevos brotes. Las células fibroblásticas segregan matriz reticular, la cual provee el soporte mecánico suficiente al nuevo sistema vascular. Finalmente, el hematoma inicial desaparece y es reemplazado por un tejido fibroso vascularizado.

Una vez que se ha comenzado a formar el tejido fibroso vascularizado, se inicia la *osteoconducción* o migración de células con potencial osteogénico. La migración de las células genera tracción en la incipiente matriz extracelular. Esta fuerza de tracción, generada por el contacto adhesivo célula-matriz, conlleva una reorganización y deformación de la matriz fibrosa, trayendo como consecuencia el encogimiento de las fibras de colágeno y fibrina, y por lo tanto una contracción y disminución de la herida.<sup>25</sup>

La formación del hueso nuevo requiere la diferenciación de las células maduras y secretorias. Las células migrarán hasta alcanzar los bordes rotos del hueso o el implante en el lugar de la herida. Una vez que las células han alcanzado la superficie sólida, se inicia el proceso de síntesis de matriz extracelular en la superficie alcanzada. Las células que se diferencian antes de llegar al destino final segregan matriz y dejan de migrar formando nódulos de mineralización, por lo que se da una progresión de estos nódulos hasta el lugar de la herida y se van colocando hasta formar una pared. Algunos de los nódulos quedan enterrados, originando los osteocitos. Finalmente se inicia el proceso de *mineralización* a partir de las proteínas adsorbidas en la superficie sólida, el cual es continuado por el crecimiento de cristales de fosfato de calcio, y el ensamblaje de las capas de matriz colaginosas con las mineralizadas, dando como resultado el hueso nuevo.<sup>25</sup>

### **2.3. TÉCNICAS DE REGENERACIÓN Y REPARACIÓN ÓSEA**

El objetivo de las distintas técnicas de restauración de defectos óseos y fracturas es conseguir la regeneración y consolidación de las mismas, respetando la anatomía original lo más posible y recuperando al mismo tiempo el máximo de funcionalidad del hueso.

Las técnicas para la regeneración ósea abarcan tanto la utilización de injertos de origen animal ó humano, como de materiales sintéticos (polímeros y cerámicas principalmente) en forma de cementos, gránulos ó estructuras tridimensionales para ingeniería de tejidos.

Por otro lado, los defectos debidos a fracturas óseas requieren dispositivos de fijación elaborados a partir de materiales con mayores prestaciones mecánicas capaces de soportar cargas elevadas durante el período de consolidación del hueso.<sup>26, 27</sup>

A continuación se describen algunas de las técnicas más utilizadas para la regeneración y reparación del tejido óseo.

#### **2.3.1. TIPOS DE INJERTOS**

Los injertos óseos se clasifican de acuerdo con su origen y las características del receptor, de tal manera que los diferentes tipos quedan definidos por la relación genética existente entre el donante y el receptor.<sup>28, 29</sup>

##### **2.3.1.1. Autoinjerto**

Corresponde al injerto óseo obtenido del propio individuo, siendo considerado como el sustitutivo óseo que posee las mejores características biológicas. Lo anterior, debido a que ostenta las propiedades de osteoconducción, osteoinducción, osteogénesis y soporte estructural, complementadas con la ausencia de problemas de histocompatibilidad y riesgos de transmisión de enfermedades.

Los principales inconvenientes del autoinjerto óseo son su disponibilidad limitada y la problemática asociada con su obtención, es decir, afectación de estructuras anatómicas indemnes, morbilidad quirúrgica añadida, prolongación del tiempo quirúrgico, riesgo de infección y dolor posoperatorio.

El autoinjerto óseo esponjoso posee el mayor poder osteogénico entre todos los implantes empleados para el relleno óseo, debido a su capacidad para promover una neoformación ósea progresiva que no requiere pasar por el estadio de reabsorción osteoclástica necesario para la incorporación de los aloinjertos, por lo que constituye el material de referencia con el que se comparan todos los sustitutivos óseos.<sup>30, 31, 32</sup>

### **2.3.1.2. Aloinjerto**

Injerto extraído de un donante que se implanta en un receptor perteneciente a la misma especie, pero con distinto genotipo. Se puede obtener de donantes vivos, como en el caso de las cabezas femorales extraídas en las artroplastías de cadera, de donantes multiorgánicos o de donantes de tejidos. Para su conservación se pueden emplear los métodos de criopreservación o liofilización.

Entre las ventajas de los aloinjertos destacan su amplia disponibilidad, que depende de la oferta de los bancos de tejidos, su reducida inmunogenicidad y su buena tolerancia por parte del receptor. Sin embargo, presentan como inconvenientes un comportamiento biológico inferior al del autoinjerto, un elevado costo de mantenimiento, el riesgo de infección, una mayor incidencia de fracturas y la posibilidad de transmisión de enfermedades como SIDA, hepatitis, leucemia, tuberculosis, sífilis, cáncer y encefalopatía de Creutzfeldt-Jakob, entre otras.

Sus propiedades mecánicas y biológicas son variables y dependen de los sistemas de conservación y esterilización empleados previamente. Se utilizan principalmente en forma de injertos libres, ya sean esponjosos, corticales o corticoesponjosos, para el tratamiento de variados defectos óseos segmentarios o cavitarios.<sup>33, 34</sup>

### **2.3.1.3. Isoinjerto ó Injerto Singénico**

Injerto que se obtiene e implanta entre individuos genéticamente idénticos, como es el caso de los gemelos univitelinos ó animales de laboratorio procedentes de un mismo ovocito.<sup>35</sup>

### **2.3.1.4. Xenoinjerto ó Heteroinjerto**

Injertos que se implantan entre individuos de especies diferentes. Son el centro de interés de muchos estudios debido a que se pueden conseguir con facilidad, sin embargo, su capacidad inmunogénica, tanto de las células como de la matriz orgánica, limita su utilización y hace necesaria su desproteínización.

Existen diferentes preparados de heteroinjertos óseos disponibles, siendo los más conocidos los huesos de Kiel y Oswestry. Presentan las mismas ventajas que los aloinjertos, pero carecen de capacidad osteoinductora y, debido a los procesos de conservación y esterilización, sus propiedades biomecánicas son deficientes.<sup>31</sup>

### 2.3.2. INGENIERÍA DE TEJIDOS

El daño total o parcial de tejido y la pérdida de la función de un órgano se encuentran entre los problemas más graves y costosos de la salud humana. Inicialmente, esos problemas se han abordado mediante el trasplante de órganos y tejidos alogénicos, sin embargo, esta opción se ve limitada por la baja disponibilidad de donantes.<sup>36</sup> Como consecuencia, cada año muere un gran número de pacientes en listas de espera y, más grave aún, muchos otros no llegan siquiera a integrarlas.<sup>37, 38</sup>

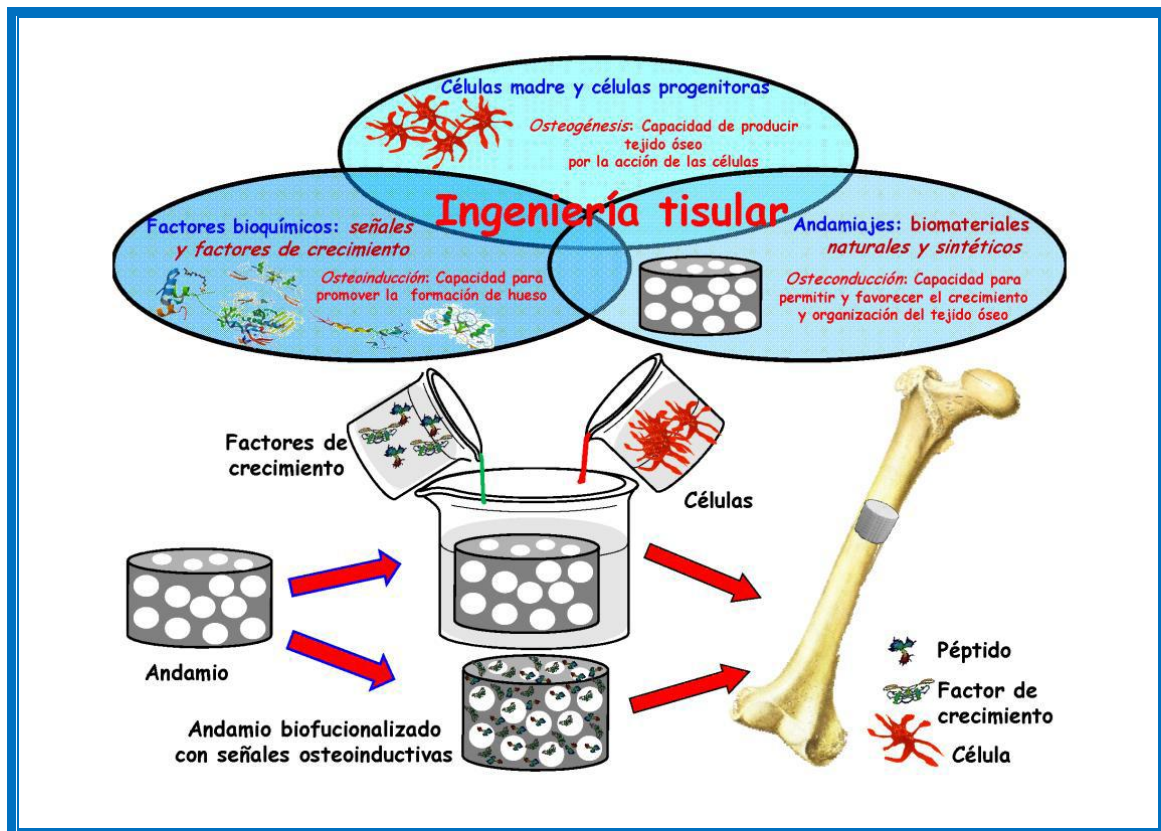
La creciente necesidad de órganos ha llevado a los investigadores a plantear la posibilidad de utilizar células y materiales de diversa naturaleza para la reconstrucción de órganos y tejidos, para dar así nacimiento a una disciplina conocida hoy como Ingeniería de Tejidos (IT),<sup>39</sup> la cual se define como el uso de los principios y métodos de la ingeniería, la biología y la bioquímica orientados a la comprensión de la estructura y la función de los tejidos normales y patológicos de los mamíferos, y el consecuente desarrollo de sustitutos biológicos para restaurar, mantener o mejorar su función.<sup>40</sup> La investigación en esta área está en pleno apogeo, sin embargo, en un futuro próximo su aplicación en la medicina será una realidad. Esta estrategia de regeneración de partes dañadas del organismo es claramente distinta a la de los implantes biomédicos tradicionales utilizados en la actualidad.

De esta forma la reparación del cuerpo humano pasa de enfocarse en una aproximación biónica a hacerlo en una aproximación a la medicina regenerativa con dos vertientes, la ingeniería de tejidos y la terapia celular, que utilizan biomateriales de tercera generación. Buscando como objetivo el desarrollo de compuestos biológicos y biomateriales implantables en el organismo, con intención de reparar, mantener ó mejorar la función de órganos y tejidos.<sup>41</sup>

La Ingeniería de Tejidos se sustenta en tres pilares, las células responsables de la osteogénesis, los factores bioquímicos: señales y factores de crecimiento responsables de la osteoinducción, y los andamios, fabricados con biomateriales naturales y/o sintéticos, que son los responsables de la osteoconducción,<sup>41</sup> como se muestra en la figura 2.6.

Lo más sencillo para la Ingeniería de tejidos es implantar directamente el andamio con los únicos requisitos de ser biocompatible, poroso, biodegradable ó reabsorbible, osteoconductor y con unas propiedades mecánicas mínimas, sin embargo, no se cumple con el objetivo. Lo que en realidad se busca, es sembrar células del propio paciente previamente en el andamio, antes de implantarse. Otras dos opciones más de la IT serían, implantar el andamio funcionalizado con señales, ó implantar el andamio donde estén incluidas tanto señales como células. Estos andamios tridimensionales deben tener una porosidad con un tamaño de diámetro que permita la entrada de las células que va alojar. Si se implanta directamente in vivo, las células del paciente deberán poder entrar y alojarse en todos sus poros. Y si previamente se hace un sembrado de células in vitro, las células progenitoras deberán colonizar todo el andamio para posteriormente implantarlo.

**Figura 2.6.** Esquema representativo de los 3 pilares en los que se sustenta la Ingeniería Tisular.



Los andamios ideales para ingeniería de tejidos deben proporcionar un soporte mecánico biocompatible, que no induzca una respuesta tisular adversa y que pueda sostener temporalmente carga mecánica del tejido a considerar. También debe tener una tasa de degradación apropiada, equivalente a la del proceso de regeneración del tejido, y una porosidad interconectada con una distribución de tamaño de poro adecuada que promuevan la invasión celular y del tejido, el tráfico de

metabolitos y con una elevada área superficial para el anclaje celular. Por supuesto, debe propiciar el reconocimiento biológico, de tal forma que dé soporte y promueva adhesión, migración, proliferación y diferenciación celular. Y por supuesto, debe constituir un nicho adecuado para el desarrollo de tejido vivo, que permita secuestrar y liberar factores morfogénicos.<sup>41</sup>

### 2.3.3. BIOMATERIALES

Los biomateriales son todos los materiales destinados a estar en contacto con los sistemas biológicos con el objetivo de tratar, aumentar o sustituir un tejido, órgano o función del organismo. Al implantarse un biomaterial se genera una reacción en los tejidos vivos receptores, produciéndose un proceso inflamatorio. En la reacción también influyen los productos de corrosión, degradación o abrasión del material implantado.<sup>42, 43, 44</sup> La respuesta de los tejidos puede favorecer la incorporación del material o acelerar la regeneración de una lesión. Este es el caso de los implantes de cementos óseos y vidrios bioactivos basados en fosfatos de calcio en que los biomateriales interactúan directamente con los componentes del tejido óseo y el proceso resultante permite la reparación del defecto óseo.<sup>36, 37, 44</sup>

El estudio preclínico de cualquier biomaterial debe considerar la valoración de los siguientes aspectos:

- ◆ Las características fisicoquímicas del material, tales como, composición, densidad, microestructura, propiedades termodinámicas, entre otras.
- ◆ Las propiedades mecánicas principales como elasticidad, resistencia y dureza.
- ◆ La estimación en un banco de pruebas de desgaste, fricción, fatiga, corrosión y envejecimiento del biomaterial.
- ◆ La evaluación biológica, que comprende el estudio de la biocompatibilidad del material.

Previo al empleo de cualquier biomaterial en la clínica humana es fundamental determinar su biocompatibilidad. Este concepto hace referencia al grado de aceptación de un material por parte del organismo.<sup>9, 46</sup>

La bioaceptabilidad puede estudiarse evaluando los siguientes eventos:

- ⊗ La interacción entre los biomateriales y tejidos receptores.
- ⊗ La reacción resultante de la degradación del material.
- ⊗ Los factores mecánicos involucrados.

El objetivo principal de los estudios de biocompatibilidad es analizar las posibles respuestas adversas, tales como, inflamación, pirogenicidad, toxicidad sistémica, sensibilización, mutagenicidad, carcinogenicidad y reacción a partículas extrañas. Además, estos ensayos permiten determinar el comportamiento y actuación de los nuevos materiales. El riesgo biológico de la utilización de los biomateriales depende de la sustancia utilizada, de su actividad específica, de la cantidad implantada y de la frecuencia y/o del tiempo de exposición. La información debe obtenerse en las condiciones más parecidas posibles a su posterior uso en la clínica humana, hecho en que cumplen un importante rol los diferentes modelos animales que permiten investigar la eficacia de los nuevos biomateriales.<sup>45</sup>

Los factores que influyen en la biocompatibilidad de un material son los siguientes:

- Factores químicos: La composición del material determina en gran medida su potencial toxicidad. Por ejemplo, los polímeros pueden ser tóxicos por sí mismos o por la acción de sus productos de degradación.
- Factores eléctricos: Las corrientes de polarización anódica o catódica que presentan los metales condicionan su corrosión. Por ejemplo, la polarización anódica provoca la disolución de iones metálicos en el organismo.
- Factores superficiales: La superficie de un material puede tener características hidrofílicas o hidrofóbicas, lo que condiciona la aptitud de las proteínas para la adsorción y, secundariamente, su tolerancia. En general, los materiales de superficie hidrófila son mejor tolerados.
- Factores mecánicos: Las interacciones en la interfaz entre el tejido y el biomaterial condicionan la respuesta tisular. Es el caso de los implantes intraóseos en que se puede producir la formación de tejido fibroso mediado por fuerzas de tracción o de cizallamiento, o de tejido óseo, por interacción de compresión.
- Factores geométricos: La respuesta a un mismo material depende de la granulometría, geometría y cantidad de éste, de tal manera que la reacción es distinta si la formulación es compacta o particulada. En general, el implante en forma de partículas genera una respuesta cuantitativamente mayor.<sup>46</sup>

### 2.4. SÓLIDOS POROSOS

Un gran número de procesos y reacciones químicas de interés tienen lugar en la interfase entre un medio fluido y un sólido poroso, el resultado final de la interacción entre ambas depende, en buena medida, de las características del sistema poroso del sólido. Este hecho ha conducido al desarrollo de metodologías específicas para la síntesis de materiales con la porosidad más adecuada para la



función que se desea que cumplan. Ejemplos bien conocidos son el carbón activado, la alúmina y la sílica, cuyas características porosas pueden modificarse, dentro de ciertos límites, mediante el control adecuado de sus respectivos procedimientos de preparación.<sup>41, 42, 47</sup> El comportamiento de esos materiales se encuentra también limitado por la presencia de una ancha distribución de tamaños de poro muy diversos, que pueden variar desde un nanómetro (e incluso inferiores) hasta varias micras, impide, por ejemplo, su aplicación efectiva en procesos en los que se requiera la adsorción selectiva de ciertas moléculas en función de su tamaño. Por el contrario, esta función la cumplen de manera muy eficaz una familia de silicatos llamada Zeolitas, que actúan como tamices moleculares al adsorber sólo aquellas moléculas lo suficientemente pequeñas como para penetrar en un sistema de poros, que es accesible únicamente a través de aperturas que tienen un diámetro de unos pocos Angstrom.<sup>48</sup> La IUPAC (Unión Internacional de Química Pura y Aplicada) establece una clasificación del tamaño de los poros, según sea el valor de su diámetro promedio, distinguiéndose así tres grandes grupos:<sup>49</sup>

- Microporos: poros con diámetros medios inferiores a 2 nm
- Mesoporos: con diámetros medios comprendidos entre 2 y 50 nm.
- Macroporos: con diámetros medios superiores a 50 nm.

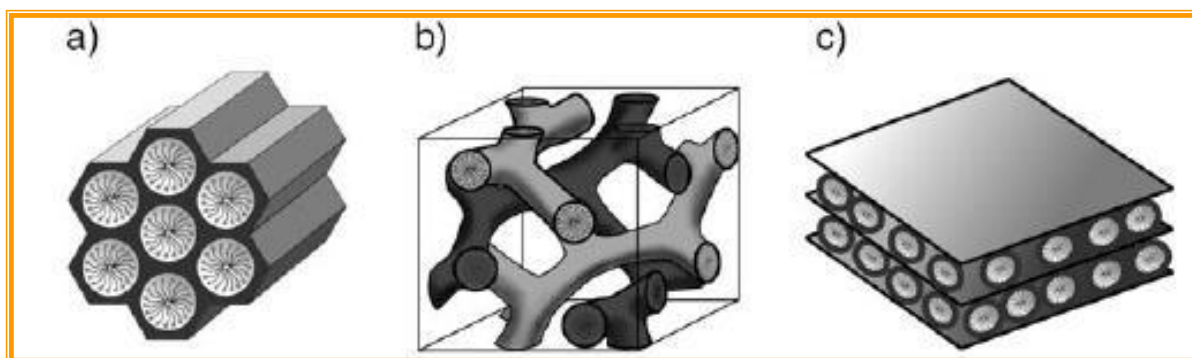
El uso de unidades de construcción de tamaño nanométrico permite la preparación de sólidos organizados a varias escalas con gran precisión. La síntesis, modificación y funcionalización de estas nanounidades condicionan la arquitectura final del sólido, así como la manera en la que estas piezas se organizan en estructuras más complejas. En general, se recurre al autoensamblaje de los bloques de construcción más sencillos mediante interacciones débiles.<sup>47</sup>

Uno de los grandes logros de la química es la preparación de nuevas estructuras que crecen en complejidad, belleza y número de aplicaciones. Gracias a los avances en este campo, continuamente aparecen nuevos retos. Uno de los que más atención ha recibido en los últimos años es el control de la estructura de sólidos a varias escalas, ya que produce nuevas propiedades que pueden controlarse modificando las condiciones de síntesis.<sup>48</sup> Para conseguir un control preciso de la organización del sólido ha sido necesario desarrollar nuevas técnicas sintéticas basadas en interacciones débiles. También se han puesto a punto técnicas biomiméticas y la utilización conjunta de precursores inorgánicos y biomateriales. Todas ellas han sido herramientas útiles en la organización de sólidos jerarquizados con interesantes aplicaciones en catálisis, separación, adsorción, sensores y biomedicina.<sup>47, 48</sup>

### 2.5. MATERIALES MESOPOROSOS ORDENADOS DE SÍLICE

El descubrimiento de los materiales mesoporosos ordenados de sílice tuvo lugar en 1992 por los investigadores de la compañía Mobil Oil.<sup>50, 51</sup> A esta familia de materiales se le denominó M41S y engloban el MCM-41, MCM-48 y MCM-50, (MCM, Mobil Composition of Matter.), Figura 2.7.

**Figura 2.7.** a) MCM-41 estructura hexagonal 2D ( $p6mm$ ), b) MCM-48 estructura cúbica ( $la3d$ ) y c) MCM-50 laminar ( $p2$ ).



Posteriormente se sintetizaron otras familias de materiales mesoporosos como son las series SBA (Santa Bárbara)<sup>52</sup>, Series MSU (Michigan State University)<sup>53</sup>, KIT-1 (Korea Advanced Institute Of Science and Technology nº.1)<sup>54</sup> y FSM-16 (Folded Sheet Material nº. 16)<sup>55</sup>. Estos materiales presentan elevadas superficies específicas (ca. 1000 m<sup>2</sup>/g), tamaño de poro modulable (2-10 nm) con estrechas distribuciones de poro y elevados volúmenes de poro (ca. 1 cm<sup>3</sup>/g).

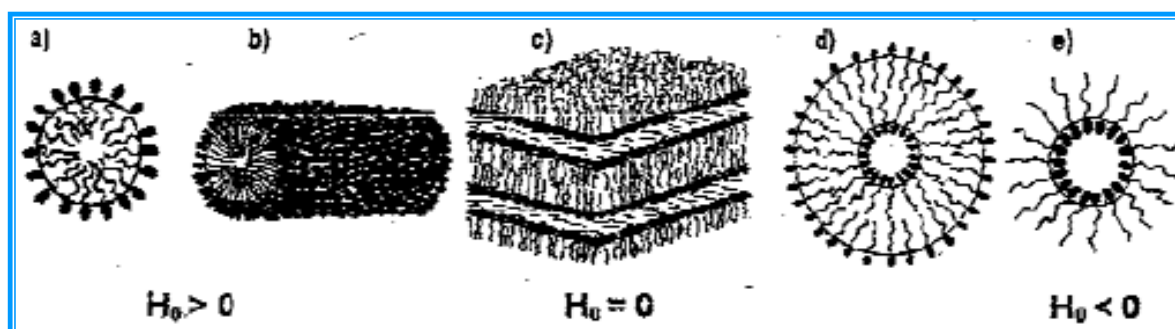
La síntesis está basada en la utilización de moléculas orgánicas como *plantillas* que dirigen la formación de sólidos entorno a ellas. Éstas se caracterizan por conservar su forma y tamaño original durante la síntesis del material nanoestructurado. Su eliminación es una etapa habitual en la preparación de materiales con porosidad controlada.<sup>56, 57</sup> Entre los requisitos que debe presentar un compuesto orgánico para poder ser utilizado como plantilla molecular destacan: i) su estabilidad química en el medio de reacción, ii) su interacción específica con el precursor del sólido y iii) la posibilidad de ser eliminado una vez finalice la reacción de síntesis.<sup>56, 57</sup>

La síntesis de materiales mesoporosos ordenados requiere el empleo de moléculas de tensoactivos en disolución acuosa como agentes directores de la estructura de la sílice. Los tensoactivos son sustancias anfífilas o sea que poseen una doble afinidad, se define desde el punto de vista fisicoquímico como una dualidad polar-apolar. La molécula típica anfífila tiene dos partes: un grupo polar (cabeza), contiene heteroátomos como O, S, P ó N que se encuentran en grupos alcohol, ácido,

sulfato, sulfonato, fosfato, amina, amida..., y un grupo apolar (cola) o poco polar, es en general un grupo hidrocarbonado de tipo alquil ó alquil benceno, y puede contener eventualmente átomos de halógeno u oxígeno.<sup>56, 57</sup> La parte polar posee afinidad por los solventes polares en particular el agua y se denomina comúnmente la parte **hidrófila** o **hidrofilica** (cabeza). Por el contrario el grupo apolar se llama la parte **hidrófoba** o **hidrofóbica** (cola).<sup>57</sup>

Debido a su doble afinidad la molécula anfifílica "no se siente bien" en el seno de un solvente, sea este apolar o polar, puesto que existirá siempre una interacción que no será satisfecha. Éstas moléculas muestran una fuerte tendencia a migrar a las interfaces, de forma tal, que su grupo polar se encuentre dentro del agua y su grupo apolar se encuentre orientado hacia un solvente orgánico ó en la superficie. Siendo estas moléculas imprescindibles, en muchos casos, para la extracción y purificación de una gran variedad de compuestos. Cuando la concentración del tensoactivo alcanza un valor umbral, denominado concentración micelar crítica, las moléculas de éste forman agregados denominados micelas, cuya forma y tamaño depende esencialmente de la naturaleza y composición química de la molécula del tensoactivo, de su concentración y de la temperatura, aunque factores como el pH de la disolución y la concentración total salina también influyan en el proceso de agregación micelar. La asociación espontánea de moléculas anfifílicas se da con el fin de reducir la superficie de contacto de las regiones hidrofóbicas con el solvente acuoso. Dependiendo de su forma y de sus características, estas moléculas pueden formar las estructuras siguientes:<sup>57</sup>

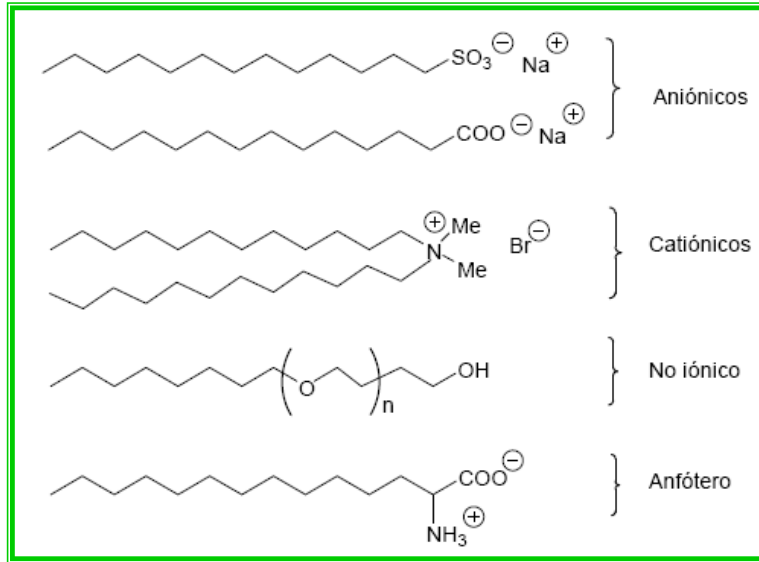
**Figura 2.8.** Tipos de arreglos micelares.



Los surfactantes pueden clasificarse en función de su carga como se ilustran en la figura 2.9, ésto es en:

- ⊙ Iónicos: Presentan una o más cargas en su cabeza polar.
  - ✿ Aniónicos: Cargados negativamente.
  - ✿ Catiónicos: Cargados positivamente.
  - ✿ Zwitteriónicos: Presentan una carga positiva y una negativa. Su carga neta es cero.
- ⊙ No iónicos: No presentan cargas superficiales.

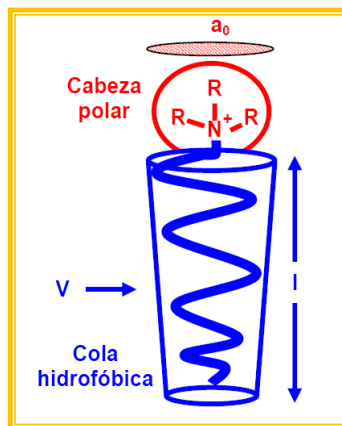
Figura 2.9. Tipos de tensoactivos (surfactantes).



Estas micelas se agregan para formar estructuras supramicelares, dependiendo de las condiciones, serán hexagonales, cúbicas o laminares, y determinarán la estructura final de la matriz de sílice mesoporosa. Normalmente, la fuente de sílice es el tetraetilortosilicato (TEOS), también puede emplearse el tetrametilortosilicato (TMOS).

La formación de un tipo u otro de estructura se puede definir en función del tipo de surfactante según el parámetro de empaquetamiento  $g^{57}$ (figura 2.10):

Figura 2.10. Esquema de los parámetros de empaquetamiento.



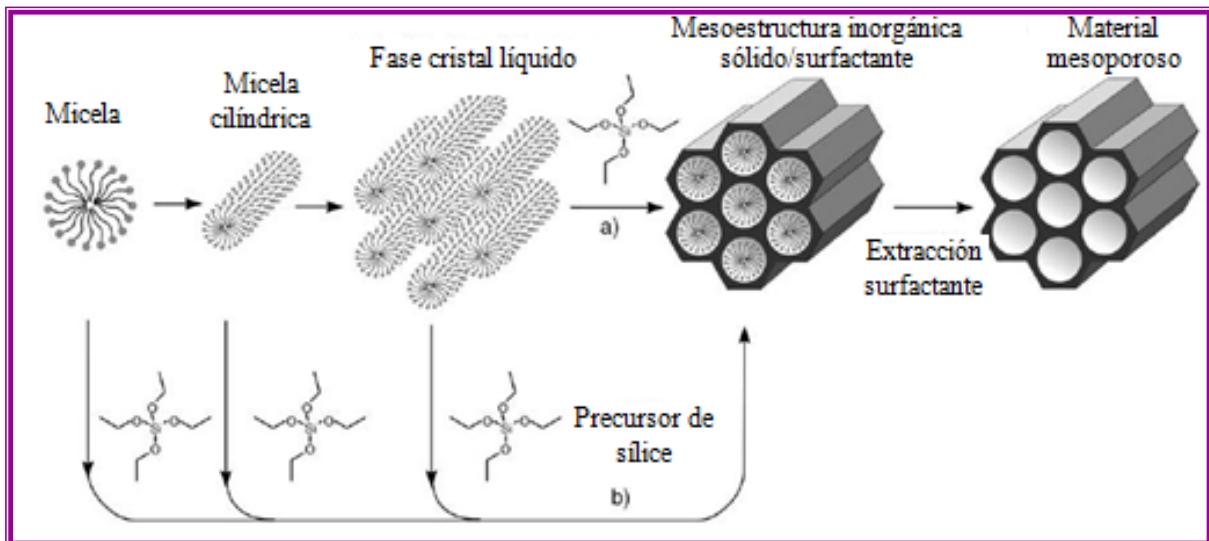
$$g = \left( \frac{V}{a_0} \right) \cdot l_c$$

donde  $V$  es el volumen total de la porción hidrófoba del tensioactivo,  $a_0$  es el área superficial del grupo que forma la cabeza del surfactante y  $l_c$  es la longitud de la cadena hidrófoba. Según los resultados obtenidos la estructura del surfactante será de un tipo u otro:

- ✦ Si  $g < 1/3$  la agregación micelar forma fases hexagonales o cúbicas.
- ✦ Para  $1/3 < g < 1/2$  se forman micelas cilíndricas que dan estructura hexagonal plana.
- ✦ Por último para valores de  $g > 1/2$  entonces se obtienen fases laminares.

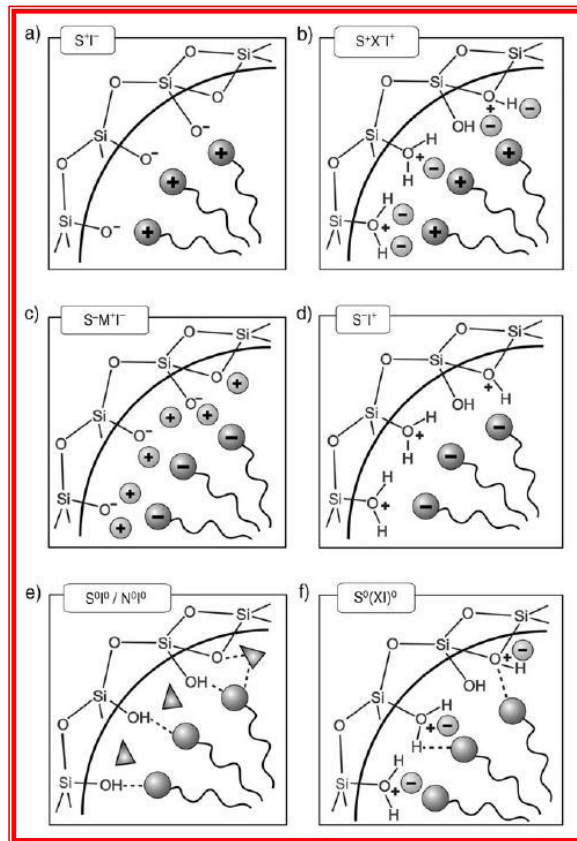
Hay dos mecanismos propuestos para la formación de los materiales mesoporosos de sílice.<sup>58</sup> Por un lado el mecanismo propuesto es el del cristal líquido (TLCT), donde el surfactante es el director de la estructura sin que intervenga en el proceso el precursor de sílice inorgánico. El segundo mecanismo postula que las interacciones orgánico-inorgánico de tipo electrostático entre la fase inorgánica de sílice y la fase micelar en medio acuoso, son las determinantes de los distintos tipos de fases existentes. Estos dos métodos se muestran en la figura 2.11.<sup>58</sup>

**Figura 2.11.** Formación de materiales mesoporosos: a) mecanismo de cristal líquido (TLCT) y b) interacciones orgánico-inorgánico.



Al ser el segundo método el más aceptado, con una correcta elección del surfactante y de las condiciones de síntesis se controlan las interacciones entre la pared inorgánica y la cabeza polar del surfactante para lograr la ionización del precursor inorgánico. Estas interacciones se pueden clasificar de la siguiente manera (figura 2.12)<sup>58, 59</sup>:

**Figura 2.12.** Interacciones entre las especies inorgánicas y el grupo de cabeza del surfactante (S: Surfactante; I: especie inorgánica).



- a)  $S^+I^-$ : La reacción tiene lugar en medio básico y un surfactante catiónico. De este modo las especies de sílice se encuentran como aniones (es el caso de los mesoporos de la familia M41S).
- b)  $S^+XI^+$ : Se lleva a cabo bajo condiciones ácidas ( $pH < 2$ ) por debajo del punto isoeléctrico de la sílice, para que estas especies se puedan protonar. Se produce una interacción con el surfactante catiónico y por ello es necesaria la presencia de un contraión  $X^-$ , normalmente un haluro. Es el caso de la síntesis de SBA-15 en presencia de  $Cl^-$ <sup>60</sup>.
- c)  $S^-M^+I^-$ : Cuando se trabaja con surfactantes cargados negativamente es posible trabajar en medio alcalino, pero es necesario el uso de un mediador alcalino  $M^+$ .
- d)  $S^-I^+$ : Se emplean surfactantes aniónicos y paredes inorgánicas catiónicas en medio ácido.
- e)  $S^0/N^0I^0$ : se emplean surfactantes neutros y las interacciones se producen por enlaces hidrógeno entre los átomos del surfactante y la sílice hidroxilada sin carga. ( $S^0$ : amina de cadena larga;  $N^0$ : Polioxietileno)
- f)  $S^0(XI)^0$ : se produce por formación de pares iónicos actuando el anión  $X^-$  como mediador catalizando la hidrólisis de los alcoxisilanos.

Una vez sintetizado el material se debe extraer el surfactante para dotar al mesoporoso resultante de las propiedades texturales finales. Este proceso se puede realizar por calcinación, donde primeramente se hace pasar una corriente de un gas inerte ( $N_2$ , He o Ar) descomponiendo el tensoactivo en moléculas pequeñas y volátiles. Para quemar la cantidad de residuo orgánico no volátil se pasa una corriente de oxígeno o aire. Sin embargo, este proceso es perjudicial cuando se tienen cadenas orgánicas enlazadas covalentemente (materiales mesoporosos de sílice modificados orgánicamente) lo cual requiere el empleo de un segundo método: la extracción con disolventes. La extracción con disolventes se suele llevar a cabo con disoluciones alcohólicas de ácidos como clorhídrico, nítrico o sulfúrico, ajustando los parámetros para evitar el colapso estructural del material de partida<sup>61, 62, 63</sup>.

### 2.5.1. MATERIALES MESOPOROSOS ORDENADOS DE SÍLICE MODIFICADOS ORGÁNICAMENTE

Los materiales mesoporosos ordenados de sílice presentan una elevada concentración de grupos silanol (Si-OH) en su superficie como consecuencia de la existencia de defectos estructurales<sup>66</sup>. Si el átomo de H del silanol se reemplaza por grupos funcionales orgánicos R, se enlazará covalentemente al O para dar especies Si-O-Si-R. La modificación de este grupo orgánico permite controlar las propiedades superficiales, tamaño de poro, y estabiliza los materiales para la hidrólisis. Los componentes orgánicos proporcionan flexibilidad al esqueleto, y las paredes inorgánicas dan estabilidad térmica, mecánica y estructural.

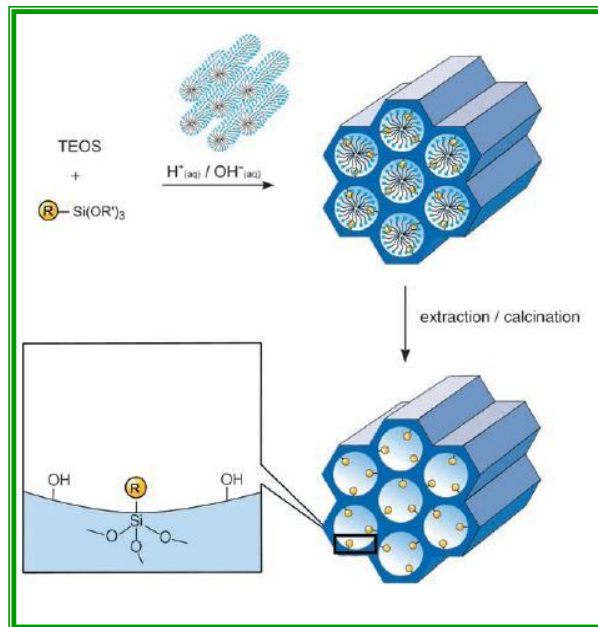
Dos de los métodos más usados para la síntesis de materiales mesoporosos funcionalizados con compuestos orgánicos son<sup>59, 64, 65</sup>: a) la condensación simultánea del correspondiente compuesto de sílice y el precursor orgánico, llamado método de co-condensación, y b) método de post-síntesis, cuando la modificación se produce en los poros del material inorgánico una vez eliminado el surfactante.

Independientemente del método utilizado, la funcionalización de los materiales mesoporosos siempre conlleva una disminución del diámetro de poro, el volumen de poro y la superficie específica del material.

**2.5.1.1. Método de co-condensación**

Este método de funcionalización consiste en la posibilidad de obtener la estructura de fases de los materiales mesoporosos por co-condensación de los tetraalcoxisilanos (TEOS ó TMOS) con grupos terminales de trialcoxisilanos ((R'O)<sub>3</sub>SiR). Así, en presencia de los agentes directores de la estructura, los residuos orgánicos se unen covalentemente a las paredes de los poros, como se muestra en la figura 2.13.<sup>63, 64, 65</sup>

**Figura 2.13.** Modificación orgánica de un mesoporoso de base sílice por el método de co-condensación.



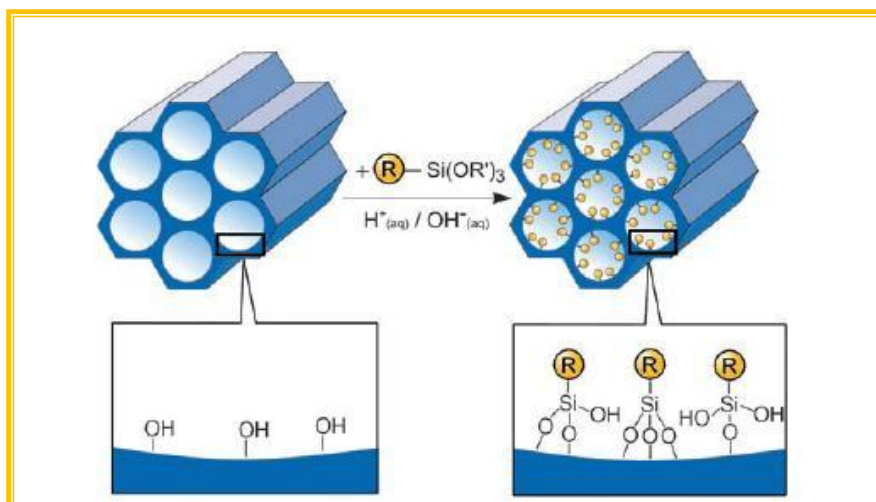
Con este método de síntesis se evita el bloqueo de los poros del material mesoporoso y los compuestos orgánicos se encuentran distribuidos homogéneamente. Hay que tener en cuenta que esta distribución de poro, es menos homogénea según se va aumentando la cantidad de trialcoxisilanos, que no debe sobrepasar el 40% molar. La eliminación del surfactante se realiza mediante la extracción con disolventes, la calcinación no es apropiada debido a que ocasionaría la pérdida del grupo orgánico. Los materiales presentan propiedades catalíticas y de adsorción.<sup>63, 64, 65</sup>

**2.5.1.2. Método de post-síntesis**

La funcionalización post-síntesis se produce por la reacción de compuestos organosilanos ((R'O)<sub>3</sub>SiR) con los grupos silanol libres que hay en las superficies del poro (figura 2.14). También se utilizan con menor frecuencia, clorosilanos (ClSiR<sub>3</sub>) y silazanos (HN(SiR<sub>3</sub>)<sub>3</sub>).<sup>64, 65, 66</sup>



**Figura 2.14.** Método de post-síntesis para la modificación orgánica de un material mesoporoso.



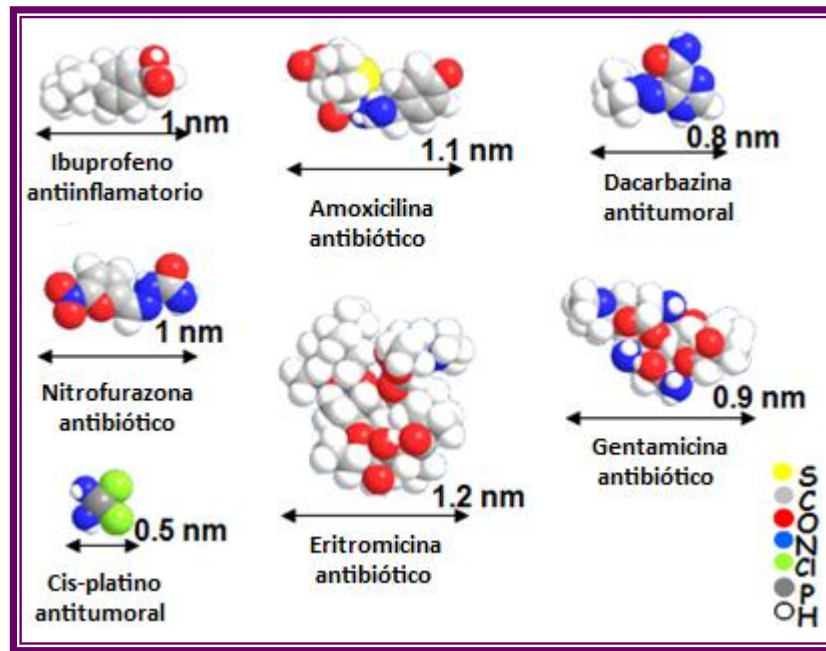
Esta funcionalización se hace con una gran variedad de grupos orgánicos variando el residuo orgánico anclado. Por este método la mesoestructura que presenta el compuesto inorgánico se mantiene invariable aunque se reduzca la porosidad del material. El problema que se presenta es la distribución poco homogénea de los residuos orgánicos. Los compuestos presentan propiedades adsorbentes y en catálisis. Además hay estudios que demuestran sus propiedades como sensores ópticos o controladores fotoquímicos.<sup>64, 65, 66</sup>

La principal diferencia entre ambos métodos es que el grado de funcionalización, en el método co-condensación es menor dado que los grupos orgánicos se unen en el interior de las paredes del poro, mientras que en el método de post-síntesis aumenta al situarse los grupos orgánicos en el exterior de los poros.

### 2.5.2. APLICACIONES BIOMÉDICAS DE LOS MATERIALES MESOPOROSOS ORDENADOS DE SÍLICE

Cualquier cerámica que disponga de numerosos poros con un tamaño adecuado, dónde quepan las moléculas de fármaco que se deseen incluir, son buenas candidatas para utilizar en liberación controlada. El fármaco tiene que ocupar los poros vacíos de la matriz cerámica para una vez llenos, proceder a su liberación controlada. El primer paso será diseñar los poros del cerámico, controlando su número, tamaño, forma, distribución, conectividad y posible funcionalización de la pared, en función del fármaco que se quiera utilizar.<sup>67, 68</sup> En segundo, analizar el tamaño que tienen las moléculas de los fármacos, útiles para aplicaciones médicas en implantes, por ejemplo el ibuprofeno en su dimensión más larga mide 1 nm, la gentamicina 0.9 nm y el cis-platino 0.5 nm, como se observa en la figura 2.15.

Figura 2.15. Moléculas de varios fármacos y sus dimensiones.



Todas ellas con tamaño del orden del nanómetro. Por tanto, cualquier material poroso puede albergar fácilmente estas moléculas si sus poros tienen tamaños superiores al nanómetro.<sup>67, 68</sup>

La porosidad de las matrices es ordenada o desordenada, si la distribución de poros de la matriz es ordenada, la adsorción y liberación del fármaco correspondiente será homogénea. Una vez seleccionado el fármaco que se quiere introducir hay que calcular la relación entre el tamaño del poro de la matriz y el tamaño de la molécula del fármaco a utilizar. Estudiar tanto su solubilidad como la interacción de la pared del poro con la molécula del fármaco. Debido a las propiedades de los materiales mesoporosos de sílice de funcionalizar sus superficies con una amplia variedad de moléculas químicas, logrando modificar sus propiedades de adsorción, es que las convierte en matrices susceptibles de alojar distintos fármacos y cederlos de manera sostenida durante periodos de tiempo prolongados en un medio apropiado. Además se ha demostrado que los materiales mesoporosos de sílice son capaces de formar una capa de tipo apatita, similar a la del hueso natural, en contacto con fluidos fisiológicos, es decir presentan un comportamiento bioactivo.<sup>69, 70</sup>

### 2.5.2.1. Sistemas de liberación controlada de fármacos y otras entidades biológicas

Los estudios sobre matrices biocerámicas empleadas como sistemas de liberación de fármacos y entidades biológicas tienen dos vías diferenciadas<sup>71,72</sup>. Por un lado, existe la posibilidad de incorporar el fármaco en los biomateriales diseñados para la reconstrucción o regeneración de tejidos contrarrestando así a nivel local posibles respuestas inflamatorias, infecciosas, entre otras.<sup>71,72</sup>

Mientras que la segunda vía corresponde a la introducción del fármaco en un sistema de administración oral. En general, los fármacos utilizados tienen un tamaño de un nanómetro<sup>71, 73</sup> por lo que cualquier material con un diámetro de poro mayor de 1 nanómetro debería ser capaz de albergar dichas moléculas. Si el fármaco es adsorbido en los poros de un material con distribución homogénea se tendrá mayor eficacia en la carga y liberación de fármacos, así como resultados reproducibles que si se emplea un material con distribución de poro no homogénea. Sin embargo, la adsorción y posterior liberación de un fármaco no sólo depende de la matriz mesoporosa. Hay que considerar además la relación de tamaños entre el poro de la matriz y el del fármaco, la solubilidad del fármaco y las posibles interacciones que se producirían entre éste y los grupos funcionales presentes en las paredes del poro. Este último aspecto es crucial para ajustar las condiciones de liberación y obtener el control deseado. La cantidad de fármaco cargado en la matriz porosa depende del disolvente usado, del valor del pH durante el proceso y de la concentración de fármaco en la disolución<sup>74</sup>. Además, la velocidad con la que se produce la liberación depende del conformado del material, siendo más rápida si está en polvo que si se tiene en forma discoidal<sup>75</sup>.

Para variar las propiedades de adsorción de los materiales mesoporosos ordenados de base de sílice se pueden modificar las paredes de los poros con una gran variedad de especies orgánicas. Esto provoca que la liberación de fármacos se mantenga, bajo condiciones apropiadas, durante largos periodos de tiempo. Por tanto, una modificación orgánica precisa en las paredes de los poros provoca un control de la adsorción y liberación del fármaco. Una gran variedad de materiales mesoporosos han sido modificados, como el caso del MCM-41. La superficie de este material mesoporoso ha sido funcionalizada, dependiendo del fármaco a emplear y su aplicación, con los siguientes organosilanos: Cloropropil, aminopropil, fenil, benceno, mercaptopropil, cianopropil y butano<sup>76</sup>. Otro ejemplo, es el control de la liberación de eritromicina, obtenido al modificar la superficie del SBA-15 con hidrocarburos hidrófobos de cadena larga<sup>77</sup>. Un estudio interesante es el del alendronato de sodio, fármaco empleado en tratamientos de osteoporosis, al inhibir la reabsorción del hueso por los osteoclastos. El alendronato es un bifosfanato, posee enlaces P-C-P y presenta mayores interacciones con los grupos amino del mesoporoso funcionalizado, que con los silanoles del mesoporoso ordenado de sílice sin modificar<sup>78</sup>. Muchas otras contribuciones se han realizado basándose en los materiales mesoporosos ordenados como sistemas de liberación controlada de fármacos y otras moléculas biológicamente activas dando lugar a numerosas revisiones bibliográficas en este tema<sup>71, 72</sup>. La funcionalización de las paredes del poro ha resultado crucial para obtener un mayor control en la carga y liberación de dichas entidades biológicas, en la tabla 2.2 podemos observar parte de los estudios que se han realizado con distintas matrices mesoporosas y con diferentes fármacos.

**Table 2.2.** Fármacos, acción farmacológica y cantidad máxima de fármaco adsorbido en MMS.

Fármaco	Acción farmacológica	Matriz mesoporosa (MMS)	(wt%) max.	Ref.
Ibuprofen		MCM-41 <sub>12</sub> <sup>[a]</sup>	23	[1]
Ibuprofen		MCM-41 <sub>16</sub> <sup>[b]</sup>	34	[1]
Ibuprofen		MCM-41 <sub>12</sub> -NH <sub>2</sub> <sup>[a,c]</sup>	23	[2]
Ibuprofen		MCM-41 <sub>16</sub> -NH <sub>2</sub> <sup>[b,c]</sup>	33	[2]
Ibuprofen		MCM-48	28.7	[3]
Ibuprofen		FDU-5 <sup>[d]</sup>	20.1	[3]
Ibuprofen		SBA-15	14.6	[4]
Ibuprofen	Anti-inflamatorios	TDU-1	24.4	[5]
Ibuprofen	Analgésicos	MCM-41-MS <sup>[e]</sup>	19	[6]
Ibuprofen	Antipiréticos	MCM-41-DMS <sup>[f]</sup>	17	[6]
Ibuprofen		MCM-41-TMS <sup>[g]</sup>	22	[7]
Naproxen		MCM-41-AI <sup>[h]</sup>	7.3	[7]
Diflunisal		MCM-41-AI <sup>[h]</sup>	8.7	[8]
Piroxicam		MCM-41	14	[9]
Aspirin		MCM-41	15	[10]
Aspirin		MCM-41-NH <sub>2</sub> <sup>[c]</sup>	15	[10]
Amoxicillin		SBA-15	24	[11]
Gentamicin		SBA-15	20	[12]
Gentamicin		PLGA-SiO <sub>2</sub> <sup>[i]</sup>	22.4	[13]
Gentamicin		PLGA-SiO <sub>2</sub> <sup>[i]</sup>	45.6	[13]
Erythromycin		MCM-48	28	[14]
Erythromycin	Antibióticos	FDU-5 <sup>[d]</sup>	28	[14]
Erythromycin		FDU-5-C8 <sup>[d,j]</sup>	12	[14]
Erythromycin		SBA-15	34	[15]
Erythromycin		SBA-15-C8 <sup>[k]</sup>	13	[15]
Erythromycin		SBA-15-C18 <sup>[l]</sup>	18	[15]
Erythromycin		MCM-41	29	[15]
Itraconazole	Antifúngico	SBA-15	24.6	[16]
ZnNIA	Bactericidas	SBA-16	14.3	[17]
ZnPCB		SBA-16	18.3	[17]
Captopril		MCM-41 <sub>12</sub> <sup>[a]</sup>	23.6	[18]
Captopril	Antihipertensivo	MCM-41 <sub>16</sub> <sup>[b]</sup>	34	[18]
Captopril		SBA-15	22.6	[18]
Captopril		MCM-41-TMS <sup>[g]</sup>	25.1	[19]
Sertraline	Antidepresivo	MCM-41	25	[20]
Famotidine		MSU-3-COOH <sup>[m]</sup>	20	[21]
Famotidine	Antiulceroso	SBA-15-COOH <sup>[m]</sup>	25.0	[22]
Famotidine		SBA-15-COOH-TMS <sup>[g,m]</sup>	25.0	[22]
Alendronate		MCM-41	14	[23]
Alendronate	Antiesteoporótico	MCM-41-NH <sub>2</sub> <sup>[c]</sup>	37	[23]
Alendronate		SBA-15	8	[23]
Alendronate		SBA-15-NH <sub>2</sub> <sup>[c]</sup>	22	[23]
BSA		SBA-15	15.1	[24]
BSA	Transporte de albúmina (proteína modelo)	SBA-15-NH <sub>2</sub> <sup>[c]</sup>	10.0	[24]
BSA		SBA-15-7d <sup>[n]</sup>	27.0	[24]
BSA		SBA-15-7d-NH <sub>2</sub> <sup>[c,n]</sup>	28.5	[24]
L-Trp	Aminoácido modelo	SBA-15-C <sub>3</sub> N <sup>+</sup> Me <sup>[o]</sup>	4.3	[25]
L-Trp	Antidepresivo	SBA-15-C <sub>3</sub> N+Me <sub>2</sub> C <sub>18</sub> <sup>[p]</sup>	8.2	[25]
Pentapeptide	Inhibidor de la secreción de ácido gástrico Diurético	MSU-Tween-80	-	[26]
Cisplatin		MCM-41	24.0	[27]
Cisplatin	Anticancerígeno	MCM-41-NH <sub>2</sub> <sup>[c]</sup>	37.0	[27]
Cisplatin		MCM-41-NH <sub>2</sub> -Fol <sup>[c,q]</sup>	25.0	[27]

[a] C<sub>12</sub>TAB utilizado como surfactante. [b] C<sub>16</sub>TAB utilizado como surfactante. [c] Funcionalizados con grupos amino. [d] Poros 3D cúbicos, materiales mesoporosos *ia3d*. [e] Funcionalizados con grupos metilsilano. [f] Funcionalizados con grupos dimetilsilano. [g] Funcionalizados con grupos trimetilsilano (TMS). [h] Contiene 1,04% (p/p) Al. [i] Estructura híbrida: poli(D,L-láctico-co-glicólico)/sílice mesoporosa. [j] Funcionalizados con trimetoxioctilsilano. [k] Funcionalizados con trimetoxioctadecilsilano. [l] Funcionalizados con cloruro de octadecildimetil (3 trimetoxisilil-propil) amonio. [m] Funcionalizados con grupos ácidos carboxílicos. [n] SBA-15 sintetizados usando 7 días de tratamiento hidrotérmico. [p] Funcionalizados con cloruro de N-trimetoxi-sililpropil-N,N,N-trimetil amonio. [q] Funcionalizados con ácido fólico. BSA = albúmina de suero bovino; los complejos ZnNIA [Zn<sub>3</sub>(Benz)<sub>6</sub>(nia)<sub>2</sub>] y ZnPCB [Zn(Benz)<sub>2</sub>(3-pimet)<sub>2</sub>], donde Benz = benzoato, nia=nicotinamida = 3-pimet = 3-metanolpiridina. L-Trp = L-triptófano.

1. Vallet-Regí M, Rámila A, del Real RP, Pérez-Pariente J. *A new property of MCM-41: Drug delivery system*. Chem Mat 2001;13:308-11.
2. Muñoz B, Rámila A, Pérez-Pariente J, et al. *MCM-41 organic modification as drug delivery rate regulator*. Chem Mat 2003;15:500-3.
3. Izquierdo-Barba I, Martínez A, Doadrio AL, et al. *Release evaluation of drugs from ordered three-dimensional silica structures*. Eur J Pharm Sci 2005;26:365-73.
4. Song SW, Hidajat K, Kawi S. *Functionalized SBA-15 materials as carriers for controlled drug delivery: Influence of surface properties on matrix-drug interactions*. Langmuir 2005;21:9568-75.
5. Heikkilä T, Salonen J, Tuura J, et al. *Mesoporous silica material TUD-1 as a drug delivery system*. Int J Pharm 2007;331:133-8.
6. Tang QL, Xu Y, Wu D, Sun YH. *Hydrophobicity-controlled drug delivery system from organic modified mesoporous silica*. Chem Lett 2006;35:474-5.
7. Tang QL, Xu Y, Wu D, et al. *Studies on a new carrier of trimethylsilyl-modified mesoporous material for controlled drug delivery*. J Control Release 2006;114:41-6.
8. Cavallaro G, Pierro P, Palumbo FS, et al. *Drug delivery devices based on mesoporous silicate*. Drug Deliv 2004;11:41-6.
9. Ambrogio V, Perioli L, Marmottini F, et al. *Improvement of dissolution rate of piroxicam by inclusion into MCM-41 mesoporous silicate*. Eur J Pharm Sci 2007;32:216-22.
10. Zeng W, Qian XF, Zhang YB, et al. *Organic modified mesoporous MCM-41 through solvothermal process as drug delivery system*. Mater Res Bull 2005;40:766-72.
11. Vallet-Regí M, Doadrio JC, Doadrio AL, et al. *Hexagonal ordered mesoporous material as a matrix for the controlled release of amoxicillin*. Solid State Ionics 2004;172:435-9.
12. Doadrio AL, Sousa EMB, Doadrio JC, et al. *Mesoporous SBA-15 HPLC evaluation for controlled gentamicin drug delivery*. J Control Release 2004;97:125-32.
13. Xue JM, Shi M. *PLGA/mesoporous silica hybrid structure for controlled drug release*. J Control Release 2004;98:209-17.
14. Izquierdo-Barba I, Martínez A, Doadrio AL, et al. *Release evaluation of drugs from ordered three-dimensional silica structures*. Eur J Pharm Sci 2005;26:365-73.
15. Doadrio JC, Sousa EMB, Izquierdo-Barba I, et al. *Functionalization of mesoporous materials with long alkyl chains as a strategy for controlling drug delivery pattern*. Journal of Materials Chemistry 2006;16:462-6.
16. Mellaerts R, Aerts CA, Van Humbeeck J, et al. *Enhanced release of itraconazole from ordered mesoporous SBA-15 silica materials*. Chem Commun 2007;1375-7.
17. Zelenak V, Hornebecq V, Llewellyn P. *Zinc(II)-benzoato complexes immobilised in mesoporous silica host*. Microporous Mesoporous Mater 2005;83:125-35.
18. Qu FY, Zhu GS, Huang SY, et al. *Controlled release of captopril by regulating the pore size and morphology of ordered mesoporous silica*. Microporous Mesoporous Mater 2006;92:1-9.
19. Qu FY, Zhu GS, Huang SY, et al. *Effective controlled release of captopril by silylation of mesoporous MCM-41*. ChemPhysChem 2006;7:400-6.
20. Nunes CD, Vaz PD, Fernandes AC, et al. *Loading and delivery of sertraline using inorganic micro and mesoporous materials*. Eur J Pharm Biopharm 2007;66:357-65.
21. Tang QL, Xu Y, Wu D, Sun YH. *A study of carboxylic-modified mesoporous silica in controlled delivery for drug famotidine*. J Solid State Chem 2006;179:1513-20.
22. Xu W, Gao Q, Xu Y, et al. *Controlled drug release from bifunctionalized mesoporous silica*. J Solid State Chem 2008;181:2837-44.
23. Balas F, Manzano M, Horcajada P, Vallet-Regí M. *Confinement and controlled release of bisphosphonates on ordered mesoporous silica-based materials*. J Am Chem Soc 2006;128:8116-7.
24. Vallet-Regí M, Balas F, Colilla M, Manzano M. *Bone-regenerative bioceramic implants with drug and protein controlled delivery capability*. Prog Solid State Chem 2008;36:163-91.
25. Balas F, Manzano M, Colilla M, Vallet-Regí M. *L-Trp adsorption into silica mesoporous materials to promote bone formation*. Acta Biomater 2008;4:514-22.
26. Tourne-Peteilh C, Lerner DA, Charnay C, et al. *The potential of ordered mesoporous silica for the storage of drugs: The example of a pentapeptide encapsulated in a MSU-Tween 80*. ChemPhysChem 2003;4:281-6.
27. Lai CY, Trewny BG, Jeftinija DM, et al. *A mesoporous silica nanosphere-based carrier system with chemically removable CdS nanoparticle caps for stimuli-responsive controlled release of neurotransmitters and drug molecules*. J Am Chem Soc 2003;125:4451-9.

## 2.6. CEFALEXINA

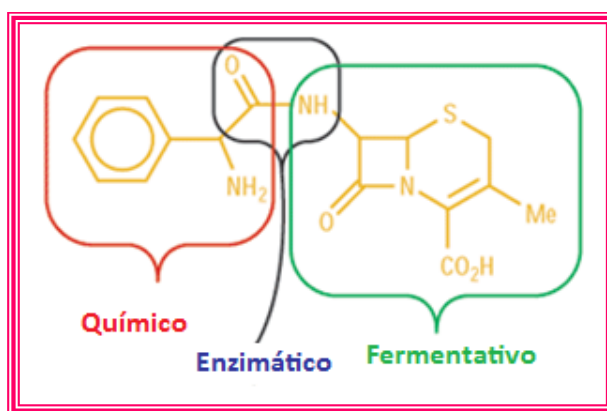
Las cefalosporinas han sido clasificadas (arbitrariamente) por generación basándose en sus espectros de actividad antibacteriana.<sup>79</sup> Algunas de las cefalosporinas nuevas, con amplio espectro antibacteriano, no se ajustan a ninguna generación y se superponen. Estos medicamentos se han ubicado en la generación que más cercanamente describe su espectro antibacteriano.<sup>80</sup> Las cefalosporinas de primera generación, y su espectro antibacteriano se presentan en la tabla 2.3. Ninguna de las cefalosporinas se considera efectiva contra bacterias: *Enterococos*, *Listeria species*, *Chlamydia*, *Clostridium difficile* y *Estafilococos epidermidis* o *aureus* resistentes a metilicina. La *cefalexina* es un antibiótico usado para tratar ciertas infecciones bacterianas como la neumonía, infecciones de los huesos, la piel, el oído y las vías urinarias.

**Tabla 2.3.** Espectro antimicrobiano de cefalosporinas de primera generación.<sup>80, 81</sup>

Clasificación	Cefalosporina	Espectro antimicrobiano
Primera generación	Cefadroxilo Cefazolina <b>Cefalexina</b> Cefalotina Cefapirina Cefradina	Bacterias gram-positivas incluyendo <i>Estafilococos aureus</i> productores de $\beta$ -lactamasa y la mayoría de <i>Streptococos</i> . Las excepciones incluyen <i>Estafilococos metilicina</i> resistentes y <i>Streptococo neumoniae</i> penicilina-resistente. La cobertura es limitada para bacterias gram-negativas como <i>Echerichia coli</i> , <i>Klebsiela pneumoniae</i> y <i>Proteus mirabilis</i> .

La síntesis de *cefalexina* requiere de tres pasos sintéticos para poder obtenerla como se muestra en la siguiente figura.<sup>81</sup>

**Figura 2.16.** Pasos sintéticos para la elaboración de *cefalexina*.



Una de las propiedades físicas importantes de la *cefalexina* es el punto isoelectrico, es el pH al que es anfótera teniendo carga neta cero. El valor de pH donde la solubilidad de la sustancia es casi nula es de **4.5 a 5**. A pH menor al punto isoelectrico se protona la amina generando una carga positiva, mientras que a pH mayor se desprotona el ácido carboxílico generando una carga negativa. En ambos casos, por formación de sales, la solubilidad aumenta.<sup>81</sup>

## 3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

### 3.1 HIPÓTESIS

El diseño, síntesis y caracterización de materiales mesoporosos ordenados de sílice funcionalizados con grupos orgánicos adecuados permitirán obtener matrices aptas para la fabricación de implantes óseos con capacidad para actuar como sistemas de liberación local controlada de *cefalexina*, un antibiótico ampliamente utilizado en infecciones dentales y óseas.

### 3.2 OBJETIVO GENERAL

- ◆ La presente tesis tiene dos objetivos fundamentales. El objetivo principal diseñar, sintetizar y caracterizar tanto estructuralmente como fisicoquímicamente materiales tipo SBA-15 funcionalizados y bifuncionalizados orgánicamente con grupos fosfato y aminas.
- ◆ El segundo objetivo consiste en evaluar la capacidad de estas matrices como materiales aptos para la liberación local y controlada de fármacos en pequeños implantes óseos.

#### 3.2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ◆ Se diseñarán y sinterizarán materiales mesoporosos ordenados de sílice tipo SBA-15 orgánicamente modificados utilizando dietilfosfato-etiltrióxosilano (DEPETES) y N-(2-aminoetil)-3-aminopropiltrimetoxisilano (DAMO) como agentes funcionalizantes. El proceso de funcionalización se llevará a cabo por el método de co-condensación.
- ◆ Por el método de co-condensación; se utilizarán diferentes relaciones molares DEPOTES/TEOS, DAMO/TEOS y DEPOTES+DAMO/TEOS durante la síntesis del SBA-15 para obtener diferentes grados de funcionalización. Una vez sintetizados los materiales se eliminará el surfactante por extracción con disolventes. Se optimizará el método de extracción con el fin de minimizar la cantidad de surfactante residual.

- ◆ Se utilizarán diversas técnicas de caracterización como son análisis químico elemental (AQE), fluorescencia de rayos X (FRX), análisis termogravimétrico y termodiferencial (ATG-ATD), espectroscopia infrarroja por Transformada de Fourier (IRTF), difracción de rayos-X (DRX) y porosimetría de adsorción de N<sub>2</sub>. Se evaluará la capacidad de estos materiales para actuar como sistemas de liberación controlada de fármacos.
- ◆ Se realizarán estudios de adsorción y liberación de *cefalexina* en los materiales mesoporosos sintetizados, tanto monofuncionalizados (con DEPETES ó DAMO) como bifuncionalizados (con DEPETES y DAMO). La carga se realizará a distintos pHs caracterizándose estructural y texturalmente los materiales tras la adsorción de la *cefalexina*. Finalmente se monitorizará la concentración de fármaco liberada en función del tiempo mediante espectroscopia ultravioleta-visible (UV-Vis) y se estudiarán las cinéticas de liberación ajustándose a los modelos matemáticos correspondientes.



## 4. METODOLOGÍA

En este apartado se describe la parte experimental correspondiente a la síntesis de SBA-15 y a su modificación orgánica conteniendo grupos fosfato y amino. Asimismo, se describen las técnicas experimentales empleadas para la caracterización química y estructural de los materiales resultantes. Por otra parte se describe la metodología utilizada para la adsorción de *cefalexina* en las matrices mesoporosas preparadas y los ensayos de liberación en condiciones fisiológicas.

### 4.1. MATERIALES Y MÉTODOS DE PREPARACIÓN

Para la síntesis de los distintos materiales mesoporosos se emplearon los siguientes reactivos: tetraetilortosilicato (TEOS,  $C_8H_{20}SiO_4$  98%, Aldrich), dietilfosfatoetiltrióxosilano (DEPETES,  $C_{12}H_{29}O_6PSi$  95%, BASF Co.), N-(2-aminoetil)-3-aminopropiltrimetoxisilano (DAMO,  $C_8H_{22}N_2O_3Si$  97%, ABCR), copolímero en bloque polioxi-etileno-polioxi-propileno (PEO<sub>20</sub>-PPO<sub>70</sub>-PEO<sub>20</sub>, Pluronic® P123) suministrado por BASF Co., ácido clorhídrico (HCl 37%WT, Panreac), etanol ( $C_2H_6O$  99.5%, Panreac), acetona ( $C_3H_6O$  QP, Panreac), 2,2,4-trimetilpentano (isooctano,  $C_8H_{18}$  al  $\geq 99.5$  %, Aldrich), heptano ( $C_7H_{16}$  99 %, Aldrich). El agua bidestilada (resistividad 18.2 M $\Omega$ .m) se obtuvo con un sistema de agua ultrapura Milli-Q de Millipore®

### 4.2. SÍNTESIS DE SBA-15

El material SBA-15 se sintetizó por el método de sol-gel siguiendo el procedimiento descrito por Zhao y col.<sup>52</sup> En una botella de vidrio con tapón sellador marca SIMAX de 500 mL se pesaron 8 g de Pluronic® a los que posteriormente se le añadieron 276 mL de agua. La mezcla se colocó en un baño de glicerina a 45 °C, para que en el interior de la botella la temperatura aproximada fuera de 35 °C, bajo agitación magnética vigorosa y se adicionaron 20.6 mL de HCl al 37 %. A continuación se cerró la botella y se dejó agitando hasta la disolución completa del surfactante (aprox. 24 h). La adición de 0.5-1.0 ml de etanol facilita el proceso de disolución del surfactante. Una vez disuelto el surfactante, se añadieron 16.4 mL de TEOS, obteniéndose una composición molar de **1.0 TEOS : 0.017 P-123 : 208 H<sub>2</sub>O : 3.4 mL de HCl**. Transcurridos unos minutos, se tapó el recipiente y se dejó reaccionar durante 24 h a 35 °C. Concluido este tiempo la botella se sacó del baño y se introdujo en una estufa a 100 °C durante otras 24 h. Finalmente, el material resultante se filtró y se dejó secar 24 h a 60 °C.

La eliminación del surfactante se llevó a cabo por extracción con isooctano-etanol. Los ensayos de extracción realizados se describen detalladamente en el anexo 1 de la presente tesis.

## METODOLOGÍA Y TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN

### 4.3. FUNCIONALIZACIÓN DE SBA-15 POR EL MÉTODO DE CO-CONDENSACIÓN

La funcionalización del SBA-15 por el método de co-condensación consiste en añadir el reactivo funcionalizante gota a gota durante la primera etapa de síntesis del material mesoporoso.

En una botella SIMAX de 500 mL se adicionaron 8 g de Pluronic P-123 el cual se mezcló con 276 mL de agua y 20.6 mL de HCl (37 %) de la misma forma que en la técnica para sintetizar SBA-15, disuelto el surfactante se añadió una cantidad específica de TEOS bajo agitación magnética vigorosa dejándose hasta la aparición de un sólido blanco, a partir de este momento se dejó 20 minutos destapado, transcurrido este tiempo se adicionó gota a gota, las cantidades adecuadas de funcionalizante (DEPETES y DAMO) previamente disuelto en isopropanol 1:5 veces como se muestran en la siguiente tabla. Las cantidades de TEOS y de agente funcionalizante se calcularon con el fin de obtener una relación molar de funcionalizante del 5, 10 y 15 % (respecto a los moles totales de los alcoxisilanos). Las distintas muestras fueron sometidas al mismo tratamiento hidrotérmico descrito para el SBA-15, lo cual consistía en 24 h a 35 °C, seguido de 24 h a 100 °C y finalmente secado por 24 h, en este caso a 45 °C. Para la extracción del surfactante se empleó la solución isooctano-etanol.

**Tabla 4.1.** Cantidades de reactivos empleadas y composiciones molares de partida para la síntesis de los materiales SBA-15 funcionalizados y bifuncionalizados al 5, 10 y 15 % con DEPETES y DAMO.

MUESTRA	TEOS mL / mol	DEPETES mL / mol	DAMO mL / mol	Isopropanol mL	Relación molar
SBA-15	16.4	-	-	-	1.0 TEOS
DP5SBA15	15.7 / 7.0 X 10 <sup>-2</sup>	1.2 / 3.69 X 10 <sup>-3</sup>	-	6	0.95 TEOS: 0.05 DEPETES
DP10SBA15	15.0 / 6.7 X 10 <sup>-2</sup>	2.4 / 7.4 X 10 <sup>-3</sup>	-	12	0.90 TEOS: 0.10 DEPETES
DP15SBA15	14.1 / 6.3 X 10 <sup>-2</sup>	3.6 / 1.11 X 10 <sup>-2</sup>	-	18	0.85 TEOS: 0.15 DEPETES
DM5SBA15	15.7 / 7.0 X 10 <sup>-2</sup>	-	0.82 / 3.69 X 10 <sup>-3</sup>	4.1	0.95 TEOS: 0.05 DAMO
DM10SBA15	15.0 / 6.7 X 10 <sup>-2</sup>	-	1.64 / 7.4 X 10 <sup>-3</sup>	8.2	0.90 TEOS: 0.10 DAMO
DM15SBA15	14.1 / 6.3 X 10 <sup>-2</sup>	-	2.46 / 1.11 X 10 <sup>-2</sup>	12.3	0.85 TEOS: 0.15 DAMO
DPM5SBA15	15.7 / 7.0 X 10 <sup>-2</sup>	0.6 / 1.85 X 10 <sup>-3</sup>	0.41 / 1.85 X 10 <sup>-3</sup>	3.0 - 2.05	0.95 TEOS: 0.025 DEPETES: 0.025 DAMO
DPM10SBA15	15.0 / 6.7 X 10 <sup>-2</sup>	1.2 / 3.69 X 10 <sup>-3</sup>	0.82 / 3.69 X 10 <sup>-3</sup>	6.0 - 4-1	0.90 TEOS: 0.05 DEPETES: 0.05 DAMO
DPM15SBA15	14.1 / 6.3 X 10 <sup>-2</sup>	1.8 / 5.53 X 10 <sup>-3</sup>	1.23 / 5.53 X 10 <sup>-3</sup>	9.0 - 6.15	0.85 TEOS: 0.075 DEPETES: 0.075 DAMO

## 4.4. TÉCNICAS EXPERIMENTALES DE CARACTERIZACIÓN

Una vez obtenidos los materiales se procedió a su caracterización química y estructural utilizando diferentes técnicas: espectroscopia de fluorescencia de rayos-X (FRX), análisis químico elemental, análisis térmico diferencial y termogravimétrico (ATD/ATG), espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (IRTF), difracción de rayos-X (DRX) y porosimetría de adsorción de N<sub>2</sub> (BET).

### 4.4.1. Fluorescencia de Rayos-X (FRX)

Una vez sintetizados los materiales SBA-15 mono- y bifuncionalizados con DEPETES y DEPETES + DAMO, respectivamente, se determinó la cantidad de fósforo presente. Para ello se empleó un espectrómetro Philips PANalytical AXIOS, con un cátodo de rodio como fuente de Rayos X, empleando la radiación RhK $\alpha$  ( $\lambda=0.6139\text{\AA}$ ). Las muestras se conformaron en forma de pastillas de 13 mm de diámetro las cuales se sometieron a presión uniaxial de 5 MPa.

### 4.4.2. Análisis químico elemental

Esta técnica proporciona el contenido total de carbono, hidrógeno, nitrógeno y azufre presente en muestras de naturaleza orgánica e inorgánica, tanto sólidas como líquidas. La caracterización fue realizada a cada uno de los materiales antes y después de ser extraídos con isooctano-etanol, así como aquellos que fueron cargados con *cefalexina*. La medición se realizó con los polvos de cada uno de los materiales a estudiar. El análisis elemental de C, H y N y S se realizó en un analizador elemental Leco CNS-200 perteneciente al servicio de Análisis Elemental de la U.C.M.

### 4.4.3. Análisis Térmico Diferencial y Termogravimétrico (ATD/ATG)

Durante el ATD/ATG de las distintas muestras se producen pérdidas de peso que permiten determinar la cantidad de materia orgánica presente en las matrices analizadas (materiales funcionalizados y bifuncionalizados). Estos estudios se realizaron en un equipo Perkin Elmer Diamond TG/DTA entre 40 y 1000 °C con un flujo constante de aire de 200 mL/min, y una rampa de calentamiento de 10 °C/min. Para estos ensayos se utilizaron crisoles de platino y  $\alpha$ -alúmina como referencia.

### 4.4.4. Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (IRTF)

La identificación de los grupos funcionales presentes en los materiales se realizó mediante IRTF. Estas medidas se llevaron a cabo en un espectrómetro Thermo Nicolet Nexus equipado con un dispositivo Goldengate de reflectancia total atenuada (ATR) en modo transmisión, entre 400 y 4000  $\text{cm}^{-1}$ . El material se colocó con la punta de una espátula directamente en la ranura donde atraviesa el haz de luz realizándose la medida de manera fácil y rápida. La punta de diamante del dispositivo ATR al ejercer presión sobre una determinada área del material forma una pastilla muy delgada y pequeña. La presión adecuada se optimiza mediante la monitorización del espectro de IR.

### 4.4.5. Difracción de Rayos X (DRX)

La caracterización estructural de las muestras en polvo mediante DRX se llevó a cabo en un difractómetro Philips X'Pert Plus con geometría Bragg-Brentano, operando a la radiación  $\text{CuK}\alpha$  ( $\lambda=1.5406 \text{ \AA}$ ). Los difractogramas se obtuvieron a bajo ángulo, es decir, para  $2\theta$  entre  $0.6 - 8.0^\circ$ , un paso de  $0.02^\circ$  y un tiempo de contacto de 5 s. Esto se debe a que los materiales mesoporosos tipo SBA-15 presentan periodicidad de los poros en este intervalo. Además carecen de periodicidad longitudinal ( $l=0$ ), por lo que son fáciles de identificar gracias a la presencia de reflexiones ( $hk0$ ).

El SBA-15 presenta una estructura hexagonal con parámetros típicos  $\alpha=\beta=90^\circ$ ,  $\gamma=120^\circ$  y  $a=b\neq c$ . Por tanto, el espacio interplanar se define como:

$$\frac{1}{d^2} = \frac{4}{3} \cdot \left( \frac{h^2 + k^2 + hk}{a^2} \right) + \left( \frac{l^2}{c^2} \right)$$

Se puede definir el parámetro de celda con un único valor,  $a_0$ :

$$a_0 = \frac{2 \cdot d_{100}}{\sqrt{3}}$$

Los difractogramas se realizaron una vez sintetizados y funcionalizados los SBA-15, así como para algunos de ellos tras la carga de *cefalexina*, para comprobar si se mantiene el orden estructural de los materiales.

### 4.4.6. Porosimetría de Adsorción de $\text{N}_2$ (BET)

Para conocer las propiedades texturales de los materiales obtenidos (superficie específica, volumen de poro y diámetro de poro) se recurre a la adsorción y desorción de gases inertes, en este caso  $\text{N}_2$ . Para realizar estas medidas se empleó un porosímetro de adsorción de  $\text{N}_2$  Micrometrics ASAP 2020

## METODOLOGÍA Y TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN

operando desde 10 a 127 kPa a la temperatura de N<sub>2</sub> líquido, (-196 °C). En todos los casos, se desgasificaron 50–70 mg de cada uno de los materiales a un vacío inferior a 10<sup>-5</sup> Torr a una temperatura de 120 °C (24 h) en el caso de SBA-15 y de 60 a 120 °C (48 h) para los materiales funcionalizados y bifuncionalizados con DEPETES y DAMO. La desgasificación en el caso de los materiales cargados con *cefalexina* se realizó a temperatura ambiente.

Uno de los parámetros que se obtienen con esta técnica es la superficie específica ( $S_{\text{BET}}$ ), que se calcula con la ecuación de Brunauer-Emmett-Teller (BET)<sup>82</sup>:

$$\frac{P}{V(P - P_0)} = \frac{1}{V_m \cdot C \cdot P_0} + \frac{(C - 1) \cdot P}{V_m \cdot C \cdot P_0}$$

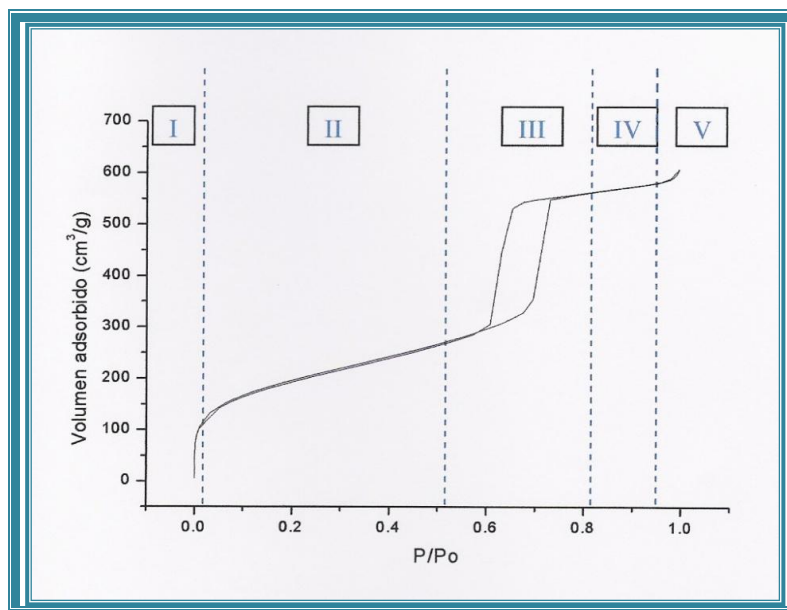
donde P es la presión de equilibrio, P<sub>0</sub> es la presión de saturación, V el volumen de gas adsorbido y C es una constante característica. Esta ecuación se aplicó en el intervalo de P/P<sub>0</sub> comprendido entre 0.05 y 0.20.

A partir de las isotermas de adsorción y desorción se puede conocer la distribución de tamaños de poro. Para ello se usa la ecuación de Barrett-Joyner-Halenda (BJH)<sup>83</sup> en la rama de adsorción, con una ecuación modificada para el espesor estadístico. A partir del máximo de la distribución de diámetros de poro se puede calcular el tamaño medio de mesoporo (D<sub>p</sub>). El volumen total (V<sub>T</sub>) se midió a P/P<sub>0</sub> = 0.97. La posible existencia de microporos (diámetros de poro < 2 nm) en las muestras se determinó mediante el método de t-plot<sup>84</sup> lo cual permitió estimar la contribución de la fracción de microporo al volumen total (V<sub>μP</sub>).

El tipo de isoterma de adsorción que se obtiene para materiales mesoporosos tipo SBA-15 es del tipo IV, según la IUPAC<sup>85, 86</sup> donde se distinguen cinco zonas (Figura 4.1):

- ⊙ Zona I: Formación de una capa sobre la superficie.
- ⊙ Zona II: Formación de multicapas sobre la monocapa inicial.
- ⊙ Zona III: Condensación capilar en el interior de los canales. La presión relativa está relacionada con el diámetro de poros. El tamaño de poro es más homogéneo cuanto más estrecha y mayor pendiente tenga.
- ⊙ Zona IV: Adsorción multicapa de la superficie externa.
- ⊙ Zona V: Llenado del espacio entre partículas debido a la condensación. Esta zona aparecerá a menores presiones relativas cuanto menor sea el tamaño de partícula.

Figura 4.1. Zonas de una Isotherma de Adsorción de N<sub>2</sub>.



## 4.5. ENSAYOS DE ADSORCIÓN Y LIBERACIÓN DE *CEFALEXINA* DESDE MATRICES MESOPOROSAS.

### 4.5.1. MATERIALES

En la carga y liberación de los materiales mesoporosos ordenados de base de sílice se emplearon los siguientes reactivos: *Cefalexina* (99%, Aldrich), ácido clorhídrico (HCl 37 % WT, Panreac), PBS (1x, Aldrich), agua bidestilada (resistividad 18.2 MΩ·m) se obtuvo con un sistema de agua ultrapura Milli-Q de Millipore® KOH (99%, Aldrich), KCl (99%, Aldrich).

### 4.5.2. ENSAYOS DE CARGA

Se realizaron varias pruebas de carga y liberación del fármaco, se realizó por impregnación del material mesoporoso en polvo en una disolución de *cefalexina* a distintos valores de pH.

La primera prueba consistió en disolver pequeñas cantidades de *cefalexina* en diversos disolventes orgánicos polares para encontrar el disolvente en el que fuera más soluble. Sin embargo, la *cefalexina* no se solubilizó en ningún disolvente orgánico ensayado. Así, teniendo en cuenta que muchos antibióticos son solubles en agua, se decidió hacer la prueba en este disolvente, encontrándose en el agua, el disolvente ideal.

Se procedió a realizar la carga de tres materiales mesoporosos (SBA15iso, DM10SBA15iso y DPM15SBA15iso) a tres pHs distintos 4.0, 6.0 y 9.3. Se utilizó un matraz aforado de 100 mL en el cual

## METODOLOGÍA Y TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN

---

se disolvieron 20 mM de *cefalexina* en 100 mL de agua, posteriormente se vertió en tres vasos de precipitados de 100 mL la cantidad de 30 mL de la solución, los cuales se etiquetaron con los tres valores de pH.

La disolución ácida se preparó adicionando HCl 100 mM y 10 mM hasta pH 4. La disolución básica se preparó añadiendo gota a gota KOH 100 mM y 10 mM hasta llegar a un pH de 9.3. Para el pH de 6 se agregaron unas gotas de KOH 10 mM. Obtenidas las disoluciones 20 mM de *cefalexina* a los pHs propuestos, se vertieron cada una en 3 recipientes de plástico resistente de 40 mL, cada recipiente contenía el nombre del material mesoporoso a cargar y el pH correspondiente. A continuación, se adicionaron 250 mg de cada matriz en 10 mL de la disolución de carga correspondiente. Se dejaron agitando vigorosamente durante 40 horas a temperatura ambiente. Posteriormente se filtraron, lavaron y dejaron secar durante 24 horas a 37 °C.

Se realizó un segundo ensayo de carga para todos los materiales mesoporosos a dos concentraciones de *cefalexina* distinta, 32 y 55 mM, y a pH de 6 y 9 respectivamente. Estos ensayos nos permitieron conocer las condiciones más favorables para la carga de *cefalexina*, sin embargo no se realizó la liberación de antibiótico de estas muestras ensayadas.

El segundo ensayo se realizó de manera distinta con respeto al primero. En dos vasos de precipitado de 500 mL bajo agitación vigorosa se adicionaron 300 mL de agua bidestilada y se llevaron cada uno a pH 6 y a pH 9. Posteriormente se disolvieron distintas cantidades de *cefalexina* hasta alcanzar concentraciones de 32 mM y 55 mM respectivamente (calculadas para una solución de 500 mL) se ajustó el pH a 6 y a 9. Por último, cada una de las disoluciones se vertió en un matraz aforado de 500 mL llevándose hasta el aforo, una vez que se tuvieron los 500 mL de la solución se verificó que mantuvieran el pH requerido, en caso contrario se ajustó. En 18 recipientes de plástico de 60 mL se colocaron 500 mg de cada uno de los 9 materiales sintetizados para realizar la carga tanto a pH 6 como a pH 9, estos se dejaron bajo agitación orbital durante 3 días.

La tercera prueba de carga se realizó con todos los materiales mesoporosos sometidos anteriormente a una extracción con etanol acidificado con HCl conc., durante 24 h. La prueba se realizó con una disolución 35 mM de *cefalexina* a pH 9, durante 32 h bajo agitación orbital (se preparó como en el segundo ensayo). En este caso se varió la cantidad de matriz cargada con 10 mL de la disolución. Para obtener la cantidad óptima.

### 4.5.3. ENSAYOS DE LIBERACIÓN

Para los ensayos de liberación de *cefalexina*: se realizaron dos ensayos (estático y semicontinuo) con las pastillas que se elaboraron de la primera prueba de carga a los pHs 4.0, 6.0 y 9.3 debido a la homogeneidad que presentaron, permitiendo realizar una comparación precisa. Los materiales mesoporosos cargados se conformaron en forma de pastillas con un diámetro de 6 mm. El medio de liberación consistió en una disolución de PBS 1X a pH=7.03.

#### 4.5.3.1. Primer ensayo

Las muestras se mantuvieron a temperatura de 37 °C , y agitación orbital a 150 rps para evitar que la velocidad de liberación estuviera condicionada por el factor de difusión externo. Para realizar los ensayos de liberación, cada pastilla se introdujo en un tubo *Falcom* de 15 mL, adicionándose 8 ml de la disolución de PBS 1X. La cantidad de *cefalexina* liberada se midió mediante espectroscopia UV-Visible a 252 nm a determinados tiempos (1, 2, 4, 24, 26, 28, 30, 48, 54, 72, 96, 144 y 168 h).

#### 4.5.3.2. Segundo ensayo

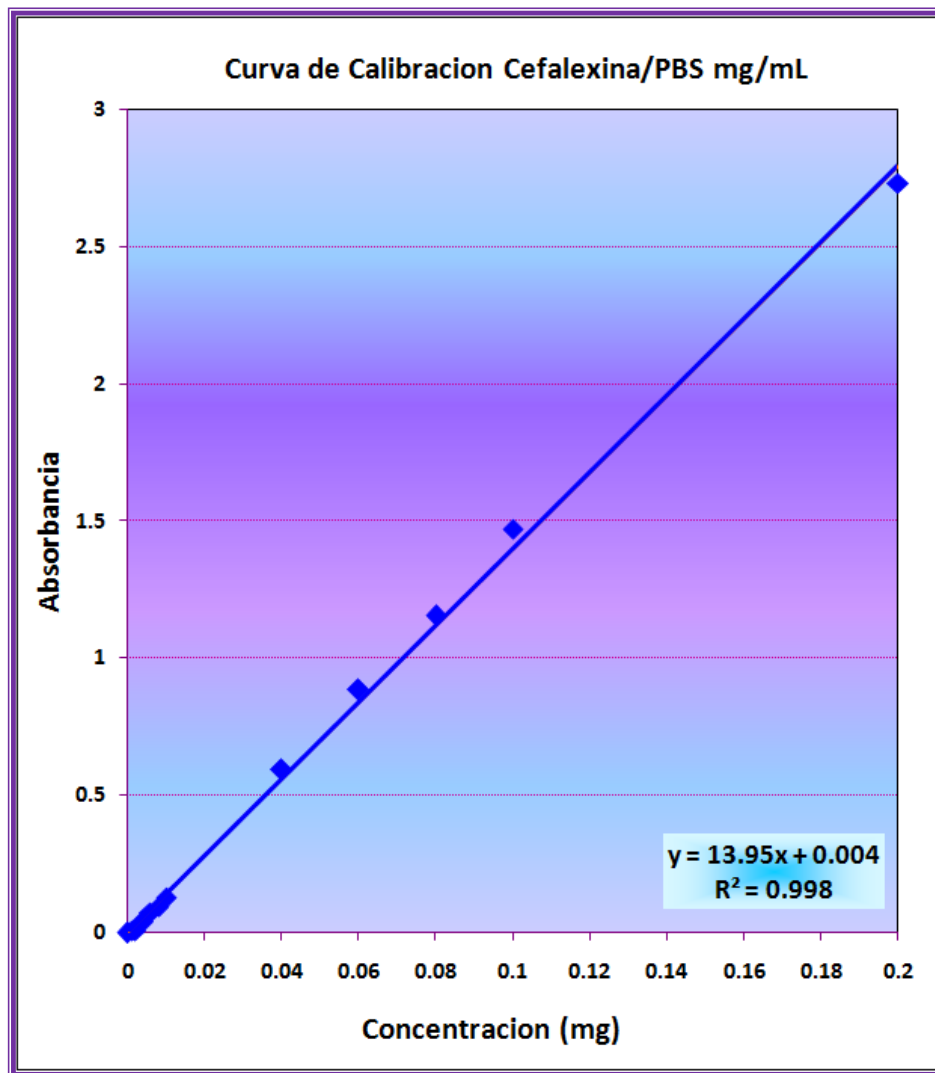
Las muestras se mantuvieron a temperatura de 37 °C, y agitación orbital de 150 rps. Para realizar las pruebas de liberación semicontinua, cada pastilla se amarró en un alambre de platino, el cual se fijó a la tapa de un vial de plástico de 4 mL, se suspendieron cada una de las pastillas en 2 mL de solución PBS 1 X dejándose bajo agitación orbital durante un determinado periodo de tiempo, cumplido el plazo se intercambié el vial con X contenido de *cefalexina* liberada por otro que contenía 2 mL de la disolución de PBS 1X fresca, al cual se le incorporó la pastilla, de ésta forma se recolectaron las fracciones correspondientes a cada tiempo (1, 2, 4, 24, 26, 28, 30, 48, 54, 72, 96, 144, 168, 192, 216, 240, 264, 312, 336, 360 hasta 720 hrs). La cantidad de *cefalexina* liberada se midió mediante espectroscopia UV-Visible a 520 nm, siendo esta la longitud de onda promedio a la cual se tenía la máxima absorbancia, para hacer el análisis cuantitativo.

Las medidas se realizaron utilizando un espectrómetro UV-Vis Unicam UV-500. Para determinar la cantidad liberada se realizó un calibrado utilizando estándares de 0.01, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 y 0.1, 0.12, 0.14, 0.16, 0.18 y 0.2 mg/mL de *cefalexina* en la disolución de PBS 1 X a pH=7.03. Así se obtiene una recta de calibrado de  $Abs=13.95 [cefalexina]$  con un factor de regresión de 0.998, como se muestra en la figura 4.2.



# METODOLOGÍA Y TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN

Figura 4.2. Recta de calibrado *cefalexina*



# RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En este capítulo, se discuten los resultados obtenidos de los distintos materiales mesoporosos una vez realizada su funcionalización, caracterización química y estructural.

### 5.1. MATERIAL SBA-15

El material SBA-15 sin modificar orgánicamente se caracterizó mediante: DRX, IRTF, ATD/ATG, y Porosimetría de Adsorción de N<sub>2</sub>.

#### 5.1.1. Caracterización por Difracción de Rayos X (DRX)

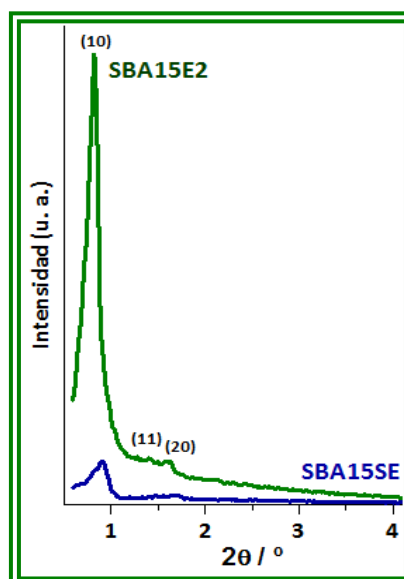
En la Tabla 5.1, se muestran los resultados obtenidos del difractograma del SBA-15 extraído por el método isooctano-etanol. En este caso, se observan las reflexiones (10), (11) y (20) propias de una simetría hexagonal bidimensional plana (*P6mm*), por tanto el orden de largo alcance se mantiene después de la extracción.

Tabla 5.1.- Parámetros estructurales del SBA-15 extraído.

Compuesto	2θ	d <sub>10</sub> (nm)	a <sub>0</sub> (nm)
SBA15	0.82	10.77	12.44

En la siguiente figura se observa el difractograma del SBA15 tanto extraído como sin extraer, se ve la diferencia entre éstos, mejorando la definición en las reflexiones tras la extracción del surfactante.

Figura 5.1. DRX del SBA-15 con y sin eliminación de surfactante.

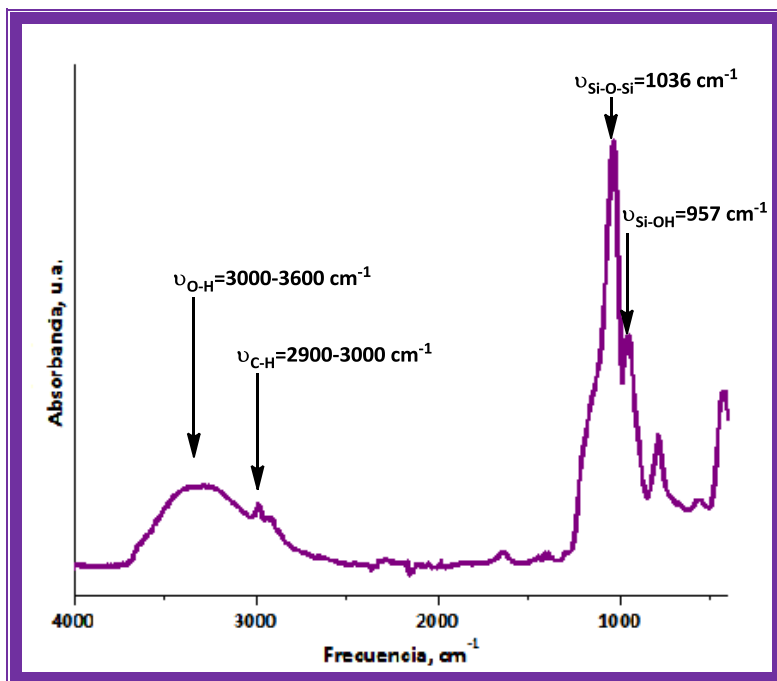


## RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### 5.1.2. Caracterización por Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (IRTF)

Se confirma mediante el análisis IRTF la presencia de los grupos funcionales que conforman la matriz, así como la presencia de surfactante residual tras su eliminación (figura 5.2). Se observa la banda de vibración  $\nu(\text{Si-O}) \approx 970 \text{ cm}^{-1}$ , característica de los compuestos de sílice. Una banda ancha que corresponde con la vibración de los OH de los grupos silanol entre  $3600 - 3000 \text{ cm}^{-1}$ . Otra banda con vibración  $\nu(\text{C-H}) \approx 2900-3000 \text{ cm}^{-1}$ , característica de las cadenas hidrocarbonadas del surfactante, indicando que no se eliminó completamente, parte de éste queda embebido en la matriz.

**Figura 5.2.** Espectro de IRTF del material mesoporoso SBA-15 después de eliminar el surfactante.



### 5.1.3. Caracterización por Análisis Térmico Diferencial y Termogravimétrico (ATD/ATG).

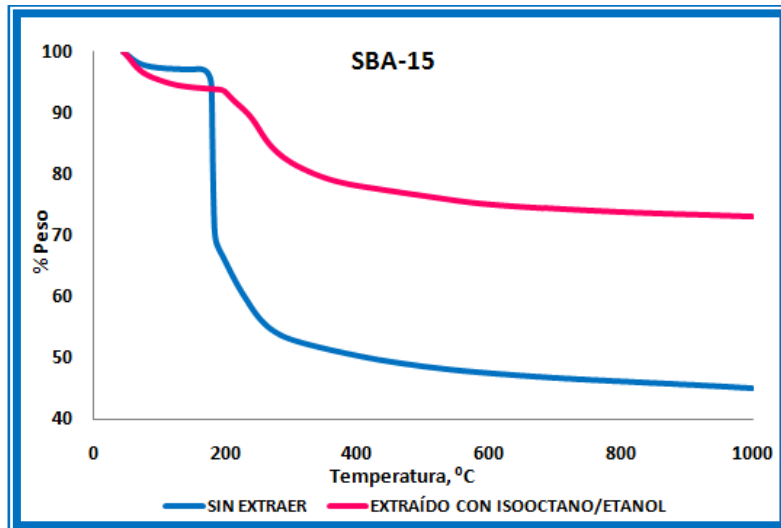
La cantidad residual de surfactante se ha obtenido con el análisis de ATD/ATG. La Figura 5.3 muestra una pérdida alrededor de  $160 \text{ }^\circ\text{C}$  que corresponde con la eliminación del surfactante. En la tabla 5.2 se observan los datos obtenidos del análisis de esta técnica, se ve una reducción en el % en peso de materia orgánica, se ha eliminado más del 50 % de ésta.

**Tabla 5.2.** % en peso de materia orgánica inicial, eliminada y restante

Muestra	T <sub>1</sub> 160 °C	T <sub>2</sub> 600 °C	% peso de materia orgánica (T <sub>1</sub> -T <sub>2</sub> )	% Peso eliminado	% Peso restante
SBA15	97.23	47.48	49.75	0.00	100.00
SBA15iso	94.13	75.08	19.05	61.71	38.29

# RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Figura 5.3. TGA del SBA-15 sin y extraído.



## 5.1.4. Caracterización por Porosimetría de Adsorción de N<sub>2</sub>.

La isoterma de adsorción del SBA-15 extraído presenta un ciclo de histéresis de tipo IV y ramas de adsorción y desorción paralelas indicando existencia de mesoporos de geometría cilíndrica, abiertos por ambos extremos (Figura 5.4). El diámetro promedio de los mesoporos  $D_{BJH}$ , se calcula a partir del método BJH<sup>91</sup>, tomando el máximo de la distribución de diámetros de poro aplicado a la rama de adsorción de la isoterma, figura 5.5. Se deduce el espesor de las paredes silíceas entre mesoporos adyacentes ( $t_{wall}$ ) restando el valor de diámetro de poro ( $D_{BJH}$ ) al valor del parámetro de red,  $a_0$ , obtenido por DRX (Tabla 5.3).

Tabla 5.3. Valores texturales del SBA-15 extraído.

Muestra	$S_{BET}$ (m <sup>2</sup> /g)	$V_p$ (cm <sup>3</sup> /g)	$V_{\mu p}$ (cm <sup>3</sup> /g)	$D_{BJH}$ (nm)	$a_0$ (nm)	$t_{wall}$ (nm)
SBA15iso	466	0.546	0.009	7.4	12.44	5.04

Figura 5.4.- Isoterma de adsorción del material SBA-15 extraído.

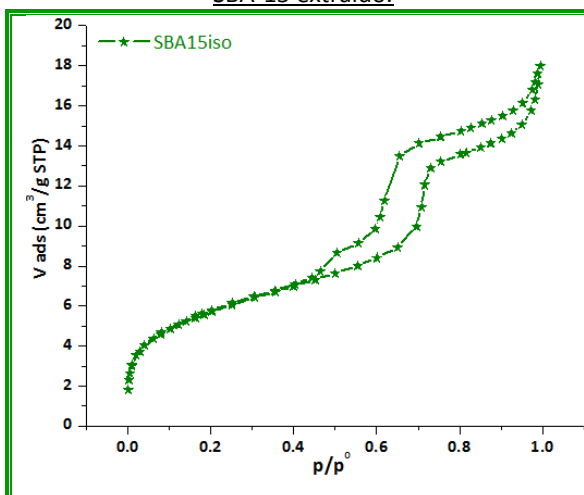
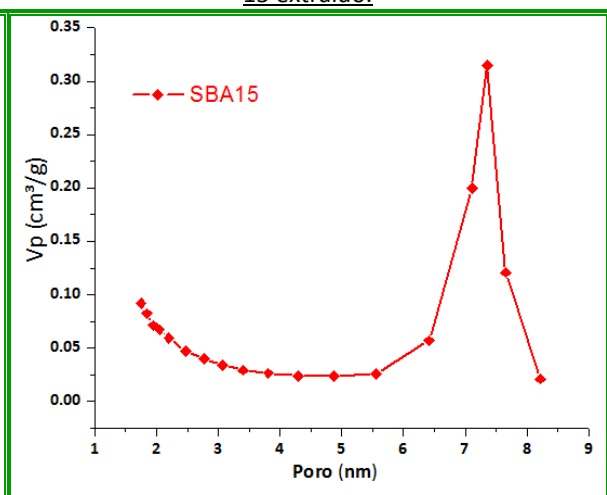


Figura 5.5. Distribución del tamaño de poro del SBA-15 extraído.



# RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

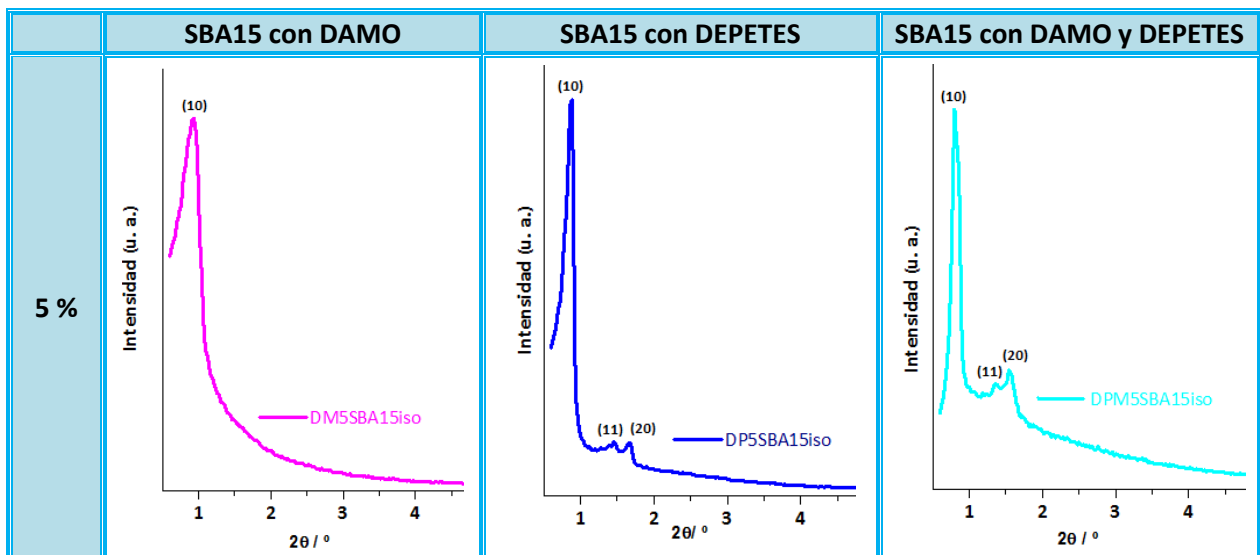
## 5.2. MATERIALES SBA-15 FUNCIONALIZADOS CON GRUPOS FOSFATO POR EL MÉTODO DE CO-CONDENSACIÓN

Las matrices mesoporosas modificadas orgánicamente con DEPETES y DAMO se caracterizaron mediante DRX, IRTF, FRX, Análisis Químico Elemental, ATD/ATG y Porosimetría de Adsorción de N<sub>2</sub>

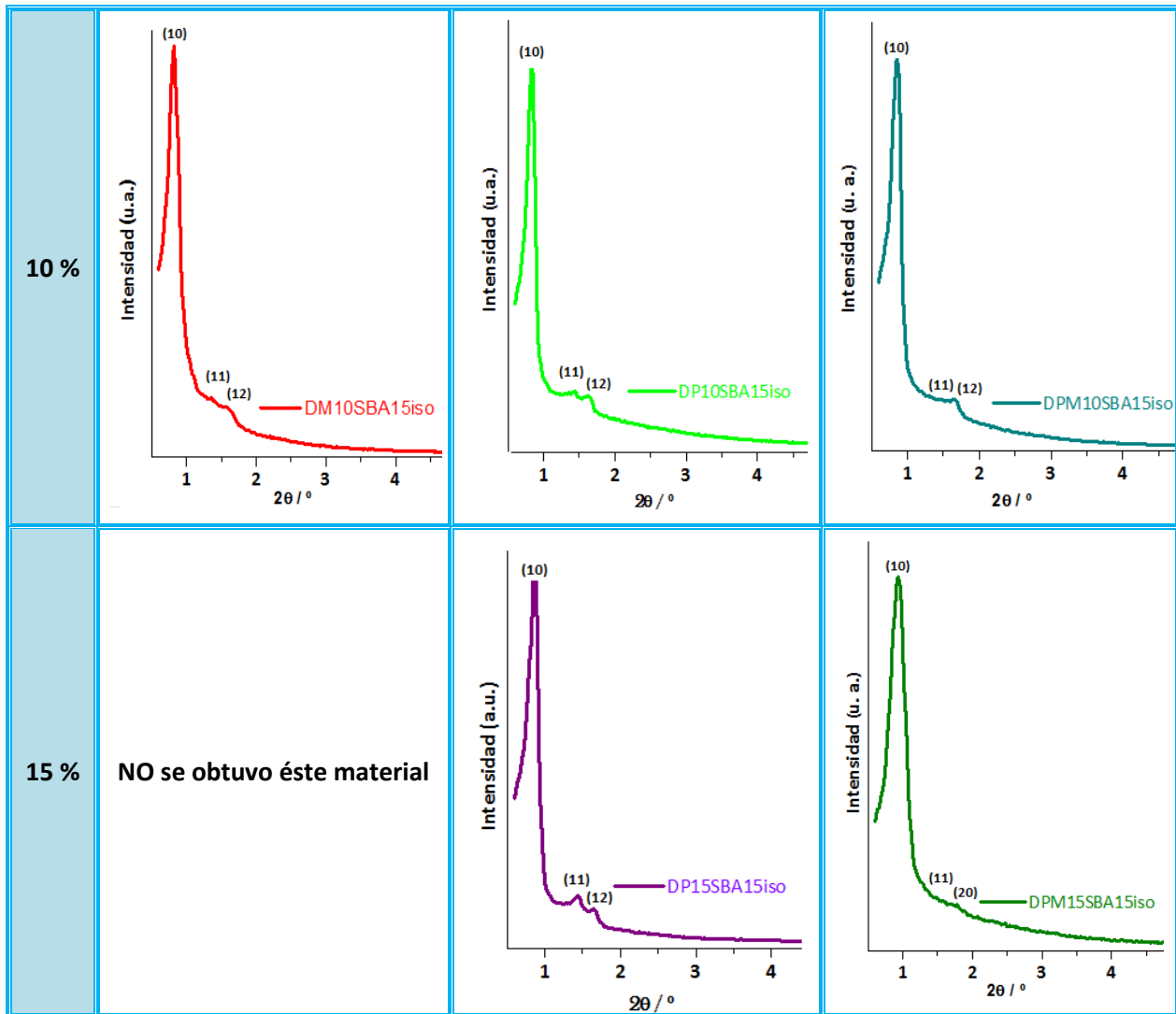
### 5.2.1. Caracterización por Difracción de Rayos X (DRX)

En la figura 5.6 se muestran los difractogramas de los materiales funcionalizados con DEPETES, DAMO y bifuncionalizados mediante el método de co-condensación, donde la eliminación de surfactante se realizó por el método isooctano-etanol. En todos los casos se aprecian los máximos de difracción característicos de una simetría *P6mm*, reflexiones (10), (11) y (20), indicando que el orden de largo alcance se mantiene tras la funcionalización. En el caso de los materiales: funcionalizado al 5 % con DAMO y bifuncionalizado al 15 % con DAMO y DEPETES, no se observan claramente las reflexiones (11) y (20), han perdido estructura a largo alcance. Los valores de los parámetros de celda,  $a_0$ , calculados a partir de la reflexión (10) pueden consultarse en la tabla 5.4.

Figura 5.6.- Diagramas de DRX de las muestras funcionalizadas y bifuncionalizadas extraídas con el método de isooctano/etanol



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS



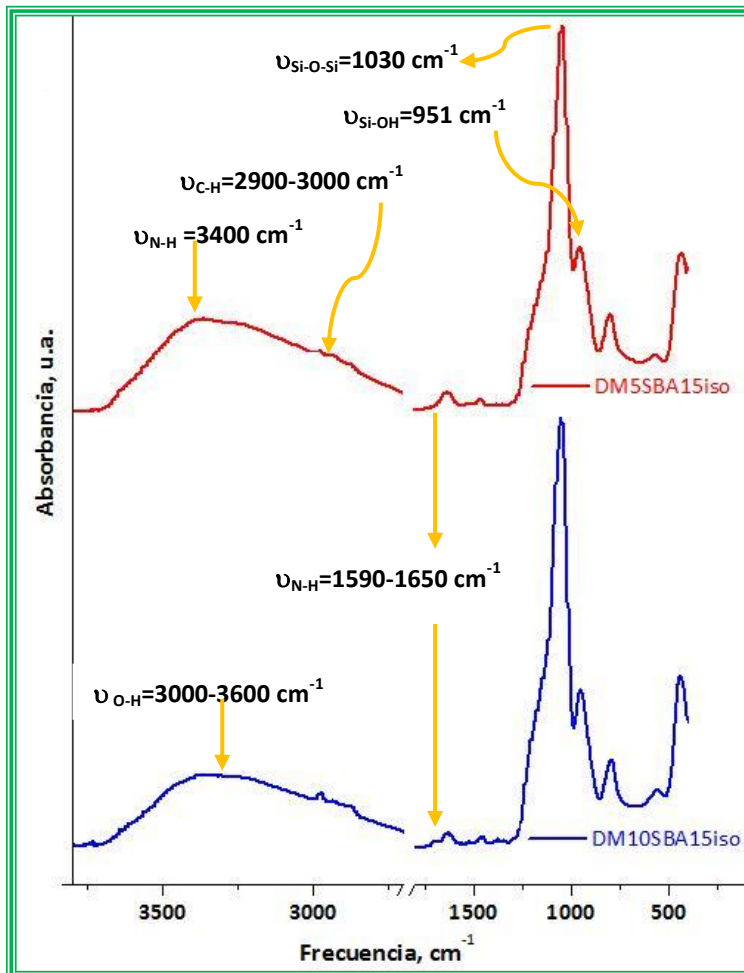
**Tabla 5.4.** Parámetros estructurales del SBA-15 funcionalizado y extraído.

Compuesto	$2\theta$	$d_{10}$ (nm)	$a_0$ (nm)
DM5SBA15iso	0.94	9.40	10.85
DM10SBA15iso	0.82	10.77	12.44
DP5SBA15iso	0.88	10.04	11.59
DP10SBA15iso	0.84	10.52	12.14
DP15SBA15iso	0.86	10.27	11.86
DPM5SBA15iso	0.80	11.04	12.75
DPM10SBA15iso	0.86	10.27	11.86
DPM15SBA15iso	0.94	9.40	10.85

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### 5.2.2. Caracterización Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (IRTF)

**Figura 5.7.** Espectros de IRTF para los materiales funcionalizados con DAMO extraídos con isooctano/etanol

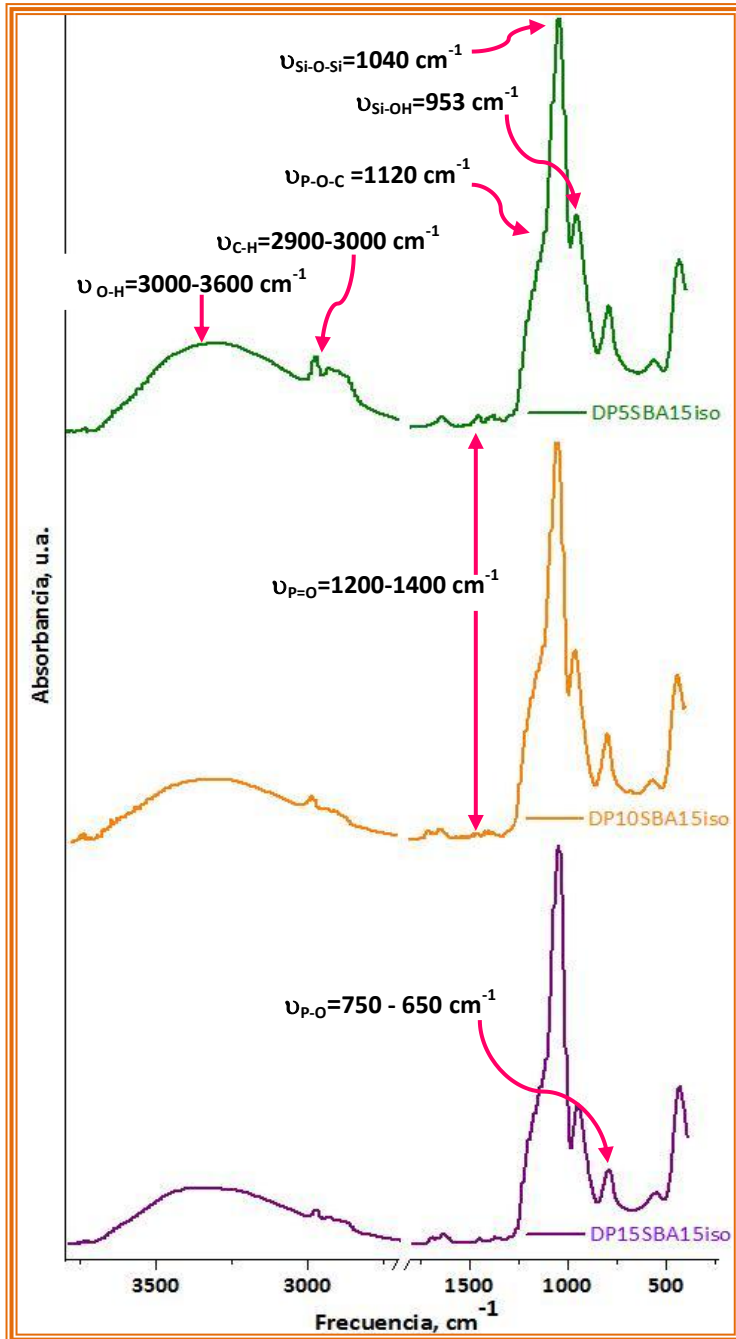


La funcionalización de la superficie del SBA-15 con grupos amino se confirma con el análisis IRTF, figura 5.7. Las bandas características del grupo amino, no están bien definidas porque la intensidad y el ancho de las bandas debidas a la matriz de SBA-15 se traslapan con las bandas que se esperarían ver. Es importante mencionar que el % de funcionalización está relacionado con la intensidad con la que aparecen éstas, sin embargo, se ve un pico alrededor de  $3400 \text{ cm}^{-1}$  confirmando la presencia de del enlace N-H, además se observa una banda  $\nu(\text{N-H})$  entre  $1590-1650 \text{ cm}^{-1}$  la cual

resalta indicando la presencia del grupo amino. Al igual que en el SBA-15 aparece la vibración  $\nu(\text{C-H}) \approx 2900-3000 \text{ cm}^{-1}$  debida a las cadenas hidrocarbonadas del surfactante que no se eliminó, así como a las pertenecientes a la estructura del DAMO, la banda característica  $\nu(\text{Si-OH})$  se encuentra en  $951 \text{ cm}^{-1}$ , así como la vibración  $\nu(\text{Si-O-Si})$  en  $1030 \text{ cm}^{-1}$  que definen la existencia de la matriz del SBA15.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

**Figura 5.8.** Espectros de IRTF para los materiales funcionalizados con DEPETES extraídos con isooctano/etanol

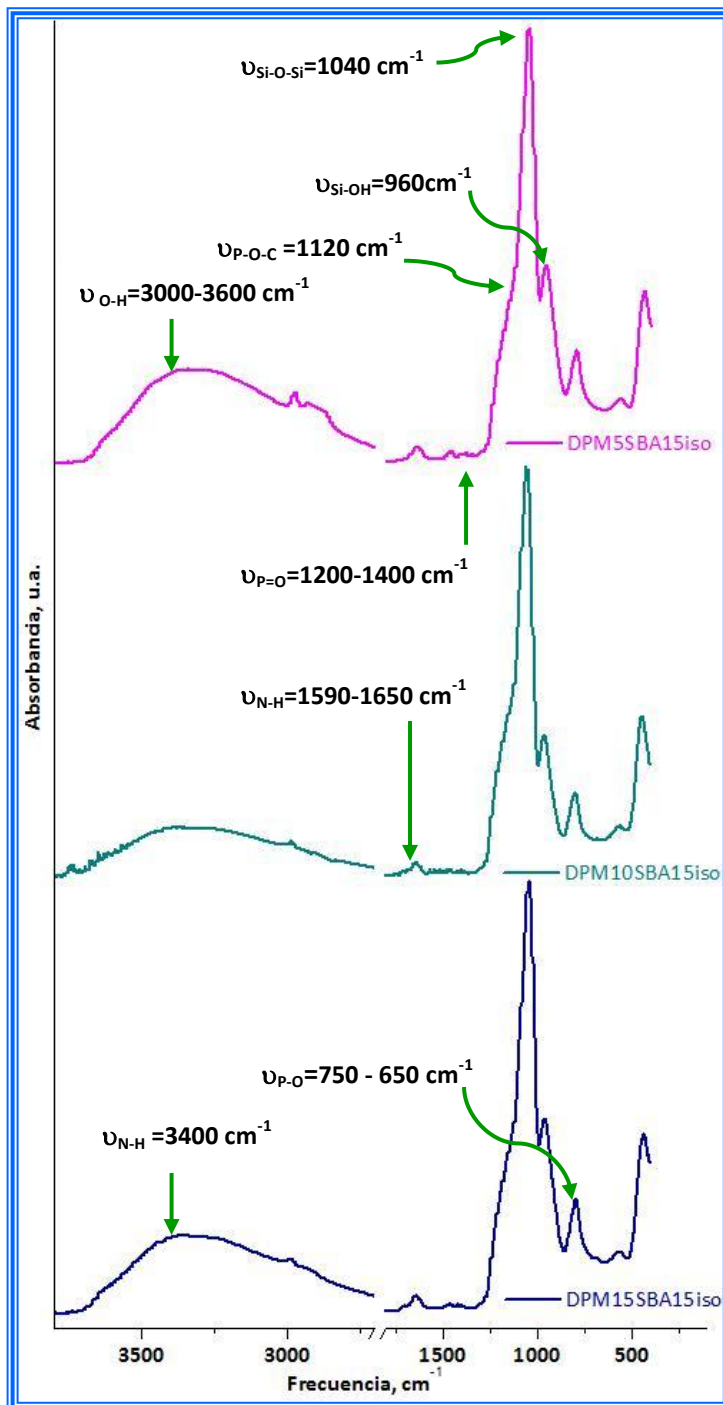


En cuanto a la funcionalización de la superficie del SBA-15 con grupos fosfato el análisis IRTF permite identificar los distintos enlaces existentes en la molécula de DEPETES, figura 5.8. Se observan las bandas características del fósforo: la vibración  $\nu(\text{P-O}) \approx 750-650 \text{ cm}^{-1}$ , la  $\nu(\text{P-O-C}) \approx 1120 \text{ cm}^{-1}$  y un hombro correspondiente a la  $\nu(\text{P=O}) \approx 1400-1200 \text{ cm}^{-1}$ . Se muestran otras bandas la  $\nu(\text{C-H}) \approx 2900-3000 \text{ cm}^{-1}$ , debida a las cadenas hidrocarbonadas del DEPETES, la  $\nu(\text{Si-OH}) \approx 953 \text{ cm}^{-1}$ , característica de los compuesto de sílice y la  $\nu(\text{O-H})$  entre  $3600-3000 \text{ cm}^{-1}$ , referente a los grupos OH de los grupos silanol presentes en los materiales.



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

**Figura 5.9.** Espectros de IRTF para los materiales bifuncionalizados con DEPETES y DAMO extraídos con isooctano/etanol



Para los materiales tipo SBA-15 bifuncionalizados superficialmente con DAMO y DEPETES se realizó el mismo análisis IRTF. Es importante notar que en éstos las bandas no se observan con la misma claridad, cómo se observaban en los funcionalizados con cada una de estas moléculas, esto es, por el % de funcionalización de los mismos, siendo menor en estos materiales. Aún así se observa un pico alrededor de  $3400 \text{ cm}^{-1}$  perteneciente al enlace N-H, además de las bandas  $\nu(\text{N-H}) \approx 1590-1650 \text{ cm}^{-1}$ ,  $\nu(\text{P-O}) \approx 750 - 650 \text{ cm}^{-1}$ ,  $\nu(\text{P-O-C}) \approx 1120 \text{ cm}^{-1}$  y la correspondiente a  $\nu(\text{P=O}) \approx 1400 - 1200 \text{ cm}^{-1}$ . Al igual que en los otros casos vemos las vibraciones  $\nu(\text{C-H}) \approx 2900-3000 \text{ cm}^{-1}$  y  $\nu(\text{O-H}) \approx 3600-3000 \text{ cm}^{-1}$ , todas éstas demuestran la presencia de los grupos funcionales presentes en la superficie de los materiales tipo SBA15.

### 5.2.3. Caracterización por Espectroscopia de Fluorescencia de Rayos X (FRX)

El grado de funcionalización experimental se obtiene determinando el contenido de fósforo de las muestras por FRX. Se asume que todo el fósforo procede de los grupos fosfato anclados. En la tabla 5.5 se observa que los porcentajes en peso de DEPETES experimentales son distintos a los teóricos, sin embargo, se ve una tendencia en todos los materiales, esta es, que tienen un grado de funcionalización mayor al esperado. En el caso del DP5SBA15iso en vez de tener un 5 % de

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

funcionalización tiene un 10 %. En cuanto a los materiales funcionalizados con un 10 y 15 % de DEPETES (DP10SBA15iso y DP15SBA15iso) vemos que el porcentaje de funcionalización es cercano, pero mayor al 15 % de DEPETES para ambos casos.

En cuanto a los materiales bifuncionalizados, el DPM5SBA15iso que tiene un grado de 2.5 % de funcionalización teórico, experimentalmente muestra un grado de 5 %. Para los materiales DPM10SBA15iso y DPM15SBA15iso el grado de funcionalización experimental es de 8 y 11 % respectivamente. En general se observa que los materiales mesoporosos ordenados de sílice son afines a la molécula de DEPETES, funcionalizándose superficialmente en mayor grado al esperado.

**Tabla 5.5.** Comparación de los porcentajes en peso calculados teóricamente y los obtenidos por Espectroscopia de Fluorescencia de Rayos X.

Muestra	Funcionalización de los materiales	% Teórico (peso)		% Experimental (peso)	
		SiO <sub>2</sub>	DEPETES	SiO <sub>2</sub>	DEPETES
DP5SBA15iso	SBA15 con 5 % DEPETES	90.7	9.3	82	18
DP10SBA15iso	SBA15 con 10 % DEPETES	82.1	17.9	73.4	26.6
DP15SBA15iso	SBA15 con 15 % DEPETES	74.3	25.7	73.2	26.8
DPM5SBA15iso	SBA15 con 2.5 % DEPETES	90.8	4.7	85.9	9.3
DPM10SBA15iso	SBA15 con 5 % DEPETES	82.4	9.0	79.7	14.6
DPM15SBA15iso	SBA15 con 7.5 % DEPETES	74.7	12.9	73.8	19.0

### 5.2.4. Caracterización por Análisis Químico Elemental

Los materiales funcionalizados y bifuncionalizados con DAMO son los que se analizan por medio de esta técnica debido al contenido de nitrógeno que se encuentra en los mesoporos. Asumiéndose que todos los nitrógenos procedentes de los grupos amino anclados provienen de la molécula de DAMO. En la tabla 5.6 se muestran los porcentajes teóricos y experimentales.

**Tabla 5.6.** Comparación de los porcentajes en peso calculados teóricamente y los obtenidos por Análisis Químico Elemental.

Muestra	Funcionalización de los materiales	% Teórico (peso)		% Experimental (peso)	
		SiO <sub>2</sub>	DAMO	SiO <sub>2</sub>	DAMO
DM5SBA15iso	SBA15 con 5 % DAMO	91.0	9.0	88.7	11.3
DM10SBA15iso	SBA15 con 10 % DAMO	82.8	17.2	90.9	9.1
DPM5SBA15iso	SBA15 con 2.5 % DAMO	90.8	4.5	85.9	4.8
DPM10SBA15iso	SBA15 con 5 % DAMO	82.4	8.6	79.7	5.7
DPM15SBA15iso	SBA15 con 7.5 % DAMO	74.7	12.4	73.8	7.2

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

A simple vista resalta que el material funcionalizado al 5 % tiene un mayor porcentaje experimental de DAMO que el funcionalizado al 10 %. El valor experimental de DM5SBA15iso indica que se ha funcionalizado en un 6.3% mientras que el de DM10SBA15iso sólo en un 5.2 %. En cuanto a los bifuncionalizados, el DAMO se enlaza en menor % al esperado teóricamente, caso contrario al DEPETES. Probablemente la superficie reactiva de los mesoporosos tipo SBA15, los grupos silanoles, no interaccionan de la misma forma con el DAMO como lo hace con el DEPETES, debido a interacciones intermoleculares presentes. Los grupos funcionales de cada una de estas moléculas es muy distinto entre sí, uno tiene propiedades básicas y el otro ácidas, o bien uno actúa como donador y el otro como atractor de electrones. La matriz silícea sin funcionalizante tiene un PI cercano a pH 2 quizá por eso interacciona de mejor forma con el DEPETES que es ácido.

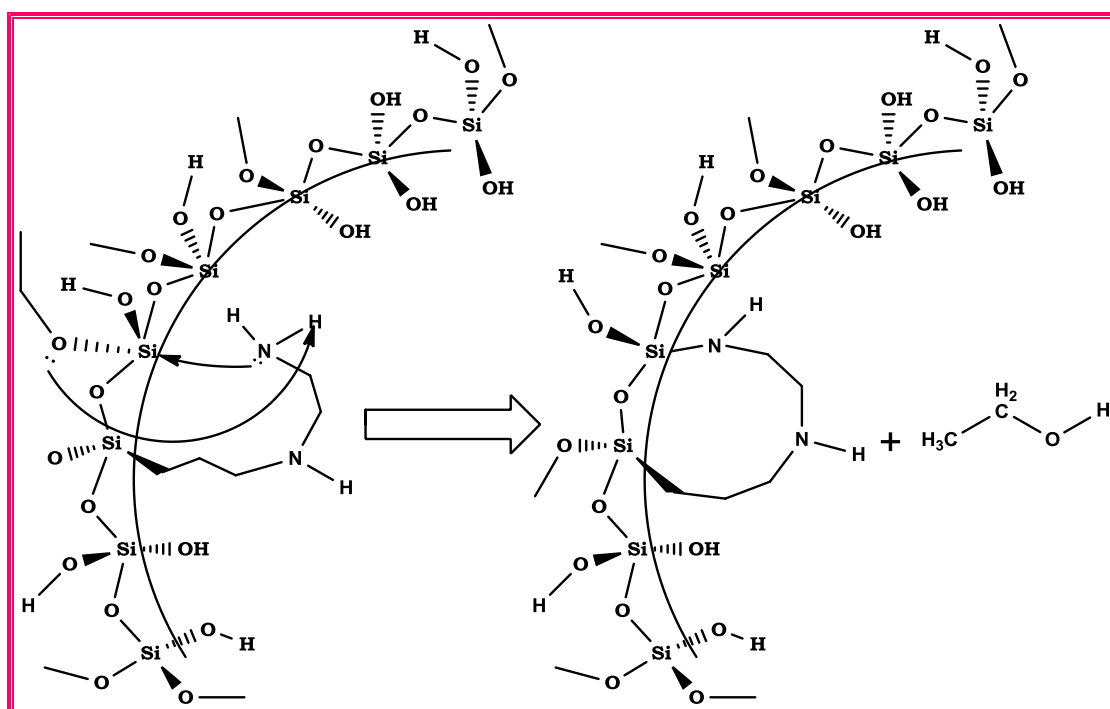
El % en peso experimental del DPM5SBA15iso, es el único valor que se obtuvo cercano al % teórico (2.6 % de DAMO), debido a que es el de menor grado de funcionalización. En cuanto al DPM10SBA15iso y al DPM15SBA15iso el grado de funcionalización con DAMO fue 3.3 y 4.4 % respectivamente.

El DM5SBA15iso fue el que se funcionalizó en mayor porcentaje con tan solo un 6.3 %. Razón por la que no se obtuvo el material DM15SBA15iso con una funcionalización del 15 % de DAMO teórica, al sintetizarlo se obtenía un gel y no un sólido mesoporoso. Al analizarlo por DRX no se observó la estructura ordenada como se esperaba. Probablemente la interacción entre el DAMO y las moléculas agua es muy grande, lo que hace que las retenga fuertemente, causando que el diámetro promedio de los mesoporos cambie su tamaño, forzando a la estructura, y llevándola a perder su orden. La molécula de DAMO tiene dos aminas, una primaria y una secundaria las cuales actúan como quelato, atrapando metales u otras moléculas, en este caso, atrae a las moléculas de agua con una energía considerable mediante interacciones de Van Der Waals, obteniéndose estos materiales en forma de geles, y dificultándose la fase de filtrado. Al ir aumentando el grado de funcionalización, la estructura pierde orden a largo alcance. En el espectro de DRX del DM5SBA15iso con grado de funcionalización de 6.3 %, no aparecen las reflexiones (11) y (20) propias de una simetría hexagonal plana ( $P6mm$ ), por lo que es razonable suponer que a mayor grado de funcionalización la estructura pierde cristalinidad. Se esperaba que el DM10SBA15iso se funcionalizara al 10 %, lo cual no se logró, quizá in situ durante la reacción, la matriz sólo aceptó la mitad del funcionalizante para mantener una estructura ordenada. Otra hipótesis del porque la estructura pudo haber perdido cristalinidad, sería a través de la formación de anillos de 10 miembros. Propiciando un enlace silazano en la superficie de las matrices, lo que haría que los poros aumentaran de tamaño alterando su diámetro, estos anillos

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

podrían atrapar en su interior moléculas de disolvente, reteniéndolas con mayor fuerza que en el caso de que solo actuaran como pinzas (asemejándose a las porfirinas), figura 5.10. Pudiendo ser esta la razón por la que se volvía casi imposible filtrar estos materiales, solamente mediante el calentamiento es que se eliminaba el disolvente, pero al mismo tiempo se corría el riesgo de que se perdiera la funcionalización o bien la cristalinidad de la estructura. Ésto no está comprobado.

**Figura 5.10.** Probable hipótesis de la pérdida de cristalinidad de la matriz mesoporosa funcionalizada con un porcentaje mayor a 7 % de DAMO



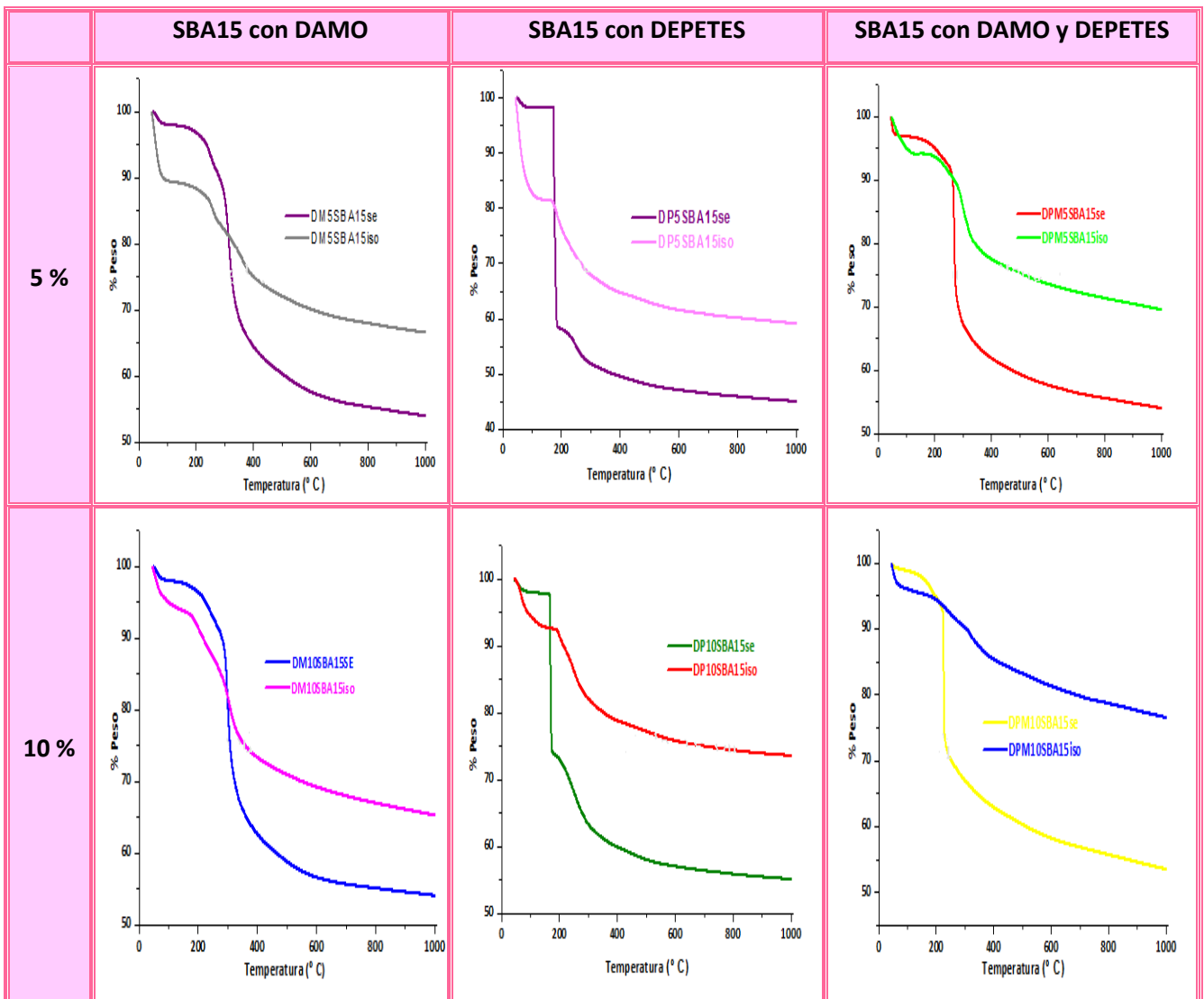
En la figura 5.10 la amina primaria del DAMO tiene un par de electrones disponibles para actuar como nucleófilo y atacar al silicio que es un electrófilo deficiente en densidad electrónica, debido a que la densidad electrónica está siendo atraída hacia los oxígenos unidos a este. Suponiendo que por alguna razón no todos los grupos  $-\text{Si}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$  se transformaron a  $-\text{Si}-\text{OH}$ , quedando expuestos en la superficie y cercanos a la molécula de DAMO, podría ocurrir que la amina primaria atacara al Si del  $-\text{Si}-\text{OR}_3$  que no reaccionó para formar siloxanos, actuando el etóxido como un buen grupo saliente dando etanol como resultado. Además considerando que la forma habitual para proteger alcoholes o aminas es haciendo reaccionar estos grupos funcionales con un clorotrialkilsilano en presencia de una base para facilitar el ataque nucleofílico sobre el silicio, entonces no sería tan aventurado pensar que intramolecularmente la amina en medio básico ataque al silicio que tiene buen grupo saliente.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

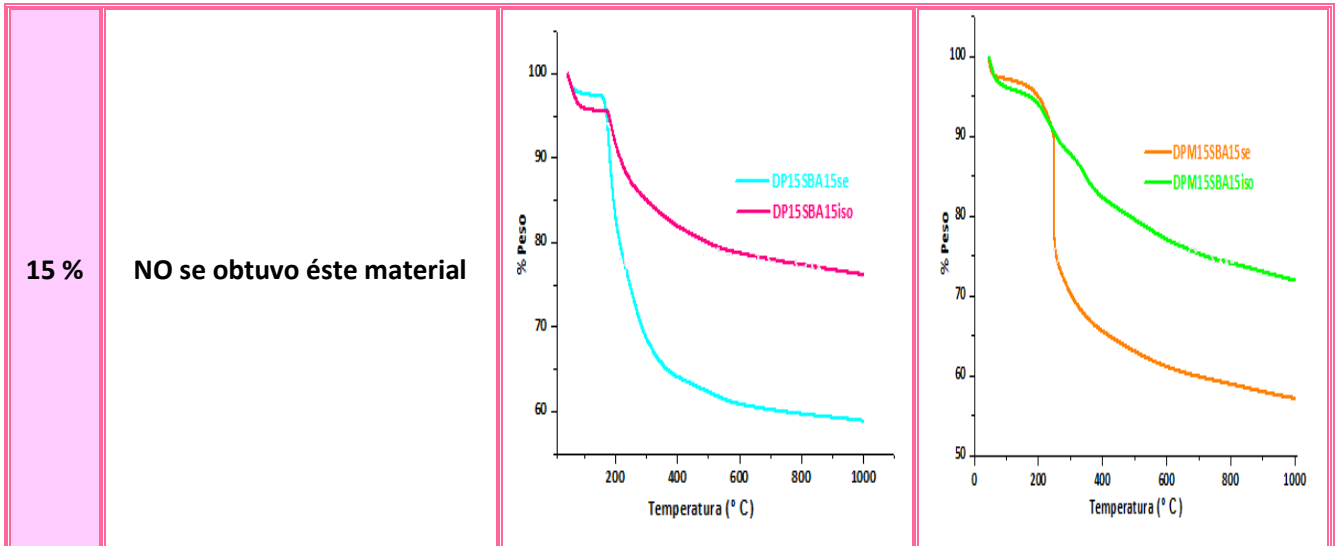
### 5.2.5. Caracterización por Análisis Térmico Diferencial y Termogravimétrico (ATD/ATG)

La caracterización mediante ATG/ATD informa de la cantidad de materia orgánica alojada en las matrices síliceas mesoporosas. La figura 5.11, muestra las curvas de termogravimetría de polvos obtenidas antes y después de la eliminación del surfactante del interior de los poros para los materiales modificados orgánicamente. Se observa una primera pérdida de masa hasta 100 °C correspondiente al agua. La eliminación del surfactante se produce a 160 °C, aunque debido a las interacciones con el funcionalizante este punto se desplaza hasta 250 °C, dependiendo de la molécula que se esté utilizando. Después de la eliminación del surfactante, se observa en algunos materiales funcionalizados la pérdida de materia orgánica debida a subproductos que se formaron a partir de las moléculas, en el caso de la modificación con DEPETES la pérdida no es total, quedando un residuo de fósforo,  $P_2O_5$ . Sin embargo se ve claramente una disminución en el porcentaje de materia orgánica inicial.

**Figura 5.11.** Materiales mesoporosos funcionalizados y bifuncionalizados con un 5, 10 y 15 % molar.



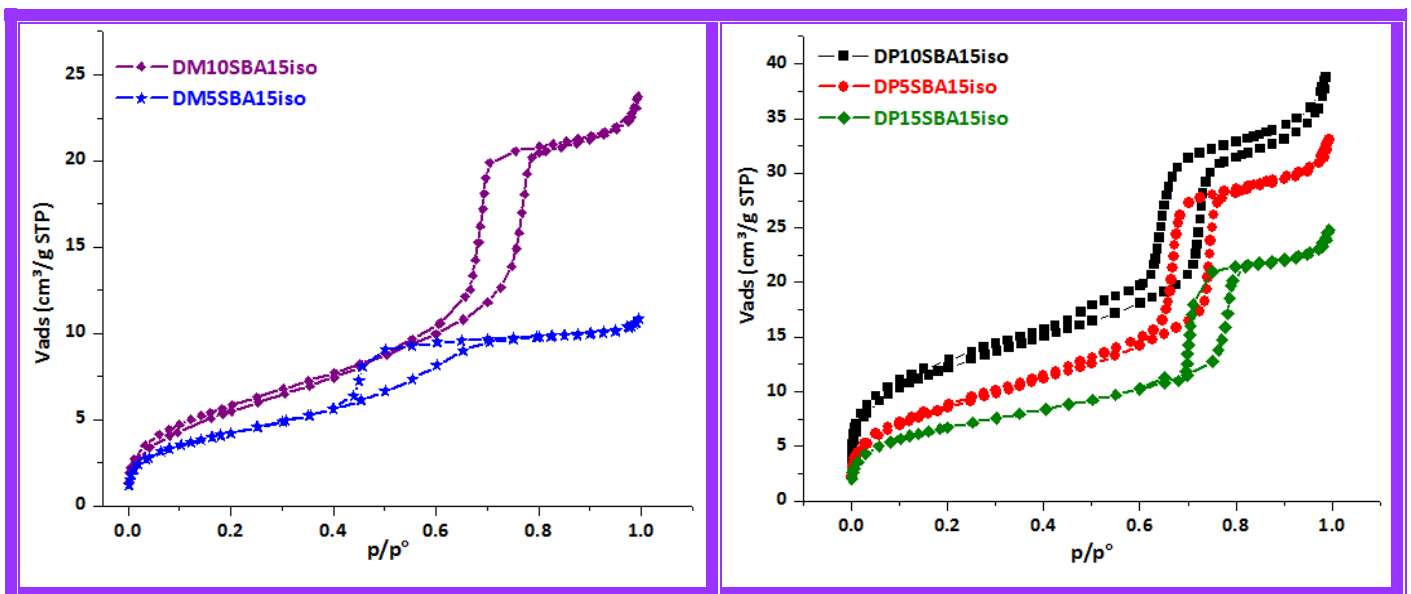
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS



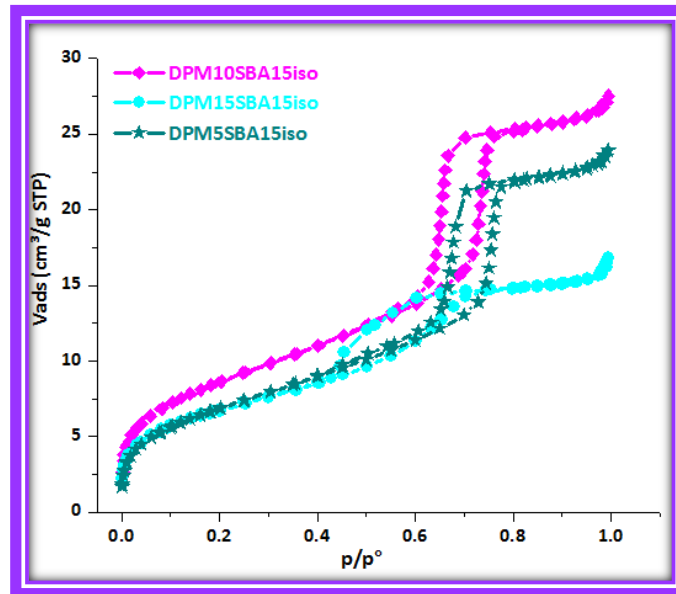
### 5.2.6. Caracterización por Porosimetría de Adsorción de N<sub>2</sub>.

Las isothermas de adsorción de los materiales sintetizados son características de los mesoporosos tipo SBA-15, con ciclos de histéresis de tipo IV y con ramas de adsorción y desorción que indican la existencia de mesoporos de geometría cilíndrica con distribuciones de tamaño de poro muy estrechas. En la figura 5.12 se muestran las isothermas de adsorción y desorción de las matrices funcionalizadas y bifuncionalizadas extraídas con isooctano-etanol.

**Figura 5.12.** Isotherma de adsorción de los materiales funcionalizados y bifuncionalizados extraídos con isooctano/etanol.



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS



La superficie específica ( $S_{\text{BET}}$ ) y el volumen de mesoporo,  $V_p$ , experimentan un aumento notable en los materiales con 10 % de funcionalización y bifuncionalización teórica, tabla 5.7. Estos resultados sugieren una incorporación efectiva de los grupos fosfatos y amino a las paredes de los mesoporos a este porcentaje en específico. En cuanto a los materiales funcionalizados a un 5 y 15 % se ve una tendencia de disminución en los valores de la superficie específica ( $S_{\text{BET}}$ ) y del volumen de mesoporo,  $V_p$ , al aumentar la funcionalización como se esperaba.

**Tabla 5.7.** Valores texturales de los SBA-15 funcionalizados y bifuncionalizados extraídos.

Muestra	$S_{\text{BET}}$ (m <sup>2</sup> /g)	$V_p$ (cm <sup>3</sup> /g)	$V_{\mu p}$ (cm <sup>3</sup> /g)	$D_{\text{BJH}}$ (nm)	$a_0$ (nm)	$t_{\text{wall}}$ (nm)
DM5SBA15iso	351	0.358	0	4.9	10.85	5.95
DM10SBA15iso	490	0.772	0	9.2	12.44	3.24
DP5SBA15iso	706	1.146	0	6.5	11.59	5.09
DP10SBA15iso	984	1.344	0.033	6.0	12.14	6.14
DP15SBA15iso	553	0.798	0.002	9.2	11.86	2.66
DPM5SBA15iso	573	0.798	0	8.8	12.75	3.95
DPM10SBA15iso	710	0.920	0	8.0	11.86	3.86
DPM15SBA15iso	558	0.542	0.002	6.3	10.85	4.55

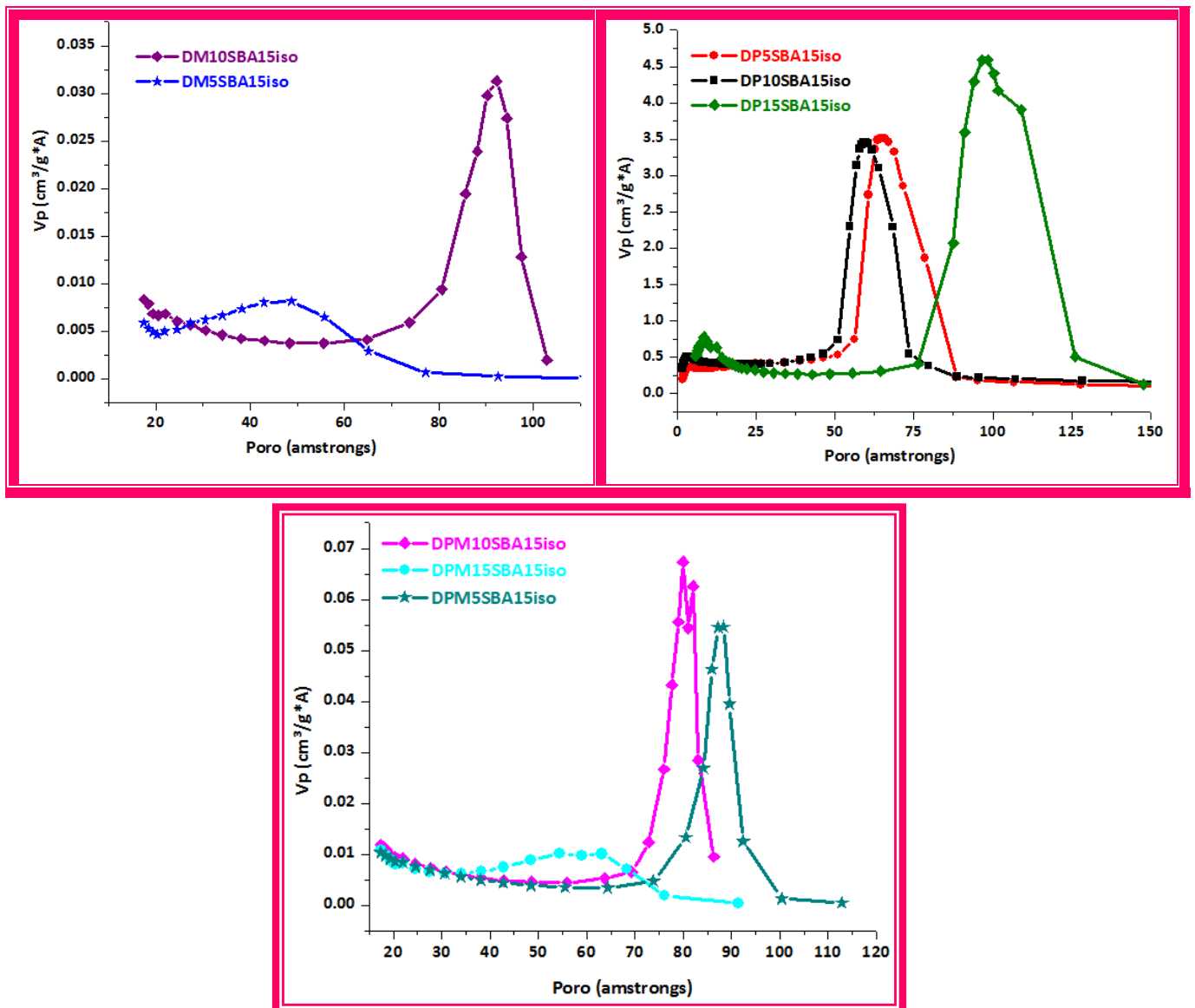
Los diámetros promedio de los mesoporos,  $D_{\text{BJH}}$ , se calculan a partir del máximo de la distribución de diámetro de poro (método BJH<sup>91</sup>) aplicado a la rama de adsorción de las isoterma (figuras 5.13). En general, no se logra ver la tendencia de disminución del tamaño de poro tras el aumento en la

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

funcionalización, como debería ocurrir al reaccionar los grupos fosfato de los DEPETES y los grupos amino del DAMO con la superficie del material mesoporoso. Sin embargo en los bifuncionalizados sí se logra ver esta tendencia de disminución del diámetro de poro.

Es posible, además, calcular el espesor de las paredes silíceas entre mesoporos adyacentes ( $t_{wall}$ ) restando el valor del diámetro de poro ( $D_{BJH}$ ) a cada valor del parámetro de red,  $a_0$ , obtenido por DRX. Normalmente, al aumentar el grado de funcionalización el  $t_{wall}$  aumenta debido a la disminución de  $D_{BJH}$ . Aunque se ha visto que no existe una regularidad en el tamaño de los diámetros de poro de los materiales sintetizados, por lo que, tampoco se espera observar esta tendencia en el parámetro ( $t_{wall}$ ). Sin embargo, en algunos casos se ve el comportamiento esperado.

**Figura 5.13.** Distribución del tamaño de poro de los materiales funcionalizados y bifuncionalizados extraídos con isooctano/etanol.





## RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

---

Al analizar los datos del análisis químico elemental y FRX, se observa que en el caso de los materiales funcionalizados con DAMO, el material DM5SBA15iso resulta tener mayor grado de funcionalización que el DM10SBA15iso, por lo que, los valores texturales obtenidos se ajustan a la tendencia esperada según el grado de funcionalización. Sin embargo, en el caso de los materiales DP10SBA15iso y DP15SBA15iso funcionalizados con 10 y 15 % de DEPETES vemos que el grado de funcionalización para ambos casi es el mismo, pero existe una gran diferencia en las propiedades texturales de estos dos materiales, probablemente cuando se sintetizaron éstos se variaron las condiciones en los tratamientos hidrotermales ó en el tiempo de síntesis, y por pequeñas que fueran estas alteraciones cambiaron de manera drástica las propiedades texturales de ambos.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS (CARGA Y LIBERACIÓN DE CEFALEXINA)

### 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN (CARGA Y LIBERACIÓN DE CEFALEXINA)

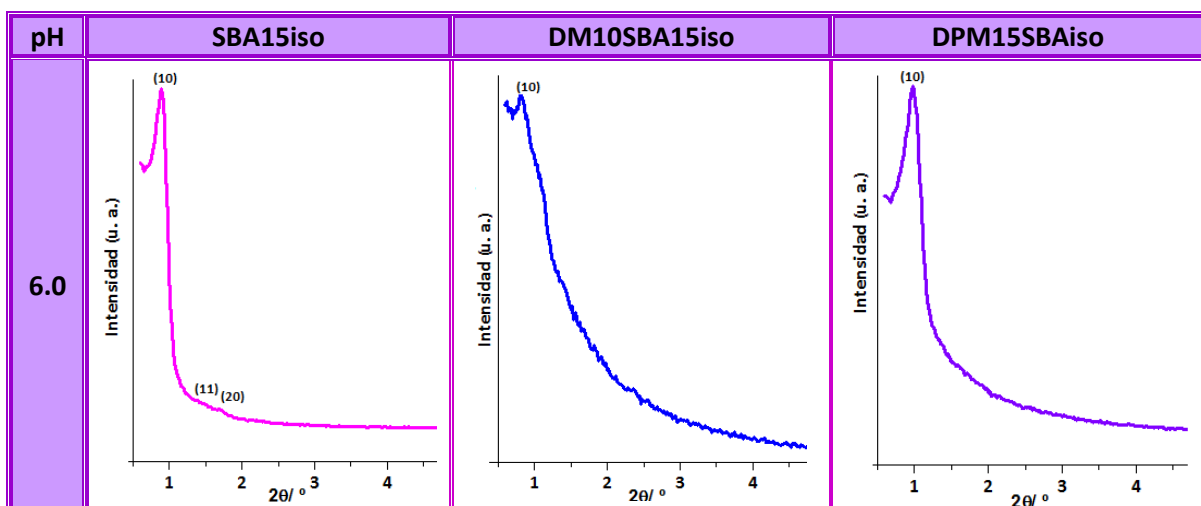
En este capítulo se discuten los resultados obtenidos de la carga y liberación de *cefalexina* desde diferentes matrices mesoporosas. Se compararán tres de los materiales cuya síntesis y caracterización se han descrito en secciones anteriores. La carga de éstos se realizará a distintos valores de pH. Finalmente se establecerán las cinéticas de liberación de *cefalexina* desde cada matriz mesoporosa.

#### 6.1. ENSAYOS DE CARGA CEFALEXINA

Los materiales mesoporosos objeto del presente estudio de carga y liberación de *cefalexina* se seleccionaron teniendo en cuenta sus parámetros texturales así como el grado de funcionalización alcanzado. Los elegidos fueron: **SBA15iso**, **DM10SBA15iso** y **DPM15SBAiso**. Asimismo, se llevó a cabo la caracterización de los materiales tras la carga de fármaco. Los ensayos de carga de *cefalexina* se realizaron a 3 valores de pH diferentes: 4, 6 y 9.3.

Los difractogramas de RX tras la adsorción de *cefalexina* a estos pHs indican que la estructura mesoporosa de los materiales SBA15iso y DPM15SBA15iso se mantiene tras la etapa de carga, aunque cabe mencionar que para los materiales SBA15iso la estructura está mejor definida que en el caso del DPM15SBA15 que muestra una pequeña pérdida de cristalinidad. En cuanto a los materiales DM10SBA15iso tras la carga a cualquier pH se ve una notable pérdida de orden estructural a largo alcance, figura 6.1.

**Figura 6.1.** Diagramas de DRX de los materiales mesoporosos **SBA15<sub>iso</sub>**, **DPM15SBA15<sub>iso</sub>** y **DM10SBA15<sub>iso</sub>** tras el proceso de carga con *cefalexina* a pH de 6.0.



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS (CARGA Y LIBERACIÓN DE CEFALEXINA)

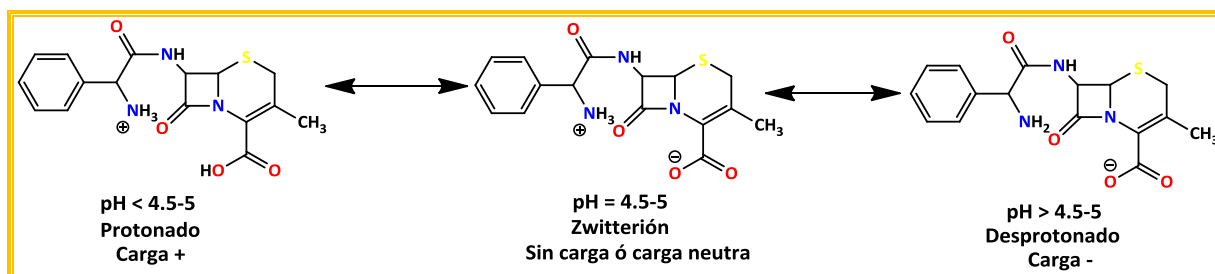
Las cantidades de *cefalexina* adsorbidas, determinadas mediante análisis químico elemental, se recogen en la Tabla 6.1.

**Tabla 6.1.** Carga de *cefalexina* (mg cefalexina/g material) en los distintos materiales mesoporosos en función del pH.

Material	pH = 4	pH = 6	pH = 9.3
SBA15iso	82.4	112.8	26.0
DM10SBA15iso	73.8	48.0	78.0
DPM15SBA15iso	104.0	104.0	34.7

Para analizar las diferencias en miligramos adsorbidos de *cefalexina* por gramo de material en cada una de las 9 matrices, primero tendría que estudiar cuál es el comportamiento de la *cefalexina* y de los mesoporosos ordenados en condiciones ácido base a los distintos pHs. La *cefalexina* tiene un punto isoeléctrico (PI) de 4.5-5, en la figura 6.2 se observan las interacciones a distintos valores de pH (por debajo, en, y por encima del valor correspondiente al PI). En cuanto a las matrices mesoporosas el PI de cada una de éstas se determinó mediante la técnica de Potencial Z.

**Figura 6.2.** Interacción de los grupos funcionales de la *cefalexina* a los distintos valores de pH.



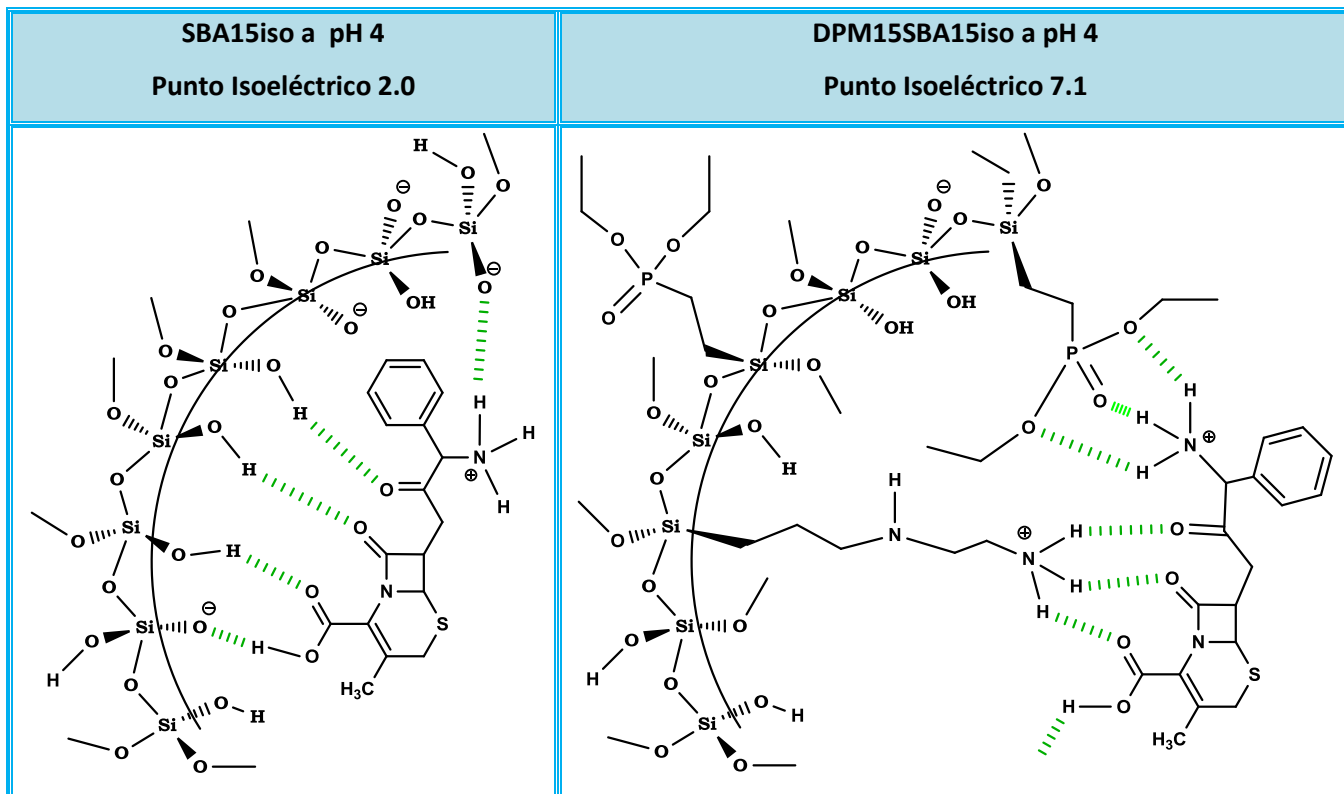
En la tabla 6.1 se compilan las cantidades de *cefalexina* adsorbidas. Tanto en el caso del **SBA15iso** como en el **DPM15SBA15iso** a pH 9.3 son inferiores a  $35 \text{ mg}_{\text{cef}}/\text{g}_{\text{mat}}$ . Este hecho puede deberse a que a pH básico, los grupos silanoles (presentes en todos los materiales) y los grupos fosfato (presentes sólo en el material bifuncionalizado), que cubren las paredes de los mesoporos, se encuentran desprotonados, por lo que están con una densidad de carga negativa. Por otra parte, el grupo amino de la *cefalexina* aparece como  $\text{-NH}_2$ . Así, el grupo ácido carboxílico de la cefalexina está desprotonado ( $\text{-COO}^-$ ), originando una densidad de carga neta negativa. Por esta razón, las repulsiones electrostáticas entre las superficies de los materiales y la *cefalexina*, ambas negativas, impiden que se adsorba una mayor cantidad de ésta, excepto en el caso del **DM10SBA15iso**. Esta repulsión electrostática es mayor en el material sin funcionalización (**SBA15iso**).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS (CARGA Y LIBERACIÓN DE CEFALEXINA)

A pH 4 la adsorción de *cefalexina* en el material **SBA15iso** es buena, aunque la mayor cantidad en  $\text{mg}_{\text{cef}}/\text{g}_{\text{mat}}$  tiene lugar en el mesoporoso **DPM15SBA15iso** con 104.0, esto debido al contenido de grupos fosfato y amino en su superficie, el **DM10SBA15iso** con  $73.8 \text{ mg}_{\text{cef}}/\text{g}_{\text{mat}}$ , no se queda atrás. En general se observa que tanto los funcionalizados, como el SBA15, se adaptan mejor a las condiciones ácidas. A pH 4 las cantidades adsorbidas de *cefalexina* son más homogéneas, por lo que trabajar a pHs ácidos es más conveniente, caso contrario a los pHs básicos.

A pH 6, el que más carga es el SBA15, aunque al no estar funcionalizado se esperaba que hubiera menos interacciones de tipo puentes de hidrógeno con la *cefalexina* que aquellos que están funcionalizados, probablemente al tener un grupo funcional más pequeño (Si-OH) pero reactivo, el impedimento estérico que pueda haber entre el grupo funcional y la molécula de *cefalexina* sea menor, ésto no resulta extraño porque no hay una unión de tipo covalente. De forma general el DPM15SBA15iso y el SBA15iso dieron los que mejores resultados de adsorción del fármaco y conservaron su estructura hexagonal 2D tras la carga, una interpretación de lo que ocurre se muestra en la figura 6.3. Tanto a pH 4 como a pH 6 los resultados son bastante buenos, promoviéndose el mayor número de interacciones de Van Der Waals, en especial de tipo puentes de hidrógeno entre la *cefalexina* y la superficie de estas matrices mesoporosas.

**Figura 6.3.** Interacciones tipo puentes de hidrógeno entre las matrices mesoporosas y la *cefalexina*.

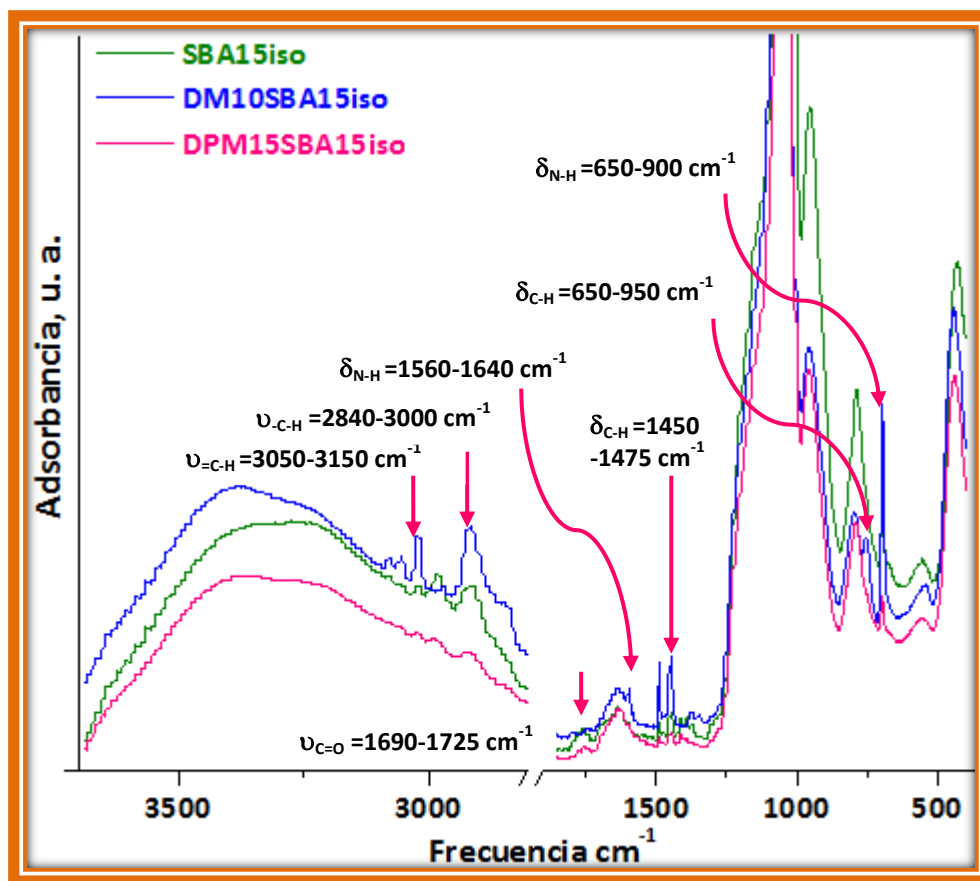


## RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS (CARGA Y LIBERACIÓN DE CEFALEXINA)

En la figura anterior se observa que al tener el SBA15iso un PI de 2.0, algunos grupos silanoles estarán desprotonados teniendo una carga parcial negativa, la cual irá incrementando conforme se aumente el pH hasta el punto en el que todos los grupos silanoles estén desprotonados generando una carga total negativa, es por eso que a pH 9.3 este compuesto casi no adsorbe *cefalexina* en su superficie. Por otra parte el DPM15SBA15 funcionalizado principalmente con DEPETES y en menor cantidad con DAMO, estará en promedio cargado positivamente, a pesar de eso, algunos silanoles y DEPETES estarán desprotonados generando una carga negativa parcial a su alrededor, la cual aumentará conforme el pH vaya siendo más básico, sin embargo, al estar aún por debajo de su punto isoeléctrico de 7.1 es evidente que el número de cargas positivas es mayor, así, el grupo amino estará protonado originando una densidad positiva, que al disminuir el pH, aumentará. En el caso particular de la matriz mesoporosa DM10SBA15iso, los DRX indican que se produce una notable pérdida de orden mesoestructural al cargar con el fármaco, independientemente de las interacciones y del pH.

Analizando los espectros de IR tras la carga del fármaco podemos corroborar la presencia de *cefalexina* debido a la aparición de nuevas bandas. En la figura 6.4 se muestran los cambios ocurridos en los espectros de IR a pH 6.

**Figura 6.5.** Espectros de IRTF de los materiales mesoporosos **SBA15<sub>iso</sub>**, **DPM15SBA15<sub>iso</sub>** y **DM10SBA15<sub>iso</sub>** tras el proceso de carga con *cefalexina* a pH de 6.0.



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS (CARGA Y LIBERACIÓN DE CEFALEXINA)

En la figura 6.4 se observan las diferencias claras con respecto a los espectros IR mostrados en el capítulo 5. Las bandas características de las matrices mesoporosas se conservan, pero a la vez surgen nuevas debidas al fármaco, es importante resaltar que a pH 6 se obtuvieron los mejores resultados de carga, siendo la matriz mesoporosa SBA15iso la que mayor cantidad de *cefalexina* cargó, sin embargo, el DPM15SBA15iso adsorbió un porcentaje similar, lo cual se ve reflejado en el espectro de IR. La banda que aparece entre 1690 y 1725  $\text{cm}^{-1}$  es característica del grupo carbonilo, corroborando la presencia de *cefalexina* adsorbida en la superficie de los mesoporosos, al observar cuidadosamente esta banda para cada uno de los materiales, se ve que en el caso del SBA15iso esta aparece con mayor intensidad (color verde), posteriormente la del DPM15SBA15iso (color rosa) y finalmente para el DM10SBA15iso esta banda no se observa, lo cual concuerda con los resultados arrojados por la técnica de análisis químico elemental.

En cuanto a las otras bandas se observa la aparición de una por encima de 3000  $\text{cm}^{-1}$ , debida a la presencia de vibraciones de estiramiento del H unido al C aromático, proveniente únicamente de la presencia de *cefalexina* en las matrices. En el caso del DM10SBA15iso se ven algunas bandas con mayor intensidad que en las otras matrices, ya que éste contiene átomos de N en la molécula de DAMO, al igual que la *cefalexina* en su estructura, por lo que al interactuar ambos, las señales se hacen más intensas, alcanzándose a ver tanto la banda de torsión en el plano de N-H entre 1560 y 1640  $\text{cm}^{-1}$  como la banda de torsión fuera del plano entre 650 y 900  $\text{cm}^{-1}$ , siendo esta última la más intensa, ya sea tanto en el caso de las aminas como en el caso de las amidas.

A modo de ejemplo, en la Figura 6.5, se muestran los resultados de adsorción de  $\text{N}_2$  de las matrices mesoporosas cargadas a pH= 4, 6 y 9.3. Se ve una concordancia entre las isotermas y los datos obtenidos del análisis químico elemental. En la tabla 6.2. Se muestran las propiedades texturales de éstas.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS (CARGA Y LIBERACIÓN DE CEFALEXINA)

Figura 6.6. Isotermas de adsorción de N<sub>2</sub> de los materiales tras la adsorción de *cefalexina* a los distintos pHs.

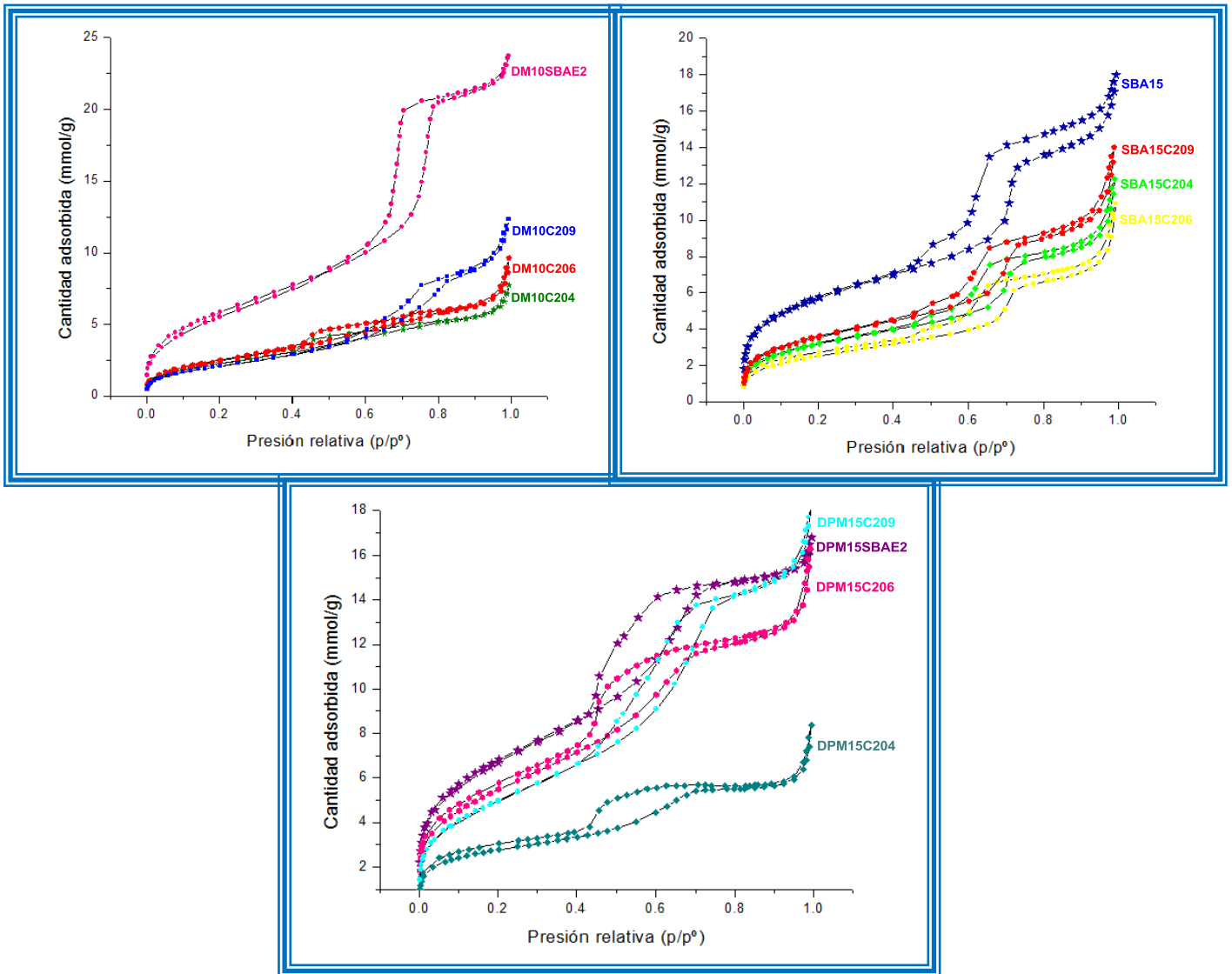


Tabla 6.2. Propiedades texturales de los materiales cargados.

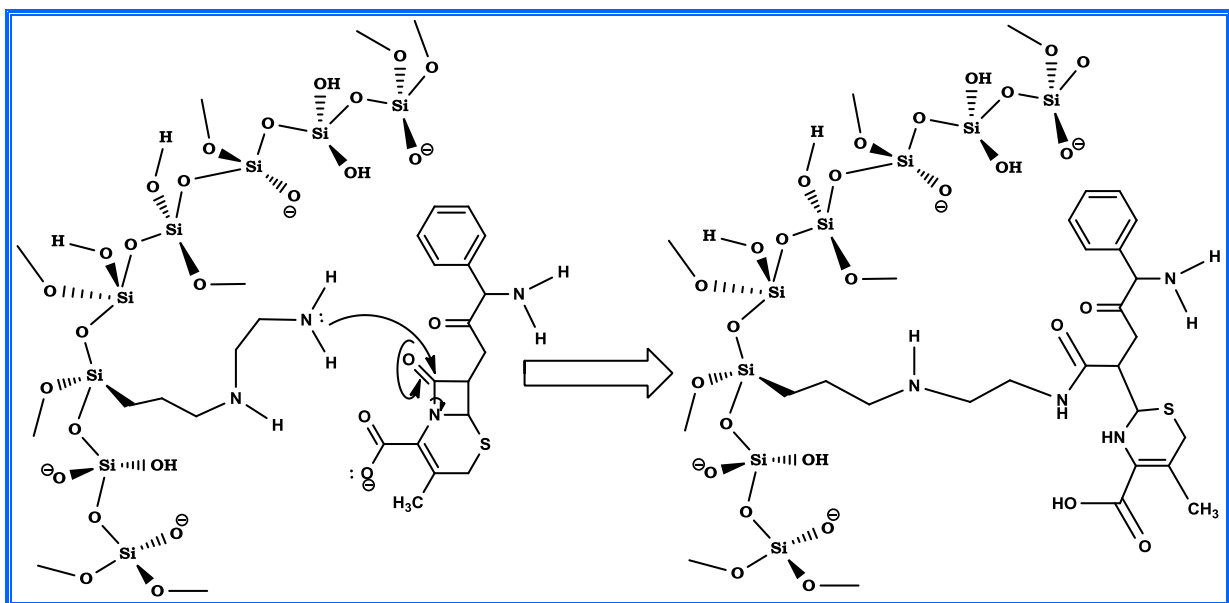
Muestra	S <sub>BET</sub> (m <sup>2</sup> /g)	V <sub>p</sub> (cm <sup>3</sup> /g)	V <sub>mp</sub> (cm <sup>3</sup> /g)	D <sub>BJH</sub> (nm)
DM10SBA15iso	490	0.772	0	9.2
DM10C204	190	0.217	0	4.9
DM10C206	204	0.334	0	3.4
DM10C209	178	0.356	0	10.4
SBA15iso	466	0.546	0.009	7.4
SBA15C204	261	0.344	0	7.1
SBA15C206	205	0.378	0	5.5
SBA15C209	293	0.400	0	7.0
DPM15SBA15iso	558	0.542	0.002	6.3
DPM15C204	219	0.291	0.022	3.9
DPM15C206	448	0.565	0	4.3
DPM15C209	415	0.559	0	7.2

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS (CARGA Y LIBERACIÓN DE CEFALEXINA)

Los datos de  $S_{BET}$  para el caso de DM10SBA15iso a pH 4 muestran que a perdido más de la mitad de su superficie reactiva, sin embargo, a pH 9 la pérdida es aún mayor, corroborando lo mostrado en el análisis químico elemental, en donde este material, adsorbió la mayor cantidad de *cefalexina*. De igual forma este comportamiento se refleja en el caso de los otros materiales a los distintos pHs, observándose que aquellos que han cargado la mayor cantidad de *cefalexina*, son los que tienen una pérdida de superficie reactiva mayor.

Al analizar el diámetro de poro de cada una de las matrices, se ve que antes de cargarlas con el fármaco tienen un diámetro de poro definido, el cual debería verse disminuido tras las adsorción de la molécula, sin embargo, en alguno de los casos se observa que el diámetro de poro ha aumentado, tal es el caso de los materiales a pH 9.3, excepto en el material SBA15iso, en donde la tendencia esperada prevalece, siendo el único que mantiene la estructura a largo alcance aún después de la carga a los distintos pHs. Los espectros de DRX del DPM15SBA15iso y del DM10SBA15iso a pH 9.3 (que no aparecen) muestran que la estructura ha tenido una pérdida de orden estructural notable, lo que se ve reflejado en el diámetro de poro, el cual aumenta después de la adsorción de *cefalexina*, en la figura 6.7 se propone una posible interacción entre el fármaco y el DAMO superficial.

**Figura 6.7.** Ataque nucleofílico de la amina del DAMO al enlace lábil de lactama de la cefalexina.



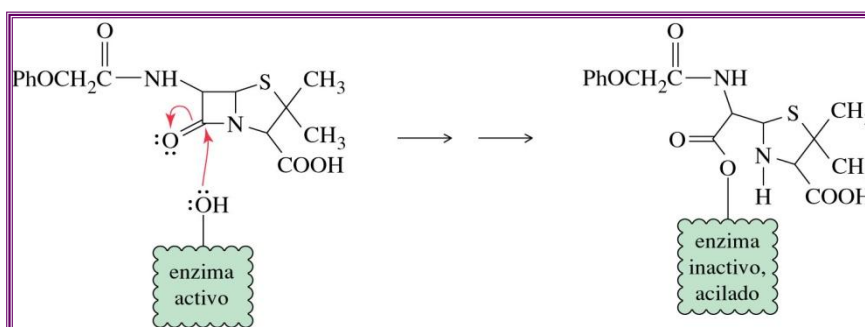
El anillo de  $\beta$ -lactama que se encuentra en tres clases importantes de antibióticos: las penicilinas, las cefalosporinas y los carbapenemos son susceptibles al ataque nucleofílico por parte de cualquier nucleófilo en especial de aminas y alcoholes, que suelen abrir fácilmente el anillo de 4 miembros debido a que los enlaces se encuentran altamente tensionados, por lo que, se formaría un nuevo



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS (CARGA Y LIBERACIÓN DE CEFALEXINA)

enlace covalente amida, si la amina del DAMO actuará como nucleófilo. En la figura 6.8, se muestra el ataque nucleofílico biológico por parte de la bacteria al antibiótico. Estos antibióticos aparentemente funcionan interfiriendo en las síntesis de las paredes celulares de las bacterias. Los antibióticos de  $\beta$ -lactámicos actúan acilando e inactivando una de las enzimas que se necesitan para construir la pared celular de la bacteria, por lo que la enzima acilada es inactiva dejando a la bacteria expuesta a cualquier ataque por parte del sistema inmunológico. De esta forma se observa lo susceptibles que son estos fármacos a este tipo de ataques, por lo que no sería raro que se rompiera el enlace lactámico de la *cefalexina* al estar expuestas al grupo amino.

**Figura 6.8.** Esquema de acción de los antibióticos de  $\beta$ -lactámicos en presencia de bacterias.

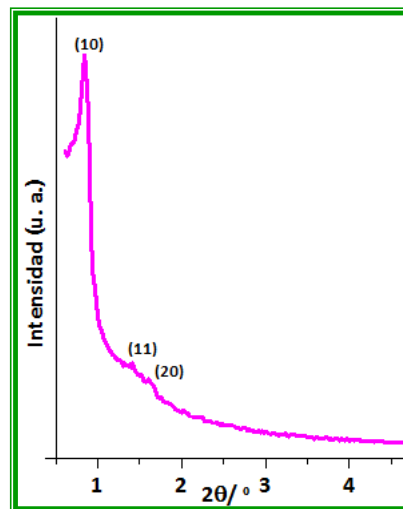


El segundo ensayo de carga, no funcionó debido a la concentración mM de *cefalexina* que se utilizó inicialmente, al obtener los espectros de DRX, las estructuras habían perdido toda su cristalinidad, lo cual implica que al aumentar la cantidad de *cefalexina* en el medio, los poros incrementan su tamaño y la estructura se desordena. El tiempo de carga no fue óptimo, probablemente se estuvo adsorbiendo y liberando el fármaco en el mismo medio, lo que llevó a la pérdida estructural de la mayoría de los compuestos sin importar la concentración, ni el pH al que se cargó.

En el caso del tercer ensayo los resultados son bastante interesantes, principalmente para la matriz funcionalizada con DAMO (DM10SBA15iso), al realizarles una extracción adicional con etanol acidificado, sus propiedades estructurales cambian notablemente, aunque éstas no fueron caracterizadas antes de la carga. Después de la adsorción de *cefalexina* aún con una concentración de 35 mM, se esperaba que la matriz perdiera su orden a largo alcance como en los dos primeros ensayos, pero esto no fue así, manteniéndose la estructura bien definida como se observa en la figura 6.9. Por IR se observan las mismas bandas mostradas anteriormente para los materiales cargados en el primer ensayo, a pesar de eso, hay un diferencia importante con respecto a este mismo material, aparece la banda del carbonilo que no se veía antes, lo cual indica que ha cargado una cantidad importante de *cefalexina*, corroborándose mediante el análisis químico elemental, donde aumento considerable la cantidad  $123.2 \text{ mg}_{\text{cef}} / \text{g}_{\text{mat}}$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS (CARGA Y LIBERACIÓN DE CEFALEXINA)

**Figura 6.9.** Diagrama de DRX del material mesoporoso **DM10SBA15<sub>iso</sub>** tras el proceso de carga con 35 mM de *cefalexina* a pH de 9.0.



En cuanto a los demás materiales mesoporosos se observa que conservan una estructura definida en algunos casos manteniendo las tres reflexiones características de los materiales mesoporosos tipo SBA15 (10, 11 y 20). Además se observa mediante el análisis químico elemental un incremento en los mg de *cefalexina* adsorbidos en la superficie por g de material. En este ensayo se encontró que la cantidad apta en mg de material a cargar con 10 mL de solución está entre **170 y 185 mg**. Es importante mencionar que el mayor cambio se observó en las matrices funcionalizadas con DAMO.

### 6.2. ENSAYOS DE LIBERACIÓN DE CEFALEXINA

El primer ensayo de liberación en medio estático, no produjo ningún resultado, debido a que los materiales mesoporosos liberaban *cefalexina* durante un determinado periodo de tiempo, observándose un incremento en la absorbancia cuando el medio se analizaba por UV-visible, posteriormente al haber cierta cantidad de fármaco suspendida en el medio, las matrices volvían a cargar la *cefalexina*, por lo que al siguiente análisis la concentración ya había disminuido. Esto indica que la interacción entre las matrices y la *cefalexina* es buena.

En cuanto al ensayo en un medio semicontinuo, los resultados son buenos. Estos ensayos de liberación de *cefalexina* se realizaron tal y como se describe en la parte experimental.

Para determinar las cinéticas de liberación de *cefalexina* desde las distintas matrices mesoporosas, se asume que el mecanismo de liberación es debido a la difusión del fármaco a través de los canales mesoporosos, ya que la sílice es prácticamente insoluble en las condiciones fisiológicas de liberación

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS (CARGA Y LIBERACIÓN DE CEFALEXINA)

(pH 7.03). Así, la liberación de *cefalexina* al medio podría determinarse por la ecuación de Noyes-Whitney:

$$\frac{dC_t}{dt} = k\bar{S}(C_s - C_t) \quad (1)$$

donde  $C_t$  es la concentración de soluto a tiempo  $t$ ,  $S$  es el área de disolvente accesible por unidad de volumen,  $C_s$  es la solubilidad del fármaco en el equilibrio a la temperatura de ensayo y  $k$  es la constante de proporcionalidad. Se asume que durante el tiempo de liberación, una fracción de moléculas liberadas permanece retenida en la superficie del material. El flujo ( $J$ ) hacia el medio de liberación de las moléculas adsorbidas puede ser descrito por un mecanismo de difusión, mediante un modelo de Fick. En esta aproximación, se considera que el coeficiente de difusión ( $D$ ) es constante durante el ensayo, ya que la matriz permanece prácticamente insoluble y además  $C_t$  sólo depende del tiempo, es decir, la concentración del fármaco liberado es continua en el medio de liberación. Bajo estas consideraciones, las leyes de Fick se escriben como:

$$J = -D \frac{dC_t}{dx}$$
$$\frac{dC_t}{dt} = D \frac{d^2C_t}{dx^2} \quad (2)$$

Reorganizando las constantes e integrando las ecuaciones (1) y (2), la liberación de un fármaco puede representarse mediante el siguiente modelo de decrecimiento exponencial:

$$\frac{w_t}{w_0} = 1 - e^{-k_1 t} \quad (3)$$

donde  $w_t$  y  $w_0$ , son la masa de *cefalexina* a tiempo  $t$  y la masa inicial de *cefalexina* en la matriz mesoporosa, respectivamente. La constante cinética,  $k_1$ , es independiente de la concentración del fármaco y aporta información acerca de la accesibilidad del disolvente y del coeficiente de difusión a través de los canales de la estructura. Teniendo en cuenta todas estas aproximaciones y en las condiciones del experimento, la liberación de *cefalexina* depende de la cantidad de fármaco adsorbido en los mesoporos interiores, siendo más lenta a medida que la masa de *cefalexina* adsorbida disminuye. Este modelo ya ha sido aplicado con éxito para la explicación de la cinética de liberación de fármacos desde matrices porosas insolubles con estructura similar.<sup>71,72,73,74,75</sup> En la tabla 6.3 se observan las constantes  $W_0$  y  $W_t$  a 24 h, para los 35 mg de cada material mesoporoso cargado, utilizado para conformar pastillas de 6 mm de diámetro, las cuales se sometieron al ensayo de liberación.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS (CARGA Y LIBERACIÓN DE CEFALEXINA)

**Tabla 6.3.** Constantes  $W_0$  y  $W_t$  de las matrices SBA15iso, DM10SBA15iso y DPM15SBA15iso a los pHs 4, 6 y 9.3

$W_0$ (35 mg de material)	pH 4 ( $mg_{cef}$ )	pH 6 ( $mg_{cef}$ )	pH 9.3 ( $mg_{cef}$ )
SBA15iso	2.88	3.95	0.91
DM10SBA15iso	2.58	1.68	2.73
DPM15SBA15iso	3.64	3.64	1.22
$W_t$ (t = 24 h)	pH 4 ( $mg_{cef}$ )	pH 6 ( $mg_{cef}$ )	pH 9.3 ( $mg_{cef}$ )
SBA15iso	0.338	0.508	0.085
DM10SBA15iso	0.153	0.041	0.068
DPM15SBA15iso	0.239	0.273	0.016

Así, los perfiles de liberación experimentales se muestran en la figura 6.10. Se observa que la *cefalexina* desde las matrices mesoporosas se ajusta al modelo de decrecimiento exponencial descrito por la ecuación (3) durante las primeras 24 horas de ensayo para todos los materiales estudiados.

Los parámetros cinéticos de los ajustes de las curvas de liberación de *cefalexina* desde las distintas matrices mesoporosas durante las 24 primeras horas se resumen en la tabla 6.4. Las muestras SBA15iso y DPM15SBA15iso son las que más *cefalexina* liberan en las primeras 24 h de ensayo, en general, es bajo el porcentaje de *cefalexina* retenida en los poros que difunde al medio de liberación en este periodo de tiempo, se observa que los materiales cargados a pH 9.3 liberan más lentamente la *cefalexina* al medio, mientras que a pH 6 y a pH 4 la liberación es un poco más rápida, sin embargo, tanto el % de *cefalexina* liberada, como la constante cinética ( $K_1$ ) muestran valores similares a pesar de la variación del pH para cada uno de los materiales mesoporosos.

**Tabla 6.4.** % liberado y  $K_1$  a las 24 h de liberación de las matrices SBA15iso, DM10SBA15iso y DPM15SBA15iso a los pHs 4, 6 y 9.3

% liberado (t = 24 h)	pH 4 (% $_{cef}$ )	pH 6 (% $_{cef}$ )	pH 9.3 (% $_{cef}$ )
SBA15iso	11.72	12.86	9.34
DM10SBA15iso	5.92	2.44	2.49
DPM15SBA15iso	6.57	7.50	1.31
$K_1$ (t = 24 h)	pH 4 ( $h^{-1}$ )	pH 6 ( $h^{-1}$ )	pH 9.3 ( $h^{-1}$ )
SBA15iso	$5.19 \times 10^{-3}$	$5.74 \times 10^{-3}$	$4.09 \times 10^{-3}$
DM10SBA15iso	$2.54 \times 10^{-3}$	$1.03 \times 10^{-3}$	$1.05 \times 10^{-3}$
DPM15SBA15iso	$2.83 \times 10^{-3}$	$3.24 \times 10^{-3}$	$5.50 \times 10^{-4}$

En la tabla 6.4, se ve, como era de esperarse que el SBA15iso libera el mayor porcentaje de *cefalexina* a los 3 pHs de carga, posteriormente el material bifuncionalizado DPM15SBA15iso y finalmente el DM10SBA15iso. Este comportamiento concuerda con el análisis que se realizó del ensayo de carga. En el caso del material funcionalizado con DAMO había una notable pérdida de

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS (CARGA Y LIBERACIÓN DE CEFALEXINA)

orden estructural, probablemente ocurrida por un ataque nucleofílico por parte de la amina primaria hacia la *cefalexina*, formando así un enlace covalente entre el fármaco y la matriz, quizá solamente se enlazó con un pequeño porcentaje de *cefalexina*, sin embargo esto pudo haber ocasionado que aumentara el número de interacciones de Van Der Waals con el demás fármaco que no reaccionó, llevando a la pérdida de cristalinidad, por esta razón tardó mas tiempo en liberar el fármaco que quedó intacto. También entre más básico es el pH, más susceptible es la molécula al ataque nucleofílico. El material bifuncionalizado cargado a pH 9.3, tiene un comportamiento similar, en la DRX se ve que la estructura no conserva su orden a largo alcance, probablemente también ocurre un ataque nucleofílico por parte de la molécula de DAMO. La molécula de DEPETES al tener un átomo de fósforo en su estado más oxidado, no promueve el ataque nucleofílico, debido a que no tiene pares de electrones disponibles.

En cuanto a las cinéticas de liberación se observa que los valores de  $K_1$  en general son bastante bajos, la mayor parte de la *cefalexina* se encuentra aún en el interior de los poros y continuará liberándose de manera controlada a lo largo del tiempo.

Todas las curvas de liberación presentan dos perfiles de liberación diferentes. Durante las primeras 24 horas de ensayo, la liberación se ajusta al modelo cinético descrito por la ecuación (3), liberando hasta un 12.86 % de la *cefalexina* retenida. Posteriormente, durante los siguientes días de ensayo, la liberación de la *cefalexina* por difusión desde el material mesoporoso se ajusta a una cinética de orden cero del tipo:

$$w_t/w_o = (w_t/w_o)_{max} + k_2 \cdot t \quad (4)$$

Cabe mencionar que el ensayo se monitoreó hasta las 360 h de liberación, sin embargo, no fue tiempo suficiente para observar la liberación al 100 % de cada uno de los materiales, por lo que en la tabla 6.5 se recopilan los mg de *cefalexina* liberados hasta este tiempo, mientras que en la tabla 6.6 se plantean los datos obtenidos de la ecuación de orden cero, además del porcentaje de *cefalexina* liberada después de 360 h.

**Tabla 6.5.** Constantes  $W_t$  a las 360 h de las matrices SBA15iso, DM10SBA15iso y DPM15SBA15iso a los pHs 4, 6 y 9.3

$W_t$ (t = 360 h)	pH 4 (mg <sub>cef</sub> )	pH 6 (mg <sub>cef</sub> )	pH 9.3 (mg <sub>cef</sub> )
SBA15iso	0.398	0.558	0.119
DM10SBA15iso	0.242	0.142	0.175
DPM15SBA15iso	0.305	0.346	0.058

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS (CARGA Y LIBERACIÓN DE CEFALEXINA)

Para obtener los valores de  $K_2$  y  $(w_t/w_o)_{\max}$ , es necesario plantear un sistema lineal de dos ecuaciones con dos incógnitas, conociendo los valores en mg de *cefalexina* tanto a 24 h como a 360 h (siendo estos dos, los puntos en el extremo de la recta), podemos calcular éstas constantes. En realidad el valor de  $(w_t/w_o)_{\max}$  es igual al valor de  $w_t/w_o$  a las 24 h de liberación de fármaco cuando se pasa de una cinética de primer orden a una de orden cero.

**Tabla 6.6.** % liberado,  $K_2$  y  $(w_t/w_o)_{\max}$  a las 360 h de liberación, de las matrices SBA15iso, DM10SBA15iso y DPM15SBA15iso a los pHs 4, 6 y 9.3

$w_o$ (t = 360 h)	pH 4 (% <sub>cef</sub> )	pH 6 (% <sub>cef</sub> )	pH 9.3 (% <sub>cef</sub> )
SBA15iso	13.8	14.12	13.1
DM10SBA15iso	9.38	8.45	6.41
DPM15SBA15iso	8.38	9.50	4.75
$K_2$ (t = 360 h)	pH 4 (h <sup>-1</sup> )	pH 6 (h <sup>-1</sup> )	pH 9.3 (h <sup>-1</sup> )
SBA15iso	$5.95 \times 10^{-5}$	$3.77 \times 10^{-5}$	$1.09 \times 10^{-4}$
DM10SBA15iso	$1.03 \times 10^{-4}$	$1.79 \times 10^{-4}$	$1.17 \times 10^{-4}$
DPM15SBA15iso	$5.40 \times 10^{-5}$	$5.97 \times 10^{-5}$	$1.03 \times 10^{-4}$
$(w_t/w_o)_{\max}$	pH 4	pH 6	pH 9.3
SBA15iso	0.117	0.129	0.093
DM10SBA15iso	0.059	0.024	0.025
DPM15SBA15iso	0.066	0.075	0.013

Conociendo los datos de  $K_2$  y de  $(w_t/w_o)_{\max}$  se plantea la ecuación de orden cero de cada uno de los materiales y se estima el tiempo en el que se liberaría el 100% de *cefalexina*, como se muestra en la tabla 6.7. Se observa que los valores de  $K_2$  son mucho menores a los valores obtenidos de  $K_1$ , lo cual indica que el fármaco está siendo liberado de manera controlada y lenta. Al cambiar la cinética de orden, se intercambiaron los papeles de los materiales, aquellos que durante las primeras 24 h liberaron la *cefalexina* más lentamente (materiales a pH 9.3) son los que terminarán liberando el 100 % de ésta, más rápido.

**Tabla 6.7.** Ecuación cinética lineal y el t necesario para liberar el 100 % de *cefalexina* de las matrices SBA15iso, DM10SBA15iso y DPM15SBA15iso a los pHs 4, 6 y 9.3

Ecuación de orden cero	pH 4	pH 6	pH 9.3
SBA15iso	$w_t/w_o = 0.117 + [5.95 \times 10^{-5} h^{-1} (t)]$	$w_t/w_o = 0.129 + [3.77 \times 10^{-5} h^{-1} (t)]$	$w_t/w_o = 0.093 + [1.09 \times 10^{-4} h^{-1} (t)]$
DM10SBA15iso	$w_t/w_o = 0.059 + [1.03 \times 10^{-4} h^{-1} (t)]$	$w_t/w_o = 0.024 + [1.79 \times 10^{-4} h^{-1} (t)]$	$w_t/w_o = 0.025 + [1.17 \times 10^{-4} h^{-1} (t)]$
DPM15SBA15iso	$w_t/w_o = 0.066 + [5.40 \times 10^{-5} h^{-1} (t)]$	$w_t/w_o = 0.075 + [5.97 \times 10^{-5} h^{-1} (t)]$	$w_t/w_o = 0.013 + [1.03 \times 10^{-4} h^{-1} (t)]$

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS (CARGA Y LIBERACIÓN DE CEFALEXINA)

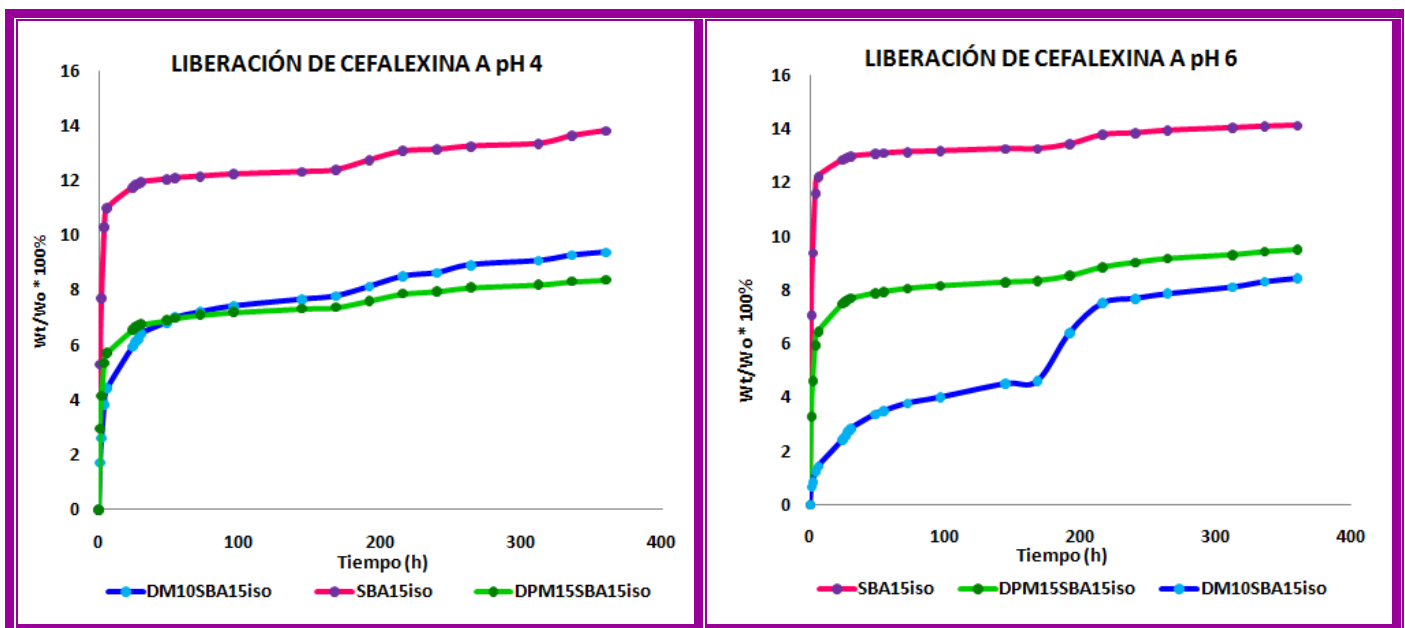
(t) para liberar el 100% de <i>cefalexina</i>	pH 4 (h / días)	pH 6 (h / días)	pH 9.3 (h / días)
<b>SBA15iso</b>	14782.46 / 615.93	23153.97 / 964.75	8321.10 / 346.71
<b>DM10SBA15iso</b>	9180.48 / 382.52	5454.77 / 227.28	8358.39 / 348.27
<b>DPM15SBA15iso</b>	17307.87 / 721.16	15497.42 / 645.73	9633.12 / 401.38

En la tabla 6.8 se calcula el promedio de *cefalexina* que es liberada cada 24 hrs a partir de las primeras 24 h en las que se liberó la *cefalexina* que estaba retenida, o sea cuando la cinética cambia a orden cero, la liberación de fármaco a partir de cada matriz presenta una tendencia lineal, lo cual sugiere un comportamiento periódico en el que cada día se libera una cantidad similar de *cefalexina*, reiterando que la liberación se está realizando de forma controlada.

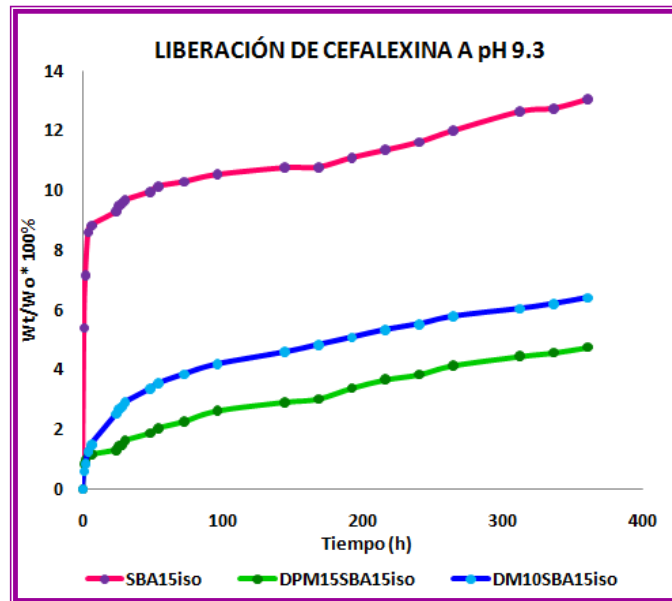
**Tabla 6.8.** % promedio de *cefalexina* liberada cada 24 h de las matrices SBA15iso, DM10SBA15iso y DPM15SBA15iso a los pHs 4, 6 y 9.3

Promedio c/24 h	pH 4 (mg <sub>cef</sub> )	pH 6 (mg <sub>cef</sub> )	pH 9.3 (mg <sub>cef</sub> )
<b>SBA15iso</b>	0.0042 ± 0.002	0.0036 ± 0.002	0.0024 ± 0.002
<b>DM10SBA15iso</b>	0.0063 ± 0.002	0.0072 ± 0.001	0.0076 ± 0.001
<b>DPM15SBA15iso</b>	0.0047 ± 0.002	0.0052 ± 0.002	0.0030 ± 0.001

**Figura 6.10.** Perfiles de liberación de *cefalexina* en PBS 1X a pH = 7.03 desde los distintos materiales mesoporosos cargados a 3 valores de pH (4,6 y 9.3).



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS (CARGA Y LIBERACIÓN DE CEFALEXINA)



Es importante recalcar que en todos los casos falta más del 80 % de cefalexina por ser liberada de cada una de las matrices, lo cual indica que este tipo de materiales mesoporosos funciona bien como sistemas de liberación controlada de fármacos. En cada uno de los gráficos se observa que el incremento es gradual a partir de las primeras 24 h, excepto en el caso del DM10SBA15iso a pH 6 donde se ve un ligero salto, sin embargo, tanto por abajo, como por arriba de éste se conserva esa uniformidad en la liberación. En promedio se libera la misma cantidad de fármaco por día de cada una de estas matrices. Algunos materiales han tenido una notable pérdida de orden estructural corroborada mediante la DRX, contando aún con poros ordenados, o con parte de la estructura definida, lo que les permitió liberar la *cefalexina* de forma controlada día con día.

Todos los materiales mesoporosos tras la carga del fármaco, muestran isoterma de adsorción como las que se obtienen para materiales tipo SBA15 en las cuales se distinguen cinco zonas correspondientes a la adsorción y desorción de  $N_2$  a través de los mesoporos de éstas. La alteración de las estructuras no fue homogénea, por lo que solo ciertas zonas de éstas se vieron afectadas. Por esta razón la estructura aparece con pérdida de orden a largo alcance,, pero en realidad conserva orden en intervalos cortos, lo que le permite adherir el fármaco en la superficie de forma correcta y difundirlo de manera controlada en el medio de liberación. Es importante mencionar que a pesar de que a pH 9.3 los materiales cargan poco, es el pH al que los materiales liberan más lento el fármaco inicialmente. Sin embargo, en la figura 6.10 se observa que a este pH las pendientes positivas están más definidas ó prolongadas que en el caso de los otros pHs, lo que hará que se termine liberando más rápidamente la *cefalexina* desde estas matrices. Con microscopía de transmisión podríamos observar como se encuentra la estructura después de la carga.



### 7. CONCLUSIONES

Se lograron y superaron los objetivos planteados inicialmente.

Se sintetizaron por el método de co-condensación 9 materiales mesoporosos modificados orgánicamente con DEPETES y DAMO. Los 3 materiales funcionalizados con DEPETES se obtuvieron: al 10 % uno y al 15 % los otros dos. Las matrices modificadas con DAMO consiguieron una funcionalización de 5.2 y 6.3 %. No se logró un grado de funcionalización mayor, porque se produce la pérdida de orden estructural a largo alcance. La mayoría de los materiales mesoporosos obtenidos tienen buenas propiedades físicas, químicas y estructurales.

El DPM5SBA15, DPM10SBA15 y DPM15SBA15 se bifuncionalizaron con un porcentaje mayor al propuesto teóricamente. En el DPM5SBA15iso el DEPETES contribuyó con un 5 % en peso y el DAMO con un 2.6 % sumando un 7.6 % experimental, con una relación 65:35 DEPETES:DAMO. Para las matrices mesoporosas DPM10SBA15iso y DPM15SBA15iso el porcentaje de funcionalización con DEPETES fue de 8 y 11 %, y con DAMO de 3.3 y 4.4 % respectivamente. El porcentaje de modificación superficial total para estos dos materiales fue de 11.3 y 15.4 % respectivamente, la relación DEPETES:DAMO fue en ambos casos de 71:29. A mayor grado de bifuncionalización, la relación que mantiene la mejor estabilidad estructural es aquella que tenga un mayor porcentaje de DEPETES en una relación aproximada de 70:30. En el proceso de síntesis, intrínsecamente esta relación fue la que se estableció. Se observó que a menor grado de funcionalización aumenta el porcentaje de DAMO adsorbido en la superficie de las matrices.

Se eligieron 3 pHs diferentes para el proceso de carga, uno básico, uno neutro y otro ácido. En medio básico se produjo una repulsión electrostática entre los grupos fosfato y/o los grupos silanol del material con el grupo carboxilo de la *cefalexina*, impidiendo la carga del fármaco. En medio ácido la interacción fue mayor, atrayéndose y promoviendo la adsorción del fármaco. Tanto los grupos funcionales, como el grupo alquilo de cadena corta del DEPETES y del DAMO aumenta la hidrofobicidad del material mesoporoso dificultando la interacción con los grupos funcionales voluminosos de la *cefalexina*, propiciando una menor carga, que en el caso del SBA15iso. La adsorción de *cefalexina* depende del método de funcionalización utilizado y del grado de modificación orgánica obtenido.

El SBA-15 cargó la mayor cantidad de *cefalexina* a pH 6 ( $112.8 \text{ mg}_{\text{cef}}/\text{g}_{\text{mat}}$ ), siendo el que mejor conserva la estructura mesoporosa tras la adsorción del fármaco. A pH 4 el material bifuncionalizado

fue el que destacó, con  $104.0 \text{ mg}_{\text{cef}}/\text{g}_{\text{mat}}$ . En general los resultados son muy buenos, con cantidades considerables de *cefalexina* adsorbida en la superficie.

En un futuro podrían realizarse estudios microbiológicos que indicaran la cantidad de fármaco necesario para calcular la dosis media efectiva, y de esta forma estimar la concentración que es eficaz contra los microorganismos, considerando la clase de fármaco empleado, su espectro de acción, el huésped y la causa. En estos materiales, la liberación se realizará a nivel local, lo que implica que la cantidad de fármaco necesario es menor al administrado vía oral.

El DM10SBA15iso y el DPM15SBA15iso a pH 4, liberan menos del 8 % de *cefalexina* durante las primeras 24 horas de ensayo. A pH 9 la liberación es más lenta, obteniéndose porcentajes menores al 2.5 %. Los valores de las constantes cinéticas  $K_1$  ( $\text{h}^{-1}$ ) fueron pequeños (cinética de primer orden). El 92 % restante, se liberó siguiendo una cinética de orden cero. Los materiales modificados orgánicamente retienen y liberan más lentamente el fármaco, que el SBA-15, sólo durante las primeras 24 h. El proceso se vuelve gradual al cambiar la cinética a orden cero. Se obtuvieron las ecuaciones cinéticas lineales que permitieron estimar el tiempo que tardaría el fármaco en liberarse al 100 %, el resultado fue: más de 225 días en todos los casos.

La liberación se monitoreo durante 15 días (360 h). Después de un mes y medio, las pastillas se mantenían intactas, dando la idea, de que las matrices se degradan poco a poco. Lo ideal sería conocer el tiempo exacto que tardan en degradarse estos materiales, y saber si coincide con la regeneración del tejido óseo.

Este estudio es de gran importancia para el diseño de materiales mesoporosos, para la construcción de implantes óseos, basados en la tercera generación de biomateriales, enfocados a la regeneración de los tejidos, y capaces de adsorber moléculas en su superficie.

### 8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Núñez N. *Globalización. Contigo a la eternidad*. Rev Bohemia 1998; 90(14): 4-8.
- [2] Granda Ibarra A. F. *La globalización, el modelo neoliberal y la salud en Latinoamérica*. Rev Salud de los trabajadores 1998; 6(1): 61-65.
- [3] Tennasse M. *Situación actual y perspectiva de salud ocupacional*. Rev Salud de los Trabajadores 1995; 3(1): 5-10.
- [4] [www.informador.com.mx/](http://www.informador.com.mx/)
- [5] The bone and joint decade. [www.boneandjointdecade.org](http://www.boneandjointdecade.org)
- [6] Subsecretario de Prevención y Promoción de la Salud. *Contemporary issues on bone health and related diseases*. Secretaría de Salud. Rev Salud Pública de México. México 2009; 51(1).
- [7] Nordin Margareta. *Biomecánica Básica del Sistema Musculoesquelético*. 3ra ed. Mc Graw Hill. New York 2004.
- [8] Bostrom M., Boskey A., Kaufman J., Einhorn TA. *Form and Function of Bone*. In: Buckwalter JA, Einhorn TA, Simon SR, editors. *Orthopaedic Basic Science, Biology and Biomechanics of the Musculoskeletal System*. American Academy of Orthopaedic Surgeons 2000: 320-369.
- [9] Mirales Marrero R. y Puig Cunillera M. *Biomecánica Clínica del Aparato Locomotor*. Masson. Barcelona 2000.
- [10] Robling A. G., Castillo A. B., Turner C. H. *Biomechanical and Molecular Regulation of Bone Remodeling*. Annu. Rev. Biomed. Eng. 2006; 8: 455-98
- [11] Aarden E.M., Burger E.H., Nijweide P.J. *Function of the osteocytes in bone*. J Cell Biochem 1994; 55: 287-99
- [12] Chavassieux P., Meunier P. *Histologie et cytologie de l'os normal*. Encycl Méd Chir (Elsevier, Paris-France), Appareil locomoteur 2003; 14-002-A-10, 6 p.
- [13] Pierce A.M., Lindskog S., Hammarström L. *Osteoclasts: structure and function*. Electron Microsc Rev 1991; 4: 1-45
- [14] Bassett C.A.L. *Electrical effects in bone*. Sci Am. 2000; 213(18).
- [15] Cowin S.C. *The mechanical properties of cortical bone tissue*. In: Cowin SC, editor. Bone Mechanics. Philadelphia: CRC Press, 1991: 181.
- [16] Ontañón M., Aparicio C., Ginebra M.P., Planell J.A. *Structure and Mechanical Properties of Bone*. In: Elices M, editor. Structural Biological Materials. Amsterdam: Pergamon 2000: 31-71.
- [17] Cormack D.H. *Bone. Ham's Histology*. Philadelphia: Lippincott 1987: 273-323.
- [18] Chao F.C., Shepro D., Tullis J.L., Belamarich F.A., Curby W.A. *Similarities Between Platelet Contraction and Cellular Motility During Mitosis - Role of Platelet Microtubules in Clot Retraction*. Journal of Cell Science 1976; 20(3): 569-588.
- [19] Lichtenstein A., Berenson J., Norman D., Chang M.P. and Carlile A. *The production of cytokines by fractures*. Anheim. California 1991.

- [20] Canalis E. *Effect of Growth-Factors on Bone Cell Replication and Differentiation*. Clinical Orthopaedics and Related Research 1985; (193): 246-263.
- [21] Joyce M.E., Jingshi S., Bolander M.E. *Transforming Growth Factor-Beta in the Regulation of Fracture Repair*. Orthopedic Clinics of North America 1990; 21(1): 199-204.
- [22] Park J.Y., Davies J.E. *Red blood cell and platelet interactions with titanium implant surfaces*. Clinical Oral Implants Research 2000; 11(6): 530-539.
- [23] Ham A.W. *Some Histophysiological Problems Peculiar to Calcified Tissues*. Journal of Bone and Joint Surgery-American Volume 1952; 34-A(3): 701-728.
- [24] Harris W., Ham A.W. *The mechanism of nutrition in bone and how it affects its structure, repair and transplantation*. In: J&A Churchill, editor. Ciba Foundation Symposium on Bone Structure and Metabolism. London: 1956: 135.
- [25] Braun W., Ruter A. *Fracture healing. Morphological and physiological aspects*. Unfallchirurg 1996; 99(1): 59-67.
- [26] Burchardt H. *The biology of bone graft repair*. Clin Orthop 1983; 174: 28-42
- [27] Friedlaender G.E. *Bone grafts: The basic science rationale of clinical applications*. J Bone Joint Surg 1987; 69 A: 786-90
- [28] Goulet J.A., Senunas L.E., DeSilva G.L., Greenfield M.L. *Autogenous iliac crest bone graft. Complications and functional assesment*. Clin Orthop 1997; 339: 76-81
- [29] Banwart J.C., Asher M.A., Hassanein R.S. *Iliac crest bone graft harvest donor site morbidity*. Statistical evaluation. Spine 1995; 20: 1055-60
- [30] Goldberg V.M., Stevenson S. *Natural history of autografts and allografts*. Clin Orthop 1987; 225: 7-16
- [31] Stevenson S. *Enhancement of fracture healing with autogenous and allogeneic bone grafts*. Clin Orthop 1998; 355: S239- S246
- [32] Suso S. *Banco de huesos*. Masson. Monografías SECOT. Barcelona 2002; 4
- [33] Gitelis S., Cole B.J. *The use of allografts in orthopaedic surgery*. Intr Course Lect 2002; 51: 507-20
- [34] Lord C.F., Gebhardt M.C., Tomford W.W., Mankin H.J. *Infection in bone allografts*. J Bone Joint Surg 1988; 70 A: 369-76
- [35] Elves M.W., Pratt L.M. *The pattern of new bone formation in isografts of bone*. Acta Orthop Scand 1975; 46: 549-57
- [36] Langer R. and Vacanti J. P. *Tissue engineering*. Science 1993 May 14; 260 (5110): 920-926.
- [37] Falke G.F. y Atala A. *Reconstrucción de tejidos y órganos utilizando ingeniería tisular*. Arch Argent Pediatr 2000; 98(2):103-105.
- [38] Yang S., Leong K. F., Du Z. and Chua C. K. *The design of scaffolds for use in tissue engineering*. Part II. Rapid prototyping techniques. Tissue Eng 2002 February; 8(1): 1-11.

- [39] Hardingham T., Tew S. and Murdoch A. *Tissue engineering : chondrocytes and cartilage*. Arthritis Res 2002; 4(3): S63-S68.
- [40] Skalak R. and Fox C. F. *Tissue engineering*. Granlibakken, Lake Tahoe: Proc workshop; New York: Liss 1988.
- [41] Vallet-Regí M., Colilla M. and González B. *Medical Applications of Organic-Inorganic Hybrid Materials Within the Field of Silica-Based Bioceramic*. Chem. Soc. Rev. DOI:10.1039/C0CS00025F. En Prensa.
- [42] Vallet-Regí M., Munuera L. *Biomateriales: Aquí y ahora*. Dykinson. Madrid 2000.
- [43] Williams D.F., Black J., Doherty P.J. *Second consensus conference on definitions in biomaterials*. In: Biomaterials Tissue Interfaces. Ed. by Doherty PJ, Williams RI, Williams DF, Lee AJC. Elsevier. Amsterdam 1992: 525-33
- [44] Burg K.J.L., Porter S., Kellam J.F. *Biomaterials developments for bone tissue engineering*. Biomaterials 2000; 21: 2347-59
- [45] Böstman O., Pihlajamäki H. *Clinical biocompatibility of biodegradable orthopaedic implants for internal fixation*. A review. *Biomaterials* 2000 21: 2615-21
- [46] Proubasta I., Gil J., Planell J.A. *Fundamentos de Biomecánica y Biomateriales*. Ergon. Madrid 1999.
- [47] Ozin G., Arsenault A. *Nanochemistry, A Chemical Approach to Nanomaterials*. Royal Society of Chemistry. London 2005.
- [48] WTEC Panel Report on Nanostructure Science and Technology. *R&D Status and Trends in Nanoparticles, Nanostructured Materials and Nanodevices*. Se puede encontrar en: <http://www.nano.gov>.
- [49] IUPAC. *Manual of Symbols and Terminology*. Pure App. Chem 1978; 31.
- [50] Kresge C.T., Leonowicz M.E., Roth W.J., Vartuli J.C., Beck J.S. *Ordered mesoporous molecular sieves synthesized by a liquid-crystal template mechanism*. Nature 1992; 359: 710-712.
- [51] Beck J.S., Vartuli J.C., Roth W.J., Leonowicz M.E., Kresge C.T., Schmitt K.D., Chu C.T.W., Olson D.H., Sheppard E.W., McCellen S.B., Higgins J.B., Schlenker J.L. *A new family of mesoporous molecular sieves prepared with liquid crystal templates*. J. Am. Chem. Soc. 1992; 114: 10834-10843.
- [52] Zhao D.Y., Feng J.L., Huo Q.S., Melosh N., Fredricksson G.H., Chmelka B.F., Stucky G.D. *Triblock copolymer syntheses of mesoporous silica with periodic 50 to 300 angstrom pores*. Science 1998; 279: 548-552.
- [53] Bagshaw S.A., Prouzet E., Pinnavaia T.J. *Templating of mesoporous molecular-sieves by nonionic polyethylene oxide surfactants*. Science 1995; 269: 1242-1244.
- [54] Ryo R., Kim J.M., Ko C.H., Shin C.H. *Disordered molecular sieve with branched mesoporous channel network*. J. Phys. Chem. 1996; 100: 17718-17721
- [55] Inagaki S., Koiwai A., Suzuki N., Fukushima Y., Kuroda K. *Syntheses of highly ordered mesoporous materials, FSM-16, derived from kanemite*. Bull. Chem. Soc. Jpn. 1996; 69: 1449-1457.
- [56] Salager Jean-Louis y Fernández Alvaro. *Surfactantes*. Universidad de los Andes. Venezuela 2004.

- [57]Huo Q., Margolese D.I, Stucky G.D. *Surfactant control of phases in the sintesis of mesoporous silica-based materials* Chem. Mater 1996; 8: 1147-1160.
- [58]Hoffmann F., Cornelius M., Morell J., Fröba M. *Silica-based mesoporous organic-inorganic hybrid materials*. Angew. Chem. Int. 2006; 45: 3216-3251.
- [59]Huo Q., Margolese D. I., Ciesla U., Feng P., Gier T. E., Sieger P., Leon R., Petroff P. M., SchEth F., Stucky G. D. *Generalized synthe,sis of periodic surfactant inorganic composite materials*. Nature 1994; 368: 317- 321.
- [60]Zhao D.Y., Feng J., Kim J., Hang Y., Stucky G.D. *Triblock-copolymer directed synthesis of large-pore mesoporous silica fibers*. Chem. Mater. 1998; 120: 602.
- [61]Yang C.M., Zibrowius B., Schmidt W., Schüth F. *Consecutive generation of mesopores and micropores in SBA-15*. Chem. Mater.2003; 15: 3739.
- [62]Yang C.M., Zibrowius B., Schmidt W., Schüth F. *Stepwise removal of the copolymer template from mesopores and micropores in SBA-15*. Chem. Mater. 2004; 16: 2918.
- [63]Yang C., Wang Y., Zibrowius B., Schüth F. *Formation of cyanide-functionalized SBA-15 and its transformation to carboxylate-functionalized SBA-15*. Chem. Phys. 2004; 6: 2491-2467.
- [64]Colilla M., Izquierdo-Barba I., Sánchez-Salcedo S., Fierro J.L.G., Hueso J.L., Vallet-Regí M. *Synthesis and Characterization of Zwitterionic SBA-15 Nanostructured Materials*. Chem. Mater. 2010; 22: 6459-6466.
- [65]Nieto A., Balas F., Colilla M., Manzano M. and Vallet-Regí M. *Funcionalization Degree of SBA-15 as key Factor to Modulate Alendronate Dosage*. Microporous Mesoporous Mater. 2008; 116: 4-13.
- [66]Liu J., Feng X.D., Fryxell G.E., Wang L.Q., Kim A.Y., Gong M.L. *Hybrid mesoporous materials with functionalized monolayers*. Adv. Mater. 1998; 10: 161-165.
- [67]Vallet- Regí M. y Doadrio A. *Liberación de fármacos en matrices biocerámicas avances y perspectivas*. Real Academia de Farmacia. Monografía XIX 2006.
- [68]Vallet-Regí M., Ruíz-Gonzalez L., Izquierdo-Barba I., Gonzalez-Calbet J.M. *Revisiting silica based ordered mesoporous materials: medical applications*. J. Mater. Chem 2006; 16: 26-31.
- [69] Nieto A., Colilla M., Balas F., Vallet-Regí M. *Surface Electrochemistry of Mesoporous Silicas as Key Factor for the Design of Tailored Delivery Devices*. Langmuir 2010; 26(7): 5038-5049.
- [70]Vallet-Regí M., Manzano M., González-Calbet J.M. and Okunishid E. *Evidence of Drugs Confinement into Silica Mesoporous Matrices by Stem CS Corrected Microscopy*. Chem. Commun. 2010; 46(46): 2956-2958.
- [71]Vallet-Regí M., Balas F., Arcos D. *Mesoporous Materials for Drug Delivery*. Angew. Chem. Int. Ed. 2007; 46: 7548-7558.
- [72] Vallet-Regí M. *Ordered mesoporous materials in the context of drug delivery systems and bone tissue engineering*. Chem. Eur. J. 2006; 12: 5934-5943.
- [73]Vallet-Regí M., Balas F., Colilla M., Manzano M. *Drug confinement and delivery in ceramic implants*. Drug Metabolism Letters 2007; 1: 37-40.

- [74] Vallet-Regí M., Doadrio J.C., Doadrio A. L., Izquierdo-Barba I., Pérez-Pariente J. *Hexagonal ordered mesoporous materials in a matriz for the controled Release of Amoxiciline*. Solid State Ionics 2004; 172: 435.
- [75] Doadrio A. L., Sousa E. M. B., Doadrio J. C., Pérez-Pariente J., Izquierdo-Barba I., Vallet-Regí M. *Mesoporous SBA-15 HPLC evaluation for controlled gentamicin drug delivery*. J. Control Release 2004; 97: 125.
- [76] Horcajada P., Rámila A., Ferey G. and Vallet-Regí M. *Influence of Superficial Organic Modification of MCM-41 Matrices on Drug Delivery Rate*. Solid State Sci. 2006; 8: 1243-1249.
- [77] Doadrio J. C., Sousa E. M. B., Izquierdo-Barba I., Doadrio A. L., Pérez-Pariente J., Vallet-Regí M. *Functionalization of mesoporous material with long alkyl chains as a strategy for controlled drug delivery pattern*. J. Mater. Chem. 2006; 16: 462.
- [78] Balas F., Manzano M., Horcajada P., Vallet-Regí M. *Confinament and controlled release of bisphosphonates on ordered mesoporous silica-based materials*. J. Am. Chem. Soc. 2006; 128: 8116.
- [79] *Cefalosporinas y nuevos beta-lactámicos*. Universidad Autónoma de Madrid. [www.uam.es/departamentos/medicina/](http://www.uam.es/departamentos/medicina/)
- [80] Johns Hopkins POC-IT (Points Of Care-Information Technology). *Antibiotic Guide. Antibacterials: Cephalosporins*. Last updated Nov. 2004. <http://hopkins-abxguide.org>.
- [81] Oreamuno M. y Sancho R. *Procedimiento para la recuperación de cefalexina*. WIPO 1996.
- [82] Brunauer S., Emmett P.H., Teller E. *Adsorption of gases in multimolecular layers*. J. Am. Chem. Soc. 1938; 60: 309.
- [83] Barret E.P., Joyner L.G., Halenda P.P. *The determination of pore volume and area distributions in porous substances I. computation from nitrogen isotherms*. J. Am. Chem. Soc. 1951; 73: 373.
- [84] Gregg S. J., Sing K. S. W. *Adsorption Surface Area and Porosity*. 2nd ed. Academic Press. New York 1982.
- [85] IUPAC Recommendations. *Pure Appl. Chem.*, 57 (1985), 603.
- [86] IUPAC Recommendations. *Pure Appl. Chem.*, 66 (1994), 1739.
- [87] Van Grieken R., Calleja G., Stucky G.D., Melero J.A., García R.A., Iglesias J. *Supercritical fluid extraction of a non-ionic surfactant template from SBA-15 materials and consequences of the porous structure*. Langmuir 2003; 19: 3966.
- [88] Whitnall W., Asefa T., Ozin G.A.. *Hybrid Periodic Mesoporous Organosilicas*. Advanced Functional Materials 2005; 15: 1696.

### 9. ANEXO 1 PRUEBAS DE EXTRACCIÓN

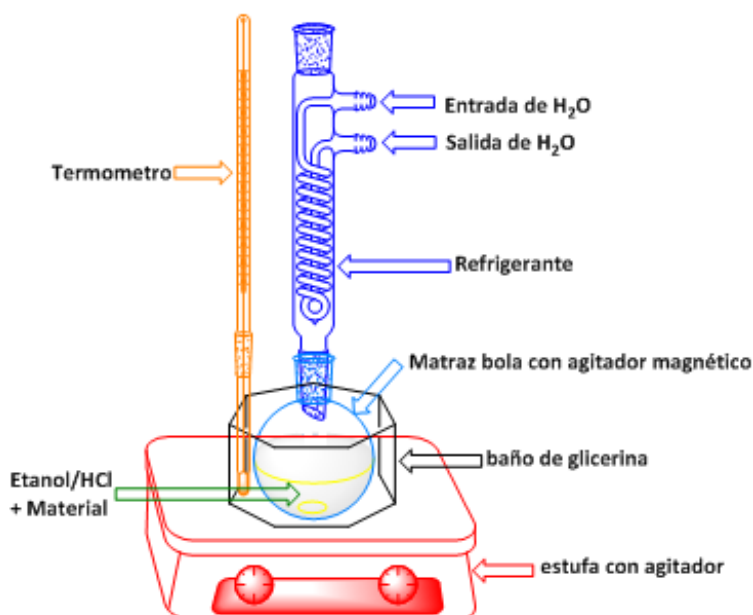
En este apartado se compararan las técnicas utilizadas para extraer el surfactante. Los métodos de extracción convencionales que se utilizan para la eliminación del surfactante son: la calcinación o la extracción con disolventes. Las matrices funcionalizadas por co-condensación únicamente pueden extraerse con disolventes, para no destruir los grupos funcionales anclados a la superficie de sílice.<sup>58</sup>

En otros trabajos,<sup>71,72,73...</sup> se utilizaron uno de los dos métodos de extracción con disolventes descritos en la literatura. Con el fin de optimizar el método de extracción y minimizar la cantidad de surfactante residual, se diseñó y llevó a cabo un nuevo método, finalmente se comparó la efectividad del mismo con los ya existentes.

Métodos de extracción de tensoactivos descritos en la literatura:

**Método A:** Consiste en la extracción del surfactante con etanol acidificado con HCl.<sup>52, 87</sup> En un matraz bola de 250 mL se coloca 1 gramo de muestra a extraer y se le adicionan 100 mL de etanol absoluto acidificado con HCl, se mantiene a reflujo a 80 °C durante 5 h (figura 9.1). Pasado este tiempo, el material se filtra y deja secar. Este proceso se repite cinco veces para eliminar la mayor cantidad de surfactante posible.

**Esquema 9.1.** Montaje de laboratorio para la extracción con etanol/HCl.

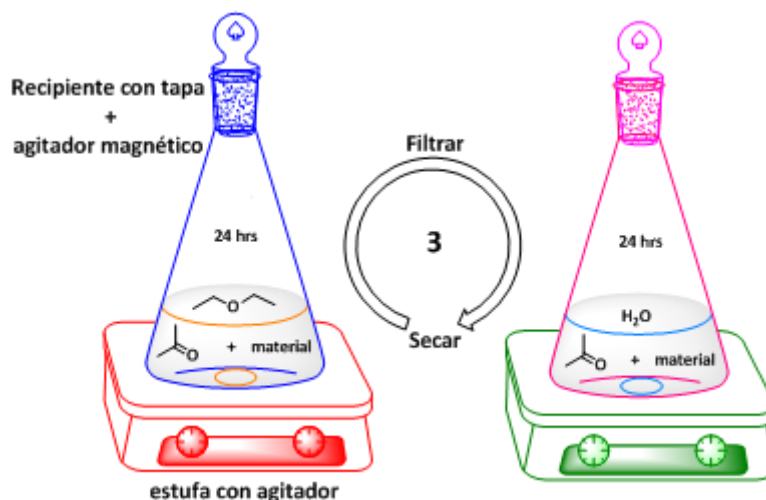




## ANEXO 1. PRUEBAS DE EXTRACCIÓN

**Método B:** Este método es el descrito por Whitnall y col<sup>88</sup> y consiste en realizar extracciones a temperatura ambiente con mezclas de acetona:éter y acetona:agua, esquema 9.2. Se utilizan 400 mL de una solución 1:1 de acetona:éter etílico por cada 3 g de material, se agita magnéticamente durante 24 h, se filtra y deja secar. El siguiente paso consiste en disolver el producto filtrado en 400 mL de una disolución 1:1 de acetona:agua durante 24h. Pasado este tiempo se filtra, y el proceso se repite dos veces más para obtener el material final.

**Esquema 9.2.** Montaje de laboratorio para la extracción con acetona/éter, acetona/agua.



Analizando cada una de las técnicas, se observa que la cantidad de disolvente, tiempo y complejidad hacen que surja la necesidad de elaborar un nuevo método de extracción que busque ser más eficiente en tiempo, en gasto de disolvente y en mano de obra, sin comprometer la eficacia de los dos métodos anteriores para eliminar el surfactante.

**Análisis método A:** El tiempo y la complejidad es parte de esta técnica, cuánto se tarda en montar el equipo, colocar los reactivos, en filtrarlos y en secarlos, más el tiempo de extracción tomándolo a partir de que se alcanza la temperatura de 80 °C. Aún trabajando eficientemente solo se alcanzaría a realizar una extracción por día, necesitando 6 días para completar la operación. Haciendo cálculos, para extraer 10 g de producto se gastarían 6000 mL de solución, más la cantidad de disolvente empleada para lavar el material. Además es difícil la manipulación de aparatos y reactivos, debido al uso de campana, temperatura, agua, baño de glicerina, entre otras cosas. Esta técnica no es conveniente para cierto tipo de agentes funcionalizantes que sean sensibles a la temperatura, o bien a la disolución, como es el caso

## ANEXO 1. PRUEBAS DE EXTRACCIÓN

del DAMO que contiene aminos las cuales reaccionan con los ácidos formando sales. Esto no está comprobado.

**Análisis método B:** No necesita temperatura, ni el montaje de equipo complicado. Se utiliza un recipiente de vidrio con una tapa hermética debido al uso de disolventes volátiles y una parrilla con agitación. Este método presenta ciertas ventajas frente al método A. Sin embargo, la cantidad de veces que se repite cada extracción lo hace ineficiente. Se necesitan muchos litros de disolvente para extraer pocos gramos de material. Si se tienen 10 g de material se requerirían 1350 mL de la mezcla acetona/éter etílico 1:1 y 1350 mL de la mezcla acetona/agua 1:1, cada vez que se extrajera el producto. En la tabla 9.1 se observa el tiempo y los mL de las soluciones necesarios para obtener un material adecuado.

**Tabla 9.1.** Resumen de la técnica B para extraer materiales de sílice mesoporosos

Extracción	Acetona (mL)	Éter etílico (mL)	Agua (mL)	Tiempo optimizado (h) para extraer 10 g de material	Total (h)
1	675	675		24 de reacción + 1 de filtrado + 3 de secado 1 para montar y quitar equipo	29
2	675		675	24 de reacción + 1 de filtrado + 10 de secado 1 para montar y quitar equipo	36
3	675	675		24 de reacción + 1 de filtrado + 3 de secado 1 para montar y quitar equipo	29
4	675		675	24 de reacción + 1 de filtrado + 10 de secado 1 para montar y quitar equipo	36
5	675	675		24 de reacción + 1 de filtrado + 3 de secado 1 para montar y quitar equipo	29
6	675		675	24 de reacción + 1 de filtrado + 10 de secado 1 para montar y quitar equipo	36
<b>Total (mL)</b>	4,050	2,025	2,025	<b>8,100 mL y 195 h de trabajo para extraer 10 g</b>	195

### 9.1 PRUEBAS DE EXTRACCIÓN

Analizada la problemática, se buscó un nuevo método. Siempre quedará un porcentaje de surfactante atrapado en la matriz debido a las interacciones. El surfactante (Pluronic®, P123) es un copolímero tribloque formado por polioxietileno y polioxipropileno (PEO<sub>20</sub>-PPO<sub>70</sub>-PEO<sub>20</sub>). Las propiedades fisicoquímicas de éste hacen que forme agregados micelares cilíndricos (parte hidrófoba:

## ANEXO 1. PRUEBAS DE EXTRACCIÓN

polioxipropileno, parte polar: polioxietileno). A partir de estas características se buscan dos tipos de disolventes, uno que disuelva la parte polar y otro la parte hidrófoba.

- Disolventes polares: agua, etanol, propanol, acetona, alcohol bencílico
- Disolventes no polares: tolueno, benceno, hexano, heptano, ciclohexano, etc.

Se buscaron las propiedades físicas y químicas de éstos, para ver su toxicidad, miscibilidad, viscosidad, reactividad, entre otras. Las pruebas de mezclado se hicieron variando las proporciones de disolventes, tomando en cuenta que la cantidad de disolvente no polar debe de ser mayor a la del polar. Éstas se llevaron a cabo en matraces bola de 50 mL, se revolviaron los disolventes no polares con los polares para observar la miscibilidad de unos con otros, en algunos casos se adicionaron pequeñas cantidades de material (0.05 g) para observar la apariencia del sólido al estar en contacto con la mezcla. Se apreció que algunos compuestos no polares no son miscibles, siendo aquellos que contienen un anillo aromático en su estructura, presentando una gran viscosidad. En la segunda prueba sólo se utilizaron disolventes no polares alifáticos debido al parecido con la estructura del surfactante como: hexano, heptano e isooctano, y los polares: etanol, propanol, acetona y agua. La tercer prueba se hizo con proporciones bien definidas de éstos (tabla 9.2).

**Tabla 9.2.** Soluciones nuevas propuestas para extraer materiales mesoporosos.

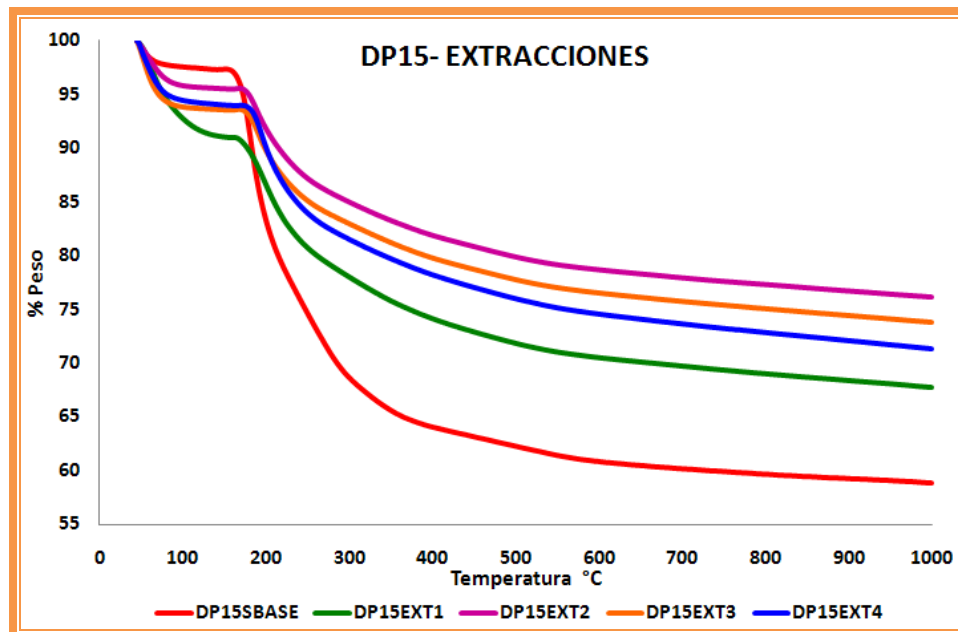
Pruebas	(%) Heptano	(%) Isooctano	(%) Propanol	(%) Etanol	(%) Acetona
EXT 1	60		30		10
EXT 2		60		40	
EXT 3	40	20		20	20
EXT 4	30	30	20	20	

Se extrajeron 0.2 g del material **DP15SBA15**, utilizado como modelo y comparándolo con el SBA-15. Se preparó una solución de heptano, propanol y acetona en proporción 60:30:10 respectivamente, vertiéndose 20 mL de ésta en un matraz bola de 50 mL. Posteriormente se adicionaron 0.2 g del material mesoporoso funcionalizado con 15 % de DEPETES (DP15SBA15). La relación g de material / mL de disolución es 1:100. Esta mezcla se dejó bajo agitación vigorosa durante un fin de semana a temperatura ambiente. Pasado este tiempo el material extraído se filtró a vacío y dejó secar durante 3 horas en la estufa a 45 °C.

## ANEXO 1. PRUEBAS DE EXTRACCIÓN

Al analizar los TGAs y DTAs se observa la disminución de materia orgánica del compuesto DP15SBASE, figura 9.3.

**Gráfica 9.3.** Comparación de TGA's del material DP15 sin extraer y extraído



Se observa que los cuatro métodos sirvieron para extraer los materiales mesoporosos, sin embargo, los mejores resultados fueron con la EXT 2 y la EXT 3, el análisis de éstos se recoge en la tabla 9.3.

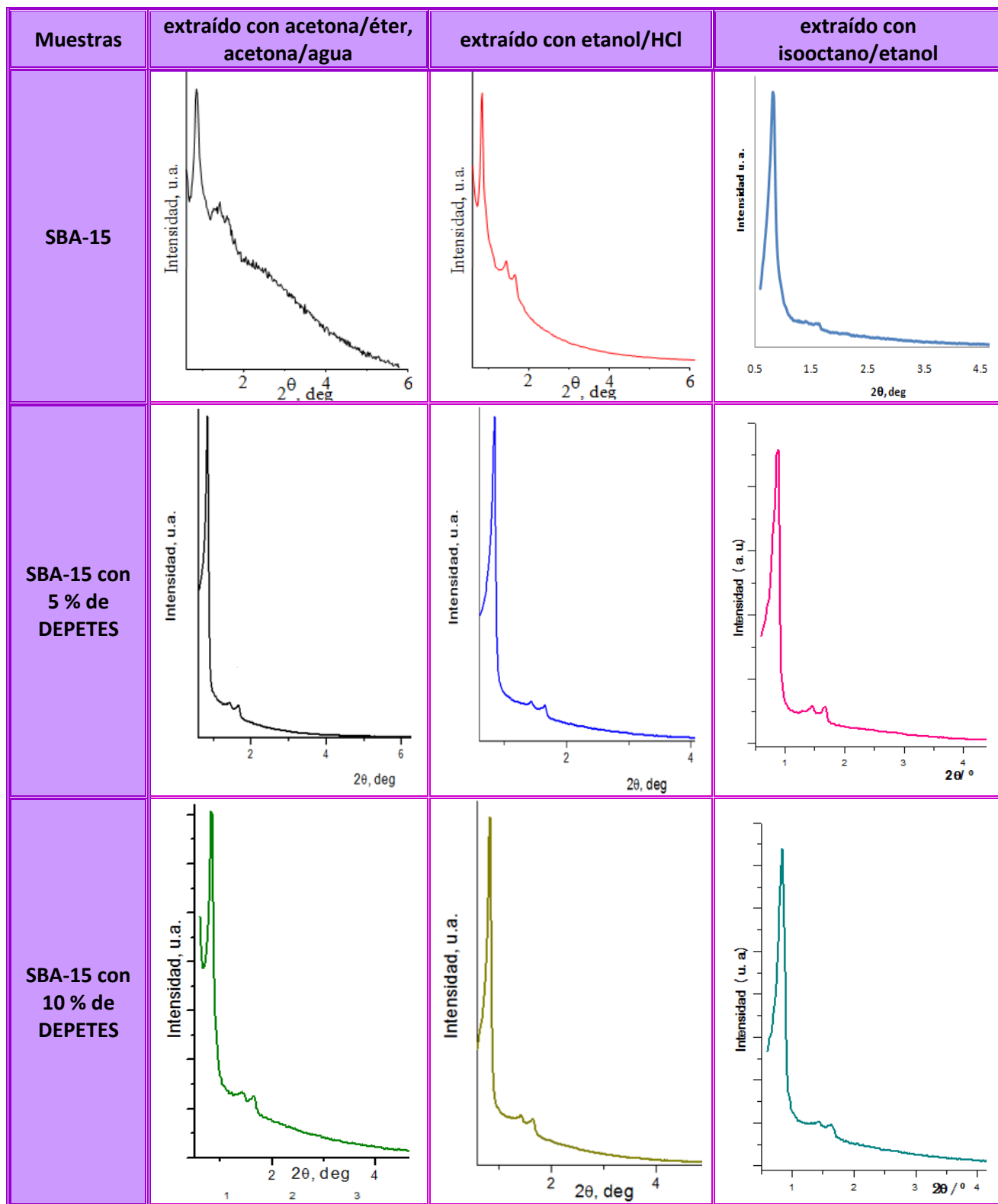
**Tabla 9.3.** Datos de TGA's para comparar la efectividad en la eliminación del surfactante.

Pruebas	T <sub>1</sub> 150 °C	T <sub>2</sub> 600 °C	% Peso	% Eliminado	% Residual
S/EXT	97.36	60.87	36.49	-----	-----
EXT 1	91.03	70.47	20.56	43.8	56.2
EXT 2	95.53	78.71	16.82	53.9	46.1
EXT 3	93.58	76.56	17.02	53.4	46.6
EXT 4	94.01	74.56	19.45	46.7	53.3

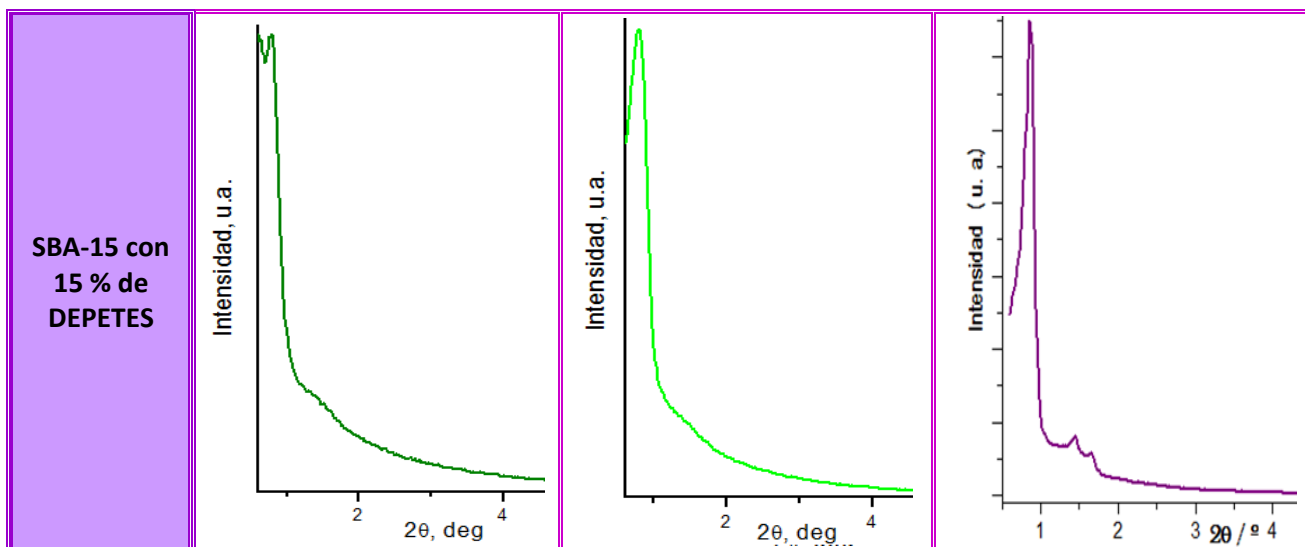
En la figura 9.4 se comparan los materiales: SBA-15, SBA-15 con 5 %, 10 % y 15 % de DEPETES, entre los métodos reportados en la literatura y la técnica iso-octano-etanol, ésta se realizó en base a los difractogramas de RX, para ver si se mantiene la estructura de los materiales tras las extracciones.

## ANEXO 1. PRUEBAS DE EXTRACCIÓN

**Figura 9.4.** Diagramas de DRX de los materiales extraídos con acetona/éter- acetona/agua, etanol/HCl y con isooctano/etanol.



## ANEXO 1. PRUEBAS DE EXTRACCIÓN

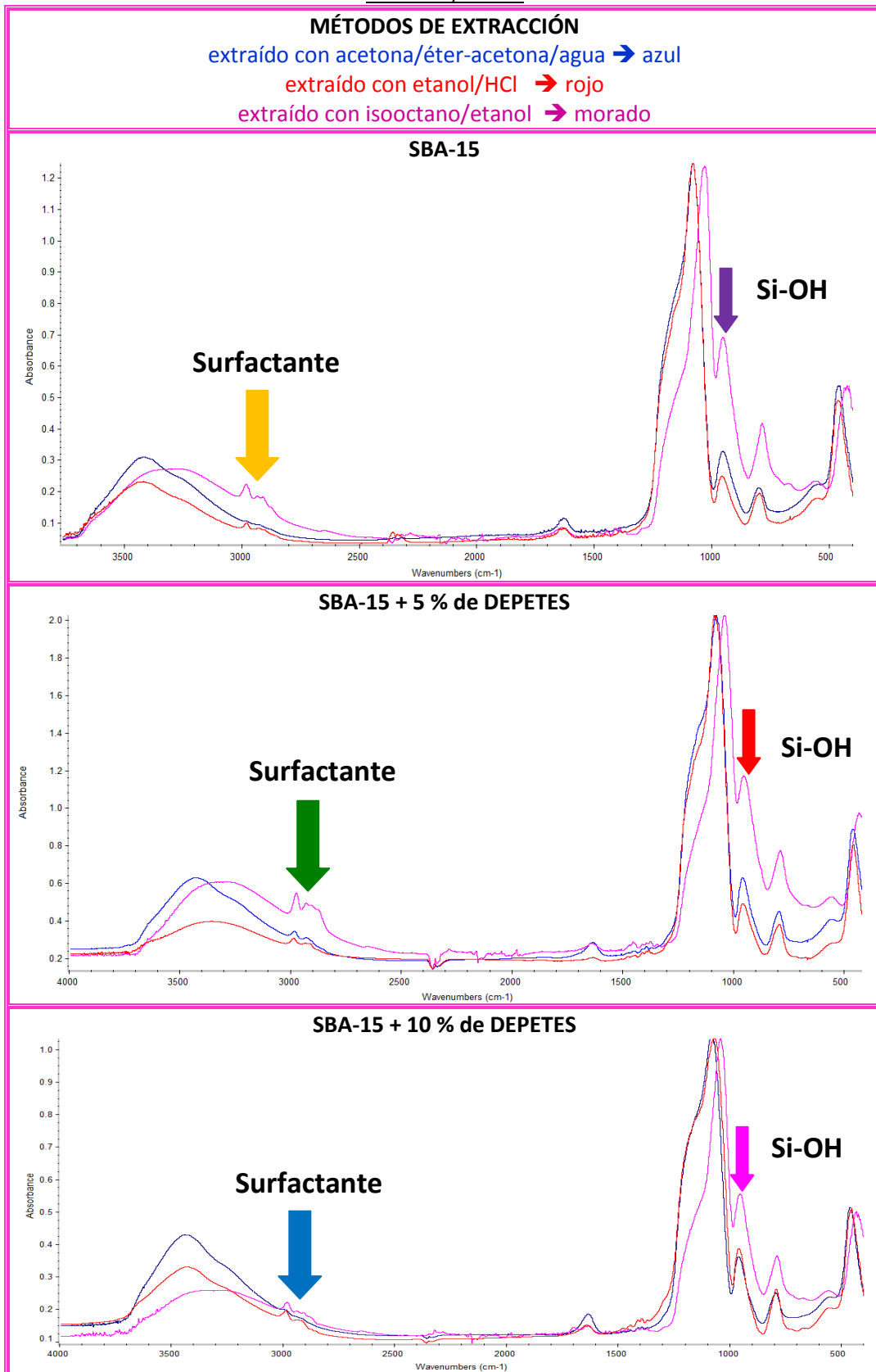


Se observa que el método de extracción isooctano-etanol es muy efectivo. Los espectros de DRX resultaron ser muy similares a los obtenidos en los otros dos métodos. En el caso especial del SBA-15 con 15% de DEPOTES, el difractograma es mucho mejor a los demás, ya que aparecen las reflexiones 10, 11 y 12 correspondientes a una estructura hexagonal con simetría  $P6mm$ .

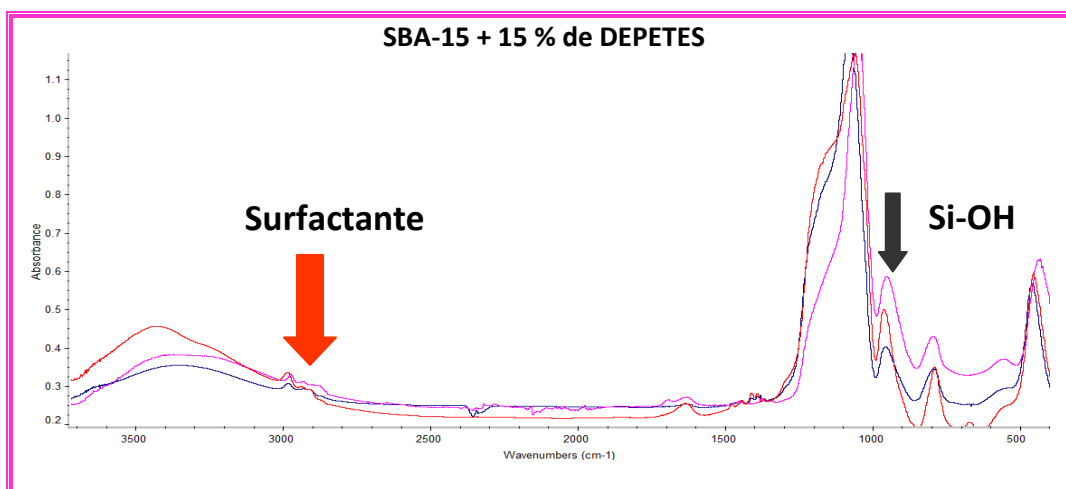
En la figura 9.5, se analizan los espectros de IRTF. La diferencia se nota en la banda del grupo silanol, de forma cualitativa, se ve que hay un mayor número de grupos Si-OH en los materiales extraídos por el método isooctano/etanol. Las bandas correspondientes al surfactante no han desaparecido por completo, siendo éstas un poco más evidentes en los materiales extraídos este método, sin embargo más adelante quedará justificada esta parte.

# ANEXO 1. PRUEBAS DE EXTRACCIÓN

Figura 9.5. Espectros de IRTF de los materiales extraídos con acetona/éter-acetona/agua, etanol/HCl y con isooctano/etanol.

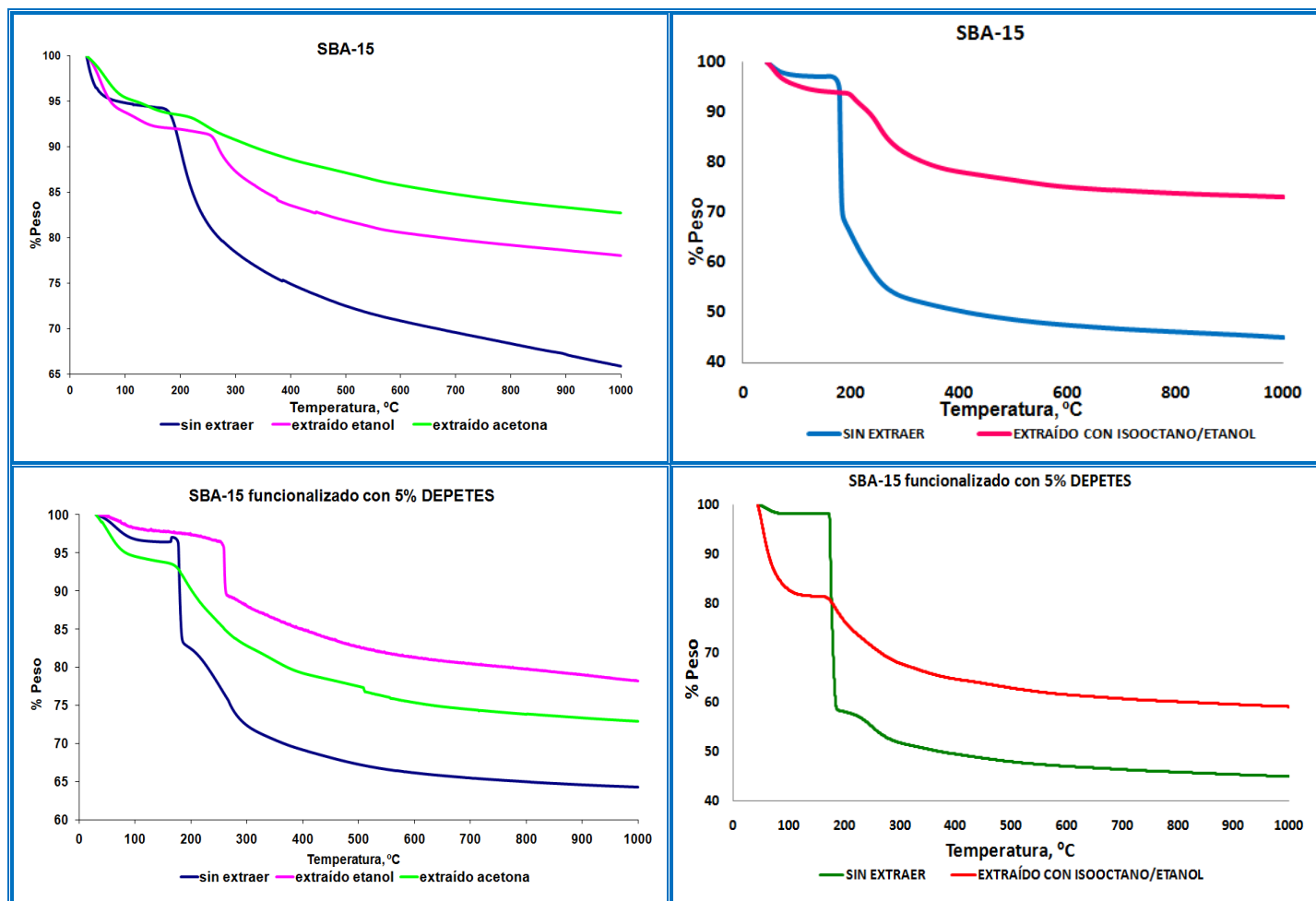


## ANEXO 1. PRUEBAS DE EXTRACCIÓN



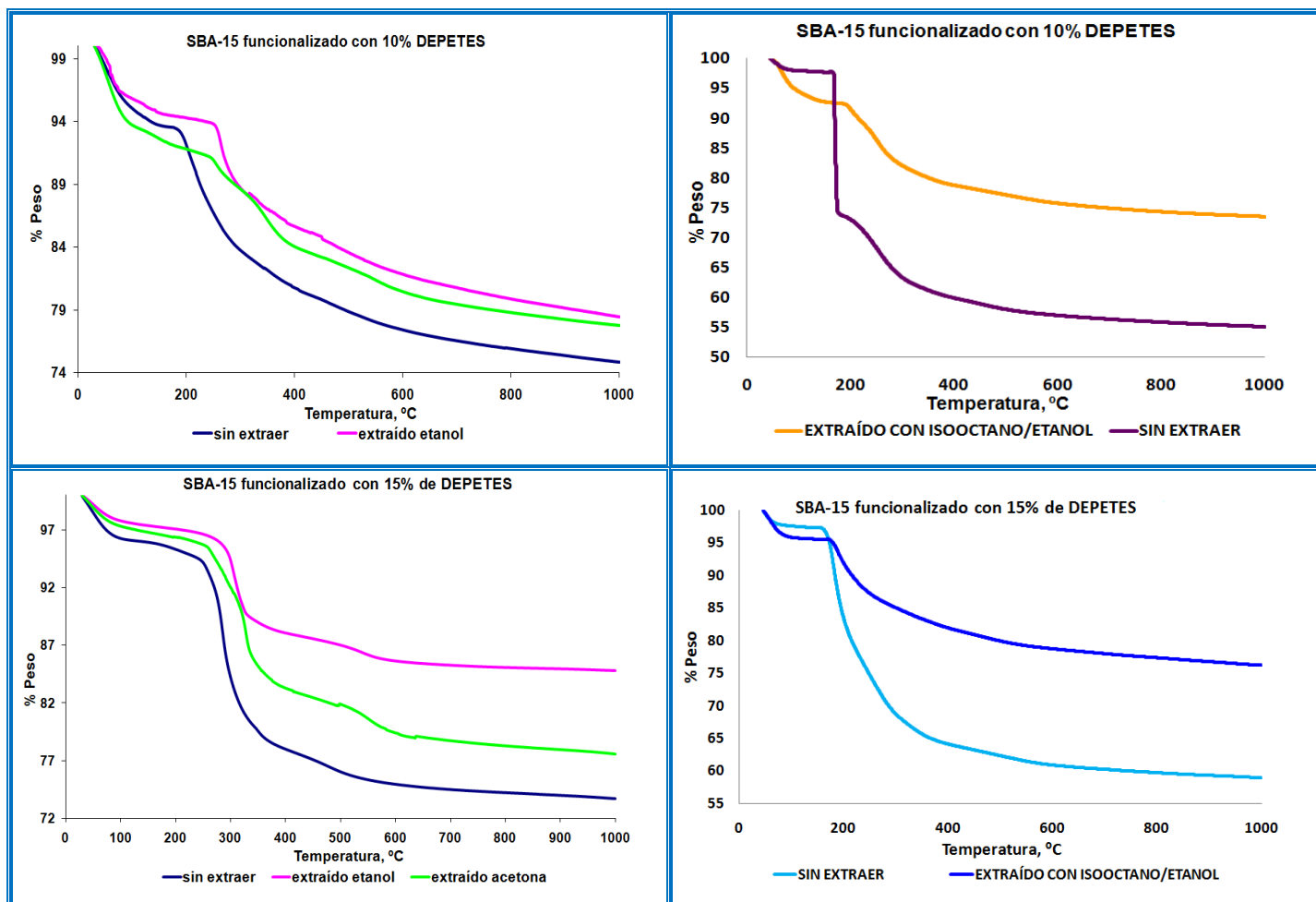
Con los TGAs se ve de manera cuantitativa el comportamiento de estos materiales con respecto a la pérdida de materia orgánica, figura 9.6.

**Figura 9.6.** TGAs de los materiales extraídos con acetona/éter- acetona/agua, etanol/HCl y con isooctano/etanol.





## ANEXO 1. PRUEBAS DE EXTRACCIÓN



En la tabla 9.4 se observan los datos correspondientes a las temperaturas estableciéndose el intervalo de pérdida de materia orgánica.

**Tabla 9.4.** Comparación de temperaturas (TG's)

Muestra	Extracción	T <sub>1</sub> 150 °C	T <sub>2</sub> 600 °C
SBA15 <sub>1</sub>	S/E	94.40	70.85
SBA15et	Etanol /HCl	92.35	80.63
SBA15ac	Acetona/éter/agua	94.25	85.77
DP5SBA15 <sub>1</sub>	S/E	96.44	66.18
DP5SBA15et	Etanol /HCl	97.75	81.27
DP5SBA15ac	Acetona/éter/agua	93.81	75.37
DP10SBA15 <sub>1</sub>	S/E	93.70	77.41
DP10SBA15et	Etanol /HCl	94.69	81.87
DP10SBA15ac	Acetona/éter/agua	92.63	80.45
DP15SBA15 <sub>1</sub>	S/E	95.93	74.98
DP15SBA15et	Etanol /HCl	97.36	85.61

## ANEXO 1. PRUEBAS DE EXTRACCIÓN

DP15SBA15ac	Acetona/éter/agua	96.79	79.41
SBA15 <sub>2</sub>	S/E	97.17	47.48
SBA15iso	Isooctano/Etanol	94.23	75.08
DP5SBA15 <sub>2</sub>	S/E	08.11	47.02
DP5SBA15iso	Isooctano/Etanol	81.44	61.51
DP10SBA15 <sub>2</sub>	S/E	97.70	56.97
DP10SBA15iso	Isooctano/Etanol	92.73	75.75
DP15SBA15 <sub>2</sub>	S/E	97.35	60.87
DP15SBA15iso	Isooctano/Etanol	95.53	78.71

En la tabla 9.5, se observa el porcentaje de materia orgánica que fue eliminada, y el porcentaje en peso restante que se encuentra aún en las matrices mesoporosas.

**Tabla 9.5.** % en peso de materia orgánica inicial, eliminada y restante

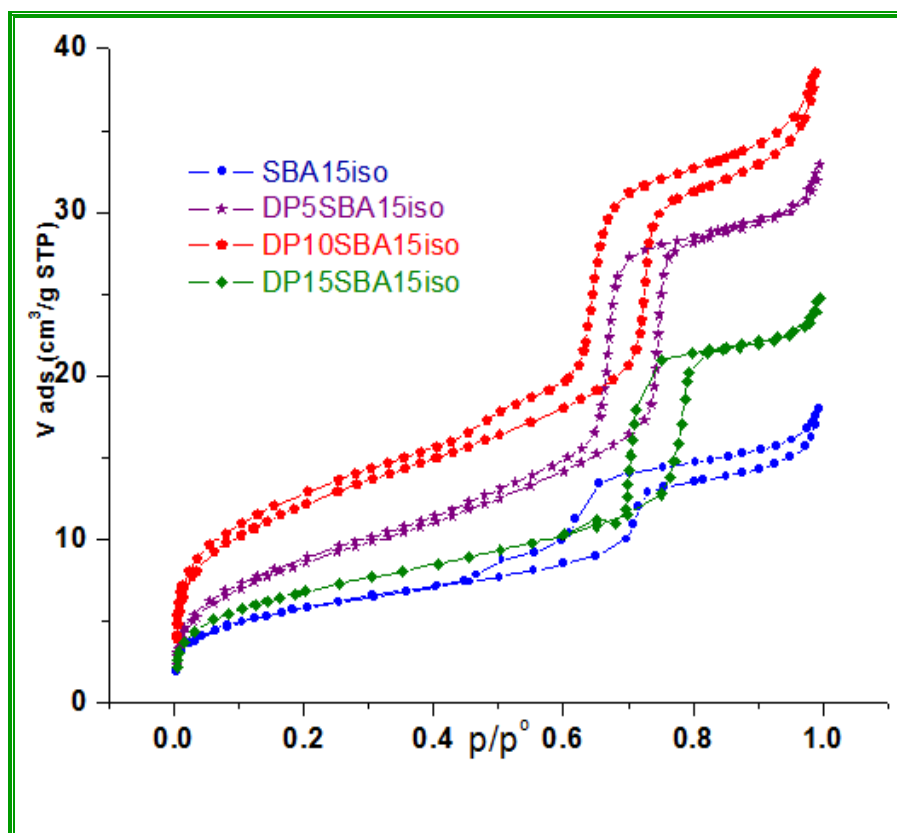
Muestra	% peso de materia orgánica (T <sub>1</sub> -T <sub>2</sub> )	% Peso eliminado	% Peso restante
SBA15 <sub>1</sub>	23.55	Inicial	---
SBA15et	11.72	50.24	49.76
SBA15ac	8.48	<b>63.99</b>	36.01
DP5SBA15 <sub>1</sub>	30.26	Inicial	---
DP5SBA15et	16.48	45.54	54.46
DP5SBA15ac	18.44	39.06	60.94
DP10SBA15 <sub>1</sub>	16.29	Inicial	---
DP10SBA15et	12.82	21.30	78.70
DP10SBA15ac	12.18	25.23	74.77
DP15SBA15 <sub>1</sub>	20.95	Inicial	---
DP15SBA15et	11.75	43.91	56.09
DP15SBA15ac	17.38	17.04	82.96
SBA15 <sub>2</sub>	49.69	Inicial	
SBA15iso	19.15	<b>61.5</b>	38.5
DP5SBA15 <sub>2</sub>	51.09	Inicial	---
DP5SBA15iso	19.93	<b>60.99</b>	39.01
DP10SBA15 <sub>2</sub>	40.73	Inicial	---
DP10SBA15iso	16.98	<b>58.31</b>	41.69
DP15SBA15 <sub>2</sub>	36.48	Inicial	---
DP15SBA15iso	16.82	<b>53.89</b>	46.11

## ANEXO 1. PRUEBAS DE EXTRACCIÓN

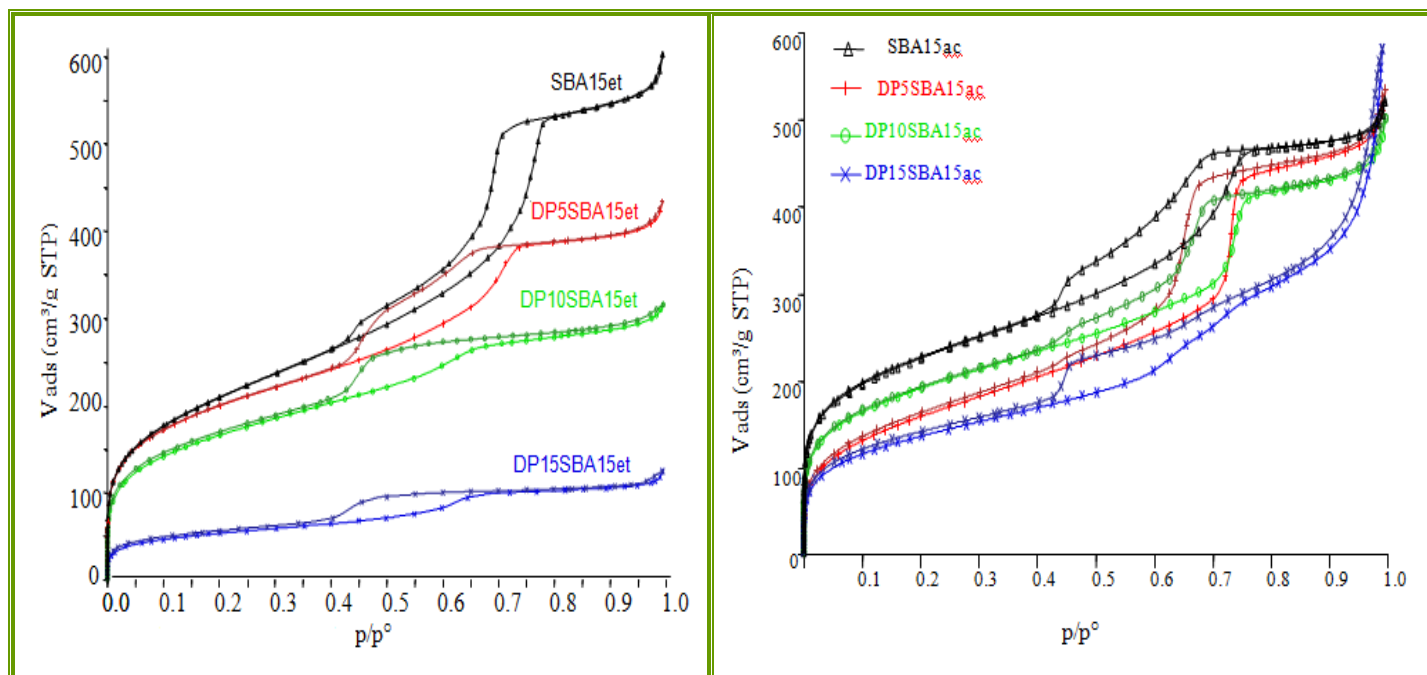
Los materiales mesoporosos sintetizados en la presente tesis contienen aproximadamente el doble de materia orgánica inicial que los sintetizados en otros trabajos (extraídos con los métodos reportados en la literatura). Sin embargo, el contenido de materia orgánica tras las extracciones pinta un panorama distinto, resultando ser más efectivo el método isoctano-etanol, debido a que elimina más del 50% de la materia orgánica en cada uno de los materiales sintetizados. En el caso del SBA15 los resultados son similares entre el método B y el Iso-EtOH, siendo ambos favorecedores. Sabiendo que el contenido de materia orgánica inicial es muy distinto en ambos trabajos, se entiende porque se observan en IR, las bandas del surfactante.

Las isothermas de adsorción-desorción de nitrógeno de los materiales se muestran en la figura 9.7, el tratamiento adecuado de los datos se recopila en las tablas 9.6 y 9.7, en las que se comparan las características superficiales de los materiales extraídos.

**Figura 9.7.** Isothermas de adsorción de los materiales extraídos con acetona/éter- acetona/agua, etanol/HCl y con isoctano/etanol.



## ANEXO 1. PRUEBAS DE EXTRACCIÓN



**Tabla 9.6.** Propiedades texturales de los materiales extraídos con etanol/HCl y con acetona/éter, acetona/ agua.

Compuesto	$S_{\text{BET}}$ ( $\text{m}^2/\text{g}$ )	$V_p$ ( $\text{cm}^3/\text{g}$ )	$D_{\text{BJH}}$ (nm)	$t_w$ (nm)
SBA15et	768	0.88	9.7	2.6
DP5SBA15et	724	0.67	8.2	4.4
DP10SBA15et	597	0.49	6.4	6.1
DP15SBA15et	196	0.17	6.6	5.4
SBA15ac	800	0.81	8.7	3.1
DP5SBA15ac	583	0.83	8.7	3.6
DP10SBA15ac	684	0.78	9.1	3.4
DP15SBA15ac	491	0.90	8.3	4.3

**Tabla 9.7.** Propiedades texturales de los materiales extraídos con isooctano/etanol.

Muestra	$S_{\text{BET}}$ ( $\text{m}^2/\text{g}$ )	$V_p$ ( $\text{cm}^3/\text{g}$ )	$V_{\text{mp}}$ ( $\text{cm}^3/\text{g}$ )	$D_{\text{BJH}}$ (nm)	$a_0$ (nm)	$t_{\text{wall}}$ (nm)
SBA15iso	466	0.546	0.009	7.4	12.44	5.04
DP5SBA15iso	706	1.146	0	6.5	11.59	5.09
DP10SBA15iso	984	1.344	0.033	6.0	12.14	6.14
DP15SBA15iso	553	0.798	0.002	9.2	11.86	2.66

Los datos de la superficie específica ( $S_{\text{BET}}$ ) de los materiales extraídos con isooctano-etanol son mayores o semejantes a los obtenidos por los otros dos métodos. En el caso del diámetro de poro ( $D_p$ ) y del espesor de la pared ( $t_{\text{wall}}$ ) son similares, excepto en el SBA-15 y el SBA-15 con 15% de DEPETES.

## ANEXO 1. PRUEBAS DE EXTRACCIÓN

---

Sí a los materiales sintetizados en el presente trabajo, se les aplicara una extracción adicional con una solución 1:1 acetona/agua, 120 veces el volumen en gramos ( $120 \text{ mL}_{\text{sol}}/\text{g}_{\text{mat}}$ ) durante 24 horas bajo agitación vigorosa y a temperatura ambiente, el resultado sería mucho mejor. Eliminando la mayor parte del surfactante residual. Esto permitiría hacer pastillas con mayor facilidad y consistencia, eliminándose la electrostática de los polvos, y mejorando las propiedades texturales y estructurales de los materiales. Al realizar menos extracciones que en los otros dos métodos, se pierde menos funcionalización y reactividad en la superficie.