



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO**

---

---

Facultad de Química

**“SÍNTESIS DE POLÍMEROS DE IMPRESIÓN  
MOLECULAR CON IVERMECTINA EN  
DIFERENTES DISOLVENTES Y  
DETERMINACIÓN DE LA INFLUENCIA EN SU  
ADSORCIÓN Y LIBERACIÓN.”**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

**P R E S E N T A**

**JAIRO MANUEL RODRÍGUEZ ESQUIVEL**



MÉXICO, D.F.

2011



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:** Jesús Gracia Mora

**VOCAL:** Alma Miriam Novelo Torres

**SECRETARIO:** María Guadalupe Lemus Barajas

**1er. SUPLENTE:** María Josefa Bernad Bernad

**2° SUPLENTE:** Abraham Faustino Vega

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

El presente trabajo se realizó en el laboratorio 100 del Departamento de Química Inorgánica, Unidad de Posgrado, Edificio B, Facultad de Química, UNAM.

Ciudad Universitaria.

**ASESOR**


**SUSTENTANTE**

---

**Dr. Jesús Gracia Mora**

---

**Jairo Manuel Rodríguez Esquivel**

A large, dark gray diamond shape is centered on the page. Inside the diamond is a circular area with a fine, diagonal hatched pattern. The text is written in a light gray, italicized serif font within this circle.

*A mis padres Marisela y  
Claudio por confiar en mí y  
brindarme su apoyo  
incondicional en todo  
momento.*

*A mis hermanos Claudio,  
Ivan, Marisol, Montse y  
Doris; además de mi abuela  
Carmen y tía Lili por creer en  
mi...*

## **AGRADECIMIENTOS.**

***Gracias a dios....***

***Gracias a mi familia por estar en todo momento  
conmigo y mostrarme que todo  
es posible.....***

***Gracias al Dr. Jesús Gracia Mora por depositar  
su confianza en mí, por su asesoría  
durante este y otros proyectos;  
pero sobre todo por su amistad....***

***Gracias a Grecia González Domínguez por  
tu apoyo, paciencia, amor y por ser parte  
fundamental en mi vida....***

***Gracias a mi jurado por sus  
aportaciones en el  
presente trabajo.***

***Gracias a todos mis amigos y compañeros de la  
Facultad de Química, por todos los buenos y  
enormes momentos que compartimos.***

***Gracias a todos los compañeros del  
laboratorio 100 de posgrado de química.***

***Gracias a todas las personas que han estado  
durante todo este largo camino, pero sobre todo  
me ayudaron en convertirme en una gran persona.***

***Gracias a la UNAM....***

## ABREVIATURAS

**MIP:** Polímero de Impresión Molecular.

**NIP:** Polímero de No Impresión Molecular.

**DMSO:** disolvente Dimetilsulfóxido.

**CH<sub>3</sub>CN:** disolvente Acetonitrilo.

**THF:** disolvente Tetrahidrofurano.

**AIBN:** azobisisobutironitrilo.

**UV:** Ultra violeta.

**PETRA:** Triacrilato de Pentaeritrol.

**TVMIP:** Polímero de Impresión Molecular sintetizado en el disolvente tetrahidrofurano y en condiciones de irradiación por luz uv.

**TVNIP:** Polímero de No Impresión Molecular sintetizado en el disolvente tetrahidrofurano y en condiciones de irradiación por luz uv.

**TCMIP:** Polímero de Impresión Molecular sintetizado en el disolvente tetrahidrofurano y en condiciones de calor.

**TCNIP:** Polímero de No Impresión Molecular sintetizado en el disolvente tetrahidrofurano y en condiciones de calor.

**CVMIP:** Polímero de Impresión Molecular sintetizado en el disolvente acetonitrilo y en condiciones de irradiación por luz uv.

**CVNIP:** Polímero de No Impresión Molecular sintetizado en el disolvente acetonitrilo y en condiciones de irradiación por luz uv.

**CCMIP:** Polímero de Impresión Molecular sintetizado en el disolvente acetonitrilo y en condiciones de calor.

**CCNIP:** Polímero de No Impresión Molecular sintetizado en el disolvente acetonitrilo y en condiciones de calor.

**DVMIP:** Polímero de Impresión Molecular sintetizado en el disolvente dimetilsulfóxido y en condiciones de irradiación por luz uv.

**DVNIP:** Polímeros de No Impresión Molecular sintetizado en el disolvente dimetilsulfóxido y en condiciones de irradiación por luz uv.

**DCMIP:** Polímero de Impresión Molecular sintetizado en el disolvente dimetilsulfóxido y en condiciones de calor.

**DCNIP:** Polímeros de No Impresión Molecular sintetizados en el disolvente dimetilsulfóxido y en condiciones de calor.

## INDICE

ABREVIATURAS.....	5
RESUMEN.....	9
INTRODUCCIÓN.....	10
GENERALIDADES.....	13
1. Garrapatas.....	13
2. Ixodícidas.....	15
2.1. Métodos de aplicación de ixodícidas.....	16
2.2. Ivermectina.....	17
3. Mecanismo de Liberación en Materiales Poliméricos.....	20
3.1. Sistemas controlados por mecanismos físicos.....	21
3.1.1. Sistemas controlados por difusión.....	21
3.1.2. Sistemas controlados por disolvente.....	22
3.1.2.1. Sistemas controlados por hinchamiento.....	22
3.1.2.2. Sistemas osmóticos.....	23
3.1.3. Sistemas controlados por vía química.....	23
3.1.3.1. Sistemas bioerosionables.....	24
3.2. Sistemas de Liberación Modificada.....	24
3.3. Formas Farmacéuticas de liberación Modificada.....	26
3.4. Modelos para el análisis de Liberación Modificada <i>in Vitro</i> .....	27
3.4.1. Modelo de Orden Cero.....	28
3.4.2. Modelo de Primer orden.....	28
3.4.3. Modelo de Higuchi.....	29
3.4.4. Modelo Korsmeyer-Peppas.....	30
3.4.5. Modelo de Peppas-Sahlin.....	31
3.5. Modelo de Peppas-Fassihi.....	32
4. Polímeros de Impresión Molecular (MIP).....	33

4.1.	Rutas de síntesis de polímeros de impresión molecular.....	35
4.1.1.	Polímeros impresos Covalentes.....	36
4.1.2.	Polímeros impresos No Covalente.....	36
4.1.3.	Polímeros impresos Semicovalentes.....	37
4.2.	Monómero.....	38
4.3.	Entrecruzador.....	38
4.4.	Iniciador.....	39
4.5.	Disolvente.....	39
4.5.1.	Integridad del MIP y accesibilidad de molécula templada.....	43
4.5.2.	Área de Contacto en el MIP.....	44
5.	Caracterización de polímeros.....	45
5.1.	Caracterización morfológica.....	45
5.2.	Caracterización de la afinidad de los MIPs polímeros.....	46
5.2.1.	Modelo de Isotherma de Freundlich.....	47
5.2.2.	Modelo de Isotherma de Langmuir.....	47
5.2.3.	Modelo de Isotherma de Jovanovic.....	48
5.2.4.	Modelo de Isotherma Langmuir-Freundlich.....	48
5.2.5.	Modelo de Isotherma Jovanovic-Freundlich.....	49
5.2.6.	Modelo de isoterma Alosterica.....	49
5.3.	Caracterización química.....	50
6.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	51
7.	OBJETIVO GENERAL.....	53
7.1.	Objetivos Particulares.....	53
8.	MATERIAL Y EQUIPO.....	54
8.1.	Equipo.....	54
8.2.	Material.....	55
9.	METODOLOGÍA.....	56



9.1.	Síntesis de MIP y NIP. ....	56
9.2.	Técnica experimental.....	56
9.3.	Tratamiento de Polímeros.....	58
9.3.1.	Curva patrón de ivermectina. ....	58
9.3.2.	Lavado de polímeros.....	59
9.3.3.	Isotermas de adsorción.....	60
9.3.4.	Cinética de Liberación. ....	62
9.3.4.1.	Saturación de polímeros. ....	62
9.3.4.2.	Liberación de Ivermectina. ....	63
10.	RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS. ....	65
10.1.	Síntesis de Polímeros. ....	65
10.2.	Reducción de tamaño de partícula en MIPs y NIPs.....	66
10.3.	Extracción de Molécula Horma.....	67
10.4.	Isotermas de enlace.....	71
10.4.1.	Elección del Modelo de Isotherma de enlace. ....	71
10.4.2.	Análisis de Resultados con el modelo de isoterma Jovanovic-Freundlich... 78	
10.5.	Carga de los Polímeros. ....	84
10.6.	Elección del Modelo de Liberación de Ivermectina. ....	86
10.7.	Modelo de liberación Peppas-Sahlin y Peppas-Fassihi ....	87
11.	CONCLUSIONES. ....	99
12.	PERSPECTIVAS.....	101
13.	BIBLIOGRAFÍA.....	102

## RESUMEN.

El presente trabajo utilizó la tecnología conocida como Polímeros de Impresión Molecular (MIP de sus siglas en inglés) y de trabajos recientes de su aplicación en Farmacia, para la generación de una matriz polimérica capaz de reconocer la ivermectina y liberarla gradualmente y por periodos prolongados.

Se utilizó la ivermectina como molécula horma, la cual tiene un efecto acaricida muy bueno en el ganado bovino, para la obtención de MIPs, donde se ocuparon tres porógenos (disolventes) distintos: DMSO (dimetilsulfóxido), CH<sub>3</sub>CN (acetonitrilo) y THF (tetrahidrofurano); la molécula iniciadora de la reacción fue el AIBN, como monómero se utilizó al ácido metacrílico y como entrecruzador el triacrilato de pentaeritrol; después de la obtención de los MIPs y de polímeros que no contenían la molécula horma NIPs, empleando dos condiciones de reacción diferentes (calor como la irradiación de luz UV), se sometieron a un proceso de reducción de partícula; seguido del lavado con etanol utilizando un sistema de reflujo Soxhlet para la eliminación de la molécula horma y posteriormente se caracterizaron a través de isothermas de enlace y se realizaron ajustes con diversos modelos reportados en la literatura para sistemas de matrices poliméricas.

Una vez hecho el reconocimiento de los polímeros MIPs y NIPs son capaces de recuperar ivermectina selectivamente, se pusieron en contacto con una disolución saturada de ivermectina para conocer la cantidad de ivermectina que pueden recuperar y si hay diferencia entre polímeros que estuvieron en contacto con molécula horma y los que no la tuvieron.

Por último, se realizaron cinéticas de liberación *In Vitro* para visualizar la capacidad de retención de ivermectina y determinar si son capaces de mantener una liberación constante y prolongada de ivermectina en los diferentes porógenos sintetizados en diferentes condiciones, con el objeto de dar a conocer la influencia entre las condiciones de síntesis y la influencia del disolvente en la obtención de los polímeros molecularmente impresos y sus posibles aplicaciones en un futuro.

## INTRODUCCIÓN.

El ganado bovino ha sido para el hombre una fuente de alimento desde tiempos antiguos. Hoy en día se sigue obteniendo de los bovinos su carne y leche, además de ser una actividad económica muy importante en muchos países, un ejemplo de esto es México, que tiene una producción de 1 700 418 toneladas de carne de vaca y ternera, conjuntamente con 10 592 303 miles de litros de leche en el año 2009<sup>[1]</sup>.

La cantidad y calidad tanto de la carne como de la leche depende de entre muchas cosas, del estado de salud del animal, éste a su vez está influenciado por el entorno donde se desarrolla la vida del bovino. Los factores que afectan su entorno son la alimentación, el clima, tipo de ganado (*Bos taurus*, predomina en México), enfermedades; entre otros factores.

Muchas de las enfermedades en los bovinos, son causadas por diferentes condiciones a las que son expuestos, como su alimentación al aire libre, el contacto directo con otros animales, las malas condiciones en las que son sometidos, una mala obtención de su leche; etc. De entre todas estas condiciones, podemos destacar las causadas por parásitos, como los piojos y garrapatas; siendo estas últimas un vector de enfermedades en los bovinos.

Las garrapatas (*Boophilus microplus*) son artrópodos, considerados ectoparásitos porque sólo permanecen en la superficie del organismo al que parasitan. Son uno de los principales vectores de enfermedades para humanos y animales domésticos. En los animales de ganado, como por ejemplo los bovinos, son responsables de la transmisión de *Anaplasma marginale* responsable de la anaplasmosis y *B. microplus* encargado de la Babesiosis<sup>[2]</sup>.

El tratamiento que se aplica para erradicar la garrapata es el uso de acaricidas químicos, comúnmente los que se aplicaban en forma de baño; pero siendo otra alternativa los de aplicación tópica, los de uso frecuente son fluazuron y fipronil; también se emplean cotidianamente los inyectables como las avermectinas<sup>[2]</sup>.

La ivermectina es un tipo de avermectina que se ocupa como acaricida en México para controlar la plaga de garrapatas en el ganado; aunque

algunas especies de garrapatas han mostrado resistencia, aún se considera como un medicamento en ganado bovino de elección. Pero además de los efectos antiectoparásito presenta efectos sobre los escarabajos estercoleros (*Onthophagus hirculus*), que son los encargados de degradar el excremento del ganado, esto es debido a que la ivermectina es también eliminada en las heces fecales dada la gran cantidad administrada del y por su baja absorción en el organismo.

Debido a la administración de medicamentos por las diferentes formas de aplicación, resulta muy complicado el suministro continuo del medicamento a grandes cantidades de ganado, aunado al difícil manejo de animales de gran tamaño y la alta cantidad de ivermectina que se administra y la poca que es absorbida, se ha pensado en la búsqueda de nuevas formas de administración de medicamentos que contengan ivermectina. El uso de Sistemas de Liberación Controlada (SLC), es una alternativa en la que se trabaja, ya que ofrece grandes ventajas como son la disminución en el número de administraciones, la duración del efecto sistémico por periodos prolongados debida a la liberación controlada de ivermectina, la disminución en la cantidad administrada de ivermectina comparada con los medicamentos ya existentes; además de un mayor aprovechamiento de ivermectina en el organismo administrado y disminución en la cantidad de ivermectina excretada.

La forma de lograr un sistema de liberación controlada, es mediante la generación de matrices poliméricas que permiten una liberación gradual de ivermectina, por lo cual desde hace años se ha venido trabajando con MIP, sus siglas en inglés significan molecular imprint polymer, que en español se conocen como polímeros de impresión molecular; son moléculas sintéticas basadas en fenómenos biológicos, en este caso el de reconocimiento molecular que siguen los anticuerpos. Sus aplicaciones conocidas en el campo de la química analítica como sensores o en columnas para la separación y/o extracción de moléculas selectivamente o su aplicación ecológica para purificación en agua, ha mostrado grandes resultados pero su poco uso en el campo de la medicina, en la creación de materiales biomiméticos, han despertado el interés para la creación de un sistema de liberación modificada.

Al conocer la propiedad de los MIPs de mantener una liberación controlada de una molécula desde una matriz polimérica, así mismo, los factores que influyen en la misma; que son: la cantidad del monómero, el tamaño de molécula horma y el disolvente o porógeno empleado. Se decidió trabajar en el disolvente, debido a que es una parte importante en la formación de las cavidades en la matriz para retener la molécula horma, además de que existen pocos trabajos de investigación que hacen alusión a este factor.

## GENERALIDADES.

### 1. Garrapatas.

La Garrapata es un ectoparásito (parasita la piel y/o el tejido subcutáneo), pariente de los arácnidos. Se encuentra en el orden de los Parasitiformes (todos son parásitos), formando el sub-orden Ixodida, que se dividen en tres familias: Ixodida, Argasidae y Nuttalliellidae. La familia Ixodida se ramifica en: Proscrita, la cual está representada por el género Ixodes y Metastriata que incluye 13 géneros. Esta familia contiene cerca de 650 especies; que son aproximadamente el 80% de las especies de garrapatas descritas<sup>[3]</sup>.

Dentro de todas las especies que se conocen de garrapatas, en particular Boophilus microplus y Boophilus annulatus se encuentran dentro de la familia Ixodidae, pertenecientes al género Boophilus, son de los ectoparásitos con mayor importancia en la medicina veterinaria; debido a que su principal hospedero es el ganado y es uno de los principales vectores para transmitir enfermedades provocadas por bacterias, virus, protozoos y hongos.

Al género Boophilus, se les puede identificar por su carencia de ornamentación, su “basis capituli” es corto y ancho, con márgenes laterales redondeados; no presentan festones (divisiones en las orillas de su ornamenta), tienen cuatro placas adanales y su tamaño es medio; la mayoría son uni-húesped (en todo su ciclo de vida solo parasitan una sola vez),<sup>[3-4]</sup>.

El ciclo de vida de la garrapata es de cuatro estadios, los cuales son huevo, larva, ninfa y adulto. El ciclo de reproducción mostrado en la figura 1, se inicia en la superficie del anfitrión, donde ocurre el acoplamiento entre el macho y la hembra, esta se enjurgita (se llena de sangre) del anfitrión y se deja caer en lugares donde pueda ovopositar los huevos después de 4 a 5 días, y terminen de madurar para originar a la larva (cuenta con tres pares de patas) la cual, al encontrar a un anfitrión, se adhiere y se alimenta por primera vez, posteriormente se desprende y continúa con su desarrollo al pasar a ninfa (teniendo cuatro pares de patas), en un periodo de 3 a 4 días, donde nuevamente encuentra un anfitrión para alimentarse y finalmente se puede volver a desprender para madurar a forma adulta (de 3 a 4 días),

donde ya hay una diferenciación entre macho y hembra (por una abertura genital), donde se cierra el ciclo y se inicia uno nuevo. Una garrapata llega a poner entre 2000-3000 huevos, además de que sólo puede parasitar a un solo hospedero en todo su ciclo (como *Boophilus microplus*), como ocurre por lo regular en los bovinos. Las garrapatas pueden también entrar en un periodo de latencia de hasta 250 días<sup>[5-7]</sup>.

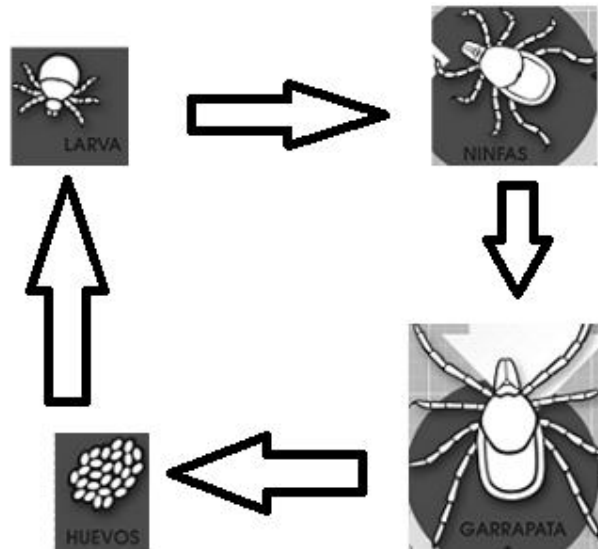


Figura 1.- Ciclo de vida de la Garrapata<sup>[7]</sup>.

En México *Boophilus microplus* se ha encontrado como la principal especie de garrapata que parasita al ganado bovino y, sobre todo, como vector de transmisión de enfermedades, las cuales influyen mucho en la calidad de los productos provenientes de los bovinos, directamente en su piel por la mordida que dejan estos parásitos, por la pérdida de peso, de leche y la anemia que generan al alimentarse de la sangre de la vaca, las enfermedades que provocan al transmitir algunos parásitos como lo son piroplasmosis por *Babesia divergens* y *Babesia bovis*; Anaplasmosis por *Anaplasma marginate* y la Fiebre Q por *Rickettsia burnetti*<sup>[2, 6]</sup>.

La ganadería da mucha importancia al control de esta plaga, ya que ha producido grandes pérdidas, por lo cual hace uso de los acaricidas químicos para el control y erradicación de esta plaga, en particular de la garrapata. Con el paso de los años, se han encontrado una gran variedad de clases o familias con propiedades ixodicidas (agentes que muestran efecto tóxico sobre garrapata).

## 2. Ixodicidas.

Grupo o Familia	Ejemplos	Mecanismo de Acción
Arsenicales	Arseniato de sodio	Inhibe enzimas respiratorias de la célula, afectando el mecanismo de respiración, ocasionando la destrucción del protoplasma.
Organoclorados	DDT (dicloro difenil tricloroetano) Hexaclorobenceno (lindano) Eldrin, toxafenol	Actúa en el axón nervioso, aumentando la permeabilidad de $N^+$ y $K^+$ , inhibiendo la $Ca^{2+}$ ATP-asa; ocasionando la parálisis y muerte.
Organofosforados	Derivados de ácido fosfórico. Dioxiathion, supona y esteladon	Inhibición de acetilcolinesterasa, originando pérdida de movilidad muscular y muerte.
Carbamatos	Propoxur	Inhibición de acetilcolinesterasa, originando pérdida de movilidad muscular y muerte.
Piretroides	Piretrinas, Permetrina, Deltametrina, Fumetrina y Cyflutrina	Actúa en el axón nervioso, aumentando la permeabilidad de $N^+$ y $K^+$ , inhibiendo la $Ca^{2+}$ ATP-asa; ocasionando la parálisis y muerte.
Amidinas Cíclicas	Amitraz, Chlordimeform, Cloromethiuron y Cymiazol	Inhibidor de monoaminoxidasa, inhibiendo síntesis de adrenalina y noradrenalina, afectando sistema nervioso y muscular.
Lactonas Macrocíclicas	Abermectinas (ivermectinas y doramectinas) y milbemicinas (moxidectina)	Gran afinidad por receptores glutamato, incrementando permeabilidad de $Cl^-$ e impidiendo impulsos; provocando la muerte.
Fenilureas o inhibidores de crecimiento	Fluazuron, Triflumuron	Afecta quitina en el exoesqueleto de la garrapata, esteriliza los huevos de garrapata.
Cloronicotínicos	Imidacloprid, Advantage	Inhibe receptores nicotínicos, evitando comunicación entre neuronas.
Fenilpirazolonas	Fipronil	Gran afinidad por receptores glutamato, incrementando permeabilidad de $Cl^-$ e impidiendo impulsos; provocando la muerte.

**Tabla 1. Grupos y familias de los diferentes ixodicidas<sup>[8]</sup>.**

También conocidos como ectoparasiticidas, son los compuestos utilizados para la eliminación de plagas (en especial la garrapata) en el ganado a través de la administración por diferentes técnicas. En la Tabla 1, podremos observar la gran variedad de ixodicidas que existen, algunos ejemplos de ellos y mecanismo de acción.



## **2.1. Métodos de aplicación de ixodicidas.**

Para la gran variedad de ixodicidas, existen diferentes métodos de aplicación, los cuales van desde el baño de inmersión; el que consiste en un pozo por donde se hace pasar al ganado, cubriendo en su totalidad el cuerpo del animal, tratando de penetrar las partes menos accesibles como las ubres, debajo de la cola y en el interior de las orejas. Por lo regular, las sustancias como organofosforados, piretroides e inhibidores del desarrollo, sólo o en mezclas son aplicados por este método estando en disolución. Las ventajas de este método son: es muy económico y la opción eficaz para tratar gran cantidad de animales. Entre las desventajas, que son muchas, como el uso de grandes cantidades de agua, además de tener mucho personal al cuidado del ganado, el estar preparando grandes cantidades de baño y la desventaja más importante es la generación de grandes cantidades de residuos tóxicos<sup>[9]</sup>.

El baño de aspersión consiste en una cámara cerrada o túnel por donde se hacen pasar a los animales y se les rocía con el ixodicida, los más comunes administrados por este método son los organofosforados, piretroides y amitraz, además de los inhibidores de desarrollo. Su ventaja es que no hay problema con la contaminación por la generación de residuos (siempre y cuando cuente con un escurridor que permita la recuperación de los residuos), también se utiliza para grandes cantidades de ganado, ofrece la ventaja de adaptación dependiendo del tamaño del animal y del cambio del antigarrapaticida. Aunque también presenta desventaja en el alto consumo de agua y electricidad, así como no es muy eficaz con las garrapatas, debido a que presenta un contacto rápido y sólo superficial<sup>[10]</sup>.

Un pour-on es simplemente un líquido concentrado de algún ixodicida, el cual se vierte en el lomo del animal en forma de chorro, se aplica con un dosificador (pistola), también existe la variante de spray-on (líquido pulverizado). En este método se usan piretroides, inhibidores del desarrollo, amitraz y organofosforados. Ofrece las ventajas de que se puede aplicar en el lugar donde se encuentre el ganado, no genera residuos, algunos presentan actividad al contacto directo y sistémico (penetra al organismo) como el fluazurón. Las desventajas es que su aplicación debe de ser con el

animal seco y limpio, además de que se evite la administración en días lluviosos y con mucho viento<sup>[11]</sup>.

Entre otros métodos de aplicación, se encuentran algunos dispositivos como orejeras, rascaderas o polveras, así como aditivos además de los inyectables, los cuales se ha visto la poca eficiencia para controlar las garrapatas.

El bolo intraruminal es un dispositivo que se introduce en el organismo del animal, donde es liberado gradualmente. Existe el bolo osmótico, el cual suele ser metálico, donde se va liberando gradualmente la sustancia antigarrapata como lo es la ivermectina y el bolo de abrasión, donde se administra con una sustancia inerte que al irse degradando se libera el principio activo (como los inhibidores del desarrollo). Entre las ventajas que ofrece son: la administración rápida, un efecto sistémico en el organismo, tiempos prolongados de acción, no se ven afectados por el clima y tiempos residuales de hasta cuatro meses; este último también es una de las desventajas, debido a que se debe de esperar largos periodos para poder sacrificar al ganado, además de que no puede ser administrado en ganado destinado para ordeñar<sup>[12]</sup>.

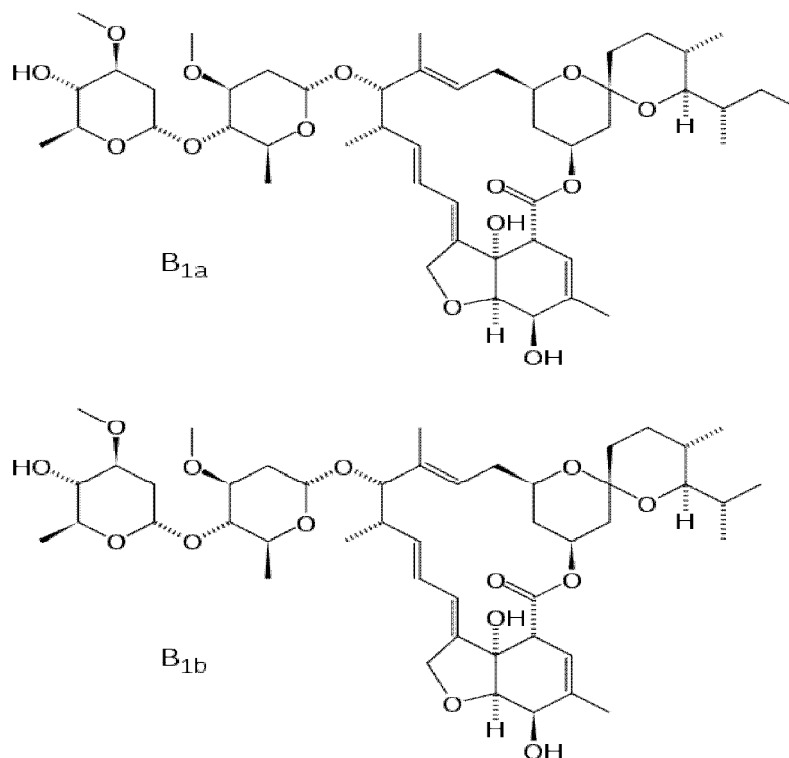
Entre otros métodos de aplicación, podemos encontrar los inyectables que hoy en día ocupan las lactonas macrocíclicas (endectocidas), ya que ofrecen muchas ventajas, entre las que destacan la fácil administración además de dosificación; el riesgo de contaminación es mínimo y la gran ventaja es la de eliminar ectoparásitos y endoparásitos.

Las endectocidas son las más usadas como ixodicidas, debido a su alta eficacia a bajas concentraciones, además de su prolongada vida media<sup>[13]</sup>. Pueden presentar un efecto ectoparásitocida y endoparásitocida. La endectocida de mayor importancia, destaca la ivermectina por su gran potencial y el amplio espectro que presenta. Además de un amplio espectro de seguridad en gusanos redondos, pulmonares y del riñón.

## **2.2. Ivermectina**

La ivermectina es un compuesto que pertenece al grupo de lactonas macrocíclicas, compuesta de una mezcla de dos modificaciones químicas

de la avermectina, conteniendo 22, 23-dihidroavermectina-B1a en un 80% y 22, 23-dihidroavermectina-B1b mayor a 20%<sup>[14]</sup>. Es un producto natural de la fermentación de una bacteria (*Streptomyces avermitilis*).



**Figura 2.- Las dos moléculas que conforman la mezcla de ivermectina.**

La ivermectina que está representada en la figura 2, fue descubierta en 1975<sup>[15]</sup> y comercializada por primera vez en 1981 por Merck Sharp and Dohme como un agente antiparasitario. Entre las propiedades que se le destacan, es la de tener una estructura similar a un antibiótico macrólido, pero no tiene efecto antibacteriano, aunque cuenta con la propiedad de tener un potencial antihelmíntico y efectos como insecticida, además de un amplio espectro sobre nemátodos (incluyendo más a las formas larva y adulta) y también tiene una actividad agonista alta en parásitos artrópodos de animales domésticos y ganado.

El mecanismo de acción de la ivermectina, involucra la potencialización de los efectos del ácido  $\alpha$ -amino butírico (GABA), que es un neurotransmisor inhibitorio de las respuestas motoras de los parásitos, como la interacción de los canales glutamato-cloruro independientes de GABA, que incrementa la permeabilidad de la membrana celular de las neuronas del parásito a iones

cloruro<sup>[16]</sup>; lo que lleva a la inhibición neuromuscular desencadenando la muerte del parásito.

Entre las propiedades fisicoquímicas que muestra la ivermectina, además de ser en principio una mezcla de dos moléculas, tiene un peso molecular aproximado de 875.11 y 861.06, su apariencia es de polvo blanco o un poco amarillo, es soluble en tolueno, acetato de etilo, etanol, metanol y una solubilidad muy baja en agua, que va de entre 0.06 a 0.009 ml/ L<sup>[17-18]</sup>; indicando que tiene propiedades lipofílicas, que le atribuyen periodos largos de persistencia en el organismo. Son sensibles a los ácidos, debido a que una disolución de ácido clorhídrico diluido puede generar un corte en la primera azúcar en el carbono 13<sup>[19]</sup>, además de ser un compuesto fotosensible<sup>[15]</sup>.

La ivermectina posee un buen margen de seguridad debido a que los mamíferos no presentan canales de iones cloro ni glutamato-dependientes en sus células donde interacciona la ivermectina, además de tener poca afinidad por sitios semejantes; las lactonas macrocíclicas no cruzan fácilmente la barrera hematoencefálica<sup>[20]</sup>. Su mecanismo de acción, la convirtieron rápidamente en el tratamiento de elección en parasitosis por nemátodos y artrópodos en vacas, ovejas, cabras, cerdos y caballos.

En el mercado, existen una gran variedad de productos farmacéuticos veterinarios que tienen como principio activo o en conjunto a la ivermectina; como Ivertec® disolución oral (ANIMAL CARE PRODUCTS, S.A. DE C.V.) , Parmectin Plus Pasta® (PARFARM), Tropero® disolución inyectable (Laboratorio VABRIELA S.R.L.), Iverfort® disolución inyectable (GANAFORT), Ivomec® disolución inyectable (MERIAL), Ivomec F® disolución inyectable (INVETSA), Ivomec SR Bolus® bolo (MERIAL), Bovimec Pour On® disolución (AGROVETMARKET S.A.); entre otros.

La alta lipofilicidad que presenta la ivermectina facilita su absorción en torrente sanguíneo, además de ser muy afín al tejido adiposo lo que permite una liberación lenta, logrando periodos largos de residencia, y así, aumentando su biodisponibilidad .

Entre los factores que afectan la biodisponibilidad de la ivermectina, se encuentra la vía de administración, por administración subcutánea, intraruminal y oral; se distribuyen en altas concentraciones en hígado y tejido

adiposo, además de mostrar bajas concentraciones en cerebro<sup>[21-22]</sup>. Hay una mayor disponibilidad de ivermectina por administración parenteral que en una oral, debido a la degradación de la matriz polimérica por la flora digestiva y la obtención de una mayor cantidad de ivermectina en el medio, otro factor es la formulación, se ha demostrado que diferentes formulaciones de un mismo fármaco, no presentan la misma biodisponibilidad ya que no se libera la misma cantidad de principio activo debido a las interacciones entre los excipientes, el tamaño de partícula, las moléculas y el pH de los líquidos corporales <sup>[21]</sup>. En los rumiantes, se presenta el fenómeno del cierre de la gotera esofágica que está activo en el lactante y esporádicamente en el adulto, evitando el paso de ciertas soluciones orales por el rumen-retículo y pasando directamente al abomaso; produciendo un errático proceso de absorción. Otros factores que intervienen en la biodisponibilidad son: la dieta, edad, el estado de nutrición, la enfermedad parasitaria, selectividad de enantiómeros, metabolismo del fármaco e inhibición competitiva de metabolitos<sup>[21]</sup>.

### **3. Mecanismo de Liberación en Materiales Poliméricos.**

Hoy en día se buscan sistemas de transporte de medicamentos con una alta especificidad, efectividad y sin efectos tóxicos; además de reducir la cantidad de administraciones y prolongar el efecto. Los materiales poliméricos, son producto del entrecruzamiento de moléculas que forman una especie de malla; por lo regular, la molécula de interés que se desea liberar desde una matriz polimérica, se encuentra dentro de esta, donde se logra una velocidad de liberación lenta en base a el control de las propiedades del polímero y considerando las características del medio *in vivo*. Con base en estos factores, se pueden diseñar sistemas de liberación que actúen lentamente, de forma continua, por largos periodos y reduciendo la cantidad de administraciones<sup>[23-24]</sup>.

La liberación prolongada consiste en reducir la cantidad de administraciones de un fármaco por lo menos a la mitad; se clasifican en general en dos tipos. La primera en liberación sostenida donde se libera

rápidamente el fármaco y desde ese momento se mantiene su liberación y efecto terapéutico por un periodo amplio. La segunda es liberación controlada donde se libera lentamente por un periodo amplio y se puede deducir su cinética de liberación.

Las matrices poliméricas cuentan con diversos mecanismos por los cuales pueden ejercer una liberación controlada; desde interior a su sitio de acción. Los cuales son: 1) sistemas controlados por mecanismos físicos, 2) sistemas controlados químicamente, 3) sistemas activados por un disolvente y 4) Sistemas controlados magnéticamente<sup>[24]</sup>.

Entre los polímeros que se emplean para la administración de fármacos, se pueden clasificar fácilmente en dos grupos con base a su tamaño: las micropartículas (1 a 250  $\mu\text{m}$ ) y nanopartículas ( $< 1 \mu\text{m}$ )<sup>[23]</sup>; donde podemos encontrar cápsulas en las cuales; el fármaco está dentro de una membrana polimérica y esferas, además de encontrarse disperso por toda la membrana.

### **3.1. Sistemas controlados por mecanismos físicos.**

Entre los transportes físicos destacan los sistemas controlados por difusión y los que son controlados por el disolvente.

#### **3.1.1. Sistemas controlados por difusión.**

Es el paso de una molécula a través de la matriz polimérica por una diferencia de concentración; que puede ser de un núcleo rodeado por una membrana homogénea y microporosa; puede hincharse o no dependiendo del medio biológico donde se encuentra. Cuentan con la ventaja de seguir la primera ley de Fick (difusión por gradiente de concentración de mayor a menor) y de mantener una concentración constante, pero con la desventaja del rompimiento de la membrana y el generar una liberación brusca; esta desventaja se puede evitar optimizando las propiedades de la matriz polimérica, además de la dependencia de la geometría del sistema. En la ecuación [3.1] se muestra la expresión matemática de la velocidad de liberación y cantidad total liberada por un sistema con geometría esférica<sup>[24]</sup>.

$$M_t = \frac{4\pi D_i K}{(r_e - r_i) / (r_e r_i)} (c_{i2} - c_{i1}) \quad [3.1]$$

Donde  $D_i$  es el coeficiente de difusión independiente de concentración,  $M_t$  cantidad del fármaco liberado en el tiempo  $t$ ,  $K$  es coeficiente de partición del fármaco,  $r_e$  y  $r_i$  radio externo e interno de la esfera respectivamente,  $c_{i1}$  y  $c_{i2}$  concentración del fármaco dentro y fuera de la matriz respectivamente. Existen también matrices poliméricas donde el fármaco se encuentra uniformemente distribuido o disperso en un polímero sólido, su difusión es a través del soporte o por microporos. Explicándose el fenómeno con la segunda ley de Fick (difusión no constante o que cambia continuamente), donde se disminuye la velocidad del fármaco al aumentar el recorrido de difusión, por esta razón es difícil generar matrices con liberación de fármaco constante y reproducibles por largos periodos, una alternativa es la generación de matrices con geometrías especiales que compensen la disminución de liberación con el paso del tiempo (ecuación 3.2) en la cual;  $D_i(C_i)$  es el coeficiente de difusión dependiente de la concentración, relacionado con las características estructurales del polímero que transporta el fármaco<sup>[24]</sup>.

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial z} \left[ D_i (c_i) \frac{\partial c_i}{\partial x} \right] \quad [3.2]$$

### 3.1.2. Sistemas controlados por disolvente.

Es un sistema de liberación lenta, donde se va liberando el fármaco del interior de la matriz polimérica conforme va penetrando el disolvente, ya sea por vía osmótica o hinchamiento.

#### 3.1.2.1. Sistemas controlados por hinchamiento.

En este sistema el fármaco se encuentre disuelto o disperso en una base entrecruzada o no polimérica, donde se hincha pero no se disuelve en agua. Estos sistemas denominados hidrogeles, han despertado gran

interés porque al menos teóricamente es posible conseguir una liberación constante.

La liberación se lleva por un proceso de absorción de agua que penetra en la matriz polimérica y la desorción del principio activo al medio; en esta desorción también influye el grado de entrecruzamiento y del balance hidrófilo/hidrófobo de la matriz polimérica. Una explicación general consiste que la matriz polimérica se encuentra inicialmente en un estado vítreo, que al irse hinchando su temperatura de transición puede alcanzar valores menores, permitiendo el paso a un estado elastomérico, con ello el fármaco difunde desde regiones hinchadas y su velocidad de liberación depende de la interface vítrea/ elástica<sup>[24]</sup>.

Se puede predecir el mecanismo de liberación en este tipo de matrices, con el número de Deborah<sup>[24]</sup>, que es solo el número de interface de hinchamiento,  $D_e$ , el cual se define por la ecuación 3.3; donde  $\lambda$  es el tiempo medio de relajación del sistema polimérico/ disolvente;  $\phi$  el tiempo de difusión definido por  $h^2 / D$ , en el cual  $h$  es el espesor de la muestra y  $D$  el coeficiente de difusión del soluto en el sistema; cuando  $D_e$  es mayor o menor a uno, se considera migración Fickiano, pero si es igual a 1 será no Fickiano<sup>[24]</sup>.

$$D_e = \lambda / \phi \quad [3.3]$$

### 3.1.2.2. Sistemas osmóticos

En este sistema, se encuentra el núcleo del fármaco rodeado por una membrana polimérica selectiva al agua, pero que no permite el paso del fármaco, esta base cuenta con una pequeña apertura por la cual el fármaco es liberado lentamente por medio del aumento de la presión hidrostática<sup>[24]</sup>.

### 3.1.3. Sistemas controlados por vía química

La liberación del principio activo se obtiene por una reacción química, donde el modelo ideal es aquel donde el enlace covalente se realiza por grupos que se pueden degradar en medios fisiológicos y



dependen de tres factores, el primero es carácter hidrofílico o lipofílico de la matriz polimérica, dependiendo del sitio de acción. El segundo factor es la degradación de la matriz polimérica que soporta al fármaco (donde puede estar unido directamente a la cadena polimérica o soportado por un grupo espaciador), aumentando flexibilidad y movilidad a la cadena, reduciendo interacciones con grupos vecinos. Y el tercer factor es la construcción de la cadena polimérica biodegradable o bioestable, pero que se disuelva la cadena polimérica después de liberar al fármaco.

#### **3.1.3.1. Sistemas bioerosionables**

El fármaco se encuentra disperso en una matriz polimérica, la cual se va degradando a través del cambio de sus propiedades físico-químicas con el paso del tiempo dentro del organismo, permitiendo la liberación del principio activo. Estos sistemas pueden tener la desventaja de que productos de metabolismo de la matriz polimérica pueden ser tóxicos, inmunogénicos o carcinogénicos.

La bioerosión en volumen, depende de la velocidad de penetración del agua, además de la forma de aplicación, debido a que al ocurrir la ruptura en pequeños pedazos, la liberación del fármaco es incontrolada, mientras el sistema se va desintegrando. Y en la erosión superficial la velocidad de penetración del agua es menor, donde la matriz polimérica se va desgastando, pero conserva su integridad estructural.

Los sistemas de erosión se ven afectados por la estabilidad química del polímero, su hidrofobicidad además de su morfología y peso inicial; grado de hinchamiento con el fármaco, geometría y su fabricación, la presencia de catalizadores, aditivos o plastificantes también puede modificar de manera importante la bioerosión<sup>[24]</sup>.

#### **3.2. Sistemas de Liberación Modificada.**

Una forma farmacéutica, se le considera una adaptación del principio activo y excipientes; para constituir un medicamento<sup>[25]</sup>; donde los excipientes tienen varias características, de las cuales destacan el funcionar

como vehículo de transporte y dar estabilidad al principio activo. La funcionalidad principal de este tipo de liberación es la de aumentar la velocidad de absorción, con respecto a la velocidad de liberación del principio activo. En comparación con los sistemas de liberación convencionales, los Sistemas de Liberación Modificada (SLM) presentan un mayor control en el sitio de liberación, reduciendo los efectos secundarios, aumentando la eficacia del fármaco; además de la disminución de la biodegradación del fármaco y una liberación constante del fármaco.

La dosificación de un fármaco puede ser de diferentes formas, en las cuales se busca alcanzar la ventana terapéutica del medicamento para producir el efecto deseado.

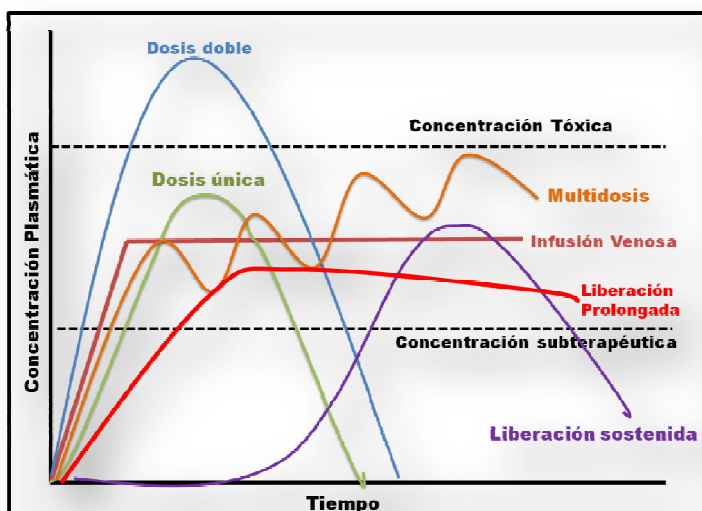


Figura 3 .- Ilustración de la concentración plasmática contra el tiempo de diferentes formas de dosificación y de liberación modificada<sup>[26]</sup>.

La dosis única alcanza la ventana terapéutica, pero su efecto no es tan prolongado; Mientras que una multidosis mantiene la concentración en la ventana terapéutica; su desventaja es la administración en periodos cortos de dosis, donde puede resultar incomodo, además de olvidar su administración y perder el efecto terapeutico.

La administración de una dosis doble tiene la ventaja que alcanza la ventana terapéutica en menor tiempo que las demás administraciones, pero su desventaja al mismo tiempo es que pueda excederla y alcanzar concentraciones tóxicas.

De entre todas las administraciones, podemos encontrar algunas donde su efecto perdura por periodos largos, como es el caso de la infusión venosa, que es una administración constante del principio activo. Se considera la idea debido a que se mantiene en concentraciones terapéuticas y estables, pero la desventaja de esta dosificación es que requiere condiciones asépticas y que el paciente permanezca en condiciones de hospital.

El seguimiento de este tipo de administración ha despertado el interés de muchos, dando como resultado lo que se conoce como liberación sostenida o retardada, donde el principio activo no se libera inmediatamente después de ser administrado, si no hasta que se encuentra en su sitio de acción, donde será liberado gradualmente; tiene la ventaja de que evita la biodegradación de principio activo, aumenta la cantidad de principio activo en el sitio de acción, pero su desventaja es la de un efecto después de un periodo largo a su administración que el medicamento tiene acción, hasta que el principio activo es liberado, esto ocurre cuando llega a su sitio de acción por lo cual el efecto no es al instante, tiene que transcurrir un periodo después de su administración.

Otro tipo de sistema de liberación es el prolongado, donde el principio activo se libera gradualmente después de su administración y dura el efecto por un periodo largo, entre todas las dosificaciones mostradas: esta última es la que tiene la mayor ventaja, la cual es una sola dosis administrada que ejerce un efecto terapéutico prolongado, sin correr el riesgo de olvidar la administración o el de llegar a dosis tóxicas.

### **3.3. Formas Farmacéuticas de liberación Modificada**

Entre las formas de liberación modificada se encuentran una gran variedad, las que podemos clasificar por su mecanismo de funcionalidad.

- Por su velocidad preprogramada; permeación a través de las membranas poliméricas, difusión a través de una matriz polimérica y un sistema mixto.
- Por activación, donde encontramos por métodos físicos, como presión osmótica, vapor, hidrodinámica, etc.

Estímulos químicos; pH, iones, hidrólisis; biológicos como por enzimas<sup>[25]</sup>.

Entre todas las formas de liberación modificada, nos enfocaremos en las formas farmacéuticas de liberación modificada por su velocidad. En especial en la difusión a través de una matriz polimérica, debido a que en ella se puede clasificar a los MIPs (Polímeros de Impresión Molecular) que no son otra cosa que el entrecruzamiento de un polímero que permite generar cavidades para mantener el fármaco atrapado y posteriormente, poder liberarlo por diferentes mecanismos como difusión de la matriz polimérica al medio o por medio de erosión, donde la matriz polimérica se degrada lentamente y al mismo tiempo libera el fármaco con mayor velocidad respecto a la difusión. Otro mecanismo de liberación desde una matriz polimérica es el que se conoce como fenómeno de hinchamiento, donde al penetrar el disolvente del medio en la matriz, esta aumenta su tamaño y con ello el área de contacto entre el medio y el principio activo, generando su liberación; y por último, tenemos el mecanismo de liberación por estallido, donde la matriz polimérica al estar en contacto con el medio se disuelve rápidamente y libera al medio el principio activo.

#### **3.4. Modelos para el análisis de Liberación Modificada *in Vitro***

Una vez que el Fármaco es acoplado a una forma farmacéutica para su administración, su estudio no queda ahí, éste tiene que ser liberado al medio, después debe disolverse para que sea absorbido y pueda ejercer su efecto terapéutico o en dado caso ser metabolizado y al final excretado.

Entre las características más importantes para un fármaco dentro del organismo encontramos la solubilidad y permeabilidad, las cuales se han usado para establecer un sistema de clasificación biofarmacéutica entre los fármacos.

La solubilidad es un punto crítico en la absorción del fármaco, además, puede ser usada como punto de partida para realizar estudios *in vitro*, que puedan predecir el comportamiento del fármaco<sup>[27]</sup>.

El estudio *in vitro* de las matrices poliméricas es algo complejo, debido a los múltiples factores que intervienen en su liberación, los cuales

van desde la cantidad de fármaco absorbido o adsorbido, las fuerzas de interacción entre matriz-fármaco, la geometría, solubilidad del fármaco y de la matriz en el medio, la accesibilidad del medio hacia la matriz.

Debido a todos esos factores mencionados, se han considerado diversas formas de liberación del fármaco de los MIPs al exterior, como la degradación de la matriz polimérica (erosión) por reacciones químicas; otros controlados por el disolvente como ósmosis e hinchamiento y los que son controlados por difusión.

Con base a estas formas de liberación, se han obtenido diferentes modelos encargados de describir la liberación del fármaco desde una matriz polimérica, pero que muestre una liberación por difusión: encontramos el de orden cero y de primer orden, Modelo de Higuchi o difusión e hinchamiento: Modelo de Hixson-Crowell, Modelo de Korsmeyer-Peppas, y sus ecuaciones derivadas de este último para la descripción del fenómeno de liberación<sup>[26, 28]</sup>.

#### **3.4.1. Modelo de Orden Cero.**

Este modelo asume condiciones de que el área no cambia y que se obtiene en condiciones diferentes al equilibrio y puede representarse por la ecuación 3.4:

$$f_t = k_0 t \quad [3.4]$$

Donde  $k_0$  es la constante de proporcionalidad,  $t$  es el tiempo y  $f_t$  es la fracción del fármaco disuelto, al construir la gráfica, la fracción del fármaco disuelto contra el tiempo, se obtiene una línea recta si y solo si se cumplen las condiciones ya mencionadas<sup>[26, 28]</sup>. Por lo regular, este modelo presenta una liberación tipo osmótica en formas farmacéuticas transdérmicas de baja solubilidad del fármaco<sup>[28]</sup>.

#### **3.4.2. Modelo de Primer orden.**

Este modelo es usado para la descripción de absorción y/o eliminación de algunos fármacos, lo podemos describir por la ecuación de Noyes-Whitney (ecuación 3.5):

$$\frac{\partial C}{\partial t} = k(C_s - C) \quad [3.5]$$

Donde  $C$  es la concentración del soluto al tiempo  $t$ ; y  $C_s$  se refiere a solubilidad al equilibrio y  $k$  es la constante de proporcionalidad que depende de las condiciones experimentales ocupadas.

Para complementar la ecuación de Noyes-Whitney, se introdujo el término  $S$ , que establece el contacto entre la parte sólida que llega a interactuar con la disolución definida como una mezcla homogénea a nivel molecular o iónico de dos o más sustancias que no reaccionan entre sí; tal término fue introducido por Brunner en 1900, estableciendo una nueva ecuación 3.6:

$$\frac{dC}{dt} = k_1 S (C_s - C) \quad [3.6]$$

Donde  $k_1$  es la nueva constante de proporcionalidad y al aplicar la ley de Fick, se obtiene la siguiente relación expresada por la ecuación 3.7:

$$k_1 = \frac{D}{vh} \quad [3.7]$$

$D$  es el coeficiente de difusión del soluto en el medio,  $V$  es el volumen de disolución del medio y  $h$  es lo ancho de la capa de difusión; donde al final, la ecuación de Noyes-Whitney se puede expresar con la ecuación 3.8: [26, 28].

$$\frac{\delta C}{\delta t} = \frac{DS}{vh} (C_s - C) \quad [3.8]$$

### 3.4.3. Modelo de Higuchi

El modelo de Higuchi establece una ecuación, donde se relaciona la solubilidad en agua de aquellos fármacos que presentan una baja solubilidad, incorporados a un sólido y/o a una matriz polimérica sólida; finalmente la expresión matemática que describe la dispersión uniforme en una matriz del fármaco es la ecuación 3.9:

$$F_t = Q = \sqrt{D(2C - C_s)C_s t} \quad [3.9]$$

Siendo  $Q$  la cantidad de fármaco liberado al tiempo  $t$  por unidad de área;  $C$  es la concentración inicial del fármaco y  $C_s$  es la solubilidad del fármaco que se encuentra en la matriz y en contacto con el medio, y por último,  $D$  es la constante de difusión de las moléculas del fármaco en la matriz hacia el medio. La ecuación 3.9 solo toma en cuenta a una matriz

polimérica, en la cual se encuentre uniformemente distribuido el fármaco, por lo cual, Higuchi desarrolló un modelo, que contempla una matriz plana, porosa y heterogénea; quedando expresado en la ecuación 3.10:

$$F_t = Q = \sqrt{\frac{D\varepsilon}{\tau} (2C - \varepsilon C_s) C_s t} \quad [3.10]$$

Donde  $Q$  es la cantidad de fármaco liberada al tiempo  $t$  por unidad de superficie;  $C$  es la concentración inicial del fármaco,  $\varepsilon$  la porosidad de la matriz,  $\tau$  es el coeficiente de tortuosidad capilar;  $C_s$  es la solubilidad del fármaco en la matriz y  $D$  se considera como el coeficiente o constante de difusión<sup>[28]</sup>. Lo que contempla este modelo, es que la matriz y el medio que transporta al fármaco, no sufrirá alteraciones significativas al contacto con el agua.

#### 3.4.4. Modelo Korsmeyer-Peppas

Este modelo semiempírico relaciona la liberación del fármaco exponencialmente conforme transcurre el tiempo (ecuación 3.11):

$$f_t = at^n \quad [3.11]$$

Siendo  $a$  la constante que relaciona la estructura y las características geométricas de la dosificación del fármaco;  $n$  es la liberación exponencial del fármaco indicativa del mecanismo de liberación del fármaco, a partir de la función de  $t$  en  $M_t/M_\infty$  la fracción liberada del fármaco<sup>[28]</sup>. Por lo regular este modelo tiene la aplicación en sistemas de liberación a través de polímeros donde el mecanismo de liberación se desconoce o presenta más de una forma de liberación del fármaco<sup>[26]</sup>.

Peppas se encargó en 1985 de utilizar el valor exponencial  $n$  para establecer su relación con los diferentes mecanismos de liberación, donde podemos ver en la tabla 2 que el mecanismo de liberación dado por el valor de  $n$  es válido si la proporción  $M_t/M_\infty$  es menor a 0.6. Además, el uso de la ecuación 3.11 será adecuado solamente cuando el experimento se encuentra en condiciones donde la liberación sea por vía unidimensional, y que el sistema sea laminar con una relación largo/espesor o ancho/espesor de al menos 10/1<sup>[26, 28]</sup>.

Liberación exponencial (n)	Mecanismo de transporte de Fármaco	Orden en función del tiempo.
0.5	Difusión Fickiana	$t^{-0.5}$
$0.5 < n < 1.0$	Transporte anómalo	$t^{n-1}$
1.0	Transporte Caso II	Orden de liberación cero
Valores mayores a 1.0	Súper transporte Caso II	$t^{n-1}$

**Tabla 2.- mecanismos de liberación dependientes del valor de n.**

El mecanismo de liberación anómalo es conocido como un mecanismo de liberación desconocido, mientras que el mecanismo de liberación “caso II” es la liberación constante del fármaco a través de la liberación por hinchamiento y el súper “caso II”, es en el cual los tiempos de liberación son muy prolongados y también se considera como sistema de liberación anómalo; además, de estos valores establecidos, también se habla de valores de  $n$  menores a 0.5, donde se conoce un mecanismo de liberación por la presencia de poros, acompañado simultáneamente por la liberación en hinchamiento.

### 3.4.5. Modelo de Peppas-Sahlin

El usar el mecanismo de liberación de fármaco por hinchamiento, muestra un mejor control en su liberación, sobre todo en los polímeros que presentan un bajo coeficiente de difusión. El mecanismo consiste en que cuando el polímero entra en contacto con el medio de disolvente (por lo regular el agua), se produce la formación de un coloide y ocurre la separación de las cadenas poliméricas entre sí, produciendo un aumento en el área de contacto y facilitando la salida del fármaco. Cuando ocurre la liberación del fármaco por hinchamiento, no solamente ocurre la difusión del fármaco; también es acompañado por el frente de hinchamiento, presentando algunas desviaciones a la ley de difusión de Fick<sup>[26]</sup>.

Peppas y Sahlin realizaron modificaciones al modelo de Korsmeyer-Peppas, esperando que el coeficiente difuncional mostrara información en sistemas poliméricos hinchables a partir de la presencia de dos fenómenos; el primero es la penetración del disolvente en la matriz polimérica y el segundo la disolución del fármaco por difusión<sup>[26]</sup>. Después



de la problemática que se enfrentaron al no poder relacionar el frente de hinchamiento del polímero; pudieron establecer la siguiente ecuación 3.12:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = K_1 t^m + K_2 t^{2m} \quad [3.12]$$

En la ecuación 3.12 podemos ver representados tanto el fenómeno de difusión (primer sumando) como el de relajación (segundo sumando), donde se consideran como efectos aditivos. Se toma en cuenta que el primero representa la difusión por la ley de Fick y el segundo se trata como el “caso II” que es la relajación. El coeficiente  $m$  es el exponente de difusión tipo Fick válido para cualquier geometría del sistema de liberación,  $K_1$  es la constante correspondiente a la difusión y  $K_2$  corresponde a la relajación polimérica<sup>[29]</sup>. Con la aplicación de este modelo, se puede describir desde cualquier sistema polimérico la liberación por la suma de difusión y relajación del polímero.

Ejemplificado en la siguiente tabla:

Valor de m	Mecanismo de liberación
0.5	Difusión tipo Fick
>>0.5	Transporte no Fick (transporte anómalo)
1	Transporte caso II

Tabla 3.- Valores de  $m$  que describen el tipo de mecanismo de liberación<sup>[26]</sup>.

El modelo ha sido usado para el ajuste de diferentes perfiles de liberación de fármacos en matrices poliméricas de muy variadas naturalezas, donde ocurre el mecanismo de liberación por hinchamiento y donde no ocurre.

### 3.5. Modelo de Peppas-Fassihi

El modelo de Korsmeyer-Peppas ha sufrido varias modificaciones, una fue la de Peppas-Sahlin, donde su innovación fue el establecer un nuevo modelo para describir un perfil de liberación por mecanismos de hinchamientos a través de su parámetro “ $m$ ”. Ahora la nueva modificación realizada por Kim y Fassihi en 1997 es utilizada para establecer un modelo matemático que describa un mecanismo de liberación por “estallido”; en

otras palabras que el fármaco presente una liberación inicialmente rápida y conforme pase el tiempo, esta disminuya y se vuelva constante.

$$\frac{M_t}{M_\infty} = at^n + b \quad [3.12]$$

El parámetro de estallido viene dado por la magnitud de  $b$ , cuando se carece de este efecto, el valor de  $b$  es igual a cero. Este modelo presenta las mismas restricciones que Korsmeyer-Peppas y también es conocido como ley de potencias<sup>[26]</sup>.

Entre los modelos mencionados anteriormente, encontramos modelos sencillos como el de orden cero y de primer orden que contempla una liberación simple al sólo considerar el mecanismo de liberación por difusión. El modelo de Higuchi contempla otros parámetros como heterogeneidad y porosidad del polímero; y modelos como Korsmeyer-Peppas, Peppas-Sahlin y Peppas-Fassihi, empiezan a considerar que ocurren más de un mecanismo de liberación al mismo tiempo, además de diferentes mecanismos de liberación como anómalos (donde se desconoce el mecanismo de liberación), hinchamiento, estallido o erosión.

#### **4. Polímeros de Impresión Molecular (MIP).**

Un polímero es la construcción de una macromolécula a partir de moléculas llamadas monómeros. Conjugándolo con el principio de reconocimiento molecular surge la idea que se conoce como Polímeros de Impresión Molecular (MIP), que podemos definir como la construcción de una macromolécula, en presencia de una molécula (horma o molde) que interacciona específicamente con los monómeros y que al polimerizar, genera cavidades con complementariedad geométrica y de interacción entre la horma y la matriz polimérica. Las interacciones pueden ser fuertes (enlaces formales) o débiles (interacciones intermoleculares).

Una vez formado el MIP, la molécula horma puede ser liberada y el polímero mantiene las cavidades con complementariedad geométrica e interacciones, lo que conlleva a una alta capacidad para reconocer a la molécula horma y así absorberla nuevamente de forma estable y específica.

Este concepto surge en la década de 1940 inspirado por Linus Pauling sobre la formación de anticuerpos en el sistema inmune, que consiste en el rompimiento de los enlaces de hidrógeno para liberar la cadena de aminoácidos, ocupandola como antígeno (molécula de reconocimiento) para generar el anticuerpo.<sup>[30-31]</sup>

Este tipo de materiales fueron desarrollados desde hace tiempo, y se les ha dado diversos tipos de aplicaciones, como en cromatografía para cuantificación de productos, obtención de columnas de cromatografía para la separación de moléculas, en sensores de química analítica, como moléculas para reconocer partículas, inmunoensayos, electroforesis capilar, membranas de separación, catálisis<sup>[30]</sup> y, hoy en día, se busca el utilizar este tipo de moléculas con aplicación en farmacia para diseñar sistemas de liberación lenta y prolongada, ya que esta área ha sido poco estudiada y su aprovechamiento puede ser mucho mayor para la mejora de medicamentos.

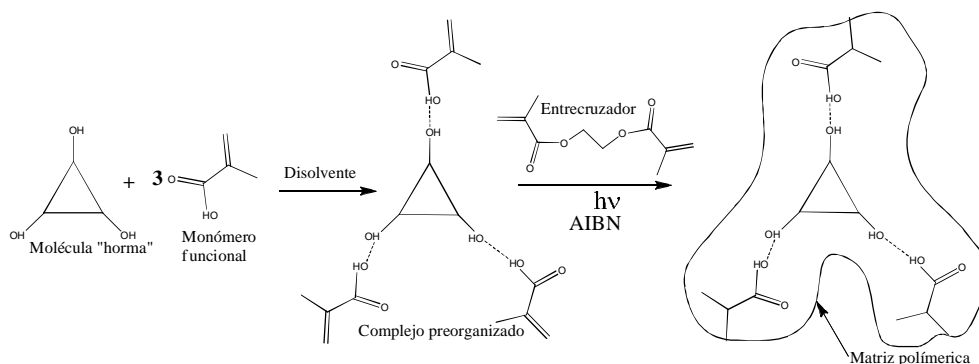
Entre las aplicaciones de reconocimiento molecular, destaca la de utilizar quercentina y dos moléculas estructuralmente semejantes para la obtención de MIPs, que presenta una capacidad de reconocimiento alta hacia la quercentina, con el fin de su aplicación para la detección de flavonoides en la naturaleza<sup>[32]</sup>.

Un ejemplo clásico de la aplicación de los MIPs es la determinación de tonazolina, a través de cromatografía de gases, en muestras de orina usando como fase estacionaria a los polímeros impresos sintetizando previamente,<sup>[33]</sup>.

En otras investigaciones, Cuneliffe sugiere que este tipo de materiales son de gran importancia porque se podrá tener un mayor control de su estructura y liberación de fármacos, además de ser una gran herramienta para el uso en la biomedicina<sup>[34]</sup>.

La síntesis de estos materiales es sencilla (ver figura 4). Se inicia con una molécula molde conocida como templado, que interacciona con monómeros funcionalizados con dobles ligaduras en la matriz polimérica para formar las cavidades. La matriz polimérica es la formación de cadenas por monómeros que se entrecruzan por una molécula denominada entrecruzador, además se necesita de un iniciador para que la reacción de polimerización por radicales libres se lleve a cabo. Esta reacción se realiza

en un disolvente conocido como porógeno; en diferentes condiciones experimentales la polimerización puede ser térmica (aplicación de calor) o fotoquímica (aplicación de luz UV), dependiendo de las características de la molécula molde, teniendo como tercera opción el método sol-gel, por reacción catálisis ácida o básica. Existen los polímeros inorgánicos y orgánicos, donde la orientación va dirigida hacia la utilización de polímeros acrílicos altamente reticulados y que pueden mostrar insolubilidad, además de estabilidad térmica y química, para mantener una rigidez que permita la impresión de un sitio de enlace y un bajo costo de producción<sup>[31]</sup>.



**Figura 4.- Reacción que ocurre para la formación del MIP.**

#### **4.1. Rutas de síntesis de polímeros de impresión molecular.**

Para la obtención de polímeros de impresión molecular o de estampado, se siguen dos rutas dependiendo del tipo de interacciones que se requieran entre la molécula templada y el polímero las cuales son la covalente y la no covalente; en este último caso, las interacciones que se generan (Figura 5) son débiles, permitiendo la interacción entre el monómero y la molécula horma; lo que facilita su liberación de la matriz polimérica y genera cavidades con alta selectividad hacia la molécula horma.

La polimerización por radicales libres o también conocida como crecimiento de cadena, es el método de síntesis más importante con el que se cuenta en estos días para la unión de monómeros y formación del polímero, además de su aplicación en la industria para la obtención de plásticos. Las condiciones bajo las que se realiza pueden ser varias y no requieren de gran costo. El mecanismo ocurre en tres pasos: iniciación, propagación y terminación.

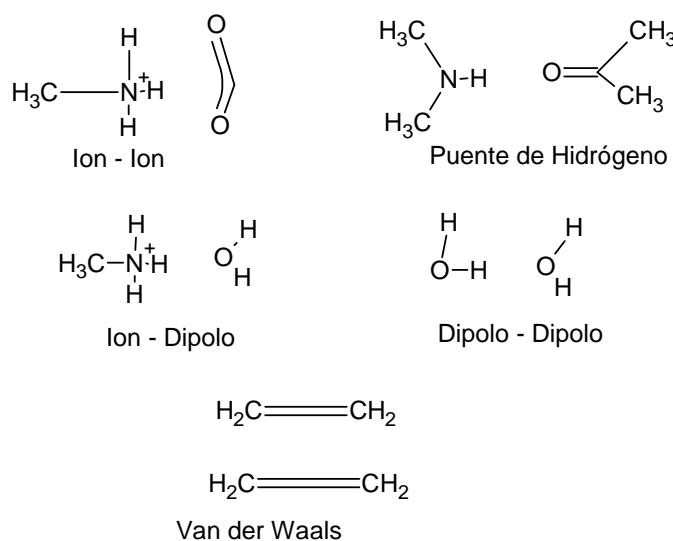
#### **4.1.1. Polímeros impresos Covalentes.**

Esta teoría surge en la década de 1970 con trabajos como los de Wulff y colaboradores, con base a la diferenciación de los enantiómeros del ácido glicérico<sup>[31]</sup>. Su principal característica es la generación de interacciones fuertes por reacciones químicas pero reversibles, que le permiten generar cavidades con mayor detalle, afinidad y homogeneidad, pero a su vez le dan una mayor rigidez al polímero y mayor fuerza de enlace o en otras palabras, será más difícil la liberación de la molécula horma por parte de la matriz polimérica debido a la generación de interacciones fuertes; además de presentar una rigidez por parte de la matriz polimérica que no permite la difusión de la molécula horma al medio y de que no hay una gran variedad de posibilidades a elegir entre monómeros funcionales y especies templadas, ya que las interacciones solo se generan entre los dos<sup>[30]</sup>. En estas síntesis se requiere de la generación de un derivado polimerizable, antes de la polimerización, y la remoción de la molécula molde se realiza por hidrólisis del enlace<sup>[35]</sup>.

#### **4.1.2. Polímeros impresos No Covalente**

Para el sistema de impresión no covalente, en los años 80's se postula la teoría "no covalente". Uno de los principales autores, que aporta trabajo importante en esta dirección, es Mosbach<sup>[31]</sup>. La idea principal consiste en la formación de interacciones débiles como puentes de hidrógeno, interacciones electrostáticas, interacciones hidrofílicas y de coordinación con metales. Es el sistema de mayor uso en comparación al covalente, por su simplicidad, además de tener un mayor alcance en moléculas templadas por la interacción con el monómero, obteniendo cinéticas de unión más favorables. A pesar de tener interacciones débiles, el polímero es capaz de construir sitios de interacción debido a la variedad de afinidades entre ellos y de generar una heterogeneidad en las fuerzas de los sitios de interacción<sup>[30, 35]</sup>. En este proceso el disolvente juega un papel importante, debido a que es el que establece las fuerzas de interacción y morfología del polímero. Entre las fuerzas débiles generadas se encuentra las van der Waals, que generan dipolos momentáneos en las moléculas e

interactúan con otras. Otras interacciones débiles son las Dipolo – Dipolo y Ion – Dipolo, generadas por diferencia de fuerza de atracción de átomos en la molécula; y las interacciones conocidas por puentes de hidrógeno que se generan en átomos de hidrógeno unidos a átomos de nitrógeno y oxígeno; que a su vez interactúan con estos mismos átomos de otras moléculas. Todas estas interacciones, se visualizan en la figura 5.



**Figura 5.- Tipo de interacciones débiles que se presentan en la ruta no covalente.**

#### 4.1.3. Polímeros impresos Semicovalentes

Para su elaboración se emplea una síntesis que utiliza una mezcla de la teoría covalente como no covalente y utiliza, principalmente, complejos metálicos funcionando como ligante entre el monómero y la molécula molde, permitiendo la disposición de los grupos funcionales para el reenlazamiento mediante puentes de hidrógeno. La etapa de pre-polimerización es donde ocurre el enlace covalente y su separación, ocurre mediante diferencia entre la estabilidad de ambos. Posterior al proceso de polimerización, ocurre el reenlazamiento de la molécula molde con el polímero mediante interacciones no covalentes, Whitcombe *et al* 1995 la dieron a conocer<sup>[31]</sup>.

## 4.2. Monómero

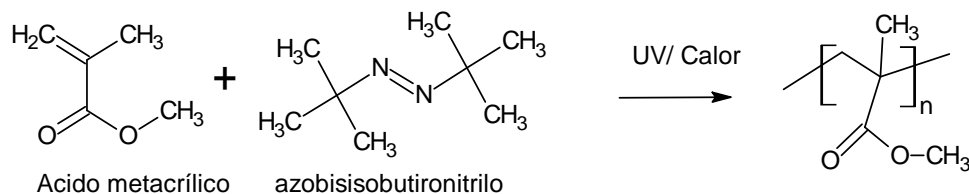
El monómero, es la molécula base para la formación de las cadenas poliméricas; su funcionalidad radica en las interacciones que puede generar con la molécula molde, ya que dependiendo de los grupos funcionales, pueden obtenerse las siguientes interacciones, por ejemplo: si cuenta con grupos básicos se pueden ocupar monómeros como el ácido acrílico, ácido metacrílico o *p*-vinilbenzoico; si son ácidos se utilizaría vinilpiridina, para generar interacciones iónicas o enlaces de hidrógenos. Su concentración es en mayor cantidad, en comparación con la molécula molde, para favorecer la formación del complejo, por lo regular es de 4:1 y también se puede dar uso a más de un monómero, pero se debe de tener en cuenta la estequiometría para optimizar las interacciones con la molécula molde<sup>[31]</sup>. Entre los monómeros de mayor uso se encuentra el ácido metacrílico, el cual es una molécula capaz de formar puentes de hidrógeno (ver figura 5) con la molécula horma.

## 4.3. Entrecruzador

Para la generación de un mejor reconocimiento molecular, influye la nanoestructura tridimensional generada del polímero durante la copolimerización, donde se debe de tener una morfología determinada, que establezca la matriz polimérica además del sitio de enlace; los agentes entrecruzadores son directamente responsables. Por ejemplo, para los polímeros acrílicos y metacrílicos se utilizan dimetacrilato de etilenglicol y trimetacrilato de trimetilpropano; en polímeros de estirenos se utiliza divinilbenceno y en polímeros selectivos a péptidos se usa triacrilato/tetraacrilato de pentaeritrol. Su concentración por lo regular es alta (alrededor de un 80%), esto es principalmente porque la mayor parte de la matriz polimérica está formada de entrecruzador; además de dar rigidez y grado de hidrofobicidad al polímero<sup>[36]</sup>; también se debe de asegurar que su solubilidad sea alta en la mezcla de reacción.

#### 4.4. Iniciador

El iniciador o fuente de radicales libres es el encargado de generar la cadena polimérica a través de la unión de los monómeros, ver figura 6. Su concentración es baja (1% de masa o 1% de mol con respecto al total de dobles enlaces polimerizables). Su descomposición puede hacerse en agua y a diferentes condiciones, además de tener diferentes terminaciones como, por ejemplo, el azobisisobutironitrilo AIBN, que se puede descomponer por calor o por luz, con lo que se obtienen los radicales necesarios para la propagación. También existen otro método conocido como copolimerización donde se utilizan más de una molécula como monómero a cuales son activadas por un iniciador en común<sup>[31]</sup>.



**Figura 6.- Reacción de polimerización que ocurre entre el iniciador (azobisisobutironitrilo) con el monómero (Acido metacrílico).**

#### 4.5. Disolvente

El disolvente, se conoce químicamente como aquella sustancia que se encuentra en mayor cantidad en una mezcla y puede solvatar o disolver a otras moléculas en su medio. Existen gran variedad de disolventes y por lo regular se clasifican en base a su polaridad o capacidad de solvatar cargas de las moléculas disueltas. Los polares, pueden solvatar las cargas de las moléculas que se disocian en el medio, debido a que presentan una asimetría en la nube electrónica, lo que le brinda cierta carga al disolvente; estos, a su vez se dividen en disolventes polares apróticos que no presentan enlaces que puedan generar puentes de hidrógeno y los disolventes polares próticos que si cuentan con enlaces en sus moléculas capaces de generar puentes de hidrógeno. Los disolventes no polares simplemente presentan una nube de electrones simétrica que impide la generación de cargas parciales en alguna parte de la molécula.



Por lo regular, para poder disolver una molécula en un disolvente adecuado, se toma como regla “lo similar disuelve a lo similar”. En otras palabras, cuando se desea solvatar una molécula que presenta un momento dipolar, el medio adecuado para realizarlo será un disolvente polar y viceversa con una molécula no polar.

El disolvente es el medio donde se mezclan las moléculas involucradas en la síntesis del polímero y su elección es un punto crítico en la matriz polimérica debido a que es el que ejercerá las interacciones y forma de la matriz polimérica (tamaño, distribución de poros y área polimérica). Por esta particularidad, al disolvente también se le conoce como porógeno. Aunque la porosidad de la molécula puede deberse a la concentración de monómero y entrecruzador, el disolvente es el medio donde se realiza la reacción y pueden interaccionar sus moléculas en la red polimérica formando poros los cuales son de utilidad para la difusión de la molécula horma al exterior. Además influye en el aumento del área superficial al aumentar la cantidad del disolvente. Una más de las cualidades que se le atribuyen al disolvente es el disipar la energía de interacción durante la polimerización, ya que puede dañar las interacciones del complejo formado por el monómero y la molécula templada (en especial cuando se trabaja con metacrilatos y acrilatos), que pueden degradar o desnaturalizar a la molécula templada<sup>[37]</sup>.

Con el uso de disolventes que favorecen la reacción de polimerización, se puede obtener poros bien definidos, una estructura rígida y áreas altamente específicas. Con disolventes que no favorecen el medio para que sea factible la síntesis del polímero, se obtienen estructuras porosas y áreas superficiales poco desarrolladas y específicas.

La doble funcionalidad del porógeno, que es la generación de poros estables en la matriz polimérica y un área superficial amplia, se combina con la polimerización no covalente para maximizar la formación de las plantillas de monómero funcional. Por ejemplo el ácido metacrílico, actúa mejor en disolventes con baja y mediana polaridad para la generación de puentes de hidrógeno favorecidos con el grupo funcional carboxilo<sup>[38]</sup>. La polaridad del disolvente y su cantidad determinan su interacción con los monómeros y la fuerza de unión entre estos y la molécula molde, por lo que

la polimerización no covalente por lo regular requiere disolventes de polaridad moderada como acetonitrilo o cloroformo; o con una constante dieléctrica baja como el tolueno o diclorometano<sup>[31, 35]</sup> que originan interacciones iónicas. Si se requiere de formación de puentes de hidrógeno, se utiliza un disolvente con poca interacción ácido-base<sup>[36]</sup>. Si el disolvente es de polaridad alta, este formará enlaces de mayor fuerza y competirá por el monómero funcional contra la molécula molde. La importancia de elegir el disolvente adecuado es muy relevante, ya que dará ciertas características al polímero como lo podemos visualizar en la figura 4, donde ocurre la reacción de polimerización, y figura 5 que muestra los diferentes tipos de enlaces que se generan entre la molécula horma y monómero; en la cual la solvatación es producida por el disolvente e influye en la interacción entre el monómero y la molécula horma. En la obtención de polímeros de impresión molecular con molécula L-Fenilalanina como horma se obtuvieron resultados en donde los disolventes con menor capacidad para formar puentes de hidrogeno, generaron una mayor selectividad que los que presentaban estas interacciones<sup>[38-39]</sup>.

Para las síntesis de polímeros de impresión molecular, se eligen por lo regular disolventes apróticos (sin carga) y con baja polaridad, debido a que los disolventes con alta polaridad y próticos interfieren con las interacciones iónicas y de van der Waals entre el monómero y el templado; mientras que los disolventes próticos (con carga) interfieren con la formación de puentes de hidrógeno<sup>[39]</sup>.

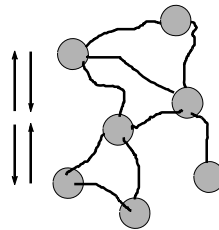
Además de las cargas presentes en los disolventes y de su carácter polar o no polar, se puede utilizar otros parámetros de los disolventes para conocer el comportamiento de los polímeros a obtener. Por ejemplo, la solubilidad de una mezcla de componentes en un disolvente determinado, puede dar una idea de la morfología e hinchamiento del polímero.

La constante dieléctrica, es otro parámetro que puede servir para la elección del medio adecuado, ya que en un disolvente con constante dieléctrica baja, será mayor la fuerza de atracción entre dos moléculas con cargas opuestas, que en un disolvente con una constante dieléctrica alta<sup>[39]</sup>. Otro parámetro del disolvente es la capacidad de generar puentes de

hidrógeno. Un disolvente con alta capacidad para generar puentes de hidrógeno, como lo es el agua, es muy factible que pueda disolver a moléculas polares, pero al generar los puentes de hidrógeno también interfiere en las interacciones entre la molécula horma y el monómero reduciendo la selectividad del polímero<sup>[39]</sup>.

Buena solvatación en crecimiento de cadena

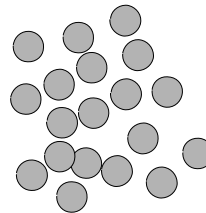
- Red homogénea, con pequeños poros en estado seco.
- Conexiones flexibles internucleares
- Altos factores de hinchamiento.



**Figura 7.- Dibujo de estructura obtenida ocupando un disolvente adecuado<sup>[38]</sup>.**

Pobre solvatación, en crecimiento de cadena.

- Producción de macroporos (> 500Å) y microporos
- Bajos factores de hinchamiento.



**Figura 8.- Dibujo de estructura obtenida ocupando un disolvente no adecuado<sup>[38]</sup>.**

El cloroformo, es uno de los disolventes más empleados por sus características que favorecen la síntesis de polímeros impresos, por vía no covalente, las cuales son tener una constante dieléctrica media y ser un disolvente aprótico no polar. Otros disolventes que se están estudiando son: dimetilsulfóxido, tolueno y benceno. En las investigaciones que realizó Bergmann utilizando como disolvente THF (tetrahidrofurano), demostró que el polímero exhibe alta especificidad por la glucosa, por encima de la fructuosa, concluyendo que es debida a que el disolvente no interfiere con la

formación del complejo monómero-templado<sup>[37]</sup>. Mientras que el agua es un disolvente que posee la propiedad tanto de aceptar como donar iones hidronio, dándole una alta polaridad, lo que puede ser contraproducente en los MIPs tradicionales ya que son más eficientes en disolventes orgánicos<sup>[37]</sup>.

#### **4.5.1. Integridad del MIP y accesibilidad de molécula templada.**

Para asegurar la integridad del MIP, es necesario desarrollar el proceso de polimerización en el disolvente adecuado, de esto dependerá si los componentes precipitan o estos se encuentran disueltos en el medio para llevar a cabo la reacción de polimerización. También la elección de un buen disolvente producirá una uniformidad entre las interacciones del entrecruzador y monómero, mientras que si se selecciona un disolvente no adecuado, se tendrá como resultado un mayor número de interacciones heterogéneas entre el monómero y entrecruzador, además de la generación de poros que reduzcan la capacidad de reconocimiento del MIP hacia la molécula templada<sup>[38]</sup>.

Las diferentes interacciones que se pueden generar en un MIP son las descritas en la figura 5, donde encontramos desde los macroporos, microporos que son las de mayor selectividad; las incrustaciones que son selectivas pero de difícil acceso. También existen los sitios complementarios y de inducción que no presentan una selectividad tan alta, pero si una accesibilidad muy alta; por último, sitios no selectivos y algunas moléculas del templado capturadas que no se liberaron durante el lavado. Estas interacciones se pueden generar dependiendo del monómero, entrecruzador y por supuesto del porógeno o disolvente, de entre otras cosas.

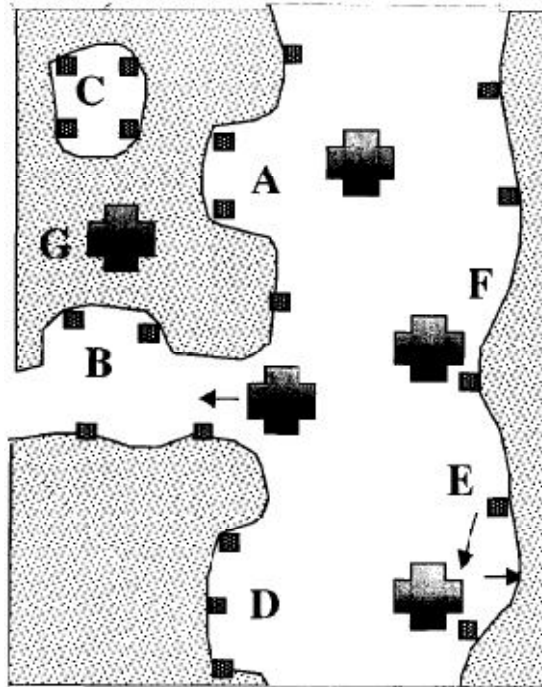


Figura 9.- Representación de tipos de interacciones presentes en el MIP: A) Macroporo, B) Microporo, C) Sitios aislados, D) Sitio complementario (dímero o multímero), E) Sitio de unión inducido, F) Sitio no selectivo, G) Remanente de Templado<sup>[38]</sup>.

El reconocimiento de la molécula templada, va directamente relacionado con la formación de interacciones estables entre el monómero y el entrecruzador, que a su vez dependen del disolvente donde se lleve a cabo la polimerización para la generación de poros con capacidad de reconocimiento específico. La generación de estos poros es muy importante, ya que al no tener estabilidad estos pueden colapsar y perder su propiedad de reconocimiento o dependiendo de su tamaño, si presenta un tamaño grande, pueden permitir una difusión mayor de la molécula templada, caso por el contrario si el tamaño es pequeño, la difusión será menor ya que existen fuerzas capilares que no permiten una difusión libre.

#### 4.5.2. Área de Contacto en el MIP.

El área superficial de contacto es una parte importante en la liberación del polímero, ya que al tener una mayor área, el MIP podrá interactuar con el medio y facilitará la difusión del disolvente en el MIP, teniendo como resultado una liberación de la molécula horma mayor.

Mientras que si el área superficial del MIP es pequeña, la liberación será menor y más lenta. En algunos experimentos donde se trabajó con diferentes concentraciones de una mezcla de ciclohexano-dodecanol en la polimerización<sup>[38]</sup>, se tuvo como resultado que al tener una concentración baja del diluyente, el polímero adquiere una mayor densidad, impidiendo el acceso del medio al polímero, reflejándose con una disminución en el área superficial; pero al aumentar la concentración de la mezcla de disolventes, existe una disminución de la densidad en el núcleo del polímero por la generación de partículas submicroscópicas que aun conservan una baja división del área superficial. Aunque tuvieron un aumento en el área al utilizar una concentración mayor de ciclohexano sobre el dodecanol, Se llegó a la conclusión de que el área superficial depende en gran parte a la cantidad del entrecruzador<sup>[38]</sup>.

## **5. Caracterización de polímeros.**

Consiste en conocer las características físicas de los polímeros, para comprender su morfología, sus características químicas, y, sobre todo, el comportamiento que tiene en el reconocimiento molecular. Con base a esto, existen dos tipos de caracterización en los polímeros: la física, que consiste en conocer el tamaño de partícula, su morfología, área de contacto y la más importante, en este caso, su capacidad de reconocimiento del MIP por la molécula horma, comparándolo con el NIP. La caracterización química es para conocer que todas las moléculas involucradas en la matriz polimérica, se encuentran interaccionando.

### **5.1. Caracterización morfológica.**

Este tipo de estudio, permite conocer la distribución de tamaño de poros, la heterogeneidad de estos y áreas específicas de los materiales<sup>[31]</sup>.

Los experimentos que permiten la caracterización morfológica son: **1)** El uso de disolventes que consiste en determinar la cantidad de disolvente que penetra al poro, **2)** Porosimetría por adsorción de nitrógeno donde una parte del polímero seco se somete a la inyección de un gas inerte

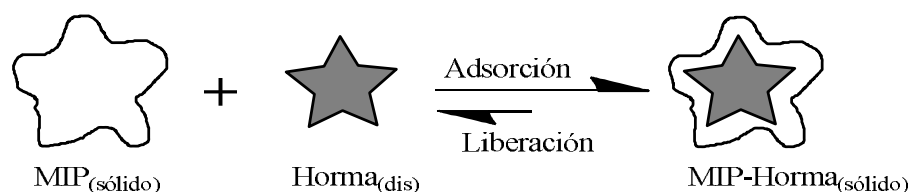
y por diferencia de presión se puede determina la isoterma de adsorción, **3)** Porosimetría por intrusión de mercurio que sigue el mismo principio que la adsorción por nitrógeno, pero más sensible en macroporos, **4)** Cromatografía de tamaño por exclusión inversa y **5)** Microscopía de luz que se utiliza para determinar integridad de estructura y la microscopia de barrido que permite ver el tamaño del poro<sup>[31]</sup>.

Además de la caracterización de la morfología de los poros en el MIP, podemos conocer su afinidad por una molécula dada; para ello se realizan experimentos donde se pone en contacto al polímero con su molécula afín y, en base a estos, se puede determinar su capacidad de reconocimiento.

## 5.2. Caracterización de la afinidad de los MIPs polímeros.

Existen modelos encargados de describir el comportamiento de un polímero en base a sus sitios de enlace, y a la uniformidad en las fuerzas de afinidad; esto con el fin de ayudar a conocer el comportamiento de un polímero con una molécula molde y su afinidad para atraparlo. Entre los modelos isotérmicos más conocidos se encuentra el de Freundlich, Langmuir, Langmuir-Freundlich, Jovanovic-Freundlich e Isoterma Alostérica.

En general los modelos siguen el esquema ilustrado en la figura 10:



**Figura 10. Representación del proceso de adsorción y liberación.**

Si se considera al MIP, cuando se ha removido la molécula horma (lavado), se tendrá entonces un polímero con alta afinidad hacia esta especie, cuanto mayor sea la adsorción el reconocimiento molecular del polímero sobre la horma será más eficiente, es decir, el equilibrio mostrado en la figura 10 estará desplazado a la derecha. Por el contrario, la reacción inversa es la desorción, esta característica permite la aplicación a sistemas de liberación. En teoría, se puede modular la capacidad del reconocimiento

molecular y así “jugar” con el equilibrio, si la reacción de adsorción es muy favorecida (alto reconocimiento molecular) la desorción se verá desfavorecida y, por lo tanto, es de suponerse que también la cinética de desorción sea más lenta.

Por estas razones, es muy importante caracterizar la capacidad (fuerza) de adsorción, para lo cual se pueden emplear diferentes modelos de isoterma como se mencionó anteriormente, que son los más comúnmente empleados en la caracterización de MIPs.

### 5.2.1. Modelo de Isoterma de Freundlich.

Este modelo se presentó en el año de 1926 por Herbert Max Finley Freundlich, describe un modelo empírico para una isoterma de múltiple adsorción en fase heterogénea. Su explicación se deriva de un decaimiento exponencial en la distribución de energía de los sitios de adsorción, con la siguiente expresión:

$$N(K) = \alpha e^{-mK/RT} \quad [5.1]$$

$N(K)$  corresponde a la distribución de afinidad, en los sitios de energía  $K$ , siendo  $\alpha$  y  $m$  constantes<sup>[40-41]</sup>.

La energía de adsorción puede ser diferente debido a la fase heterogénea y el grado de cobertura, de otra forma, se dice que no se puede asumir que todos los sitios sean idénticos desde el punto de vista energético. La isoterma de Freundlich se puede describir como  $B$  en función de  $C$ :

$$B = aC^m \quad [5.2]$$

La constante  $a$  es el parámetro que indica la afinidad de los sitios de enlace, que engloba la distribución de afinidad y  $m$  es un índice de heterogeneidad de los sitios que abarca un valor de 0 a 1, siendo 1 un sistema homogéneo<sup>[40-41]</sup>.

### 5.2.2. Modelo de Isoterma de Langmuir.

El modelo asume que todos los sitios generados en el material son homogéneos energéticamente, y se puede explicar que cada molécula templada ocupa un sitio en el material, además de que esta molécula no



puede generar interacciones con las moléculas adsorbidas en los sitios vecinos por la equivalencia energética de estos, donde sólo puede asumir la construcción de una capa sobre el material. Se concluye en esta teoría que los sitios de interacción son finitos para la molécula templada<sup>[40-41]</sup>. La ecuación que describe el modelo de isoterma de Langmuir es:

$$B = \frac{NKC}{1+KC} \quad [5.3]$$

Donde se entiende que evaluar graficamente la concentración contra la cantidad de molécula templada adsorbida por el polímero, podemos obtener dos constantes;  $N$  que representa la densidad de sitios saturados en una monocapa y  $K$  que es la constante de adsorción<sup>[40]</sup>.

### 5.2.3. Modelo de Isoterma de Jovanovic.

Jovanovic establece un modelo de isoterma derivado de la cinética de absorción, pero muy semejante al ya establecido por Langmuir; el contraste de estos dos modelos es que Jovanovic toma en cuenta las interacciones que hay entre la molécula molde adsorbida y la libre. Jovanovic describe su modelo matemáticamente con la ecuación 5.4:

$$B = N(1 - e^{-KC}) \quad [5.4]$$

Mediante la gráfica de concentración de la molécula molde contra la que fue adsorbida por el MIP, se deduce la constante  $N$  que indica la cantidad de sitios construidos o la capacidad de saturación de los sitios construidos en una monocapa del material polimérico y  $K$  que es la constante de adsorción<sup>[40]</sup>.

### 5.2.4. Modelo de Isoterma Langmuir-Freundlich.

El modelo híbrido de Langmuir-Freundlich trata de explicar el equilibrio entre la concentración de la molécula templada adsorbida en el MIP y la concentración de la molécula en solución. Este modelo híbrido, es capaz de explicar el fenómeno de adsorción a altas concentraciones como a bajas concentraciones, donde se reduce a una simple isoterma de Freundlich y puede ser aplicado en MIPs tanto homogéneos y heterogéneos. Su expresión matemática es dada por la ecuación 5.5:

$$B = \frac{N_t K_0^m C^m}{1 + K_0^m C^m} \quad [5.5]$$

$B$  es la cantidad de molécula adsorbida en el MIP y  $C$  la concentración de la molécula templada en solución. La constante  $m$  es el índice de heterogeneidad de energía de los sitios formados,  $K_0$  es la constante de adsorción y  $N_t$  es la cantidad de sitios generados en el MIP<sup>[40]</sup>.

### 5.2.5. Modelo de Isoterma Jovanovic-Freundlich.

Este modelo describe el comportamiento de adsorción de un componente en una superficie heterogénea, donde se refiere a la formación en el material de diversos “parches” de interacciones heterogéneas, caracterizado por el establecimiento de su propia energía de distribución; se puede expresar de la siguiente ecuación 5.6:

$$B = N_t (1 - e^{-K C^m}) \quad [5.6]$$

$m$  es el índice de heterogeneidad que va de 0 a 1, siendo 1 un estado homogéneo,  $k$  es la constante de afinidad que depende de la temperatura y nos indica una medida de interacciones entre el adsorbato y el adsorbente<sup>[40]</sup>. Esta ecuación puede reducirse a una isoterma de Jovanovic cuando  $m$  es igual a 1, mientras que a bajas concentraciones de adsorbato, se reduce a una isoterma de Freundlich.

### 5.2.6. Modelo de isoterma Alosterica.

Se puede expresar de la siguiente manera (ecuación 5.7):

$$B = \frac{B_m C^n}{K_m + C^n}$$

Donde  $B$  es la cantidad de sitios específicos con respecto a la concentración de equilibrio del componente  $C$ ,  $K$  es la constante de afinidad y  $n$  es el índice que indica la cantidad de capas creadas, este tiene como valor mínimo 1. El modelo trata de explicar la catálisis enzimática, y se basa en la múltiples capas de adsorción, consecuencia de una segunda molécula como adsorbente, afectando la afinidad del adsorbato<sup>[40]</sup>.

### **5.3. Caracterización química.**

Debido a la insolubilidad de los polímeros de impresión molecular, es difícil su caracterización por resonancia magnética nuclear; por lo que se sugieren métodos como: análisis microelemental, espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier y resonancia magnética nuclear en estado sólido<sup>[31]</sup>.

## 6. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Para el control de las garrapatas se utilizan muchos medicamentos que presentan buena efectividad, pero la mayoría de estos representan un problema durante el manejo de los animales, como son los baños que se deben dar usualmente. Otros se administran de forma intramuscular, pero se deben repetir las dosis frecuentemente. El generar formas farmacéuticas que mantengan las concentraciones en sangre dentro de la ventana terapéutica y, durante mucho tiempo, representa una solución al control de la garrapata y manejo del ganado.

Entre los factores que influyen en la capacidad de reconocimiento molecular de los MIPs, se encuentra la variación en el contenido del monómero y del entrecruzador en el polímero. Otro factor que es fundamental en la morfología y área de contacto, es el disolvente, además que interviene directamente en las interacciones entre el monómero y la molécula horma. Por ello es la idea de usar diferentes disolventes en la síntesis de MIPs, con capacidad de reconocimiento y liberación de ivermectina, además de sumarle los pocos estudios realizados en esta área.

El considerar el MIP como una nueva forma de liberación de ivermectina en el área veterinaria, es tema de reciente investigación que ha mostrado muy buenos resultados, pero sólo se ha evaluado la variación de la concentración de las moléculas involucradas en la síntesis de polímeros<sup>[26]</sup>. Conociendo la influencia del disolvente en la síntesis y selectividad del MIP; además no hay referencias de la generación de MIPs, y sobre todo, cómo influye directamente en la liberación de ivermectina.

El presente trabajo hace uso de los efectos que puede generar el disolvente en el polímero, para modificar las características del MIP, con el fin de encontrar al disolvente con el que se obtengan mejores resultados en la selectividad y liberación por ivermectina.

Por lo cual se plantea el uso de diferentes disolventes para la síntesis de MIP y NIP, en este caso, Dimetilsulfóxido (DMSO), Acetonitrilo ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ) y Tetrahidrofurano (THF), ya que son disolventes no polares, apróticos y donde se pueden disolver fácilmente los componentes para la síntesis de polímeros. Además de innovar con el uso del triacrilato de pentaeritritol como entrecruzador para la síntesis del polímero; y la

influencia de las condiciones de síntesis, las cuales se realizaron bajo calor y luz uv.

Una vez finalizada la síntesis de MIP y NIP en cada disolvente y bajo las dos condiciones de reacción, se trabaja en determinar su capacidad de reconocer a la ivermectina y, posteriormente, la liberación del fármaco; para establecer el disolvente que ofrece las mejores características de liberación.

## **7. OBJETIVO GENERAL.**

- Síntesis y caracterización de polímeros de impresión molecular para la liberación prolongada de ivermectina, en diferentes disolventes: dimetilsulfóxido, acetonitrilo y tetrahidrofurano.

### **7.1. Objetivos Particulares.**

- Síntesis de polímeros de impresión molecular utilizando un equivalente mmol de ivermectina, cuatro equivalentes mmol de ácido metacrílico y veinte equivalentes mmol de PETRA en los disolventes: DMSO, CH<sub>3</sub>CN y THF, aplicado el método de polimerización por calor y fotoquímica. También, se prepararán estos materiales sin ivermectina (NIP) en las mismas condiciones.
- Caracterizar la capacidad de reconocimiento molecular de los MIPs y NIPs hacia la ivermectina utilizando isotermas de adsorción.
- Estudiar las cinéticas de liberación de ivermectina para los diferentes polímeros sintetizados y, en base a esto, establecer los mecanismos de liberación.
- Determinar que disolvente usado en la síntesis de los polímeros ofrece las mejores características para la liberación controlada de ivermectina.

## **8. MATERIAL Y EQUIPO.**

### **8.1. Equipo.**

- Desecador marca P-Selecta, con bomba al vacío Cometa.
- Parrilla con control de temperatura y agitación marca Cerammy Midi, Kika ® Works U.S.A.
- Parrilla con temperatura y agitación Thermolyne.
- Baño Térmico PolyScience® Temperature Controller.
- Baño Térmico Thermo electron corporation Neslab RTE7.
- Baño Térmico Haake C1, B3.
- Lámpara UV OSRAM HQL 400W Blanco de lujo.
- Balanza Analítica Explorer Ohaus capacidad 110g x 0.1 mg.
- Espectrofotómetro UV-Visible Hewlett-Packard 8453, software HP-845x-Visible System[1].
- Rota vapor Buchi modelo R-210 Vacuum Pump V-700
- Parrilla con Temperatura y Agitación RT-elite BI Barnstead/ Thermolyne.

## 8.2. Material.

- Ivermectina Moléculas Finas de México S.A. de C.V., Lote 030509128.
- Ácido Metacrílico SIGMA lote 42K3688, P.M. 86.09
- Triacrilato de Pentaeritritol ALDRICH
- AIBN (azobisisobutironitrilo) recristalizado.
- Acetonitrilo S.T. Baker 9011-03 Formula  $\text{CH}_3\text{CN}$  pureza 99.9% P.M. 41.05.
- Dimetilsulfóxido SIGMA RA.
- Tetrahidrofurano SIGMA, RA..
- Etanol Reproquifin PQF®, Alcohol etílico 96° sin desnaturalizar. Se purificó mediante destilacion a 45°C y 160 mmHg .
- Gas Nitrógeno Comprimido PRAXAIR, 99.99 de pureza gases especiales y equipos.



## 9. METODOLOGÍA.

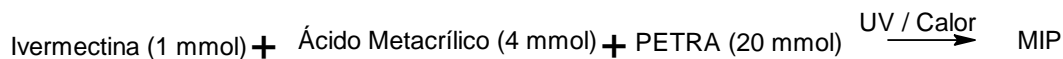
### 9.1. Síntesis de MIP y NIP.

El método utilizado para la síntesis de MIP y NIP, fue por radicales libres para la generación de interacciones no covalentes, en los tres diferentes porógenos (disolventes); tanto en condiciones de calor como la irradiación de luz uv.

Para la síntesis de MIP y NIP se hace una copolimerización de todos los monómeros empleados. Esto se realiza mezclando, los componentes a participar en la síntesis de polímeros, en un recipiente. Para el inicio de la polimerización se utiliza un iniciador que generará radicales libres al ser expuesto a calor o luz, y reacciona con las dobles ligaduras de los monómeros generando enlaces con el entrecruzador y permitiendo que el grupo funcional del monómero, que es el ácido carboxílico, pueda interactuar con la molécula horma.

### 9.2. Técnica experimental.

La obtención de la mezcla para la síntesis del MIP se inició colocando en un vaso de pp. de 50 mL, aproximadamente, el equivalente a una proporción milimolar de ivermectina; se agregó al disolvente agitando hasta disolver completamente la ivermectina, posteriormente se incorporó el equivalente a 20 milimolar de PETRA (Triacrilato de Pentaeritrol), que es el entrecruzador, y el equivalente a 4 milimoles de ácido metacrílico (monómero); se homogenizó la mezcla con agitación y se colocó en un tubo de ensaye.



**Figura 11.- Estequiometría de la reacción para obtener el MIP.**

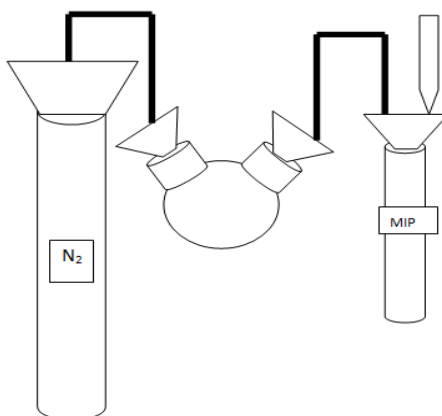
Simultáneamente, en un vaso de pp. de 10 mL, se colocaron 7.2 mg de AIBN (azobisisobutironitrilo) y se disolvieron en el porógeno (disolvente), utilizando agitación. Finalmente, se incorporó al tubo de ensaye y se agitó vigorosamente por 5 minutos.

Para la síntesis del NIP, se siguió la misma secuencia de pasos para obtener la mezcla de síntesis de MIP, omitiendo la ivermectina.

DISOLVENTE	DIMETILSULFÓXIDO		ACETONITRILO		TETRAHIDROFURANO	
REACTIVOS	MIP	NIP	MIP	NIP	MIP	NIP
<i>Ivermectina (g)</i>	0.8715	-	0.8757	-	0.8739	-
<i>Ac. Metacrílico (mL)</i>	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34
<i>Triacrilato de Pentaeritrol (mL)</i>	5.1	5.1	5.1	5.1	5.1	5.1
<i>AIBN (mg)</i>	7.4	7.6	7.3	8.0	7.0	7.7
<i>Porógeno</i>	7	7	7	7	3	3

**Tabla 4.- Cantidades empleadas de los reactivos para la síntesis de los MIP y NIP en los diferentes disolventes tanto para calor como en UV.**

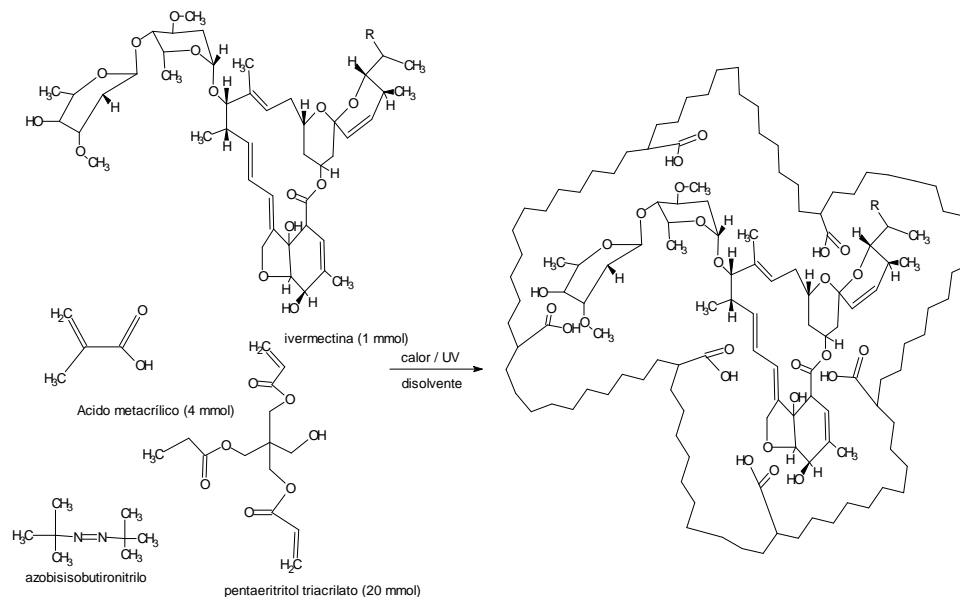
Una vez que se tienen los tubos del MIP y NIP con sus respectivas mezclas y perfectamente identificados, se les colocó un tapón de hule y sellados con parafilm. Ambos tubos se sometieron a un burbujeo de N<sub>2</sub> gaseoso durante 10 min. (Siguiendo el esquema de la figura 12). Primero con el NIP y posteriormente con el MIP, terminado el tiempo de burbujeo se sellaron.



**Figura 12.- Diagrama de desgasificación de las mezclas para la síntesis de MIP y NIP.**

Se trabajaron con dos condiciones diferentes de síntesis. La primera consistió en colocar el par de tubos (MIP y NIP) en un baño de aceite de silicón a 65°C por un período de 24 hrs. El segundo método fue el someter la mezcla del MIP y NIP a irradiación de luz uv colocados en un baño de agua a 4 °C por un periodo de 24 hrs. En ambas condiciones ocurre la

reacción ilustrada en la figura 13, cuyo resultado es la generación de cavidades en la matriz polimérica interaccionando con ivermectina selectivamente.



**Figura 13.- Reacción para la síntesis del MIP con un equivalente mmol de Ivermectina, 4mmol de Ácido Metacrílico y 20 mmol de Pentaeritritol triacrilato.**

### 9.3. Tratamiento de Polímeros.

#### 9.3.1. Curva patrón de ivermectina.

Para hacer la curva patrón de ivermectina, se preparó una disolución stock de la siguiente forma: se pesaron 26.25 mg de ivermectina y se colocaron en un matríz volumétrico de 100 mL, se aforó con etanol para obtener una concentración final de 0.3 mM. Con base a la tabla 5, se prepararon las disoluciones 0.002, 0.004, 0.006, 0.008 y 0.010 mM de ivermectina en matraces aforados de 25 mL y con ayuda de una micropipeta de capacidad 100 – 1000  $\mu$ L.

Concentración mM	Volumen de Disolución stock 0.3 mM en $\mu\text{L}$	Volumen final de disolución en mL
0.002	167	25
0.004	334	25
0.006	500	25
0.008	667	25
0.010	884	25

**Tabla 5.- Soluciones de la curva patrón de ivermectina.**

Después de preparadas las disoluciones, se determinó la absorbancia de cada muestra en un espectrofotómetro de UV – Visible a una longitud de onda de 245 nm; posteriormente, se realizó el tratamiento de los datos con el programa Origin lab. Se ajustó esta información a la ley de Lamber y Beer.

### **9.3.2. Lavado de polímeros.**

Al concluir la síntesis tanto del MIP como el NIP, se retiraron de sus respectivos tubos de ensaye y el polímero se pulveriza utilizando un molino eléctrico por aproximadamente 5 minutos; este procedimiento aplica a todos los polímeros preparados. Después de moler los polímeros, se colocaron en su respectivo vaso de pp. de 50mL y se les agregó 40 mL de etanol; se dejaron agitando durante 2 hrs. y, posteriormente, se decantó el etanol de los polímeros. Se repitió este procedimiento 3 veces, finalizado, se dejó en agitación por 24 hrs a 250 rpm. Posteriormente, se les retiró el etanol a los polímeros y se colocaron en filtros de celulosa, dejándose en lavado a reflujo con etanol por 48 hrs. a una temperatura de 85°C, en un equipo soxhlet.

Finalizado el lavado a reflujo, se filtraron los polímeros al vacío y se lavaron ambos polímeros con 5 mL etanol 5 veces. Al finalizar, se dejaron agitando nuevamente en etanol por 24 hrs. en vasos de pp. de 50 mL y tapados, posteriormente se verificó que los polímeros estuvieran limpios (libres de ivermectina) ocupando el espectrofotómetro UV-Visibles, donde

la ivermectina presenta espectro característico con un máximo de absorción a 245 nm.

Los polímeros que ya estaban libres de ivermectina, se filtraron y se colocaron en frascos viales con un tapón de algodón y se dejaron en un desecador al vacío y a una temperatura de 50°C por 24 hrs. Posteriormente se retiraron del desecador y se taparon.

A los polímeros que aún contenían ivermectina, se colocaron en vasos de pp. de 50 mL y se les agregó 40 mL de etanol y se dejaron en agitación; cada 24 hrs. se verificó la limpieza del polímero, si seguía presentando ivermectina, sólo se decantaba el etanol y se colocaba 40 mL de etanol; este proceso se siguió hasta que el polímero quedó completamente libre de ivermectina, siguiendo su filtración y después a su secado (ya mencionados anteriormente).

### **9.3.3. Isotermas de adsorción.**

Una vez que los polímeros MIP y NIP, obtenidos de las diferentes condiciones experimentales se encuentran totalmente libres de ivermectina, se procede a pesar en tubos ependorf, aproximadamente 15 mg de MIP y NIP, para cada concentración de ivermectina (0.02, 0.04, 0.08, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1, 2, 5, 10, 15 y 25 mM).

En cada ependorf, se coloca 1 mL de las diferentes disoluciones de ivermectina preparadas, tanto al MIP como al NIP y se sella perfectamente con papel parafilm, marcándolo adecuadamente; posteriormente se homogenizan y, finalmente, se colocan en una gradilla que se encuentra en un baño de agua a una temperatura de 25 °C durante 24 hrs. bajo agitación.

Las disoluciones de ivermectina se prepararon de la siguiente forma:

Se pesó 547.00 mg de ivermectina en una nave y se transfirieron a un matraz volumétrico de 25 mL, llevando al aforo con etanol, para obtener una disolución de ivermectina de 25 mM. Posteriormente, se realizaron las siguientes diluciones como se muestran en las siguientes tablas 6 y 7.

Concentración mM	Alícuota de 25 mM en mL	Volumen final en mL
15	6	10
10	4	10
5	2	10
2	2	25

**Tabla 6.- Disoluciones de ivermectina empleadas para el tratamiento de concentraciones altas en las isotermas de adsorción.**

Concentración mM	Alicuota de 2 mM en mL	Volumen final en mL
1	5	10
0.8	4	10
0.6	3	10
0.4	2	10
0.2	1	10
0.1	0.5	10
0.08	0.4	10
0.04	0.2	10
0.02	0.1	10

**Tabla 7.- Disoluciones de ivermectina empleadas para el tratamiento de concentraciones medias y bajas en las isotermas de adsorción.**

Para determinar la cantidad de ivermectina con la que se inició en cada una de las diferentes concentraciones, se tomaron las alícuotas con micropipeta y se colocaron en matraces volumétricos, aforando con etanol como lo muestra la tabla 8.

Para determinar la cantidad de ivermectina adsorbida por polímero, se tomaron las alícuotas correspondientes a cada disolución que se puso en contacto con polímero, como lo muestra la tabla 8. Y se diluyeron al volumen como se indica en la misma tabla. Usando un espectro de UV-Visible a una longitud de onda de 245 nm. Se elaboró la curva de calibración de ivermectina para extrapolar las absorbancias de las muestras y disoluciones, con el fin de determinar las concentraciones de ivermectina; posteriormente, se ajustó con el factor de dilución para conocer los miligramos en muestras y soluciones.

Con estos datos se determinó la cantidad de miligramos adsorbidos por miligramo de polímero. Finalmente, se elaboró el gráfico de los mg de ivermectina adsorbidos por mg de polímero contra las diferentes concentraciones a las que se trabajó. A esta gráfica se le dio tratamiento con los diversos modelos de isotermas de adsorción. Se hicieron los ajustes no lineales de los datos experimentales con su correspondiente modelo de isoterma y, con base a sus resultados, se estableció qué modelo se ajustaba mejor para poder describir el comportamiento de los diferentes polímeros.

Se siguió el mismo tratamiento para cada MIP y NIP sintetizado en condiciones térmicas y fotoquímica en los diferentes disolventes.

Concentración mM	Alicuota ( $\mu$ L)	Volumen final mL
0.02	10	10
0.04	17	10
0.08	25	10
0.1	50	10
0.2	125	10
0.4	250	10
0.6	312	10
0.8	420	10
1	310	5
2	620	5
5	800	5
10	800	5
15	800	5
25	800	5

Tabla 8.- Alicuotas que se tomaron para trabajar soluciones y muestras de isoterma.

### 9.3.4. Cinética de Liberación.

#### 9.3.4.1. Saturación de polímeros.

Una vez que los polímeros se encontraron totalmente libres de ivermectina y restos de moléculas de reacción (disolvente, oligómeros de bajo peso molecular, iniciador, etc.). Se procedió a cargar (saturar el sólido) tanto el MIP como NIP con ivermectina.

Utilizando un matraz erlenmeyer de 125 mL montado en una parrilla con agitación magnética, se colocó 100 mL de etanol; la agitación se ajustó a una velocidad de 200 rpm y se fue vertiendo poco a poco ivermectina hasta la obtención de una disolución saturada del fármaco, alcanzando una concentración de 145 mmol.

Se pesó 250 mg de polímero tanto del MIP como del NIP y se colocaron en matraces de bola de 50 mL, se les agregó volumetricamente 25 mL de la disolución saturada de ivermectina a cada polímero y en un tercer matraz de bola de 50 mL, sólo se colocaron 25 mL de disolución saturada de ivermectina. Los tres matraces se dejaron perfectamente tapados y en agitación por 72 hrs. Para la determinación de la concentración de ivermectina en las disoluciones, se hizo una dilución de 1/10000 en etanol;

tomando 5  $\mu$ L de alícuota y se colocaron en un matraz aforado de 50 mL, se llevó al aforo con etanol. Posteriormente se verificó la concentración de ivermectina midiendo la absorbancia a 245 nm y se realizaron los cálculos correspondientes ocupando la curva de calibración. Para la determinación de la cantidad de ivermectina por gramo de polímero que recuperó para cada MIP y NIP sintetizados en los diferentes porógenos.

#### **9.3.4.2. Liberación de Ivermectina.**

Para la liberación de ivermectina, se ocupó tanto el MIP como el NIP que se obtuvieron en los diferentes disolventes a diferentes condiciones. Posteriormente, se saturaron con ivermectina como se mencionó en el apartado anterior. Se pesó aproximadamente 20 mg por separado de MIP y de NIP, que se colocaron en su respectivo contenedor del sistema de liberación. Posteriormente, se agregó con pipeta volumétrica un volumen de 50 mL de etanol y se tapó cada contenedor. Subsiguientemente, se inicia la cinética tomando como tiempo cero el momento en que los dos polímeros entran en contacto con el disolvente. Se tomaron muestras a diferentes intervalos de tiempos para cubrir un periodo de 30 hrs. La alícuota que se tomaba de cada contenedor era de 0.5 mL, reponiendo el volumen con etanol. La muestra se colocó en un matraz aforado de 10 mL, el cual se llevó al aforo con etanol, se agitó vigorosamente y, posteriormente, se determinó la absorbancia de la disolución. Con la ecuación de la recta obtenida de la curva de ivermectina se obtuvo el contenido de ivermectina y, en base al peso inicial del polímero saturado y su dato de mg de ivermectina/ mg de polímero, se calculó los miligramos de ivermectina liberados, a cada tiempo se le adicionaba la cantidad de ivermectina liberada en los tiempos anteriores, para poder calcular los miligramos de ivermectina acumulados. Y al final obtener una curva de miligramos liberados de ivermectina con respecto al tiempo.

Con los resultados obtenidos, se efectuaron los ajustes no lineales de los datos experimentales con los diferentes modelos de liberación, los cuales fueron Peppas-Sahlin y Peppas-Fassihi, debido a que estudios realizados anteriormente, bajo las mismas condiciones, mostraron que



estos dos modelos son los que mejor se ajustan a los datos de liberación de ivermectina en MIP y NIP<sup>[26]</sup>. Se ocupó el módulo de ajuste no lineal con el método de Marquardt implementado en programa Origin Lab. Se determinó cual fue el mejor ajuste y con ello obtuvieron los valores de las constantes cinéticas.

## 10. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.

### 10.1. Síntesis de Polímeros.

La síntesis de Polímeros de Impresión Molecular, así como su conjugado sin molécula horma NIP en los porógenos: acetonitrilo, dimetilsulfóxido y tetrahidrofurano; se logró, tanto en las condiciones de calor (65°C por 24 hrs.) como en condiciones fotoquímicas (UV a 4°C por 24 hrs).

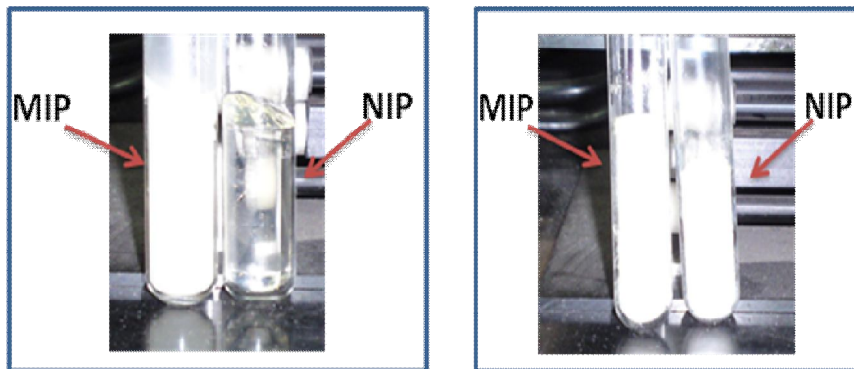
En base al disolvente ocupado para la síntesis del MIP y NIP, además de la condición ocupada para obtener el polímero, se estableció una nomenclatura para facilitar su manejo durante este texto; los nombres que se le asignaron son conforme lo muestra en la tabla 9:

Nombre del Polímero	Disolvente	Condición de Síntesis	Ivermectina
<b>TVMIP</b>	Tetrahidrofurano	Luz UV	Si
<b>TVNIP</b>	Tetrahidrofurano	Luz UV	No
<b>TCMIP</b>	Tetrahidrofurano	Calor	Si
<b>TCNIP</b>	Tetrahidrofurano	Calor	No
<b>CVMIP</b>	Acetonitrilo	Luz UV	Si
<b>CVNIP</b>	Acetonitrilo	Luz UV	No
<b>CCMIP</b>	Acetonitrilo	Calor	Si
<b>CCNIP</b>	Acetonitrilo	Calor	No
<b>DVMIP</b>	Dimetilsulfóxido	Luz UV	Si
<b>DVNIP</b>	Dimetilsulfóxido	Luz UV	No
<b>DCMIP</b>	Dimetilsulfóxido	Calor	Si
<b>DCNIP</b>	Dimetilsulfóxido	Calor	No

Tabla 9.- Clave de polímeros sintetizados en los diferentes disolventes utilizando las dos diferentes condiciones de síntesis, con ausencia o presencia de ivermectina.

Al obtener estos polímeros, se apreció a simple vista, la diferencia entre los polímeros sintetizados en condiciones de calor con los obtenidos en condiciones de irradiación de luz UV; La apariencia física de los MIPs sintetizados en condiciones fotoquímicas eran traslucidos y el NIP era semi transparente (figura 14), además de mostrar mayor rigidez. Estas características no se apreciaron en los MIPs y NIPs sintetizados en

condiciones térmicas, debido que en los dos se mostraron un aspecto similar al polímero con molécula horma obtenido por la síntesis con uv, sin haber diferencia significativa entre el MIP y NIP (figura 14), además, se mostraron más frágiles.



**Figura 14 .- Imagen de la izquierda: polímeros sintetizados utilizando luz UV en el porógeno tetrahidrofurano; y Imagen derecha: polímeros sintetizados en condiciones de calor en el porógeno tetrahidrofurano.**

De esto se puede deducir, en un principio, que las condiciones de síntesis muestran una influencia significativa en la conformación de la estructura o lo que se conoce como un estado vitrio<sup>[24]</sup> en los polímeros sintetizados en condiciones fotoquímicas. Esto puede deberse a que la conformación sea más ordenada, es decir, que la microestructura de la matriz polimérica sea más homogénea, mientras que para los polímeros sintetizados utilizando como condiciones experimentales calor, tienden a organizar microestructuras heterogéneas.

## **10.2. Reducción de tamaño de partícula en MIPs y NIPs.**

Después de la síntesis de MIPs y NIPs en los diferentes disolventes, se procedió a la fragmentación de polímeros.

En la fragmentación o reducción de tamaño de partícula, empieza a mostrarse una influencia por parte del porógeno o disolvente utilizado, debido a que después de su reducción de tamaño de partícula, se observó claramente que en los polímeros sintetizados en acetonitrilo y dimetilsulfoxido, se obtuvo polvo blanco grumoso (en mayor cantidad en los MIP y NIP sintetizados en calor), mientras que para los polímeros

sintetizados en THF, el resultado fue un polvo muy fino de un color blanco, homogéneo.

Se parte de estas observaciones, para tener presente la idea que para el MIP y NIP, sintetizados en condiciones experimentales utilizando luz uv, muestran una mayor homogeneidad, pero en este aspecto se aprecia también que el tipo de disolvente influye en la estructura del polímero, además de la formación de sitios con energías de interacción homogéneas con la molécula horma. Esto viene dado por la naturaleza del porógeno que influye en la conformación de las cavidades en el polímero, además de establecer las interacciones entre el monómero del MIP y la molécula horma. Se sabe que para la generación de un estado óptimo en un MIP se requieren disolventes de polaridad media o baja constante dieléctrica. Las constantes dieléctricas de los porógenos son: DMSO de 47, CH<sub>3</sub>CN de 37 y en THF de 7.5<sup>[42]</sup>, donde vemos que las interacciones entre las moléculas que conforman el polímero son menores en DMSO y CH<sub>3</sub>CN que son capaces de disminuir la fuerza de las interacciones generadas entre el monómero y la molécula horma; las cuales pueden ser interacciones como, puentes de hidrogeno, van der Waals; entre otras presentes en las mezclas (como se muestran en la figura 5), mientras que pasa lo contrario con los polímeros sintetizados en el disolvente THF, ya que al no poder reducir estas interacciones entre los componentes del polímero, sus fuerzas de enlace son de mayor energía, dando una mayor rigidez a la estructura, además de una mayor homogeneidad en la misma, esto es lo que se puede apreciar en el análisis visual de los MIP y NIP sintetizados, como se muestra en la figura 14.

### **10.3. Extracción de Molécula Horma.**

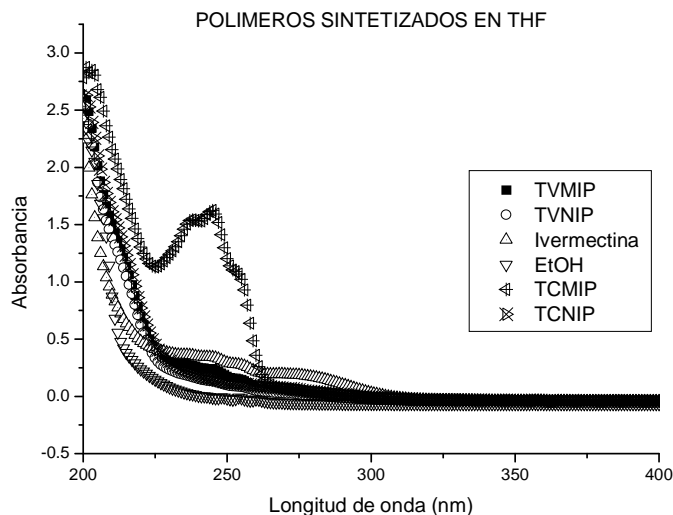
El tratamiento dado a los polímeros para su caracterización, fue la extracción de la molécula horma con base al fenómeno de difusión simple, entre los MIPs y el medio adecuado, donde la ivermectina es muy soluble es el etanol.

Entre los diversos pasos que se mencionan para la extracción de la molécula horma, se encontraron diferencias entre las síntesis empleadas,

ya que los MIPs sintetizados en condiciones fotoquímicas y una temperatura de 4 °C, para llevar a cabo la reacción de polimerización, se presentaron tiempos de extracción menor, comparado con los sintetizados en condiciones de calor donde la mezcla se expuso a una temperatura de 65 °C.

En la gráfica 1, se puede observar el espectro de absorción del disolvente después del lavado, en este caso THF. Los polímeros preparados en condiciones de calor, mostraron valores de absorbancia mayor que los sintetizados en condiciones de UV, después del lavado con el equipo a reflujo. Si relacionamos la absorbancia con la concentración, con respecto a la ley de Lambert y Beer, obtenemos que para un valor de absorbancia mayor corresponde un valor de concentración mayor y, trasladándonos a la gráfica 1, se puede deducir que para la determinación de ivermectina en los polímeros sintetizados en tetrahidrofurano, el MIP que se obtuvo en condiciones de temperatura alta, saturó el etanol en el que se colocó para su lavado, con lo cual no eliminó toda la ivermectina adsorbida en la superficie del polímero; mientras que para el MIP sintetizado utilizando luz UV, mostró un valor de absorbancia mucho menor que TCMIP, concluyendo que los lavados fueron buenos para TVMIP y ya ha eliminado la mayor parte de ivermectina capturada. Este hecho se comprobó ya que al final de todos los lavados, la cantidad del valor de absorbancia en el MIP sintetizado en calor para tetrahidrofurano, empezó a disminuir hasta empalmarse con el valor de absorbancia del etanol, sucediendo lo mismo para TVMIP, pero en este último polímero, la pérdida de ivermectina fue más rápida. Esto pudo deberse a que adsorbió una menor cantidad de molécula hormona de forma débilmente enlazada, por generar una superficie más homogénea y menos sitios de interacción, pero con mayor selectividad que los generados en el polímero sintetizado en calor, donde se generó una superficie más heterogénea y se generaron mayor cantidad de sitios de interacción débiles, pero con baja selectividad para la adsorción de ivermectina. Esta suposición será corroborada más adelante con los resultados obtenidos para las constantes de isoterma de enlace. Las mismas características que se obtuvieron con respecto a la extracción de la molécula hormona en los MIPs sintetizados en

tetrahidrofurano, se observaron en los polímeros sintetizados en dimetilsulfóxido como acetonitrilo respecto a sus correspondientes polímeros sintetizados en calor y luz.

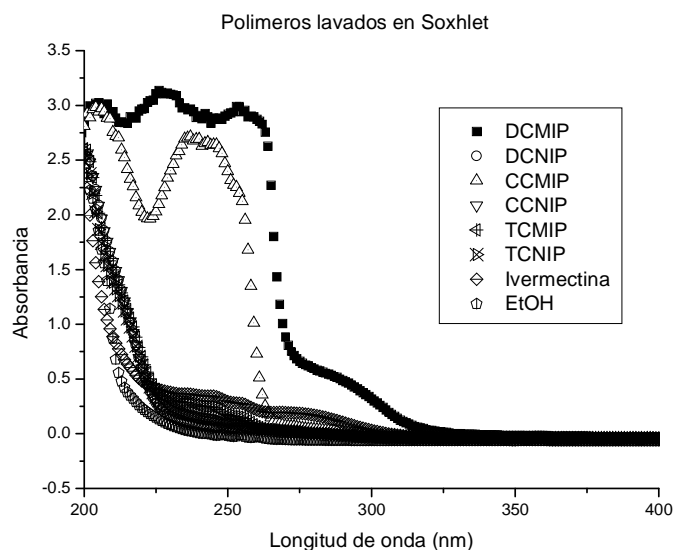


**Gráfica 1.-Determinación de Ivermectina en polímeros; polímero sintetizado en tetrahidrofurano en presencia de ivermectina, ocupando luz uv (TVMIP); polímero sintetizado en tetrahidrofurano sin la presencia de la molécula horma, ocupando luz uv (TVNIP); polímero sintetizado en tetrahidrofurano en presencia de ivermectina, ocupando calor (TCMIP); polímero sintetizado en tetrahidrofurano sin la presencia de ivermectina, ocupando calor (TCNIP), después del lavado en soxhlet.**

Al comparar los tres diferentes disolventes en la gráfica 2, se ve el comportamiento de todos los polímeros en los diferentes porógenos en condiciones de calor. Después del proceso de lavado en el Soxhlet en la gráfica 2; se muestra como resultado, que los polímeros hormados sintetizados en THF, fueron los que tomaron menor tiempo en liberar la molécula horma hasta llegar a coincidir con la lectura de absorbancia que presenta el disolvente del medio, que es el etanol. Siguiendo los polímeros sintetizados en  $\text{CH}_3\text{CN}$  y, por último, los polímeros preparados en DMSO; esta observación es en base a los resultados obtenidos al finalizar la extracción total de la molécula horma en todos los polímeros. Esto puede dar un preámbulo a lo que sería la liberación del fármaco por los polímeros sintetizados.

El comportamiento antes mencionado es debido, probablemente en parte, a la cantidad de molécula horma capturada que se muestra más adelante. La rigidez de la estructura no permite la penetración del

disolvente, las interacciones o afinidad entre la matriz polimérica pueden ser muy específicas para la ivermectina, lo que retardaría su liberación, o inespecíficas lo cual produciría una liberación de gran cantidad de ivermectina en un menor tiempo y la generación de el área superficial en el polímero. Adicionalmente, otra posibilidad es que la microestructura del polímero, es decir los poros, disminuyan de tamaño con la polaridad del disolvente. Este comportamiento sigue el mismo orden para los polímeros sintetizados en los tres diferentes porógenos pero en condiciones de irradiación de luz uv.



**Gráfica 2.- Determinación de ivermectina en polímeros sintetizados en calor, después del lavado en soxhlet. Polímero sintetizado en dimetilsulfóxido en calor utilizando ivermectina (DCMIP), polímero sintetizado en dimetilsulfóxido en calor sin la presencia de ivermectina (DCNIP); polímero sintetizado en acetonitrilo en calor utilizando ivermectina (CCMIP); polímero sintetizado en acetonitrilo en calor sin la presencia ivermectina (CCNIP); polímero sintetizado en tetrahidrofurano en calor utilizando ivermectina (TCMIP); polímero sintetizado en tetrahidrofurano en calor sin la presencia de ivermectina (TCNIP).**

#### **10.4. Isotermas de enlace.**

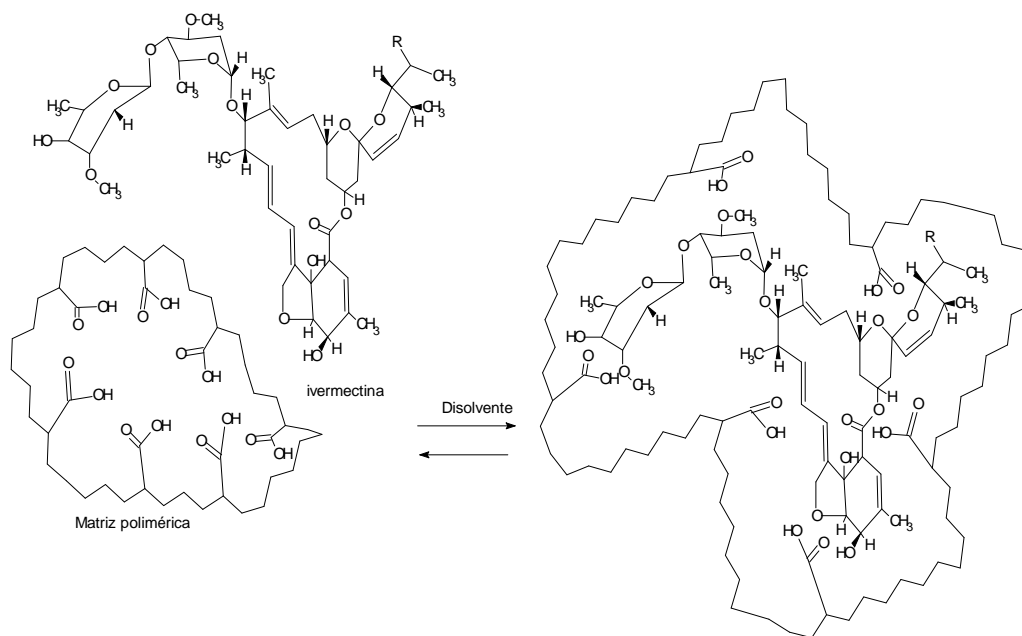
Con la matriz polimérica que se encuentra libre de la molécula horma, se prosigue a determinar su capacidad de captura de ivermectina a diferentes concentraciones, para la determinación de sus sitios de interacción, además de la homogeneidad o heterogeneidad que presentan los sitios de enlace y la afinidad que ejercen sobre la molécula.

Los modelos de isotermas de enlace más comúnmente empleados para la caracterización de MIPs son los de Freundlich, Langmuir y los modelos híbridos que se desprenden de estos, Jovanovic-Freundlich y Langmuir-Freundlich. Estos modelo se han elegido en base a los análisis informados en la literatura para polímeros elaborados en las mismas condiciones; además de mostrar que los modelos híbridos son los que mejor se ajustan a los datos obtenidos experimentalmente<sup>[26]</sup>.

##### **10.4.1. Elección del Modelo de Isoterma de enlace.**

Después de la síntesis de los diferentes MIPs y NIPs y, que estos quedaron libres de ivermectina, el siguiente paso es el conocer si son capaces de adsorber ivermectina y cómo se comporta el MIP y NIP a diferentes concentraciones de ivermectina. Para ello, los resultados obtenidos se analizaron con los diferentes modelos de isotermas de enlace ya mencionados y que siguen un equilibrio de enlace, como el que se muestra en la figura 15, donde la ivermectina será adsorbida por el polímero MIP y ocupará un lugar en las cavidades generadas en la matriz, o bien en sitios más débiles en superficie con huecos no complementarios. La suposición principal es que si hay mayor número de huecos específicos el equilibrio se desplazará a la derecha, por el caso contrario, si la molécula horma no se puede difundir fácilmente en el polímero o su sitio de interacción no es tan selectivo, el equilibrio se desplaza a la izquierda siendo débil la unión de la ivermectina con la matriz polimérica.





**Figura 15.- equilibrio de absorción que se lleva a cabo en las isotermas de enlaces.**

Para conocer cuál es el modelo que se ajusta mejor y presenta menor error, se utilizaron los parámetros estadísticos que son:  $R^2$ , F y Ji Cuadrada.  $R^2$  o coeficiente de correlación, es un parámetro estadístico que nos indica una relación lineal entre dos variables, abarca valores de 1 a -1, donde mientras más cercano sea su valor a uno mostrará una dependencia lineal entre las dos variables; por lo contrario, si su valor se aproxima a cero, indicará que no existe ninguna dependencia entre las variables.

El parámetro estadístico F ó Fisher va muy relacionado al parámetro Ji Cuadrada, el cual nos indica una relación entre la independencia, en este caso de las variables a trabajar. Mientras más pequeño sea el valor de Ji, se interpreta como una dependencia entre la variables, mientras que la F de Fisher relaciona la dependencia entre el cociente de las Ji cuadradas de cada variable, donde se espera obtener valores altos para determinar una dependencia entre las variables a trabajar.

Después de realizar la parte experimental de las isotermas de enlace para todos los polímeros sintetizados y obtener la cantidad de ivermectina para cada valor de concentración, se trazaron las gráficas correspondientes a las concentraciones de ivermectina contra los miligramos de ivermectina adsorbidos por cada miligramo de polímero; posteriormente a estos resultados

se les dio tratamiento con los modelos de isothermas de Jovanovic-Freundlich y Langmuir-Freundlich, Langmuir y Freundlich; estos cuatro modelos fueron los seleccionados y utilizados con base a que se han realizado análisis de modelos de isothermas en las mismas condiciones que estos polímeros y se han tenido los mejores resultados con estos modelos<sup>[26]</sup>.

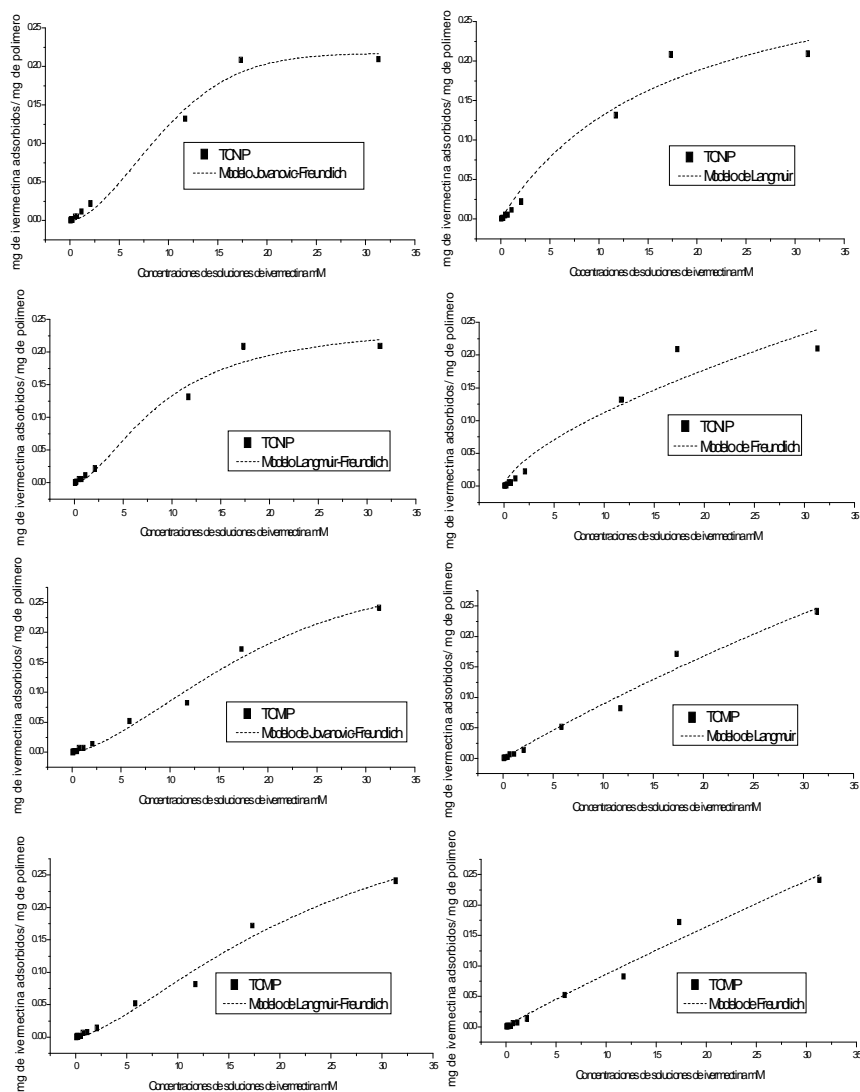
Tomando los datos experimentales para cada polímero, se sometieron al ajuste de los cuatro modelos de isoterma ya mencionados, se calculó la cantidad de ivermectina adsorbida con la curva de calibración de ivermectina y se tomaron los valores de los parámetros estadísticos, para la determinación de los modelos de isoterma mencionados.

En los resultados obtenidos para los polímeros sintetizados en tetrahidrofurano en condiciones de calor como en la polimerización fotoquímica, se pueden apreciar claramente en los gráficos 3 y 4, donde se lustran los ajustes a los diferentes modelos de isoterma que se tomaron en cuenta por las características que describe cada uno; además de los estudios ya obtenidos con estos modelos<sup>[26]</sup> y en la tabla 9, se encuentran los datos obtenidos de los parámetros estadísticos. Con base en esto, podemos concluir que el modelo que mejor se adapta a los resultados obtenidos, es el de Jovanovic-Freundlich ya que los valores de sus constantes estadísticas calculadas, muestran valores más congruentes a su ajuste comparadas con las obtenidas para los demás modelos que se ocuparon; como en el caso de el TVNIP, donde el mejor ajuste fue el obtenido con el modelo de Freundlich. Se utilizará el modelo de Jovanovic-Freundlich, ya que en TCNIP, TCMIP y TVMIP se obtuvo mejor su ajuste de datos, además de considerar que para los valores de los parámetros estadísticos obtenidos en TVNIP, no existe una diferencia significativa y tomando en cuenta las características que podemos obtener de los modelos, se conocerá mejor a los polímeros utilizando un modelo de isoterma híbrido, a un modelo de isoterma sencillo; esto es debido a que el modelo de isoterma híbrido considera además de la liberación por el mecanismo de difusión, que también puede haber liberación al mismo tiempo por otros mecanismos como los ya mencionados en el marco teórico o considera el que exista un mecanismo de liberación “anómalo” que lo considera como desconocido.

	TCNIP			TCMIP		
	R <sup>2</sup>	Ji Cua.	F	R <sup>2</sup>	Ji Cua.	F
JF	0.988	8.75x10 <sup>-5</sup>	399.425	0.986	9.094x10 <sup>-5</sup>	354.371
LF	0.981	1.31x10 <sup>-4</sup>	264.847	0.984	9.181x10 <sup>-5</sup>	328.044
L	0.970	2.13x10 <sup>-4</sup>	243.096	0.982	1.129x10 <sup>-4</sup>	426.787
F	0.937	4.54x10 <sup>-4</sup>	111.742	0.980	1.256x10 <sup>-4</sup>	383.140
	TVNIP			TVMIP		
	R <sup>2</sup>	Ji Cua.	F	R <sup>2</sup>	Ji Cua.	F
JF	0.972	5.13x10 <sup>-4</sup>	195.437	0.999	9.923x10 <sup>-6</sup>	5992.754
LF	0.972	5.13x10 <sup>-4</sup>	195.445	0.999	9.765x10 <sup>-6</sup>	6089.684
L	0.932	0.00126	115.940	0.998	2.574x10 <sup>-5</sup>	3460.547
F	0.974	4.71x10 <sup>-4</sup>	319.841	0.998	2.558x10 <sup>-5</sup>	3483.491

**Tabla 9.- Valores obtenidos para los diferentes parámetros estadísticos de los MIPs y NIPs sintetizados en tetrahidrofurano. (JF) Modelo Jovanovic-Freundlich, (LF) modelo Langmuir-Freudlich, (L) modelo Langmuir y (F) modelo Freundlich.**

La elección del modelo de Jovanovic-Freundlich, es el que se utilizará para el análisis de los datos experimentales obtenidos para todos los polímeros sintetizados. Este resultado se obtuvo en base a los valores obtenidos de los parámetros estadísticos para los diferentes modelos utilizados en el tratamiento de los resultados de las isothermas de enlace.



**Gráfica 3.- Ajuste de los diferentes modelos de isothermas de enlace en los polímeros sintetizados en calor, utilizando el porógeno tetrahidrofurano en presencia de ivermectina (TCMIP) y en ausencia de ivermectina (TCNIP).**

En el gráfico 3, tenemos el análisis de los polímeros TCNIP y TCMIP, donde se aprecia que en los modelos de isothermas de enlace sencillos como lo son el de Freundlich y Langmuir, el ajuste obtenido es casi una línea recta; mientras que para los modelos híbridos como son el modelo de Langmuir-Freundlich y el modelo de Jovanovic-Freundlich (ocupando las ecuaciones 5.5 y 5.6 respectivamente), el ajuste realizado mostró como resultado que para abarcar la mayoría de los puntos obtenidos, describe una curva que se acerca lo mejor posible a ellos; con ello se obtienen mejores

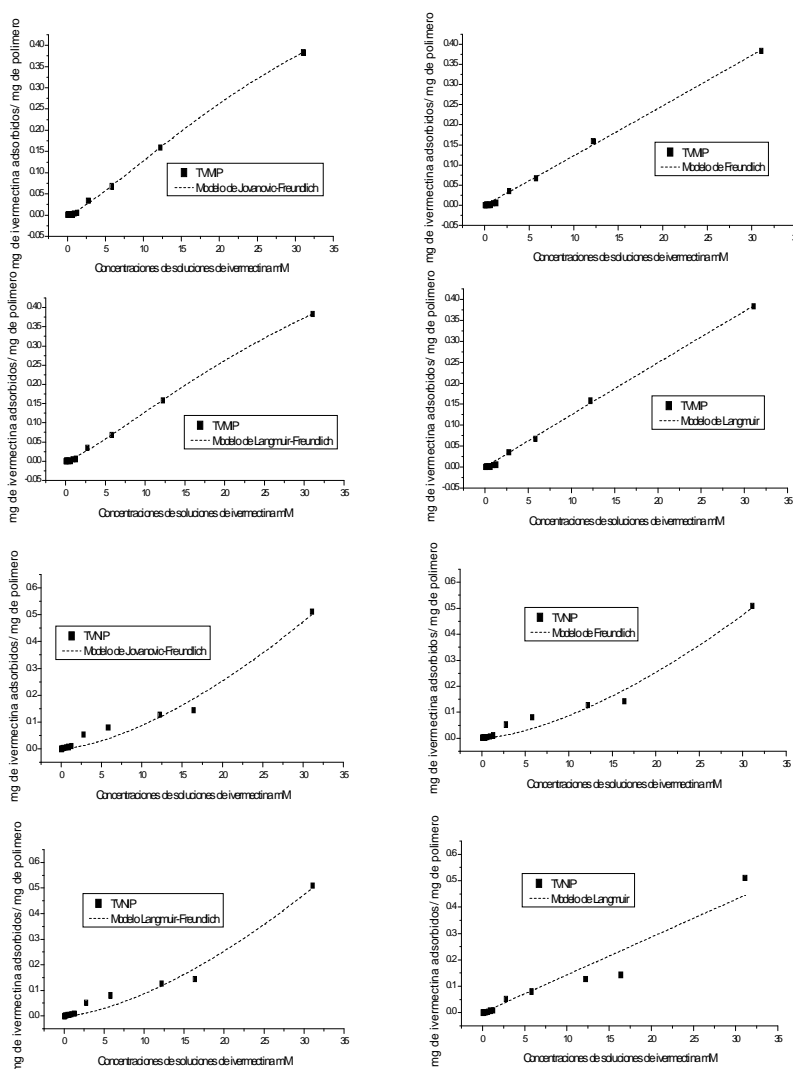
resultados para sus valores estadísticos como lo podemos ver en la tabla 9, por considerar un parámetro estadístico que es el coeficiente de correlación o  $R^2$  donde se obtuvieron los valores para los modelos sencillos de Langmuir y Freundlich, 0.970 y 0.937 respectivamente, en el polímero sintetizado en tetrahidrofurano en condiciones de calor sin la presencia de ivermectina; mientras que para el polímero sintetizado con la molécula horma en el mismo porógeno en condiciones de calor se obtuvieron valores de  $R^2$  de 0.982 para el ajuste con el modelo de Langmuir y 0.980 para el modelo de Freundlich; y los valores de  $R^2$  para los modelos híbridos son mejores como se aprecia para el ajuste de Langmuir-Freundlich en el polímero TCNIP que es de 0.981, muy parecido al resultado obtenido para el modelo de Jovanovic-Freundlich con un valor de 0.988. Con estos resultados, se evidencia que los modelos híbridos ofrecen una mejor aproximación al comportamiento de isoterma de enlace entre el polímero y la molécula horma. Si se observa en la gráfica 4, los polímeros TVMIP como TVNIP presentan el mismo comportamiento que los polímeros sintetizados en el mismo porógeno, pero en condiciones de calor donde los mejores ajustes se aprecian en los modelos híbridos, además de tener mejores valores en sus constantes estadísticas (tabla 9). Para los resultados de las demás isotermas de los polímeros faltantes, el comportamiento fue similar

Con los datos obtenidos en la tabla 9 y en la gráfica 3, se puede concluir que no hay una diferencia significativa entre los dos modelos híbridos, ya que se obtuvieron muy buenos resultados en sus constantes estadísticas; pero, en los valores de la constante  $R^2$ , se tienen mejores valores para el modelo Jovanovic-Freundlich que es de 0.988, mientras que para el modelo Langmuir-Freundlich es de 0.981; estos resultados son con el polímero TCNIP. Además, con el polímero TCMIP también se obtiene un valor mayor en el modelo de Jovanovic-Freundlich que en el modelo de Langmuir-Freundlich. Resultados semejantes se obtuvieron en los demás polímeros con los datos tratados en los cuatro modelos de isotermas de enlace.

Tomando en cuenta que los resultados entre los dos modelos híbridos son buenos y no hay una diferencia entre sí, también se considera la información que se puede obtener de los modelos, donde es muy semejante ya que los dos ofrecen buenos ajustes tanto a concentraciones bajas y altas,

además de que se ajustan muy bien en polímeros de impresión molecular homogéneos y heterogéneos. Pero el modelo de Jovanovic-Freundlich hace la consideración de que se generen en el polímero zonas de interacciones heterogéneas, además de la presencia de homogeneidad en el polímero<sup>[40]</sup>.

Teniendo en cuenta todas las consideraciones mencionadas en el párrafo anterior, se decide el utilizar el modelo de Jovanovic-Freundlich para el análisis de resultados de las isothermas de enlace para los diferentes polímeros sintetizados en el presente trabajo.



**Gráfica 4.-Ajuste de los diferentes modelos de isothermas de enlace en los polímeros sintetizados utilizando luz UV, en el porógeno tetrahidrofurano en presencia de ivermectina (TVMIP) y en ausencia de ivermectina (TVNIP).**

#### **10.4.2. Análisis de Resultados con el modelo de isoterma Jovanovic-Freundlich.**

Para cada par de polímeros (MIP y NIP), se determinaron los diferentes parámetros establecidos por la ecuación que describe el modelo Jovanovic-Freundlich, con ellos se conocerá la energía de enlace que hay entre el adsorbato-adsorbente y una constante que nos indica la homogeneidad en el polímero con respecto a los sitios de interacción de la molécula horma en la matriz polimérica; además de una constante indicadora de la formación de sitios de interacción entre la molécula horma y el polímero, también llamado densidad de sitios de interacción.

Los polímeros sintetizados en el porógeno acetonitrilo ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ), se analizaron por el modelo ya elegido, obteniendo sus constantes (tabla 10). Los polímeros CCMIP y CVMIP que fueron sintetizados en condiciones de calor y luz respectivamente, presentaron valores de constantes muy parecidos, difiriendo considerablemente en el valor de la constante  $N$ , que es indicativa de la generación de sitios de interacción, pero como se ha mencionado en otros trabajos, el mayor peso recae en la energía de interacción entre la molécula horma y el polímero, no en la cantidad de los sitios de interacción<sup>[26]</sup>.

Si se considera que existe mayor sitios generados en el polímero sintetizado en luz UV y su energía de interacción es semejante al polímero sintetizado en calor, pero el valor de la constante de heterogeneidad o  $m$  es más cercano a 1, con respecto al polímero sintetizado en calor, (tabla 10); se puede sugerir que existe una influencia en las condiciones de síntesis, donde se muestra un mejor ordenamiento para polímero sintetizado en condiciones fotoquímicas, al generar una superficie homogénea comparada con el polímero sintetizado en calor; además de generar una cantidad mayor de sitios de interacción, con una energía de enlace similar.

El comportamiento antes mencionado es de esperarse, ya que la diferencia principal entre los polímeros hechos fotoquímicamente y con alta temperatura, es la forma de generar los radicales libres para que se lleve a cabo la polimerización. Si esta se hace a menor temperatura la estructura del complejo preorganizado, estará mejor definida, sobre todo si se considera que las fuerzas que dan origen a este complejo y que genera el sitio de reconocimiento molecular, no son enlaces químicos formales, sino fuerzas

débiles. Esta observación ya ha sido informada en la literatura, sin embargo, la principal desventaja de hacerlo a menor temperatura es que el número de sitios puede disminuir notoriamente ya que el polímero tendrá una estructura más compacta, lo que trae como consecuencia que el número de sitios no accesibles se incremente. Sin embargo, con acetonitrilo este fenómeno no es observado.

Esta misma conducta se observa también con sus respectivos polímeros sintetizados en acetonitrilo en ausencia de ivermectina, en condiciones de calor y utilizando luz UV; con la diferencia que el valor de energía de interacción entre la molécula horma y el polímero es muy bajo. Es algo que se esperaba ya que estos polímeros no se encontraron en contacto con ivermectina durante su síntesis, por lo cual no pudieron generar los sitios de interacción con esta molécula y la cantidad de sitios generados respecto al valor de la constante  $N$  son inespecíficos, por lo ya mencionado de su valor bajo en la constante de interacción. En este caso, en particular, los polímeros impresos o moldeados tienen una constante de asociación aproximadamente cinco órdenes de magnitud más alta con respecto a los que no están hormados, es decir, el polímero tiene muchos sitios de pobre afinidad ya que no han sido moldeados estructuralmente, esto puede conducir a que estas moléculas sean liberadas rápidamente al medio cuando entren en contacto con este, siendo estos sitios no específicos o afines para reconocer la ivermectina selectivamente.

Esta información sugiere que en verdad se lograron crear cavidades, en las cuales la ivermectina puede ser retenida selectivamente y esto puede implicar que el proceso inverso de la adsorción, que sería la liberación, se puede modular dependiendo del grado de interacción o reconocimiento molecular.



Polímeros	K	m	N	R <sup>2</sup>
CCMIP	0.016	1.326	0.791	0.99975
CCNIP	7.3794x10 <sup>-6</sup>	1.861	56.812	0.96556
CVMIP	0.011	1.069	1.151	0.98711
CVNIP	7.139x10 <sup>-6</sup>	1.196	1148.157	0.99274

**Tabla 10.- Valor de las constantes obtenidas para los polímeros sintetizados en acetonitrilo, en la condición de calor en presencia de ivermectina (CCMIP) en ausencia de ivermectina (CCNIP) y en condiciones de luz con la presencia de la molécula horma (CVMIP) y en su ausencia (CVNIP).**

Lo que se refiere para polímeros sintetizados en el disolvente dimetilsulfóxido (DMSO), podemos ver los resultados para las constantes del modelo de isoterma elegido en la tabla 11, el polímero DCMIP (sintetizado en condiciones de calor) muestra una constante de equilibrio que es muy parecida a la obtenida para el polímero hormado sintetizado en condiciones de luz uv; pero este muestra un valor para la constante m de 1.361 que indica la uniformidad en la superficie del polímero, siendo más cercano a la unidad comparado con la constante obtenida en el polímero DVMIP que es de 1.650. Por otro lado, el polímero hormado y sintetizado en condiciones de calor, genera una cantidad mayor de sitios de interacción entre la ivermectina y el polímero, encontrando como mejor alternativa la síntesis del polímero en contacto con ivermectina en condiciones de calor, debido a que mostró mejor comportamiento; esto en base al valor de sus constantes de isoterma de enlace.

Se puede decir que tanto el polímero sintetizado en presencia de ivermectina en condiciones de calor como el que se sintetizó en condiciones de uv, muestran sitios específicos para ivermectina, ya que sus constantes de afinidad son mucho más grandes ( $5 \times 10^{-3}$  y  $5.63 \times 10^{-3}$ ), para DCMIP y DVMIP, respectivamente) comparadas con los valores obtenidos para los polímeros sintetizados en dimetilsulfoxido en ausencia de ivermectina ( $3.44733 \times 10^{-6}$  y  $9.0 \times 10^{-6}$  en calor y luz respectivamente), además de que comparando estos dos polímeros, coincide que el polímero sintetizado en condiciones de calor tiene mayor número de sitios de interacción entre el polímero y la ivermectina, además de un valor de uniformidad más cercano a uno, en comparación con el sintetizado en luz UV.

Polímeros	K	M	N	R <sup>2</sup>
DCMIP	0.005	1.361	0.679	0.99733
DCNIP	3.44733x10 <sup>-6</sup>	1.399	839.871	0.97354
DVMIP	0.0056	1.650	0.226	0.98121
DVNIP	9.0x10 <sup>-6</sup>	1.582	127.407	0.99744

**Tabla 11.-Valor de las constantes obtenidas para los polímeros sintetizados en dimetilsulfoxido, en condición de calor en presencia de ivermectina (DCMIP) en ausencia de ivermectina (DCNIP) y en condiciones de luz con la presencia de la molécula horma (DVMIP) y en ausencia (DVNIP).**

El análisis de los parámetros obtenidos a través del modelo de isoterma de Jovanovic-Freundlich, para los polímeros sintetizados en tetrahidrofurano (THF), sigue el mismo patrón mostrado por los polímeros sintetizados en acetonitrilo. La tabla 12 muestra los resultados obtenidos para los polímeros sintetizados en tetrahidrofurano, los cuales se prepararon en presencia de la molécula horma; presentan una constante de energía mayor: 0.011 y 0.012, para los polímeros TCMIP y TVMIP respectivamente; y los polímeros que no estuvieron en contacto con la molécula horma durante su síntesis obtuvieron valores en sus constantes de energía de  $4.39421 \times 10^{-4}$  y  $1.3594 \times 10^{-6}$ , respectivamente. Se observa claramente que el modelado hace que los sitios de reconocimiento molecular muestren una mayor interacción hacia la ivermectina con respecto a los NIPs. Además, los polímeros hormados en las energías de interacción con la ivermectina, muestran mayor homogeneidad comparada con los que no fueron diseñados para interaccionar con la ivermectina, los cuales fueron el TCNIP y TVNIP con valores en sus constante m de 0.661 y 1.547, respectivamente.

Con referencia al número de sitios de interacción, es notorio que los polímeros no impresos tienen mucho más sitios con respecto a los impresos. Sin embargo, como se ha ido mencionando en los porógenos anteriores, la gran cantidad de sitios generados, no quiere decir que son específicos, lo que se le atribuye que la mayoría de estos sitios sean inespecíficos, teniendo en cuenta los valores de las constantes de energía de interacción y comparándolas con los polímeros hormados que son TCMIP y TVMIP, donde el valor de la constante de energía de interacción son mayores, pero la cantidad de sitios generados es muy pequeña. Además, esta cantidad

de sitios generados tienen un valor de 0.28143 en el polímero sintetizado en el tetrahidrofurano en contacto con ivermectina y en condiciones de calor, mientras que el polímero sintetizado de igual manera, pero en condiciones de luz UV se encontró del doble. Esto puede deberse a que existió más ordenamiento en el polímero formado en condiciones de luz UV, lo cual se refleja en una constante de homogeneidad con un valor más cercano a 1; derivándose en la generación de mayor cantidad de sitios específicos hacia la ivermectina; con lo cual se puede decir que en este porógeno la generación de un polímero con características de reconocimiento hacia la ivermectina se favoreció con las condiciones de irradiación de luz UV y esto se debe fundamentalmente al efecto de temperatura.

Polímeros	K	M	N	R <sup>2</sup>
TCMIP	0.011	1.500	0.281	0.98558
TCNIP	1.621x10 <sup>-7</sup>	0.661	150805.272	0.92996
TVMIP	0.012	1.243	0.640	0.99918
TVNIP	1.3594x10 <sup>-6</sup>	1.547	1807.045	0.97248

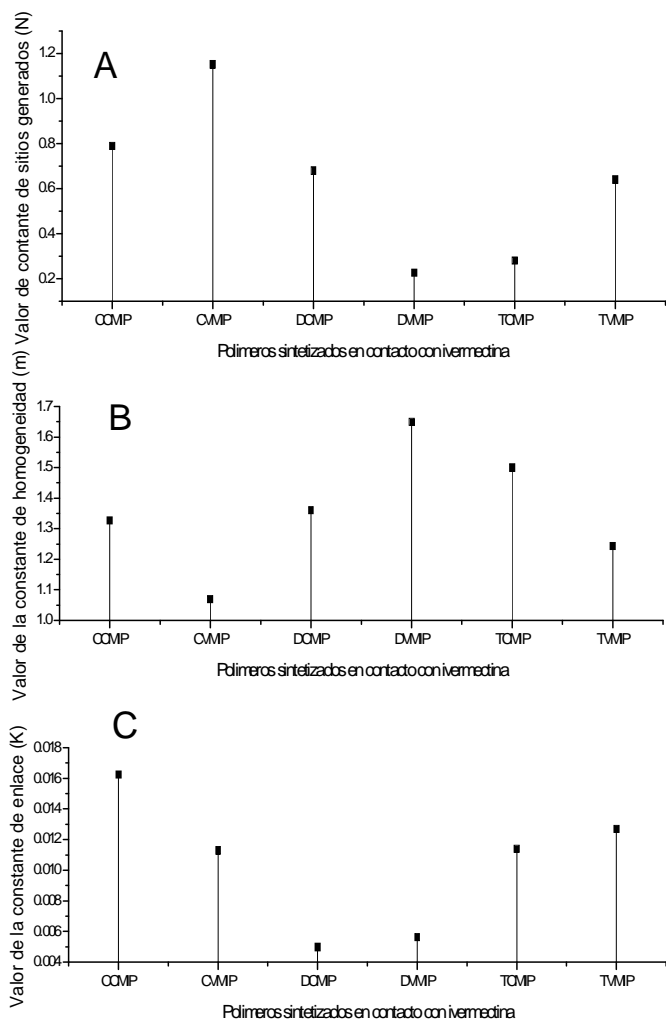
**Tabla 12.- Constantes de polímeros sintetizados en tetrahidrofurano bajo diferentes condiciones, obtenidas con el modelo de isoterma Jovanovic-Freundlich.**

En los casos donde los polímeros se sintetizaron en condiciones de luz, se muestra que los MIPs tienen un valor de energía de enlace mayor, comparado con los sintetizados en calor, con la excepción de los polímeros sintetizados con acetonitrilo donde el polímero producido en calor presentó el mayor valor de constante de enlace, de entre todos los polímeros. En el caso contrario, los polímeros sintetizados en dimetilsulfóxido, mostraron los valores más bajo para la constante de unión de enlace entre el polímero y la ivermectina; esto lo podemos apreciar claramente en la gráfica 5C, donde además, se puede observar que los polímeros sintetizados en tetrahidrofurano que tienen valores de constante de enlace intermedia entre los tres disolventes utilizados. Si se considera los parámetros obtenidos en la isoterma de enlace, el acetonitrilo también presentó el valor más alto en la cantidad de sitios de reconocimiento específico entre el polímero y la ivermectina; mientras que entre los polímeros de dimetilsulfoxido y tetrahidrofurano, se presentaron valores semejantes en los sitios generados para el reconocimiento de

ivermectina, este comportamiento lo podemos ver claramente en la gráfica 5A, por último encontramos la tercer característica aportada por el modelo de isoterma de enlace, utilizado para el tratamiento de resultados, la cual es la homogeneidad en los sitios de unión polímero-ivermectina. Esto se puede valorar a través de la constante de homogeneidad, mientras más cercano sea el valor a 1, presentan un estado más uniforme en la superficie de la matriz polimérica. El disolvente que generó mayor homogeneidad fue el acetonitrilo, obteniendo valores de 1.326 y 1.069 para el polímero sintetizado en calor y en luz respectivamente, en segundo lugar encontramos a los polímeros de tetrahidrofurano y por último a los de dimetilsulfóxido; esta comparación está representada gráficamente en la gráfica 5B.

Con estos resultados se puede resumir claramente que, existen diferencias significativas en el uso del disolvente para la síntesis de polímeros con capacidad de reconocimiento de ivermectina, ya que los tres porógenos elegidos mostraron comportamientos distintos entre sí. Considerando los parámetros obtenidos del ajuste de los datos a un modelo de isoterma de enlace, tenemos al disolvente acetonitrilo como el de mejor resultado, ya que dado los polímeros sintetizados con capacidad de reconocimiento son los que presentaron un valor más alto en la constante de enlace, además de tener una mayor cantidad de sitios de interacción con la ivermectina y de presentar una matriz polimérica más homogénea. En segundo lugar, encontramos a los polímeros de tetrahidrofurano y por último, a los de dimetilsulfóxido. En estos polímeros, su afinidad por la ivermectina es considerablemente menor a los otros polímeros obtenidos en acetonitrilo y tetrahidrofurano, lo que está acorde a la literatura con respecto a que a mayor polaridad del disolvente los sitios de reconocimiento molecular serán peores. Sin embargo, esto no es tan simple ya que el acetonitrilo tiene una constante dieléctrica superior al THF y es el mejor disolvente para este caso.

Estos resultados obtenidos son muy relevantes, ya que en los tres disolventes se logró la síntesis de polímeros con capacidad de reconocimiento por la ivermectina, pero para fines de este trabajo, la importancia radica no sólo en la capacidad de reconocer ivermectina sino, además dan la pauta para poder aplicar estos sistemas a la liberación controlada.



**Gráfica 5.- Constantes de isotermas para los diferentes polimeros sintetizados en presencia de ivermectina; A) gráfica de sitios generados, B) gráfica de constante de homogeneidad y C) gráfica de constante de enlace.**

### 10.5. Carga de los Polímeros.

Una vez realizado el análisis de la caracterización de reconocimiento de ivermectina para los diferentes polímeros, se procedió a cuantificar la cantidad de ivermectina que el polímero limpio puede capturar estando en suspensión. Para ello se coloca el polímero en una disolución saturada de ivermectina y se deja llegar al equilibrio entre la ivermectina capturada y libre. Cabe destacar, que con estos materiales ya cargados del fármaco se hacen los estudios de liberación al paso de tiempo.

Los resultados obtenidos se muestran en miligramos de ivermectina recuperados por mg de polímero (tabla 13). Se observa que los

polímeros que recuperaron mayor cantidad de ivermectina fueron los sintetizados en DMSO, seguidos por los sintetizados en THF y CH<sub>3</sub>CN, que no presentan mucha diferencia entre sí.

Este resultado es el esperado, debido a que todos los polímeros sintetizados con capacidad de reconocimiento por la ivermectina, lograron recuperar una mayor cantidad de ivermectina, comparada con el polímero sintetizado en las mismas condiciones, pero en ausencia de ivermectina, con esto se sigue comprobando la capacidad de reconocimiento de ivermectina por parte de los polímeros impresos.

Estos resultados entre disolventes, muestran que los polímeros formados en dimetilsulfóxido son los que recuperaron una mayor cantidad de ivermectina, seguidos por los sintetizados en acetonitrilo y tetrahidrofurano, ya que no existió una gran diferencia entre estos dos porógenos. Es algo que no se esperaba, debido a la baja afinidad obtenida por parte de los polímeros obtenidos en dimetilsulfóxido, este resultado pudo deberse a la generación de aglomerados, donde la formación de dos o más complejos (templado-monómero) queden dentro de la matriz formando un solo sitio de reconocimiento, el cual tiene baja afinidad al momento de reconocer al templado<sup>[26]</sup>.

Polímero	mg de ivermectina/ mg de polímero
CVMIP	1.796
CVNIP	0.685
DVMIP	2.946
DVNIP	2.491
TVMIP	2.002
TVNIP	1.168
CCMIP	2.240
CCNIP	1.133
DCMIP	6.692
DCNIP	2.017
TCMIP	1.851
TCNIP	1.484

**Tabla 13.- mg de ivermectina recuperados por mg de polímero, para cada MIP y NIP que se sintetizó.**

### 10.6. Elección del Modelo de Liberación de Ivermectina.

Después de que una cantidad de polímero conocida se puso en contacto con una disolución saturada de ivermectina y con esto se determinó la cantidad de ivermectina adsorbida por polímero, se continuó con los estudios de la liberación de ivermectina.

El tratamiento de los resultados de este trabajo consistió en relacionar los valores experimentales con modelos de liberación usualmente descritos en la literatura para liberaciones en sistemas de matrices poliméricas.

El valor de  $R^2$  obtenido de los ajustes, permitió seleccionar el modelo de liberación más representativo; (tablas 14 y 15), se aprecia claramente que no hay diferencia entre las  $R^2$  de los modelos Peppas-Sahlin y Peppas-Fassihi.

Polímero	$K_1$	M	$K_2$	$R^2$
DVMIP	11.411	0.394	$2.0 \times 10^{-22}$	0.96784
DVNIP	10.893	0.393	$2.1 \times 10^{-21}$	0.96893
DCMIP	8.669	0.415	$3.0 \times 10^{-16}$	0.95441
DCNIP	9.714	0.440	$4.0 \times 10^{-16}$	0.95571
TVMIP	8.241	0.386	$5.0 \times 10^{-15}$	0.96760
TVNIP	8.356	0.367	$7.0 \times 10^{-15}$	0.95875
TCMIP	3.383	0.292	$4.0 \times 10^{-16}$	0.93581
TCNIP	7.391	0.323	$6.0 \times 10^{-16}$	0.94138
CVMIP	21.163	0.358	$3.0 \times 10^{-15}$	0.98372
CVNIP	15.372	0.383	$3.0 \times 10^{-15}$	0.98306
CCMIP	15.259	0.392	$4.0 \times 10^{-16}$	0.98317
CCNIP	19.514	0.418	$6.0 \times 10^{-15}$	0.98150

Tabla 14.- Valores obtenidos para los diferentes polímeros, utilizando el modelo de liberación Peppas-Sahlin.

Polímeros	B	A	N	R <sup>2</sup>
DVMIP	5.9x10 <sup>-21</sup>	11.410	0.3946	0.96784
DVNIP	3.0x10 <sup>-21</sup>	10.895	0.3935	0.96893
DCMIP	4.0x10 <sup>-30</sup>	8.669	0.4152	0.95441
DCNIP	3.6x10 <sup>-21</sup>	9.714	0.4405	0.95571
TVMIP	4.0x10 <sup>-25</sup>	8.241	0.3868	0.96780
TVNIP	3.0x10 <sup>-25</sup>	8.268	0.3715	0.95885
TCMIP	3.0x10 <sup>-32</sup>	3.383	0.2921	0.93581
TCNIP	5.0x10 <sup>-26</sup>	7.391	0.3239	0.94138
CVMIP	5.0x10 <sup>-30</sup>	21.162	0.3589	0.98372
CVNIP	3.0x10 <sup>-30</sup>	15.372	0.3832	0.98306
CCMIP	5.0x10 <sup>-23</sup>	15.259	0.3923	0.98317
CCNIP	3.0x10 <sup>-25</sup>	19.514	0.4186	0.98150

**Tabla 15.- Valores obtenidos para los diferentes polímeros, utilizando el modelo de liberación Peppas-Fassihi.**

Por lo cual, para el análisis de resultados, se utilizaron estos dos modelos de liberación.

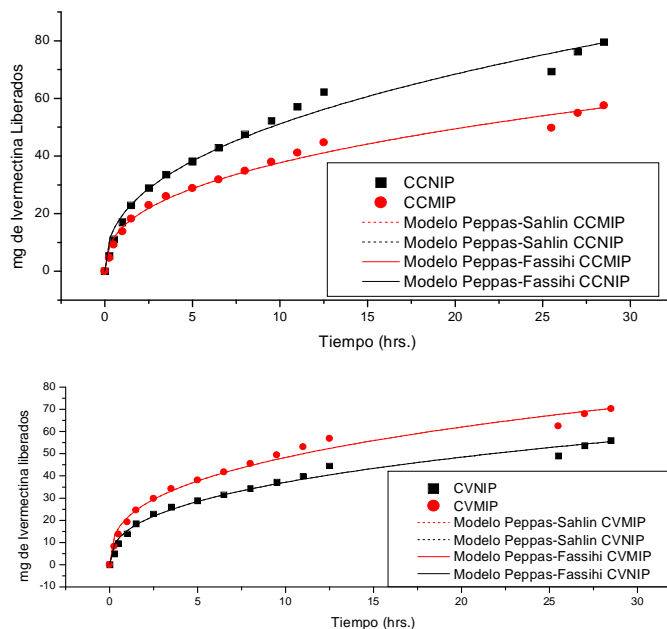
#### **10.7. Modelo de liberación Peppas-Sahlin y Peppas-Fassihi**

En la gráfica 6, se muestra, los modelos de liberación de Peppas-Sahlin y Peppas-Fassihi, para los polímeros sintetizados en acetonitrilo, donde se ve claramente que ambos modelos se sobreponen entre sí para cada polímero. Además, se puede apreciar un efecto de las condiciones de síntesis, ya que se distingue claramente una liberación de mayor control entre los polímeros sintetizados en condiciones de uv a los sintetizados en calor (gráfica 6) y se aprecia claramente que hay una liberación de ivermectina diferente entre los polímeros obtenidos en acetonitrilo en condiciones de luz uv y los obtenidos en el mismo porógeno, pero en condiciones de calor, donde se libera con mayor rapidez la ivermectina en CCNIP, siendo lo contrario en CVNIP donde se libera con menor velocidad comparado con CVMIP. En este último caso, puede deberse a la cantidad de ivermectina contenida, 0.685 mg de ivermectina/ mg de polímero en el polímero CVNIP, donde al ser tan baja la cantidad de ivermectina contenida en el polímero y al entrar al contacto con el



medio, no se presenta una diferencia de gradiente importante que acelere su liberación al medio. Caso contrario ocurre en el polímero CCNIP, donde la cantidad de ivermectina es de 1.133 mg de ivermectina/ mg de polímero, lo cual favorece la difusión de la ivermectina al medio por la existencia de un gradiente de concentración.

Con lo que respecta a los polímeros hormados, se tiene una mayor cantidad de ivermectina recuperada por parte del polímero sintetizado en condiciones de calor, con respecto al sintetizado en luz uv. Esto se verifica en la tabla 13 y siguiendo su comparación, en la gráfica 6, se muestra el perfil de liberación de los dos polímeros, donde el polímero hormado en condiciones de luz uv (CVMIP) tiene una liberación más rápida que en su semejante obtenido en condiciones de calor, lo cual se corrobora con el valor de la constante de difusión en el modelo de *Peppas-Sahlin*, donde la constante  $k_1$  para polímero CVMIP tiene un valor de 21.163, mientras que para CCMIP es de 15.259. Datos semejantes obtenidos para la constante  $a$  en el modelo *Peppas-Fassihi*, reportados en la tabla 15. Con esto, se puede decir que el polímero sintetizado en condiciones de calor es la opción a elegir, con respecto a las condiciones de síntesis, debido a que es capaz de retener una mayor cantidad de ivermectina y adicionalmente liberarla lentamente, extendiendo el periodo de ivermectina en el medio.



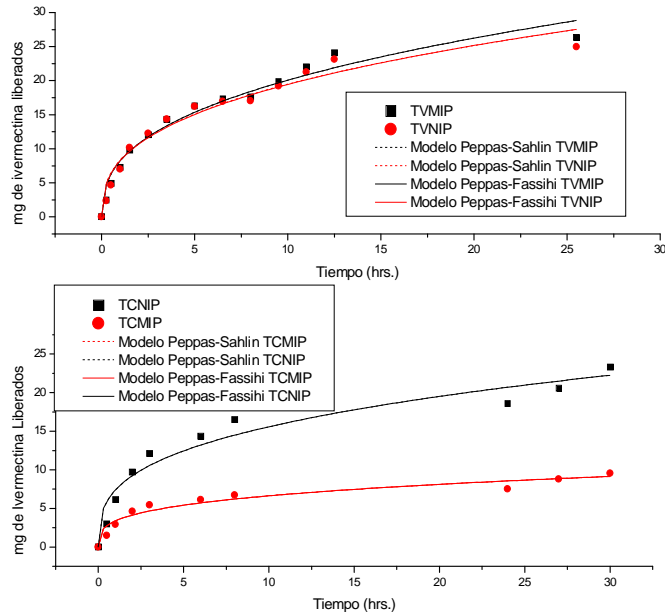
**Gráfica 6.- Liberación de polímeros sintetizados en Acetonitrilo.**

Los resultados mostrados en el gráfico 7, corresponden a la cinética de liberación de los polímeros sintetizados en tetrahidrofurano, donde claramente se muestra una liberación más rápida en los polímeros sintetizados en condiciones de uv a los sintetizados en calor, además de no observar una diferencia significativa en la liberación de ivermectina entre TVMIP y TVNIP, ya que como se muestra en la gráfica 7, sus liberaciones son muy semejantes. Esto se refleja con el valor de  $k_1$ , que nos indica el valor de la constante de difusión, donde para el polímero hormado es de 8.241 y para el no hormado es de 8.356.

El polímero hormado en calor TCMIP, muestra un comportamiento contrario al TVMIP, anteriormente comentado, su liberación ocurre de forma más lenta obteniendo una constante de difusión para los dos modelos utilizados de 3.383 y 3.383 para *Peppas-Sahlin* y *Peppas-Fassihi*, respectivamente, mientras que para el polímero no hormado en condiciones de calor TCNIP se tiene un valor de constante de difusión 7.3918, valor muy semejante a los polímeros obtenidos en condiciones de luz uv, esto se puede observar en la gráfica 7, también se puede comparar la liberación rápida comparada con el polímero hormado.

La liberación con respecto a las condiciones de trabajo, es mayor en los polímeros TVMIP y TVNIP, donde el polímero hormado es el que tiene una mayor cantidad de ivermectina (2.0029 mg) mientras que para él no hormado se encuentra un valor más bajo (1.1686 mg). Su liberación por difusión se debe a que en el polímero hormado existe un gradiente de concentración que favorece la difusión, y adicionándole a esta liberación espontánea, un mecanismo donde puede ocurrir por colapso de los sitios de interacción por la penetración del disolvente en la matriz polimérica y con ello libere la ivermectina rápidamente.

La liberación en los polímeros no hormados en tetrahidrofurano TCNIP y TVNIP es rápida, debido a que no existe una interacción fuerte con la ivermectina, esto es claro en la gráfica 7.

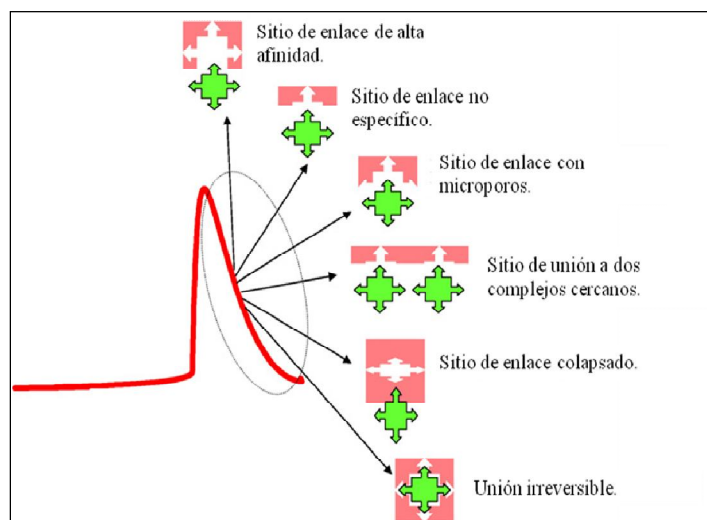


**Gráfica 7.- Liberación de polímeros sintetizados en tetrahidrofurano.**

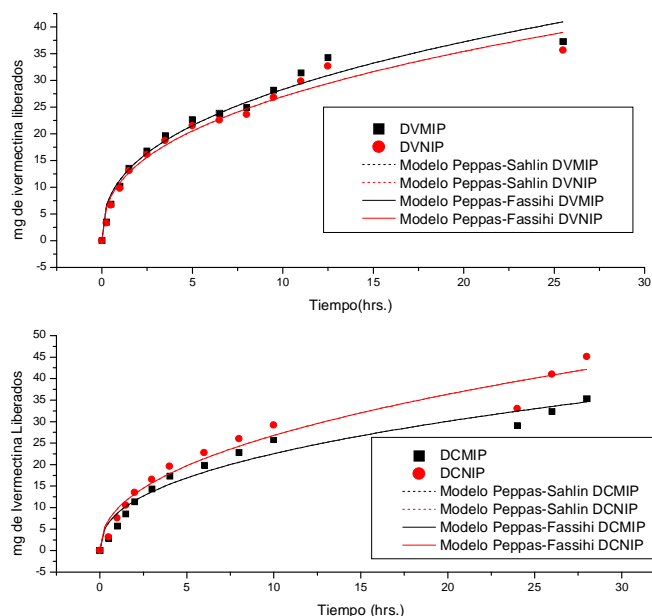
En la gráfica 8, se muestran los datos de polímeros sintetizados en dimetilsulfóxido y sus correspondientes ajustes en los modelos de liberación. Donde los polímeros hormados y no hormados en condiciones de luz UV son DVMIP y DVNIP, respectivamente, mostrando una liberación de mayor rapidez comparada con los polímeros sintetizados en condiciones de calor hormado y no hormado, DCMIP y DCNIP, respectivamente.

El polímero DVMIP presenta una liberación más rápida que DVNIP, pero entre estos dos polímeros no existe una diferencia considerable en su liberación, el efecto se refleja con el valor de su constante de difusión obtenido en el modelo de *Peppas-Sahlin*, que es de 11.4113 y 10.8939 para el polímero hormado y no hormado, respectivamente, donde la liberación en el polímero hormado en luz uv es considerable. La perdida de ivermectina es rápida, ya que en el análisis de isoterma, existe un valor de enlace entre la ivermectina y el polímero bajo considerando a los demás polímeros hormados sintetizados en los diferentes porógenos, con lo que la ivermectina contenida en el polímero hormado DVMIP, difundirá rápidamente, al entrar en contacto con el medio que también ocurre en el polímero no hormado DVNIP donde se esperaba esta difusión acelerada, porque no se genera un reconocimiento

molecular hacia la ivermectina, sólo capturándola en sitios inespecíficos que liberan fácilmente la ivermectina, caso contrario ocurrido en el polímero hormado en calor DCMIP que presenta una liberación más lenta comparada con su polímero no hormado DCNIP; donde el polímero hormado en condiciones de calor presentó un valor de constante de difusión de 8.6697, esto también se favorece con la alta cantidad de ivermectina adsorbida que fue de 6.6926 mg de ivermectina/ mg de polímero, donde su liberación lenta se asume a la generación por la presencia de sitios de unión irreversibles, los cuales se fueron colapsando lentamente conforme penetraba el medio a la matriz polimérica, además de sumarle el efecto de la generación de sitios de unión a dos complejos de unión cercanos, retardando la liberación de ivermectina al medio. Un esquema del tipo de sitios de unión generados se ilustra en la figura 16, donde se ve claramente la influencia de generación de sitios en el reconocimiento de una molécula.



**Figura 16.- Figura de pico de cromatografía.**



**Gráfica 8.- Liberación de polímeros sintetizados en Dimetilsulfóxido.**

Después de considerar el uso de los dos modelos de liberación en los diferentes polímeros sintetizados, se corroboró que existe el efecto de liberación de la molécula horma por el fenómeno de difusión en todos los polímeros sintetizados, en las dos diferentes condiciones y en los tres diferentes porógenos, esto se concluye después de hacer una comparación de las constantes obtenidas en los dos modelos de liberación utilizados; por ejemplo en el modelo de *Peppas-Sahlin*, los valores de las constante  $k_1$  que indica un mecanismo de liberación por difusión, son mayores considerablemente al compararlos con los de la constante  $k_2$ , indicando una liberación de ivermectina por un fenómeno conocido como relajación del polímero o “hinchamiento”, descartando una influencia importante en la liberación de ivermectina. Este resultado es lógico si se considera que los polímeros están altamente entrecruzados y con esto se evita la deformación de los sitios específicos a costo de un nulo hinchamiento.

Adicionalmente, el valor de la constante  $m$ , que es un indicativo del tipo de mecanismo de liberación presente en la matriz polimérica, para esta constante, la mayoría de los valores se encuentran cercanos al valor de 0.5, que según este modelo, presenta una liberación de ivermectina por el

mecanismo de difusión. En el modelo de *Peppas-Fassihi*, donde existe la constante  $n$ , que es muy semejante a la constante  $m$  del otro modelo, y nos indica que en valores entre 0 y 0.5, se cuenta con un mecanismo de difusión a través de poros presentes en la matriz polimérica acelerando la liberación, además, los valores obtenidos para la constante  $b$  que hacen alusión a una liberación en el polímero por un fenómeno conocido como estallido, tiene valores semejantes con la constante  $k_2$  del modelo de *Peppas-Sahlin*, que indica la liberación de ivermectina por “hinchamiento” del polímero, teniendo valores pequeños en comparación con la constante de difusión y se considera este efecto despreciable.

Como se muestran en las tablas 14 y 15, donde se expresan los valores de las constantes para los dos modelos, en los cuales se aprecian valores muy semejantes; indicando que los dos modelos de liberación, son buenos para el tratamiento de los resultados, además, de que se complementan entre sí para facilitar la interpretación de los resultados.

Así, es más comprender el tratamiento de la variable más importante en este trabajo, el comportamiento de liberación de los polímeros en base a la síntesis de polímeros con propiedades de reconocimiento y liberación prolongada de ivermectina.

Donde para el caso de todos los polímeros sintetizados la constante  $k_2$  indica un mecanismo de liberación por hinchamiento en el modelo de *Peppas-Sahlin* y la constante  $b$  que indica una mecanismo de liberación por estallido en el modelo de *Peppas-Fassihi*, sus valores son despreciables comparados con los obtenidos para sus constantes de liberación por un mecanismo de difusión  $k_1$  y  $a$  respectivamente; además de que los valores de las constantes  $m$  en el modelo *Peppas-Sahlin* y  $n$  en el modelo *Peppas-Fassihi*, indican el mecanismo de liberación, dependiendo su valor; obteniendo valores cercanos a 0.5 (tabla 14 y 15). Como se menciona en los antecedentes, para el valor de 0.5, corresponde una liberación tipo Fick o conocida como difusión en el modelo *Peppas-Sahlin*; pero en el modelo *Peppas-Fassihi*, se considera un mecanismo por difusión en presencia de poros que aceleran su liberación para valores de  $n$  entre 0 y 0.5.

De los tres diferentes disolventes; donde se sintetizaron los polímeros; en acetonitrilo, se obtuvieron valores más altos en sus constantes

de difusión, además de ver en la gráfica 6 que su liberación fue más rápida. Los polímeros sintetizados en dimetilsulfóxido demostraron una liberación más lenta que los obtenidos en acetonitrilo. Y los polímeros sintetizados en tetrahidrofurano presentaron una liberación mucho más lenta.

Como se ha mencionado, la importancia de este trabajo ha sido la síntesis de polímeros de impresión molecular con capacidad de reconocimiento y liberación prolongada de ivermectina; ya que los polímeros sintetizados en acetonitrilo, a pesar de tener las mejores condiciones de reconocimiento molecular por la ivermectina, fueron los que liberaron con mayor rapidez la ivermectina, esto se puede explicar por la formación de una red porosa que favorece la entrada del disolvente para atrapar la molécula horma y liberarla rápidamente, este mecanismo se da por hecho en base al valor de su constante  $n$  en el modelo de *Peppas-Fassih*, que indica una difusión simultanea tanto en los poros como por el resto de la matriz polimérica. Mientras que para los polímeros hormados obtenidos en el disolvente dimetilsulfóxido, presentaron valores en sus constante de enlace bajos, en comparación a los demás polímeros; adicionalmente recuperó una gran cantidad de ivermectina; se deduce que por su baja afinidad generada, propició la existencia de sitios inespecíficos en la matriz polimérica, lo cual se refleja en la alta cantidad recuperada de ivermectina comparada con los polímeros sintetizados en los otros dos disolventes; y finalmente los polímeros sintetizados en dimetilsulfoxido presentaron una liberación rápida por un mecanismo de difusión en el medio, que se favoreció por la baja interacción entre el polímero y la ivermectina.

Los polímeros sintetizados en tetrahidrofurano, los cuales tuvieron una liberación lenta, sobre todo en el polímero hormado sintetizado en calor, que fue la liberación más lenta obtenida y además presentó una diferencia muy significativa tanto con el polímero hormado en condiciones de luz uv como su polímero no hormado en condiciones de calor. En sus resultados obtenidos en la isoterma de enlace, presentó valores de fuerza de enlace intermedios entre los otros dos porógenos utilizados, además de recuperar una cantidad de ivermectina muy parecida a la de los polímeros sintetizados en acetonitrilo<sup>[26]</sup>.

En la literatura se encontró que existe el análisis para el polímero sintetizado en cloroformo, en las mismas condiciones utilizadas en este trabajo,

solo variando la cantidad de monómero en la síntesis; en el cual se mostró que utilizando un equivalente de monómero en vez de cuatro como en este trabajo, se favorece una interacción más fuerte entre el monómero y la molécula horma<sup>[26]</sup>, por lo cual, comparar a estos polímeros ya estudiados con los obtenidos en el disolvente tetrahidrofurano, que es el que presentó las mejores características en la liberación de ivermectina por periodos prolongados en este trabajo.

Lo que se refiere a los resultados de isoterma de enlace, donde los polímeros sintetizados en cloroformo reportados en la literatura, generaron menor cantidad de sitios de interacción, como lo reporta su constante  $N$  con valores de 0.0007 contra los obtenidos en tetrahidrofurano de 0.28143 y 0.640 en calor y luz uv respectivamente, donde es una diferencia considerable; con lo que respecta a la energía de enlace, existe una diferencia amplia ya que para el polímero sintetizado en cloroformo, se reportó un valor de la constante 21.29 para el hormado y 20.33 para el no hormado; mientras que para los polímeros hormados obtenidos en tetrahidrofurano en calor 0.0114 y luz uv 0.0127; y en los no hormados fueron:  $1.621 \times 10^{-4}$  y  $1.3594 \times 10^{-6}$  en calor y luz uv respectivamente. Como se dijo existe una gran diferencia entre las constantes obtenidas para los polímeros obtenidas en tetrahidrofurano, con respecto a las reportadas en la literatura para cloroformo, pero en estas constantes no existe una diferencia considerable entre el polímero hormado y no hormado, como las obtenidas en tetrahidrofurano, y a su vez se puede concluir que los polímeros hormados presentan una selectividad por la ivermectina.

Con lo que respecta a la cantidad de ivermectina recuperada por los polímeros en cloroformo es de 3.974 mg de ivermectina/ mg de polímero, en lo que corresponde a los polímeros sintetizados en tetrahidrofurano es 1.851 y 2.003 para los hormados en calor y luz uv respectivamente, siendo una cantidad recuperada casi del doble obtenida en el polímero reportado en la literatura.

Finalmente los resultados obtenidos para las liberaciones de los polímeros provenientes de las reacciones con tetrahidrofurano con respecto a las reportadas para cloroformo; como se mencionó anteriormente, en los polímeros de tetrahidrofurano, no existe un fenómeno de liberación por hinchamiento considerable, en lo que respecta al cloroformo, la constante de



liberación por difusión presenta un valor de 1.156, lo cual es un valor menor comparado con los obtenidos en los polímeros sintetizados en tetrahidrofurano como se muestra en la tabla 14; y en lo que respecta a la constante de difusión por hinchamiento se tiene un valor de 0.0001, siendo mucho más alto que para los obtenidos en tetrahidrofurano reportados en la tabla 14.

Cabe señalar que en el mismo trabajo donde se tomaron los valores para la comparación de los polímeros sintetizados en cloroformo, se menciona que existe un mejor comportamiento en el uso de un equivalente de monómero, en comparación al uso de cuatro equivalentes como en este trabajo<sup>[26]</sup>.

Otro dato considerable, que se toca es que al comparar la liberación de ivermectina entre los diferentes disolventes utilizados en este trabajo se puede apreciar en las gráficas 6, 7 y 8 de liberación, que ocurre la liberación de ivermectina conforme transcurre el tiempo pareciendo llegar a su liberación máxima; pero después de cierto tiempo, se presenta un pequeño aumento en la liberación que se vuelve constante después de cierto tiempo; dicho aumento se aprecia en las gráficas 6, 7 y 8 en los últimos puntos. Este efecto se explica que durante la síntesis de la matriz polimérica y al utilizar el disolvente le confieren una porosidad a la matriz polimérica, donde además favorece el desarrollo de sitios de interacción entre la molécula horma y el monómero. Entre los sitios generados existen unos conocidos como de unión irreversible y otros sitios de colapso, los cuales al ir penetrando el disolvente a la matriz polimérica, algunos sitios pierden su selectividad y liberan con mayor rapidez la ivermectina, mientras que las moléculas de ivermectina que estaban atrapadas, también se pueden liberar y con ello, mostrar un aumento en la pendiente de la liberación<sup>[24, 43]</sup>.

Considerando todos los resultados obtenidos en los modelos de liberación de ivermectina para los diferentes polímeros sintetizados en los tres disolventes utilizados durante la elaboración de este trabajo; se puede deducir claramente un comportamiento en la liberación influenciado por el porógeno, debido a que en los polímeros sintetizados en este trabajo, mostraron características fisicoquímicas diferentes. Se tiene liberación de grandes cantidades de ivermectina como lo es en acetonitrilo, o cantidades medias que se obtuvieron en dimetilsulfóxido y cantidades pequeñas en los polímeros

sintetizados en tetrahidrofurano; donde al final se considera que los polímeros sintetizados en tetrahidrofurano muestran las mejores características en la liberación de ivermectina; con esto se demostró que la elección del disolvente es importante, ya que influye en las características de interacción entre el monómero y la molécula horma, lo cual va directamente relacionado con la cantidad de ivermectina adsorbida, esto se aprecia claramente en los polímeros sintetizados en los tres diferentes disolventes, donde los polímeros hormados sintetizados en acetonitrilo y tetrahidrofurano presentan resultados muy semejantes, mientras que los obtenidos en dimetilsulfóxido, adsorben mayor cantidad; pero difieren en la liberación ya que estos últimos liberan a la ivermectina con mayor rapidez en comparación con los obtenidos en acetonitrilo y por último tenemos a los polímeros sintetizados en tetrahidrofurano, los cuales liberan a la ivermectina lentamente en comparación a los otros dos disolventes.

El efecto de los porógenos puede deberse a su capacidad de disolver o solvatar a los compuestos, en este caso los componentes de la mezcla para la síntesis del polímero, o dicho en otras palabras a la capacidad que puede tener el disolvente de hacer más débil la interacción entre la molécula horma y el monómero al aumentar la distancia entre las dos moléculas y del mismo modo al incrementarse esta distancia; puede existir la generación de macroporos, los cuales se generan con la elección del disolvente adecuado que permiten la entrada y salida de ivermectina por difusión e “hinchamiento”<sup>[44]</sup>. Esto explica el porqué los polímeros sintetizados en tetrahidrofurano presentaron una buena afinidad a la molécula horma y una liberación más lenta debido a que el disolvente con un valor de constante dieléctrica menor a la de los otros dos porógenos; logró disolver todas las especies; y estas a su vez interaccionan entre sí propiciando que la fuerza de interacción fuera estrecha, pero a su vez, generó poros de un menor tamaño comparados con los obtenidos en los otros polímeros sintetizados ocupando otros disolventes.

Esta aseveración la podemos hacer en base a los resultados obtenidos para las constantes del modelo de cinética de liberación de *Peppas-Fassih* mostradas en la tabla 15, donde los dos polímeros hormados en tetrahidrofurano presentaron un valor para la constante  $n$  de 0.386 y 0.292 para

el sintetizado en luz uv y calor respectivamente, donde un valor de la constante  $n$  igual a 0.5 nos indica una liberación por el mecanismo de “estallido”, lo cual no presentó ninguno de los polímeros sintetizados en los tres disolventes empleados, pero un valor de  $n$  menor a 0.5, es indicativo de la liberación por un mecanismo por difusión, además de la presencia de una liberación simultanea por poros; con lo que se puede decir que al obtener los valores más bajos para la constante  $n$  en los polímeros sintetizados en tetrahidrofurano, el tamaño de poro no fue lo suficientemente grande para generar una liberación por el mecanismo de hinchamiento.

## 11. CONCLUSIONES.

La síntesis de polímeros de impresión molecular, con ivermectina se logró realizar en los diferentes disolventes estudiados: DMSO, THF y CH<sub>3</sub>CN, en condiciones de calor y de UV. Además de mostrar que existe reconocimiento molecular por parte de los MIPs, ya que en todos ellos se recuperó una cantidad de ivermectina mayor en comparación a su homólogo NIPs, y que los valores de las constantes de estabilidad están acordes a lo esperado, ya que considerando la constante de enlace obtenidas en los modelos de isoterma de enlace, los valores obtenidos para esta constantes son considerablemente bajos en los polímeros no hormados, comparados con los valores obtenidos en los polímeros hormados de los diferentes porógenos.

Considerando los resultados de las isotermas de adsorción, en donde se obtiene una mayor cantidad de sitios de interacción inespecíficos en los NIPs; se concluye que; solo se encuentran en la superficie del polímero donde son más accesibles y su liberación es mucho más rápida en base a los valores obtenidos en las constantes de enlace.

Siguiendo con los resultados obtenidos en las isotermas de enlace, se concluye que los polímeros sintetizados en acetonitrilo, presentaron una energía de enlace mayor hacia la ivermectina, además de la generación de mayor cantidad de sitios de interacción con este fármaco y una homogeneidad entre sus sitios de interacción.

Para los valores obtenidos en los sistemas de liberación, tenemos claramente la influencia de las condiciones de síntesis, además de las generadas por el disolvente ocupado, donde destaca que los polímeros sintetizados en THF tienen una liberación considerablemente más lenta, comparada con los otros polímeros sintetizados en DMSO y CH<sub>3</sub>CN.

Por consiguiente, dependiendo del tipo de liberación que se necesite, se puede tomar en cuenta el porógeno que se tiene que elegir, ya que este tiene una influencia importante tanto en la absorción de ivermectina como su liberación, ya sea rápida o lenta, además de que puede modificarse dependiendo de las condiciones de síntesis; en los polímeros sintetizados en calor mostraron un mejor comportamiento reflejado tanto en los resultados de isoterma de enlace, como en la liberación de ivermectina.

Finalmente, se puede considerar a los polímeros sintetizados en THF, como los óptimos, debido a que su comportamiento coincidió con lo esperado. Además de considerar que la ivermectina presentó una solubilidad alta en este disolvente y de que fueron los polímeros que presentaron menor problema para la extracción de la molécula horma; mostraría constantes de energía de afinidad aceptables y su liberación se muestra muy lenta comparada con las obtenidos en los demás porógenos. Con esto se propone en utilizar los polímeros de impresión molecular obtenidos en tetrahidrofurano, en pruebas para mantener una liberación de ivermectina prolongada, pueden ser candidatos importantes para aplicarse en sistemas vivos y poder obtener una alternativa en medicamentos que genere un efecto terapéutico de muy larga duración con solo una aplicación.

## 12.PERSPECTIVAS.

- Con base en estos resultados, se puede pensar en la evaluación de los polímeros TCMIP y TVMIP en estudios más específicos, como en animales.
- Se pueden utilizar estos resultados con la combinación de la variación en concentración del monómero, para establecer condiciones específicas de MIPs en la liberación de ivermectina.
- Es importante hacer un estudio más específico de los MIPs sintetizados en DMSO, THF y CH<sub>3</sub>CN a través de la determinación del tamaño de partícula, morfología por microscopía de barrido o difracción de rayos X; para un mayor conocimiento sobre la especificidad de la porosidad generada por el disolvente.
- Sería interesante experimentar con mezclas de disolventes en la síntesis de polímeros de impresión molecular, para ver si existe una mejora en interacción y liberación respecto a la ivermectina.

### 13. BIBLIOGRAFÍA.

1. SAGARPA. *Producción pecuaria según producto y especie*. 2010; Available from: <http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/espanol/soc/sis/sisept/default.aspx?t=agr08&s=est&c=5958>.
2. Atilo, G.A.A.y.M.J., *Garrapata Común de los Bovinos*, SANIDAD: Santa Fe. p. 132-136.
3. Nicholls, C., et al., *Displacement imprinted polymer receptor analysis (DIPRA) for chlorophenolic contaminants in drinking water and packaging materials*. Biosensors and Bioelectronics, 2006. **21**(7): p. 1171-1177.
4. Dra. Ma. Angélica Solari, D.U.C., T.Ag. Alfredo Telles, T.Agr. Gabriel Mautone, *TAXONOMIA DE LOS 5 GENEROS DE GARRAPATAS DIAGNOSTICADOS EN BOVINOS EN URUGUAY*, in *Jornadas "Aporte a la lucha contra la garrapata"*, D.d. Parasitología, Editor. 2006: Uruguay.
5. MÉXICO, M., *Las Garrapatas*, Merial, Editor: MÉXICO. p. 1-3.
6. SENASA. *GARRAPATA*. 2006; Available from: [http://www.produccion-animal.com.ar/sanidad\\_intoxicaciones\\_metabolicos/parasitarias/parasitarias\\_bovinos/85-garrapata.pdf](http://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/parasitarias/parasitarias_bovinos/85-garrapata.pdf).
7. Technology, P.C. *Ciclos de vida de cada plaga*. Available from: <http://www.pestcontroltechnology.net/panama/ciclos-de-vida-de-cada-plaga.html>.
8. Bayer. *Mecanismos de acción de los Ectoparasiticidas*. 2010; Available from: [http://mse.bayersanidadanimal.com.mx/ipublish/data/files/Familias\\_Ectoparasiticidas\\_y\\_Mecanismos\\_Accion.pdf](http://mse.bayersanidadanimal.com.mx/ipublish/data/files/Familias_Ectoparasiticidas_y_Mecanismos_Accion.pdf).
9. Junquera, P. *Baños de inmersión antiparasitarios para el control de parásitos del ganado bovino, ovino y porcino* 2010; Available from: [http://parasitosdelganado.net/index.php?option=com\\_content&task=view&id=79&Itemid=135](http://parasitosdelganado.net/index.php?option=com_content&task=view&id=79&Itemid=135).
10. Junquera, P. *Baños de aspersion antiparasitarios para el control de parásitos externos del ganado* 2010; Available from: [http://parasitosdelganado.net/index.php?option=com\\_content&task=view&id=80&Itemid=136](http://parasitosdelganado.net/index.php?option=com_content&task=view&id=80&Itemid=136).
11. Junquera, P. *Pour-ons antiparasitarios para el control de parásitos externos del ganado bovino, ovino y porcino* 2010; Available from: [http://parasitosdelganado.net/index.php?option=com\\_content&task=view&id=81&Itemid=137](http://parasitosdelganado.net/index.php?option=com_content&task=view&id=81&Itemid=137).
12. Junquera, P., *Bolos intraruminales para el control de parásitos externos del ganado bovino y ovino* 2010.
13. Herd, R., *Endectocidal drugs: Ecological risks and counter-measures*. International Journal for Parasitology, 1995. **25**(8): p. 875-885.
14. González Canga, A., et al., *The pharmacokinetics and metabolism of ivermectin in domestic animal species*. Veterinary Journal, 2009. **179**(1): p. 25-37.
15. M. S. Díaz Carrasco, A.E., E. Escudero Y C.M. Cárceles (1997-98) *FARMACOLOGIA DE LOS ENDECTOCIDAS: APLICACIONES TERAPÉUTICAS*. Murcia, España, 3-22.
16. Pérez, L., et al., *Analytical methodology for the detection of ivermectin residues in milk samples from dairy farms in the province of Ñuble, Chile*. Metodología analítica y detección de residuos de ivermectina en muestras de leche de rebaños de la provincia de Ñuble, Chile, 2006. **38**(2): p. 143-150.

17. J. Cairó, D.F., J. Font, J. Gorraiz, J. Martín, C. Pons, *EFICACIA DE LA IVERMECTINA ORAL EN EL TRATAMIENTO DE LA SARNA DEMODÉCICA CANINA RESISTENTE AL AMITRAZ*. Clinica Veterinaria de pequeños animales, 1994. **14**: p. 215-222.
18. Corporation, B.-L. *Ivermectina*. 2008; Available from: <http://es.be-long.com/pharmaceutical-raw-materials-suppliers/manufacturers-china112/>.
19. McKellar, Q.A. and H.A. Benchaoui, *Avermectins and milbemycins*. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 1996. **19**(5): p. 331-351.
20. Ltda., M.S.A. *INSERTO*. Available from: [http://mx.merial.com/ganaderos/antiparasitarios/productos/ivomec\\_inyectable/pdf/bula\\_ivomec\\_inyectable.pdf](http://mx.merial.com/ganaderos/antiparasitarios/productos/ivomec_inyectable/pdf/bula_ivomec_inyectable.pdf).
21. C.E. Lanusse, M.V.D.C.V., Ph. D., *Factores que afectan la biodisponibilidad plasmática y eficacia de fármacos antihelmínticos*. Archivos de Medicina Veterinaria, 1994. **XXVI**: p. 5-14.
22. ESPINOZA, G.H.A., *EFFECTO DEL PARASITISMO GASTROINTESTINAL SOBRE LA DISPOSICIÓN PLASMÁTICA DE IVERMECTINA ADMINISTRADA POR VÍA SUBCUTÁNEA EN OVINOS*, in *Departamento de Ciencias Químicas*. 2005, UNIVERSIDAD DE CONCEPCION: CHILLAN – CHILE. p. 42.
23. Virginia Sáez, E.H.y.L.S.A., Issa Katime *LIBERACIÓN CONTROLADA DE FÁRMACOS. MICROPARTÍCULAS*. Revista Iberoamericana de Polímeros, 2004. **Volumen 5**(2): p. 88-101.
24. Virginia Sáez, E.H.y.L.S.A., *MECANISMOS DE LIBERACIÓN DE FÁRMACOS DESDE MATERIALES POLÍMEROS*. Revista Iberoamericana de Polímeros, 2004. **Volumen 5**(1): p. 56-70.
25. Bernad, D.M.J. *FORMAS FARMACEUTICAS DE LIBERACIÓN MODIFICADA* 2010; Available from: <http://depa.fquim.unam.mx/liberacion/pdf/formas%20farmaceuticas%20de%20liberacion%20modificada.pdf>.
26. Olivos, H.M.T., *SINTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE POLÍMEROS DE IMPRESIÓN MOLECULAR PARA LA LIBERACIÓN PROLONGADA DE IVERMECTINA*, in *QUÍMICA INORGÁNICA*. 2010, UNAM: MÉXICO. p. 89.
27. Biofarmacéutica, G.d.T.P.d.L.I.d.C.d.C.d., *Guía para la Industria: Pruebas de disolución de formas de dosificación oral sólidas de liberación inmediata*. GUIDANCE, COMPLIANCE AND REGULATORY INFORMATION, 2010.
28. Costa, P. and J.M. Sousa Lobo, *Modeling and comparison of dissolution profiles*. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2001. **13**(2): p. 123-133.
29. Viseras, I.M.T., *Desarrollo Galénico de Preparados Obtenidos por Interacción del ácido 5-amino salicílico con Halloysita* in *Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica*. 2008, Universidad de Granada: Granada. p. 347.
30. Mizuo Maeda, R.A.B., *MOLECULAR AND IONIC RECOGNITION WITH IMPRINTED POLYMERS: A BRIEF OVERVIEW*. MOLECULAR AND IONIC RECOGNITION WITH IMPRINTED POLYMERS, 1998. **ACS SYMPOSIUM SERIES 703**(AMERICAN CHEMICAL SOCIETY): p. 1-8.
31. Jorge, V.M., *POLIMEROS MOLECULARMENTE IMPRESOS: UNA ALTERNATIVA EN LA PREPARACIÓN DE MUESTRAS FORENSES PARA CROMATOGRAFIA DE LIQUIDOS DE ALTA RESOLUCIÓN*, in *FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA*. 2008, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO: México, D.F. p. 85.



32. Xingliang Songa, J.L., Jiangtao Wanga, Lingxin Chenb,, *Quercetin molecularly imprinted polymers: Preparation, recognition characteristics and properties as sorbent for solid-phase extraction*. El Sevier, 2009. **80**: p. 694-702.
33. Ruihong Lv, L.X., Xinhua Huang, Yaqiong Wang, Jin Zhang, *Preparation and Evaluation of a Molecularly Imprinted Polymer for Tolazoline*. Journal of Applied Polymer Science, 2009. **10**: p. 198-203.
34. David Cunliffe, A.K., Cameron Alexander *Molecularly imprinted drug delivery systems*. Advanced Drug Delivery Reviews, 2005. **57**: p. 1836–1853.
35. Fernández, A.G., L., *Reconocimiento Molecular mediante materiales biomiméticos: Impresión molecular*. Anales de la Real Sociedad Española de Química 2007. **103(2)**: p. 14-22.
36. García, Y.D., *DISEÑOCOMPUTACIONAL DE RECEPTORES DE AFINIDAD BASADOS EN POLIMEROS MOLECULARMENTE IMPRESOS PARA SENSORES ELECTROQUÍMICOS*, in *DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FÍSICA Y ANALÍTICA*. 2008, UNIVERSIDAD DE OVIEDO: OVIEDO. p. 320.
37. Bergmann, N.M. and N.A. Peppas, *Molecularly imprinted polymers with specific recognition for macromolecules and proteins*. Progress in Polymer Science (Oxford), 2008. **33(3)**: p. 271-288.
38. B.SELLERGRÉN, *MOLECULARLY IMPRINTED POLYMERS*  
*Man-made mimics of antibodies and their applications in analytical chemistry*. TECHNIQUES AND INSTRUMENTATION IN ANALYTICAL CHEMISTRY, 2001. **23**: p. 283.
39. MINGDI YAN, O.R., ed. *MOLECULARLY IMPRINTED MATERIALS, SCIENCE AND TECHNOLOGY*. MARCEL DEKKER ed. 2005: New York. 754.
40. García-Calzón, J.A. and M.E. Díaz-García, *Characterization of binding sites in molecularly imprinted polymers*. Sensors and Actuators, B: Chemical, 2007. **123(2)**: p. 1180-1194.
41. Corton, E., J.A. García-Calzón, and M.E. Díaz-García, *Kinetics and binding properties of chloramphenicol imprinted polymers*. Journal of Non-Crystalline Solids, 2007. **353(8-10)**: p. 974-980.
42. Wikipedia, E.L. *POLARIDAD DE UN DISOLVENTE*. 2010 05 Septiembre 2010 a las 20:46.
43. SELLERGRÉN, B., *MOLECULARLY IMPRINTED POLYMERS. TECHNIQUES AND INSTRUMENTATION IN ANALYTICAL CHEMISTRY*, 2001. **23**: p. 1-557.
44. Kimihiro Yoshizako, K.H., \* Yoshiyuki Iwakoshi, Kazuhiro Kimata, and Nobuo Tanaka, *Porogen Imprinting Effects*. Analytical Chemistry, 1998. **70**: p. 386-389.