



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

Facultad De Estudios Superiores Zaragoza

**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE
NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS
FUNCIONALIZADAS CON TETRAETIL
ORTOSILICATO Y RECUBIERTAS CON
ACRILATOS PARA USO COMO VEHÍCULO
DE DOXORRUBICINA**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A

PEDRO JAVIER SALAS AMBROSIO

DIRECTOR DE TESIS:

DR. JESÚS GRACIA MORA

ASESOR DE TESIS:

M. EN F. LETICIA HUERTA FLORES



México D.F.

Junio

2013



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Esta tesis se realizó en el Laboratorio 001 edificio F de la Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México. El trabajo experimental se llevó a cabo con financiamiento de la Dirección General de Asuntos de Personal Académico, Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) en el proyecto “Diseño y caracterización de sistemas nanopartícula-cristal líquido y su aplicación en biomedicina” con clave IT229311.

A mis padres Pedro Salas y Hormisdas Ambrosio que siempre me apoyaron...

»Los seres humanos siempre necesitaremos de los demás«

Agradecimientos

Les agradezco profundamente a mis padres, sin todo ese esfuerzo que realizaron ahora no sería él hombre que soy y que seré... ¡Gracias por su apoyo, su paciencia, su amor y su confianza que tienen en mí!

A él Dr. Jesús Gracia y la Dra. Josefa Bernad por haberme permitido la oportunidad de trabajar a su lado, por brindarme su amistad y su confianza, su actitud me motiva a seguir adelante poniendo mi mayor esfuerzo.

A la UNAM máxima casa de estudios, por darme la oportunidad de cumplir con esta parte de mi vida y por qué siga cobijando a más estudiantes para sacar de este letargo a nuestro México.

A mi FES Zaragoza, siempre volveré a pisar esos suelos en los que viví y aprendí tanto, es un orgullo ser egresado de este plantel.

A mis profesores, formadores de generaciones, pasadas y venideras, siempre serán un ejemplo para nosotros.

Miembros del jurado sin ustedes esta tesis no pudo haber sido más rápida.

A mis hermanos Juan e Irene Salas y, a mi cuasi hermano Jorge López, que siempre estuvieron allí para corregir y ofrecerme su apoyo incondicionalmente. Espero ser una parte ejemplar en su vida...

A toda mi familia por haber depositado su confianza y ofrecerme su apoyo. En particular a mis tíos:

Marcos Ambrosio por sus sabios consejos, sus encantadoras pláticas llenas de aventuras y su gran apoyo que me ha ofrecido;

Juana Ambrosio, por tener ese tacto tan delicado y sutil para dar un sermón, me hizo ir por el buen camino, además por ser bastante comprensible;

Flavia Ambrosio, por su paciencia, su cariño, su apoyo y uno que otro sermón constante;

†Remedios Ambrosio aunque ya no está presente siempre estuvo al pendiente de mis estudios;

†Félix y su esposa Mari sin su ayuda no estaría vivo en estos momentos:

Ángel, Porfirio, Mercedes, Jova, Juana, Rey, y †Rosa Salas siempre he sabido que puedo contar con ustedes pero no me he acercado a lo suficiente al igual que a mis tíos Elias y Emetelio Ambrosio.

A todos mis primos por esas noches de juerga, siempre necesarias para despejar la mente, en especial a: Eduardo, Fernando, Josué, Edgar, José, Miriam, Víctor, Dalia, Karina, Carmen.

A mis amigos que han estado en las buenas y las malas: Samuel, Cruz, Martín, Arturo y a ti Chabela aún conservo los recuerdos de la secundaria; Carlos David, Francisco, Betsy, José Carlos, siempre recordaré buenos tiempos del CCH Oriente; Rodas, Miguel, Gabo, Paco, Ilse, Venus y Alfonso

excelentes amigos que conocí recientemente, pero eso es suficiente para recordarlos toda la vida. A Gaby, Carlos, Jesica, Geraldine, Jazmín, Dr. Jorge, Dr. Neza, Dr. Benito, convivimos muy poco pero esos recuerdos y experiencias los atesoraré.

A Pedro, porque siempre estuvo ahí para tomar elecciones que han ido formándome, no hay elecciones malas, siempre hay que encontrarle el lado bueno, como una buena amiga me enseñó, me encanta que seas multifacético y pues hay que seguirle...

ÍNDICE

Introducción.....	1
1. Antecedentes	3
1.1. <i>El cáncer</i>	3
1.2. <i>Doxorrubicina</i>	4
1.2.1. Uso terapéutico.....	5
1.2.2. Mecanismo de acción	5
1.2.3. Farmacocinética.....	5
1.2.4. Efectos secundarios.....	6
1.2.5. Dosis y vía de administración	6
1.3. <i>Sistema de liberación de fármacos (SLF)</i>	7
1.3.1. Sistema de liberación modificada de fármacos.....	8
1.3.2. Nanopartículas como sistema de liberación de fármacos	10
1.4. <i>Nanopartículas magnéticas (NPM)</i>	12
1.4.1. Superparamagnetismo.....	13
1.5. <i>Magnetita</i>	13
1.5.1. Métodos de síntesis de nanopartículas de magnetita	15
1.5.2. Propiedades de superficie	16
1.5.3. Solvatación de las partículas	17
1.5.4. Aplicación biomédica de las nanopartículas magnéticas	18
1.5.4.1 NPM como agentes de diagnóstico	19
1.5.4.2. Hipertermia	20
1.5.4.3. NPM como sistemas de liberación de fármacos	20
1.6. <i>Polímeros de impresión molecular</i>	21
1.7. <i>Modelos de cinética de liberación de fármacos</i>	23
1.8. <i>Caracterización de nanopartículas</i>	25
1.8.1. Dispersión dinámica de luz (DLS).....	25
1.8.2. Potencial Z y Velocimetría Láser-Doppler (LDV)	26
1.8.3. Microscopia electrónica de transmisión (TEM)	28
1.8.4. Espectroscopia infrarroja	29
1.8.5. Difracción de rayos X.....	30
2. Planteamiento del problema.....	32
3. Objetivo general.	33
3.1. <i>Objetivos particulares</i>	33
4. Hipótesis de trabajo.....	34
5. Desarrollo experimental.....	35
6. Materiales y métodos	36
6.1. <i>Materiales</i>	36
6.2. <i>Métodos</i>	36

6.2.1. Síntesis de nanopartículas magnéticas de magnetita (NM).....	36
6.2.2. Efecto de la cantidad de HNO ₃ en la síntesis de NM.....	36
6.2.3. Funcionalización de nanopartículas magnéticas con TEOS (NMS). 36	
6.2.4. Recubrimiento polimérico por Impresión Molecular utilizando doxorubicina como molécula molde (NMSPD)	37
6.2.5. Recubrimiento polimérico por Impresión Molecular sin doxorubicina como molécula molde (NMSP)	37
6.2.6. Caracterización	37
6.2.6.1. Morfología y tamaño de partícula	37
6.2.6.2 Difracción de rayos X de polvos	38
6.2.6.3 Espectroscopia infrarroja	38
6.2.6.4. Estudios de adsorción	38
6.2.6.5. Estudios de desorción	38
7. Resultados y análisis.....	39
7.1. Efecto de la cantidad de HNO ₃ en la síntesis de NM.....	39
7.2. Síntesis de NM, NMS, NMSP y NMSPD.....	42
7.2.1. Síntesis y caracterización de NM.....	42
7.2.2. Síntesis y caracterización NMS	46
7.2.3. Síntesis y caracterización NMSP	50
7.2.4. Síntesis y caracterización de NMSPD	54
7.3. Estudios de adsorción de NM. NMS. NMSP y NMSPD	58
7.4. Estudio de desorción.....	62
7.4.1 Desorción de NM	62
7.4.2 Desorción de NMS.....	63
7.4.3 Desorción de NMSP	64
7.4.4 Desorción de NMSPD.....	65
8. Conclusión.....	69
9. Perspectivas.....	70
10. Referencias bibliográficas	71

Índice de figuras

Figura 1. Estructura molecular de doxorubicina. ⁽¹⁰⁾	4
Figura 2. Requerimientos de diseño para un sistema de liberación de fármacos. ⁽¹³⁾	7
Figura 3. Tipos de liberación y dosificación de fármacos. ⁽¹⁴⁾	9
Figura 4. Estructura de la magnetita. a) modelo poliédrico con capas alternadas de octaedros y tetraedros. b) modelo en celda unitaria y c) arreglo octaédrico y tetraédrico. ⁽²⁴⁾	14
Figura 5. Representación esquemática de las capas de solvatación de una superficie sólida. ⁽⁴³⁾	18
Figura 6. Diagnostico <i>in vitro</i> de células tumorales observadas en microscopio óptico. Nanopartículas a) cubiertas de dextran, b) cubiertas de DMSA. ⁽⁵⁰⁾	19
Figura 7. Etapas en la síntesis de polímeros de impresión molecular. ⁽⁵⁷⁾	22
Figura 8. Principales usos de los polímeros de impresión molecular. ⁽⁵⁷⁾	22
Figura 9. Esquema moteado, donde se muestran áreas con luz y zonas oscuras donde la luz no es detectada. ⁽⁶⁰⁾	25
Figura 10. Esquema en el que se representa la dispersión de la luz a partir de la iluminación de un láser. ⁽⁶⁰⁾	26
Figura 11. Representación de una partícula, los iones que la rodea y el potencial Z. ⁽⁶⁰⁾	27
Figura 12. Curva pH versus potencial Z, donde se aprecia el punto isoeléctrico de una partícula. ⁽⁶⁰⁾	27
Figura 13. Representación de la medición de potencial Z por LDV. ⁽⁶⁰⁾	28
Figura 14. Modos vibracionales para la molécula de CO ₂ . ⁽⁴³⁾	30
Figura 15. Representación de la Ley de Bragg. ⁽⁴³⁾	31
Figura 16. Espectro característico de difracción de rayos X para una magnetita de alta pureza. ⁽²⁴⁾	31
Figura 17. Esquema de la síntesis de NM.....	39
Figura 18. Micrografías obtenidas por Microscopía Electrónica de Transmisión de nanopartículas de óxido de hierro: A) dilución de la mezcla I (20 mL HNO ₃ 1M); B) dilución de la mezcla III (60 mL HNO ₃ 1M). Las dos imágenes obtenidas 3 días después de su preparación.....	41
Figura 19. Micrografía obtenida por TEM de nanopartículas magnéticas.	42
Figura 20. Hidrólisis de TEOS.....	46
Figura 21. Esquema del recubrimiento con silicatos.	46
Figura 22. Micrografía obtenida por TEM de nanopartículas magnéticas funcionalizadas con TEOS.	47
Figura 23. Esquema general de la reacción de impresión molecular sin utilizar doxorubicina como molécula molde	50
Figura 24. Micrografía de NMSP obtenida por TEM.....	51

Figura 25. Esquema de la reacción de síntesis del MIP utilizando doxorubicina como molécula molde	54
Figura 26. Micrografía obtenida por TEM de NMSPD.....	55
Figura 27. Toma de muestra para el estudio de adsorción.	59

Índice de tablas

Tabla 1. Propiedades del fármaco Doxorubicina. ⁽¹¹⁾	4
Tabla 2. Propiedades de la magnetita. ⁽²⁴⁾	14
Tabla 3. Métodos de síntesis por el método de coprecipitación. Se muestran las condiciones más destacables en las que se lleva la síntesis y el tamaño de partícula obtenido al final del proceso.	15
Tabla 4. Adsorción máxima de doxorubicina por gramo de nanopartículas. ...	59
Tabla 5. Parámetros calculados a partir del ajuste no lineal con los modelos de cinética de liberación de NM	63
Tabla 6. Parámetros calculados a partir del ajuste no lineal con los modelos de cinética de liberación de NMS	64
Tabla 7. Parámetros calculados a partir del ajuste no lineal con los modelos de cinética de liberación de NMSP	65
Tabla 8. Parámetros calculados a partir del ajuste no lineal con los modelos de cinética de liberación de NMSPD	66
Tabla 9. Parámetros calculados a partir del ajuste no lineal con los modelos de cinética de liberación de NMSPD a pH=7.4	67
Tabla 10. Parámetros calculados para el ajuste no lineal Peppas-Sahlin de las diferentes nanopartículas.	68

Índice de gráficas

Grafica 1. Efecto de la cantidad de HNO ₃ en NM: variación de tamaño de partícula vs tiempo Resultados obtenidos del análisis DLS.	39
Gráfica 2. Efecto de la cantidad de HNO ₃ en NM: potencial Z vs tiempo. Resultados obtenidos del análisis LDV.	40
Gráfica 3. Distribución de tamaño de NM, obtenida a partir del análisis por TEM.....	42
Gráfica 4. Distribución de tamaño de partícula de NM. Obtenida del análisis por DLS.	43
Gráfica 5. Distribución de Potencial Z de NM obtenido a partir del análisis LDV a pH=6.7.....	43
Gráfica 6. Espectro ATR FTIR de NM.....	44
Gráfico 7. Difractograma de NM, obtenido a partir de difracción de rayos X de polvos.....	44
Grafica 8. Distribución de tamaño de partícula de NMS medido a partir del análisis por TEM.....	47
Gráfica 9. Distribución de tamaño de partícula de NMS, obtenida del análisis por DLS.	47
Grafico 10. Distribución de potencial Z de NMS, obtenida del análisis LDV a pH= 6.7.....	48
Gráfica 11. Espectro ATR FTIR de NMS.....	48
Gráfica 12. Difractograma de rayos X de polvos de NMS.	49
Gráfica 13. Distribución de tamaño de partícula de NMSP obtenido por TEM.	50
Gráfica 14. Distribución de tamaño de partícula de NMSP, obtenida del análisis por DLS.	51
Gráfica 15. Distribución de potencial Z de NMSP obtenida del análisis LDV a pH= 6.4.....	52
Gráfica 16. Espectro ATR FTIR de NMSP.	52
Gráfica 17. Difractograma de NMSP, obtenido a partir de difracción de rayos-X de polvos.....	53
Gráfica 18. Distribución de tamaño de partícula de NMSPD obtenidos con TEM.	54
Gráfica 19. Distribución de tamaño de partícula de NMSPD, obtenida del análisis por DLS.	55
Gráfica 21. Espectro ATR FTIR de NMSPD.....	56
Gráfica 20. Distribución de potencial Z de NMSPD, obtenida del análisis LDV a pH= 6.35.....	56
Gráfica 22. Difractograma de NMSPD, obtenido a partir de difracción de rayos X de polvos.....	57
Gráfica 23. Lavado con NaOH 0.1 M	58

Gráfica 24. Cinéticas de adsorción de: a) NM, b) NMS, c) NMSP y d) NMSPD.	60
Gráfica 25. Cinéticas de adsorción y ajuste no lineal de doxorubicina con NMSP y NMSPD.	61
Gráfica 26. Modelos de ajuste no lineal para la cinética de liberación de NM: a) Korsmeyer-Peppas, b) Peppas-Fassihi, c) Peppas-Sahlin. Los diferentes símbolos representan las repeticiones del mismo experimento.	63
Gráfica 27. Modelos de ajuste no lineal para la cinética de liberación de NMS: a) Korsmeyer-Peppas, b) Peppas-Fassihi, c) Peppas-Sahlin. Los diferentes símbolos representan las repeticiones del mismo experimento.	64
Gráfica 28. Modelos de ajuste no lineal para la cinética de liberación de NMSP: a) Korsmeyer-Peppas, b) Peppas-Fassihi, c) Peppas-Sahlin. Los diferentes símbolos representan las repeticiones del mismo experimento.	65
Gráfica 29. Modelos de ajuste no lineal para la cinética de liberación de NMSPD con agua (pH=6.3): a) Korsmeyer-Peppas, b) Peppas-Fassihi, c) Peppas-Sahlin. Los diferentes símbolos representan las repeticiones del mismo experimento.....	66
Gráfica 30. Modelos ajuste no lineal para la cinética de liberación de NMSPD a pH=7.4: a) Korsmeyer-Peppas, b) Peppas-Fassihi, c) Peppas-Sahlin. Los diferentes símbolos representan las repeticiones del mismo experimento.	67
Gráfica 31. Cinéticas de desorción para NMSPD ajustadas al modelo Peppas-Sahlin.	68

Abreviaturas

Ácido desoxirribonucleico	ADN
Microlitro	μL
Armstrong	Å
ASTM	ASTM
Espectroscopia Infrarroja con Transformadas de Fourier por la técnica de Reflectancia Total Atenuada	ATR FTIR
<i>Dynamic Light Scattering</i> . Dispersión dinámica de luz siglas	DLS
Etilenglicol dimetacrilato	EGDMA
Gramos	g
Vía intravenosa	I.V.
Kilo Dalton	kDa
<i>Laser Doppler Velocimetry</i> . Velocimetría Láser Doppler	LDV
Microscopio electrónico	ME
Miligramos	mg
<i>Molecular imprinted polymers</i> . Polímeros de impresión molecular	MIP
Mililitro	mL
<i>Magnetic Resonance Imaging</i> . Imagen por Resonancia Magnética	MRI
Milivolts	mV
Polímero no impreso molecularmente	NIP
Nanopartículas magnéticas de magnetita	NM
Nanómetro	nm
Nanopartículas magnéticas funcionalizadas con tetraetil ortosilicato	NMS
Nanopartículas magnéticas funcionalizadas con tetraetil ortosilicato recubiertas con acrilatos sin utilizar doxorubicina como molécula molde	NMSP
Nanopartículas magnéticas funcionalizadas con tetraetil ortosilicato recubiertas con acrilatos utilizando doxorubicina como molécula molde	NMSPD
Nanopartículas magnéticas	NPM
Nanopartículas magnéticas	NPM
<i>Poly (lactic-co-glycolic acid)</i> . Poli (ácido láctico-co-glicólico)	PLGA
Polivinilpirrolidona	PVP
Punto de carga cero	PZC
Sistema Retículo Endotelial	SER
Sistema retículo endotelial	SER
Sistema de liberación de fármacos	SLF

Sistemas de liberación de fármacos	SLF
Sistema de liberación modificada	SLM
Nanopartículas lipídicas sólidas	SLN
Tetraetil ortosilicato	TEOS
Hidróxido de tetrametil amonio	TMAH
Micrómetro	μm

Introducción

El cáncer es una de las principales causas de mortalidad a escala mundial, tan solo en el 2008 se le atribuyeron 7,6 millones de defunciones ocurridas en todo el mundo. Es un término usado para las enfermedades en las cuales las células se dividen de una manera descontrolada y son capaces de invadir otros tejidos. El origen del cáncer puede ser el resultado de la exposición a factores carcinogénicos físicos, químicos, biológicos o bien por el envejecimiento.⁽¹⁾ Los principales tipos de cáncer son: pulmonar gástrico, hepático, colorrectal, mamario.⁽²⁾

Existen diferentes tratamientos para este mal cirugía, quimioterapia, radioterapia y tratamientos alternos como la hipertermia, este se basa en el hecho de que las células tumorales son más sensibles a la temperatura en el rango de 42 a 45 °C que las células normales, esto provoca que las proteínas se dañen y que la membrana celular parcialmente se disuelva, lo cual afectaría directamente en el metabolismo de la célula cancerosa.⁽³⁾

Entre los agentes quimioterapéuticos más empleados se encuentra la doxorubicina. Éste es un antibiótico antracíclico que ejerce sus efectos sobre las células cancerosas por medio de dos mecanismos diferentes: a) intercalación entre las bases de ácido desoxirribonucleico (ADN) por lo que bloquea la síntesis del ADN y su transcripción; b) inhibe la actividad de la topoisomerasa II, lo que termina por romper el ADN genómico. La acción de ambos mecanismos finita las células cancerosas. La doxorubicina es uno de los fármacos más usados en el tratamiento de cáncer, sin embargo, tiene algunos inconvenientes como la cardiotoxicidad.

Por otro lado las nanopartículas de óxido de hierro gracias a sus propiedades magnéticas pueden ser usadas en imagen por resonancia magnética (MRI) como agente de diagnóstico, en el tratamiento por hipertermia y como vehículo en liberación dirigida. Existen diferentes formulaciones que usan como base óxido de hierro III (algunos en nanopartículas o formando complejos con liposomas y acarreadores poliméricos) y muy pocas se encuentran en el mercado.^(4, 5)

Así pues, los óxidos de hierro son uno de los materiales más investigados en técnicas biomédicas, por la biocompatibilidad superior con respecto a otros materiales magnéticos. Los óxidos de hierro existen en la naturaleza y pueden ser preparados en el laboratorio, sin embargo, solo son de interés la maghemita (Fe_2O_3) y la magnetita (Fe_3O_4), los cuales tienen momentos magnéticos elevados, son químicamente estables en condiciones fisiológicas y con una baja toxicidad, sin mencionar los procedimientos de síntesis fáciles y económicos.⁽⁶⁾ Para sintetizarlos existen diversos métodos, sin embargo, el de coprecipitación es más ampliamente reportado e involucra la precipitación simultánea de las sales de hierro II y III en medio básico,⁽⁷⁾ por esté se pueden obtener tamaños de partícula de hasta 6 nm y en este tamaño presentan un fenómeno singular, el superparamagnetismo, presentando un momento magnético muy grande.⁽⁸⁾

De esta manera vemos que uniendo la doxorubicina y las nanopartículas magnéticas lograríamos tener un fármaco inteligente, ya que podría ser dirigido

magnéticamente al sitio de interés, además al aplicar un campo magnético alterno a estas partículas, estas aumentarán su temperatura y podría resultar en dos fenómenos, el primero el daño celular por la propia hipertermia y segundo la desorción del fármaco.

Un problema de este tipo de formulaciones es su estabilidad en un medio fisiológico además de la baja capacidad y débil adsorción. Recubrir las nanopartículas magnéticas con materiales más resistentes como los silicatos puede ser una alternativa y aumentar la capacidad de carga del fármaco y se puede conseguir mediante la implementación de polímeros de impresión molecular (MIP), actualmente la técnica de impresión molecular es ampliamente utilizada como método de separación selectivo, como sensores y en catálisis. El proceso consiste en formar un polímero alrededor de una molécula “plantilla”, la cual puede tener uniones covalentes o no covalentes con él o los, monómeros seleccionados y posteriormente utilizar un agente porogénico para extraer la plantilla (generalmente suelen ser disolventes orgánicos o agua). Además, podríamos conseguir por esta técnica algún tipo de liberación modificada y está dependerá de la afinidad del fármaco hacia el polímero formado y el medio en el que este sistema se encuentre.⁽⁹⁾ Por lo que para este trabajo es justamente lo que se consiguió hacer, formar un sistema que propicie la liberación de un fármaco y que además sea dirigido magnéticamente hacia el sitio de acción.

1. Antecedentes

1.1. El cáncer

El cáncer es un término usado para las enfermedades en las cuales las células se dividen de una manera descontrolada y son capaces de invadir otros tejidos. Las células cancerosas se propagan a otras partes del cuerpo (metástasis) a través del torrente sanguíneo y el sistema límbico.⁽²⁾

El cáncer es la principal causa de mortalidad a escala mundial. Se le atribuyen 7,6 millones de defunciones (aproximadamente el 13%) ocurridas en todo el mundo en 2008. Los principales tipos de cáncer son los siguientes:

- pulmonar (1,4 millones de defunciones);
- gástrico (740 000 defunciones);
- hepático (700 000 defunciones);
- colorrectal (610 000 defunciones);
- mamario (460 000 defunciones).

Más del 70% de las defunciones por cáncer se registraron en países de ingresos bajos y medianos. Se sabe que el número de defunciones anuales mundiales por cáncer seguirá aumentando y pasará a 11 millones en 2030.⁽¹⁾

El cáncer no es una enfermedad sino un grupo de enfermedades, existen más de 100 tipos de cáncer, muchos de ellos son nombrados por el órgano o el tipo de célula en el que se originan, por ejemplo el cáncer de colón es llamado así por que inicia en las células basales del colón, por lo tanto es un carcinoma de células basales.

Los tipos de cáncer pueden agruparse más ampliamente en categorías las cuales incluyen:

- Carcinoma. El cáncer inicia en células epiteliales como la piel y tejido que recubre a otros órganos.
- Sarcoma. Es originado en el hueso, cartílago, musculo, o en otro tipo de tejido conectivo.
- Leucemia. Este inicia en las células que conforman el tejido sanguíneo
- Linfoma y mieloma. Inicia en las células del sistema inmune.
- Cáncer del sistema nervioso central o gliomas. Comienza en el tejido del cerebro y la espina dorsal.

Todos los tipos de cáncer inician a partir de células que debido a daños en el ADN sufren mutaciones que afectan su crecimiento normal y división, cuando esto ocurre las células no mueren como deberían y al dividirse pueden originar un grupo más grande llamado tumor, sin embargo, no todos los tumores son cancerosos y se les llama tumores benignos, que pueden ser removidos quirúrgicamente y no representan un peligro importante.⁽²⁾

Las alteraciones genéticas son el resultado de la exposición a factores carcinogénicos físicos, químicos o biológicos o bien por el envejecimiento.⁽¹⁾

Existen diferentes tratamientos quimioterapia, radioterapia y un tratamiento alternativo es mediante hipertermia, este se basa en el hecho de que las células tumorales son más sensibles a la temperatura en el rango de 42 a 45 °C que las células normales, esto provoca que las proteínas se dañen y que la membrana celular parcialmente se disuelva, lo cual afectaría directamente en el metabolismo de la célula cancerosa.⁽³⁾

1.2. Doxorubicina

La doxorubicina (Figura 1); (7S, 9S)-7-[(2R, 4S, 5S, 6S)-4-amino-5-hydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxy-6,9,11-trihydroxy-9-(2-hydroxyacetyl)-4-methoxy-8,10-dihydro-7H-tetracene-5,12-dione; conocida también como Adriamycin, Adriablastin, Adriblastin, Adriblastina, Doxil, Doxorubicinum, Rubex, Doxorubicina; de fórmula condensada C₂₇H₂₉NO₁₁; con peso molecular 543.52 g/mol. Es un antibiótico citotóxico que pertenece al grupo de las antraciclinas, aislado de *Streptomyces peucetius* var *caesius*. La antraciclina es lipofílica, pero el último anillo contiene grupos hidroxilo adyacentes a la amino azúcar, dando como resultado un centro hidrofílico. La molécula es un anfótero contiene grupos ácido por los anillos fenólicos y carácter básico por la amino azúcar.⁽¹⁰⁾ En la Tabla 1 se pueden observar algunas propiedades

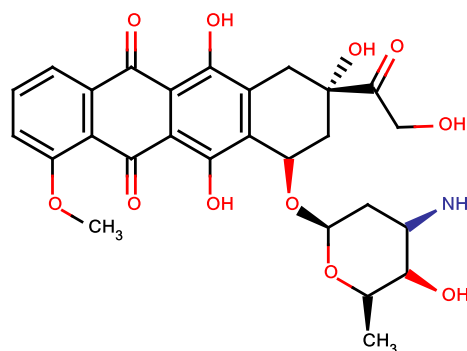


Figura 1. Estructura molecular de doxorubicina.⁽¹⁰⁾

Tabla 1. Propiedades del fármaco Doxorubicina.⁽¹¹⁾

Propiedades
Es un sólido cristalino de color rojo
Punto de fusión 230 °C
pKa ₁ =7.34; pKa ₂ =8.46; pKa ₃ = 9.46
Coefficiente de partición octanol/agua log K _{ow} = 1.27
Propiedades espectroscópicas: Rotación óptica específica: +248° a 20 °C (0.1% en metanol) Absorción máxima (metanol a 56 °C): 290 nm (ε= 145, 1%, 1 cm); 477 nm (ε= 225, 1%, 1 cm); 495 nm (ε= 223, 1%, 1 cm); 530 nm (ε= 124, 1%, 1 cm); 233 nm (ε= 658, 1%, 1 cm); 253 nm (ε= 440, 1%, 1 cm)
Solubilidad: Soluble en agua; soluble en alcohol etílico; soluble en NaOH 0.1 M; moderadamente soluble in metanol anhidro; insoluble en solventes orgánicos no polares En agua: 2600 mg/L a 25 °C

fisicoquímicas de la molécula que son de gran importancia como lo es la adsorción UV-visible para determinar la concentración en disolución.

Desde la década de los 70 se hicieron esfuerzos para modificar la estructura física de la doxorubicina lo que dio lugar a la aparición de análogos como la mitoxantrona, epirubicina, idarubicina que si bien tienen la capacidad citotóxica, también continúan siendo cardiotóxicas. De este grupo de moléculas la que más se comercializa, en la actualidad es clorhidrato de doxorubicina y la forma farmacéutica más popular es la que está encapsulada en liposomas⁽³⁾ ya que muestra una buena distribución y la liberación se da de manera sostenida.⁽¹¹⁾

1.2.1. Uso terapéutico

Es usada como agente antineoplásico, ha funcionado exitosamente en la regresión de neoplasia diseminada en leucemia linfoblástica, leucemia mieloblástica, tumor de Wilm, neuroblastoma, sarcoma, carcinoma ovárico, carcinoma de tiroides, carcinoma gástrico, enfermedad de Hodgkin y en carcinoma broncogénico.⁽¹¹⁾

1.2.2. Mecanismo de acción

El mecanismo de acción de la doxorubicina es complejo y aún no está plenamente esclarecido, aunque se piensa que actúa por intercalación específica del núcleo de la antraciclina (porción cromófora aromática planar) con la doble hélice del ADN. Se sabe que al intercalarse inhibe la biosíntesis de ácidos nucleicos, pues dificulta el avance de la enzima topoisomerasa II, que desenrolla el ADN en la transcripción. La doxorubicina estabiliza este complejo topoisomerasa II después de que se abre la cadena de ADN, evitando que se libere la doble hélice y deteniendo así el proceso de replicación.⁽¹¹⁾

1.2.3. Farmacocinética

El clorhidrato de doxorubicina no es estable en el ácido gástrico y se absorbe pobremente en el tracto gastrointestinal. Es un fármaco extremadamente irritante para los tejidos y puede ser administrado vía intravenosa.

Exhibe una farmacocinética en la que se incrementa la dosis de manera proporcional al tiempo alcanzando la dosis terapéutica como se indica a continuación: se distribuye en menos de 30 segundos vía intramuscular, encontrándose en hígado, pulmón, riñón y corazón; es absorbida por células y unida a componentes celulares, particularmente ácidos nucleicos; el volumen de distribución del clorhidrato de doxorubicina administrado vía intravenosa es alrededor de 700-1000 mL.

Cantidades pequeñas de doxorubicina pueden ser encontradas en la leche materna y atraviesa la placenta, al igual que su metabolito mayoritario doxorubicinol.

El fármaco, así como, sus metabolitos son excretados predominantemente en la bilis; del 10-20% de la dosis es excretada en heces a las 24 h, y un 40-50% en la bilis o heces a los 7 días. El 50% es fármaco, el 23% doxorubicinol y el resto son otros metabolitos incluyendo agliconas y conjugados. Aproximadamente 4-5% de la dosis administrada es excretada a los 5 días en orina.⁽¹²⁾

1.2.4. Efectos secundarios

Puede ocurrir necrosis local severa si hay extravasación durante la administración. La doxorubicina no debe ser administrada por vía intramuscular o subcutánea.

La toxicidad en el miocardio puede ocurrir durante, meses o años después de la terapia y el daño más severo es un fallo congestivo del corazón.

Pueden ocurrir tres tipos de cardiotoxicidad en pacientes tratados con antraciclinas: la aguda transitoria, crónica y subaguda. Puede ocurrir estomatitis y esofagitis especialmente si se administra diario; ulceración y necrosis del colón; embolia pulmonar; faringitis. No se debe administrar en mujeres embarazadas o lactantes.⁽¹²⁾

1.2.5. Dosis y vía de administración

Instrucciones para su uso y manejo: la doxorubicina es usualmente administrada intravenosamente. La administración intravesical es benéfica en el tratamiento de cáncer superficial de la vejiga, así como en la profilaxis de tumores recurrentes después de resección transuretral. La vía de administración intraarterial también ha sido usada para producir actividad local intensa con toxicidad general disminuida.

Administración I.V.: La dosis total de doxorubicina por ciclo puede variar según su uso dentro de un régimen de tratamiento específico (administrado como monoterapia o en combinación con otros fármacos citotóxicos) y de acuerdo con la indicación.

La doxorubicina debe ser administrada a través de un catéter para infusión I.V. con flujo libre (en disolución a 0.9% cloruro de sodio o 5% disolución de glucosa) por no menos de 3 minutos y no más de 10 minutos para minimizar el riesgo de trombosis o extravasación perivenosa.

Una inyección directa no es recomendable debido al riesgo de extravasación, el cual puede ocurrir incluso en presencia del regreso adecuado de sangre hasta la aspiración de aguja.

Regímenes de dosis estándar inicial: Como monoterapia, la dosis estándar inicial recomendada de doxorubicina por ciclo en adultos es 60-90 mg/m² de superficie corporal. La dosis total inicial por ciclo puede ser administrada como dosis única o dividida por más de 3 días sucesivos o administrados en días 1 y 8. Bajo condiciones de recuperación normal de la toxicidad inducida por el medicamento (particularmente depresión de la médula ósea y estomatitis), cada ciclo de tratamiento puede ser repetido cada 3 ó 4 meses.

La dosificación semanal de 10-20 mg/m² también ha sido efectiva. Si la doxorubicina es utilizada en combinación con otros agentes antitumorales con toxicidades potencialmente sobrepuestas, la dosis recomendada por ciclo estará en el intervalo de 30-60 mg/m².⁽¹²⁾

1.3. Sistema de liberación de fármacos (SLF)

Las formas farmacéuticas convencionales de liberación de fármaco como la oral, tópica, inhalada o intravenosa necesitan tomar una dirección nueva tomando en cuenta los principios farmacocinéticos, las características del fármaco, y la variabilidad de la respuesta de una persona a otra y en la misma persona bajo diferentes condiciones.⁽¹³⁾

La eficacia de muchos agentes terapéuticos depende de la acción en las macromoléculas que se encuentran localizadas en la superficie de ciertas células. Muchos fármacos interactúan con enzimas u otras macromoléculas que están presentes en un gran número de células, mientras que otros ejercen su actividad sobre un cierto tipo de células. Ciertas hormonas, por ejemplo, interactúan con receptores que están presentes solo en unas cuantas células. Un sistema de liberación ideal debería ejercer su acción sobre dichas células.



Figura 2. Requerimientos de diseño para un sistema de liberación de fármacos.⁽¹³⁾

Además, no debería liberar hasta encontrar el sitio de acción, una vez que lo consigue debería liberar repetidamente, por lo tanto, la eficacia terapéutica de un fármaco puede mejorarse y los efectos tóxicos pueden ser reducidos por el aumento y acercamiento del fármaco, además reducir la exposición hacia las células sanas.⁽¹³⁾ Para lograr el objetivo de un sistema de liberación debemos tomar en cuenta los requerimientos que se muestran en la Figura 2. Así que, para obtener una respuesta terapéutica buena, la cantidad adecuada de

fármaco debe ser absorbida y transportada al sitio de acción al mismo tiempo, además producir un rango de concentraciones que mantenga los niveles necesarios para que se dé el efecto terapéutico, puesto que la distribución hacia otros tejidos es innecesaria y potencial causa de toxicidad. En conjunto, para la elección de la ruta de administración se tomará en cuenta la forma farmacéutica que se fabrique de acuerdo a sus propiedades que tenga como sistema de liberación de fármacos, que pueden ser: propiedades fisicoquímicas, habilidad de dirigir el tratamiento, biocompatibilidad, mecanismo y duración de liberación.

1.3.1. Sistema de liberación modificada de fármacos

Un sistema de liberación modificada de fármacos (SLM) es una formulación o dispositivo diseñado para modificar el sitio o la velocidad de liberación de un fármaco. Los SLM permiten que los medicamentos con una duración de acción corta puedan ser administrados con menor frecuencia. Está generalmente aceptado que, para la mayoría de los pacientes, reducir el número de dosificaciones mejora la adherencia al tratamiento. Sin embargo, esta posología puede tener algunos inconvenientes como: sobredosificación; en donde los pacientes pueden olvidar que han tomado su dosis y repetirla a lo largo del día. Infra dosificación: la pérdida de dosis es particularmente problemática en preparados de administración única semanal o diaria, porque se pueden producir niveles plasmáticos subterapéuticos de forma prolongada.

Los SLM son capaces de disminuir las fluctuaciones en las concentraciones plasmáticas, con la reducción de picos plasmáticos elevados puede minimizar los efectos adversos, especialmente en medicamentos de absorción rápida y a su vez con la reducción de los valles, también evitarían los niveles plasmáticos subterapéuticos al final del intervalo posológico con la siguiente pérdida de eficacia.⁽¹⁴⁾

De igual manera los algunos SLM se diseñan para que se pueda controlar el sitio de liberación del fármaco en el tracto gastrointestinal. Este es el caso de las formas con cubierta entérica, liberan el fármaco directamente en el intestino delgado, esto permite proteger al fármaco de la degradación por el ácido gástrico.^(14, 15)

De acuerdo a su liberación, los SLM pueden mantener niveles plasmáticos de un fármaco de manera constante. La Figura 3 ilustra la concentración plasmática que se obtiene tras diferentes formas de dosificación, así, se puede observar que la infusión venosa es la forma de administración que mantiene niveles plasmáticos constantes a lo largo del tratamiento, empero requiere condiciones de hospitalización y se limita a ciertos fármacos. Mientras que con una dosis única, el efecto del fármaco pasa rápidamente y si se aplica una dosis doble se corre el riesgo de llegar a condiciones tóxicas que agravan los efectos secundarios que pueda ocasionar el fármaco. Al administrar multidosis se logran mantener niveles plasmáticos constantes, sin embargo, para el paciente resulta tedioso el estar administrando un cierto número de dosis en un periodo de tiempo más corto, además se corre el riesgo de alcanzar niveles tóxicos. Finalmente, las formas farmacéuticas capaces de mantener liberaciones sostenidas o prolongadas estos tipos de liberación mantiene los niveles plasmáticos constantes dentro de la ventana terapéutica por largo

tiempo, e incluso las formas farmacéuticas de liberación prolongada pueden alcanzar una cinética similar a la que se consigue con la administración intravenosa.⁽¹⁴⁾

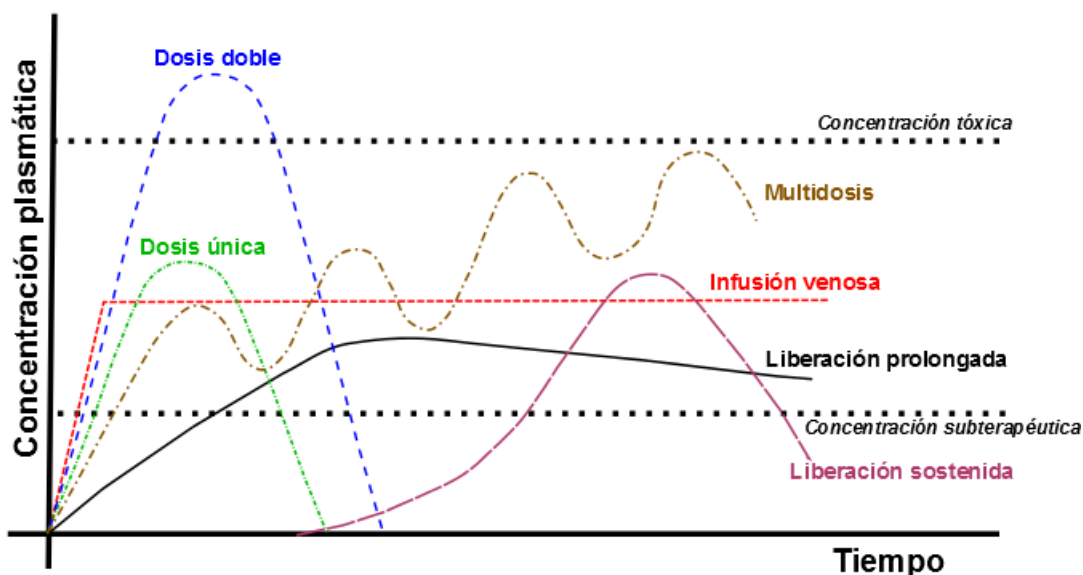


Figura 3. Tipos de liberación y dosificación de fármacos.⁽¹⁴⁾

Desde el punto de vista tecnológico los SLM están constituidos por una plataforma o soporte que contiene el o los principios activos, este soporte modula la velocidad o sitio de liberación. Dicha plataforma puede tomar diversas formas y tamaños. De acuerdo a la forma de liberación, pueden clasificarse como:

- Liberación retarda: el principio activo es liberado en un momento distinto al de la administración, pero no se prolonga la administración terapéutica (no hay cambios en ningún otro parámetro terapéutico). Son formas con cubierta entérica, en las que el principio activo es liberado en una zona concreta del intestino delgado.
- Liberación prolongada: es aquella que reduce por lo menos a la mitad la frecuencia de administración, en comparación con una forma farmacéutica de liberación inmediata o retardada. Dentro de los sistemas de liberación prolongada se pueden clasificar.
 - Liberación sostenida. Están diseñadas para liberar con rapidez una fracción predeterminada del fármaco para obtener la respuesta terapéutica normal y, a partir de ese momento, continuar con la liberación para mantener la acción por un período de tiempo prolongado. El objetivo de este mecanismo es reducir la frecuencia de administración del medicamento.
 - Liberación controlada. Considera no solo liberar al fármaco en forma lenta, también denota la posibilidad de predicción y mayor reproducibilidad de la cinética de liberación en un período específico, de tal manera que se obtengan niveles plasmáticos uniformes, con la clara ventaja de reducir las dosis para prolongar el efecto terapéutico esperado y con ello minimizar los efectos secundarios.

-
- Liberación programada. Mientras que los productos de liberación sostenida o controlada están diseñados por mecanismos que responden ante estímulos del medio ambiente al que se exponen (pH, motilidad intestinal, etc.), la velocidad de liberación del fármaco en forma programa está determinada por el mismo sistema, independientemente del medio que rodea. Pueden emplearse para alcanzar efectos locales o sistémicos, lo que permite su administración por diferentes vías. Estos sistemas se clasifican en tres categorías:
 - Pasivos pre-programados. Tiene un elemento como una membrana o matriz, que programa el modelo de liberación para obtener esencialmente una cinética de orden cero, independientemente de los procesos físicos, químicos o biológicos que ocurren una vez administrado.
 - Activos con control externo: Poseen un elemento de control y otro que es capaz de recibir una señal externa al organismo (electromagnética), para contralar y modular la liberación del fármaco a partir del sistema.
 - Activos auto-programados: Son sistemas terapéuticos que contienen un elemento sensor que responde a estímulos del medio ambiente biológico (por ejemplo incremento de glucosa en sangre, en pacientes diabéticos), para modular la liberación del fármaco.⁽¹⁴⁾

1.3.2. Nanopartículas como sistema de liberación de fármacos

Desde 1960 que se comenzaron a utilizar las siliconas como acarreadores en la liberación de fármacos con bajo peso molecular en animales, diversos sistemas de liberación han sido desarrollados. Uno de ellos son las nanopartículas como vehículos de la liberación de fármacos, así pues las nanopartículas son partículas que figuran en la escala nanométrica en el intervalo de 10 a 100 nm. La reducción de las partículas de los sistemas farmacéuticos a este nivel aumenta la velocidad de disolución y la disponibilidad del fármaco al ofrecer mayor área de contacto, lo cual permite un mejor desempeño del fármaco *in vivo*.⁽¹⁶⁾

Entre las ventajas de usar SLF nanoparticulados se encuentran una mejor biodisponibilidad, una disminución de la variabilidad en la respuesta obtenida entre los estados de ayuno y no-ayuno además de un rápido efecto terapéutico en la administración oral. El tamaño de partícula juega un papel importante en la velocidad de disolución de los fármacos, la reducción del tamaño de partícula puede aumentar la velocidad de disolución y con esto dar una mayor biodisponibilidad. Por ejemplo, la biodisponibilidad absoluta del fármaco donazol en forma de nanopartículas fue de $82.3 \pm 10.1\%$, comparada con la biodisponibilidad de $5.1 \pm 1.9\%$ de una suspensión convencional de donazol.^(16, 17)

Se han elaborado y estudiado diferentes tipos de nanopartículas como las nanopartículas lipídicas sólidas (SLN) las cuales se desarrollaron a principios de 1990, como una alternativa a sistemas de fármacos como las emulsiones, liposomas y a las nanopartículas poliméricas. Las ventajas son varias, por

ejemplo, protección del principio activo incorporado contra la degradación química; la utilización de lípidos fisiológicos para su preparación; la posibilidad de evitar el uso de solventes orgánicos en su preparación; un espectro de utilización amplio ya que se utilizan para la administración sobre la piel, por vía oral y por vía intravenosa; además, existen métodos de fabricación bien establecidos como la homogeneización a presión elevada; presentan una mejor biodisponibilidad, podrían ser de liberación prolongada para fármacos poco solubles en agua incorporados en la matriz lipídica sólida. Entre sus desventajas estarían el crecimiento de las partículas, una tendencia hacia una gelificación impredecible, cambios inesperados en sus transiciones polimórficas y su inherente baja capacidad de incorporación de los fármacos debido a la estructura cristalina del lípido sólido.^(16, 18)

Las nanopartículas de polímeros biodegradables se consideran importantes para los sistemas de liberación de fármacos ya que son muy estables, se adaptan fácilmente a los procesos industriales de fabricación y se pueden modificar en sus superficies para modular sus propiedades. Estas nanopartículas se pueden diseñar para controlar tanto la velocidad de liberación de los fármacos, así como para controlar su localización en algún lugar específico del organismo. La modulación de sus características se logra a través de las características del polímero y de la composición química de la superficie de las mismas. Por ejemplo, se ha encontrado que estos nanotransportadores se pueden concentrar preferentemente en ciertos sitios como los tumores, en virtud de una mayor permeabilidad y retención en el tumor. Las nanopartículas que se han concentrado en el tumor servirían como depósito de fármacos los cuales, dependiendo de sus características, proveerían de un suministro constante al tumor. Para prolongar el tiempo de circulación de las nanopartículas en la sangre se han implementado diferentes estrategias, entre ellas se han utilizado recubrimientos hidrofílicos.

La mayoría de estos sistemas de liberación de fármacos utiliza cadenas de poli (etilenglicol)/poli(óxido de etileno), para modificar la superficie de las nanopartículas.⁽¹⁶⁾ También se han reportado trabajos en los que se hacen uniones polímero-fármaco que se realizan a través de adsorción física durante la formación de la partícula o a través de un enlace covalente con el polímero siendo el fármaco núcleo de la nanopartícula ejemplo de ello tenemos a las nanopartículas de óxido de polietileno modificadas con poli(beta-amino éster) que son susceptibles a pH menor a 6.5 promoviendo la liberación del anticancerígeno paclitaxel.⁽¹⁹⁾

La absorción y efecto terapéutico de los sistemas con nanopartículas en el organismo, la absorción aumenta conforme se disminuye el tamaño de las partículas. Estudios con partículas de poliestireno de entre 50 nm y 3 µm muestran que la máxima absorción ocurre con partículas en el intervalo de 50-100 nm. Partículas de más de 1 µm quedan atrapadas en las placas de Peyer. Estas no pasan a la circulación sistémica ya que los nodos linfáticos actúan como filtros, reteniéndolas. La carga de la superficie de las partículas es un factor que aun existiendo permite la absorción de las nanopartículas. Sin embargo, la absorción de partículas con carga superficiales es menor comparada con la mayor absorción de partículas no-iónicas e hidrofóbicas.

Un factor importante en la captura y translocación (traslado al interior y exterior de las células) de las nanopartículas por parte de las células es su estabilidad física y química después de su administración oral. Los sistemas coloidales (dispersiones de nanopartículas) son poco estables. Esta inestabilidad puede provocar su agregación y floculación, lo cual alteraría su tamaño de partícula y con esto sus posibilidades de captura y translocación. La estabilidad química del núcleo de las nanopartículas así como de los ligandos colocados sobre su superficie es de vital importancia para su biodegradabilidad, para la liberación de los fármacos encapsulados y para asegurar la unión del vehículo que transporta el fármaco a los receptores.⁽¹⁶⁾

En un estudio realizado por Kim se han utilizado nanopartículas de oro a las cuales se les conjugó un polímero sensible al pH y doxorubicina pues se ha observado que los fluidos circundantes de las células cancerosas poseen un pH menor a otros fluidos dando lugar a un direccionamiento del tratamiento gracias a el magnetismo de las partículas.⁽²⁰⁾

Aun después de la absorción se debe considerar que existe una situación compleja en la cual las nanopartículas deben viajar a través de los capilares sanguíneos y que debe haber un proceso posterior a la adsorción que podría complicar y limitar el resultado que se obtiene de ellas. Algunos de los factores importantes involucrados en la administración oral de las nanopartículas que enfatizan la parte postabsorptiva se mencionan a continuación:

- El flujo en el tracto gastrointestinal
- Acceso y adhesión a los enterocitos o en las pacas de Prayer
- Paso al interior del sistema linfático mesentérico
- Flujo dentro de los vasos linfáticos y el entrapamiento en los nodos linfáticos
- Transporte entre el sistema linfático y la sangre

Otros factores a considerar en la fabricación de nanopartículas como SLF son el flujo de la sangre, la adhesión a las paredes capilares, la extravasación y flujo en los tejidos, el flujo en las bifurcaciones de los vasos, el movimiento hacia el interior de los tumores, la presencia de áreas de los tumores con fugas en el suministro capilar. Cada vía de transporte involucra una secuencia compleja del movimiento de las nanopartículas, la mayoría de ellas involucrando los sistemas de transporte de la sangre y el sistema linfático.⁽¹⁶⁾

1.4. Nanopartículas magnéticas (NPM)

Las nanopartículas magnéticas, o sistemas magnéticos de nanoescala, han generado un interés continuo posterior al año 1940. En ese año Néel un pionero en este campo trató de entender el comportamiento magnético de las nanopartículas, desarrollando teorías fundamentales para el magnetismo y el modelaje de materiales magnéticos, los cuales son importantes avances tecnológicos, por ejemplo en el área de almacenamiento y proceso de información. Existen diferentes tipos de nanopartículas: I) ensambladas por ejemplo con cobalto, níquel o maghemita; II) aisladas únicamente de níquel,

cobalto o bien de magnetita. Las nanopartículas comparadas con otros materiales poseen interesantes propiedades como la coercitividad gigante, como también una relación baja exponencial a temperaturas bajas comparadas con la barrera de anisotropía, lo que ofrece una gran estabilidad en el almacenamiento de información. Adicionalmente, pueden mostrar comportamiento superparamagnético cuando se fabrican en tamaños menores a 50 nm en caso de partículas de magnetita.⁽²¹⁾

1.4.1. Superparamagnetismo

Las dimensiones reducidas de las partículas, junto con las nanoestructuras formadas, hacen que los sistemas granulares presenten una rica variedad de propiedades físicas interesantes una de ellas es el superparamagnetismo,⁽²²⁾ así pues, consideremos las propiedades magnéticas de un conjunto de partículas no interactuantes (con una distribución amplia de tamaños y con una distribución aleatoria de ejes de fácil magnetización). Tal sistema puede ser estudiado dentro de la teoría superparamagnética. Este nombre fue introducido por Bean y Livingston por la analogía con sistemas paramagnéticos. La primera suposición de la teoría superparamagnética es la de considerar que los momentos magnéticos atómicos en el interior de una partícula se mueven coherentemente, o sea, que el momento magnético total puede ser representado por un único vector clásico de magnitud $\mu = \mu_{at}N$, donde μ_{at} es el momento magnético atómico y N es el número de átomos magnéticos que conforman dicha partícula. En el caso más simple una partícula muy pequeña tendrá una dirección preferencial llamada eje de fácil magnetización (también conocido como eje fácil), que es la dirección donde preferentemente se hallará el vector momento magnético. Como ejemplos intuitivos podemos pensar en una aguja magnetizada, donde el momento magnético estará preferentemente a lo largo de la misma, o en los casos de películas, donde la magnetización prefiere orientarse a lo largo del plano del mismo (en el caso de campos magnéticos débiles). Por otra parte presentan una magnetización por debajo de la temperatura de Curie, lo que en términos de paramagnetismo es imposible, pues se necesita sobrepasar esta temperatura para lograr magnetizar un material paramagnético. Dado que, para orientar magnéticamente los espines de los átomos de hierro en la nanopartícula resulta fácil es posible acercar un campo magnético alterno para generar un incremento en la temperatura circundante a la nanopartícula, debido a ésta propiedad son aprovechadas en el campo de la medicina para el tratamiento de cáncer por hipertermia puesto que las células tumorales son susceptibles a cambios ligeros de temperatura.⁽²³⁾ Como ejemplos de esta propiedad tenemos a la maghemita y magnetita, la última juega un papel importante en este trabajo por lo que se describirán a continuación sus propiedades, así como los métodos de obtención y las aplicaciones en biomedicina.

1.5. Magnetita

La magnetita, de fórmula Fe_3O_4 , $Fe^{+2}O \cdot Fe_2^{+3}$ ó $Fe^{+3}[Fe^{+2}Fe^{+3}]O_4$, se conoce como tetróxido de trihierro u óxido ferrosférico, de manera que su fórmula general se escribe como $Y[XY]O_4$ (fórmula típica de una estructura cristalina de espinela, siendo la magnetita inversa), donde el oxígeno forma la red cúbica de cara centrada, $X=Fe^{+2}$ y $Y=Fe^{+3}$; los corchetes denotan los sitios octaédricos

(32 espacios) y los restantes los sitios tetraédricos (64 espacios). En la Figura 4, se observan diferentes modelos para representar la magnetita.

El hierro constituye el 72.4% y el oxígeno el 27.6% en masa. A temperatura elevada puede cambiar ligeramente debido a que puede aceptar un exceso de iones trivalentes. Los iones ferrosos y férricos de las posiciones octaédricas comparten los electrones de valencia, lo que permite de elevada conductividad eléctrica.⁽²⁴⁾ En la Tabla 2 se presentan las propiedades

Tabla 2. Propiedades de la magnetita.⁽²⁴⁾

Sistema Cristalino	Cúbico
Dimensiones de la celda	0.839 nm
Densidad	5.18 g cm ⁻¹
Color	Negro
Dureza	5 ¹ / ₂ (escala de Mohs)
Tipo de magnetismo	Ferrimagnética
Temperatura de Curie	850 K
Energía libre de formación estándar	-1012.6 KJ/mol
Resistividad eléctrica	105 Ω cm

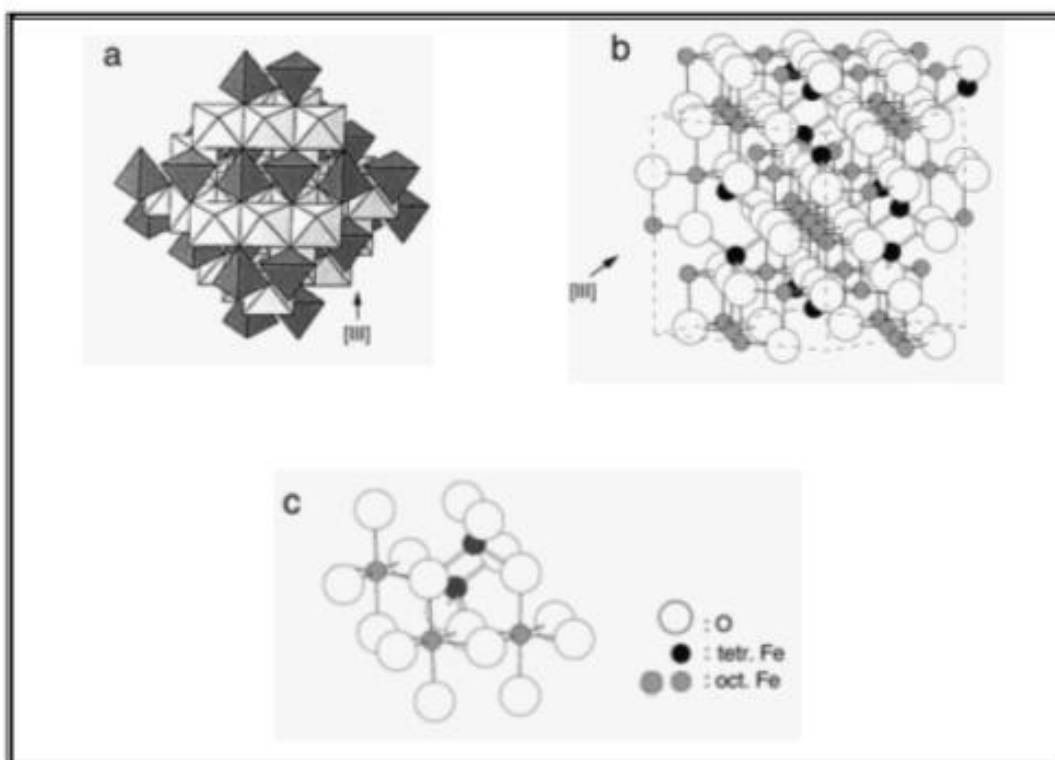


Figura 4. Estructura de la magnetita. a) modelo poliédrico con capas alternadas de octaedros y tetraedros. b) modelo en celda unitaria y c) arreglo octaédrico y tetraédrico.⁽²⁴⁾

generales de la magnetita.

La magnetita es ferrimagnética, semiconductor y diferente de los otros óxidos de hierro en que contienen tanto hierro divalente como trivalente, característica que hace de la magnetita un óxido único.⁽²⁴⁾

Dentro de sus principales aplicaciones de la magnetita se encuentra su uso como pigmento de pinturas anticorrosivas, linóleo y en la industria textil, la utilización como colorante en la producción de vidrios; en la fabricación de imanes permanentes. La magnetita junto con la hematita, son los óxidos de

hierro más utilizados como catalizadores, siendo considerada como excelente catalizador en la descomposición del peróxido de hidrógeno.⁽²⁴⁾ Otras aplicaciones son en instrumentos magnéticos como bocinas, tintas magnéticas para cheques bancarios, unidades de refrigeración magnética, etc.⁽²⁵⁾ Recientemente se han empezado a utilizar nanopartículas de magnetita en el campo de la biomedicina como agentes de diagnóstico, SLF al ofrecer biocompatibilidad y debido a sus propiedades magnéticas como agentes en el tratamiento por hipertermia, todos ellos se discutirán más adelante, por el momento es de interés dar a conocer los métodos más reportados de síntesis.

1.5.1. Métodos de síntesis de nanopartículas de magnetita

La magnetita la podemos encontrar fácilmente en la naturaleza pues las aves poseen esta sustancia en una cavidad de su cráneo que les sirve para orientarse y, de esta manera emigrar. Ahora bien, para obtener nanopartículas de magnetita de manera artificial existen diferentes métodos de síntesis entre los cuales encontramos:

La síntesis hidrotermal de la magnetita, la cual se produce a partir de una solución de FeCl_2 que se calienta hasta una temperatura cercana a los 70°C , que se trata con NaNO_3 como agente oxidante en medio básico, siendo necesario eliminar el oxígeno en todo momento del proceso con flujo constante de nitrógeno para evitar la sobreoxidación de los iones Fe^{2+} . En soluciones moderadamente alcalinas ($\text{pH}=8$), la oxidación de Fe^{2+} genera como producto intermedio al $\text{Fe}(\text{OH})_2$, y el producto final suele ser magnetita aunque también se puede obtener maghemita (Fe_2O_3) debido a la oxidación de Fe^{2+} .⁽²⁶⁾

Un método de descomposición térmica involucra que en la reacción se coloque acetilacetato de hierro III ($\text{Fe}(\text{acac})_3$) en 1,2-hexadecanediol, ácido oleico, oleilamina, fenil éter y se ponga a reflujo $265^\circ\text{C}/1\text{h}$, utilizando atmósfera de argón obteniendo al final del proceso un tamaño de partícula de 6 nm .^(27, 28)

Por otro parte el método de coprecipitación consiste en colocar sales con iones Fe^{2+} y Fe^{3+} en un medio alcalino, posteriormente se somete a otro proceso para garantizar ya sea el tamaño de partícula o la estabilidad de nanopartículas, en la Tabla 3 se pueden observar a grandes rasgos las condiciones de síntesis que se han utilizado en diferentes investigaciones para obtener tamaños de partícula entre 8 y 12 nm .

Tabla 3. Métodos de síntesis por el método de coprecipitación. Se muestran las condiciones más destacables en las que se lleva la síntesis y el tamaño de partícula obtenido al final del proceso.

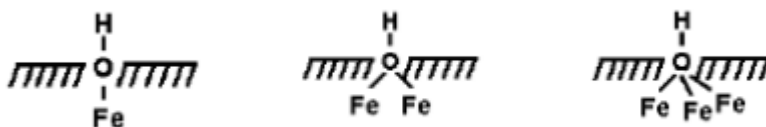
Referencia	Primer paso				Segundo paso		Tamaño
	Reactivos	Agitación	Temperatura ($^\circ\text{C}$)	Atmosfera	Condiciones		
(29)	NH_4OH 2M	Magnética	Ambiente	Ambiente	HNO_3 1M agitar/lavar, (repetir 7 veces)		12 nm
(30) (31)	NH_4OH 25%	Magnética	Ambiente	Ambiente	Reflujo/1h en HNO_3 0.8M, $\text{Fe}(\text{NO}_3)$ 0.21M	Diálisis HNO_3 0.01M	9 nm
(32)	NaOH 1.5 M	Magnética	Ambiente	N_2	Lavar con HCl 0.01M		60 \AA
(25)	NH_4OH 10%	Mecánica 2000 rpm	70 /7500 rpm	Ambiente	Lavar con agua Peptizar: ác. oleico keroseno (aceite comestible)	Calentar $70\text{-}75^\circ\text{C}/450\text{ rpm}/6\text{ h}$	10 nm

Referencia	Primer paso				Segundo paso		Tamaño
	Reactivos	Agitación	Temperatura (°C)	Atmosfera	Condiciones		
(33)	NaOH 0.1M	2230 rpm /30 minutos	Ambiente	Ambiente	Lavar con HCl 0.01M /5 veces	Peptizadas en agua	6 nm
(34)	HCl 1N 10 mL, KOH 90 mL 1N	Magnética	Ambiente	N ₂	Ácido perclórico 2M reflujo/1 h	TMAH, HNO ₃ 2M, lavar acetona, peptizar	8 nm
(35)	PVP FeCl ₃ tolueno FeSO ₄ NaOH 20%	Magnética/ 12 h	20	Ambiente	Lavar con agua destilada y etanol		13 nm
(36)	HCl 0.2% NH ₃ 25%	Constante, 10 minutos	Ambiente	Ambiente	Lavar con agua.	Recubrimiento con oro	180 nm
(37)	NH ₄ OH	Magnética	80	N ₂	Acido 3- tiofenacético/acetnitrilo 2M/agitación 30 min	KMnO ₄ 2x10 ⁻³ M /80 °C/30 min, lavar EtOH x 5	10-12 nm
(38)	HCl 1N 10 mL, KOH 90 mL 1N	Magnética	Ambiente	N ₂	Ácido perclórico 2M reflujo/1 h	Acido cítrico 1.5 g/L, Neutralizar, Diálisis /2 días	8 nm (22 nm por DLS)
(39)	NaOH 1M	Magnética	Reflujo /4 h	Ambiente	Lavar con etanol		8 nm
(40)	HCl 2M, NaOH 2M	Vigorosa/30 minutos	Ambiente	Ambiente	Agitación HNO ₃ 2M, Fe(NO ₃) 0.3M	Lavar con acetona, suspender en agua.	8 nm
(41)	NH ₄ OH 28%	Magnética	Ambiente	N ₂	Acido cítrico 2 M/ 1 h	Lavar con agua	9 nm
(42)	NH ₄ OH 25%	Magnética	80	Ambiente	Citrato de sodio 5x10 ⁻³ mol	Lavar con agua	260 nm

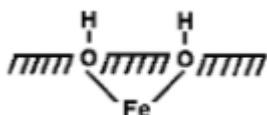
Observando entonces lo anterior podemos decir que el método más rápido, económico y más reportado es el de coprecipitación, por lo cual para este trabajo fue el método de elección de síntesis.

1.5.2. Propiedades de superficie

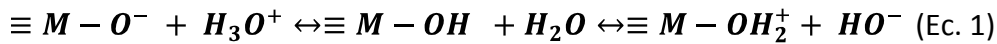
Puesto que la estructura cristalina posee oxígeno esta tiende a formar grupos OH- en la superficie, que pueden estar mono, di o tri coordinados con los cationes, dependiendo de la estructura y orientación de los cristales que conforman la partícula. Debido a esto la reactividad de los diferentes grupos hidroxilo varían mucho entre sí por ejemplo:



Un cuarto tipo de grupo que puede ser formado en el proceso de adsorción es en el que dos grupos -OH se encuentran enlazados a un átomo de hierro



Los complejos hidroxilo superficiales M-OH se ionizan en contacto con el H₂O, dando lugar a especies cargadas negativas o positivas, dependiendo del pH del medio. Estas especies cargadas son responsables de la carga superficial neta de las partículas de óxidos metálicos en medio acuoso.



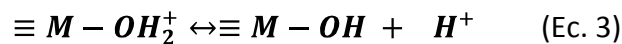
Estos grupos (Ec. 1) son muy reactivos y ya que poseen pares de electrones e hidrógenos disociables pueden reaccionar con ácidos y bases. Por esto los óxidos metálicos en medio acuoso se pueden comportar como sustancias anfóteras.

La densidad de carga superficial neta σ_0 , se define como:

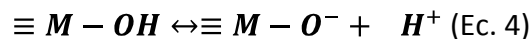
$$\sigma_0 = \frac{F ([M-OH_2^+] - [M-O^-])}{A} \quad (\text{Ec. 2})$$

Donde **A** es el área superficial de las partículas ($m^2 \cdot l^{-1}$), **F** es la constante de Faraday (96500 C/mol) $[M-OH_2^+]$ y $[M-O^-]$ corresponden a las concentraciones de los sitios superficiales cargados.

Los equilibrios ácido-base que pueden plantearse para este sistema son:



y por lo tanto, las constantes de acidez superficiales para estas reacciones serán:



$$Ka_1 = \frac{[\equiv M - OH][H^+]}{[\equiv M - OH_2^+]} \quad (\text{Ec. 5})$$

$$Ka_2 = \frac{[\equiv M - O^-][H^+]}{[\equiv M - OH]} \quad (\text{Ec. 6})$$

El pH al cual la carga superficial es cero es denominado punto de carga cero (PZC). Este punto es muy importante para estos sistemas, ya que pueden mostrarlas características ácidas y la carga de la superficie. Para pH menores al PZC la carga superficial es positiva y si el pH es mayor que el PZC la carga superficial es negativa.

El PZC es característico del óxido, de la capacidad polarizante del catión, de la estructura del cristal, de la morfología de la partícula y la fisicoquímica del óxido.⁽⁴³⁾

Las propiedades en superficie son importantes, pues servirán para conjugar una gran variedad de moléculas, para fines infinitos. Como por ejemplo se han reportado trabajos en los que las nanopartículas son recubiertas con silicatos, tal es el caso de Effati en el que utilizan tetraetil ortosilicato (TEOS) para recubrir las NPM de magnetita, pues al tener esto encontraron que existe una mejor dispersión de las nanopartículas, además que se vuelven más reactivas pues interaccionan mejor con algunos monómeros como el vinilo y como los acrilatos los cuales emplearon como segundo recubrimiento y de esta manera hacer posible el entrecruzamiento de polímeros o la síntesis con otras moléculas como pueden ser fármacos.⁽⁴⁴⁾

1.5.3. Solvatación de las partículas

Cuando las partículas de óxidos se encuentran en medio acuoso, los grupos superficiales polarizados pueden desarrollar fuertes interacciones con las

moléculas de agua presentes en la solución. Estas moléculas de agua se enlazan a los grupos superficiales por medio de puentes de hidrógeno, formando una capa de moléculas fisisorbidas. A esta primera capa se enlazan a su vez otras dos o tres capas de moléculas de agua igualmente por enlaces de hidrógeno, formando una estructura muy similar a la del agua sólida (Figura 5). A medida que nos alejamos de la superficie, el orden de solvatación disminuye, de tal manera que a cierta distancia de la superficie, el agua recobra sus características como líquido.

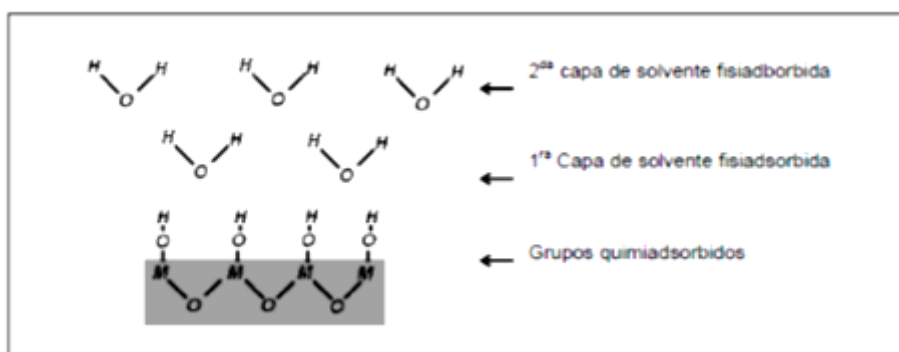


Figura 5. Representación esquemática de las capas de solvatación de una superficie sólida.⁽⁴³⁾

La carga superficial atrae por fuerzas electrostáticas a iones de signo contrario a ella (denominados contraiones) que se encuentren en la solución como iones espectadores y repele los iones de igual signo que se hayan presentes (Co-iones). La fuerza de estas interacciones depende de la naturaleza de los iones y de la superficie.

Los iones que tengan buena afinidad con la capa de solvatación pueden penetrar con más facilidad la capa de solvente, ya que ellos tienen tendencia a preservar el orden local en la zona. Si esta interacción es bastante grande, pueden verse muy atraídos por fuerzas electrostáticas y enlazarse a la superficie, formando en algunos casos verdaderos complejos de coordinación. Los complejos pueden ser según la fuerza de interacción de esfera externa (fisisorbidos) o de esfera interna (quimisorbidos).

Los iones de carga relativamente débil no penetran las capas de solvatación para llegar hasta la superficie de la partícula y solo pueden llegar al límite de la capa de Stern o plano de Helmholtz, formando parte de la capa difusa.⁽⁴³⁾

1.5.4. Aplicación biomédica de las nanopartículas magnéticas

Actualmente, las nanopartículas magnéticas tienen una gran variedad de aplicaciones en el campo de la biomedicina, fundamentalmente en las áreas del diagnóstico y la terapia. En su forma más sencilla están formadas de un núcleo magnético, las más investigadas han sido las de hierro como las de magnetita (Fe_3O_4) o maghemita (Fe_2O_3) con una envoltura polimérica y con un tamaño que oscila entre los 5 y 100 nm.⁽⁴⁵⁾

No obstante se han sintetizado nanopartículas magnéticas utilizando núcleos de óxido de hierro dopados con otros metales como Mn, Co y Ni presentando

así momentos magnéticos más grandes, sin embargo, es preciso realizarles estudios de biocompatibilidad y comprobar que poseen efectos citotóxicos.

El interés de las NPM deriva fundamentalmente de sus propiedades físicas de su núcleo magnético. Por otra parte su alta relación superficie-tamaño, de la capacidad que poseen para unir moléculas de interés biológico a su superficie. Además el tamaño pequeño posibilita interacción con estructuras celulares y moleculares,⁽⁴⁵⁾ tiene una gran demanda para el suministro de medicamentos, debido a que no es tóxica y es biocompatible con el cuerpo humano.^(24, 46) Por todo ello están siendo ampliamente investigadas como agentes de contraste en imagen por resonancia magnética (MRI), como sistemas de liberación de fármacos (SLF) o para producir muerte celular por hipertermia al acercarse un campo magnético externo.⁽⁴⁵⁾

Hay que tomar en cuenta que la ausencia de envoltura polimérica provoca aglomeración de las nanopartículas cuando se encuentran en condiciones fisiológicas debido a la presencia de sales y proteínas, lo que podría causar la obstrucción de vasos capilares. Generalmente lo que se hace es recubrirlas para que con esto se logren obtener suspensiones homogéneas de nanopartículas conocidas como ferrofluidos, además al tener la propiedad magnética son capaces de ser orientadas hacia un sitio específico acercando un campo magnético lo que podría ofrecer ventajas en la obtención de MRI y como SLF al cargar el polímero con algún fármaco. Uno de los problemas a los que se enfrentan las NPM es que sean capturadas por el sistema retículo endotelial (SER) también y atraviesen el proceso de opsonización, para ello se recurre a polímeros biocompatibles. Ahora se describen algunas de las aplicaciones en la biomedicina citando algunas investigaciones que se han realizado.⁽⁴⁵⁾

1.5.4.1 NPM como agentes de diagnóstico

Para el diagnóstico de enfermedades como lo es el cáncer recientemente se ha encontrado que el utilizar partículas magnéticas se puede incrementar el contraste en MRI, de hecho desde 1987 se hizo un primer hallazgo en el que se ensayó *in vivo* con partículas de óxido de hierro de un tamaño de 0.5 μm en el cual se encontró que funcionaban como agentes de contraste en MRI.⁽⁴⁷⁾ Después se comenzaron a sintetizar en tamaño manométrico y una vez aprobadas se comenzaron a utilizar demostrando que las nanopartículas de óxido de hierro ofrecen un buen contraste como agente en el diagnóstico de cáncer de hígado.⁽⁴⁸⁾ Tal es el caso de la investigación realizada por Zhang en la que se investigó NPM de Fe_3O_4 recubiertas con polivinilpirrolidona (PVP) sintetizadas por el método de coprecipitación y que se probaron como agentes de contraste en ratas para el diagnóstico de cáncer de hígado utilizando MRI, esto debido a que el PVP ofrece biocompatibilidad y a la acumulación de NPM en el área tumoral del hígado.⁽⁴⁹⁾

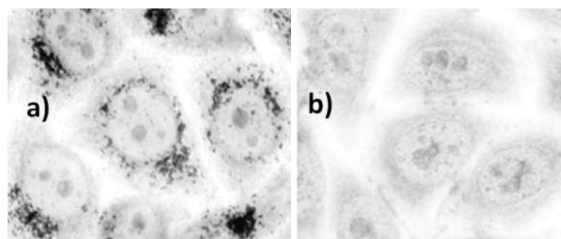


Figura 6. Diagnóstico *in vitro* de células tumorales observadas en microscopio óptico. Nanopartículas a) cubiertas de dextran, b) cubiertas de DMSA.⁽⁵⁰⁾

De igual manera pueden ser usadas como un indicador para determinar de manera *in vitro* si existen células cancerosas en un cultivo de tejido (Figura 6), pues estas al estar recubiertas con un polímero que ofrece carga positiva como lo es el dextran tienden a aglomerarse alrededor de éstas células facilitando su detección, en comparación con nanopartículas cubiertas con DMSA, que se aglomeran en menor cantidad alrededor de las células tumorales debido a la carga negativa en superficie.⁽⁵⁰⁾

1.5.4.2. Hipertermia

Dentro del uso que se les da a las NPM para el tratamiento por hipertermia se debe principalmente al superparamagnetismo que presentan, pues como ya se estudió tienen la capacidad de elevar la temperatura de su alrededor debido a que el proceso de magnetización-relajación puede ser controlado al acercarse un campo electromagnético alterno, el cual puede ser inducido por: un campo magnético alterno, laser con longitud de onda apropiada, ultrasonidos o bien rayos X de baja potencia.⁽⁴⁵⁾

Destacan algunos estudios como el realizado por Nedkov, en el cual hace una prueba con dos ferrofluidos uno de ellos fue una dispersión de NPM de magnetita y el otro NPM de magnetita conjugadas con β -ciclodextrina y tetrametil hidróxido de amonio (TMAH) como surfactante, ambos se sometieron a un campo magnético alterno de 40 kHz de frecuencia y 30 kA/m de intensidad durante 12 minutos a temperatura ambiente, encontrando que el primer ferrofluido eleva la temperatura en 3.5 °C y el segundo la eleva 12 °C, lo cual demuestra que pueden ser usadas como tratamiento por hipertermia.⁽⁵¹⁾

En otro estudio realizado por Shinkai, en el cual se hacen pruebas *in vitro* e *in vivo* utilizando NPM de magnetita conjugadas con un fragmento Fab antígeno-anticuerpo en el tratamiento por hipertermia de carcinoma de riñón que consistió en dosis de 30 minutos 3 veces al día de radiación electromagnética ejercida por una bobina con 118 kHz de frecuencia y 30.6 kA/m de intensidad se encontró que el carcinoma reducía su tamaño de 0.19 g a 0.08 g pasados 14 días y que el tiempo de supervivencia se extendió hasta 60 días comparados con el grupo control que fue de 35 días, por lo que se demostró que pueden sintetizarse NPM conjugadas con anticuerpos para hacer específico el tratamiento y que además la hipertermia ejerce un papel importante en la reducción de masa tumoral.⁽⁵²⁾

1.5.4.3. NPM como sistemas de liberación de fármacos

Por otra parte las NPM pueden ser utilizadas como vehículo para transportar fármacos tal es el caso en el que se investigó si la conjugación NPM de magnetita con a) rifampicina y b) clortetraciclina liberaban estos fármacos, encontrando que efectivamente se unían a las nanopartículas y que además liberaban el 80% de fármaco en un lapso de 6 horas.⁽⁵³⁾

Por otro lado el recubrir con un polímero ofrece propiedades interesantes para la liberación de fármacos como en la investigación en la que se recubrieron nanopartículas de magnetita con dextran-g-poli (N-isopropilacrilamida-co-N,N-dimetilacrilamida) un polímero termosensible al que se le conjugó con doxorubicina, un anticancerígeno estudiado anteriormente,

encontrando que la unión NPM-polímero-fármaco ofrece una liberación rápida a las primeras 5 horas y después se prolonga hasta las 50 horas, además que se libera más rápido debido a la temperatura de 37 °C y a pH menor a 7.4.⁽⁵⁴⁾

En otra investigación hecha por Asmatulu, se sintetizaron NPM de Fe₃O₄ y se recubrieron con PLGA que fueron cargados con metotrexato para demostrar que liberaban el fármaco al acercarse un campo magnético, encontrando que efectivamente liberaban de manera *in vitro* y que podrían ser investigadas de manera *in vivo* para comprobar el direccionamiento en el tratamiento de artritis reumatoide, además este polímero presenta una gran ventaja al ser biodegradable y biocompatible.⁽⁵⁵⁾

1.6. Polímeros de impresión molecular

Todos los sistemas vivos están basados en interacciones entre moléculas y el reconocimiento molecular juega un papel importante en esto. La formación de estructuras complejas como el ADN, los organelos celulares, son consecuencia de este tipo de interacciones. En contraste los enlaces covalentes mantienen unidas a los átomos de las moléculas y los enlaces débiles unen a múltiples moléculas dando lugar a que se organicen de diferente manera en el espacio lo que posibilita la reorganización de estructuras como el ADN en la replicación. En la comunicación celular también juegan un papel importante las interacciones moleculares como por ejemplo en la respuesta inmune basado en un reconocimiento molecular de marcadores

El concepto de las interacciones moleculares es viejo fue usado por los griegos y los romanos. Más tarde en el siglo XIX Johannes Diderik van der Waals realizó aportaciones con sus estudios sobre estas interacciones entre átomos en estado gaseoso, y Alfred Werner's sobre la teoría de la coordinación química. En 1894, Emil Fisher presentó su famosa teoría de "llave cerradura" que explicaba la interacción entre la enzima con el sustrato en un llamado sitio específico.⁽⁹⁾ En la década de 1940 Linus Pauling investigó 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, ocupándola como antígeno (molécula de reconocimiento) para generar el anticuerpo.⁽⁵⁶⁾

El estudio de estas interacciones ha tenido un auge debido a la intrigante capacidad que tienen estos sistemas al unirse de manera específica, por ejemplo en la bioquímica se investiga como imitar la unión entre enzimas o anticuerpos. En catálisis se busca sintetizar compuestos similares a las enzimas con sitios específicos para que orienten de cierta manera los grupos funcionales de algunas moléculas y les sea más fácil reaccionar.⁽⁹⁾

En este sentido se han desarrollado materiales denominados *polímero de impresión molecular* y se refieren a la construcción de una macromolécula en presencia de una molécula plantilla, molde u *forma* que interacciona específicamente con los monómeros que al polimerizar y retirar la forma

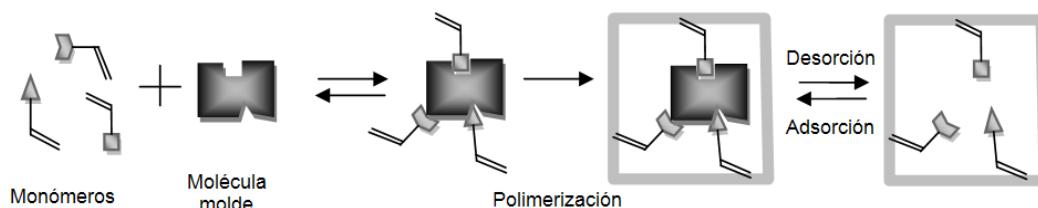


Figura 7. Etapas en la síntesis de polímeros de impresión molecular.⁽⁵⁷⁾

genera lugares de unión específica (Figura 7). Las interacciones pueden ser de tipo covalente o interacciones débiles y gracias a estas pueden ser usadas para diferentes fines (Figura 8) que van desde la detección de compuestos hasta la implementación como vehículos en liberación de fármacos.⁽⁵⁷⁾

La síntesis de estos materiales es sencilla se inicia con una molécula molde,

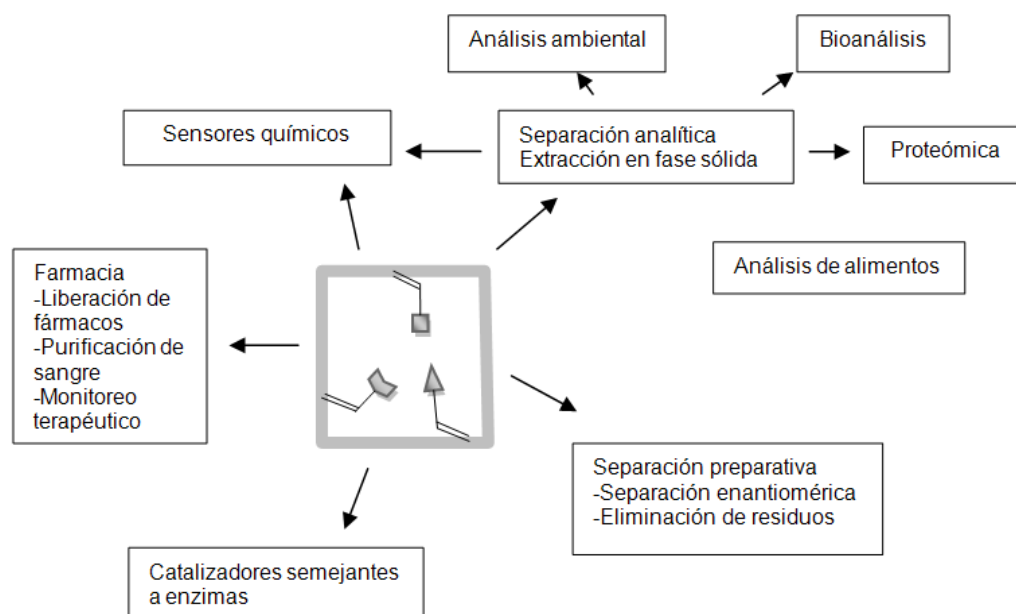


Figura 8. Principales usos de los polímeros de impresión molecular.⁽⁵⁷⁾

que interacciona de diferentes maneras con los monómeros que se entrecruzarán por medio de una molécula entrecruzadora formando el polímero una vez que el iniciador haya comenzado la polimerización, esta reacción ocurre en el disolvente conocido como porógeno. Las condiciones de polimerización fotoquímica o térmica, dependerán de las propiedades de la molécula molde, así como la elección del disolvente, y los monómeros a utilizar.⁽⁵⁶⁾

Un ejemplo de la síntesis de MIP en el área de extracción encontramos la investigación hecha por Liu, en la cual sintetizó sobre NPM de magnetita un polímero hecho con los monómeros: metacrilamida y EGDMA; utilizando ácido

2,4 diclorofenoxiacético como molécula molde, pues es un herbicida tóxico. El propósito de fabricación de estas nanopartículas fue crear el MIP para remover del agua potable este tipo de contaminante, encontrando que adsorbía hasta 80 nmol/ mg nanopartículas, que podrían ser reutilizadas hasta 5 veces y que efectivamente eran específicas para la molécula molde.⁽⁵⁸⁾

Es de vital importancia el reconocer que los MIP pueden ser una plataforma polimérica, la cual se puede construir sobre nanopartículas de carácter magnético en el caso de este trabajo la magnetita, funcionando así como SLF. Ejemplo de ello lo encontramos en diversos trabajos informados en la literatura, dentro de los que destaca el hecho por Alvarez, en este se fabrican NPM cubiertas con poli-(hidroxietil metacrilato) mediante la técnica de impresión molecular térmica utilizando norfloxacin como molécula molde, encontrando que la liberación del fármaco se lleva a cabo durante 24 horas y que el SLF obtenido en comparación con el blanco preparado adsorbe hasta 300 veces más de fármaco.⁽⁵⁹⁾

Ahora bien, si unimos las nanopartículas con algún MIP, hecho por ejemplo de acrilatos, será importante evaluar la cinética de liberación, así como caracterizarlas por diferentes técnicas.

1.7. Modelos de cinética de liberación de fármacos

Como ya se mencionó anteriormente los polímeros pueden funcionar como SLF esto incluye a los MIPs, que aunque muy poco estudiados en este sentido, han demostrado que pueden funcionar. Por lo tanto es importante conocer el mecanismo por el cual se lleva a cabo la liberación de fármacos. Para dicho estudio se han buscado modelos para conocer cómo se lleva a cabo el transporte del fármaco desde la matriz hacia el exterior, en nuestro caso de las nanopartículas recubiertas con un polímero de impresión molecular. A continuación se presentan diversos modelos para evaluar la cinética de liberación de fármacos:

- **Modelo de orden cero.** Este modelo asume que la superficie de la matriz permanece constante y que el fármaco comienza a disolverse en la interfase sólido-líquido formando una capa fina de difusión alrededor de la matriz, acto seguido se forma una capa saturada en la interfase, este modelo se representa como:

$$f_t = k_0 t \quad (\text{Ec. 7})$$

Donde k_0 es la constante de proporcionalidad, t es tiempo y f_t es la fracción de fármaco disuelto (representada también como M_t/M_∞), al construir la gráfica, la fracción de fármaco disuelto versus tiempo, se obtiene una línea recta sí, y solo sí, se cumplen las condiciones ya mencionadas.⁽¹⁴⁾

- **Modelo del 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:

$$\frac{dc}{dt} = k(C_s - C) \quad (\text{Ec. 8})$$

Donde dc/dt es la variación de concentración del soluto por unidad de tiempo, k es una constante de velocidad dependiente de las condiciones experimentales, C_s es la concentración de saturación del soluto en el medio de disolución y C es la concentración del soluto en el tiempo t . Esta ecuación plantea que la disolución se lleva en dos fases: disolución del sólido en la interface sólido-líquido formando una capa saturada del soluto, seguido de un paso lento limitado por la velocidad de disolución del sólido.⁽¹⁴⁾

- **Modelo Korsmeyer-Peppas.** Este modelo relaciona la liberación del fármaco exponencialmente conforme transcurre el tiempo.

$$f_t = k t^n \text{ (Ec. 9)}$$

Siendo f_t la fracción de fármaco al tiempo t , k es la constante que relaciona la estructura y las características geométricas de la dosificación del fármaco, n es el exponente de la liberación, indicando de acuerdo al valor numérico que tome, cual es el mecanismo de liberación que ocurre. Los valores que puede tomar son $n=0.5$ cuando el mecanismo sigue una difusión de Fick, $n<1.0$ el tipo de transporte es anómalo, $n=1.0$ el mecanismo es conocido como caso II y se refiere al transporte desde una matriz que se hincha, también existen valores de $n<0.5$ en los que existe una liberación por la presencia de poros, acompañada de la liberación por hinchamiento.⁽⁵⁶⁾

- **Modelo Peppas-Sahlin.** Este modelo es utilizado cuando se desea investigar si el mecanismo se está llevando a cabo por hinchamiento, sobre todo cuando el coeficiente de difusión del fármaco es pequeño.

$$f_t = k_1^n + k_2^{2n} \text{ (Ec. 10)}$$

El primer sumando corresponde a la difusión y el segundo a la relajación del polímero y se consideran fenómenos aditivos. El exponente n corresponde al tipo de difusión tomando valores similares a los de $n=0.5$ difusión tipo Fick, $n<1.0$ difusión anómala, $n=1.0$ caso II, k_1 es la constante correspondiente a la difusión y k_2 corresponde a la relajación polimérica y f_t es la fracción de fármaco al tiempo t .

El mecanismo de liberación se inicia cuando se forma el coloide pues el polímero entra en contacto con el medio disolvente y, las cadenas poliméricas se separan dando lugar a un aumento en el área de contacto entre las fases lo que aumenta la movilidad del fármaco.⁽¹⁴⁾

- **Modelo Peppas-Fassih.** Con este modelo podemos investigar si la liberación desde una matriz polimérica tiene un efecto estallido (burst), es decir, que la liberación sea inicialmente rápida y conforme pase el tiempo, esta disminuya y se vuelva constante.

$$f_t = at^n + b \text{ (Ec. 11)}$$

Donde el parámetro de estallido es representado por la magnitud b , cuando se carece de dicho efecto el valor de b es cero, a es el

coeficiente de difusión, n representa el tipo de difusión tomando los valores $n=0.5$ cuando es difusión tipo Fick, $n<0.1$ si es anómala y $n=0.1$ si es caso II, f_i es la fracción de fármaco.⁽⁵⁶⁾

1.8. Caracterización de nanopartículas

La caracterización de nanopartículas es fundamental, pues sin ellas no se conocería su tamaño y resultaría imposible afirmar que son nanopartículas, cuando no se tiene esa información o en el caso de éste trabajo no sería correcto afirmar que existe magnetita en el núcleo de la partícula sin realizar un análisis que compruebe esto. Debido a lo anterior, a continuación se describen las técnicas más utilizadas para caracterizar nanopartículas.

1.8.1. Dispersión dinámica de luz (DLS)

También conocida como espectroscopia de fotón correlación, mide el movimiento Browniano y lo relaciona con el tamaño de la partícula. Esto se hace mediante la iluminación de las partículas con un láser y el análisis de las fluctuaciones de la intensidad de luz dispersada.

Si una pequeña partícula es iluminada por una luz por ejemplo con un láser, ésta disparará la luz en todas direcciones.

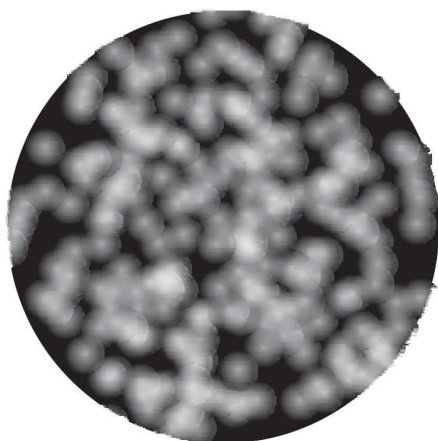


Figura 9. Esquema moteado, donde se muestran áreas con luz y zonas oscuras donde la luz no es detectada.⁽⁶⁰⁾

Si la pantalla se mantiene cerca de la partícula, será iluminada por la luz dispersada. Lo cual ocurriría con miles de partículas inmóviles. Las zonas oscuras e iluminadas en la Figura 9, son debidas a la propagación de las ondas de luz dispersadas por las partículas (Figura 10). El brillo de las áreas está donde la luz dispersada por las partículas llega a la pantalla con la misma fase e interfieren constructivamente para formar un parche brillante. Las áreas oscuras son donde las adiciones de fases son mutuamente destructivas y se cancelan unas con otras. En este

ejemplo las partículas se mantienen inmóviles y el patrón de la Figura 9, será el mismo tanto para tamaño como para posición.

En la práctica, las partículas suspendidas en un líquido nunca son estacionarias, se encuentran en constante movimiento Browniano. El movimiento Browniano es el movimiento de partículas debido a la colisión aleatoria con las moléculas de líquido que rodea la partícula. Una característica de dicho movimiento para DLS es que las partículas pequeñas se mueven, rápidamente y las partículas grandes lentamente. Esta relación entre el tamaño de partícula y la velocidad del movimiento Browniano es definida en la ecuación de Stokes. Einstein.

Como todas las partículas están en constante movimiento el esquema moteado, ilustrado en la Figura 12, también aparecerá movido, por lo que las fases destructivas y constructivas se sumarán, lo cual hará que la intensidad disminuya en algunas regiones y en otras aumente, es decir la intensidad

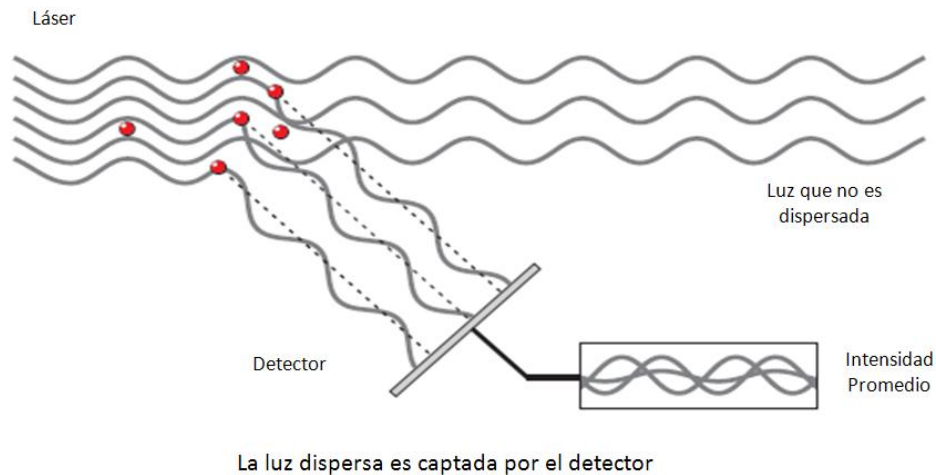


Figura 10. Esquema en el que se representa la dispersión de la luz a partir de la iluminación de un láser.⁽⁶⁰⁾

fluctuará. El equipo usado mide el rango de fluctuación de intensidad y lo usa para calcular el tamaño de partículas.⁽⁶⁰⁾

1.8.2. Potencial Z y Velocimetría Láser-Doppler (LDV)

La carga neta en la superficie de la partícula afecta a la distribución de los iones en la región circundante interfacial, resultando en un aumento de la concentración de contra-iones (iones de carga opuesta a la de la partícula) cerca de la superficie. Entonces existe una doble capa eléctrica alrededor de cada partícula.

La capa de líquido que rodea la partícula existe en forma de dos partes; una región interior, llamada la capa de Stern, donde los iones están fuertemente ligados y un exterior, región difusa, donde son menos fuertes. En la capa difusa hay un límite teórico dentro del cual los iones y partículas forman una entidad estable. Cuando una partícula se mueve (por ejemplo, debido a la gravedad), los iones dentro de la frontera se mueven con él, pero los iones más allá de la frontera no viajan con la partícula. Este límite se llama la superficie de cizallamiento hidrodinámico o plano de deslizamiento, la diferencia de potencial eléctrico en este límite es conocido como el potencial Zeta y se ilustra en la Figura 11.

La magnitud del potencial Z se puede correlacionar de forma muy certera con la estabilidad de un sistema coloidal. Si todas las partículas en suspensión tienen elevado potencial Z negativo o positivo las partículas se repelen y el sistema no floculará, por el contrario si es pequeño el potencial Z el sistema floculará. Generalmente se toma como valores por arriba de 30 mV o por debajo de -30 mV para que una suspensión sea estable en el tiempo.

Uno de los factores más importantes que influyen en el potencial zeta es el pH, en la Figura 12 se muestra una curva pH versus potencial Z, el punto de intersección donde el potencial es cero, es llamado punto isoeléctrico y es muy importante, debido a que es el pH donde es menos estable el sistema coloidal.

Una consecuencia significativa de la existencia de cargas eléctricas en la superficie de las partículas es que presentan ciertos efectos al aplicar un campo eléctrico. Esos efectos son colectivamente definidos como efectos electrocinéticos y son distintos dependiendo la manera en la que el movimiento sea inducido. Los cuales son:

- **Electroforesis:** El movimiento de partículas relativas al líquido en el que están suspendidas bajo la influencia de un campo eléctrico aplicado
- **Electroósmosis:** El movimiento de un líquido relativo a la superficie de carga estacionaria bajo la influencia de un campo eléctrico.
- **Potencial de corriente:** el campo eléctrico generado cuando un líquido es forzado a fluir a una superficie estacionaria cargada.
- **Potencial de sedimentación:** El campo eléctrico generado cuando partículas cargadas se mueven relativas a un líquido estacionario.

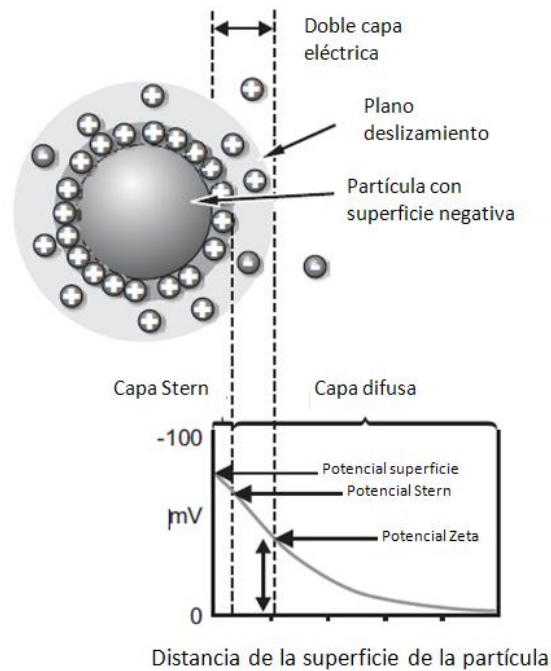


Figura 11. Representación de una partícula, los iones que la rodean y el potencial Z.⁽⁶⁰⁾

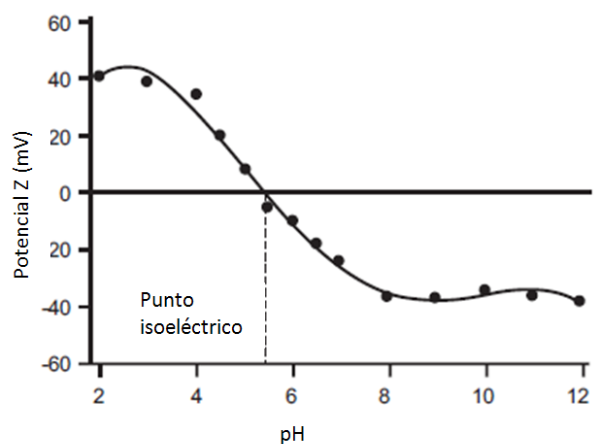


Figura 12. Curva pH versus potencial Z, donde se aprecia el punto isoeléctrico de una partícula.⁽⁶⁰⁾

Para la técnica LDV la electroforesis es importante y ocurre cuando un campo eléctrico es aplicado a través de un electrolito, las partículas cargadas suspendidas son atraídas hacia el electrodo de carga opuesta. Sin embargo, la viscosidad se opone a este movimiento, cuando se llega al equilibrio las partículas se mueven a velocidad constante. Ésta depende de: fuerza de campo eléctrico (gradiente de voltaje), constante dieléctrica del medio, viscosidad y potencial Z.

La velocidad de una partícula en un campo eléctrico es comúnmente referida a la movilidad electroforética. Aplicando la ecuación de Henry se tiene que:

$$U_E = \frac{2 \varepsilon Z f(ka)}{3\eta} \quad (\text{Ec. 11})$$

Donde; Z es el potencial Z, U_E = movilidad electroforética, ε = constante dieléctrica, η = viscosidad, $f(ka)$ Función de Henry (dos valores son generalmente utilizados como aproximaciones: 1.5 ó 1.0)

Las determinaciones de potencial Z son comúnmente realizadas en medio acuoso y con una concentración moderada de electrolito, $f(ka)$ en este caso es 1.5 y es referido a la aproximación de Smoluchowski, por lo que el cálculo a partir de la movilidad resulta sencillo.

Utilizando la técnica LDV es posible conocer la movilidad electroforética y por lo tanto el potencial Z. Dicha técnica consiste en medir la velocidad de las partículas en un fluido (Figura 13). La óptica de recepción está centrada con el fin de transmitir la dispersión de luz de las partículas. La luz dispersada a un ángulo de 17° se combinada con el haz de referencia. Esto produce una señal de intensidad fluctuante donde el índice de fluctuación

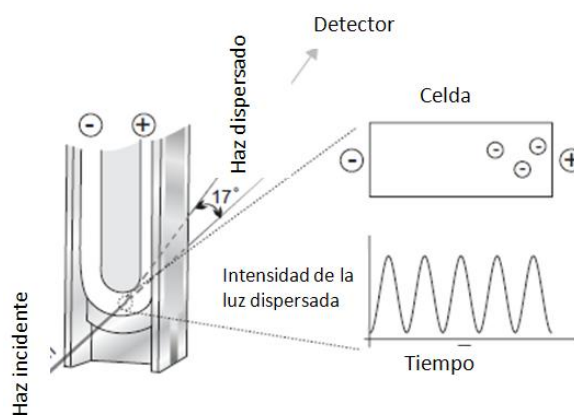


Figura 13. Representación de la medición de potencial Z por LDV.⁽⁶⁰⁾

es proporcional a la velocidad de las partículas. Un procesador de señal digital se utiliza para extraer las frecuencias características de la luz dispersada

Un refinamiento del sistema implica una modulación de los haces de láser con un espejo oscilante. Esto da una medida clara de la señal del potencial zeta. Un segundo beneficio del modulador es que las partículas de baja o cero movilidad dan una señal igualmente buena, por lo que la medición es exacta para las partículas con una alta movilidad. Esta técnica garantiza un resultado preciso en cuestión de segundos, posiblemente con millones de partículas observadas.⁽⁶⁰⁾

1.8.3. Microscopia electrónica de transmisión (TEM)

En muchos sentidos, el microscopio electrónico (ME) ofrece una solución ideal a los problemas que presentan los microscopios ópticos ($\lambda \sim 0.5 \mu\text{m}$) que

no pueden obtener resolución atómica ya que la longitud de onda de la radiación incidente es demasiado grande. Con el ME se pueden obtener electrones acelerados con λ asociada bastante menor de 1 Å, y por tanto se puede obtener, al menos teóricamente, resolución atómica. Con las lentes adecuadas se puede transformar los electrones difractados en la imagen real. Además de usarse para difracción e imagen, el ME tiene otros usos

Los electrones en el ME se generan por efecto termo-iónico en un filamento (cátodo) que es generalmente wolframio, y se monocromatizan acelerándolos a través de un potencial (E) en un sistema sometido a vacío. Para un voltaje de 100 kV, la longitud de onda asociada a los electrones es 0.037 Å (0.01 Å para 1 MV).

Los electrones difractados al pasar a través de la muestra generan un difractograma que puede ser transformado directamente en imagen mediante lentes magnéticas que es la proyección de la estructura cristalina a lo largo de la dirección de los electrones.

El poder de resolución depende de la longitud de onda y de la calidad de las lentes del objetivo (la que producen la primera imagen) siendo $d_{\min} \propto Cs^{1/3} \lambda^{2/3}$, donde Cs es el coeficiente de aberración esférica de las lentes del objetivo. En las mejores condiciones con aparatos buenos se puede obtener una resolución de aproximadamente 1.5 Å.

Las imágenes se pueden producir a partir de los electrones difractados (imágenes de campo oscuro) o a partir de los electrones directos que han atravesado la muestra sin interacción (imágenes de campo claro/brillante). Hay que tener en cuenta el espesor de la muestra y de las condiciones de focalización. Microcristales muy delgados son los ideales (espesor < 500 Å) y se deben tomar varias fotos con diferentes condiciones de focalización. Las imágenes se pueden comparar con las generadas/calculadas a partir de una estructura modelo y de unas condiciones de focalización determinadas. La imagen viene dominada por la presencia de átomos pesados ya que el factor de dispersión de los electrones varía mucho con el número atómico. También es importante recordar que la imagen que se graba es la proyección de la estructura a lo largo de la dirección del haz lo que conlleva problemas a la hora de la interpretación de las imágenes. No hay una forma directa de reconstruir la estructura tridimensional de un material a partir de una proyección determinada a lo largo de un eje.⁽⁶¹⁾

1.8.4. Espectroscopia infrarroja

La espectroscopia de infrarrojo se basa en la absorción cuantizada de radiación electromagnética en el intervalo comprendido entre 10000 a 100 cm^{-1} . El espectro de vibración es obtenido como bandas y no como líneas discretas, debido a los múltiples cambios en energía rotacional que acompañan un cambio en la energía vibracional de las moléculas. Las bandas vibracionales-rotacionales que se dan entre 4000 y 400 cm^{-1} son las más empleadas en la caracterización de las mayoría de las sustancias. Las posiciones de las bandas en los espectros infrarrojos están dadas como números de onda (n), con unidades de cm^{-1} o como longitudes de onda (λ), en unidades de micrómetros (μm). La frecuencia (aunque no es el término estrictamente adecuado)

dependerá de las masas relativas de los átomos que participan del enlace de interés, de la constante de fuerza de los enlaces y del arreglo espacial de los átomos

Hay varios tipos de vibraciones moleculares, Las vibraciones más características son las vibraciones de tensión simétrica y asimétrica que comprenden un movimiento rítmico alrededor del eje de un enlace entre dos núcleos, de tal manera que la distancia interatómica se incremente o disminuya. Las vibraciones de flexión son un cambio en el ángulo de enlace entre las uniones de átomos enlazados a un átomo común o el movimiento de un grupo de átomos con respecto al resto de la molécula, sin que haya movimiento de los átomos que conforman el grupo.

Para ilustrar los tipos de vibraciones más frecuentes se consideran las vibraciones fundamentales para una molécula lineal, el CO₂, la cual está conformada por tres átomos (Figura 14).

El espectro vibracional de una molécula es considerado una característica física única de las sustancias. Por esto, el espectro de infrarrojo puede ser tratado como una huella dactilar y usarse en la identificación de los compuestos por comparación del espectro de una muestra desconocida con espectros de referencia encontrados en bases de datos.

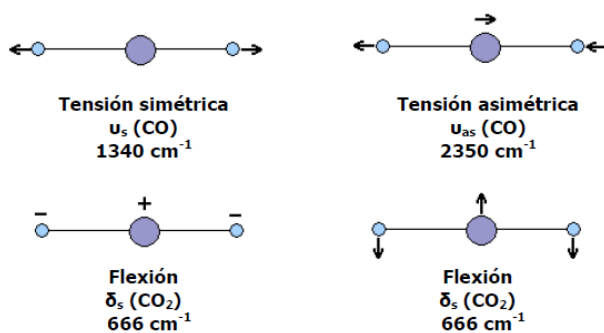


Figura 14. Modos vibracionales para la molécula de CO₂.⁽⁴³⁾

La espectroscopia IR es utilizada ampliamente en la determinación estructural de compuestos orgánicos. En menor medida es utilizada para determinar compuestos inorgánicos.⁽⁴³⁾

1.8.5. Difracción de rayos X

La difracción de Rayos X es una técnica de caracterización ampliamente empleada en la dilucidación estructural de sustancias orgánicas e inorgánicas con alto grado de simetría. Debido a que los patrones de difracción son característicos para cada sustancia según la naturaleza tridimensional de los cristales y los átomos constituyentes, la técnica puede usarse comparativamente.⁽⁴³⁾

Todos los átomos de un cristal dispersan los rayos X incidentes en todas direcciones. Como incluso los cristales más pequeños contienen un gran número de átomos, la probabilidad de que las ondas dispersas se interfirieran constructivamente sería muy pequeña si no existiera el hecho de que los átomos de los cristales están ordenados en forma regular y repetitiva. La condición para la difracción de un haz de rayos X en un cristal viene determinada por la expresión de Bragg (Figura 15), en la que se relaciona la longitud de onda del haz de rayos X, el ángulo de difracción θ y la distancia

entre cada serie de planos atómicos de la red cristalina d , según $m\lambda=2*d*\text{sen}\theta$, donde m representa el orden de difracción.

Los átomos situados exactamente en los planos del cristal contribuyen en forma máxima a la intensidad del haz difractado; los que están a la mitad de la distancia entre planos causan una interferencia destructiva máxima y los de posición intermedia interfieren constructiva o destructivamente dependiendo de su posición exacta, pero sin llegar a producir un efecto máximo. Además, el poder de dispersión de un átomo con respecto a los rayos X depende de su número de electrones, por lo tanto, la posición de los haces difractados por un cristal sólo depende del tamaño y de la forma de la unidad repetitiva de un cristal y de la longitud de onda del haz de rayos X incidente, mientras que las intensidades de los haces difractados dependen también del tipo de átomos en el cristal y de la posición de los mismos en la unidad repetitiva o celdilla unidad.⁽⁶²⁾

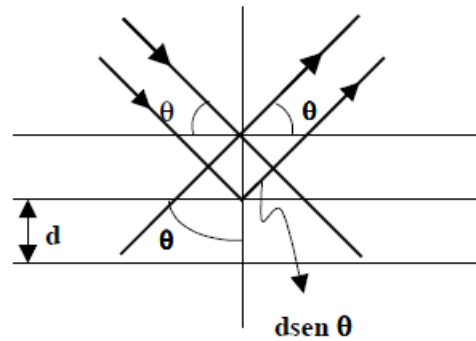


Figura 15. Representación de la Ley de Bragg.⁽⁴³⁾

Con base a lo anterior, no existen dos sustancias que tengan exactamente el mismo modelo de difracción, si se toma en cuenta tanto la dirección como la intensidad de todos los rayos difractados; sin embargo, algunos compuestos orgánicos complejos de tipo similar producen modelos muy parecidos. Esto quiere decir que el modelo de difracción es una "huella dactilar" de un compuesto cristalino que permite identificar de modo individual los componentes cristalinos de una mezcla.⁽⁴³⁾

El método del polvo encuentra su aplicación principal en mineralogía como una técnica de identificación, pudiendo utilizarse en este caso sin conocimiento alguno de la estructura o simetría del cristal. Cada sustancia cristalina da lugar a su propio diagrama de polvo, siendo característico de cada una al depender de su estructura interna. Para facilitar esta comparación e identificación, se recurre a la ayuda de las fichas de datos de difracción de rayos X preparadas por la ASTM, en las que se registran los espaciados reticulares de miles de sustancias cristalinas uno de ellos y de gran valor para este trabajo es el de la magnetita.⁽⁶²⁾

En la Figura 16 se muestra el espectro de rayos X característico de la magnetita, con radiación $\text{CoK}\alpha$. En el rango de 2θ variando entre 20° y 80° se observan los picos propios de la magnetita.

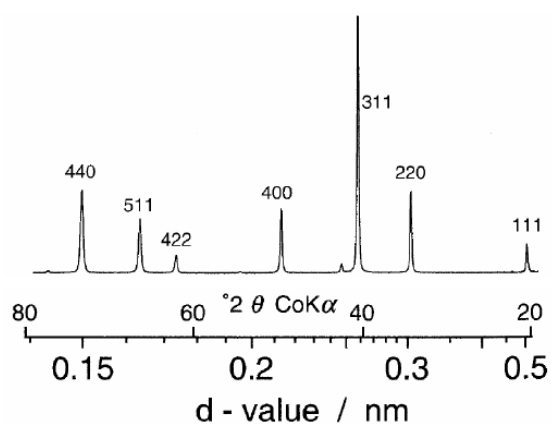


Figura 16. Espectro característico de difracción de rayos X para una magnetita de alta pureza.⁽²⁴⁾

2. Planteamiento del problema.

El cáncer uno de los principales males de la humanidad ha sido ampliamente estudiado y se han diseñado diversas estrategias para combatirlo. Muchas de ellas son, por demás decirlo, agresivas para el paciente: pérdida de cabello, daño a células sanas, el deterioro del sistema inmune, y desde luego los problemas psicológicos que esta enfermedad conlleva. Actualmente encontramos una rica variedad de tratamientos como los son la radioterapia, la quimioterapia y la hipertermia.^(1, 2)

La quimioterapia ofrece fármacos potentes como la doxorubicina, sin embargo es altamente cardiotoxica.^(10, 12) Un tratamiento alternativo conocido como hipertermia es muy interesante, pues es posible debido al superparamagnetismo presente en las nanopartículas de magnetita,^(21, 48) pues al utilizar un campo electromagnético alterno, la temperatura puede elevarse hasta en 12 °C y además tiende a aglomerarse alrededor de las células por lo que se ha demostrado que el daño a otras células es mínimo y gracias esta propiedad magnética es posible localizar el tratamiento.^(45, 51)

Una manera de integrar ambos tratamientos es mediante la impresión molecular, pues se ha observado que estos polímeros pueden hacer que la liberación se lleve a cabo de manera modificada y además sí se sintetiza el MIP sobre la nanopartícula ésta puede conservar sus propiedades superparamagnéticas.^(57, 59)

Por todo lo anterior mencionado en este trabajo se pretende sintetizar y caracterizar nanopartículas de carácter magnético funcionalizadas con tetraetil ortosilicato y recubrirlas con acrilatos mediante impresión molecular utilizando doxorubicina como plantilla, para que de esta manera logremos conseguir un sistema de liberación modificada, que dirija el tratamiento y produzca hipertemia debido al superparamagnetismo intrínseco, no sin antes haberlas estudiado de manera *in vitro* e *in vivo* en futuras investigaciones.

3. Objetivo general.

Sintetizar y caracterizar nanopartículas magnéticas funcionalizadas con tetraetil ortosilicato y recubiertas de acrilatos por la técnica de impresión molecular utilizando doxorrubicina como plantilla, para obtener un sistema de liberación modificada que sea capaz de dirigir el tratamiento.

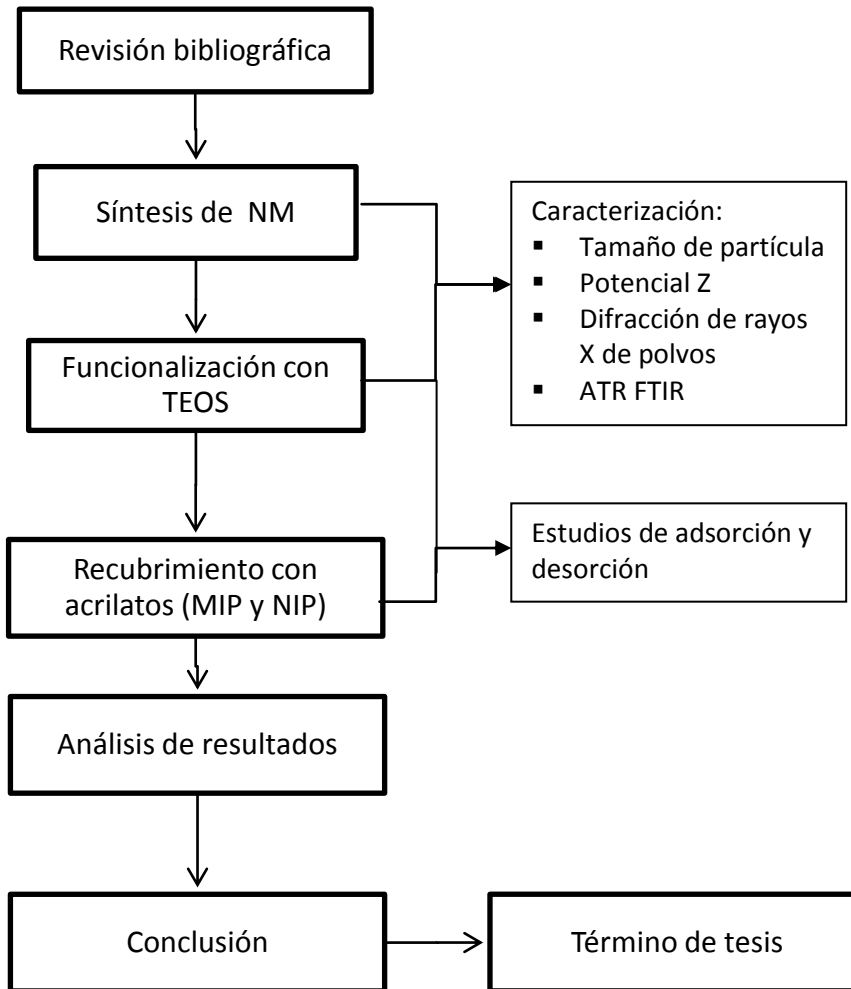
3.1. Objetivos particulares

- Sintetizar nanopartículas magnéticas (NM) empleando el método de coprecipitación.
- Funcionalizar con tetraetil ortosilicato (TEOS) las NM por hidrólisis.
- Recubrir las nanopartículas funcionalizadas con acrilatos molecularmente impresos con doxorrubicina.
- Caracterizar todas las nanopartículas magnéticas preparadas y funcionalizadas, a través de dispersión dinámica de luz (DLS), difracción de rayos X de polvos, potencial Z, ATR FTIR, TEM.
- Realizar estudios de adsorción y desorción de todas las nanopartículas obtenidas.

4. Hipótesis de trabajo.

Será posible preparar nanopartículas magnéticas cubiertas con acrilatos que contengan doxorubicina, dando una forma farmacéutica que reúne las características: como depósito selectivo de fármaco, magnetismo, y tamaño nanométrico; se espera puedan ser dirigidas magnéticamente y se comporten como sistemas de liberación modificada.

5. Desarrollo experimental



6. Materiales y métodos

6.1. Materiales

Todos los reactivos fueron de grado reactivo analítico y se usaron sin ninguna purificación. $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, tetraetil ortosilicato (TEOS), etilenglicol dimetacrilato (EGDMA), alcohol alílico, ácido metacrílico fueron comprados en Aldrich Co, NH_4OH fue marca EM Industries Inc., HNO_3 se usó marca JTBacker S.A. de C.V., azobisisobutironitrilo (AIBN) donado de Akzonobel, doxorubicina de Merck, Etanol 98.75% , acetonitrilo de PROQUIFIN y el agua desionizada se obtuvo a partir del equipo Nanopure Diamond.

6.2. Métodos

6.2.1. Síntesis de nanopartículas magnéticas de magnetita (NM)

En un matraz Erlenmeyer, se colocaron 1.081 g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0.02 moles de Fe^{3+}) y, 0.397 g de $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0.04 moles de Fe^{2+}) en 25 mL de agua desionizada, agitando magnéticamente a 1000 rpm y 25 °C se adicionaron 12 mL de NH_4OH 2M se mantuvo la agitación durante 5 minutos. Pasado este tiempo se decantó el sobrenadante, mediante una separación magnética con imanes de Neodimio de 14000 Gauss, el precipitado se lavó con 20 mL de agua, posteriormente se adicionaron 20 mL de HNO_3 1M agitando en las mismas condiciones por 10 minutos. La concentración de nanopartículas y la eliminación de HNO_3 , se llevó a cabo por filtración tangencial en el equipo Labscale TFF Systems, utilizando membranas Pellicon PLCGC10 marca Millipore de 10 kDa, equivalentes a un tamaño de partícula de 6 nm. Una vez concluido lo anterior se liofilizaron las NM en el equipo Labconco Free Zone Triad, para el secado primario la muestra se llevó a una temperatura de -45 °C con una presión de 0.05 mmHg, se incrementó la temperatura 1 grado cada 10 minutos hasta -35 °C y así se mantuvo por 24 h para realizar el secado secundario, pasado este tiempo la temperatura se volvió a incrementar 10 grados cada hora hasta llegar a 25 °C.

6.2.2. Efecto de la cantidad de HNO_3 en la síntesis de NM

Durante la síntesis de nanopartículas se observó que el tamaño de partícula se veía afectado con respecto a la cantidad de ácido nítrico por lo que se llevó a cabo un estudio en el que se prepararon 3 muestras: la primera siguiendo el método de síntesis de NM antes descrito con 20 mL de HNO_3 1M (muestra I), la segunda con 40 mL (muestra II), y la tercera con 60 mL (muestra III) a estas se les determinó tamaño de partícula y potencial Z en el equipo nanoziser ZEN3600 preparando una suspensión 0.1 g/L de NM durante 3 días, además las suspensiones iniciales de cada muestra (IV, V y VI) se midieron en el mismo periodo para observar si presentaban algún cambio.

6.2.3. Funcionalización de nanopartículas magnéticas con TEOS (NMS)

Se colocaron 100 mg de nanopartículas magnéticas en un vial, se adicionaron 1.6 mL de NH_4OH al 28%, 1.3 mL de H_2O , y se llevaron a 20 mL de

etanol, se sonicó la mezcla por 30 minutos, se adicionaron 20 μ L de tetraetil ortosilicato (TEOS), se agitaron a 1000rpm/24h, pasado este tiempo se decantaron magnéticamente, se neutralizaron con HCl 0.1M, se lavaron 6 veces con 5 mL de etanol y se secaron en una parrilla a 60 °C.

6.2.4. Recubrimiento polimérico por Impresión Molecular utilizando doxorubicina como molécula molde (NMSPD)

Se colocaron 100 mg de NMS, se adicionan 5 mL de etanol en un matraz de dos bocas, se sonicaron por 15 minutos, se adicionan 20 μ L de ácido metacrílico, se llevaron a 20 mL con etanol, se agitaron magnéticamente por 2 horas. Pasado este tiempo se decantaron magnéticamente, se lavaron con etanol. Se resuspendieron en 5 mL de acetonitrilo, se sonicaron por una hora, se adicionaron 6 mL de alcohol alílico, 170 μ L de EGDMA, 10 mg de AIBN, 60 mg de doxorubicina, se purgó con N₂ durante 10 minutos, posteriormente se agitó la mezcla a 60 °C por 48 horas. Al finalizar se lavaron con acetonitrilo y se secaron a 50 °C. Una vez secas se procedió a remover la molécula molde utilizando una disolución 0.1M de NaOH, agregando 10 mL en un vial y 100 mg de NMSPD. Se agitó por 10 minutos, se separaron magnéticamente las partículas, se leyó la absorbancia en el espectrofotómetro a 495 nm, este procedimiento se realizó 10 veces hasta que ya no había presencia de doxorubicina, se enjuagaron con 10 mL de agua finalmente se secan a 50 °C a baja presión.

6.2.5. Recubrimiento polimérico por Impresión Molecular sin doxorubicina como molécula molde (NMSP)

Se colocaron 100 mg de NMS, se adicionaron 5 mL de etanol en un matraz de dos bocas, se sonicaron por 15 minutos, se adicionaron 20 μ L de ácido metacrílico, se llevaron a 20 mL con etanol, se agitó la mezcla magnéticamente por 2 horas. Pasado este tiempo se decantaron magnéticamente las nanopartículas, se lavaron con etanol. Se resuspendieron en 5 mL de acetonitrilo, se sonicaron por una hora, se adicionaron 6 mL de alcohol alílico, 170 μ L de EGDMA, 10 mg de AIBN, ésta mezcla se purgó con N₂ durante 10 minutos, posteriormente se agitó a 60 °C por 48 horas. Al finalizar se lavaron las NMSP con acetonitrilo 20 mL tres veces, se secaron a 50 °C a baja presión.

6.2.6. Caracterización

6.2.6.1. Morfología y tamaño de partícula

El estudio de morfología y tamaño de partícula se realizó mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM) a un voltaje de 200 kV, amplificación X200K (Modelo JEOL-2010), preparando una disolución en agua con una concentración 0.13 g/L de las NM, NMS, NMSP y NMSPD.

En el Nanoziser ZEN3600 se midió: potencial Zeta mediante la técnica velocimetría láser Doppler y tamaño de partícula mediante la técnica dispersión dinámica de luz preparando una disolución con una concentración 0.1 g de nanopartículas/L.

6.2.6.2 Difracción de rayos X de polvos

La identificación de magnetita se hizo por difracción de rayos X de polvos usando el equipo Siemens D5000 a $\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$ en una escala de 0.02° por segundo, colocando en un portamuestras una capa de polvo de 200 mg que contiene las partículas NM, NMS, NMSP y NMSPD, respectivamente.

6.2.6.3 Espectroscopia infrarroja

Se realizó IR con Transformadas de Fourier a las partículas obtenidas en los diferentes pasos de síntesis en el equipo Spectrum 400 de Perkin mediante la técnica ATR (reflancia total atenuada) utilizando las nanopartículas en polvo.

6.2.6.4. Estudios de adsorción

En un vial se adicionaron 10 mg de partículas, 10 mL de solución $3 \times 10^{-4} \text{ M}$ de doxorubicina, se agitaron magnéticamente a 400 rpm y 25°C . Para determinar la cantidad de fármaco adsorbida se separaron magnéticamente 2 mL de la mezcla, se centrifugaron por 30 minutos a 15000 rpm, se midió la absorbancia a 495 nm. Al terminar esto, se resuspendieron las nanopartículas centrifugadas y se regresó la muestra a la mezcla, el muestreo se realizó a diferentes intervalos de tiempo.

6.2.6.5. Estudios de desorción

En el estudio de desorción se utilizó como disolvente agua y buffer de fosfatos $\text{pH}=7.4$, a 25°C . Se colocaron 10 mg de partículas en un vial, se adicionaron 30 mL de disolvente. Para determinar la cantidad de fármaco desorbida se separó magnéticamente 2 mL de la mezcla, se centrifugaron por 30 minutos a 15000 rpm, se midió la absorbancia a 495 nm y se regresó la muestra a la mezcla, el muestreo se realizó a diferentes intervalos de tiempo.

7. Resultados y análisis

Se sintetizaron nanopartículas de magnetita utilizando el método de coprecipitación (Figura 17), que consistió en colocar sales de Fe^{2+} y Fe^{3+} disueltas en agua, en agitación magnética y al reaccionar con una base como el hidróxido de amonio precipitó magnetita, pasados 5 minutos se separaron magnéticamente, se adicionó HNO_3 1M agitando durante 10 minutos, posteriormente se eliminó el ácido utilizando un filtro tangencial, éste último paso se hizo debido a que se encontró que afecta el tamaño de partícula como se describe a continuación.

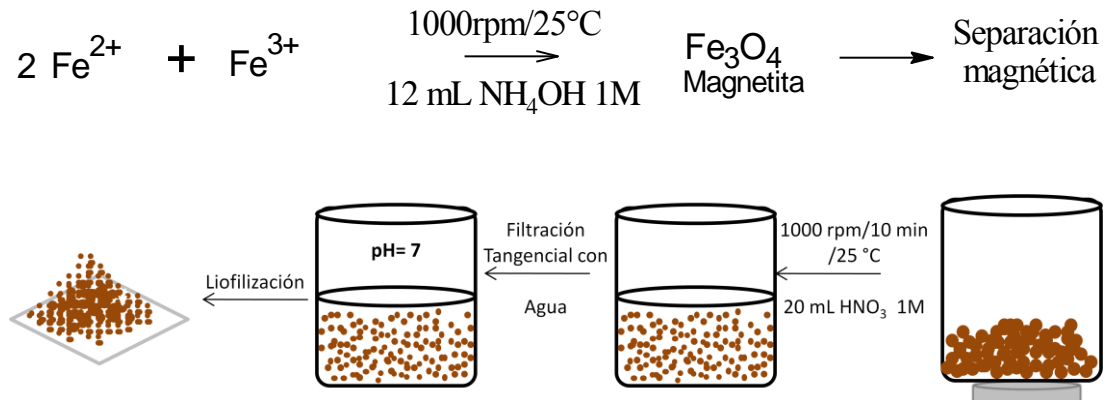
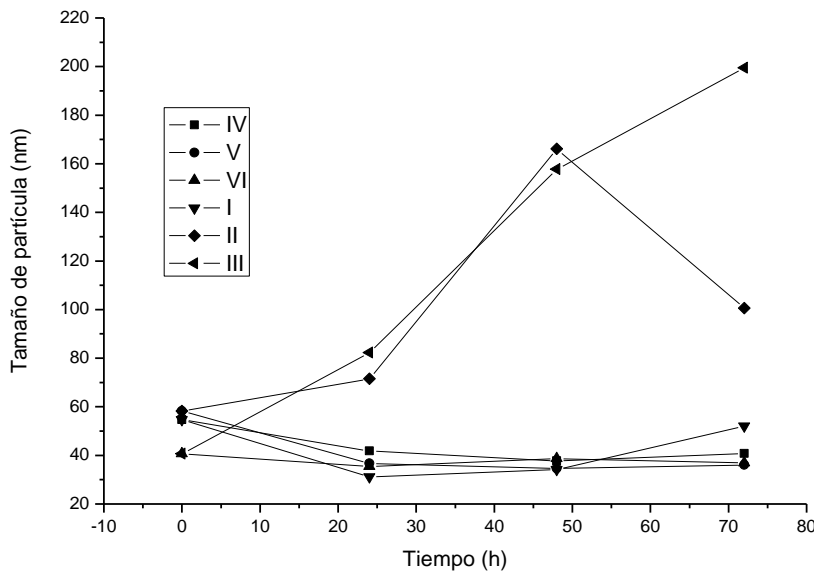


Figura 17. Esquema de la síntesis de NM

7.1. Efecto de la cantidad de HNO_3 en la síntesis de NM

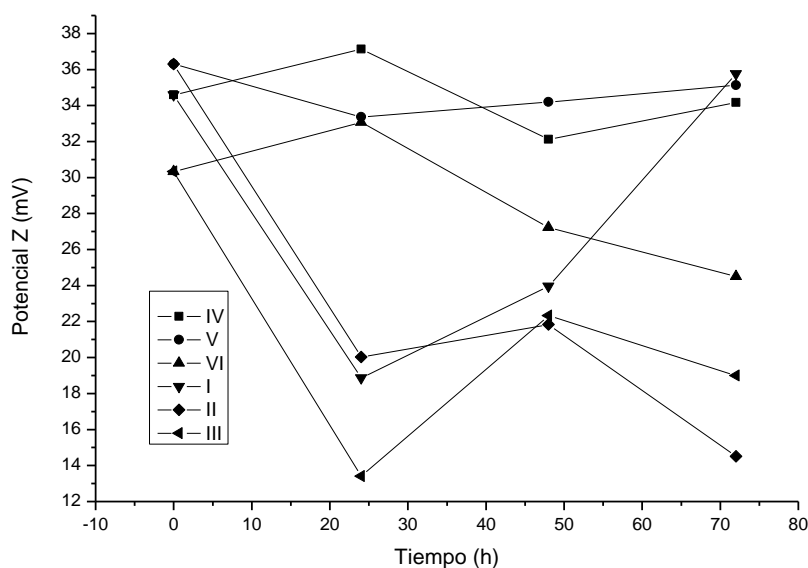
Durante la síntesis de NM se observó que el ácido nítrico afectaba el tamaño de partícula así pues se evaluó el tamaño y potencial zeta a seis



Gráfica 1. Efecto de la cantidad de HNO_3 en NM: variación de tamaño de partícula vs tiempo Resultados obtenidos del análisis DLS.

seis suspensiones dividiéndolas en dos grupos: tres de ellos (I, II y III) fueron las suspensiones preparadas con 20, 40 y 60 mL HNO_3 1M respectivamente; y el segundo grupo (IV, V y VI) fueron las suspensiones preparadas al tiempo 0 y fueron

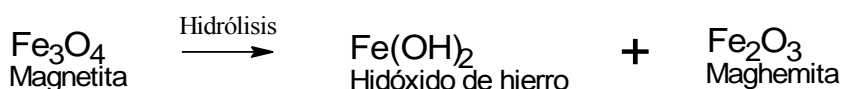
medidas hasta las 72 horas para observar si presentaban algún cambio. Los resultados encontrados demostraron que el tamaño de partícula, así como, el potencial Z se ven influenciados por la cantidad de ácido nítrico pues para el caso de las muestra II y III en comparación con el segundo grupo de suspensiones y con la muestra que tenía solamente 20 mL de HNO₃ 1M, el tamaño es mayor a los 100 nm conforme transcurre el tiempo (Grafica 1), esto concuerda con un estudio reportado por Baalousha, en el que se observó que cuando el pH es cercano a 2 por ejemplo en un medio con ácido húmico las nanopartículas tienden a aglomerarse, registrando así tamaños superiores a los 50 nm.⁽⁶³⁾ De la misma manera el potencial Z (Grafica 2) fue diferente en las suspensiones I, II, III comparadas con el segundo grupo (IV, V y VI), pues se observó que el potencial Z variaba desde los 36 mV hasta los 13 mV, lo que



Gráfica 2. Efecto de la cantidad de HNO₃ en NM: potencial Z vs tiempo. Resultados obtenidos del análisis LDV.

sugiere que dentro de la suspensión existe aglomeración y la posible floculación del sistema, confirmando esto con el estudio de microscopía electrónica de transmisión pues en las suspensiones con mayor cantidad de HNO₃ 1M (Figura 18) se observaron masas de

mayor tamaño lo que comprueba que existe aglomeración en comparación con las NM que tenían menor cantidad de ácido, las cuales se veían aglomeradas, sin embargo, no se observó esa masa grande superior a los 50 nm.⁽⁶³⁾ También hay que tener presente que los iones Fe²⁺ de la magnetita pueden hidrolizarse y este catión es susceptible al medio corrosivo, debido al ácido, dando lugar a nuevos compuestos como maghemita o hidróxidos de hierro que pueden dar lugar a nuevas partículas y de mayor tamaño, pues Zapata menciona que se ha demostrado que estos productos suelen ser encontrados en la herrumbre del acero causada por las condiciones atmosféricas corrosivas.⁽²⁴⁾ La hidrólisis es representada según la siguiente ecuación:



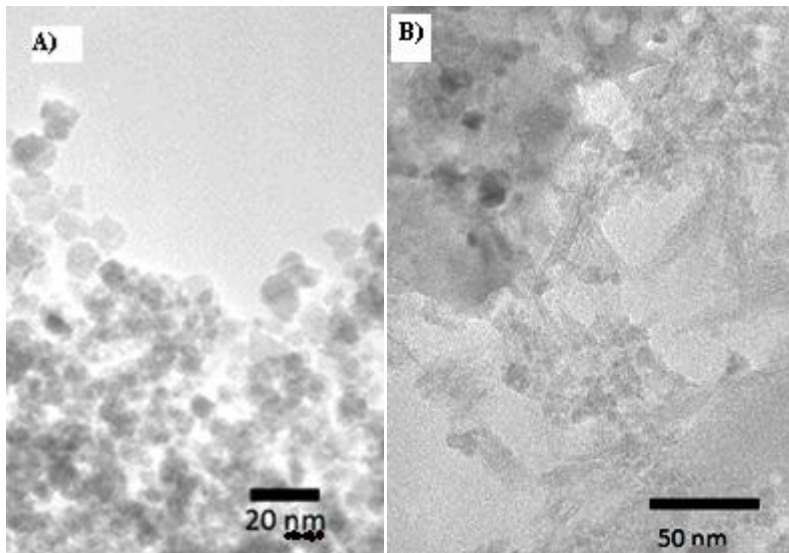


Figura 18. Micrografías obtenidas por Microscopía Electrónica de Transmisión de nanopartículas de óxido de hierro: A) dilución de la mezcla I (20 mL HNO₃ 1M); B) dilución de la mezcla III (60 mL HNO₃ 1M). Las dos imágenes obtenidas 3 días después de su preparación.

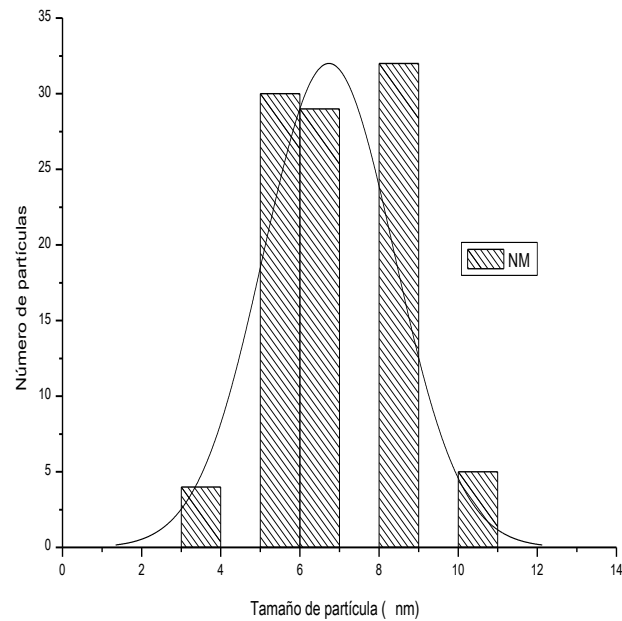
7.2. Síntesis de NM, NMS, NMSP y NMSPD

Una vez que se observó que afectaba el HNO_3 a las partículas se optó por remover el ácido mediante filtración tangencial durante 4 horas, adicionando agua hasta que se alcanzó un $\text{pH}=7$, de esta manera se prosiguió con la síntesis para obtener NMS, NMSP y NMSPD.

7.2.1. Síntesis y caracterización de NM

Una vez obtenido el ferrofluido en $\text{pH}=7$ se prosiguió a liofilizarlo como lo indica el esquema de la Figura 17. El método de liofilización utilizado fue descrito en la metodología y a partir del polvo de nanopartículas se les determinó el tamaño de partícula, potencial Zeta, difracción de rayos X y análisis IR.

Los resultados de TEM muestran que en promedio el tamaño de partícula (Gráfica 3) es de 6.7 nm para nanopartículas magnéticas (NM), y que presentan una morfología esférica (Figura 19), esto concuerda con trabajos ya reportados en los que obtienen partículas de 5 a 10 nanómetros^(29, 64) por el método de coprecipitación además sí se observa tanto



Gráfica 3. Distribución de tamaño de NM, obtenida a partir del análisis por TEM.

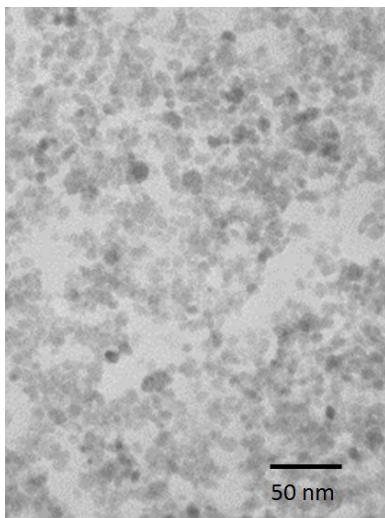
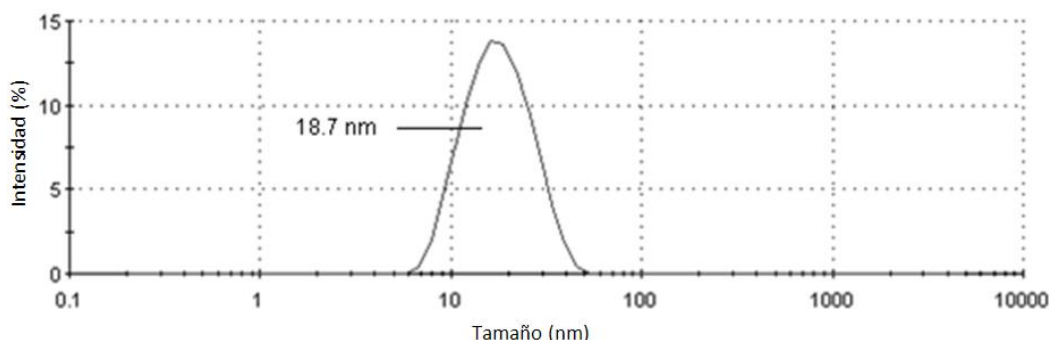


Figura 19. Micrografía obtenida por TEM de nanopartículas magnéticas.

el gráfico como la micrografía se nota que ciertamente existen algunas partículas que salen de este rango pero son pocas pues la desviación estándar es de 2.1, que nos dice que se encuentran en este intervalo de tamaño de partícula.

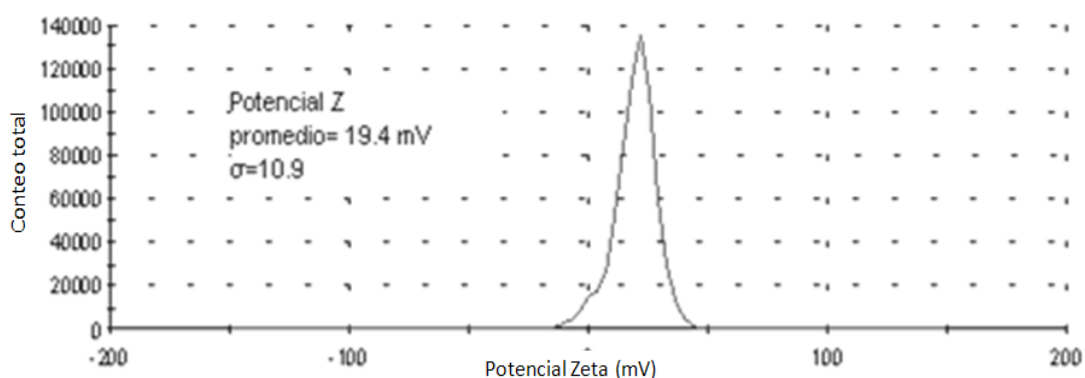
En contraste los resultados obtenidos por DLS (Gráfica 4) sugieren que el tamaño de partícula es de 18.7 nm lo cual, se puede explicar con el fenómeno de aglomeración que presentan⁽⁶³⁾ pues al no existir algún agente tensoactivo en la suspensión éstas tienden a flocular. En un trabajo realizado por Chastellain se recubrieron NM con alcohol polivinílico y observaron que cuando se tenía una proporción 1:1 se lograban estabilizar las nanopartículas y cuando se incrementaba esta concentración tendían a formar

aglomerados de hasta 22 nm medidos por espectroscopía de fotón correlación que es el fundamento del DLS, por lo que ciertamente cuando se agrega un surfactante como el PVA, éste modifica la estabilidad de sistemas dispersos y dado que no se adicionó surfactante se llegaron a estos resultados tanto en DLS.⁽⁶⁵⁾ Además el potencial zeta de 19.4 mV (Gráfica 5), ayudó a reforzar la



Gráfica 4. Distribución de tamaño de partícula de NM. Obtenida del análisis por DLS.

idea de que en este sistema las partículas tienden a flocular, cabe mencionar que la desviación estándar fue de 10.9 lo cual confirmó que hay una amplia distribución de partículas con respecto al potencial Z, además que existe la posibilidad de que haya aniones que contribuyan a esta dispersión, lo cual se

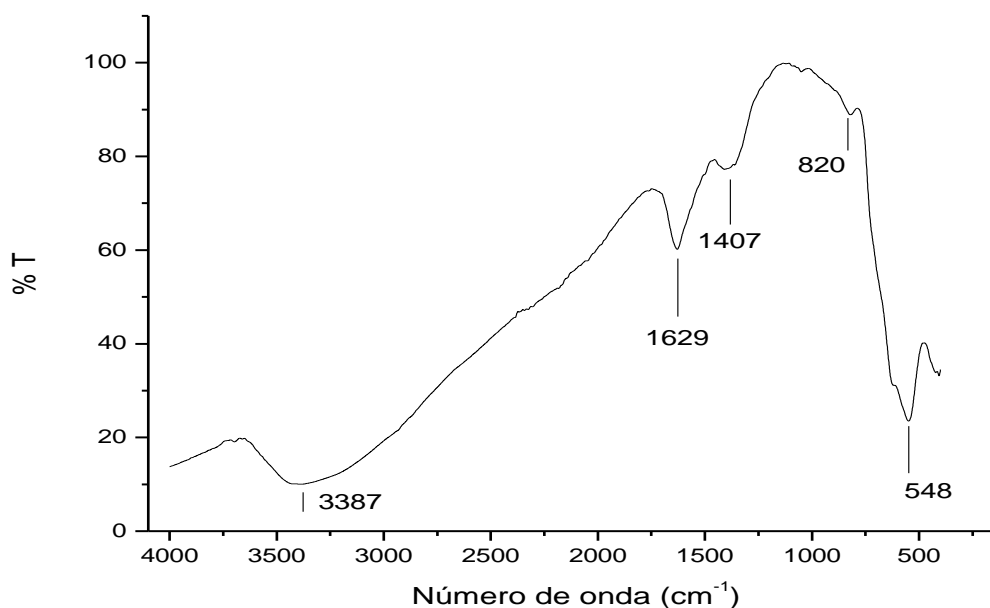


Gráfica 5. Distribución de Potencial Z de NM obtenido a partir del análisis LDV a pH=6.7.

comprobó en el análisis IR.

En el espectro IR (Gráfica 6) se pudo observar una banda a 548 cm^{-1} que concuerda con las vibraciones torsionales y de tensión para los enlaces Fe-O en un rango de $582\text{-}430\text{ cm}^{-1}$ para enlaces tetraédricos y octaédricos correspondientes a magnetita y maghemita,^(43, 66) la banda de 1629 cm^{-1} probablemente se deba a la vibración de flexión H-O-H, la banda de 1407 cm^{-1} corresponde a la vibración de deformación de O-H, la banda a los 3387 cm^{-1} se debe a la vibración de tensión de OH, en suma estas bandas corresponden a los grupos formados en la superficie de la magnetita, así como, la adsorción de moléculas de agua como lo demostró Urquijo en un análisis IR de magnetita,⁽⁴³⁾ probablemente la banda de 820 cm^{-1} sea debida a la presencia

de iones NO_3^- que hayan quedado adsorbidos contribuyendo a la dispersión que se presentó en el potencial Z.⁽⁶⁷⁾



Gráfica 6. Espectro ATR FTIR de NM

El difractograma de rayos X de polvos mostró picos en 2θ de 30.21° , 35.60° ,

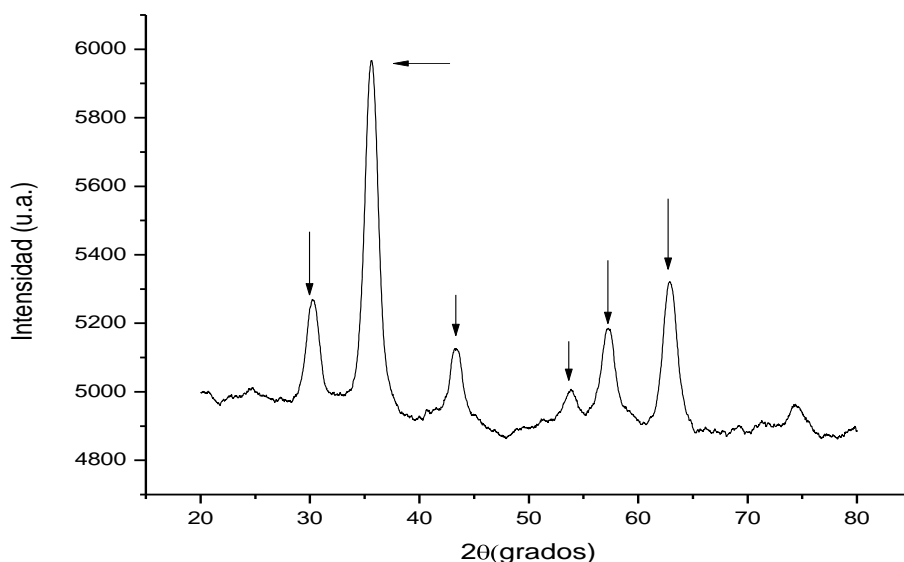


Gráfico 7. Difractograma de NM, obtenido a partir de difracción de rayos X de polvos.

43.25° , 53.83° , 57.25° y 62.89° , lo cual se asemeja al trabajo informado por Hu, en él se polimeriza un MIP sobre nanopartículas de magnetita funcionalizadas con silicatos sobre un soporte de carbón, para obtener un sensor de

bencilpenicilina, las reflexiones que se reportaron fueron: 30.58° , 35.56° , 43.32° , 53.75° , 57.36° y 62.77° ,⁽⁶⁸⁾ debido a lo anterior se sugiere que en el caso de este trabajo también se obtuvieron nanopartículas de magnetita

7.2.2. Síntesis y caracterización NMS

La síntesis de las nanopartículas magnéticas cubiertas de silicato, se hizo modificando las concentraciones manejadas en la metodología propuesta por Liu,⁽⁶⁹⁾ el método utilizado en este trabajo se encuentra descrito la metodología. Una vez teniendo las nanopartículas magnéticas se cubre con silicato

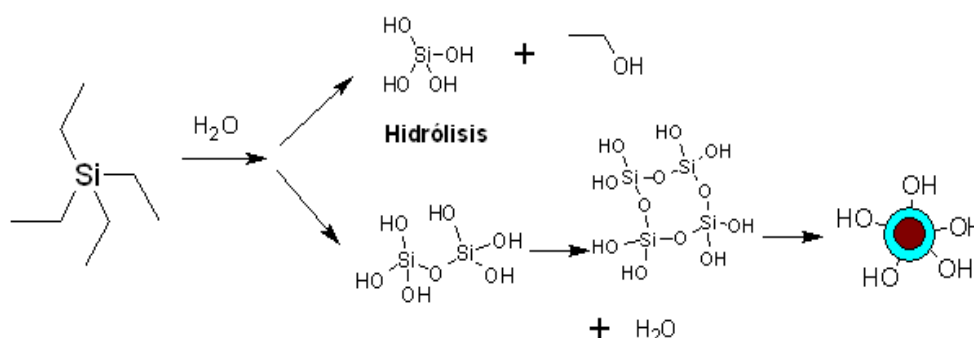


Figura 20. Hidrólisis de TEOS

empleando la reacción de hidrólisis de tetraetil orto silicato (TEOS), el esquema general de reacción de la hidrólisis y condensación de TEOS se puede observar en la Figura 20. Si en el medio de reacción se encuentran nanopartículas estas se cubrirán del silicato como se ilustra en la Figura 21. Una vez secas se realizaron los estudios de caracterización.

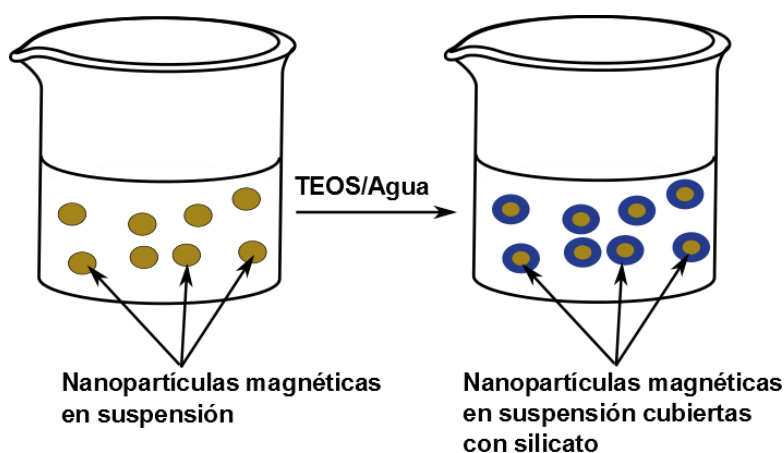


Figura 21. Esquema del recubrimiento con silicatos.

Encontrando que los resultados obtenidos a partir de microscopía electrónica de transmisión (Gráfica 8) muestran que las partículas obtenidas tienen en promedio un tamaño de 8.6 nm, en comparación con las NM el tamaño obtenido es parecido con un incremento de 1.9 nm, además la desviación estándar es 2.0 por lo que se puede asumir que la capa de silicatos formada en la superficie es semejante para todas las partículas pues la desviación estándar

es parecida a la que se presenta en NM. Cabe mencionar, que hay reportes de trabajos similares, donde los autores obtienen partículas con tamaños superiores a los 50 nm,⁽⁶⁹⁾ este hecho puede ser atribuido a que la cantidad de TEOS empleada en la síntesis en relación a las nanopartículas

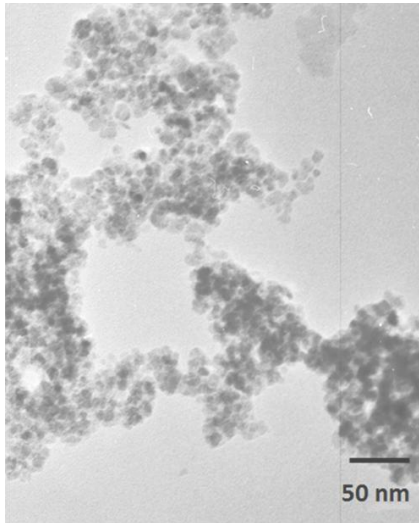
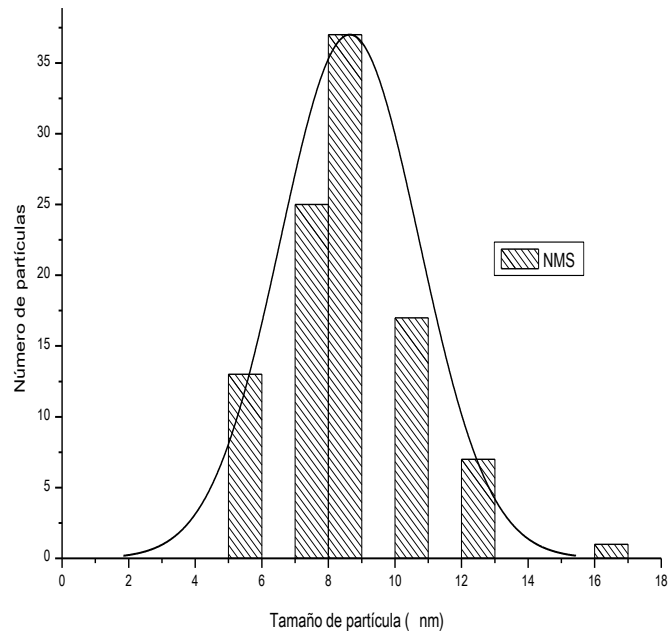
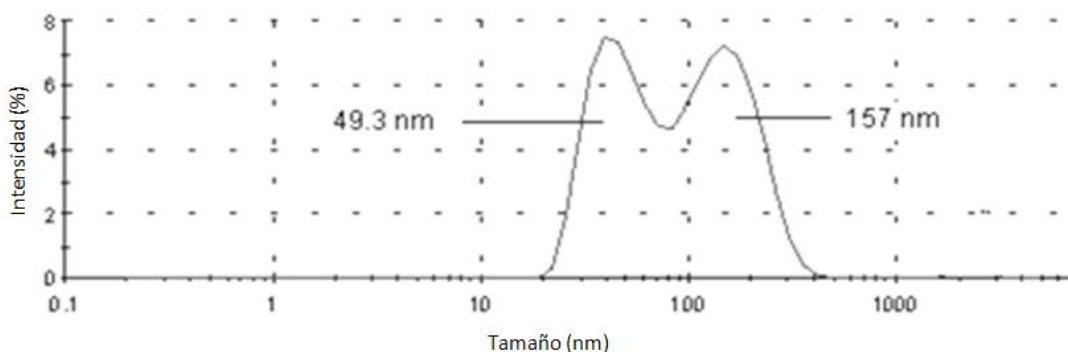


Figura 22. Micrografía obtenida por TEM de nanopartículas magnéticas funcionalizadas con TEOS.



Gráfica 8. Distribución de tamaño de partícula de NMS medido a partir del análisis por TEM.

magnéticas para esa síntesis es 250 veces mayor la utilizada en este trabajo. Además esto se comprobó pues se hicieron varios experimentos donde se varió la cantidad de TEOS en relación a las nanopartículas y se encontró que con una cantidad muy grande, semejante a la informada en la literatura, no solo el tamaño de las nanopartículas aumenta importantemente, sino que en suspensión se encuentra una mezcla de nanopartículas NM y de sílica, es decir, sin núcleo magnético.



Gráfica 9. Distribución de tamaño de partícula de NMS, obtenida del análisis por DLS.

En contraste con el tamaño de partícula obtenido por DLS (Gráfica 9) en el que existen dos poblaciones de 49.3 nm y 157 nm, sugiriendo así la

aglomeración de partículas la cual se confirma en la Figura 22 donde es posible observar que las partículas se agrupan mostrando un tamaño mayor a las partículas individuales.

Mediante el análisis del potencial Z (Gráfica 10), obtenido a partir del análisis LDV a pH=6.7, se encuentra que existe una sola población cuyo potencial es de -20.4 mV y que existe una $\sigma=4.9$ este hecho se puede explicar debido a que el punto isoeléctrico de la sílica pura en suspensiones a pH=2 y posteriormente la carga se hace negativa entre pH 6 y 11^(70, 71) atrayendo los protones, entonces el potencial Z negativo se puede explicar debido a que algunos

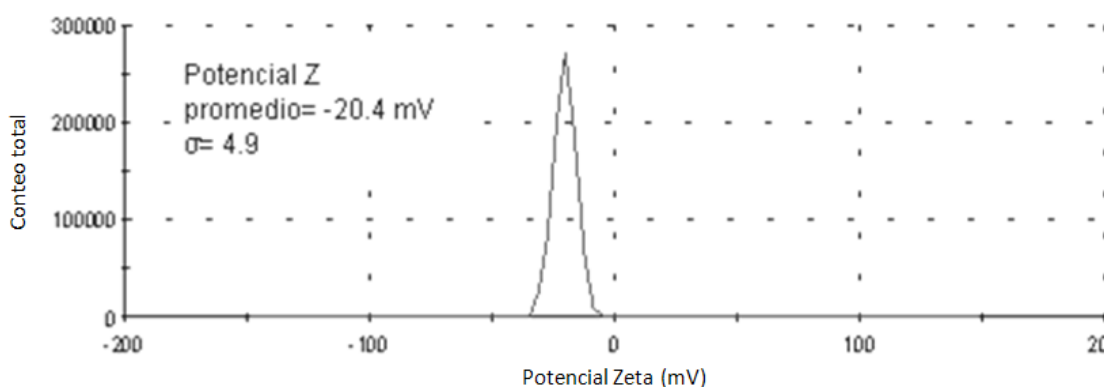
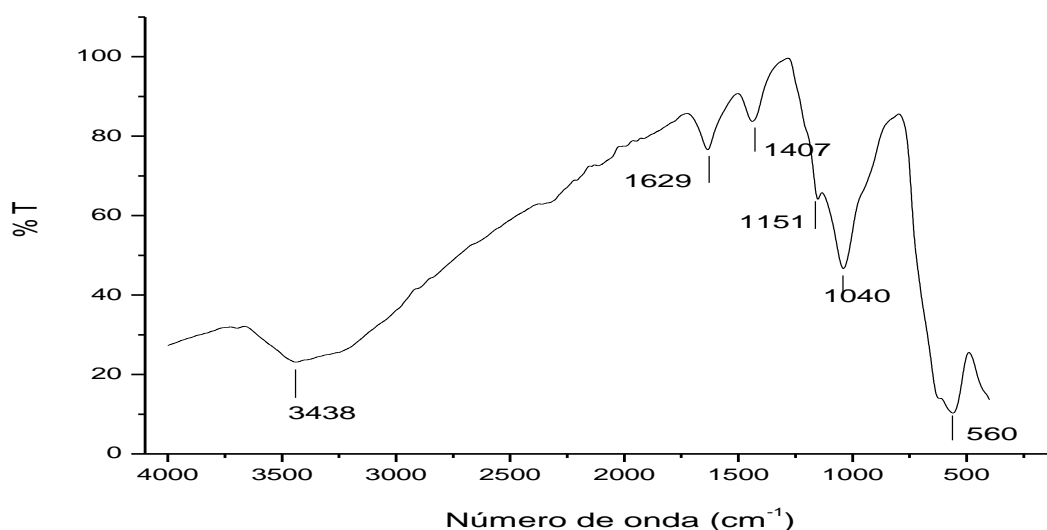


Gráfico 10. Distribución de potencial Z de NMS, obtenida del análisis LDV a pH= 6.7

silicatos remanentes de la síntesis hallan estado como contraiones dando lugar a este cambio de potencial Z.

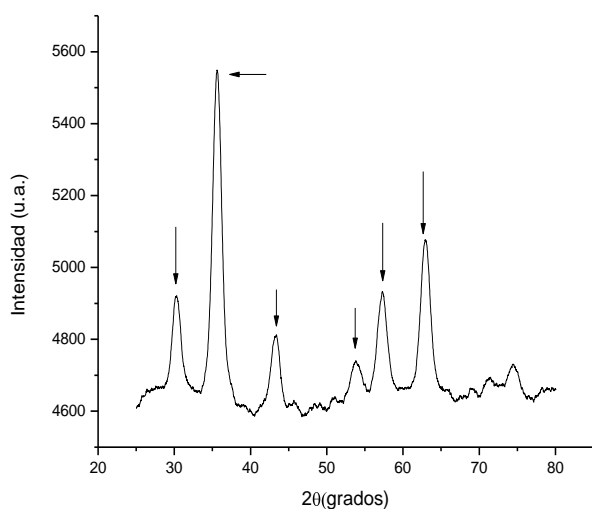
Por otro lado, la Gráfica 11, muestra el espectro IR de las NMS y se pueden observar bandas a 560 cm^{-1} que concuerdan con las vibraciones torsionales y estiramiento para Fe-O en un rango de $582\text{-}430\text{ cm}^{-1}$ para enlaces tetraédricos y octaédricos correspondientes a magnetita,^(43, 66) la banda de 1629 cm^{-1} probablemente se deba a la vibración de flexión H-O-H, la banda de 1407 cm^{-1}



Gráfica 11. Espectro ATR FTIR de NMS.

corresponde a la vibración de deformación de O-H, una banda a los 3438 cm^{-1} que puede ser atribuida a la vibración de tensión de OH. Otro grupo de bandas sugiere que hay silicatos en las nanopartículas, esto se revela a través de las bandas a 1040 cm^{-1} y 1151 cm^{-1} asociadas a vibraciones de tensión Si-O-H y Si-O-Si respectivamente.⁽⁷²⁾ En suma estas bandas corresponden a los grupos formados en la superficie de las NMS, así como, la adsorción de moléculas de agua.⁽⁴³⁾

Por otro lado en el difractograma de rayos X (Gráfica 12) para las nanopartículas magnéticas cubiertas con silicatos, se encuentran picos en 2θ a valores de 30.18° , 35.60° , 43.19° , 53.79° , 57.29° y 62.89° que son semejantes con los resultados obtenidos para NM en 2θ de 30.21° , 35.60° , 43.25° , 53.83° , 57.25° y 62.89° , estos corresponden fundamentalmente a la magnetita, lo cual significa que esta no ha perdido su cristalinidad⁽⁶⁸⁾ y que el silicato alrededor de ella no es cristalino.



Gráfica 12. Difractograma de rayos X de polvos de NMS.

7.2.3. Síntesis y caracterización NMSP

Una vez que se sintetizaron y caracterizaron las NMS, se prosiguió a recubrirlas con acrilatos tomando como base las condiciones de la técnica descrita por Liu.⁽⁵⁸⁾ De acuerdo al esquema presentado en la Figura 23, las NMS se unirán primeramente al ácido metacrílico, posteriormente se adicionó el EGDMA que fue el entrecruzador, el alcohol alílico y, la doxorubicina no se utilizó como molécula molde, Finalmente se agregó el iniciador AIBN dando lugar a la polimerización a 60 °C en una atmósfera de N₂.

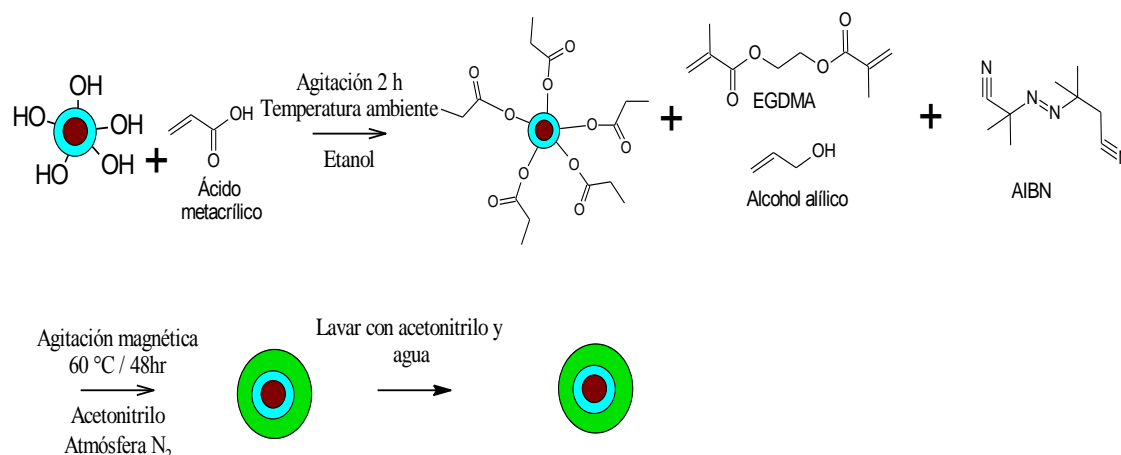
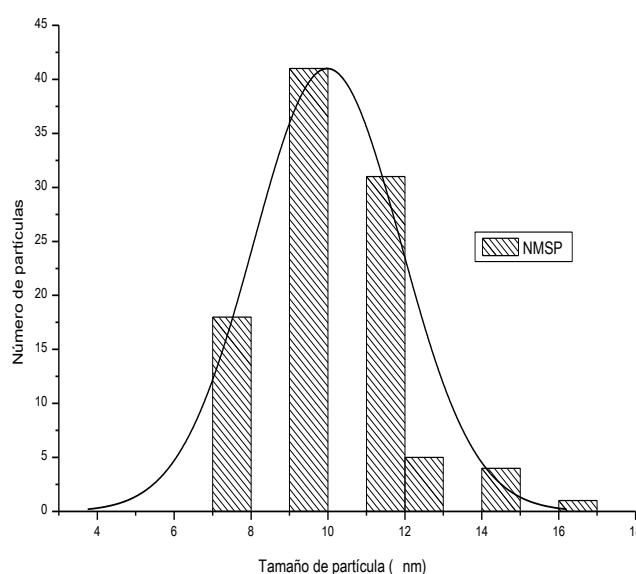


Figura 23. Esquema general de la reacción de impresión molecular sin utilizar doxorubicina como molécula molde

Una vez lavadas y secadas a baja presión se prosiguió con la caracterización encontrando que los resultados del análisis TEM (Gráfica 13) indican que el recubrimiento con acrilatos en comparación con las NMS es de 1.3 nm, pues el tamaño de partícula en promedio fue de 9.9 nm con una $\sigma=1.9$,



Gráfica 13. Distribución de tamaño de partícula de NMSP obtenido por TEM.

por lo que las partículas aumentaron su tamaño de manera homogénea al no existir gran dispersión en los resultados de la distribución de tamaño el grosor de la capa de recubrimiento entonces, es pequeño. Esto es similar a lo encontrado por Valero, donde hacen recubrimiento a nanopartículas similares, aunque es una técnica diferente a la empleada en este trabajo estos autores, utilizan los núcleos de magnetita y los recubren obteniendo tamaños cercanos a los 500 nm con un grosor de la capa polimérica de 2 nm, cuya medición la obtienen a partir de microscopía electrónica de transmisión de alta resolución.⁽⁷³⁾

Por otro lado, los resultados obtenidos por DLS (Gráfica 14) indican que existen partículas de 213 nm, es decir, en comparación con los de microscopía (Figura 24) donde se observa que existe aglomeración de partículas, lo más probable es que las partículas interactúen mediante puentes de hidrógeno pues los acrilatos poseen grupos $-\text{COOH}$ que podrían dar lugar a éstas, además el promedio de potencial Z (Gráfica 15) es de -23.6 mV a un $\text{pH}=6.4$, lo cual nos dice que posiblemente algunos monómeros que no se entrecruzaron hallan formado puentes de hidrógeno con el polímero y al tener grupos carboxilato estos estén desprotonados a este pH dando lugar a este potencial Z negativo.

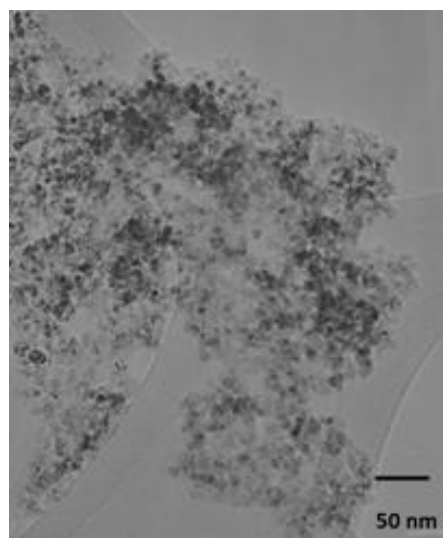
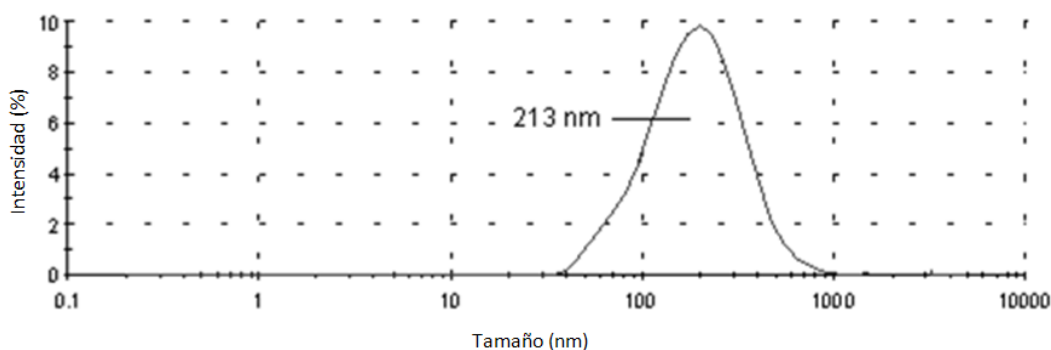


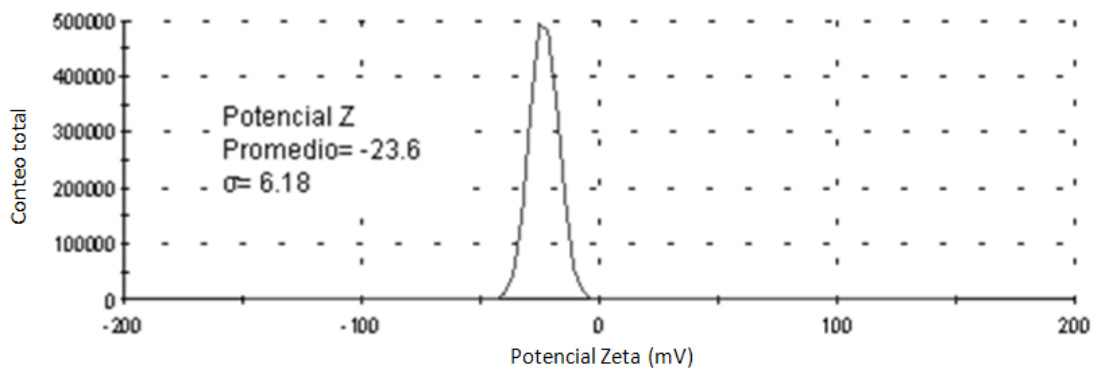
Figura 24. Micrografía de NMSP obtenida por TEM.



Gráfica 14. Distribución de tamaño de partícula de NMSP, obtenida del análisis por DLS.

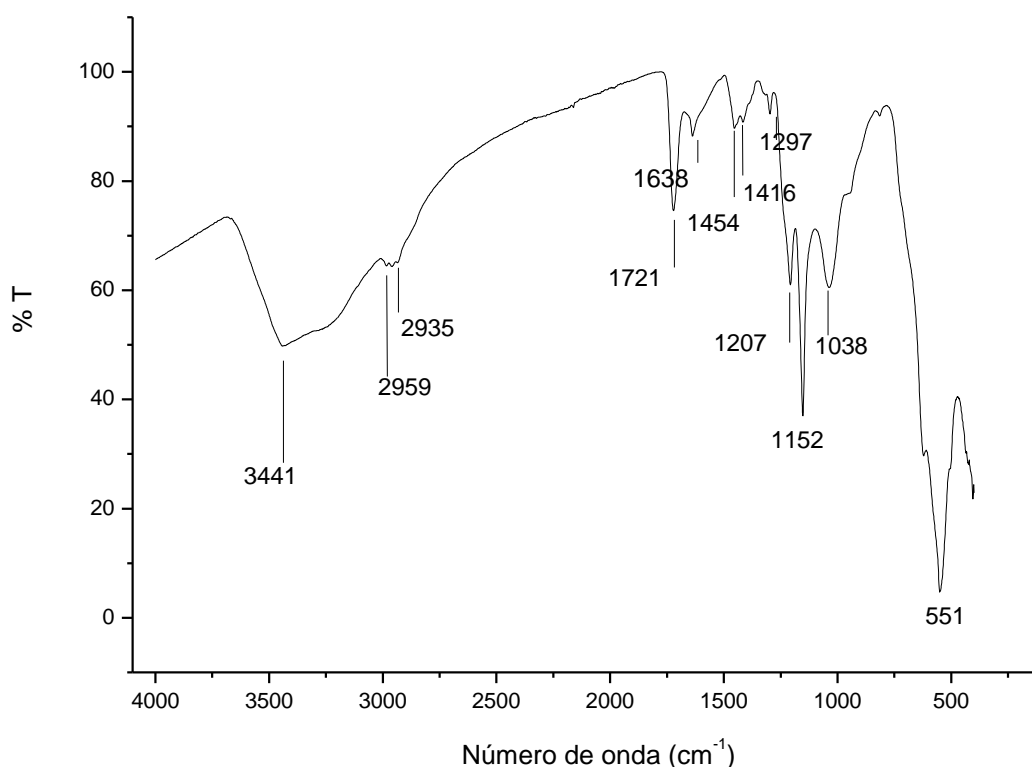
El análisis del espectro ATR FTIR (Gráfica 16) muestra que existen bandas a: 3441 cm^{-1} asignadas a la vibración de estiramiento de OH, 2959 cm^{-1} vibración de tensión asimétrica $-\text{CH}_3$, 2935 cm^{-1} vibración de tensión asimétrica $-\text{CH}_2-$, 1721 cm^{-1} vibración de estiramiento del $\text{R}_2\text{C}=\text{O}$ para ésteres, 1638 cm^{-1} vibración de estiramiento del $\text{R}_2\text{C}=\text{O}$ para cetonas, 1454 cm^{-1} vibración de flexión para $-\text{CH}_3$, 1416 cm^{-1} vibración de flexión $-\text{CH}_2-\text{CO}-$ metileno, 1297 cm^{-1}

vibración de torsión/estiramiento del carboxilo, 1207 cm^{-1} vibración de estiramiento de R-COO-R, 1152 cm^{-1} vibración de estiramiento alquiléster, 1038 cm^{-1} vibración de estiramiento C-OH, todas pertenecientes al polímero sintetizado con las cuales podemos apreciar que es un polímero con características hidrofílicas al poseer grupos carbonilo e hidroxilo, sin embargo,



Gráfica 15. Distribución de potencial Z de NMSP obtenida del análisis LDV a pH= 6.4

estas dos últimas bandas son parecidas a las de NMS a 1040 cm^{-1} y 1151 cm^{-1} que indican la presencia de vibraciones de estiramiento de Si-O-H y Si-O-Si respectivamente,⁽⁷²⁾ pero al comparar la intensidad observamos que es mayor

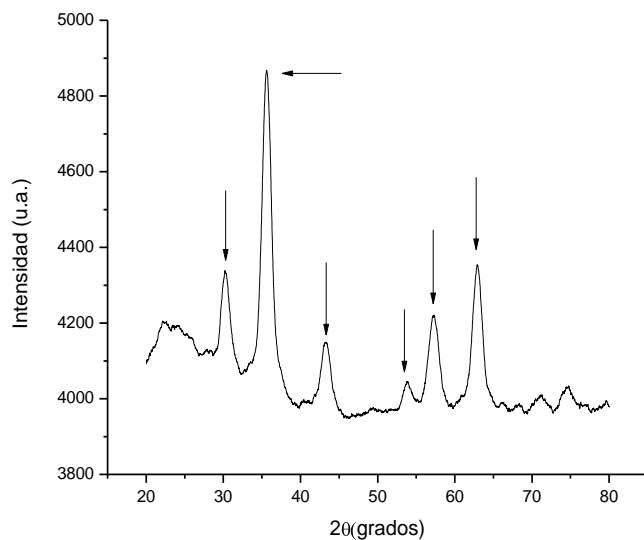


Gráfica 16. Espectro ATR FTIR de NMSP.

con respecto a NMS y los picos son más definidos; la banda a 551 cm^{-1} concuerda con las vibraciones torsionales y estiramiento para Fe-O en un

rango de $582\text{-}430\text{ cm}^{-1}$ para enlaces tetraédricos y octaédricos correspondientes a magnetita.^(43, 66)

Por otro lado los resultados de difracción de rayos X de polvos muestran los picos en 2θ a 30.20° , 35.64° , 43.17° , 53.79° , 57.31° y 62.87° que son semejantes a los resultados obtenidos de NM y NMS lo cual significa que la magnetita no ha perdido su cristalinidad durante el proceso de recubrimiento y que tanto la sílica como el polímero no son cristalinos.⁽⁶⁸⁾



Gráfica 17. Difractograma de NMSP, obtenido a partir de difracción de rayos-X de polvos.

7.2.4. Síntesis y caracterización de NMSPD

Partiendo de la obtención de NMS se sintetizaron las NMSPD de acuerdo con las condiciones propuestas por Liu.⁽⁵⁸⁾ En la Figura 25 se muestra el esquema de la reacción de síntesis utilizando doxorubicina como molécula molde, la cual se unirá con el alcohol alílico formando puentes de hidrógeno para así quedar impreso en la capa polimérica.

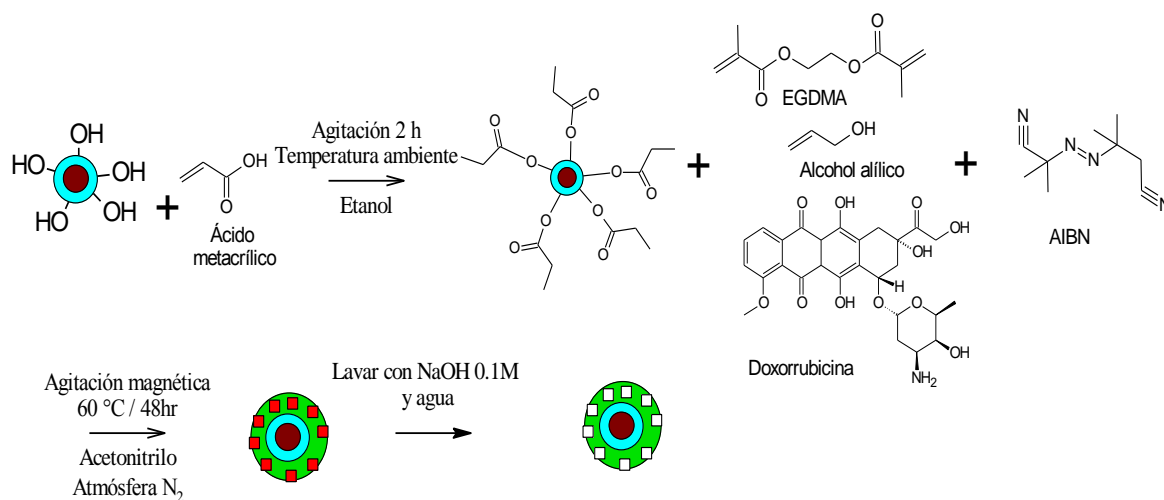
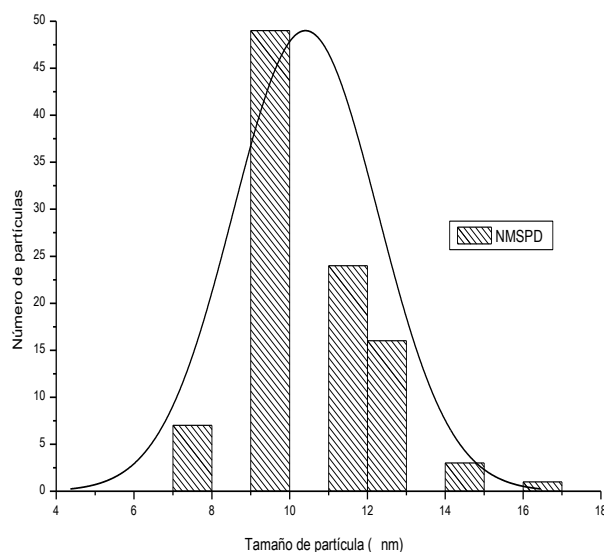


Figura 25. Esquema de la reacción de síntesis del MIP utilizando doxorubicina como molécula molde

Una vez lavadas y secadas a baja presión se caracterizaron encontrando que la distribución de tamaño de partícula (Gráfica 18) muestra que en promedio existe un tamaño de 10 nm y una $\sigma=1.8$, lo que indica un incremento de 1.4 ± 0.026 nm en el diámetro de las NMS, y que, en contraste con las NMSP hay un incremento de 0.1 ± 0.019 nm, quizá se deba a que la doxorubicina

ocupa espacio en el recubrimiento,⁽⁷⁴⁾ en la micrografía (Figura 26) se puede apreciar a las partículas de magnetita inmersas dentro de las capas de silicatos y de polímero.



Gráfica 18. Distribución de tamaño de partícula de NMSPD obtenidos con TEM.

LDV(Gráfica 20) nos muestran que el potencial Z es de 1.98 mV en promedio y $\sigma=3.35$ lo cual indica que las partículas tienden a flocular a un pH= 6.35

El análisis infrarrojo (Gráfica 21) muestra que existen bandas a 3436 cm^{-1} que puede deberse a la vibración de estiramiento de -O-H o bien la vibración de estiramiento de -NH_2 presente en la doxorubicina lo cual se confirma con la banda a 1616 cm^{-1} correspondiente a la vibración de flexión de -NH_2 , la banda a 2981 cm^{-1} indica la vibración de estiramiento para =C-H correspondiente a los anillos aromáticos al igual que la banda a 1579 cm^{-1} , la banda a 803 cm^{-1} corresponde a la doxorubicina⁽⁵⁴⁾ comprobando que el fármaco está en la nanopartícula, la banda 2940 cm^{-1} corresponde a la vibración de tensión asimétrica $\text{-CH}_2\text{-}$, 1729 cm^{-1} al la vibración de estiramiento del $\text{R}_2\text{C=O}$ para ester, , 1413 cm^{-1} vibración de flexión $\text{-CH}_2\text{-CO-}$, 1284 cm^{-1} vibración de torsión/estiramiento del carboxilo, 1210 cm^{-1} vibración de estiramiento de R-COO-R , 1113 cm^{-1} vibración de estiramiento alquiléster, 1008 cm^{-1} vibración de estiramiento C-OH , todas pertenecientes tanto al polímero como a la doxorubicina, sin embargo, estas dos últimas bandas son parecidas a las de NMS a 1040 cm^{-1} y 1151 cm^{-1} que indican la presencia de vibraciones de estiramiento de Si-O-H y Si-O-Si respectivamente,⁽⁷²⁾ pero al comparar la intensidad observamos que es mayor con respecto a NMS y los picos son más definidos; la banda a 551 cm^{-1} concuerda con las vibraciones torsionales y estiramiento para Fe-O en un rango de $582\text{-}430\text{ cm}^{-1}$ para enlaces tetraédricos y octaédricos correspondientes a magnetita.^(43, 66) Debido a lo anterior se puede asegurar que se ha logrado unir, al sistema NMS, al polímero molecularmente impreso, en el cual se encuentra al fármaco como molécula molde. Sin embargo, esto último

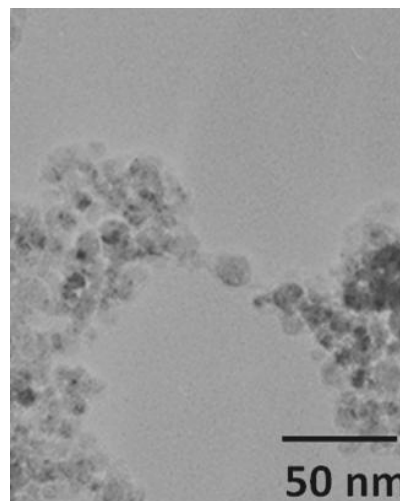
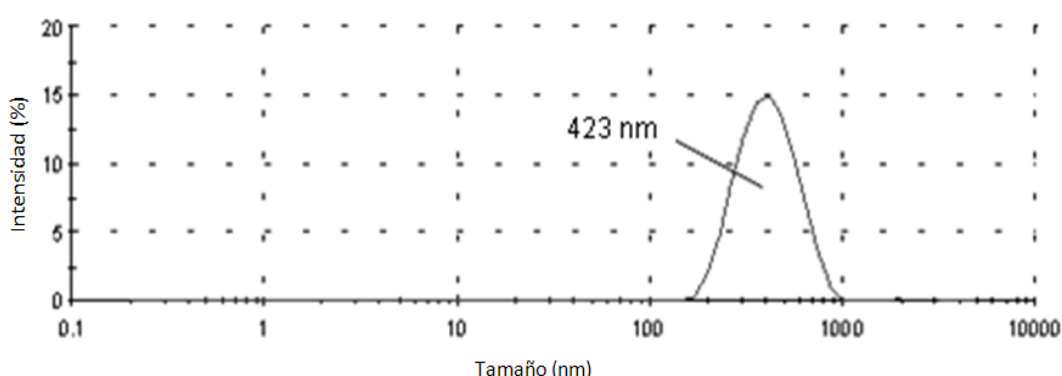
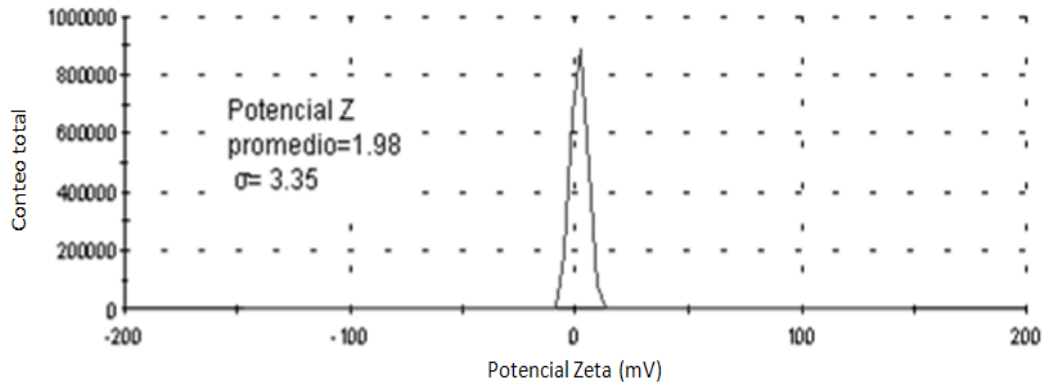


Figura 26. Micrografía obtenida por TEM de NMSPD.



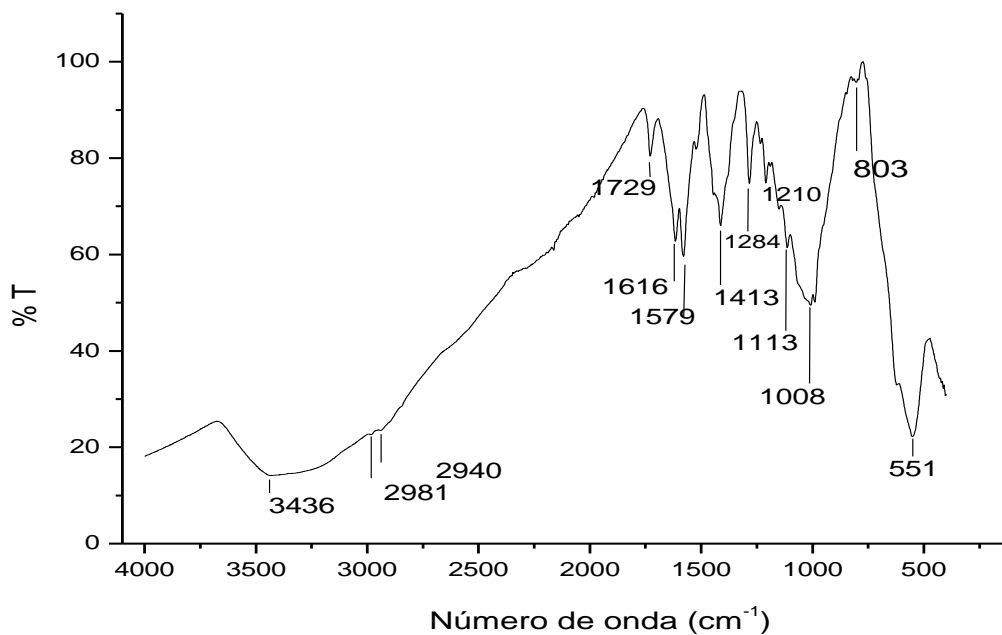
Gráfica 19. Distribución de tamaño de partícula de NMSPD, obtenida del análisis por DLS.

será discutido más adelante pues se lavó y posteriormente se sometió éste sistema a adsorción.

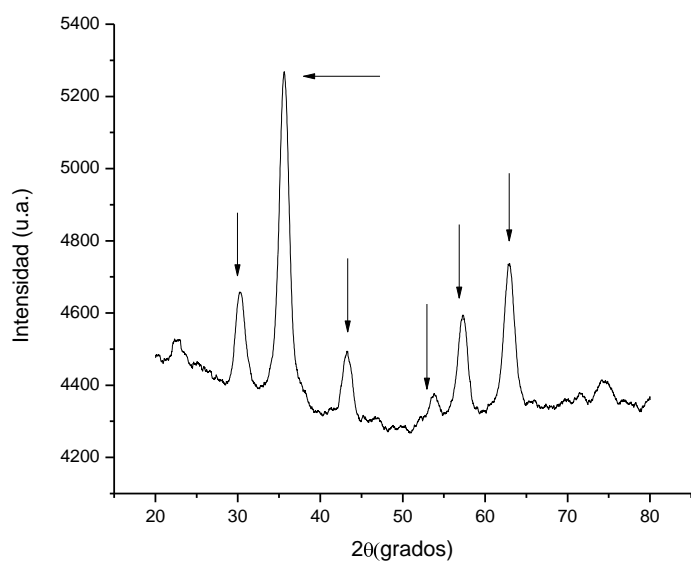


Gráfica 20. Distribución de potencial Z de NMSPD, obtenida del análisis LDV a pH= 6.35

Por otro lado los resultados de difracción de rayos X de polvos (Gráfica 22), son muy similares al polímero no impreso (NIP), este muestra señales en 2θ a 30.26° , 35.64° , 43.31° , 53.75° , 57.33° y 62.87° que son semejantes a los resultados obtenidos de NM 30.21° , 35.60° , 43.25° , 53.83° , 57.25° y 62.89° lo cual significa que la magnetita no ha perdido su cristalinidad durante el proceso de recubrimiento con la plantilla doxorubicina⁽⁶⁸⁾ y que los recubrimientos no son cristalinos.



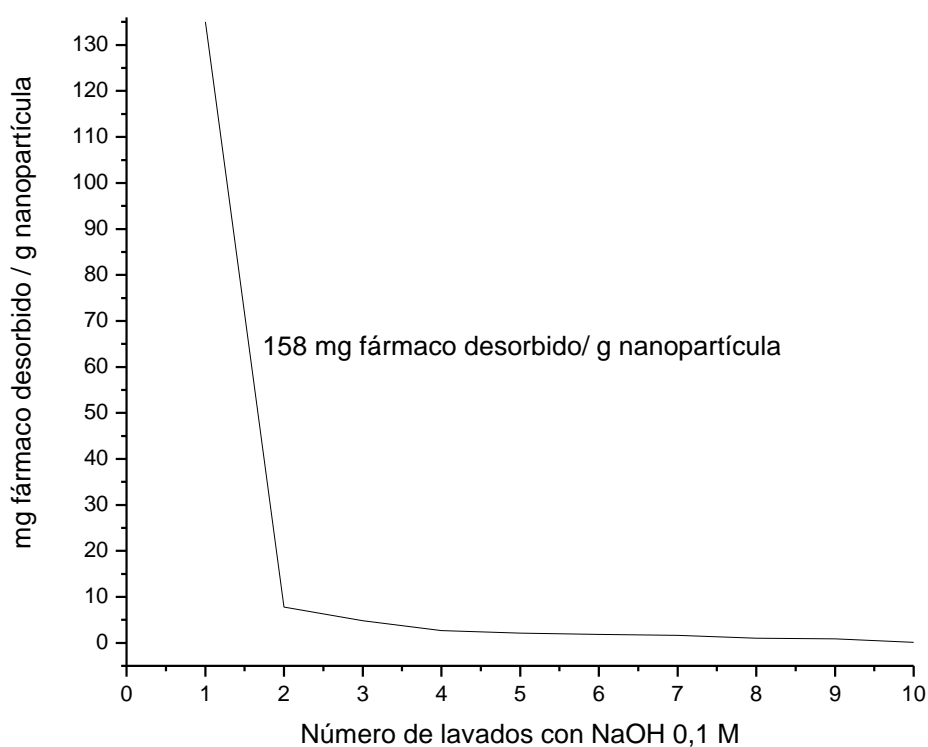
Gráfica 21. Espectro ATR FTIR de NMSPD.



Gráfica 22. Difractograma de NMSPD, obtenido a partir de difracción de rayos X de polvos.

7.3. Estudios de adsorción de NM. NMS. NMSP y NMSPD

Este estudio tuvo la finalidad de conocer cuánto fármaco se adsorbe por gramo de nanopartícula. Sin embargo, dado que las NMSPD aun conservaban la plantilla, se prosiguió a lavarlas con NaOH 0.1 M pues la doxorubicina es soluble en este medio. Encontrando que son necesarios 10 lavados de 10 mL cada uno de NaOH 0.1 M para remover el fármaco, esta desorción se puede observar en la Gráfica 23 en la que se aprecia el número de lavados versus los miligramos de fármaco desorbidos /gramo de nanopartícula, estos últimos valores fueron encontrados a partir de la medición de la concentración registrada en cada lavado, y es importante denotar que se lograron remover hasta 158 mg de fármaco/g nanopartícula, pues esta cantidad representa la suma de las concentraciones obtenidas en cada lavado. Una vez removido el fármaco se lavaron con 10 mL de agua.



Gráfica 23. Lavado con NaOH 0.1 M

Una vez lavadas, secas y caracterizadas las nanopartículas obtenidas en las diferentes etapas de síntesis se realizó el estudio de adsorción de doxorubicina. Para realizarlo se colocaron 10 mg de nanopartículas en 10 mL de doxorubicina $3 \times 10^{-4} \text{ M}$ en agua a 25° C , esto debido a que el fármaco es soluble en agua, y que la relación 174 mg de fármaco/g nanopartículas es cercana a la cantidad removida de fármaco en NMSPD posterior al lavado en NaOH 0.1 M que fue 158 mg doxorubicina/g nanopartículas. Para tomar la muestra se siguió el *método de adsorción* (Figura 27) anteriormente descrito y la alícuota se regresaba al sistema. Para calcular la cantidad adsorbida se utilizó la siguiente ecuación

$$F(X) = X_i - X_f \quad (\text{Ec. 12})$$

Dónde: $F(X)$ representa los miligramos adsorbidos de fármaco por gramo de nanopartículas al tiempo X ; X_i son los mg de doxorrubicina en disolución/g de

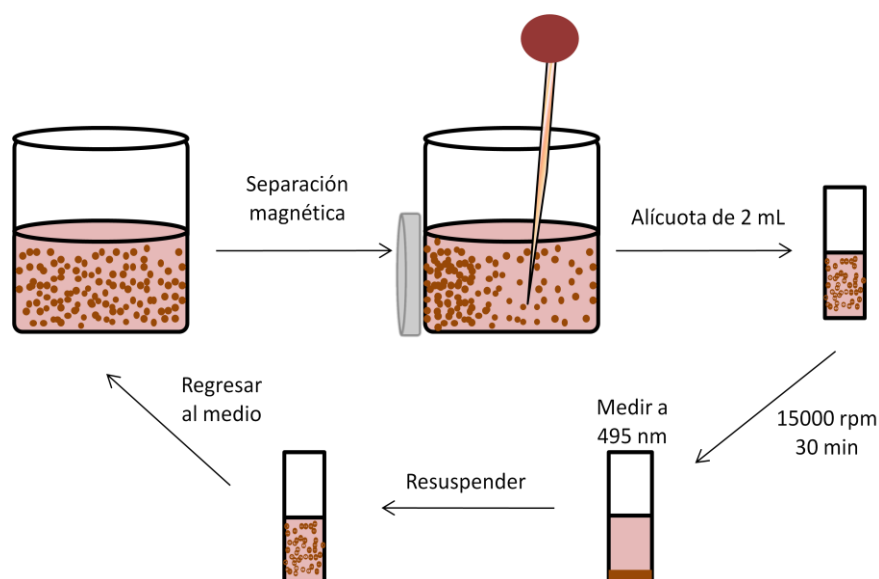


Figura 27. Toma de muestra para el estudio de adsorción.

nanopartículas iniciales; y X_f son los mg de doxorrubicina en disolución / g nanopartículas al tiempo X .

Encontrando que de las cinéticas mostradas en la Gráfica 24, donde se ilustra la repetición de tres experimentos de la adsorción de doxorrubicina sobre la nanopartícula:

En el caso de NM se necesitó un tiempo de 72 horas para adsorber hasta 79.99 mg de doxorrubicina por gramo de nanopartículas como cantidad máxima pasado este tiempo la concentración en del medio se mantenía constante, es importante reconocer que en las primeras 48 horas se adsorbió la mayor cantidad de doxorrubicina.

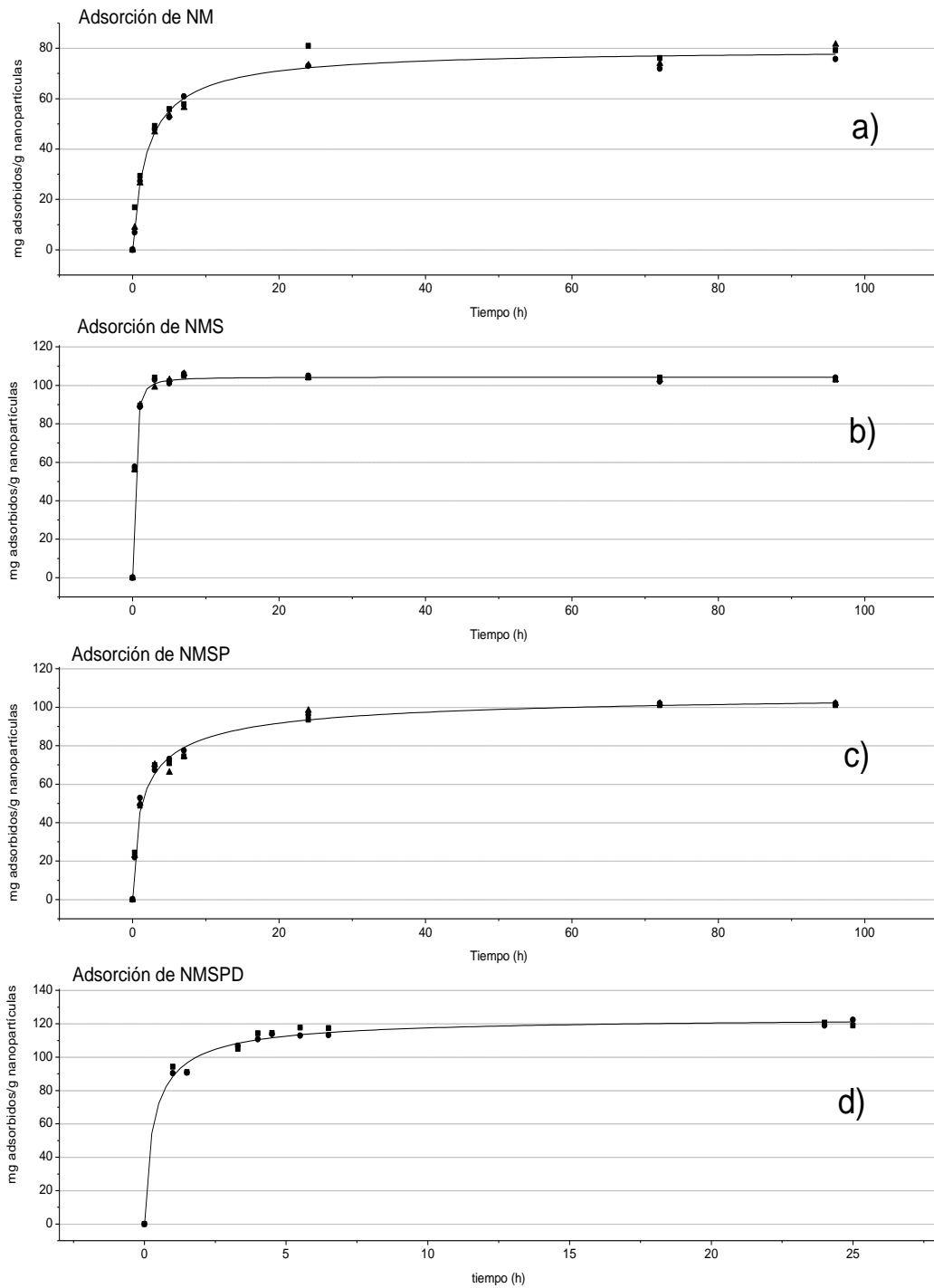
En cuanto a NMS se encontró que la mayor cantidad adsorbida fue de 104.34 mg de fármaco/g nanopartícula al observar la gráfica 24 se notó que la adsorción en su mayor parte ocurrió en las 24 horas seguido de una concentración constante en el medio de adsorción.

Por otro lado NMSP adsorbió hasta 109.16 mg de fármaco/g nanopartículas, lo cual ocurrió a las 72 horas. NMSPD por otra parte adsorbió como cantidad

Tabla 4. Adsorción máxima de doxorrubicina por gramo de nanopartículas.

Nanopartículas	Mg de doxorrubicina/g nanopartículas
NM	79.99
NMS	104.34
NMSP	109.16
NMSPD	124.46

máxima 124.46 mg fármaco/g nanopartículas en un lapso de 24 horas. Esta información se encuentra resumida en la Tabla 4.



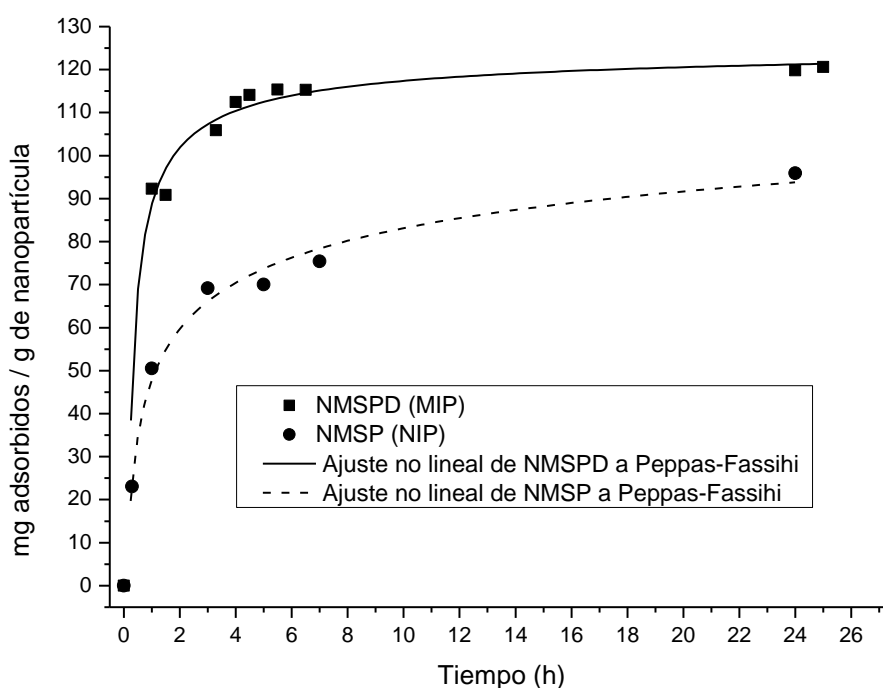
Gráfica 24. Cinéticas de adsorción de: a) NM, b) NMS, c) NMSP y d) NMSPD.

Se observó que las nanopartículas de magnetita sin recubrir son las que menor cantidad de fármaco adsorben, esto se puede deber al hecho de que la superficie de la nanopartícula está formada por óxido de hierro y que es una superficie compacta poco específica. Cuando se recubre con silicatos la superficie aumenta su área y también cambia el tipo de interacción, ya que ahora serán los grupos silanoles los que predominen en la interacción con el fármaco. Es conocido que los silicatos forman materiales con gran área superficial, quizá esto contribuya al hecho de que las nanopartículas NMS muestren una mayor adsorción con respecto a las NM.

En el caso de las nanopartículas recubiertas con polímero, estas muestran una adsorción un poco mayor con respecto a las que están únicamente recubiertas con silicatos. Estas muestran una capacidad de adsorción similar a las que tienen solo silicatos, aunque la velocidad de adsorción disminuye. La superficie de las NMSP, está ahora cubierta con grupos carboxilato y alcohol, provenientes de los monómeros funcionales, por lo que es de esperarse que la cinética se modifique como es lo observado.

Cuando el recubrimiento polimérico es moldeado con doxorubicina, NMSPD, se generan huecos específicos para esta molécula, esto repercute en que las nanopartículas de este tipo sean las que muestren mayor capacidad de adsorción del fármaco. Adicionalmente, la cinética de adsorción aumenta, notoriamente.

El efecto de la impresión o impronta molecular está ilustrado en la gráfica 25, es la cinética de adsorción de las nanopartículas magnéticas recubiertas con polímero, sin moldear y moldeadas. Se hizo un ajuste a la cinética de adsorción usando el modelo de Peppas-Fassih, que fue el que obtuvo mejor ajuste. Cabe destacar que estos modelos se refieren a liberación por lo que al aplicarlos al proceso inverso, que es la adsorción, el valor de la constante cinética es



Gráfica 25. Cinéticas de adsorción y ajuste no lineal de doxorubicina con NMSP y NMSPD.

negativo. Se encontró que NMSP tiene un valor $k = -37.86$ ($R = 0.9917$), mientras que las nanopartículas impresas con doxorubicina, NMSPD, muestran un valor de $k = -126.85$ ($R = 0.9876$). Esto quiere decir que la cinética de adsorción por el efecto de tener sitios más específicos es 3.35 veces mayor con respecto a los sitios no específicos.

7.4. Estudio de desorción

Una vez determinada la cantidad de doxorubicina máxima de adsorción que puede adsorber cada tipo de nanopartículas, se prosiguió a realizar el estudio de desorción. Este se encuentra descrito en el método *estudio de desorción* (realizando la toma de muestra de acuerdo con la Figura 27).

Los estudios de desorción se hicieron para todos los sistemas y con ellos se puede conocer el mecanismo por el cual se lleva a cabo la liberación del fármaco desde la nanopartícula hacia el medio. Con los datos de liberación (cantidad de fármaco liberado en función del tiempo) se hacen ajustes no lineales a diferentes modelos de cinética de liberación entre los cuales están Korsmeyer-Peppas, Peppas-Sahlin, Peppas-Fassihi, los cuales evalúan la liberación desde una matriz polimérica. La fracción de fármaco liberada fue calculada a partir de la ecuación 13:

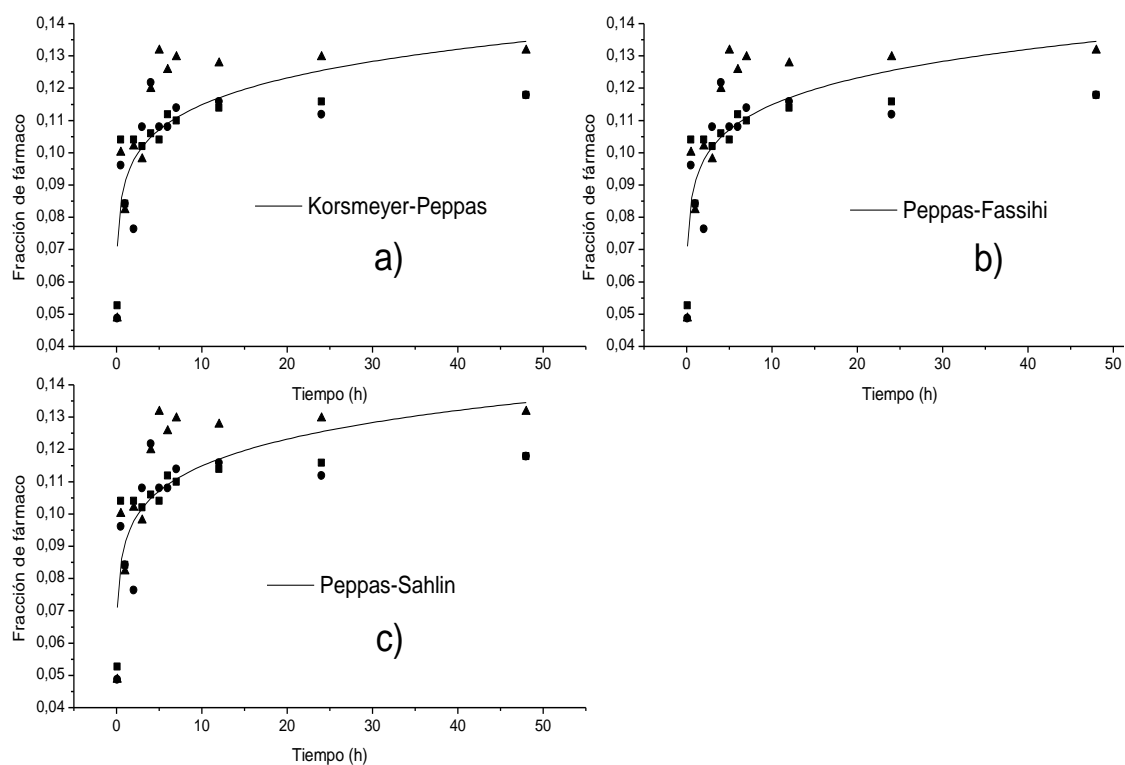
$$\text{Fracción de fármaco} = \frac{Q}{Q_{\text{máx}}} \quad (\text{Ec.13})$$

Donde $Q = \text{mg adsorbidos/g nanopartícula}$ de cada toma de muestra y $Q_{\text{máx}} = \text{mg adsorbidos máximos/g nanopartícula}$ calculados a partir de las cinéticas de adsorción

7.4.1 Desorción de NM

Para NM (Gráfica 26) se encontró que la doxorubicina se liberaba primero de manera rápida y alrededor de 12 horas después de ese tiempo no se pudo detectar más doxorubicina liberada, además se apreció que no se liberó la fracción total del fármaco si no que alcanzó sólo el 0.13.

Se hizo el ajuste no lineal a los modelos antes mencionados y los resultados se encuentran descritos en la gráfica 25. Los parámetros calculados para cada modelo sugieren que la liberación se llevó a cabo mediante difusión de Fick al tener al parámetro n menor a 0.5,⁽⁵⁶⁾ es decir, se trata de una liberación controlada por difusión. Además, el análisis de los parámetros k : $a > b$ y $k_1 > k_2$, sugieren que no existe relajación desde esta matriz, dado que k_2 fue cercana a 0, por lo que la difusión se llevó a cabo desde una matriz homogénea. El valor del parámetro b es pequeño por lo que no existe un efecto de estallido en la liberación. Este resultado sugiere una adsorción probablemente débil en una superficie homogénea, es decir, predomina un solo tipo de sitios de adsorción sobre la nanopartícula, lo cual resulta de esperar ya que se trata de una superficie homogénea formada únicamente por óxido de hierro.



Gráfica 26. Modelos de ajuste no lineal para la cinética de liberación de NM: a) Korsmeyer-Peppas, b) Peppas-Fassihi, c) Peppas-Sahlin. Los diferentes símbolos representan las repeticiones del mismo experimento.

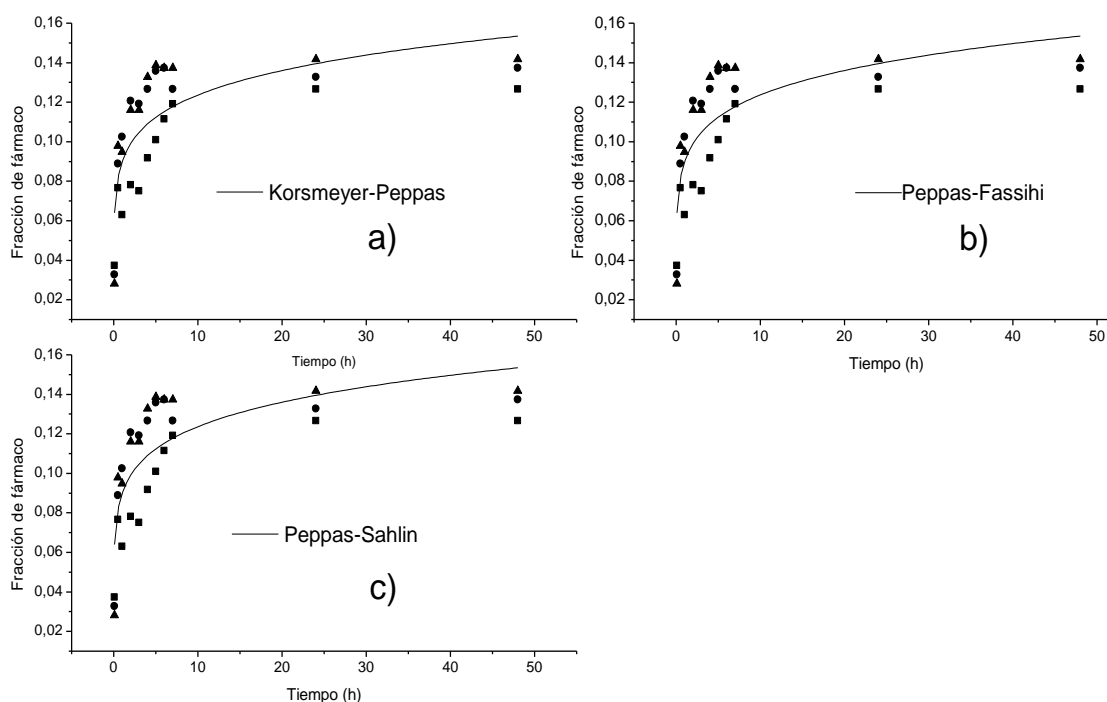
El modelo que mejor se ajusta (Tabla 5), en este caso, fue el de Korsmeyer-Peppas, debido a que el valor de r^2 que es mayor los otros modelos aunque no es cercana a 1, sin embargo, χ^2 es pequeña y la F de Fisher es grande, por lo que se puede decir que los datos experimentales convergen con el modelo.

Tabla 5 Parámetros calculados a partir del ajuste no lineal con los modelos de cinética de liberación de NM

Korsmeyer-Peppas		k	n	r^2	χ^2	F
$y = k(x^n)$		0.09123	0.10038	0.6521	1.63×10^{-04}	1241.05631
Peppas-Fassihi	a	b	n			
$y = a(x^n) + b$	0,09123	1.00×10^{-12}	0.10037	0.64156	1.68×10^{-04}	803.03643
Peppas-Sahlin	k1	k2	n			
$y = k1(x^n) + k2(x^{2n})$	0,09121	2.01×10^{-15}	0.10051	0.64156	1.68×10^{-04}	803.03393

7.4.2 Desorción de NMS

La cinética de las NMS (Gráfica 27) indicó que la doxorubicina se liberaba de manera rápida a las primeras 8 horas y luego se mantiene relativamente constante en la fracción 0.14 de fármaco liberada, se observó que no se liberó completamente la cantidad adsorbida de fármaco. Por otro lado los modelos de cinética de liberación (Tabla 6) indicaron que el mecanismo sigue una difusión de Fick (debido a que $n < 0.5$), que el fármaco difunde desde una matriz homogénea porque $a > b$ y $k1 > k2$ y, que la relajación de esta matriz es inexistente, por lo que el modelo de ajuste es de tipo Korsmeyer-Peppas, lo



Gráfica 27. Modelos de ajuste no lineal para la cinética de liberación de NMS: a) Korsmeyer-Peppas, b) Peppas-Fassihi, c) Peppas-Sahlin. Los diferentes símbolos representan las repeticiones del mismo experimento.

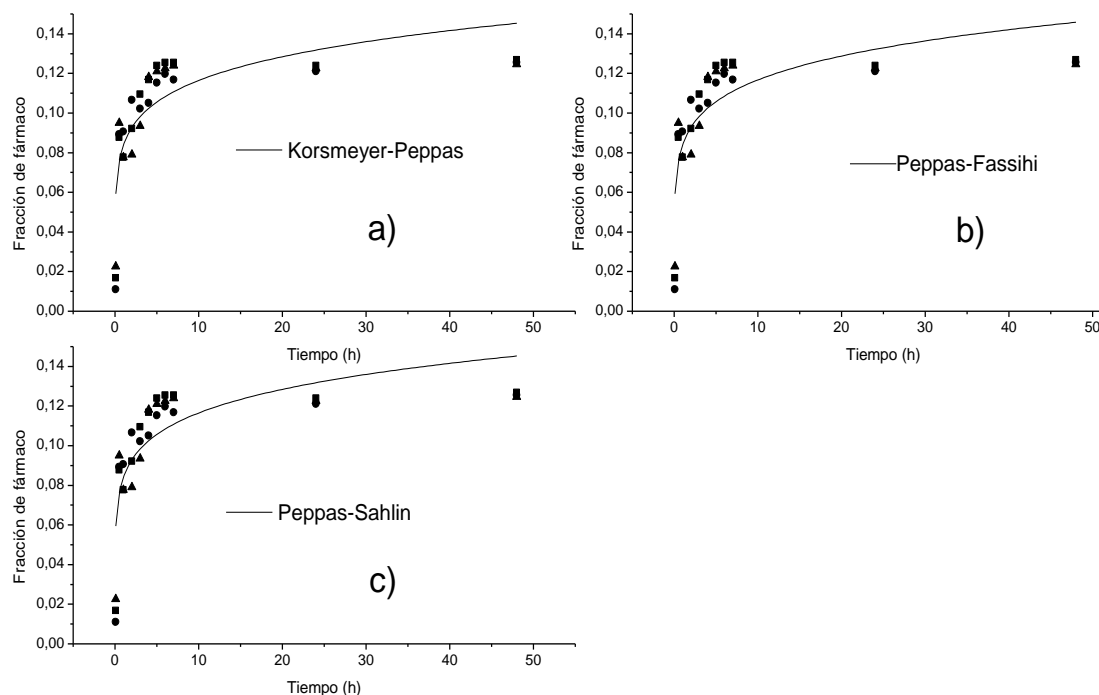
cual se comprobó debido a que la r^2 fue más grande, aunque no cumplió con $r^2=1$, sin embargo χ^2 fue pequeña y presentó una mayor bondad de ajuste pues la F de Fisher fue grande, por lo que podemos decir que este modelo es el que mejor se ajustó a la cinética de liberación de doxorubicina para NMS.

Tabla 6. Parámetros calculados a partir del ajuste no lineal con los modelos de cinética de liberación de NMS

Korsmeyer-Peppas		k	n	r^2	χ^2	F
$y = k(x^n)$		0,09017	0,13748	0,63353	$3,84 \times 10^{-04}$	525,40895
Peppas-Fassihi	a	b	n			
$y = a(x^n) + b$	0,09022	0	0,13738	0,62131	$3,97 \times 10^{-04}$	338,97171
Peppas-Sahlin	k1	k2	n			
$y = k1(x^n) + k2(x^{2n})$	0,09018	$1,30 \times 10^{-18}$	0,13744	0,62131	$3,97 \times 10^{-04}$	338,97348

7.4.3 Desorción de NMSP

En cuanto a la cinética de desorción de NMSP (Gráfica 28) se pudo observar que la liberación fue rápida hasta las 8 horas alcanzando alrededor del 0.13 de fracción liberada de fármaco y después una desorción aparentemente nula. Por otra parte en el ajuste a los modelos de liberación se pudo observar que las NMSP liberaban mediante difusión de tipo Fick pues el parámetro n fue menor a 0.5 (Tabla 7), además se observó que para el caso del modelo Korsmeyer-Peppas y Peppas-Fassihi la difusión se llevó desde una matriz polimérica debido a los valores de k y $a > b$, también en las nanopartículas no existió efecto estallido de liberación pues el valor de b fue pequeño. En contraste el modelo de Peppas-Sahlin mostró que la liberación se llevaba a cabo por la relajación de la matriz ($k_2 > k_1$), que puede ser posible puesto que es un recubrimiento



Gráfica 28. Modelos de ajuste no lineal para la cinética de liberación de NMSP: a) Korsmeyer-Peppas, b) Peppas-Fassihi, c) Peppas-Sahlin. Los diferentes símbolos representan las repeticiones del mismo experimento.

polimérico que podría hincharse y relajarse para la liberación, ciertamente estos modelos nos ofrecieron bastante información de cómo se da la liberación, sin embargo, el modelo que más se ajustó es el de Korsmeyer-Peppas al tener una r^2 más grande aunque no semejante a 1, pero la χ^2 fue la más pequeña y la F de Fisher la que mejor bondad de ajuste tiene.

Tabla 7. Parámetros calculados a partir del ajuste no lineal con los modelos de cinética de liberación de NMSP

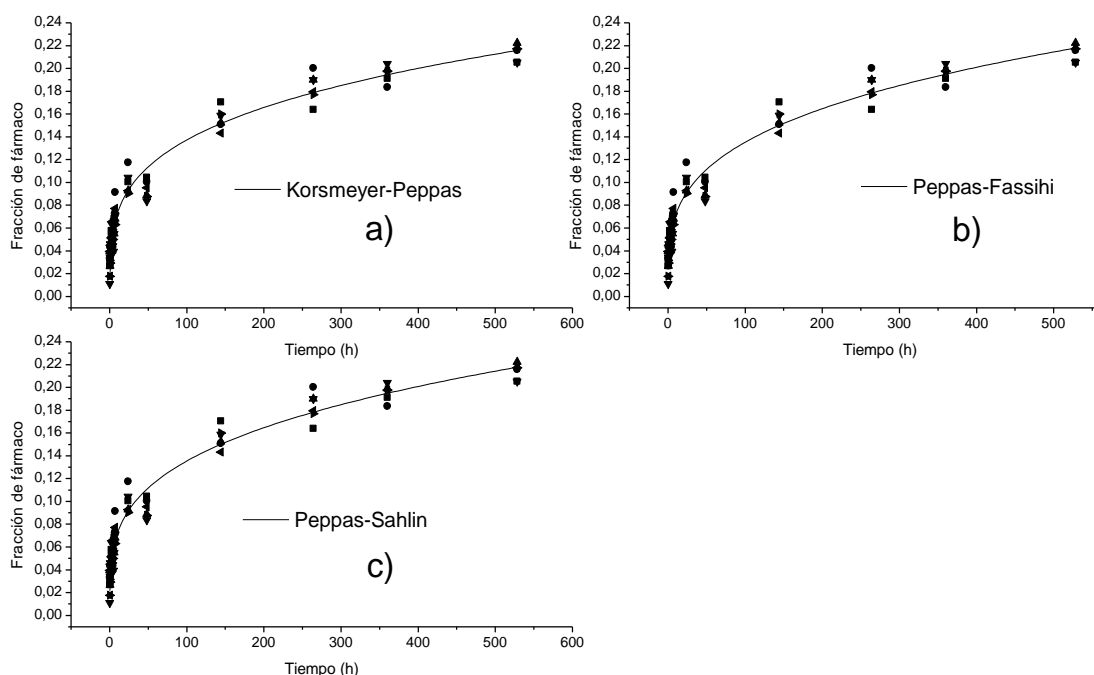
Korsmeyer-Peppas		k	n	r^2	χ^2	F
$y = k(x^n)$		0,08428	0,14087	0,65721	$3,35 \times 10^{-04}$	533,28671
Peppas-Fassihi	a	b	n			
$y = a(x^n) + b$	0,08435	$9,78 \times 10^{-16}$	0,14155	0,64572	$3,46 \times 10^{-04}$	343,99311
Peppas-Sahlin	k1	k2	n			
$y = k1(x^n) + k2(x^{2n})$	$8,05 \times 10^{-15}$	0,08444	0,07013	0,64577	$3,46 \times 10^{-04}$	344,03545

7.4.4 Desorción de NMSPD

En el caso de NMSPD se quiso ver como se comportaba el sistema utilizando agua por un lado (puesto que en las nanopartículas anteriores el pH fue cercano a 6) y en un buffer de fosfatos a pH=7.4 caracterizándolos individualmente para observar a que modelo de cinética se ajustaban y de qué manera se llevaba a cabo la liberación.

En la cinética de liberación de NMSPD con agua se le midió el pH que fue 6.3 (Gráfica 29) se observó que el fármaco se liberaba rápidamente y luego de incrementa de manera constante la cantidad de fármaco desorbida, alcanzando a las 580 horas una fracción de 0.2 de fármaco liberado, además se vio que no

se liberó completamente. Con los resultados de la Tabla 8 se puede decir que



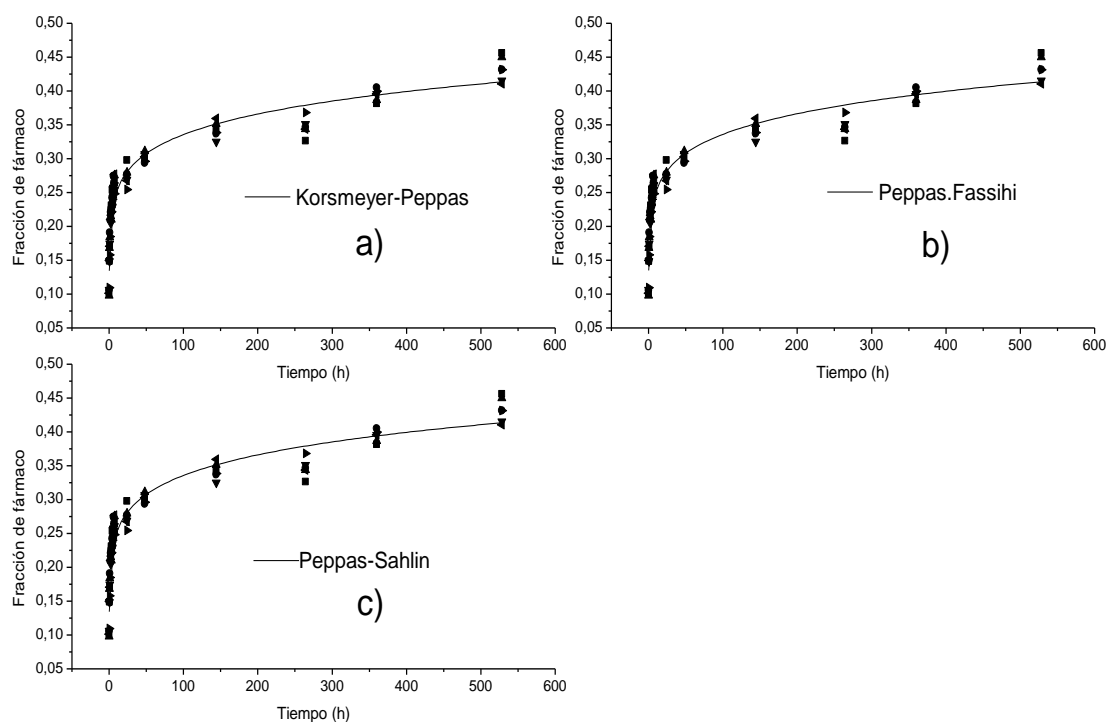
Gráfica 29. Modelos de ajuste no lineal para la cinética de liberación de NMSPD con agua (pH=6.3): a) Korsmeyer-Peppas, b) Peppas-Fassihi, c) Peppas-Sahlin. Los diferentes símbolos representan las repeticiones del mismo experimento.

el fármaco difunde siguiendo un comportamiento de tipo Fick puesto que $n < 0.5$, que se presentó el fenómeno de estallido al guardar cierta relación el parámetro $b/a = 0.331$ y que la liberación se presenta en su mayoría por difusión desde una superficie homogénea pues $k_1/k_2 = 1.617$, sin embargo, también existe relajación de la matriz polimérica pues $k_2 = 0.01558$, en suma se puede decir que la liberación se dio por una difusión de tipo Fick acompañada de un efecto estallido provocado quizá debido a la rápida difusión del fármaco adsorbido superficialmente y relajación de la matriz polimérica, con esto podríamos decir que el modelo que se ajustaría mejor tendría cuatro parámetros (difusión de Fick, difusión debida a características estructurales, efecto estallido y relajación de la matriz), sin embargo se encontró que la r^2 fue más grande para el modelo Peppas-Fassihi y la χ^2 la más pequeña, pero el que presentó mejor bondad de ajuste fue Korsmeyer-Peppas con una F de Fisher mayor a los otros modelos, esto debido a que este modelo es un modelo general del cual se derivan los otros dos modelos.

Tabla 8. Parámetros calculados a partir del ajuste no lineal con los modelos de cinética de liberación de NMSPD

Korsmeyer-Peppas		k	n	r^2	χ^2	F
$y = k(x^n)$		0,03943	0,27122	0,97107	$1,11 \times 10^{-04}$	4995,44392
Peppas-Fassihi	a	b	n			
$y = a(x^n) + b$	0,03087	0,01023	0,30414	0,97169	$1,08 \times 10^{-04}$	3403,48616
Peppas-Sahlin	k1	k2	n			
$y = k_1(x^n) + k_2(x^{2n})$	0,0252	0,01558	0,17617	0,97142	$1,10 \times 10^{-04}$	3371,48508

Las NMSPD en buffer de fosfatos pH=7.4 presentaron una liberación aparentemente rápida (Gráfica 30) y luego constante hasta las 528 horas donde se alcanzó una fracción de 0.45 de fármaco liberado. Por otro lado los modelos de ajuste (Tabla 9) mostraron que el sistema difundía por medio del mecanismo tipo Fick $n > 0.5$, que además no se presentó el efecto de estallido debido a $b=0$, pero que sí existió relajación de la matriz ya que $k_2 > k_1$, lo que nos diría que los sitios formados durante el proceso de impresión molecular



Gráfica 30. Modelos ajuste no lineal para la cinética de liberación de NMSPD a pH=7.4: a) Korsmeyer-Peppas, b) Peppas-Fassihi, c) Peppas-Sahlin. Los diferentes símbolos representan las repeticiones del mismo experimento.

fueron ocupados y que en la liberación con fosfatos se promueve una mayor relajación comparada con la liberación en agua, sin embargo el modelo que mejor se ajustó fue el de Korsmeyer-Peppas al ser r^2 la más cercana a 1, χ^2 más pequeña y la F de Fisher más grande, aunque de los otros modelos el que más se ajusta es en el que interviene la relajación de la matriz, es decir, el modelo Peppas-Sahlin, debido a la matriz polimérica.

Tabla 9. Parámetros calculados a partir del ajuste no lineal con los modelos de cinética de liberación de NMSPD a pH=7.4

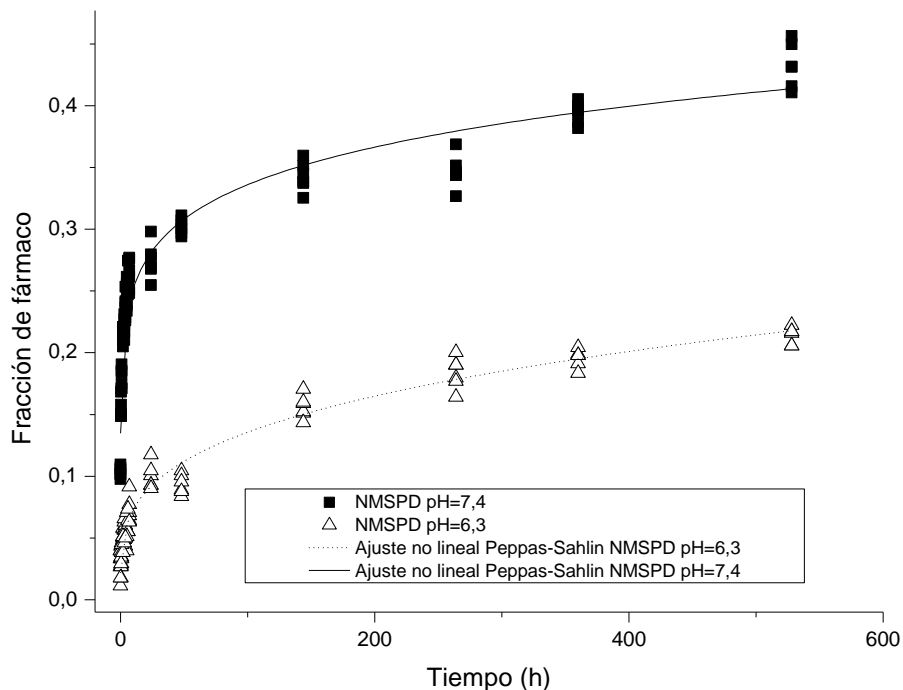
Korsmeyer-Peppas		k	n	r^2	χ^2	F
$y = k(x^n)$		0,18888	0,12502	0,9468	$4,00 \times 10^{-04}$	8676,16219
Peppas-Fassihi	a	b	n			
$y = a(x^n) + b$	0,18928	0	0,12484	0,94616	$4,05 \times 10^{-04}$	5715,97415
Peppas-Sahlin	k1	k2	n			
$y = k_1(x^n) + k_2(x^{2n})$	$2,12 \times 10^{-16}$	0,18888	0,06253	0,94619	$4,05 \times 10^{-04}$	5718,33231

Tabla 10. Parámetros calculados para el ajuste no lineal Peppas-Sahlin de las diferentes nanopartículas.

Modelo:	Peppas-Sahlin $y = k1(x^n) + k2(x^{2n})$		
	k1	k2	n
NM	0,09121	2.01×10^{-15}	0.10051
NMS	0,09018	$1,30 \times 10^{-18}$	0,13744
NMSP	$8,05 \times 10^{-15}$	0,08444	0,07013
NMSPD pH=6.3	0,0252	0,01558	0,17617
NMSPD pH=7.4	$2,12 \times 10^{-16}$	0,18888	0,06253

En resumen se encontró que todas las nanopartículas podían absorber doxorubicina y que todas liberaban el fármaco mediante difusión de tipo Fick $n < 0.5$ como lo muestra la Tabla 10 en la que se reportan los valores para el ajuste Peppas-Sahlin que es el que mejor ilustra el mecanismo por el que se libera el fármaco de todas

las nanopartículas (no es el que mejor se ajusta), y en esta tabla se puede observar que NM y NMS desorben la doxorubicina desde una superficie homogénea ($k1$), que NMSP y NMSPD presentan un fenómeno de estallido en la liberación. Por otra parte en las NMSPD uno esperaría el mismo comportamiento en ambas, pero se observó que las que no tenían buffer, presentaron ambos fenómenos, en contraste con las de pH=7.4 que solo liberaron mediante relajación polimérica. Además la constante n es 2.817 veces más grande cuando esta en buffer de fosfatos lo que se traduce en una liberación más rápida, y debido a esto liberó más cantidad de fármaco como se puede observar en la gráfica 3, esto es muy probable que se deba a que los iones fosfato promuevan la desorción al aumentar la fuerza iónica de la suspensión. Cabe mencionar que NMSPD liberó por más tiempo como se ilustra en la misma gráfica pues el tiempo en que se registró la última medición fue a las 600 horas comparado con las otras nanopartículas en las que a las 12 horas la concentración liberada se mantenía constante.



Gráfica 31. Cinéticas de desorción para NMSPD ajustadas al modelo Peppas-Sahlin.

8. Conclusión

Se logró sintetizar y caracterizar nanopartículas magnéticas y cubrirlas en superficie con silicatos, recubiertas con un polímero derivado de acrilatos y, el mismo pero molecularmente impreso con doxorubicina como molécula molde.

Se caracterizaron las NM, NMS y NMSP se observó cómo cambian: en su composición según los resultados del análisis ATR FTIR, pues al evolucionar en las etapas de síntesis aparecen diferentes bandas de adsorción que indican la presencia del producto deseado; en cuanto a difracción de rayos X no se observó cambio en la estructura de la magnetita; hubo cambio en el tamaño, ya que el análisis TEM mostró que existía un crecimiento debido al producto formado en las etapas de síntesis alcanzando así un tamaño promedio de 10 nm en NMSPD; en el potencial Z de igual manera se observó un cambio en todos los pasos.

En la adsorción de doxorubicina por las nanopartículas, se observó que todas las nanopartículas sintetizadas en este trabajo mostraban adsorción de fármaco, sin embargo las que mostraron una mayor adsorción fueron NMSPD; y en desorción de doxorubicina se observó que ningún sistema liberó completamente el fármaco adsorbido, aunque NMSPD mostró una mayor fracción de fármaco liberada y seguía desorbiendo en un mayor lapso de tiempo. Por lo tanto NMSPD mostró las características que deseamos en este trabajo, ser magnéticas, que estén funcionalizadas con silicatos, que estén recubiertas, que adsorban doxorubicina y que la liberen, con esto podemos decir que podrían funcionar como un sistema de liberación de fármaco prolongado y dirigido magnéticamente haciendo que el tratamiento del cáncer sea localizado, ciertamente para asegurar esto se tendrían que hacer estudios utilizando campos magnéticos alternos, modificando temperatura, pH y además realizarlo *in vitro* e *in vivo*.

9. Perspectivas

En este trabajo se utilizó doxorubicina, sin embargo, la molécula molde podría ser cambiada eligiendo algún otro fármaco, ofreciendo así versatilidad en cuanto a los sistemas que se podrían conseguir.

Es conveniente que se realicen estudios para evaluar de qué magnitud y frecuencia debe ser el campo para atraer la mayor cantidad de nanopartículas hacia el sitio de acción y lograr la hipertermia.

Se recomienda realizar un perfil de liberación, pues si se evalúa pH y temperatura se podría saber hasta qué momento se ha liberado la fracción de fármaco total, además esto apoyaría los resultados obtenidos en este trabajo.

El estudio *in vivo* e, *in vitro* en cultivos celulares, es necesario, pues de él dependerá si funciona como un sistema de liberación

Otro estudio que podría realizarse es el de reología pues de esta manera podrían conocerse las propiedades mecánicas que soportarían las nanopartículas para poder determinar la ruta de administración en conjunto con los estudios *in vivo* e *in vitro*.

10. Referencias bibliográficas

1. OMS. Cancer. Organización Mundial de la Salud [serial on the Internet]. 2012 [cited 2012 Enero 29]; Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/>.
2. NCI. What is cáncer? National Cancer Institute [serial on the Internet]. 2011 [cited 2012 Enero 29]; Available from: <http://www.cancer.gov/cancertopics/cancerlibrary/what-is-cancer>.
3. Momparler R, Karon L. Effect of adriamycin on DNA, RNA, and protein synthesis in cell free systems and intact cells. *Cancer Research* 1976;36(8):2891-5.
4. Atsarkin V. Critical RF losses in fine particles of $\text{La}_{1-x}\text{Ag}_y\text{MnO}_{3+\delta}$: Prospects for temperature-controlled hyperthermia. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. 2009;321:3198-202.
5. Balivlada S. A/C magnetic hyperthermia of melanoma mediated by iron/iron oxide core/Shell magnetic nanoparticles: a mouse study. *BMC Cancer*. 2010;10:119.
6. Qiao R, Yang C, Gao M. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles: from preparations to in vivo MRI applications. *J Mater Chem*. 2009;19:6274-93.
7. Figuerola A. From iron oxide nanoparticles towards advanced iron-based inorganic materials designed for biomedical applications. *Pharmacology Research*. 2010;62:126-42.
8. Laurent S. Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, stabilization, vectorization, physicochemical characterizations, and biological applications. *Chemical reviews*. 2008;108:2064-110.
9. Ramström O, Yan M. Molecularly imprinted materials. Marcel Dekker ed. USA Science and technology; 2005.
10. Doxorubicin [database on the Internet]. National Center for Biotechnology Information. 2012 [cited Octubre 22]. Available from: <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?sid=4809&viewopt=PubChem>.
11. Doxorubicin [database on the Internet]. Hazardous Substances Data Bank. 2012 [cited Octubre 22]. Available from: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/r?dbs+hsdb:@term+@rn+@rel+23214-92-8>.
12. PLM. Diccionario de Especialidades. PLM, editor. México: 2013.
13. Paolino D, Fresta M. Drug delivery systems. In: John Wiley & Sons I, editor. Encyclopedia of Medical Devices and Instrumentation. Second Edition ed2006. p. 437-95.
14. Tafoya H. Polímeros de impresión molecular para liberación prolongada de ivermectina. México: UNAM; 2010.
15. Navarra. Formas farmaceuticas de liberacion modificada y esteroisomeros. Boletín de Información Farmacoterapéutica. 2003;13(1):1-10.
16. Villafuerte L. Nanotecnología Farmacéutica. *Razón y palabra*. 2009;68:1-20.
17. Kharb V, Bhatia M, Dureja H, Kaushik D. Nanoparticle Technology for the Delivery of Poorly Water-Soluble Drugs. *Pharmaceutical Technology*. 2006:1-5.
18. Jores K, Mehnert W, Drechsler M, Bunjes H, Johann C, Mäder K. Investigations on the structure of solid lipid nanoparticles (SLN) and oil-loaded solid lipid nanoparticles by photon correlation spectroscopy, field-flow fractionation and transmission electron microscopy. *Journal of Controlled Release*. 2004;95(2):217-27.

-
19. Shenoy D, Little S, Langer R, Amiji M. Poly (ethylene oxide)-modified poly (β amino ester) nanoparticles as a pH-sensitive system for tumortargeted delivery of hydrophobic drugs. *In vitro evaluation Molecular Pharmaceutics*. 2005;2(5):357-66.
 20. Kim S, Nam J, inventors; Postech Academy-industry Foundation, assignee. Anticancer drug delivery system using ph-sensitive metal nanoparticles. Francia patent EP2559429 A2. 2011.
 21. Fiorani D. Surface Effects in Magnetic Nanoparticle. Springer ed. Roma: Nanostructure science and technology; 2005.
 22. Chien CL. Granular magnetic solids (invited). *Journal of Applied Physics*. 1991;69(8):5267.
 23. Knobel M, Socolovsky L, Vargas J. Propiedades magnéticas y de transporte de sistemas nanocristalinos: conceptos básicos y aplicaciones a sistemas reales. *Revista Mexicana de Física Experimental*. 2004;50(1):8-28.
 24. Zapata A. Síntesis y caracterización de magnetitas pura y dopadas con cerio o titanio. Medellín: Universidad de Antioquia; 2008.
 25. García L, Rodríguez O, Betancourt R, Saldivar R. Síntesis y propiedades de ferrofluidos de magnetita. *Superficies y Vacío*. 2003;16(1):28-31.
 26. Jaramillo F. Aplicación de Ka química combinatoria en la obtención de magnetitas por vía hidrotermal en presecencia de cobre y cromo. Medellín: Universidad de Antioquia; 2001.
 27. Barbeta V, Jardim R, Kiyohara P, Effenberger F, Rossi L. Magnetic properties of Fe_3O_4 nanoparticles coated with oleic and dodecanoic acids. *Journal of Applied Physics*. 2010;107(7):073913.
 28. Moros M, Pelaz B, López-Larrubia P, García-Martin ML, Grazú V, de la Fuente JM. Engineering biofunctional magnetic nanoparticles for biotechnological applications. *Nanoscale*. 2010;2(9):1746.
 29. Massart R, inventor Agence Nationale de Valorisation de la Recherche (ANVAR), assignee. Magnetic fluids and process for obtaining them. France patent 4,329,241. 1982.
 30. Ewijk G, Vroege G, Philipse AP. Convenient preparation methods for magnetic colloids. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. 1999;201:31-3.
 31. Petri A, Chastellaina M, Juillerat L, Ferraria A, Hofmanna H. Development of functionalized superparamagnetic iron oxide nanoparticles for interaction with human cancer cells. *Biomaterials*. 2005;26:2685-94.
 32. Kim D, Zhang Y, Voit W, Rao K, Muhammed M. Synthesis and characterization of surfactant-coated superparamagnetic monodispersed iron oxide nanoparticles. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. 2001;225:30-6.
 33. Mikhaylova M, Kim DK, Bobrysheva N, Osmolowsky M, Semenov V, Tsakalakos T, et al. Superparamagnetism of Magnetite Nanoparticles: Dependence on Surface Modification. *Langmuir*. 2004;20:2472-7.
 34. Chourpa I, Douziech-Eyrolles L, Ngaboni-Okassa L, Fouquenet J-F, Cohen-Jonathan S, Souce M, et al. Molecular composition of iron oxide nanoparticles, precursors for magnetic drug targeting, as characterized by confocal Raman microspectroscopy. *Analyst*. 2005;130:1395-403.
 35. Wan J, Tang G, Qian Y. Room temperature synthesis of single-crystal Fe_3O_4 nanoparticles with superparamagnetic property. *Applied Physics A Materials Science & Processing*. 2007;86:261-4.

-
36. Lloret P, Moina C, Ybarra G. Síntesis, funcionalización y caracterización de nanopartículas magnéticas con estructura núcleo-cáscara. Congreso SAM/CONAMET. 2007;1421-5.
 37. Kim KH, Kim M-J, Choa Y-H, Kim DH, Yu J-H. Synthesis and Magnetic Properties of Surface Coated Magnetite Superparamagnetic Nanoparticles. *IEEE Transactions on Magnetism*. 2008;44(11):2940-3.
 38. Munnier E, Cohen-Jonathan S, Linassier C, Douziech-Eyrolles L, Marchais H, Soucé M, et al. Novel method of doxorubicin–SPION reversible association for magnetic drug targeting. *International Journal of Pharmaceutics*. 2008;363:170-2.
 39. Bandhu A, Mukherjee S, Acharya S, Modak S, Brahma S, Dasc D, et al. Dynamic magnetic behaviour and Mössbauer effect measurements of magnetite nanoparticles prepared by a new technique in the co-precipitation method. *Solid State Communications*. 2009;149:1790-4.
 40. Predoi D, Andronescu E, Radu M, Munteanu M, Dinischiotuc A. Synthesis and characterization of bio-compatible maghemite nanoparticles. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*. 2010;5(3):779-86.
 41. Frimpong R, Dou J, Pechan M, Hilt Z. Enhancing remote controlled heating characteristics in hydrophilic magnetite nanoparticles via facile co-precipitation. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. 2010;322:326-31.
 42. Chatzipavlidis A, Bilalis P, Efthimiadou E, Boukos N, Kordas G. Sacrificial Template-Directed Fabrication of Superparamagnetic Polymer Microcontainers for pH-Activated Controlled Release of Daunorubicin. *Langmuir*. 2011;27:8478-85.
 43. Urquijo J. Síntesis de nanopartículas magnéticas y su implementación como ferroluidos. Medellín: Universidad de Antioquia; 2007.
 44. Effati E, Pourabbas B. One-pot synthesis of sub-50 nm vinyl- and acrylate-modified silica nanoparticles. *Powder Technology* 2012;219:276-83.
 45. Ramos M, Castillo C. Aplicaciones biomédicas de las nanopartículas magnéticas. *Ide@s CONCYTEG*. 2011;6(72):629-46.
 46. Aurich K, Schwalbe M, Clement JH, Weitschies W, Buske N. Polyaspartate coated magnetite nanoparticles for biomedical applications. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. 2007;311(1):1-5.
 47. Saini S, Stark D, Hahn P, Wittenberg J, Brady T, Ferrucci J. Superparamagnetic MR contrast agent for the reticuloendothelial system. *Radiology*. 1987;162:211-6.
 48. Gubin S. Magnetic Nanoparticles. Moscow: Wiley-VCH.
 49. Zhang Y, Liu J-Y, Ma S, Zhang Y-J, Zhao X, Zhang X-D, et al. Synthesis of PVP-coated ultra-small Fe₃O₄ nanoparticles as a MRI contrast agent. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2010;21(4):1205-10.
 50. Villanueva A, Canete M, Roca A, Calero M, Veintemillas-Verdaguer S, Serna CJ, et al. The influence of surface functionalization on the enhanced internalization of magnetic nanoparticles in cancer cells. *Nanotechnology*. 2009;20:1-9.
 51. Nedkov I, Slavov L, Merodiiska T, Lukanov P, Tailhades P, Gougeon M, et al. Size effects in monodomain magnetite based ferrofluids. *Journal of Nanoparticle Research*. 2007;10(5):877-80.
 52. Shinkai M, Le B, Honda H, Yoshikawa K, Shimizu K, Saga S, et al. Targeting Hyperthermia for Renal Cell Carcinoma Using Human MN Antigen-specific Magnetoliposomes. *Jpn J Cancer Res*. 2001;92:1138-46.

-
53. Nădejde C, Ciurlică E, Creangă D, Cârlescu A, Bădescu V. Magnetite Nanoparticles Coated with Rifampicin and Chlortetracycline for Drug Delivery Applications. International conference on the scientific and clinical applications of magnetic carriers. 2010:388-94.
54. Zhang J, Misra R. Magnetic drug-targeting carrier encapsulated with thermosensitive smart polymer: Core-shell nanoparticle carrier and drug release response. *Acta Biomaterialia* 2007;3:838–50.
55. Asmatulu R, Misak H, Wooley P, Yang S, inventors; Wichita State University, assignee. Composite magnetic nanoparticle drug delivery system. United States of America patent WO2012051220 A1. 2012.
56. Rodríguez J. Síntesis de polímeros de impresión molecular con ivermectina en diferentes disolventes y determinación de la influencia en su adsorción y liberación. México: UNAM; 2011.
57. Sellergren B, Allender C. Molecularly imprinted polymers: A bridge to advanced drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2005;57:1733-41.
58. Liu B, Han M, Guan G, Wang S, Liu R, Zhang Z. Highly-Controllable Molecular Imprinting at Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles for Ultrafast Enrichment and Separation. *Journal of Physical Chemistry*. 2011;115:17320-7.
59. Alvarez C, Yañez F, Barreiro R, Concheiro A. Imprinted soft contact lenses as norfloxacin delivery systems. *Journal of Controlled Release*. 2006;113 236–44.
60. Malvern. Zetasizer Nanoseries User Manual. Inglaterra: Malvern Instruments; 2004.
61. Angel M. Microscopia electrónica. In: Inorgánica Q, editor.: Técnicas Estructurales; 2004.
62. Qualitas R. Métodos de difracción de rayos X México: Consultoría de Calidad y Laboratorio SL; 2012.
63. Baalousha. M, Manciuela. A, Cumberland. S, Kendall. K, Lead. J. Aggregation and surface properties of iron oxide nanoparticles: Influence of pH and natural organic matter. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2008;27(9):1875-82.
64. Massart R. Preparation and properties of monodisperse magnetic fluids. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. 1995;149:1-5.
65. Chastellain M, Petri A, Hofmann H. Particle size investigations of a multistep synthesis of PVA coated superparamagnetic nanoparticles. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2004;278:353-60.
66. Andrade A, Souza D, Pereira M, Fabrise J, Domingues R. pH Effect on the synthesis of magnetite nanoparticles by chemical reduction-precipitation method. *Quim Nova*. 2010;33(3):524-7.
67. Miller F, Wilkins C. Infrared Spectra and Characteristic Frequencies of Inorganic Ions. *Analytical Chemistry*. 1952;2(8):1253-94.
68. Hu Y, Li J, Zhang Z, Zhang H, Luo L, Yao S. Imprinted sol-gel electrochemical sensor for the determination of benzylpenicillin based on Fe₃O₄@SiO₂/multi-walled carbon nanotubes-chitosans nanocomposite film modified carbon electrode. *Analytica Chimica Acta*. 2011;698:61-8.
69. Liu Y, Huang Y, Liu J, Wang W, Liu G, Zhao R. Superparamagnetic surface molecularly imprinted nanoparticles for water-soluble pefloxacin mesylate prepared via surface initiated atom transfer radical polymerization and its application in egg sample analysis. *Journal of Chromatography A*. 2012:7.
-

-
70. Dabrowsky A, Tertykh V. Adsorption on New and Modified Inorganic Sorbents. Netherlands: Elsevier Science B.V.; 1996.
71. Paria S, Khilar K. A review on experimental studies of surfactant adsorption at the hydrophilic solid–water interface. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2004;110(3):75-95.
72. Wang X, Mao H, Huang W, Guan W, Zou X, Pan J, et al. Preparation of magnetic imprinted polymer particles via microwave heating initiated polymerization for selective enrichment of 2-amino-4-nitrophenol from aqueous solution. *Chemical Engineering Journal*. 2011;178:85-92.
73. Valero A, Medina A, fernandez J, Fernandez A. Synthesis of a novel polyurethane-based-magnetic imprinted polymer for the selective optical detection of 1-naphthylamine in drinking water. *Biosensors and Bioelectronics*. 2011;26:4520-5.
74. Zhang M, Zhang Z, Liu Y, Yang X, Luo L, Chen J, et al. Preparation of core–shell magnetic ion-imprinted polymer for selective extraction of Pb(II) from environmental samples. *Chemical Engineering Journal*. 2011;178:443-50.