



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

ANEXO II

FACULTAD DE QUÍMICA

**FORMACIÓN DE IMPLANTES DE IVERMECTINA CON POLÍMEROS
MOLECULARMENTE IMPRESOS, PARA SU LIBERACIÓN
CONTROLADA.**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA

JAZMÍN ALVARADO CÓRDOVA



MÉXICO, D.F.

2013



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Carolina Muñoz Padilla

VOCAL: José de Jesús Mateo Villacampa Ramos

SECRETARIO: Jesús Gracia Mora

1er. SUPLENTE: Abraham Faustino Vega

2° SUPLENTE: María Josefa Bernad Bernad

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

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

Ciudad Universitaria.

ASESOR DEL TEMA:

Dr. Jesús Gracia Mora

SUPERVISOR TÉCNICO:

Dra. María Josefa Bernad Bernad

SUSTENTE

Jazmín Alvarado Córdova

ABREVIATURAS	4
I.RESUMEN	5
I.ANTECEDENTES	
1. Las garrapatas	8
2. Control de la garrapata	11
2.1. Control biológico	12
2.2 .Control genético	12
2.3 .Control químico	13
2.3.1. La ivermectina	16
3. El uso de endectocidas en veterinaria para el control de la garrapata	18
4. Efectos ecológicos causados por endectocidas	20
5. Sistemas de liberación modificada	23
6. Mecanismo de liberación de los sistemas poliméricos	26
6.1. Sistemas controlados por difusión	27
6.2. Sistemas controlados por vía química	29
6.2.1. Sistemas bioerosionables	29
6.3. Sistemas controlados por el disolvente	30
6.3.1. Sistemas controlados por hinchamiento	30
6.3.2. Sistemas osmóticos	31
7. Química supramolecular	31
7.1. Impresión molecular	32
7.2. Clasificación de los polímeros de impresión molecular	35
7.2.1. Síntesis de polímeros de impresión molecular	37
7.3. Aplicaciones de los polímeros de impresión	38
8. Granulometría	41
8.1. Propiedades deseadas de los polvos	42
8.2. Preformulación	42
9. Bioensayo con Artemia salina	47
III.PLANTAMIENTO DEL PROBLEMA	51

IV.OBJETIVOS	53
V. MATERIAL Y EQUIPO	
1. Equipo	54
2 Material	55
VI. METODOLOGÍA	
1. Síntesis de polímeros de impresión molecular	56
2. Tratamiento de polímeros	
2.1. Curva patrón de ivermectina	58
2.2. Limpiando los polímeros de ivermectina	59
2.3. Cargando de ivermectina al polímero	60
2.4. Cinética liberación de ivermectina <i>in vitro</i>	61
3. Estudios de reología	61
3.1. Densidad aparente	62
3.2. Densidad compactada	62
3.3. Densidad verdadera	63
3.4. Tamaño de distribución de partícula	64
3.5. Comprimidos	64
3.6. Implantes	65
3.7. Administración de los MIP y NIP en ratas wistar	65
3.7.1. Recolección de heces	67
3.8. Bioensayo con Artemia salina	67
VII. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	

1. Síntesis de polímeros	69
2. Reducción de tamaño de partícula en MIPs y NIPs	70
3. Extracción de la molécula horma	71
4. Cargando de ivermectina a los polímeros	72
5. Liberación in vitro de IVM	73
6. Estudios de reología	74
7. Implantes	80
8. Bioensayo	84
VIII. CONCLUSIONES	88
IX. PRESPECTIVAS	90
X. BIBLIOGRAFÍA	91

ABREVIATURAS

MIP	Polímero de Impresión Molecular.
NIP	Polímero de No Impresión Molecular.
IVM	Ivermectina.
PETA	Triacrilitato de Pentaeritrol.
MMA	Ácido Metacrílico.
AIBN	2,2´azobisisobutironitrilo
UvMIP	Polímero de Impresión Molecular sintetizado en condiciones de luz Uv a 4°C.
UvNIP	Polímero de No Impresión Molecular sintetizado en condiciones de luz Uv a 4°C.
CMIP	Polímero de Impresión Molecular sintetizado en condiciones de calor a 65°C.
CNIP	Polímero de No Impresión Molecular sintetizado en condiciones de calor a 65°C.
UvMIP s/IVM	Polímero de Impresión Molecular sintetizado en condiciones de luz Uv a 4°C sin carga de Ivermectina.
UvNIP s/IVM	Polímero de No Impresión Molecular sintetizado en condiciones de luz Uv a 4°C sin carga de Ivermectina.
UvMIP c/IVM	Polímero de Impresión Molecular sintetizado en condiciones de luz Uv a 4°C con carga de Ivermectina.
UvNIP c/IVM	Polímero de No Impresión Molecular sintetizado en condiciones de luz Uv a 4°C con carga de Ivermectina.
CMIP s/IVM	Polímero de Impresión Molecular sintetizado en condiciones de calor a 65°C sin carga de Ivermectina.
CNIP s/IVM	Polímero de No Impresión Molecular sintetizado en condiciones de calor a 65°C sin carga de Ivermectina.
CMIP c/IVM 1sat.	Polímero de Impresión Molecular sintetizado en condiciones de calor a 65°C primera saturación de Ivermectina.
CNIP c/IVM 1sat.	Polímero de No Impresión Molecular sintetizado en condiciones de calor a 65°C primera saturación de Ivermectina.
CMIP c/IVM 2sat.	Polímero de Impresión Molecular sintetizado en condiciones de calor a 65°C segunda saturación de Ivermectina.

I. RESUMEN

El área veterinaria enfrenta en la actualidad la falta de novedosos sistemas de liberación de fármacos el cual permitiría un adecuado manejo de los animales y en consecuencia una dosificación adecuada al tratar con animales de gran tamaño. Por tal razón por año se ha enfrentado un enorme problema a nivel mundial el control de los parásitos, en este caso de la garrapata *Boophilus spp*, ácaro que genera un impacto negativo en la producción ganadera.

Se han implementado varios métodos para la eliminación de la garrapata con el uso de acaricidas químicos, como los baños de inmersión, que es el método más conocido y de mayor difusión, pour on, inyectables con las avermectina. La problemática a enfrentar es el suministro continuo del medicamento a grandes cantidades de ganado, sumando el difícil manejo de los animales de gran tamaño y la alta cantidad de ivermectina que se administra en comparación con la absorbida ha generado la necesidad de nuevas formas de administración de medicamento que contengan este principio activo.

El uso de sistemas de liberación controlada es una alternativa principal ya que ofrecen grandes ventajas; como son la disminución en las múltiples dosis, la duración del efecto sistémico por periodos prolongados debido a la liberación controlada de ivermectina, la disminución en la cantidad administrada de éste fármaco en comparación con los ya existentes en el mercado, también un mayor absorción en el organismo por consecuencia sería una menor cantidad excretada en heces hacia el medio ambiente.

Con toda la información anterior en el presente trabajo se utilizó la tecnología conocida como Polímeros de Impresión Molecular (MIP por sus siglas en inglés) que son capaces de tener un reconocimiento molecular muy específico para una solo molécula de interés, en este caso el principio activo la ivermectina, esto puede ser aplicado para

desarrollar un sistema que muestre una liberación gradual por largos periodos de tiempo.

Para la síntesis del polímero molecularmente impreso la ivermectina, el principio activo, funcionó como molécula horma, la cual es un acaricida muy eficiente para el ganado bovino. El método de síntesis, para la obtención de MIPs, fue por el método de bloque. Se obtuvieron polímeros utilizando triacrilato de pentaeritrol (PETA) como agente entrecruzador, como molécula horma la ivermectina y el ácido metacrílico (MMA) como monómero funcional. Para iniciar la polimerización vía radicales libres se empleó 2,2' azobisisobutironitrilo (AIBN).

Como un comparativo para evaluar el efecto de hormado se prepararon los polímeros que no tienen horma (NIPs), es decir los polímeros no impresos. Se emplearon dos condiciones de iniciación de la polimerización; calor e irradiación de la luz Uv.

Los MIPs y NIPs se pusieron en contacto con una disolución saturada de ivermectina para conocer la cantidad de principio activo que una vez obtenidos todos los polímeros, se removi6 la ivermectina mediante diferentes tipos de "lavado" y se volvió a cargar los polímeros limpios con este fármaco. Posteriormente se les hicieron pruebas reológicas a cada uno de ellos, con la finalidad de formular adecuadamente estos materiales; las cuales consistieron en densidad aparente, compactada y verdadera, y distribución del tamaño de partícula; con la finalidad de la obtención de comprimidos.

Finalmente, se evalúa la liberación de ivermectina con todos los sistemas preparados, *in vivo*, con ratas blancas wistar. Se administró subcutáneamente un implante subdérmico, de los polímeros cargados con ivermectina. También se estudiaron grupos de rata control y con una formulación comercial de ivermectina.

La forma de evaluar la liberación fue recolectando las heces de los ratones en un periodo entre 6 a 45 días, y se hicieron bioensayos con *Artemia salina*, que es un crustáceo perteneciente al orden Anostraca Branchiopoda y muy susceptible a este fármaco. Los resultados indicaron que cuando se administro al UvMIP el punto máximo de dosis efectiva esta más desplazado indicando la efectividad a mayor tiempo en comparación con el UvNIP y la IVM. Con lo anterior se comprobó la efectividad que tienen los polímeros de impresión molecular al utilizarlos como una matriz de liberación controlada.

II.ANTECEDENTES

1. LAS GARRAPATAS.

Es de sumo interés el estudio de las garrapatas no solo por los daños directos que ocasionan al ganado, animales domésticos y silvestres, sino por la gran cantidad de gérmenes patógenos transmitidos al humano. En nuestro país se han establecido cerca de un 10% de las 800 especies conocidas, identificando tan solo a 77 especies de garrapatas; lo cual representa el 45% de América Latina, se atribuye esta la gran variedad a el clima adecuado para el desarrollo de éstas (Tabla 1).^[2]

Agente Infeccioso	Transmisor	Enfermedad
Babesia bigemina	<i>Boophilus spp.</i>	Fiebre de Texas o Piroplasmosis
Babesia bovis	<i>Boophilus spp, Ixodes spp.</i>	Hemoglobinuria epidémica
Anaplasma marginale	<i>Boophilus spp., Dermacentor spp., Rhipicephalus spp., Amblyomma spp., Ixodes spp., Haemaphysalis spp.,</i>	Anaplasmosis
Ehrlichia bovis	<i>Amblyomma spp., Haemaphysalis spp.</i>	Rickettsias bovina

Tabla 1. Principales agentes infecciosos y enfermedades del bovino, transmitidas por garrapatas en México. (Tomada de <http://www.sanidadanimal.com/manuales.php?w=garrapatas>)^[1]

Las garrapatas son artrópodos, cuyo cuerpo está cubierto de cutícula la cual contiene quitina y esclerotina; proporcionando áreas duras que forman un exoesqueleto. Los artrópodos forman el grupo más numeroso de animales que habitan la tierra. El efecto patógeno puede deberse a lesiones traumáticas al momento de sustraer sangre, tiempo en el cual se pueden transmitir virus, bacterias, protozoarios o toxinas.

El ciclo de la garrapata son cuatro estadios evolutivos: huevo, larva, ninfa y adulto; los cuales pueden ocurrir en al menos tres huéspedes (Figura 1).

La hembra coloca alrededor de 2,000 hasta 5,000 huevecillos (esto depende de la especie) en el pasto o lugares protegidos, hasta que las condiciones ambientales sean adecuadas para salir como larva mientras encuentra a su primer hospedero; el cual puede ser desde un humano, perro o bien alguno otro organismo intermedio. La larva por si solo ataca, se fija y se mueve en la piel para alimentarse y con esta su primer comida se deja caer y muda convirtiéndose en ninfa buscando un huésped diferente.

Aunque las ninfas no son detectadas a simple vista por su tamaño tan pequeño, si pueden ya transmitir enfermedades. Y otra vez comienza con el proceso hasta la vida adulta donde ya esta diferenciada sexualmente, tiempo en el cual se alimenta para llenarse por completa de sangre aumentando su peso hasta 100 veces, copula por lo general antes de alimentarse y se cae al pasto para empezar a ovopositar cerrando así su ciclo de vida; el cual dura alrededor de 22 días. Lo cual lleva a la muerte a la garrapata hembra. El macho sigue alimentándose, las etapas son dependientes del entorno ambiental.^[2]

Las garrapatas pueden pasar hasta 250 días o más sin alimentarse, periodo por el cual es difícil de erradicar por completo. Además que las condiciones de humedad y una temperatura elevada ayuda a su rápido desarrollo.

Las especies de *Boophilus spp* reportadas en México son garrapatas de un solo huésped, durando tres semanas, incluyendo sus dos mudas (de larva a ninfa, de ninfa a adulta) realizando todas sus cambios en el mismo animal.

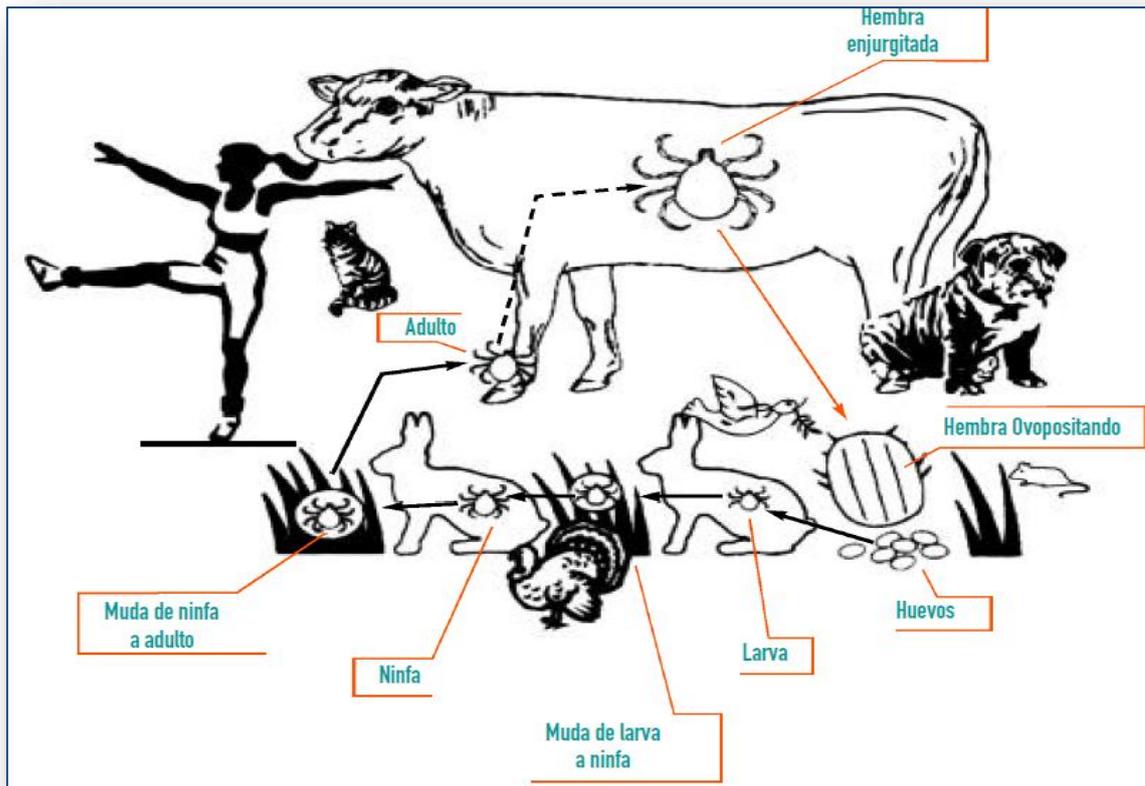


Figura 1. Ciclo Biológico de la Garrapata. (Tomada de

<http://www.webveterinaria.com/merial/Garrapata.pdf>)^[3]

Las consecuencias directas o indirectas de la parasitación por garrapatas son:

- La ingesta de alimentos por el ganado disminuye.
- Las pérdidas de peso por toxinas e irritación.
- La pérdida de sangre y transmisión de hemoparásitos causa anemias reflejada en la producción de leche.
- Debilita al sistema inmunológico por lo cual hay presencia de otras enfermedades.
- Las pieles se devalúan debido a las picaduras por estos parásitos, condiciones para el acceso de bacterias, micosis dermales y larvas de moscas; las cuales provocan infecciones agudas crónicas o incluso la pérdida del ganado bovino.^[3]

2. CONTROL DE LA GARRAPATA.

Un adecuado manejo de este tipo de parásitos es sin duda una prioridad, debido a las pérdidas millonarias que repercute en la economía pecuaria mundial. El estimado para México por la infestación de *Boophilus spp* es de más de 47 millones de dólares por año.^[1] Además de las infecciones provocadas por una amplia variedad de agentes patógenos.

El control de la garrapata con el uso de diferentes sustancias químicas en los últimos tiempos ha sido importante contra este parásito. Se emplean para el baño de animales productos pertenecientes a diversas familias químicas siendo los más comunes: clorados, organofosforados, carbamatos y más recientemente, amidinas y piretroides (Figura 2).

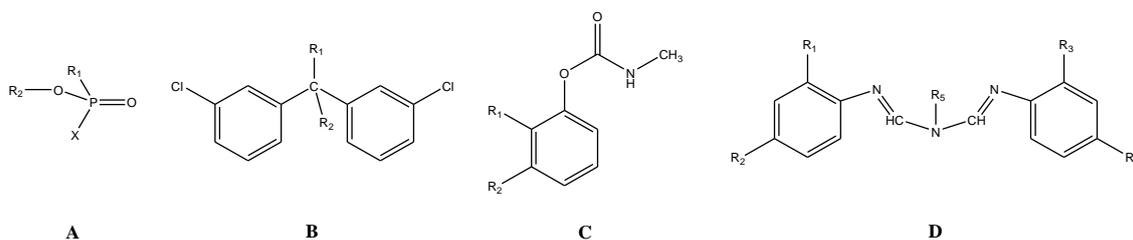


Figura 2. Estructura base de algunos antiparasitarios: A) Organofosforados, B) Organoclorados, C) Carbamatos y D) Formamidinas.

Algunos de estos compuestos se dejaron de usar por problemas de alta toxicidad para el ganado y el ser humano, otros al causar efectos masivos para la ecología, además cepas resistentes de garrapatas. Por lo cual las alternativas en la actualidad son muy difíciles; pero no imposibles, puesto que la resistencia de los parásitos es mayor al desarrollo de nuevos fármacos.

Para evitar la resistencia de cepas son necesarios los estudios que permitan la aplicación de productos efectivos y con las concentraciones adecuadas, para que los nuevos ixodicidas tengan una mayor vida útil. La evolución de la resistencia se debe a factores

que influyen directamente los cuales se clasifican en: biológicos, genéticos y químicos.^[4]

2.1. CONTROL BIOLÓGICO.

Las garrapatas al presentar una resistencia por los productos químicos en el mercado, se tienen la necesidad de emplear nuevas áreas de investigación, las cuales se han estado desarrollando a lo largo de los tiempos, solo que es una parte no tan estudiada como otras; es el uso de la inmunología.

Se han utilizado vacunas contra la garrapata las cuales llevan antígeno recombinante Bm86 el cual fue aislado del intestino de la especie *Boophilus microplus*. Pero debido a que hay ciertas zonas en el mundo donde este parásito coexiste con otras especies, se han desarrollado nuevas vacunas basándose en la tecnología de bacteriófago; obteniendo inmunógenos específicos que imitan antígeno para diferentes especies de garrapatas.^[5] Esta vacuna contienen el antígeno Bm86 induce una respuesta inmune en el bovino afectando la repleción de las teleoginas y su potencial biótico; el paso de generaciones sucesivas sobre el animal inmunizado, logra una reducción progresiva de las poblaciones de garrapatas. Unas de las ventajas que se tiene con este tipo de tratamientos son: grandes ahorros por concepto de acaricidas y mano de obra, reducción de los problemas asociados al manejo de químicos (contaminación, generación de resistencia y reducción de la morbiletalidad por hemoparásitos).^[6]

2.2. CONTROL GENÉTICO.

El control de las garrapatas se basa exclusivamente en el uso de insecticidas y acaricidas de contacto o mediante el uso de productos sistémicos, los cuales son muy nocivos para el propio animal como a los humano. Por ello alguna otra alternativa es el control genético que es solo la resistencia que ciertas razas tienen hacia el parásito

principalmente al ganado cebú. Estudios realizados en Australia han demostrado que esta resistencia es altamente heredable (80%), en la progenie cruzada *Bos indicus* por *Bos taurus*, pero mucho menor en la progenie de razas puras *Bos taurus* (40%), en otras palabras existe resistencia tanto en animales con sangre cebú como en animales puros tipo europeo, pero la capacidad de heredar esta característica es mayor en animales cruzados con cebú.^[7] Siendo una alternativa confiable es tardada debido a que en promedio será de 4 generaciones en adelante para poder heredar tal resistencia un tiempo aproximado es de 15 años.

2.3. CONTROL QUÍMICO.

La utilización de los productos químicos es sin duda el método más eficiente para el control de las garrapatas, a una frecuencia de tratamientos variables dependiendo del nivel de infestación de los animales. Se agrupan los acaricidas de acuerdo a la similitud en su estructura química y sitio de acción; pero cada uno de ellos tienen diferente sitio blanco entre los parásitos de diferentes géneros.

En México existe 6 grupos autorizados para el control de garrapatas, los cuales se dividen en los siguientes grupos: organofosforados, piretroides, amidinas, endectocidas, fenilpirazolonas e inhibidores del desarrollo. También se cuenta con mezclas de dos productos químicos recomendados para uso cuidadoso por el riesgo de posible resistencia rápidamente (Tabla 2).^[8]

FAMILIA	PRODUCTO COMERCIAL	PRINCIPIO ACTIVO	FORMA DE APLICACIÓN
Organofosforados	Asuntol líquido®	Coumafos	Aspersión, Inmersión
	Asuntol polvo®		
	Co-ral flowable®		
	Ganafos®		
	Dursban 24 E®	Clorpirifos	

	Link®		
	Supona CE®	Clorfenvinfos	
Piretroides	Barricada CE®	Cipermetrina	Aspersión, Inmersión
	Batestan plus®		
	Ticoff®		
	Cypermil aspersión®		Aspersión
	Cypermil pour on®		Pour on
	Batestop®	Deltametrina	Aspersión, Inmersión
	Butox®		
	Bayticol baño®	Flumetrina	Pour on
	Bayticol PO®		
	Ectiban L pour on®	Landacyalotrina	Pour on
	Elantik 25®	Zeta Cipermetrina	Aspersión, Inmersión
	Elantik 62.5®		
	Panecto pour on®	Alfa Cipermetrina	Pour on
	Renegade pour on®		
	Ultimate pour on®		
	Ultimate®		Aspersión, Inmersión
Amidinas	Bombard®	Amitraz	Aspersión, Inmersión
	Bovitraz®		
	Drastic®		
	GAmitraz®		
	Nokalt®		
	Preventick solución®		
	Taktic®		
	Trak®		
	Triatix®		
Endectocidas	Cydectin NF®	Moxidectina	Inyectable
	Cydectin Onyx®		

	Dectomax®	Doramectina	
	Baymec prolong®	Ivermectina	
	Coopermec®		
	Dectiver Premium®		
	Ivermectina 1%		
	Ivermectina 1% LA		
	Ivomec Gold®		
	Ivomec inyectable®		
	Rank L.A.		
	Zeramec®		
Fenilpirazolonas	Ectoline pour on®	Fipronil	Pour on
Inhibidores del Desarrollo	Acatak®	Fluazurón	
Mezclas	Bayticol plus P.O.®	Flumetrina+Cyflutrina	Aspersión, Inmersión
	Ectogan®	Cymiazol+Cipermetrina	
	Garraban Mo 29®	Permetrina+Clorpirifos	
	Supocade CE®	Clorfenvinfos+ Cipermetrina	

Tabla 2. Productos autorizados para el control de garrapatas en México.

El grupo de principios activos de mayor interés en este trabajo son endectocidas cuya estructura química es una lactona macrocíclica de 16 miembros. Las cuales pertenecen a dos grandes familias según el actinomiceto de cuya fermentación provienen: avermectinas y milbemicinas (Figura 3).^[9]

Entre los varios estudios realizados no es posible asignar un mecanismo único de acción para las avermectinas. En cierto organismo, el efecto de este fármaco es medido por un sitio de fijación específico de alta afinidad, cuya respuesta fisiológica a esta unión es un aumento en la permeabilidad a los iones cloruro, lo cual

es independiente de los canales de iones cloruro mediados por GABA.^[10] Lo cual conlleva a que el parásito muera por una parálisis.

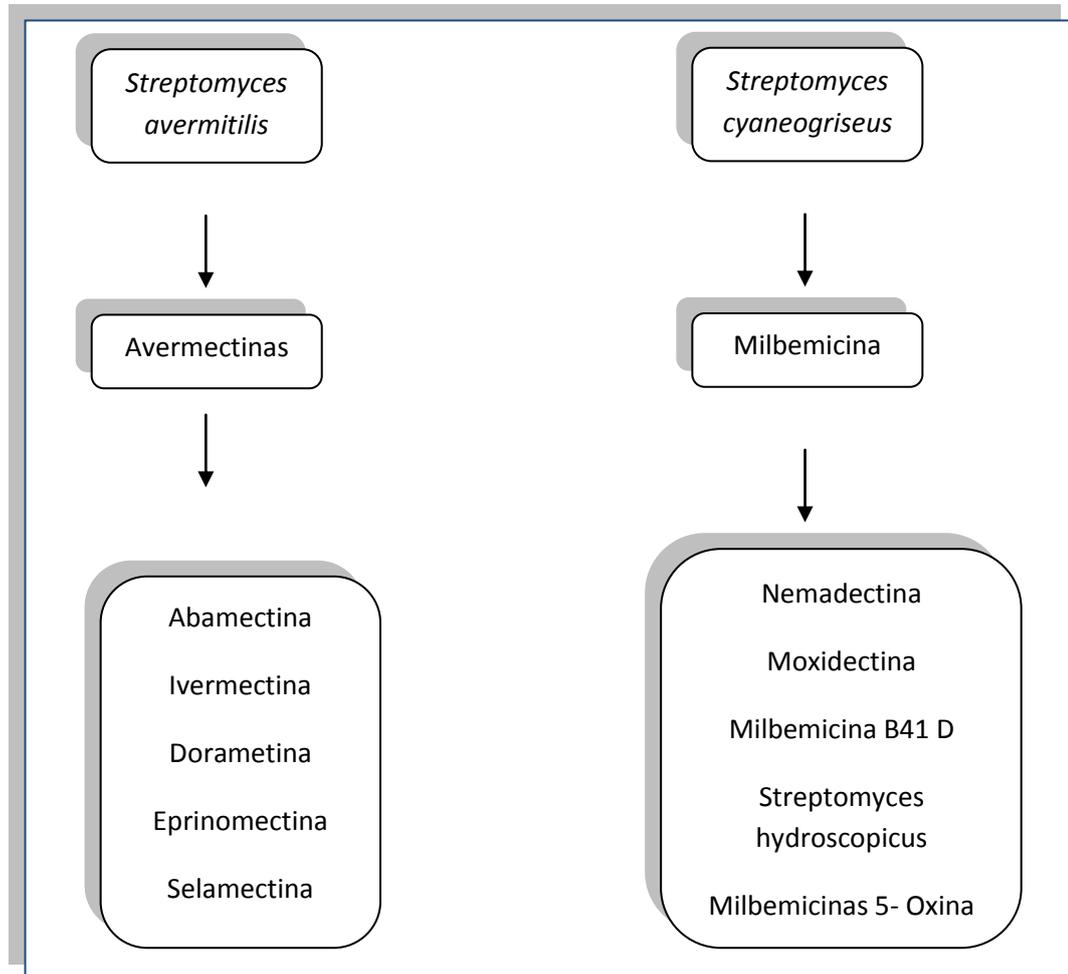


Figura 3. Origen y clasificación de las lactonas macrocíclicas: avermectinas y milbemicinas.

El mecanismo de acción de este fármaco es por la interferencia en la sinapsis muscular; actúa bloqueando los canales de cloro-glutamato (comunes en nematodos, insectos y garrapatas) con la consecuencia de hiperpolarización y paralizando la faringe y los músculos somáticos provocando la muerte.^[11]

2.3.1. LA IVERMECTINA.

La ivermectina se ha usado desde principios de los años 80, en el área veterinaria. Es muy eficaz contra los endo y ectoparásitos. El fármaco es el resultado de la fermentación de *Streptomyces avermitilis* el cual es muy liposoluble y poco hidrosoluble, por lo cual

se recomienda su aplicación por las vías de administración como son: subcutánea, intramuscular y tópica.

La ivermectina (5-O-dimetil-22-23-dihidroavermectina) es un análogo semisintético de la abamectina, conteniendo un 80% de 22,23-dihidroavermectina B1a y no más de un 20% de 22,23-dihidroavermectina B1b (Figura 4). Las propiedades fisicoquímicas con las siguientes:

- Peso molecular 875.1 g/mol.
- Aspecto físico son cristales incoloros.
- Fórmula molecular es $C_{48}H_{74}O_{14}$ (B_{1a}), $C_{47}H_{72}O_{14}$ (B_{1b}).
- Solubilidad en agua: 4 mg/L.
- Punto de fusión de 155°C.

Es un fármaco lipofílico lo que le confiere características farmacocinéticas de un alto volumen de distribución con un gran afinidad por las grasa corporal y prolonga persistencia de sus concentraciones en el organismo.^[9]

El uso de este fármaco es diverso destacando los más usados son las inyecciones subcutáneas con dosis de 0.2 mg/Kg, la presencia de la ivermectina en plasma animal es de una vida media de tres días. La dosis es mayor en formulaciones pour on no acuosa, 0.5 mg/kg. Al administrar en formulaciones acuosas en bolo intestinal liberando por más de cuatro meses es de 12.7 mg/Kg.

En la mayoría de los casos hasta un 98% de la avermectinas se excretan por las heces tanto metabolitos activos o sin modificación alguna. Como consecuencia de estas sustancias antihelmínticas sus efectos recaen directamente sobre la reproducción, la función biológica y supervivencia de aquellos organismos acuáticos y terrestres que no son blancos.^[12]

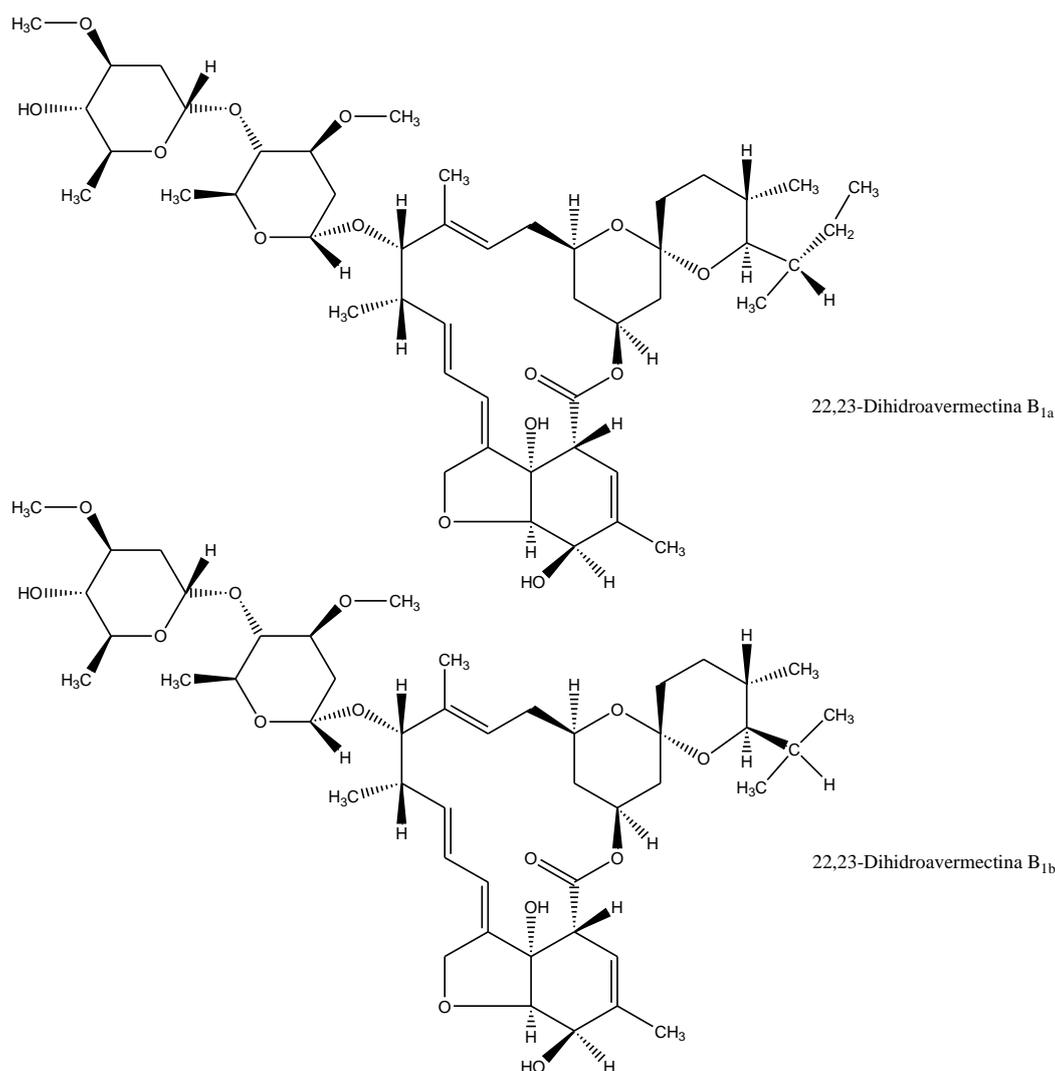


Figura 4. Estructura química de la Ivermectina (IVM).

3. EL USO DE ENDECTOCIDAS EN VETERINARIA PARA EL CONTROL DE LA GARRAPATA.

Como se hace mención en la tabla 2 el uso de fármacos en veterinaria para el control de la garrapata es muy estrecho, debido a que las presentaciones farmacéuticas disponibles en el mercado solamente son cuatro: aspersión, inmersión, pour on e inyectables. Los cuales son manejadas a grandes escalas donde las dosis pudieran no ser tan efectivas debido a las manipulaciones humanas, lo cual acarrea problemas de resistencia química.

El método de aspersión es mojar al animal con garrapaticidas por medio de aspersores adaptados a una manga de manejo o con una bomba de mochila. La ventaja es que cada tratamiento se usa inmediatamente después de su preparación, asegurando la máxima eficacia debido a que cuentan con las concentraciones adecuadas de la sustancia activa, dejando de lado el efecto agresivo que este tipo de sustancia generan hacia el medio ambiente debido a que no solo mata al parásito de interés, por ello es importante otras formas adecuadas de dosificación.

Para la aplicación con los baños de inmersión se necesita en primera las instalaciones correctas como es un estanque de capacidad entre 7, 000 y 10, 000 litros por donde se hace pasar al animal de manera consecutiva, logrando un mojado completamente saturado de la sustancia activa del garrapaticida. Los inconvenientes básicos son las instalaciones, el adecuado mantenimiento de ellas y desde luego la manipulación de los animales, lo cual llega a ser estresante para ellos.

Los tratamientos con pour on son derramar los productos sobre la línea media dorsal del bovino desde la cruz hasta la base de la cola. Esto se aplica en casos donde las vacas están preñadas o con crías, también en lugares donde no existe la facilidad para el manejo de los animales. Las formulaciones tienen como objetivo adherirse sobre la superficie del cuerpo bovino, ayudadas de las secreciones de las glándulas sudoríparas y sebáceas, forman una emulsión que actúa como vehículo para aumentar la distribución dérmica de la sustancia activa.

Las inyecciones son comúnmente utilizadas para la aplicación de endectocidas cuya vía de administración son la intramuscular y la subcutánea. Esta última tienen una vida media de 8.3 días en plasma, basado en la formulación de solventes orgánicos lo cual

ayuda a la lenta absorción lo cual se ve reflejado en los efectos de los residuos fecales que alteran a la fauna.

Además existen tratamientos con aretes o collares impregnados de pesticidas donde la base son plásticos o PVC que ayudan a una liberación retardada y sostenida, de donde pueden alcanzar todo el cuerpo del animal.

Los medicamentos endectocidas tienen un alto potencial a bajas concentraciones frente a los nematodos y artrópodos, además son excretados en una fracción considerable por heces a las cuales se unen con fuerza con una vida media prolongada, entre 111-260 días a una temperatura de 20°C, aunque la luz del sol puede acelerar la degradación de la ivermectina, no es suficiente para no causar daño a la flora y fauna. Como es el caso de algunos insectos como el escarabajo pelotero que con solo 0.001 ppm son tóxicos.

4. EFECTOS ECOLOGICOS CAUSADOS POR ENDECTOCIDAS.

El estiércol fresco proporciona un hábitat húmedo, protegido, rico de recursos que apoye una comunidad diversa de insectos coprófilos; ácaros, nematodos, gusanos y hongos (Figura 5). Cada grupo de insectos coprófilos se define en base a su dieta.

Las concentraciones de residuos fecales varían con la ruta del uso, por ejemplo; las presentaciones orales manifiestan los picos más agudos de la excreción con la mayor parte de la dosis excretada durante días, en formulaciones inyectables o tópicas tienen un plazo de 2 a 7 días pos-tratamiento seguido por un periodo persistente de más de 4 a 6 semanas.

Los estudios realizados en EU por Hurlbert Herd ^[13] señalan las concentraciones de ivermectina en el estiércol después de una administración oral [0.2 mg/Kg] es de 8.5 ppm a un día de la

dosificación y en posteriormente fue de 0.05 ppm. Al analizar residuos del fármaco en formulaciones pour on con [0.5 mg/Kg] obtuvieron la concentración máxima de 9.0 ppm un día después de tratamiento, en inyección subcutánea fue de 3.9 ppm.

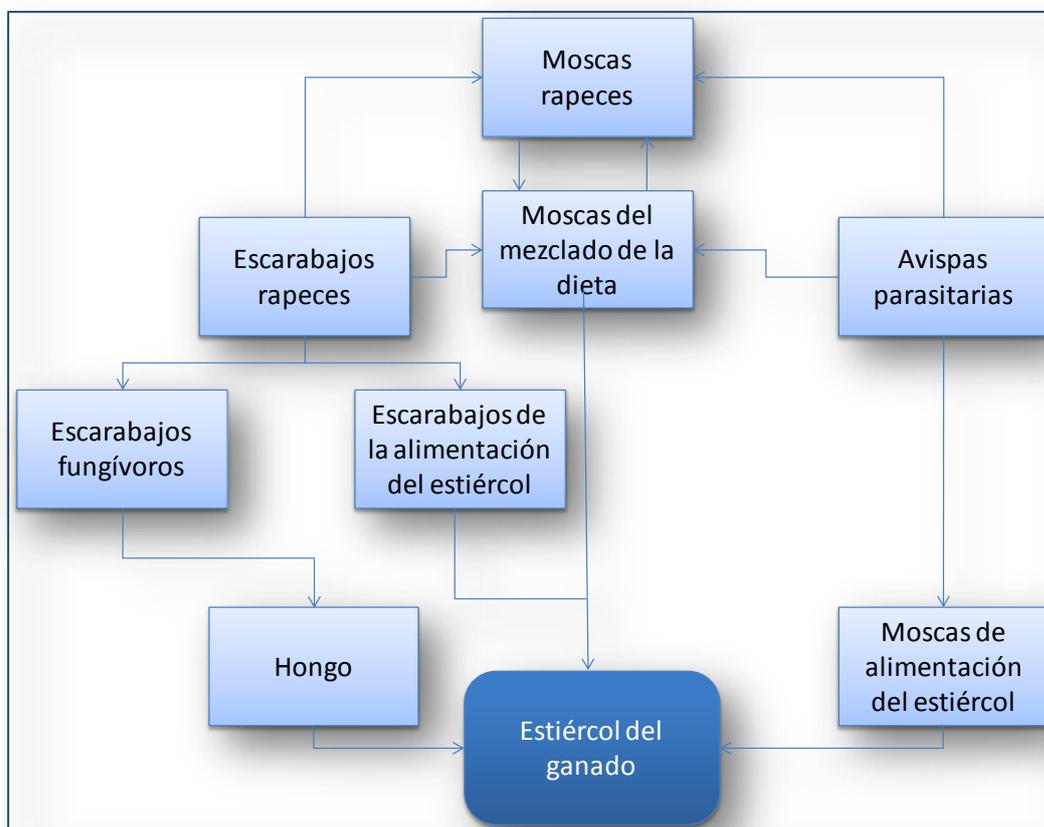


Figura 5. Organigrama de interacciones coprófilas entre los insectos comunes en el estiércol del ganado. ^[14]

Se sugiere que los residuos de la mayoría de los parasiticidas veterinarios tengan una movilidad baja en el ambiente para evitar daño alguno. Se toma en cuenta el indicador de la movilidad con los coeficientes normalizados de carbón orgánico de la absorción (Kco). Las sustancias con el $Kco > 1000$ presentan una movilidad baja. El valor obtenido por la avermectinas se extiende desde 3231 hasta 86900 Kco. Lo anterior deja claro que no solo afecta a los insectos coprófilos del estiércol, también al suelo en superficie y las aguas subterráneas tiende a un mayor riesgo a los organismos acuáticos. ^[15]

El modelo de acción de las avermectinas no es específico para los parásitos nematodos e artrópodos y por lo tanto pueden afectar a otros organismos en el medio ambiente. Es la razón por lo cual provoca daños tóxicos en los peces debido a que puede estar en la sangre y pasar la barrera hematoencefálica en estas especies^[12].

Según el grado de toxicidad de las avermectinas hacia los insectos por orden decreciente es; abamectina > dorametina ≥ ivermectina > eprinomectina > moxidectina. Por ello es indispensable tener métodos adecuados para una mejor liberación de este tipo de fármaco, los efectos encontrados son variables desde la modificación de la dosis, las presentaciones farmacéuticas, la persistencia en el medio ambiente lo cual proporciona un daño considerable y si se añade la época del año; se puede encontrar que hay diferentes resultados de la movilidad de las especies de insectos que habitan el estiércol.^[14]

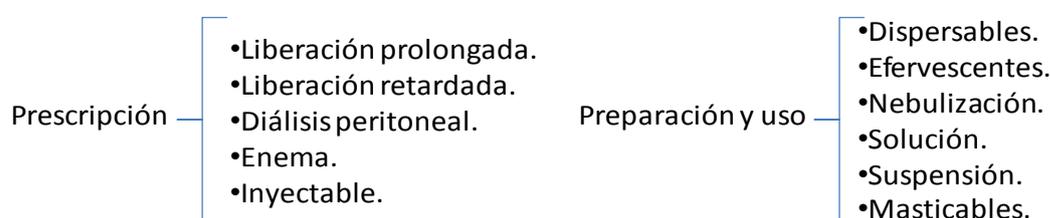
Los insectos ayudan en actividades tales como dispersión del estiércol, reciclaje de nutrientes, aireación del suelo, filtración del agua, la productividad del pasto y el control del nematodo. Aseguran el área de pastoreo del ganado con la reducción del estiércol. Las avermectinas afectan directamente la degradación del estiércol con sus efectos mortales y sub-letales sobre la fauna del estiércol, e indirectamente con sus efectos sobre los procesos de la colonización del estiércol y de la sucesión.

Por tales razones es importante no olvidar el daño causado a otras especies no blanco del fármaco considerando los factores como; la formulación, dosificación y la ruta de administración, claves decisivas para la determinación del perfil de eliminación del antihelmíntico por residuos fecales. En el mercado existe presentaciones inyectadas promoviendo una absorción lenta en el sitio de aplicación y prolonga el periodo de alta concentración en plasma.

5. SISTEMAS DE LIBERACIÓN MODIFICADA.

La forma farmacéutica es un dispositivo individualizada adaptada con el principio activo y excipientes para constituir un medicamento, la cual puede ser una mezcla de uno o más sustancias medicinales con ciertas características físicas para su adecuada dosificación, conservación y administración.

Al utilizar un medicamento se debe conocer la información necesaria para un adecuado manejo, prescripción y efectos adversos. En general se observa que la información adicional está relacionada con:



FARMACOPEA DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS 9ª EDICIÓN.^[16]

Se considera forma farmacéutica de liberación modificada (FFLM) aquella en la que la velocidad y el lugar de liberación de la sustancia o sustancias activas se diferencian de la forma farmacéutica de liberación convencional, administrada por la misma vía. Estas FFLM tienen como objetivo alcanzar niveles terapéuticos del fármaco en el lugar de acción y mantenerlos a lo largo del tratamiento, alternando la velocidad y el tiempo o el lugar de liberación del fármaco. Por ello presentan numerosas ventajas destacando: reducción de la frecuencia de la administración; efecto terapéutico más uniforme; disminución de los efectos secundarios.^[17]

El empleo de determinados fármacos se limita por muchas desventajas asociadas con sus propiedades físicas tales como la solubilidad, coeficiente de partición y cargas. Por ello los fármacos pueden estar en diferentes sitios en los cuales podrían presentarse fuera de sus intervalos terapéuticos, que sean inactivos, o su acción

indeseada o nociva y generar así efectos secundarios negativos. Con estas problemáticas existen dos métodos para mejorar la acción de los fármacos:

- ◆ ***Liberación controlada***: Es aquella que elimina o reduce los efectos secundarios produciendo una concentración terapéutica del fármaco que sea estable en el organismo. Se trata de alcanzar una cinética de liberación de orden cero y no suelen existir cambios en la concentración del fármaco en el organismo (comparándolo con los cambios intermitentes de concentración en las dosificaciones convencionales).

- ◆ ***Liberación dirigida hacia lugares específicos***: Que trata de asegurar que el fármaco es liberado en el lugar requerido, y al mismo tiempo mantiene el fármaco inactivo en cualquier otro lugar del organismo.

En la administración transdérmica no solo suele ser aquellas enfermedades tratadas con cremas las cuales representan una forma convencional de liberación del medicamento de forma rápida, eliminación fácil pero una administración imprecisa. También otras formas de liberación son las inyecciones intramusculares y subcutáneas, las cuales se han venido utilizando desde hace mucho tiempo con diferentes fármacos. Otras son las soluciones oleaginosas, suspensiones, emulsiones e implantes una de sus ventajas que ofrecen estos últimos sistemas es el efecto no solo de horas o días se pueden extender hasta meses o años.

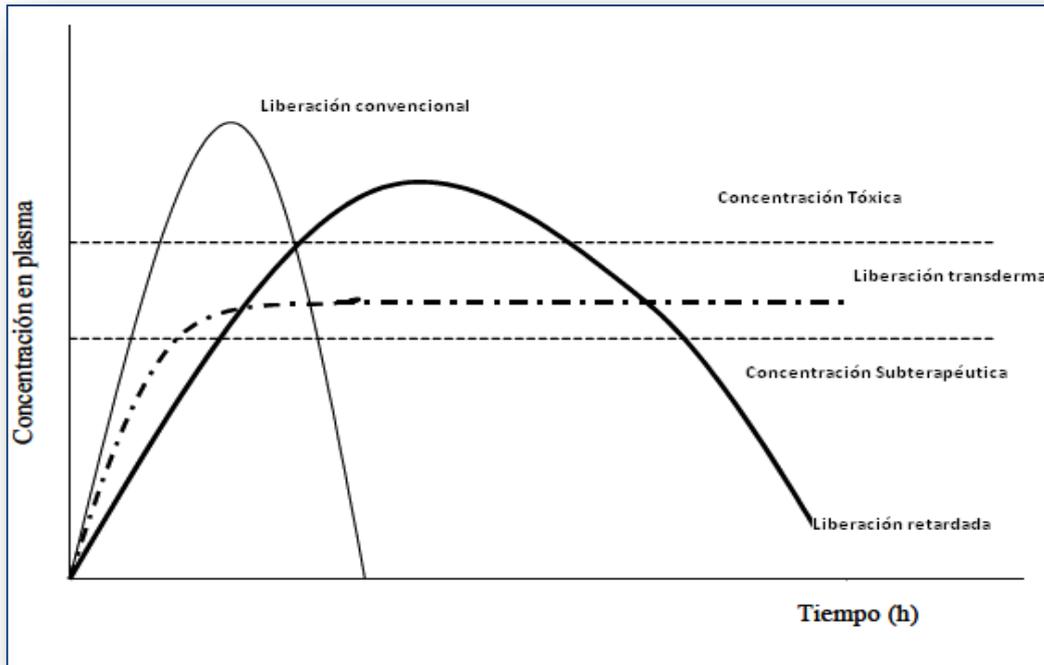


Figura 6. Curvas típicas de la concentración plasmática contra el tiempo.^[18]

En los sistemas transdermales se obtiene que el fármaco entre el sistema evitando los efectos del primer paso por el metabolismo hepático (una de las principales desventajas de los sistemas de liberación orales). Se debe considerar que este tipo de sistemas al ser administrados en la piel debe cumplir con características específicas como las siguientes:

- El fármaco debe de tener un bajo peso molecular.
- Adecuada liposolubilidad del fármaco para difundir fácilmente a través de la piel.
- La efectividad del medicamento debe de ser potente a bajas dosis.
- No irritante para la piel.

La absorción transdermal depende de factores como la concentración del fármaco, el sistema de liberación, el área superficial de contacto, la oclusión, la región anatómica de aplicación, el estado de la piel, edad, metabolismo en la piel, grado de irrigación sanguínea entre

otras. Una limitante importante y la más destacada de este tipo de sistemas son al provocar irritación o sensibilización de la piel.

Para evitar este tipo de efectos adversos sobre la piel se ha avanzado en los últimos años en el uso de biopolímeros compatibles y no antigénicos como algunos hidrogeles poliméricos. Hoy en día se buscan sistemas implantables para la liberación de fármacos basándose en polímeros no degradables los cuales son muy estables y por lo tanto no conducen a cambios de pH en la formulación por lo cual la liberación del fármaco es exclusivamente por mecanismos individuales como la difusión y osmosis.^[19]

Una de las principales características al sintetizar el implante de polímeros a una geometría específica la liberación del perfil se puede adaptar a las necesidades de la dosificación. Se ha demostrado que los implantes semiesféricos hechos de polímeros no degradables proporcionan una liberación de fármaco de orden cero. Un ejemplo comercial de este tipo de sistemas de liberación controlada a través de implantes de polímeros no degradables es el Norplant que es un implante subdérmico que libera levonorgestrel lentamente y tienen una duración efectiva de 5 años. Otra aplicación es en los implantes oculares donde el polímero libera el fármaco de manera controlada evitando las limitaciones como la dilución rápida y la biodisponibilidad limitada.

6. MECANISMO DE LIBERACIÓN DE LOS SISTEMAS POLIMÉRICOS.

En los sistemas de liberación controlada el fármaco se introduce en el interior de lo que se denomina transportador siendo éste normalmente un material polimérico. Se controla la velocidad de liberación de la sustancia por medio de las propiedades del polímero, sin dejar perder de vista otro factor de menor influencia como el pH del medio en que se va a realizar la liberación. Considerando los

factores anteriores es posible conseguir sistemas de liberación que actúen lentamente y de forma continua por largos periodos de tiempo.^[20, 21]

Como se ilustra anteriormente en la figura 6 la mayoría de los sistemas convencionales para la administración de un fármaco, el nivel de dicha sustancia alcanza su valor máximo y después cae hasta un mínimo lo que hace necesario una segunda dosis. Cuando los valores máximos y mínimos de concentración del fármaco en el medio se sitúan por encima del nivel de toxicidad trae como consecuencia un periodo de toxicidad, o por debajo de los niveles mínimos efectivos se obtendría ineficacia del fármaco. En este punto, los sistemas poliméricos presentan la ventaja de que son capaces de mantener la concentración de fármaco entre esos dos niveles a partir de una única dosis, así como de liberarla de una forma continua en un tiempo determinado.^[22]

Los sistemas de liberación controlada se fundamentan en la difusión a través de las matrices poliméricas, existiendo cuatro mecanismos generales mediante los cuales es posible clasificarlos:

- Sistemas controlados por difusión.
- Sistemas controlados químicamente.
- Sistemas activados por un disolvente.
- Sistemas controlados magnéticamente.

6.1. SISTEMAS CONTROLADOS POR DIFUSIÓN.

Se basa en la primera ley de Fick donde las moléculas pasan a través de la matriz polimérica por una diferencia de concentración; siendo un núcleo rodeado por una membrana homogénea y microporosa, la cual se puede hinchar dependiendo del medio donde se encuentre. Una de las ventajas que proporciona es mantener una concentración constante para lograr esto se debe optimizar las propiedades de la

matriz polimérica, además de la dependencia de la geometría del sistema; así se evita una liberación total al momento de romperse la membrana.

Este tipo de sistema indica que la velocidad de liberación es independiente del tiempo, siendo de orden cero, ya sean geometrías planas, cilíndricas o esféricas que se expresa con la siguiente ecuación:

$$Mt = \frac{4\pi DiK}{(r_e - r_i) / (r_e r_i)} (C_{i2} - C_{i1})$$

Siendo D_i el coeficiente de difusión independiente de la concentración, M_t la cantidad de fármaco liberado en el tiempo t , K coeficiente de partición del fármaco y r_e y r_i radio externo e interno de la esfera respectivamente, C_{i1} y C_{i2} son concentraciones del fármaco dentro y fuera de la matriz.

También hay matrices poliméricas donde el fármaco se encuentra uniformemente distribuido o disperso en un polímero sólido, su difusión es a través del soporte o por microporos. Esto se explica con la segunda ley de Fick, difusión no constante o cambia continuamente, habiendo una disminución de la velocidad del fármaco con el tiempo al aumentar el recorrido de difusión, razón por la cual es difícil generar matrices con liberación de fármaco constante y reproducible de largos periodos. Una solución es la generación de matrices con geometrías especiales que compensen la disminución de liberación con el paso del tiempo, expresándose con la siguiente ecuación donde $D_i(C_i)$ es el coeficiente de difusión dependiente de la concentración, relacionado con las características estructurales del polímero que transporta al fármaco^[21]:

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

6.2. SISTEMAS CONTROLADOS POR VÍA QUÍMICA.

En este tipo de sistemas la liberación del principio activo se produce mediante una reacción química, el modelo a seguir es considerando el enlace covalente producido entre el fármaco y el sistema polimérico quedara establecido entre los grupos funcionales que puedan ser degradados en el medio fisiológico y depende de tres factores; el primero es de carácter hidrofílico o lipofílico de la matriz polimérica, dependiendo del sitio de acción; estos monómeros generan polímeros y copolímeros biocompatibles e hidrosolubles los cuales pudieran ser eliminados del cuerpo humano mediante disolución en fluidos fisiológicos. El segundo factor es la degradación de la matriz polimérica que soporta al fármaco, donde puede estar unido directo a la cadena polimérica o soportado por un grupo espaciador, aumentando flexibilidad y movilidad a la cadena, eliminando las interacciones con grupos vecinos. El último factor es la construcción de la cadena polimérica biodegradable o bioestable, donde la cadena polimérica se disuelve después de liberar el fármaco.

6.2.1. SISTEMAS BIOEROSIONABLES.

El fármaco se encuentra disperso en una matriz polimérica; la cual al paso del tiempo se va degradando en el organismo por medio del cambio de sus propiedades fisicoquímicas, llegando así a la liberación del principio activo. Una de las ventajas de este sistema es la eliminación de los polímeros biodegradables se hace gradualmente por la absorción del organismo sin llegar a una cirugía.

La bioerosión en volumen, está en función de la penetración del agua, también de la forma de aplicación; ya que al ocurrir una ruptura, la liberación del fármaco es incontrolada, por lo cual el sistema se va desintegrando. En la erosión superficial, la velocidad de penetración

del agua es menor, provocando así que la matriz polimérica se va desgastando sin dejar de perder su integridad estructural.

En los sistemas de erosión los principales factores que afectan son; la estabilidad química del polímero, su hidrofobicidad, la morfología, el peso molecular, el grado de hinchamiento con el fármaco, geometría y su fabricación, la presencia de catalizadores, aditivos o plastificantes son importantes para la modificación de la bioerosión.
[20]

6.3. SISTEMAS CONTROLADOS POR EL DISOLVENTE.

Su sistema es controlado por la penetración del disolvente al interior de la matriz polimérica donde el fármaco se libera de manera lenta por vía osmótica o hinchamiento.

6.3.1. SISTEMAS CONTROLADOS POR HINCHAMIENTO.

El fármaco se encuentra disuelto o disperso en una base entrecruzada o no polimérica, se hincha pero no se disuelve en agua, este tipo de sistemas son conocidos como hidrogeles, los cuales son de sumo interés porque teóricamente es posible conseguir una liberación constante.

Al absorber el agua la matriz polimérica comienza la liberación y la desorción del principio activo al medio, en este proceso influye el grado de entrecruzamiento y del balanceo hidrófilo/ hidrófobo de la misma matriz. Se explica de manera general que la matriz polimérica esta inicialmente en un estado vítreo, al iniciar el proceso de hinchamiento su temperatura de transición alcanza valores menores, produciéndose un estado elastomérico, con ello el fármaco difunde desde regiones hinchadas y su velocidad de liberación depende de la interface vítrea/elástica.

El número de Deborah ayuda a predecir el mecanismo de liberación de este tipo de matrices, es el numero de interface de hinchamiento,

D_e : donde λ es el tiempo medio de relajación del sistema polimérico/disolvente, ϕ el tiempo de difusión definido por h^2/D , en el cual es el espesor de la muestra y D el coeficiente de difusión del soluto en el sistema, cuando D_e es mayor o menor a uno, se considera migración Fickiano, pero si es igual a 1 será no Fickiano.

$$De = \frac{\lambda}{\phi}$$

6.3.2. SISTEMAS OSMÓTICOS.

El fármaco está en un núcleo rodeado por una membrana polimérica selectiva al agua, impidiendo el paso del fármaco, esta base cuenta con una apertura por la cual el fármaco es liberado lentamente por medio del aumento de la presión hidrostática.^[21]

7. QUÍMICA SUPRAMOLECULAR.

La química supramolecular por definición es la disciplina que involucra todas las interacciones intermoleculares en las que no intervienen enlaces covalentes formales, es decir, se encarga del estudio de las moléculas unidas a través de las interacciones no covalentes tales como: puentes de hidrógeno, fuerzas de Van der Waals, interacciones electrostáticas, interacciones hidrofóbicas, interacciones ion-metal e interacciones π - π . El aporte principal que proporciona la química supramolecular es utilizar las moléculas ya existentes o sintetizar moléculas nuevas para preparar agregados o conjuntos moleculares con las características apropiadas para el estudio a fin.^[23]

La química supramolecular ha servido para el diseño inteligente de sistemas de liberación de fármacos, tanto en el campo humano como el veterinario. Los sistemas involucrados pueden ser muy variados desde sistemas moleculares pasando por coloides y llegando a células transportadoras.

En los últimos tiempos la área veterinaria ha utilizado polímeros no degradables como sistemas de liberación de fármacos; debido a que son considerados económicos, biocompatibles, biológicamente inertes y aceptados por una aprobación regulatoria.^[24]

El interés por utilizar este tipo de polímeros es que no requieren ser removido el dispositivo del animal, al finalizar el periodo de tratamiento debido a su degradación que ocurre al estar en contacto con los componentes fisiológicos; provocando beneficios como la reducción de estrés en el animal y reducción de costos en término de tiempo por el uso final del sistema.

7.1. IMPRESIÓN MOLECULAR.

En los últimos años el desarrollo de nuevos sistemas moleculares es cada vez más estudiado los cuales son muy semejantes a la naturaleza, por tal razón se ha buscado imitar los sistemas biológicos como son los procesos de enzimas, anticuerpos o receptores hormonales capaces de identificar selectivamente a un solo sustrato. De ahí proviene la descripción del reconocimiento molecular ya que es la unión específica de una molécula a un receptor molecular.^[23]

La impresión molecular se basa en la preparación de sitios de reconocimiento selectivos para un sustrato en una matriz utilizando una molécula (molde, horma o templado) la cual se coloca en una disolución, donde se encuentran los elementos que formaran la matriz, interaccionando ambos para formar un pre-arreglo, una vez polimerizado este, se obtiene una matriz con sitios de reconocimiento selectivos a la molécula molde (Figura 7).^[25] Este procedimiento da sintéticamente las interacciones moleculares que los seres vivos realizan en muchas reacciones bioquímicas, logrando materiales impresos moleculares con características químicas y físicas muy estables. En 1894 Emilio Fischer presentó su analogía de la llave-cerradura donde el sustrato actúa sobre la enzima; él consideraba a

la enzima más grande en comparación con el sustrato, tiene hendiduras y depresiones en su superficie complementaria al sustrato, de tal modo que el sustrato podía solo activar a la enzima en sus sitios de activos como si fuera una llave en una cerradura. Con esta analogía se ilustra la impresión molecular ya que pertenece a una rama de la química supramolecular denominada química biomimética, la cual se ocupa de la síntesis y caracterización de materiales en los que participan fundamentalmente interacciones del tipo huésped-receptor por ejemplo: hormona-receptor, enzima-sustrato, antígeno-anticuerpo, etc (llave-cerradura).^[26]

La tecnología de impresión molecular tiene un enorme potencial de desarrollo, los polímeros sintetizados son capaces de imitar los procesos de reconocimiento encontrados en la naturaleza, por ello es una área importante y activa de investigación en los últimos años; se les ha dado diversos tipos de aplicaciones como en cromatografía para la cuantificación de productos, obtención de columnas de cromatografía para la separación de moléculas en sensores de química analítica, como moléculas para reconocer partículas, inmunoensayos, electroforesis capilar, membranas de separación, actualmente se busca utilizar este tipo de moléculas con aplicación en farmacia para diseñar sistemas de liberación lenta y prolongada, esta área ha sido poco estudiada y su aprovechamiento puede ser generoso para la mejora de medicamentos.^[25, 27]

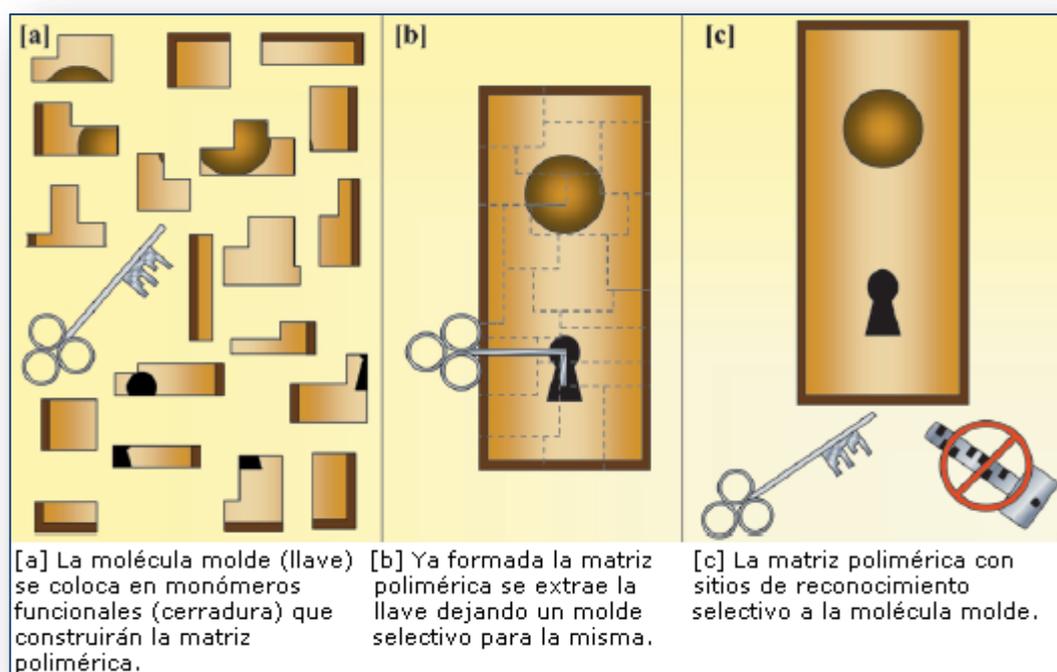


Figura 7. Técnica de Impresión Molecular.

La liberación de medicamentos cada día requiere ser más precisa y lograr una respuesta directa a la patología con el fin de lograr una interacción dinámica y beneficiosa para el paciente.^[28] El surgimiento de la liberación de fármacos representan un gran reto debido a un bajo peso molecular o biomacromoléculas quienes presentan una mala solubilidad acuosa por consecuencia no penetra al tejido, una dosis inadecuada, los efectos secundarios entre otros. La aportación de la impresión molecular es de gran importancia porque se podrá tener un mayor control de su estructura y liberación del fármaco, también es una herramienta usada en la biomedicina.^[28, 29]

Los polímeros de impresión molecular (MIP) se definen como la construcción de una macromolécula, la cual es el conjunto de moléculas llamados monómeros formando un polímero, en presencia de una molécula (molde, horma o templado) que interacciona específicamente con los monómeros que al polimerizar, generan cavidades con complementariedad geométrica y de interacción entre

el molde y la matriz polimérica. Las interacciones generadas son fuertes (enlaces formales) o débiles (interacciones intermoleculares).^[30]

Al formarse el MIP la molécula molde puede ser liberada y el polímero mantiene las cavidades con complementariedad geométrica e interacciones, conservando su alta capacidad para reconocer a la molécula molde pudiendo absorberla nuevamente de forma estable y específica.^[31]

7.2. CLASIFICACIÓN DE LOS POLÍMEROS DE IMPRESIÓN MOLECULAR.

Existen gran variedad de clasificaciones de los MIP, sin embargo, la más generalizada es de acuerdo al tipo de interacción entre el sustrato y la matriz polimérica, se forman dos grandes grupos, los covalente y los no covalentes. Como su nombre lo indica los no covalentes son por medio del sustrato a través de interacciones no enlazantes y los covalentes mediante la formación de un enlace químico (Figura 8).

♦ POLÍMEROS IMPRESOS COVALENTES.

Con los trabajos realizados por el grupo de Guenter Wulff surge la propuesta de polímeros covalentes basándose en la diferenciación de los enantiómeros de ácido glicérico^[32]. La síntesis covalente requiere primero que el monómero se una a la molécula molde a través de un enlace covalente que en las condiciones adecuadas pueda ser reversible, que le permitan generar cavidades con mayor detalle, afinidad y homogeneidad, obteniendo una mayor rigidez al polímero y una mayor fuerza de enlace, es decir, será más difícil la liberación de la molécula horma por parte de la matriz polimérica debido a la generación de interacciones fuertes; también presentan una rigidez por parte de la matriz polimérica que no le permite la difusión de la molécula horma al medio y de que no hay una gran variedad de

posibilidades a elegir entre el monómeros funcionales y moléculas hormadas ya que las interacciones solo se generan entre los dos. En esta síntesis es más compleja que la no covalente ya que se requiere de la síntesis previa del compuesto "molécula molde-monómero", la cual para ser removida se hace por medio de una hidrólisis del enlace, dejando libre las cavidades responsables del reconocimiento en la matriz polimérica.

◆ **POLÍMEROS IMPRESOS NO COVALENTES.**

Este polímero se caracteriza por la formación de interacciones débiles como son las electrostáticas e hidrofílicas, los puentes de hidrógeno y de coordinación con metales. El sistema proporciona simplicidad en comparación con el covalente teniendo un amplio uso, además de tener un mayor alcance en moléculas templadas por la interacción con el monómero, obteniendo cinéticas de unión más favorables. La molécula molde interacciona con los monómeros funcionales en una primera etapa denominada pre-organización o pre-arreglo, en la que se da un ordenamiento de los monómeros alrededor de la misma construyendo sitios de interacción debido a la variedad de afinidades entre ellos y de generar una heterogeneidad en las fuerzas de los sitios de interacción.^[23]

En la síntesis de impresión molecular no covalente, el disolvente representa un papel muy importante ya que determina la fuerza de unión de las interacciones, influyendo en la morfología final del polímero como es: el tamaño, distribución de poros y área polimérica, en función de su capacidad porogénica. Por esta propiedad se conoce al disolvente como porógeno, también la porosidad del polímero puede deberse a la concentración de monómero y entrecruzador, el disolvente es el medio donde se realiza la reacción e interaccionan sus moléculas en la red polimérica formando poros provocando así la difusión de la molécula horma al exterior.^[33]

En general cuando más polar es un disolvente menor es su tendencia de reconocimiento en el polímero. La polaridad del disolvente y su cantidad determinan su interacción con los monómeros y la fuerza de unión entre estos y el templado por lo que la polimerización requiere disolventes de polaridad moderada como acetronitrilo o cloroformo, o con una constante dieléctrica baja como el tolueno o diclorometano. Por estas particularidades es crítico el uso adecuado del disolvente que favorezca la reacción de polimerización para obtener poros bien definidos, una estructura rígida y áreas altamente específicas.^[23, 34]

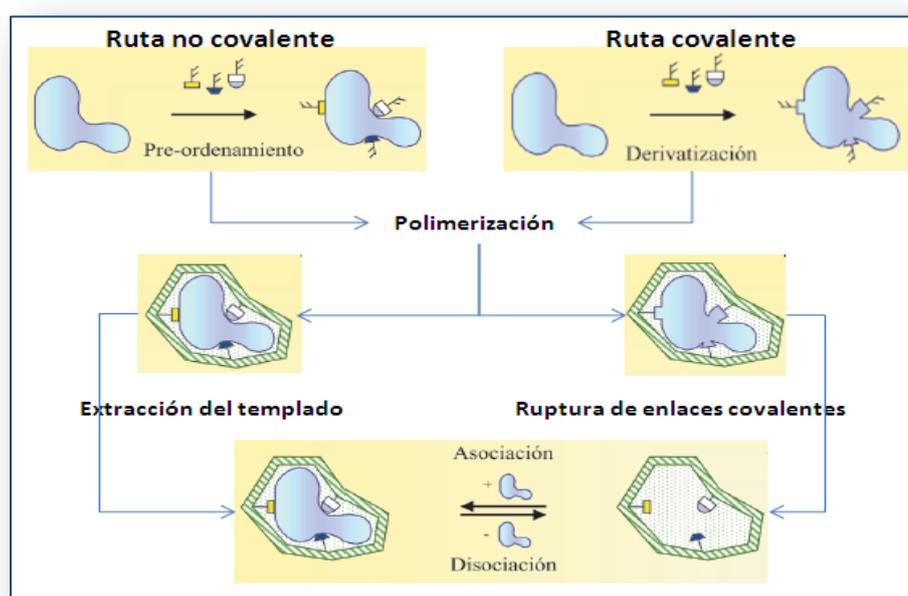


Figura 8. Proceso de impresión molecular covalente y no covalente.

7.2.1. SÍNTESIS DE POLÍMEROS DE IMPRESIÓN MOLECULAR.

La síntesis de los polímeros consiste básicamente en tres etapas. La primer etapa se denomina pre-arreglo, se inicia con una molécula molde conocida como horma, que interacciona con monómeros funcionales con dobles ligaduras en la matriz polimérica para formar las cavidades. La matriz polimérica es la formación de cadenas por monómeros que se entrecruzan por una molécula llamada entrecruzador, además se necesita de un iniciador para que la

reacción de polimerización por radicales libres se lleva a cabo. En la última etapa es la remoción de la molécula molde de la matriz polimérica, ya sea por medio de extracciones con disolventes (en el caso de la impresión no covalente) o por ruptura de enlaces químicos entre la molécula horma y el polímero impreso (en la impresión covalente) de manera que se genera una cavidad estable y complementaria en forma y distribución de grupos funcionales (Figura 8).

Para que con el polímero se consiga un reconocimiento molecular correcto es necesario elegir el adecuado entrecruzador, y monómeros funcionales, con ellos se puede controlar la morfología de la matriz del polímero, estabilizar el sitio de reconocimiento impreso y dar estabilidad mecánica a la matriz polimérica.

7.3. APLICACIONES DE LOS POLÍMEROS DE IMPRESIÓN.

Un polímero molecularmente impreso, es un material que muestra una fuerte adsorción específica para un sustrato en particular, el proceso inverso sería la liberación, en principio un material muy afín al sustrato lo podrá liberar de forma más difícil, probablemente de forma lenta. Esta suposición puede ser aplicada para generar materiales que muestren una liberación prolongada. Como ejemplo en el artículo de Hillberg et al quienes argumentan el desarrollo de sensores de colesterol para su adsorción, investigándose los MIP's como contexto de matrices de bioseparaciones y biopurificadores, ya que se pueden utilizar en el análisis de sangre para separar fármacos específicas.^[32] También los hidrogeles a base de MIP's son estructuras porosas que permiten la introducción alta de fármaco el cual lo liberarán mediante su coeficiente de difusión a través de la matriz de un hidrogel, la cual puede ser manipulada mediante el cambio de las condiciones del medio ambiente.^[35]

La impresión molecular es un campo emergente que produce la arquitectura química precisa que se puede unir analitos y diferenciar entre moléculas similares con resolución enantiomérica. En la vanguardia de estos sistemas se utilizan geles impresos inteligentes, sensibles a estímulos capaces de modificar su comportamiento de hinchamiento y a su vez modulan sus capacidades de unión analito. En los procesos bioquímicos donde los sitios de enzimas se componen de varios aminoácidos, que se unen a las moléculas ligando de una manera muy específica. Sin embargo la actividad del sitio depende de la estabilización de la estructura tridimensional de las interacciones de cientos de otros residuos. Por lo cual una aplicación de una red polimérica se puede preparar mediante el diseño de las interacciones entre los bloques de construcción de una red biocompatible y el analito específico deseado; logrando una estabilidad suficientemente flexible para permitir la difusión del disolvente y los analitos tanto dentro y fuera de la red.^[36]

A pesar que los poliméricos impresos son cada vez más usados como componentes molecularmente selectivos, en el campo farmacéutico se ha abordado a mediados de los años noventa; un ejemplo de esto es el estudio del timolol ^[27] un fármaco oftálmico y norfloxacin un agente antibacteriano, abriendo las aplicaciones de polímeros de impresión molecular en cuanto a la liberación controlada de fármacos, vehículos para fármacos, péptidos y proteínas han ganado una mayor atención.^[37] Además son hoy en día sistemas utilizados como matrices poliméricas para la liberación de fármacos, como en este trabajo donde a base de los polímeros de impresión molecular se desarrolla un sistema de liberación controlada de IVM con el fin de evitar las subsecuentes administraciones al ganado.

Con esto se abrieron nuevas áreas de aprovechamiento de los polímeros en cuanto a sistemas de liberación controlada (SLC); ya que son capaces de proporcionar una prolongada liberación del

fármaco con el fin de maximizar la eficiencia y seguridad de los medicamentos. Además los SLC proporcionan una acción farmacológica duradera, reduciendo los efectos adversos, minimizando la frecuencia de la dosificación y por encima de ello los polímeros deben de ser biocompatibles.

Un caso importante fue el polímero impreso molecularmente de salicilato de cobre utilizado como vehículo de entrega de medicamentos con base en metales (*Sasidharan et al.2008*) ya que ha recibido una importante atención en la quimioterapia, terapia fotodinámica, terapia de quelación y como sensibilizadores en terapia de radiación. En ésta terapia se está aplicando un nuevo sistema de impresión molecular con salicilato de cobre (antiinflamatorio) el cual permite la liberación sistémica del fármaco a un periodo más largo indicando la unión específica a base del metal, evitando así las fluctuaciones en las concentraciones del fármaco y eliminando una administración frecuente. Dejando la puerta abierta para nuevos sistemas como el anterior pero dirigido a otras terapias que requieran de un metal en los fármacos como son: anti-cáncer, anti-tumorales, anti-diabéticos, anti-bacteriana, anti-viral y anti-parásitos.^[38]

Se han trabajado con los MIP como sensores selectivos para el colesterol, en este caso se utilizó como un absorbente oral, en el caso de los ácidos biliares se desarrolló otro MIP que logra secuestrar los ácidos sin causar daño al organismo; estas aplicaciones han provocado generalizar el interés en los MIPs como materiales molecularmente sintéticos selectivos. Además su incorporación en las membranas están siendo cada vez más investigada en el contexto de bioseparaciones y biopurificaciones.^[32]

A pesar de que se han hecho algunos estudios con MIPs para SLC, la investigación en esta área es incipiente y no se han valorado adecuadamente este tipo de materiales a este respecto. Aún no se ha

informado en la literatura ningún sistema con MIPs para uso veterinario, a pesar de que es un campo de aplicación muy fértil con posibilidad de aplicaciones masivas.

8. GRANULOMETRÍA.

La fragmentación es un término muy explícito usado para designar el conjunto de operaciones que tienen como finalidad realizar la división de cuerpos sólidos. En la operación de fragmentación mecánica es imposible obtener granos de volumen igual y uniforme, aunque en general se obtienen una gama de tamaños, desde dimensiones deseadas a lo infinitamente pequeños. Los fragmentos cuya dimensión es inferior al límite deseado son llamados "finos".

El análisis granulométrico se lleva a cabo con el fin de medir de modo preciso las dimensiones de la materia fragmentada e inclusive preverla. Los resultados obtenidos permiten expresar ciertos parámetros característicos del tamaño, la distribución de tamaño y de la forma de las partículas que constituyen el polvo. No obstante la dimensión media geométrica obtenida por cálculo define un módulo granulométrico o de finura y la relación de los módulos de un sólido antes y después de la fragmentación define esta relación.^[39]

La relación entre el tamaño de los sólidos que entran en el equipo de fragmentación y el de los sólidos que salen del mismo, es relativamente limitada. De este modo, un molino no puede ser regulado de manera exacta a voluntad para obtener una reducción fijada arbitrariamente.

El tamaño de partícula de algunos principios debe adaptarse a la vía de administración a la que se van a destinar. También existe una relación inversa entre el tamaño de partícula y la superficie específica de los sólidos. Esta relación determina que una serie de procesos superficiales, como la disolución, transcurran a una velocidad que depende de la granulometría del sólido. La granulometría de los

polvos condiciona otras propiedades, como su densidad aparente, que constituye una propiedad crítica en la elaboración de las formas de dosificación sólidas, como cápsulas o comprimidos en la que intervienen procesos de llenados volumétricos.^[40]

8.1. PROPIEDADES DESEADAS DE LOS POLVOS.

Los polvos son una forma sólida que contienen el o los fármacos y aditivos, finamente molidas y mezclados para asegura su homogeneidad, su uso puede ser oral, parenteral, tópica, pulmonar.^[16]

Al aplicar un polvo en alguna vía de administración las características principales son: dividirse de un modo fino y tener un tamaño de partícula uniforme, además deben fluir libremente y esparcirse con facilidad sobre la superficie que sea administrado. Como el área de una cantidad determinada de sólido aumenta conforme disminuye el tamaño de partícula para un peso dado de sólido, cuando más pequeño es el tamaño de partícula, mayor es el área superficial y más rápida la disolución.

El tamaño de partícula de los polvos es importante que sea uniforme, porque las partículas de dimensiones distintas tienden a estratificarse en el reposo o durante el transporte del polvo, lo que trae como consecuencia una dosificación inexacta. Por lo cual para la mayoría de los polvos farmacéuticos se determina por tamizados y los términos que se utilizan para clasificar los polvos se expresan en por ciento de la muestra que pasa a través de un tamiz (o malla) de una determinada finura.^[41]

8.2. PREFORMULACIÓN.

La preformulación puede describirse como una fase del proceso de investigación y desarrollo para la caracterización de las propiedades físicas, químicas y mecánicas de un nuevo fármaco con el fin de

desarrollar formas farmacéuticas estables, seguras y eficaces. Los estudios que evalúan las características reológicas de un granulado, excipiente o materia prima resultan de enorme importancia, para describir cómo será el comportamiento en el momento de la compresión.^[42]

Éstas propiedades están afectadas directamente por las características fisicoquímicas del granulado a partir del cual se elaboran los comprimidos, dichas características son evidentes en los mecanismos de enlace partícula-partícula involucrados en la adhesión y cohesión de las partículas. La mayoría de las partículas poseen cargas electrostáticas, pero, la magnitud de estas fuerzas es mucho más pequeña que las fuerzas de Van der Waals y contribuyen muy poco a la fuerza de cohesión final del granulado. No se pueden dejar de lado que las fuerzas electrostáticas pueden jugar un papel importante en la formación inicial de aglomerados en el granulado, ocasionando problemas al momento de comprimir.

Las características granulométricas y reológicas más importantes que influyen directamente sobre las propiedades de los comprimidos son:

◆ **TAMAÑO DE LAS PARTICULAS.**

Una de las propiedades físicas básicas comunes para todo polvo finamente dividido es la distribución de tamaño de partícula, es decir, la frecuencia con que ocurren partículas de diversos tamaños. Al formar polvos o gránulos se busca que las partículas sean esféricas y así definir el tamaño de partícula, porque el tamaño de una esfera se basa únicamente en el diámetro, pero eso no sucede generalmente ya que son de formas irregulares.

En numerosas investigaciones se ha demostrado la importancia que representa esta característica, por ejemplo la velocidad de disolución, la velocidad de absorción, la uniformidad del contenido, el color, el

sabor la textura y la estabilidad dependen en mayor o menor grado del tamaño y la distribución de las partículas.^[42]

Las propiedades del flujo de fármaco también se ven afectado por el tamaño de las partículas, y la reducción del tamaño de las partículas hasta un grado extremo (menos de 10 μm) son características indeseables para una preformulación.

El aire atrapado adsorbido en la superficie a veces confiere propiedades indeseables para el fármaco. En caso de que el aire sea adsorbido a nivel de la superficie partícula-fármaco puede evitar la humidificación del fármaco por el líquido circundante y la aglomeración de las partículas finas, inducidas eléctricamente, pueden reducir la exposición de la superficie del fármaco al medio de disolución circundante.

Las sustancias químicas también pueden experimentar una transformación polimórfica durante el proceso de molienda misma que es utilizado para generar polvos de determinado intervalos de tamaño.

Los métodos más comunes para determinar el tamaño de partícula dependen la metodología y técnica empleada. Entre ellos destacan los siguientes: microscopía, sedimentación, rastreo por corriente, dispersión de la luz y el más usado de todos es el tamizado.

◆ DENSIDADES.

Se ha definido tres diferentes tipos de densidades de partículas:

- I. Densidad verdadera o real: La masa de las partículas dividida por el volumen de las partículas, excluyendo poros abiertos o cerrados.
- II. Densidad aparente: La masa de las partículas dividida por el volumen de las partículas, incluyendo poros abiertos y poros cerrados.

- III. Densidad compactada: La masa de las partículas, dividida por el volumen compactado de las mismas.

Todo lo anterior es necesario para conocer el porcentaje de compresibilidad ya que se calcula con la densidad verdadera y la densidad aparente de un granulado. La compresibilidad es una propiedad para predecir el comportamiento que tendrá el granulado, puesto que lo más compresible tiene menor flujo y lo menos compresible tendrá mayor flujo.

La densidad, porosidad de un granulado y la dureza de un comprimido son a menudo propiedades interrelacionadas, es decir, la densidad va a influir la compresibilidad, porosidad de los comprimidos y disolución entre otras propiedades.

En caso de tener gránulos densos y duros pueden requerir presiones de compresión más altas para producir un compacto cohesivo. La presión de compresión más alta, sin embargo, incrementa el tiempo de desintegración, y aún si los comprimidos se desintegran rápidamente, los gránulos densos y duros pueden disolverse a mayor tiempo. Al relacionar mayor dureza con gránulos más densos se genera menor friabilidad.

◆ PROPIEDADES DE FLUJO.

Las propiedades de flujo de los polvos están afectadas por los cambios de tamaño de partícula, densidad la forma, las cargas electrostáticas y la humedad absorbida, factores que pueden producirse durante la etapa de la formulación o en el curso de la fabricación. Los estudios de fluidez en la etapa de preformulación permiten conocer de forma cuantitativa las modificaciones debidas a la incorporación de cada nuevo componente, ya que la mayoría de los polvos oponen cierta resistencia a moverse cuando son sometidos a una fuerza externa. Esto se debe a las fuerzas de cohesión ya que es la tendencia que presentan las partículas para permanecer unidas

entre sí. Se pueden presentar cuatro tipos de fuerzas atractivas que actúan entre partículas continuas:

- I. Fuerzas de Van der Waals, el valor se liga al tamaño de partícula, de manera que su intensidad experimenta fuertes incrementos al disminuir éste.
- II. Fuerzas electrostáticas.
- III. Fuerzas capilares o a la humedad adsorbida sobre la superficie de las partículas, con la consiguiente formación de puentes líquidos de unión.
- IV. Fuerzas de fricción que resulta del entrecruzamiento de partículas de forma irregular y de la fricción de sus superficies en los puntos de contacto.

Todas las fuerzas son de carácter atractivo dificultando el desplazamiento relativo de las partículas, por tal razón es necesario aplicar una fuerza externa mayor a la de cohesión. Por lo cual cuanto menor sea la resultante de las fuerzas atractivas entre las partículas de un polvo, menor será la intensidad de la fuerza externa necesaria para eliminarla y así mejorar las propiedades de flujo.

◆ **COMPRESIÓN Y COMPACTACIÓN DEL POLVO.**

Las partículas pueden tener forma esférica o irregular, por lo tanto su compactación no va a ser similar. Además las posibilidades de compresión y de compactación se relacionan directamente con la composición de los comprimidos. La compresión puede definirse como la posibilidad de que un polvo disminuya de volumen bajo presión, mientras que la compactación puede definirse como la posibilidad de que un polvo sea comprimido a una cierta fuerza o dureza.

El proceso de compactación tienen diferentes fases identificables, cuando los polvos se comprimen (se reduce su volumen), el primer proceso es una consolidación de los polvos. Durante esta fase las partículas del polvo adoptan un orden de empaque más eficiente. La

segunda fase del proceso es una deformación elástica o reversible. Si durante esta fase la fuerza se eliminara, el polvo podría retornar por completo y de manera eficiente al estado del empaque. La tercer fase de compactación es plástica o de deformación irreversible del lecho del polvo. Ésta es la fase del proceso de compactación, que es más crítica para la formación del comprimido. Si se aplica demasiada fuerza al polvo, se produce fracturas por fragilidad. Si la fuerza se aplica con rapidez durante la relajación de la fuerza pueden aparecer desuniones y fracturas.^[43]

9. BIOENSAYO CON *Artemia salina*.

La farmacocinética de ivermectina, se estudia normalmente mediante la extracción de este fármaco de sangre, su derivatización y su cuantificación empleando métodos de HPLC. Todo esto requiere grandes cantidades de muestra y procesos complejos, por esta razón se han desarrollado métodos alternativos para detectar de forma indirecta este fármaco en estudios con animales pequeños como ratas.

Para demostrar la actividad antiparasitaria de la familia de avermectinas al tener nuevos análogos, o en este caso una presentación farmacéutica diferente, se ha obtenido de la literatura dos posibles bioensayos donde se demuestra con rapidez la susceptibilidad que se presenta con este potencial antiparasitario. El primero es usando al organismo *Caenorhabditis elegans*, sin embargo, los requerimientos de desarrollo no son sustentable para llevarse a cabo dentro de un laboratorio químico. Por tal razón una alternativa es usar a las larvas de la *Artemia salina* se utiliza en bioensayos generalmente para toxicidades de compuestos orgánicos. Se han desarrollado métodos para usar a este crustáceo para la determinación rápida de la actividad de los análogos de las avermectinas, el método no requiere equipo especial y puede llevarse

a cabo por personal de investigación científica. El método proporciona la información necesaria para predecir la actividad antiparasitaria o insecticida que presente los nuevos compuestos, además de ser reproducibles, no complejo y barato.^[44]

En la actualidad se busca aplicar este tipo de bioensayos con la finalidad de determinar la letalidad basándose en la posibilidad de causar muerte de larvas de este crustáceo de algunos compuestos y extractos en medio salino como; la detección de toxinas de hongos o cianobacterias, toxicidad de extractos de plantas, metales pesados y para predecir la citotoxicidad de compuestos puros.^[45, 46]

La información relacionada con el uso de las especies del género *Artemia* (comúnmente conocido como camarón de salmuera), es amplia en diferentes áreas científicas como; la ecología, fisiología, ecotoxicología, acuicultura y genética. La *Artemia* se subdivide en seis especies generalmente bisexuales, caracterizadas por rasgos comunes tales como; la adaptabilidad a una amplia serie de salinidad (5-250 g/L) y temperatura (6-35 °C), ciclo de vida corto, alta adaptabilidad a condiciones ambientales adversas también a los recursos nutritivos, alta fecundidad y tamaño del cuerpo entre 0.5 a 1 cm. En sí, las características intrínsecas de este género se convierten en un organismo adecuado para su uso en diferentes áreas científicas, garantizando confiabilidad, viabilidad y reproducibilidad de los experimentos realizados en la investigación científica.

La reproducción de especies de *Artemia* se puede realizar bajo dos modalidades principales: sexual o partenogenética, en la mayoría de estos casos una partenogenética y una cepa sexual comparten el mismo hábitat. La temperatura es un parámetro muy importante en la reproducción sexual, a una temperatura de 25 ° C, aparece la reproducción de manera partenogenética eliminando por completo a la reproducción de manera sexual, ya que es necesario para que se

desarrollen de esta manera una temperatura de 15°C. Lo anterior es importante durante el desarrollo del bioensayo para una homogeneidad y previsibilidad de las respuestas entre las pruebas como; condiciones para la cría, mantenimiento, maduración y el desarrollo de éstas mismas deben realizarse bajo óptimas condiciones, que se define para cada cepa, y no debe permitirse variaciones significativas, lo que puede introducir variabilidad en los resultados.^[47]

La reproducción del género *Artemia* se desarrolla por dos de descendencia; nauplios y quistes. La *Artemia* puede producir resistentes embriones (quistes), preparados para hacer frente al estrés ambiental, durante este período de enquistamiento, llamado criptobiosis; ***es caracterizado por la ausencia de actividad metabólica, la integridad estructural y la viabilidad del embrión pueden mantenerse durante varios años, especialmente si son almacenados en ausencia de oxígeno y baja temperatura.*** La capacidad de producir quistes criptobiótico es una adaptación del organismo para superar condiciones adversas. En condiciones óptimas, los quistes se desarrollan en el útero y se generan bajo la forma de nauplios. La reproducción de quistes o nauplios se activan mediante señales ambientales.

La elección del modelo animal más adecuado deben tener en cuenta aspectos globales del ciclo de vida de biología, adaptabilidad a las condiciones de laboratorio, relevancia ecológica, uso sistemático y las condiciones prácticas de mantenimiento y sostenibilidad de los cultivos de laboratorio. Por tales razones es utilizada la *Artemia salina* en muchos ensayos principalmente de toxicidad ya que son baratos, disponibles permanentemente, simple y fiable por lo tanto son una importante respuesta a las necesidades de rutina de los estudios de toxicidad, para los requisitos de monitorización industrial o a efectos de regulación. Además la crianza de este crustáceo es simple y

barato y es favorecida por su flexibilidad para fuentes de nutrientes, temperatura y tolerancia a la salinidad, la fácil manipulación, corto tiempo de generación y alta capacidad reproductiva; puede ser más adecuadas para hacer frente a las necesidades de la investigación científica básica, debido a su intrínseca baja variabilidad genética y homogeneidad consecuente.

III. PLANTAMIENTO DEL PROBLEMA.

La ivermectina es una lactona macrocíclica que se caracteriza por ser un antihelmíntico de amplio espectro utilizado muy frecuentemente contra la garrapata que causa grandes alteraciones al ganado y a otros animales domésticos, su efectividad es alterada por una mala medicación al dosificar a los animales; por ejemplo en los baños que se deben dar usualmente, en administraciones de forma intramuscular donde las dosificaciones son repetitivas en periodos cortos. Esto representa un reto para una forma farmacéutica que ofrezca las concentraciones en sangre dentro de la ventana terapéutica adecuada y que sea sostenida para evitar las múltiples dosificaciones, sería una solución al control de la garrapata por consecuencia una medicación efectiva para los animales.

Los polímeros de impresión molecular son sistemas que se pueden diseñar para el reconocimiento específico de una molécula molde (fármaco) lo cual provoca un manejo favorable para una liberación controlada en un determinado medio. Siendo posible crear sistemas de liberación prolongada del fármaco de una forma sencilla y específica. En el mercado se cuenta con sistemas de liberación controlada los cuales proporcionan tiempos de liberación prolongada y una dosificación dentro de la ventana terapéutica son muy seguros para el manejo de los animales. El poder disponer de sistemas de liberación controlada que contienen ivermectina tendría como resultados favorables en el tratamiento contra cepas resistentes de garrapatas evitando así una dosificación múltiple para el manejo constante del ganado.

Al trabajar con los polímeros molecularmente impresos como sistema de liberación controlada de IVM en el área veterinaria es recientemente un tema de desarrollo que ha demostrado muy buenos resultados. Además éste antihelmíntico representa un enorme

problema al ser excretada en heces hasta el 98% ya sea en metabolitos activos o sin modificar^[12] dando como consecuencia efectos en la reproducción, la función biológica y supervivencia de las especies no blanco en organismos terrestres y acuáticos. Como ya se había mencionado los MIPs tienen una alta capacidad de reconocimiento molecular con la molécula molde así aprovechando esta característica es posible que la sustancia no esté biodisponible para la microfauna en el medio ambiente.

Considerando lo anterior en el presente trabajo se pretende preparar polímeros molecularmente impresos con ivermectina y formularlos como implantes. Posteriormente estudiar la liberación *in vivo* usando *Artemia salina* como método de detección del fármaco en heces.

IV. OBJETIVOS.

OBJETIVO GENERAL:

- Sintetizar polímeros de impresión moléculas para la liberación controlada de ivermectina obtenidos a partir de triacrilato de pentoeritrol (PETA) y ácido metacrilato y comprobar sus propiedades de liberación mediante bioensayo con Artemia salina.

OBJETIVOS PARTICULARES:

- Sintetizar el polímero de impresión molecular de ivermectina utilizando como monómero funcional MMA y al PETA como entrecruzador, vía radicales libres por medio de UV y calor.
- Realizar estudio de reología a los MIP y NIP con la finalidad de evaluar las posibilidades que tienen de funcionar como materia prima para el proceso de compresión directa.
- Lograr administrar a ratas blancas wistar para el posterior estudio de cinéticas de liberación con las heces de estos animales.
- Evaluar la liberación controlada del polímero impreso mediante un bioensayo con Artemia salina.

V. MATERIAL Y EQUIPO.

1. EQUIPO:

- Balanza analítica explorer Ohaus capacidad de 110 g x 0.1 mg.
- Balanza granataria TRIPLE BEAM BALANCE Ohaus 2610.
- Rota vapor Buchi modelo R-210 vacuum pump v-700.
- Espectrofotómetro UV-Visible HEWLETT-PACKARD 8453, software HP-845x-Visible System.
- Desecador marca P-SELECTA, con bomba al vacío COMETA.
- Lámpara UV OSRAM HQL 400W, Blanco de lujo.
- Baño recirculador con enfriamiento, Thermo electron corporation Neslab RTE7.
- Parrilla de calentamiento con agitación, IKA WORKS® USA.
- Molino analítico, Cole-Parmer.
- Prensa hidráulica.
- Pistola para implantes PISA- Agropecuaria.
- Mezclador de tubo.
- Lámpara de luz blanca.
- Pipetas pasteur.

2. MATERIAL:

- Ivermectina, Moléculas Finas de México S.A. de C. V. Lote 030509128.
- Ácido Metacrílico (MMA) SIGMA.
- Triacrilato de Pentaeritritol (PETA) ALDREICH.
- 2,2' - azobisisobutironitrilo (AIBN) AKZO Nobel Chemicals S.A. de C.V.
- Harina de trigo, Golden Hills.
- Cloroformo RA.
- Etanol purificado por destilación, Reactivo y Productos Químicos Finos.
- Gas nitrógeno comprimido grado 5.0, PRAXAIR.
- Vaselina
- Agua destilada.
- Propilenglicol.

2.1. MATERIAL BIOLÓGICO:

- Rata hembra Wistar con edad de 2 meses.
- Quistes de artemia, ECLOSIONAZUL
- Instant Ocean, Aquarium Systems, Made in USA, Manufactured by Aquarium Systems, INC. Mentot, OH.
- La levadura casera, Tradin Pan®, SAFMEX S.A.DE C.V./FERMEX SA. DE C.V.

VI. METODOLOGÍA.

1. SÍNTESIS DE POLÍMEROS DE IMPRESIÓN MOLECULAR.

Se sintetizaron polímeros de impresión molecular (MIPs) por radicales libres para la generación de interacciones no covalentes, con un equivalente de ivermectina (IVM) para la liberación prolongada de este fármaco, generando tanto una alta capacidad de reconocimiento y de recuperación de la misma. Se utilizó como molécula horma a la (IVM), al ácido metacrílico (MMA) como monómero, el entrecruzador es triacrilato de pentaeritritol (PETA) y a 2,2'-azobisisobutironitrilo (AIBN) es el iniciador de la reacción.

La síntesis se genera con una copolimerización de todos los monómeros al mezclarlos, en un recipiente adecuado. Como ya se menciona la reacción de polimerización es por medio de radicales libres generados por dos diferentes vías: la primera es por medio de calor a 65°C y la segunda a 4°C en presencia de luz ultravioleta (Uv).

Para la síntesis de la mezcla del MIP se adicionó en un vaso de precipitado de 30 mL, el equivalente a una proporción milimolar de IVM, se disolvió en la mínima cantidad de cloroformo (CHCl_3), se agregó el equivalente de 20 milimolar de PETA y el equivalente a 1 milimolar de MMA; se mantuvo en agitación constante durante 5 min y se vertió en un tubo de ensaye.

Por otro lado en un vaso de precipitado de 10 mL se pesó 7.2 mg de AIBN y se disolvió en 8 mL del disolvente (CHCl_3), en agitación. Adicionando al tubo de ensaye agitando vigorosamente por 5 min para obtener una completa incorporación de todas las sustancias. En cuanto a la síntesis del NIP, se llevo a cabo la misma secuencia de pasos excepto que no se trabajo con IVM.

Reactivos	Proporción	Cantidad (g)/ Calor		Cantidad (g)/ Luz Uv	
		CMIP	CNIP	UvMIP	UvNIP
IVERMECTINA	1 mmol	0.8699	----	0.8806	---
ÁCIDO METACRÍLICO	1 mmol	0.0859	0.0940	0.0877	0.0859
TRIACRILATO DE PENTAERITRITOL	20 mmol	6	6	5.9648	6.0524
AIBN	1%	7.7 mg	7.7 mg	8.0 mg	7.9 mg
CLOROFORMO	----	7 mL	7 mL	7 MI	7 mL

Tabla 3. Cantidades utilizadas en la síntesis de MIP y NIP en calor y luz Uv.

Con los tubos perfectamente identificados se les colocó un tapón de hule y sellados de forma adecuada con parafilm. Los tubos se burbujearon con N₂ gaseoso durante 10 min con el fin de eliminar el O₂ que contenido en el tubo y así tener una mayor superficie de contacto. Aplicando primero al NIP y después al MIP, para disminuir una posible contaminación, al finalizar el tiempo se sellaron con silicón.

Se ensayaron dos condiciones diferentes una es calor y la segunda irradiación de luz Uv. La primera fue colocar el par de tubos (MIP y NIP) en baño de aceite de silicón a 65°C. La segunda consistió en un baño de agua a 4°C con irradiación de luz Uv; ambos por un periodo de 24 h. En ambas condiciones de trabajo ocurre la reacción de polimerización (Figura 9), generando cavidades en la matriz polimérica que interaccionando selectivamente con ivermectina.

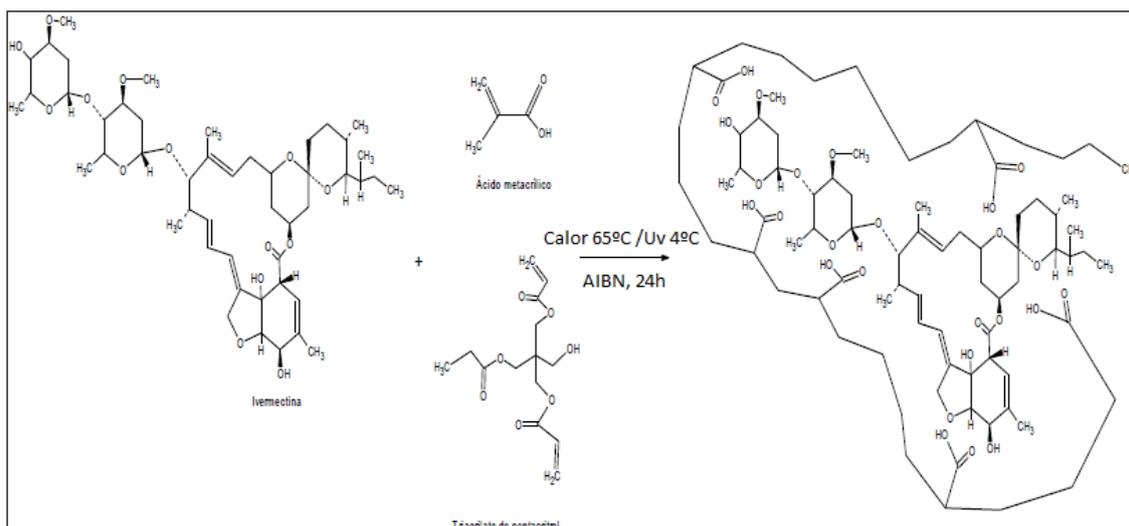


Figura 9. Reacción de polimerización de los polímeros.

2. TRATAMIENTO DE POLÍMEROS.

2.1. CURVA PATRÓN DE IVERMECTINA.

Se preparó una disolución stock de IVM, pesando 26.8 mg de esta sustancia se adicionaron en un matraz volumétrico de 100 mL, se aforó con etanol obteniendo una concentración de 0.31 mM. A partir de esta disolución se hicieron las diluciones necesarias para obtener las concentraciones requeridas como se muestra en la Tabla 4.

Concentración mM	Volumen de la disolución stock 0.31 mM en μL	Volumen final de la disolución mL
0.002	163	25
0.004	326	25
0.006	490	25
0.008	653	25
0.010	816	25

Tabla 4. Disoluciones de la curva patrón de ivermectina.

Una vez ya preparadas las disoluciones se determinó la absorbancia de cada una de las muestras en un espectro de Uv-visible a una longitud de onda de 245 nm, después se trataron los datos con el

programa Origin Lab ajustando la información a la ley de Lamber – Beer; para saber la cantidad de IVM captada por los MIPs.

2.2. LIMPIANDO LOS POLÍMEROS DE IVERMECTINA.

Al finalizar el tiempo de polimerización se retiraron cada uno de los MIP y NIP de los tubos de ensaye, se realizó una molienda utilizando un molino eléctrico por 5 min, técnica empleada para todos los polímeros sintetizados. Lo que prosiguió fue el proceso de lavado: vertiendo los polímeros en vasos de precipitados de 50 mL (identificados adecuadamente) con un volumen de 40 mL de etanol; agitando durante 2 h, después se filtro por decantación el disolvente, repitiendo este procedimiento 3 veces, seguido de un lavado de 24 h en agitación, pasado este tiempo se dejó en reposo para sedimentar al polímero y se decanto el etanol. Al termino de los lavados se vaciaron en filtros de celulosa los polímeros dejándolos en lavado a reflujo en etanol por 48 h en el equipo soxhlet.

Terminado el periodo de lavado a reflujo, se filtraron los polímeros al vacío con etanol limpio para verificar la eliminación completa de la ivermectina, residuos de AIBN, oligómeros de bajo peso molecular, etc. Para ello se tomó el etanol residual de la filtración y ocupando el espectrofotómetro Uv-visible se podía observar la máxima absorción a 245 nm, espectro característico de la sustancia.

Si los polímeros contenían IVM aun, se vertían en vasos de precipitado de 50 mL agregándoles 40 mL de etanol, se dejaban en agitación por 24 h; al finalizar el tiempo se verificaba la limpieza de los polímeros si persistía la IVM, se dejaban reposar y se decantaba el etanol, agregándoles nuevamente 40 mL de etanol y se repetía este procedimiento hasta lograr una eliminación completa de la IVM en los polímeros.

Cuando los polímeros estaban libres de IVM se filtraron y depositándolos en frascos viales con un tapón de algodón se dejaron en el desecador al vacío por 24 h a una temperatura de 50°C, ya eliminados los residuos volátiles, se retiraron de desecador y se taparon los frascos manteniéndolos a temperatura ambiente.

2.3. CARGANDO DE IVERMECTINA AL POLÍMERO.

Al obtener los polímeros completamente limpios de la molécula horma o algunos probables residuos de la síntesis, se procedió a cargar los polímeros tanto en MIP como el NIP con ivermectina.

Para obtener la solución saturada de IVM se hizo una relación empírica por cada 1 g de polímero a cargar debería de ser 100 veces mayor la concentración de IVM a utilizar. En base a esta información se preparó de la siguiente manera: en un matraz erlenmeyer de 500 mL se vertió 300 mL de etanol, con una agitación de 250 rpm se adicionó poco a poco la IVM necesaria para obtener una disolución saturada del fármaco, calculada la concentración de 125 mM.

Se pesó 1 g de cada uno de los polímeros MIP y NIP tanto los sintetizados en Uv como los de calor, adicionándolos en matraces de erlenmeyer de 200 mL, se les agregó 100 mL de la disolución saturada de IVM a cada polímero y como blanco es la disolución saturada. Se taparon perfectamente cada matraz evitando así la evaporación del etanol, con agitación por 24 hrs. De estos mismos polímeros ya cargados con el fármaco se adicionaron dos saturaciones más (como se describió anteriormente) solo que esta vez, se pesó 0.5 g y en la posterior 0.25 g.

Se determinó la concentración de IVM en las disoluciones primero fue una disolución de 5 µL/50 mL en etanol; donde los 5 µL son de la disolución blanco, segundo se verificó la concentración de IVM por medio de la absorbancia a 245 nm y se hicieron los cálculos correspondientes utilizando la curva de calibración; con el fin de

saber la cantidad de IVM por gramo de polímero que recuperó cada MIP y NIP.

$$\text{Carga del polímero} = \frac{\text{mg de ivermectina recuperada}}{\text{mg de polímero}}$$

2.4. CINÉTICA LIBERACIÓN DE IVERMECTINA *in vitro*

Se pesaron entre 25 y 27 mg de cada uno de los polímeros cargados UvMIP y UvNIP, se les añadieron 25 mL de etanol con una temperatura y agitación constante 37°C y 260 rpm, durante 24 h. en cada tiempo se realizaron tomas de 250 µL de la disolución y se reemplazaron con 250 µL de etanol puro cada vez. Cada muestra fue diluida en 5 mL de etanol y posteriormente se determinó la cantidad de IVM liberada en cada tiempo correspondiente, mediante espectroscopia Uv y la curva patrón previamente hecha.

Muestra	Tiempo (min)	Muestra	Tiempo(min)
1	30	8	390
2	60	9	420
3	90	10	480
4	120	11	540
5	180	12	570
6	240	13	900
7	300		

Tabla 5. Tabla de tiempos de exposición de IVM *in vitro*.

3. ESTUDIOS DE REOLOGÍA.

Se evaluaron las propiedades reológicas de los MIPs y NIPs con el propósito de desarrollar implantes por compresión para la liberación controlada de IVM aplicándola en ratas. Se realizaron las siguientes pruebas a los diferentes polímeros, tanto vacíos como conteniendo IVM:

3.1. DENSIDAD APARENTE.

1. Se pesó aproximadamente 0.5 g de la muestra.
2. Se adicionó la muestra en una probeta de vidrio graduada de 5 mL.
3. Se registro el volumen ocupado por la muestra.
4. Se determinó la densidad aparente con la siguiente fórmula:

$$\text{Densidad Aparente} = \frac{\text{Peso de la muestra}}{\text{Volumen de la muestra}}$$

3.2. DENSIDAD COMPACTADA.

Se determinó de la misma manera que la densidad aparente, sólo que antes de medir el volumen ocupado por la muestra se deja caer en una superficie plana desde una altura de 5 cm por 400 veces o hasta obtener un volumen constante. Con la siguiente fórmula se calculó la densidad compactada:

$$\text{Densidad Compactada} = \frac{\text{Peso de la muestra}}{\text{Volumen constante}}$$

Con los datos anteriores se calculo el por ciento de compresibilidad de la siguiente manera:

$$\% \text{ de compresibilidad} = \frac{(\text{Desidad compactada} - \text{Densidad aparente}) * 100}{\text{Densidad compactada}}$$

Interpretación del por ciento de compresibilidad

Por ciento de compresibilidad	Características de flujo
5.0---13.0	Excelente
14.0---19.0	Bueno
18.0---22.0*	Regular
23.0---32.0*	Pobre
33.0---39.0	Muy pobre
>40.0	Pésimo

Tabla 6. Características de flujo respecto al por ciento de compresibilidad.

*Adicionar un 0.2% de deslizante para mejorar el flujo del granulado.

Se calcula en índice de Hausner con la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de Hausner} = \frac{\text{Densidad compactada}}{\text{Densidad aparente}}$$

Interpretación del índice de Hausner

Índice de Hausner	Flujo
<1.25	Buen flujo (16%-20% de compresibilidad)
>1.50	Mal flujo (corresponde a valores mayores del 30% del índice de compresibilidad)

Tabla 7. Índice de Hausner en relación al flujo.

Índice de Hausner	Flujo	% Compresibilidad
1.00—1.11	Excelente	1—10
1.12—1.18	Bueno	11—15
1.19—1.25	Regular	16—20
1.26—1.34	Aceptable	21—25
1.35—1.45	Malo	26—31
1.46—1.59	Muy malo	32—37

Tabla 8. Relación del índice de Hausner con el por ciento de compresibilidad.

3.3. DENSIDAD VERDADERA.

1. Se pesó el picnómetro vacío (P1).
2. Se pesó el picnómetro aforado con agua destilada (P2).
3. Se pesó el picnómetro aforado con vaselina líquida (P3).
4. Se pesaron en el picnómetro aproximadamente 0.1 g de la muestra (P4). Se aforó el picnómetro con la vaselina y se pesó (P5).
5. Se calculó el peso específico de la vaselina (PEV) con la fórmula:

$$PEV = \frac{P3 - P1}{P2 - P1}$$

6. Se calculó la densidad verdadera con la siguiente fórmula:

$$Densidad\ verdadera = \frac{(PEV)(P4 - P1)}{(P4 + (P3 - P1) - P5)}$$

7. Se calculó la porosidad con la fórmula:

$$E = 1 - \frac{Densidad\ aparente}{Densidad\ verdadera}$$

3.4. TAMAÑO DE DISTRIBUCIÓN DE PARTÍCULA.

Esta determinación se realizó por el método de tamizado con mallas en un tamizador ENDECOTTS.

1. Se pesó cada una de las mallas incluyendo la base y la tapa, se colocó una cantidad aproximada de la muestra 0.5 g.
2. Se colocó la muestra en la malla de mayor tamaño de abertura, se tapó y se tamizó durante 5 min.
3. Se pesó la malla con la muestra, por diferencia se determinó la cantidad de la muestra depositada en cada malla.
4. Se procedió con cada una de las mallas hasta llegar a la de menor tamaño.

3.5. COMPRIMIDOS.

Se mezclaron el Avicel 101 y los polímeros en una proporción 1:2 W:W respectivamente, para después hacer comprimidos.

1. Se pesó 0.025 g de Avicel 101 y 0.05 g de cada uno de los polímeros.
2. Se fijó la velocidad del mezclador a 10 rpm.
3. Se adicionaron las muestras en el recipiente del mezclador.

4. Se encendió y se dejó trabajar por un tiempo de 5 min.
5. Se prepararon los comprimidos en la prensa hidráulica y se sometieron a diferentes presiones (1, 1.5 y 3 kPa).

3.6. IMPLANTES.

Se cambio la forma de elaborar los implantes, de compresión a extrusión y se uso como material de cohesión harina de trigo en una relación 1:1 W:W, por el problema de laminado que se presentaba y considerando que van dirigidos al uso veterinario además que en la composición de la misma es almidón en un 80% el cual es utilizado como copolímeros en diversos estudios en animales:^[48]

1. Se pesó 0.3 g de harina de trigo y 0.3 g de polímero.
2. Se vertieron las muestras en el mezclador por un tiempo de 5 min.
3. La mezcla se adicionó en un capsula de porcelana y se le agregaba 3 mL de agua destilada.
4. Se batió hasta obtener una mezcla uniforme de color blanca y se adicionaba en una jeringa de 5 mL con una aguja modificada con un diámetro de 2 mm.
5. Se presionó el embolo de la jeringa con el propósito de obtener la mezcla en forma cilíndrica.
6. Se calculó el total de la mezcla en forma cilíndrica para saber la cantidad de IVM que hay en cada cm.

3.7. ADMINISTRACIÓN DE LOS MIP Y NIP EN RATAS WISTAR.

Se experimentó con 6 ratas blancas con un peso promedio de 300 g, las cuales habían sido desparasitadas con el medicamento Tergad intramuscular el 26/abr/2010, con una disolución de 20mL.

Se administraron los implantes obtenidos subcutáneamente en el lomo de la rata, en el lado derecho fue UvMIP: Avicel 101 y del lado

izquierdo solo UvMIP. Las ratas fueron anestesiadas con pentobarbital en una dosis de 20 mg/Kg logrando una inmovilización por completo, posteriormente se les rasuró en la zona de aplicación, se sostuvo la parte de la piel para lograr estirla e introducir el implante con ayuda de una pistola para implantes marca PISA-Agropecuaria, sin perforar el musculo dorsal; colocándolo entre la epidermis y la dermis, ya que se encuentran una **gran cantidad de glándulas sebáceas** para la liberación controlada de la IVM desde el MIP. Además durante el estudio se vigilaron las posibles reacciones adversas en cuanto a la zona de aplicación del implante, desde una leve inflamación hasta una zona de infección.

En la aplicación para los blancos se utilizó UvNIP y una disolución (agua: propilenglicol 30:70) de IVM administrada subcutáneamente con una dosis de 26mg/Kg. Se anestesiaron a las ratas en una cámara de éter etílico, humedeciendo el algodón que se encontraba dentro de la cámara para lograr una anestesia temporal a la rata, ya sin control de sus extremidades se procedió a rasurar en la zona de aplicación, ya sin pelo se hizo una incisión de 1 cm, para posteriormente introducir con ayuda de una cánula el implante, una vez colocado en su sitio adecuado se cerró la incisión con una gota de pegamento no tóxico.

Tanto los blancos como el UvMIP se administraron a 4 ratas cada uno, teniendo 4 grupos:

- Grupo 1 UvMIP.
- Grupo 2 UvNIP.
- Grupo 3 IVM 30:70 agua: propilenglicol.
- Grupo 4 control ambiental.

3.7.1. RECOLECCIÓN DE HECES.

La recolección de las heces de las ratas se tomaban de cada uno de los animales en los días: 0, 6, 8, 11, 13, 36 y 45 posteriores a la administración de cada uno de los tratamientos. Se trabajaron con 4 grupos los cuales tenían 6 ratas cada uno de ellos, para posteriormente recolectar las heces. Cada rata estaba en una sola caja las cuales se limpiaban diariamente y los días anteriores a la recolección no se hacía para tener la muestra de 24 h. Las muestras se almacenaron en bolsas de plástico en refrigeración hasta su utilización en el bioensayo con *Artemia salina*.

3.8. BIOENSAYO CON *Artemia salina*.

Se realizó un bioensayo con *Artemia salina* conocida como el camarón de salmuera por lo cual se preparó su **habitan** con las siguientes características para un adecuado crecimiento de las mismas, se pesó 57 g de sal libre de yodo de la marca Instan Ocean y se disolvió en 1.5 L de agua destilada libre de iones para obtener una agua salina de 1.022-1.024 g/L, después se pesó 0.5 g de quistes de *Artemia salina* (ECLOSIONAZUL) y se dejaron eclosionar por un periodo de 24 h obteniendo así los primeros nauplios. Después de las 48 h se alimentaron con levadura casera TradiPan® en una relación de 5 mg /5 mL de agua salada, primero fueron 2 mL, a las 72 h fueron 2 mL más y para los 7 días se agregó 1 mL. Para sustituir el volumen de agua evaporada solo se colocaba agua destilada, debido a que solo se evaporaba el agua y así se evitaba que la sal se concentrara en el medio.

Para trabajar con las muestras recolectadas se colocaban 300 mL de agua salina en un recipiente de 750 mL de capacidad cuadrado transparentes, los cuales después de lavarlos bien eran enjuagados primero con etanol y después con agua destilada; con el propósito de eliminar restos de IVM no disuelta, se colocaban en una superficie

plana y de fondo negro que servía como contraste, después depositaban una a una las Artemias salinas con un total de 20 por cada pecera, los crustáceos se transfería por medio de una pipeta pasteur y utilizando la lámpara de luz blanca en un esquina de la pecera para una mejor visualización de las Artemias salinas, ya que su tamaño no llegaba a ser mayor de 1 cm.

Después se peso entre 1.0 y 1.5 g de heces de cada muestra y se trituro con la finalidad de lograr una mayor área de contacto con el medio salino y así se obtendrá la cinética de liberación de los polímeros impresos con ivermectina. Se realizaron pruebas de toxicidad con el disolvente de etanol y la IVM, con la finalidad de hacer una curva patrón de IVM y con el disolvente utilizado para disolverla fue el etanol.

VII. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.

1. SÍNTESIS DE POLÍMEROS.

Se realizó la síntesis del polímero impreso (MIP) y del no impreso (NIP) funcionando como blanco ya que en éste no está la molécula horma (IVM) en el momento de la polimerización. En consecuencia en el polímero no impreso no se forman las cavidades específicas para la IVM, con el fin de comprobar la afinidad y la formación de los sitios de reconocimiento presentes en el MIP debido a la impresión por la molécula molde formada durante el proceso de la polimerización.

Se sintetizaron los polímeros de impresión molecular designándoles como UvMIP y el UvNIP, nombrándolos así por el método utilizado para la iniciación de la polimerización; en este caso fue la luz ultra violeta (UV), para el caso por calor se les nombro CMIP y el CNIP.

Los polímeros obtenidos por las dos diferentes rutas de polimerización presentaron una diferencia física fácilmente vista, la descripción es de los MIPs sintetizados en condiciones fotoquímicas eran translucidos y el NIP eran semitransparente (Figura 10), además de tener más rigidez. Estas condiciones no las presentaron los MIPs y NIPs sintetizados en condiciones térmicas, debido a que los dos se tenían características físicas similares al polímero con la molécula molde obtenido por la síntesis con Uv, sin haber diferencia significativa entre el MIP y NIP (Figura 10), además presentaron más fragilidad.

Al analizar el resultado obtenido por las dos vías de iniciación de la polimerización para la síntesis de los polímeros mostraron una influencia muy significativa en la conformación estructura a lo que se le conoce como un estado vitrio ^[21] en los polímeros sintetizados en condiciones fotoquímicas. Lo anterior se podría deber a que la conformación sea más ordenada que la microestructura de la matriz polimérica sea más homogénea en comparación con los polímeros

sintetizados utilizando las condiciones experimentales de calor, tienden a organizarse todo lo contrario una microestructura heterogénea.

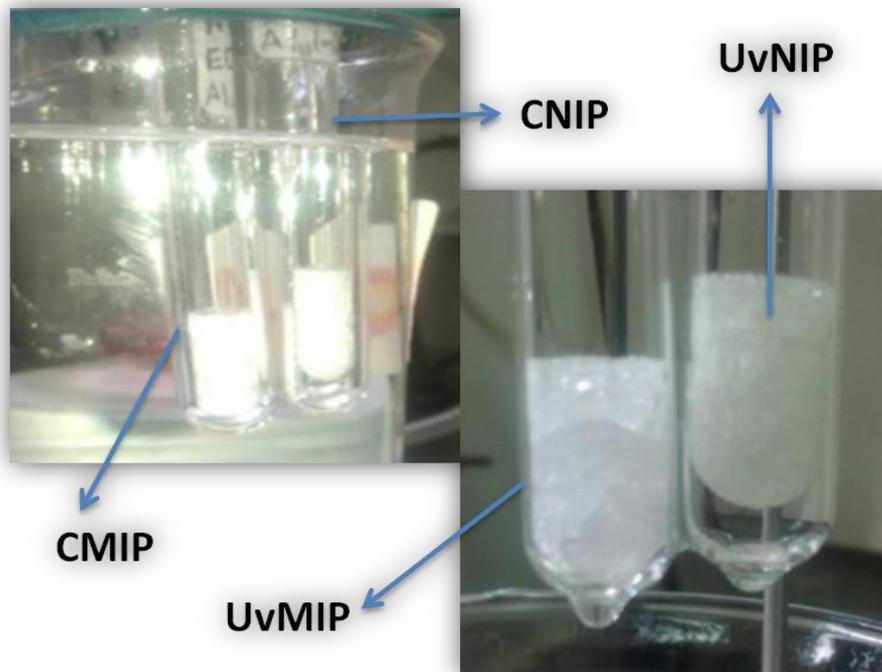


Figura 10. Síntesis de los polímeros en diferentes condiciones para iniciar la polimerización.

2. REDUCCIÓN DE TAMAÑO DE PARTÍCULA EN MIPS Y NIPS.

Ya terminada la síntesis de los polímeros en las diferentes condiciones de polimerización se procedió a la fragmentación de los mismos. Es importante el tamaño de partícula que presenta cada uno de los polímeros para el análisis reológico para una futura preformulación. Es decir el principal objetivo de este proceso es establecer la tendencia de distribución de tamaño de partícula que forma el polvo una vez ya triturado, ya que si estuviera formado solamente por partículas esféricas no habría mayor dificultad en definir el tamaño de las mismas, porque el tamaño de una esfera esta determinado solamente por su diámetro, pero las partículas generalmente tienen

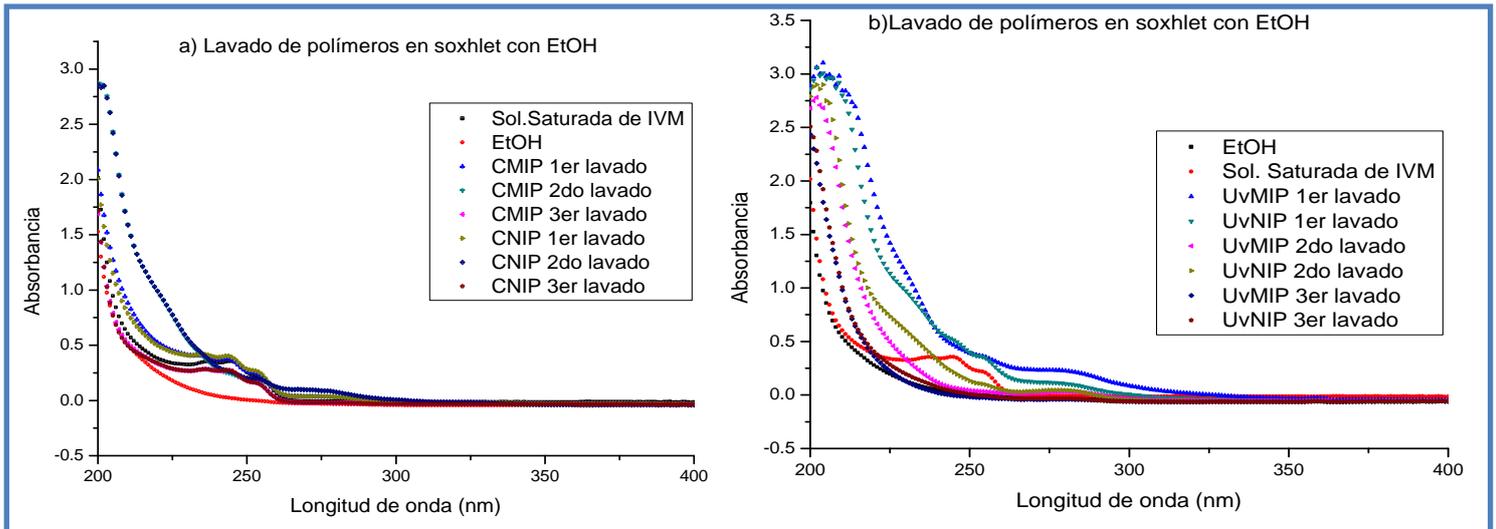
formas irregulares. Después de moliendos tanto los MIPs y NIPs sintetizados por las dos diferentes vías no presentan ninguna diferencia significativa físicamente por ello es importante un adecuado sistema de identificación.

3. EXTRACCIÓN DE LA MOLÉCULA HORMA.

Con el fin de eliminar la ivermectina para dejar libre las cavidades formadas durante el proceso de impresión se realizaron 3 lavados sucesivos de etanol, este proceso es el más tardado ya que se requirieron 72 h para poder obtener el polímero libre de la molécula horma, los lavados se llevaron a cabo tanto al polímero impreso como al no impreso debido a que el NIP serviría como blanco ante el MIP tienen que sintetizarse en las mismas **condiciones e excepción de la molécula molde**. También en este proceso no solo se eliminó a la horma sino además restos de los reactivos que no se incluyeron en la matriz polimérica: disolvente, monómero, entrecruzador e iniciador.

En la gráfica 1 se ilustra los lavados de cada uno de los polímeros; en la a) son los sintetizados por medio de calor y como se logra observar después de todo el proceso de eliminación no se obtuvieron limpios por completo los polímeros por lo cual se requirieron de más lavados, en la b) se ilustra la eliminación de la molécula IVM de los polímeros que fueron sintetizados por Uv los cuales quedaron limpios por completo; comparando este procedimiento es más difícil extraer a la molécula horma de los polímeros sintetizados en calor contrario de aquellos que polimerizan con Uv.

Con la eliminación de la molécula horma se aseguran que los MIP estén limpios de la IVM ya que es el fármaco de interés en los próximos estudios de liberación de los polímeros para comparar si se logra una liberación controlada en comparación con algunos sistemas ya disponibles en el mercado.



Gráfica 1.a) Gráfica de los polímeros sintetizados por medio de calor, b) Gráfica de los polímeros sintetizados en Uv para la eliminación de IVM.

4. CARGANDO DE IVERMECTINA A LOS POLÍMEROS.

Los polímeros se saturaron con una solución de ivermectina tanto a los impresos como no impresos, con la finalidad de saber la cantidad que recupera cada uno de estos para los estudios posteriores de liberación. Los resultados nos indicaron que los polímeros impresos adsorbieron una mayor cantidad de IVM en comparación con lo no impresos.

Como se puede observar en la tabla 8 los CMIP recuperaron mayor cantidad de IVM en comparación con el UvMIP, ya que la polimerización en calor crea mayores sitios de reconocimiento lo cual hace que estos sitios estén más accesibles para la horma, en contraste con los UvMIP los sitios de reconocimiento son más ordenados lo cual impiden que se tenga una accesibilidad mayor y por tal razón estos polímero recuperan una menor cantidad de IVM.

Polímeros	mg de IVM/mg de polímero
CNIP	2.26753
CMIP	3.41063
CNIP 1saturación	0.07561
CMIP 1saturación	0.58499
CNIP 2saturación	0.17060
CMIP 2saturación	0.23713
UvMIP	0.33249
UvNIP	0.20912

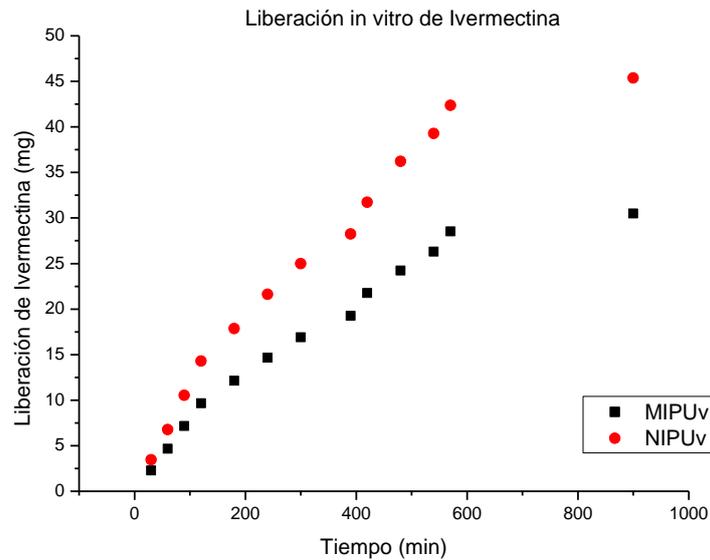
Tabla 9. Cantidad de IVM recuperado por los polímeros.

También después de las 48 h a los polímeros CMIP y CNIP se volvieron a cargar por un periodo igual bajo las mismas condiciones. Los resultados obtenidos son que el NIP no recupera nada de IVM en comparación con el MIP que genera una diferencia de 0.34786 lo que indica que ya estando saturado el polímero de IVM en el centro en los alrededores sigue atrapando IVM, lo que no ocurre en el NIP ya que no tienen sitios específicos para la IVM solo se une el fármaco en sitios superficiales no específicos, y ya no tienen esa capacidad en comparación con el CMIP.

5. LIBERACION in vitro DE IVM.

En la gráfica 2 se muestra el perfil de liberación de IVM de los polímeros sintetizados en Uv, elegidos por que al polimerizar con Uv en comparación con los de calor, se generan de manera más ordenada los sitios de reconocimiento de la molécula horma provocando un mayor tiempo de liberación de la matriz polimérica hacia el exterior. Como se observa el UvMIP libera menor cantidad de IVM con el UvNIP esto sustenta lo anterior, debido a que como el polímero molecularmente impreso tiene los sitios específicos para la IVM será más difícil liberarla ya que **la unión es altamente específica** en comparación con los NIPs ya que estos polímeros recuperan la IVM alrededor de ellos por lo cual su liberación es más rápida ya que esta mayormente accesible hacia el medio de disolución.

Las cinéticas de liberación en estos casos no siguen un modelo claro y durante los primeros 600 min siguen una tendencia prácticamente de orden cero, probablemente debido a procesos difusionales, como es de esperarse para este caso, ya que se trata de polímeros no degradables y solo se observa la difusión de la ivermectina al medio.



Gráfica 2. Gráfica de liberación de IVM *in vitro* de los polímeros sintetizados en UV.

6. ESTUDIOS DE REOLOGÍA.

Uno de los requisitos que debe cumplir el material en el proceso de formas farmacéuticas sólidas es el de tener muy buena fluidez. Uno de los parámetros para medir la capacidad de flujo de los materiales es el ángulo de reposo. Este es el ángulo de la pendiente formada por el cono producido respecto al plano horizontal cuando se le deja caer libremente el material desde un embudo de vidrio. Entre menor sea el ángulo de reposo, mayor será el flujo del material y viceversa. Este tipo de ángulo mide la capacidad de movimiento o flujo del polvo. Los polímeros estudiados tienen una alta capacidad de adherirse al recipiente que lo contenía se dedujo que tenía un mal flujo y así ya no se realizó esta prueba, lo anterior se pudo corroborar con la

distribución del tamaño de las partículas ya que la mayor cantidad de ellas están por debajo de $75\ \mu\text{m}$ y presentan una alta cohesión entre sí. Esto se debe a las interacciones de Van der Waals entre las partículas, las fuerzas de adhesión y de rozamiento influyen grandemente en la forma del cono, especialmente en las partículas finas. Para disminuir esta adhesión y rozamiento, se utilizan unas sustancias llamadas lubricantes que se adicionan al polvo en cantidades muy pequeñas.

La determinación de las densidades es importante porque es una propiedad que va a estar interrelacionada con la porosidad, compresibilidad y la dureza de los comprimidos. De la tabla 10 se pueden realizar varias observaciones:

Al considerar el por ciento de compresibilidad del fármaco se indica que la ivermectina y el CMIP c/IVM 2sat van a tener un flujo pobre (23-35%) y en caso de ser comprimido sería necesario adicionarle un 0.2% de deslizante para mejorarlos en caso de estar completamente sola para el fin. También indica baja compresibilidad lo que probablemente se traduzca en dificultad para formar el comprimido. Los polímeros UvMIP s/IVM y CMIP s/IVM van a tener un flujo excelente (5-15 % de compresibilidad). Los polímeros al contener IVM presentaron un flujo bueno (12-16% de compresibilidad) tanto el UvMIP c/IVM, UvNIP c/IVM, el CMIP c/IVM 1sat, CNIP c/IVM 1sat y el CNIP c/IVM 2sat, no es de extrañar que al contener la IVM mejora la compresibilidad y empeora el flujo ya que la IVM sola tienen mejores resultados, en general, que los polímeros.

Polímeros	Densidad aparente (g/mL)	Densidad compactada (g/mL)	% Compresibilidad	Índice de Hausner	Densidad verdadera (g/mL)	Porosidad
UvMIP s/IVM	0.5008	0.5564	10.0000%	1.1111	1.1921	0.4188
UvNIP s/IVM	0.5567	0.5567	0.0000%	1.0000	1.2687	0.3494
UvMIP c/IVM	0.3855	0.4555	15.3846%	1.1818	1.3406	0.4584
UvNIP c/IVM	0.2956	0.3589	17.6471%	1.2143	1.0833	0.6503
CMIP s/IVM	0.4300	0.4730	9.0909%	1.1000	1.4641	0.3893
CNIP s/IVM	0.5011	0.5011	0.0000%	1.0000	2.2321	0.2235
CMIP c/IVM	0.2488	0.3021	17.6471%	1.2143	1.0696	0.7024
1sat.						
CNIP c/IVM	0.3785	0.4542	16.6667%	1.2000	1.6004	0.3883
1sat.						
CMIP c/IVM	0.2109	0.3012	30.0000%	1.4286		
2sat.						
CNIP c/IVM	0.3863	0.4636	16.6667%	1.2000		
2sat.						
IVM	0.3879	0.5043	23.0769%	1.3000	0.3323	1.8417

Tabla 10. Propiedades granulométricas de los polímeros.

La evaluación de los polímeros anteriores tanto: UvMIP s/IVM y c/IVM, los UvNIP s/IVM y c/IVM; los CMIP s/IVM y c/IVM y los CNIP s/IVM y c/IVM contenían ya una relación de 2:1 de avicel 101, para que pudieran mejorar sus propiedades de flujo, además que la compresión es inversamente proporcional al flujo, por lo cual el material era compresible. Considerando todos los resultados anteriores estos coinciden con el índice de Hausner; donde los primeros datos analizados indicaron un mal flujo ya que supera los valores entre 1.3-1.4, en comparación con todos los demás datos donde se indica que van a presentar un buen flujo.

La porosidad indica el espacio vacío disponible por lo tanto; a mayor espacio vacío va a ser mayor el porcentaje de compresibilidad como se reflejo en los resultados de la IVM, UvMIP c/IVM, UvNIP c/IVM y el CMIP c/IVM 1sat y los que presentaron menores valores de porosidad son también aquellos con lo más bajos por cientos de compresibilidad como UvMIP s/IVM, UvNIP s/IVM, CMIP s/IVM, CNIP s/IVM y el CNIP c/IVM 1sat. Lo anterior refleja que la IVM les transfiere a todos los polímeros espacios disponibles generándoles porosidad tanto el MIP

que cuenta con los sitios de reconocimientos necesarios para captarla y al NIP que solo se aglomera alrededor de este sin necesidad de tener especificidad para la IMV. Probablemente esto es concordante con el conocimiento que se tiene en trabajos previos de que la ivermectina se adsorbe principalmente en lugares específicos en el MIP y siguiendo un comportamiento de isoterma de Freundlich (multicapa) en sitios inespecíficos. Así la porosidad propia de la IVM se refleja en la porosidad de los polímeros cargados.^[49, 50]

Sin embargo, todas las características reológicas dependen de factores tales como el tamaño y forma de la partícula por lo cual el rango adecuado para realizar ésta medición es para partículas $\geq 150\mu\text{m}$ y como se verá en la determinación de tamaño de partícula, hay partículas menores de éste rango como se muestra en la tabla 11, donde se presentan los resultados obtenidos de la medición de tamaño de partícula.

a)UvNIP s/IVM	% Retenido	c)UvMIP s/IVM	% Retenido
850 μm	1.0800	850 μm	0.8700
420 μm	4.9200	420 μm	0.7500
149 μm	3.5300	149 μm	0.9700
74 μm	10.6300	74 μm	1.7500
<74 μm	8.2000	<74 μm	24.2100

b)CNIP c/IVM	% Retenido	d)CMIP c/IVM	% Retenido
850 μm	1.6700	850 μm	1.0500
420 μm	8.9100	420 μm	2.1300
149 μm	2.8800	149 μm	1.7700
74 μm	1.8500	74 μm	1.6300
<74 μm	16.0200	<74 μm	21.6800

Tabla 11. Tamaño de partícula de los polímeros.

En los histogramas de la gráfica 3 de distribución de tamaño de partícula se observa que en a) UvNIP s/IVM que la mayor cantidad se encuentra distribuida por debajo de 149 μm y 74 μm , lo cual se interpretaría como presencia de finos. En b) CNIP c/IVM la mayor

cantidad de partículas está por debajo de los 74 μm . En c) UvMIP s/IVM y d) CMIP c/IVM la tendencia es de una mayor cantidad de polímeros que se encuentran distribuidos por debajo de los 74 μm , lo mismo que el b). A excepción de a) UvNIP s/IVM todos los demás polímeros presentaron un tamaño de partícula pequeño, lo cual indica que tendrán una área superficial mayor.

Los resultados obtenidos mostraron que los polímeros tanto MIP como NIP de calor o Uv presentaron valores muy bajos de densidades tanto la densidad aparente y compactada, provocando que los polvos presenten una menor compresibilidad, presentándose el problema de laminado, ya que los comprimidos se fracturan a lo largo de numeroso planos horizontales lo cual se manifestaba en días posteriores a la compresión; como se observó en la figura 11, donde se muestra tanto el CNIP s/IVM y CNIP c/IVM, CMIP s/IVM y CNIP c/IVM esto puede deberse a la gran cantidad de finos.^[51]

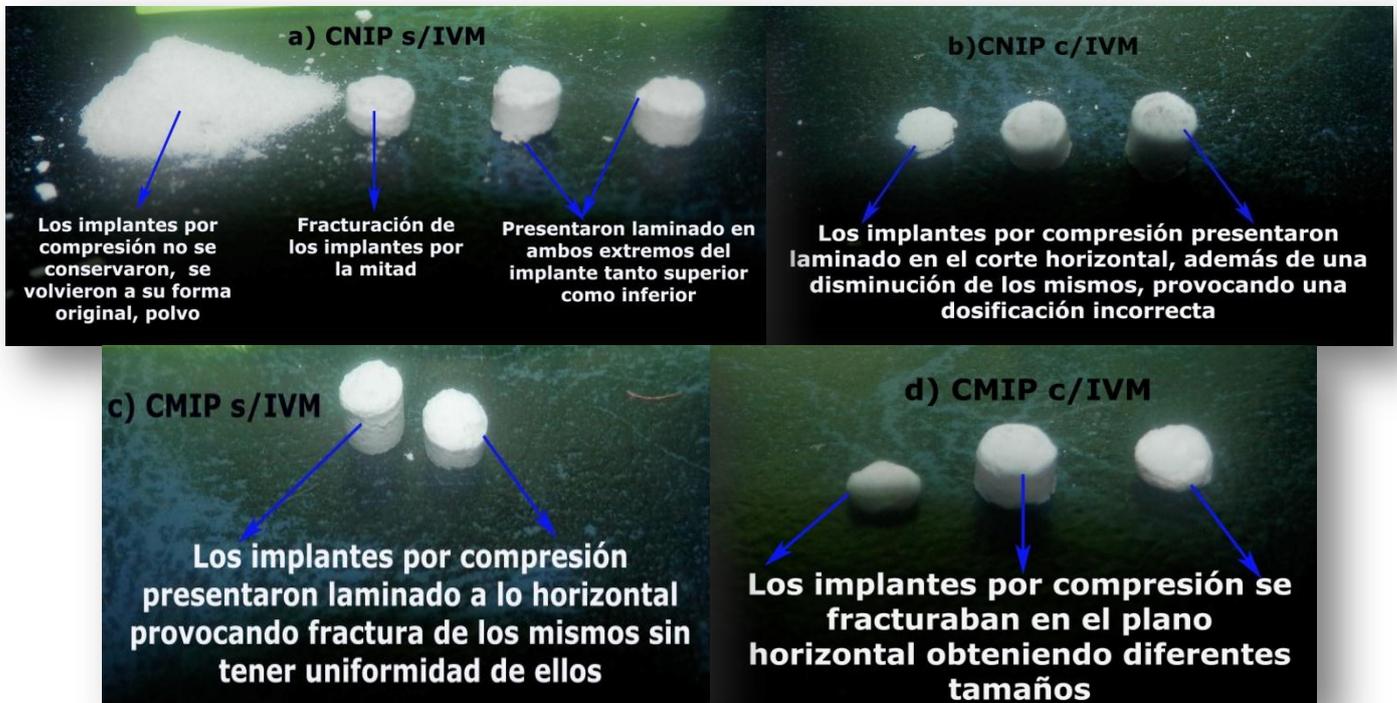
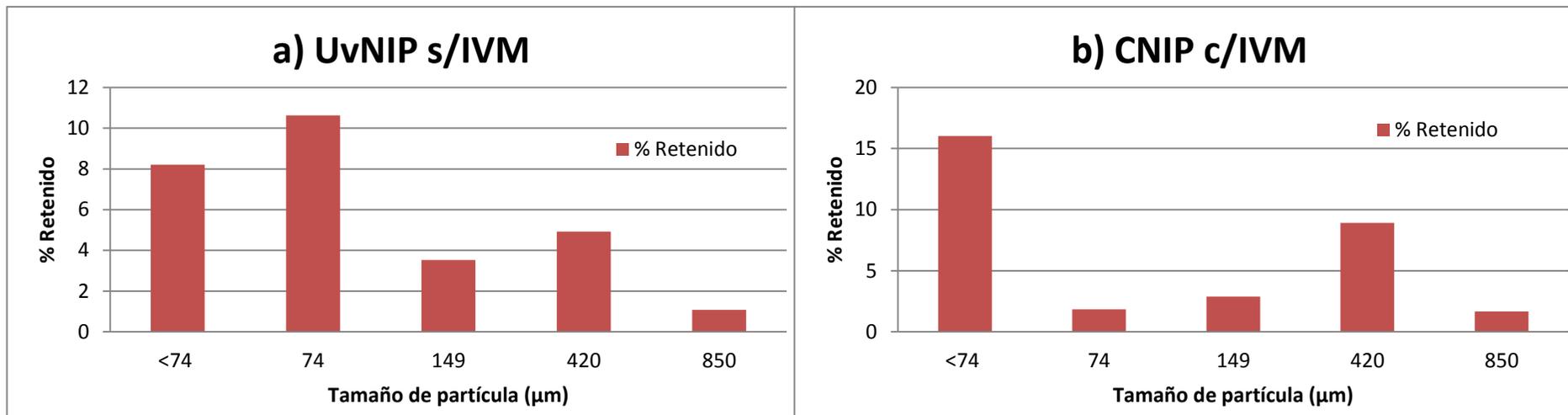
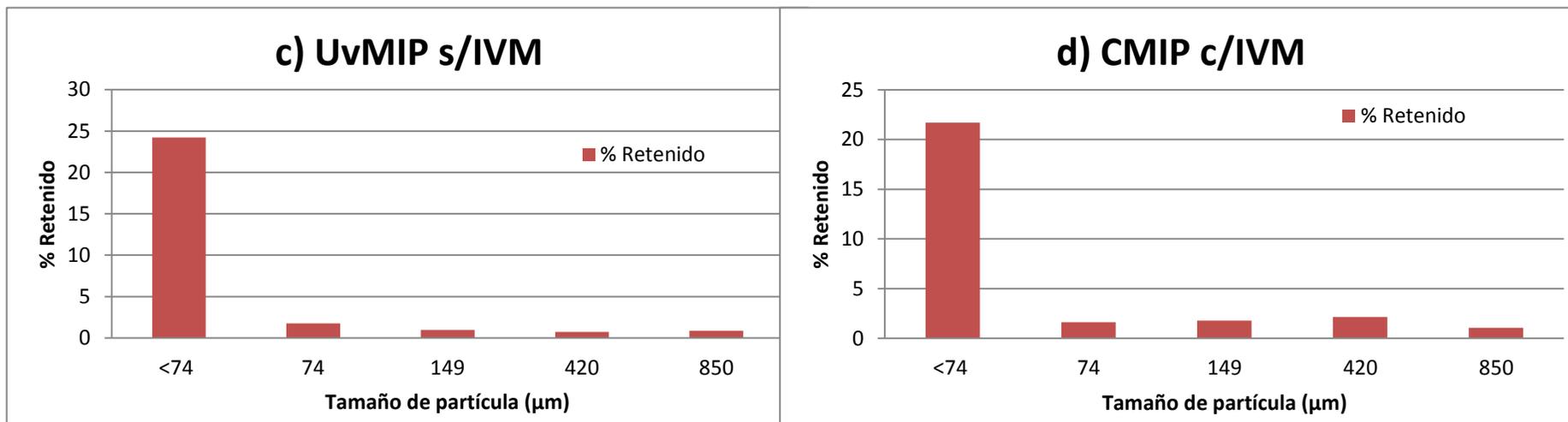


Figura 11. Laminados de los diferentes comprimidos.



Gráfica 3. Histogramas de los tamaños de partículas de los polímeros a)UvNIP s/IVM donde el mayor número de tamaño de partícula es de 74μm, b) CNIP c/IVM el mayor tamaño es de 74μm, c)UvMIP s/IVM su tamaño de partícula está por debajo de 74μm lo mismo se presenta en d)CMIP c/IVM.



Como se observa en los diferentes comprimidos sus características no son muy simétricas y al pasar los días se presentaba el laminado de cada uno de ellos, por lo tanto no se podrían administrar ya que no se aseguraba la uniformidad de dosis que es lo más importante en una forma farmacéutica.

Dando seguimiento a todos los resultados de la reología se podría decir que los MIPs presentan propiedades elásticas, ya que al aplicarle la fuerza de compresión no se alcanzó el límite plástico como se observa en la figura 12; la teoría de compresión con la ley de Hooke es la relación lineal entre la intensidad de la presión aplicada y la magnitud de deformación (sólidos quebradizos) lo ideal, pero en sólidos amorfos el punto de fractura que es el valor de presión por encima del cual el producto sufre una deformación no aceptable en su estructura, por lo cual la medida de la deformación elástica se puede medir con el modulo de Young.

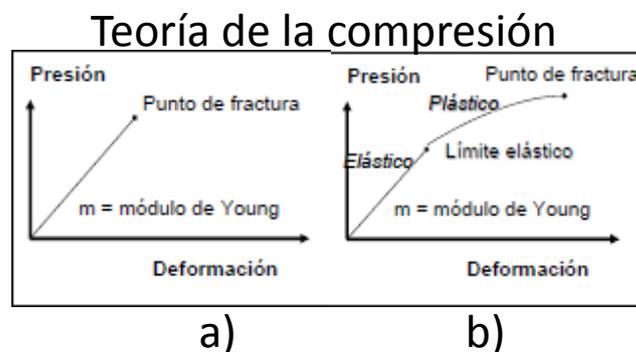


Figura 12. Teoría de la compresión a) Modelo de Hooke y b) Modelo de Young.

7. IMPLANTES.

La presentación farmacéutica deseada tenía algunos problemas como los descritos en el inciso anterior, para lograr el objetivo del trabajo una alternativa fue desarrollar implantes por extrusión como se observó en la figura 13 los cuales contenía como vehículo a la harina

de trigo mezclada con agua y seca, ya que es ampliamente utilizada en el área veterinaria sin provocar efectos colaterales.

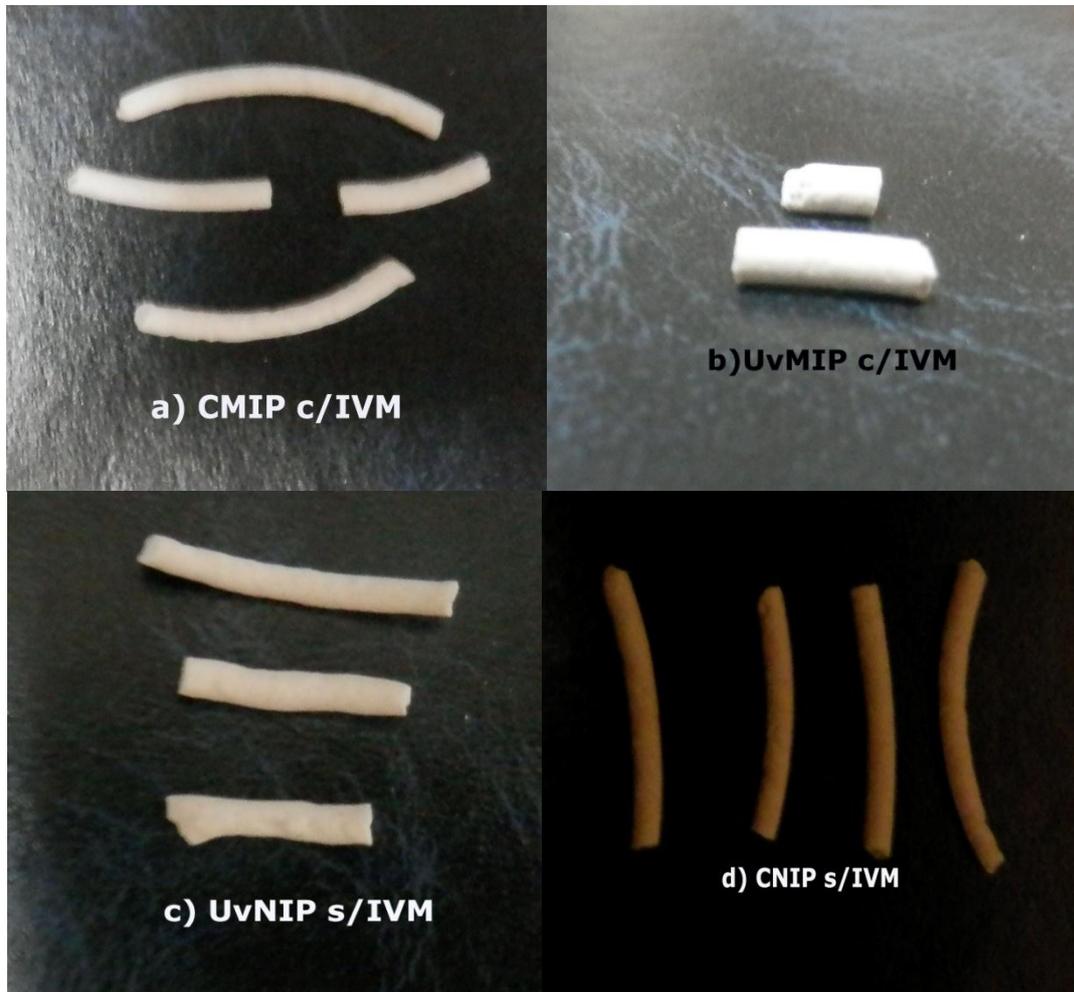


Figura 13. Implantes de a) CMIP c/IVM, b) UvMIP c/IVM, c) UvNIP s/IVM y d) CNIP s/IVM.

La figura 13 nos indicó los diferentes polímeros de impresión molecular tanto los MIP's y NIP's sintetizados en calor y UV con sus respectivos blancos, estos son necesarios para la comparación en la cinética de liberación controlada. Ya que el comportamiento de cada uno de ellos presentaron diferentes tiempos máximos de efectividad.

En la figura 14 se observa el proceso que se llevó a cabo para la administración subcutáneamente a las ratas con los diferentes polímeros; primero se rasuraba la zona de administración para asegurar una adecuada adherencia de los polímeros, después se

anestesiaban con pentobarbital en el caso de los CMIP: Avicel 101 y el UvMIP utilizando la pistola para implantes sin causar daño en el músculo. En el caso de los UvNIP se utilizó una cámara de éter etílico y se realizó una pequeña incisión de 1 cm aproximado de abertura para poder introducir el implante con ayuda de una canaleta suturando con un pegamento no tóxico.



Figura 14. Administración subcutáneamente de las ratas para cada una de los polímeros CMIP: Avicel 101, UvMIP y UvNIP.

Al trabajar del lado derecho con CMIP: Avicel 101 y del lado izquierdo UvMIP se observaron los polímeros después de 7 días de administración los cuales se notan un pequeño encapsulamiento de los polímeros en una proporción muy pequeña, además las zonas de implantación no presentaban foco de infección toda la piel era uniforme de color rojo eso indicaba que los implantes eran bien aceptados, ya que cabría la posibilidad de ser una sustancia ajena al

cuerpo de la rata lo rechazara por medio del proceso de infección, esto se puede observar en la figura 15. Además no se nota ninguna diferencia significativa en el polímero que contenía avicel al otro que no lo contenía.



Figura 15. Observación de los polímeros después de 7 días de administración siguen sin cambios notorios.

En los posteriores 15 días se sacrificaron a las ratas para observar si hubiera cambios visualmente notorios. En la figura 16, se observa que el polímero UvMIP no presentó mayor cambio si es comparado con las observaciones en ratas de control las zonas de administración están intactas y sin ninguna presencia de infecciones anteriores.



Figura 16. Se observó a los UvMIP a los 15 días en la zona de administración.

En la figura 17, se observaron los UvNIP a los 60 días los cuales presentaron en la zona administrada un encapsulamiento de 1 cm de diámetro el cual estaba de color blanco al momento de abrirlo con el bisturí salió el UvNIP de color blanco uniforme pero sin consistencia, esto se presentó en todas las ratas administradas con el UvNIP. Además, una observación importante es al momento de eliminar todo el encapsulado que solo se adhirió a la piel de la rata se notó un cambio de color rosado sin tener daño como una necrosis y todo el músculo trabajado está intacto sin presentar daños severos.

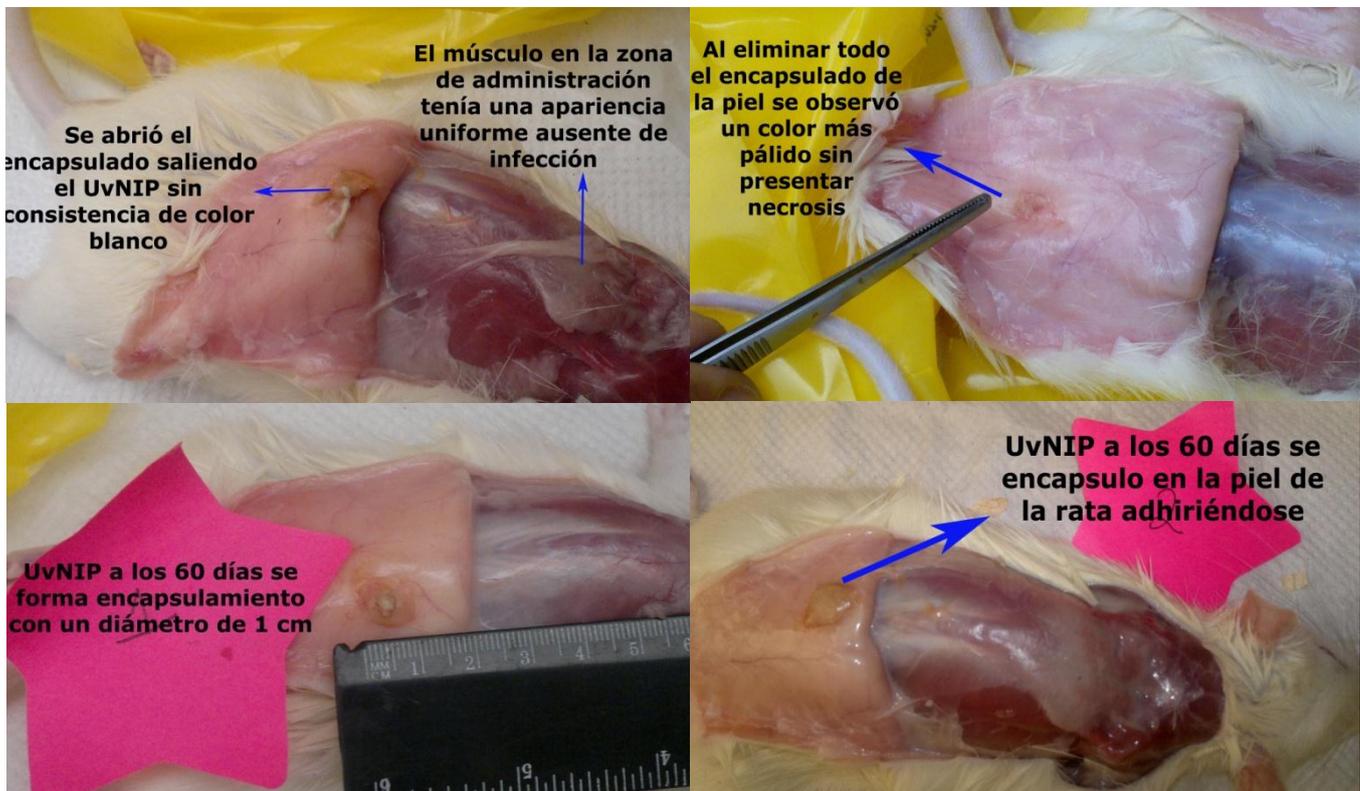
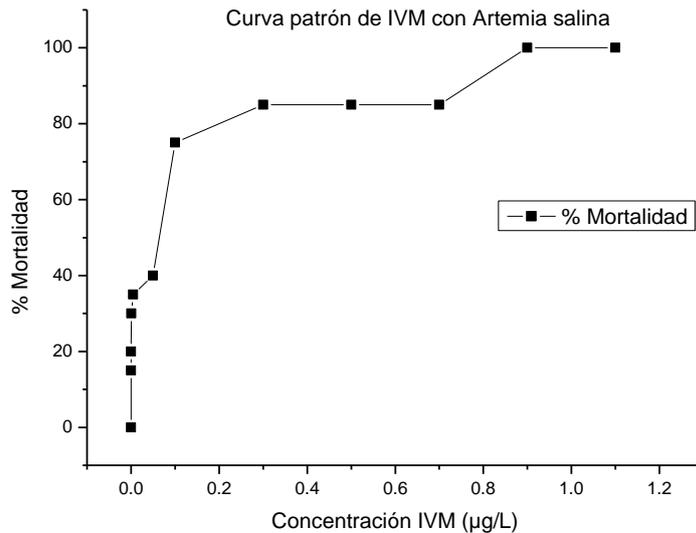


Figura 17. Observaciones después de 60 días de administración de los UvNIP.

8. BIOENSAYO.

La gráfica 4 ilustra la mortalidad de las artemias y puede ser correlacionada con la cinética de liberación de IVM *in vitro* la cual se realizó, partiendo de una solución patrón de IVM en EtOH con una concentración de 0.1 $\mu\text{g/L}$ hasta obtener $[5 \times 10^{-6} \mu\text{g/L}]$, con el propósito de saber que tan sensible eran este crustáceo con respecto

a la IVM, el resultado obtenido fue una mortalidad del 15% en una $[5 \times 10^{-6} \mu\text{g/L}]$ confirmando la sensibilidad presentada por la Artemia salina. Esto fue de suma importancia ya que se esperaba que los polímeros presente una liberación controlada y de baja concentración por las interacciones generadas al sintetizar este tipo de materiales.



Gráfica 4. Cinética de liberación de la IVM en Artemia salina como curva patrón.

Para la administración en ratas se eligió trabajar con los polímeros sintetizados en Uv, debido a que en trabajos anteriores se ha concluido que al sintetizarlos por medio de la luz Uv se genera una especificidad mayor por lo cual los tipos de enlaces presentes dentro de la cavidad de los MIP es de mayor uniformidad y ordenamiento en comparación con los de calor.^[49, 50]

Para la evaluación correcta de cada uno de los sistemas de liberación de IVM se utilizó a la Artemia salina figura 18, ya que es un crustáceo muy sensible a su presencia provocándole la muerte. En base a lo anterior se hizo unos microsistemas (peceras 300 mL) de agua salina, donde se depositaba la cantidad de 20 artemias depositándolas con ayuda de una pipeta pasteur, al succionar la pipeta se contaban cada uno de ellas, asegurando la cantidad exacta para cada una de las peceras. Después se pesó la cantidad de 1 g de heces de los diferentes tiempos de ambos polímeros y de la IVM, se aplastaban las heces para lograr una mayor área de contacto y así poder liberar a la IVM.

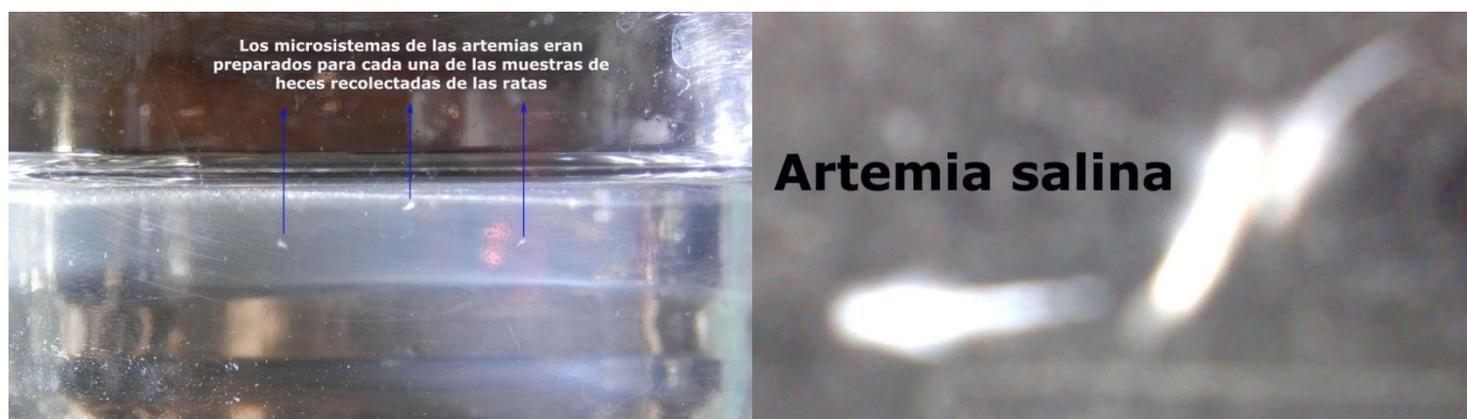
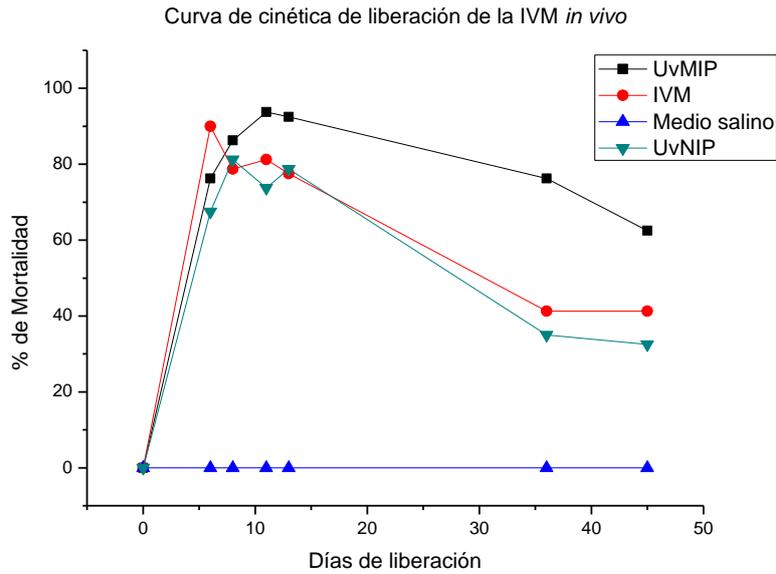


Figura 18. Observación del microsistema de la Artemia salina.

En la gráfica 5 se muestra la liberación de UvMIP tiene un máximo en mayor tiempo en comparación con la IVM pura indicando que se obtiene una efectividad a mayor días, cerca del día 35 la cantidad de artemias muertas es notoriamente mayor con respecto al UvNIP y la IVM. Esto sugiere que el UvMIP continúa liberando el fármaco después de estos días y el UvNIP en mucha menor cantidad. Esto indica que la liberación obtenida es prolongada. Este comportamiento se puede deber a que el UvMIP posee cavidades específicas para la IVM y esto hace que el fármaco se libera en un tiempo más largo. Eso se verifica con el UvNIP el cual libera de forma muy parecida a la IVM. Esto es de esperar debido a que como no se encuentra moldeado la disponibilidad del fármaco es mayor ya que la interacción

fármaco-NIP es más pobre ya que este no tiene sitios específicos para la IVM en comparación con UvMIP. Estos resultados evidencian la finalidad de trabajar con los polímeros moldeados, logrando una liberación más prolongada en comparación con las que se ofrecen hoy en día en el mercado^[9], por lo cual ayudaría a evitar los problemas de dosificación y con ello no afectar al medio ambiente.



Gráfica 5. Cinética de liberación de la IVM *in vivo* de los polímeros UvMIP, UvNIP, IVM y en medio salino.

VIII. CONCLUSIONES

Se lograron sintetizar los polímeros de impresión molecular por medio de dos vías de polimerización, una por calor a 65°C y el segundo por radiación de Uv a 4°C, utilizando como agente entrecruzador al PETA, la molécula horma la IVM, el monómero funcional al MMA, la molécula iniciadora de la reacción (AIBN) y utilizando como disolvente al CHCl₃, ambos con sus respectivos polímeros no impresos. Se pudo remover la molécula horma y se hicieron estudios para saber la carga máxima de fármaco en función del tipo de polímero, se encontró que el moldeado a nivel molecular influye en este comportamiento, para la liberación de la IVM, ya que al tener los sitios de reconocimiento fue más difícil la eliminación del fármaco, además siempre que la carga máxima del fármaco fue mayor en los MIP's que en los NIP's. Eso se comprobó con la segundas saturaciones donde el CNIP 2 saturación logro cargar más IVM que en la primera. Lo anterior es de esperar ya que se adhiere la IVM alrededor de este polímero y no adentro del mismo como en el caso del MIP.

Se realizaron las pruebas de reología para cada uno de los polímeros sintetizados tanto en calor y Uv para comprimirlos por compresión directa. Los resultados obtenidos de los MIP y NIP presentaron una baja compresibilidad provocando el problema de laminado para todos los polímeros. Este problema concluyo a dos principales teorías a la presencia de gran cantidad de finos y la segunda por que se comportaban como materiales elásticos donde no se alcanzó el límite plástico al aplicarle la fuerza en la prensa hidráulica.

Por los problemas presentados en la compresión directa se logró obtener al implante por extrusión utilizando como material de cohesión a la harina de trigo en una relación 1:1 W: W.

Para comprobar la eficiencia de los nuevos implantes obtenidos por extrusión sintetizados con la tecnología de polímeros de impresión molecular se utilizó un bioensayo con *Artemia salina*. Se logró determinar indirectamente la presencia de ivermectina y con esto se obtuvo información cinética *in vivo* de liberación de IVM. Se encontró que el UvMIP si tiene el efecto deseado ya que atrasa su máximo de efectividad en comparación con la IVM y la liberación es controlada, ya que al sintetizarlo se forman cavidades muy específicas para el fármaco su liberación será controlada y con un mayor efecto de duración.

En cuanto al UvNIP se observó que su efectividad la mantenía en un máximo constante, este es debido a que como no está moldeado la IVM se adhirió alrededor del propio polímero, sin formar enlaces no covalentes como los presentan en el UvMIP y así resulta de una liberación más rápida.

IX. PRERSPECTIVAS.

Los resultados presentados en el trabajo indican que el polímero impreso de ivermectina aumento su máximo efecto en cuanto a la liberación controlada con respecto al no impreso y la administración de ivermectina sola.

Realizar más bioensayos en otros organismos más grandes como son: lombrices de tierra y peces de otra clase.

Los polímeros de impresión molecular representan todo una amplia área de estudio y desarrollo. Hoy en día se busca sistemas de modificación controlada dirigidos a la administración de animales proponiendo nuevos y novedosos sistemas de liberación controlada, los cuales en éste caso proponen una liberación adecuada sin necesidad de provocar efectos adversos.

Realizar el bioensayo con los polímeros sintetizados en calor y con ello hacer una comparación de resultados entre los sintetizados por Uv, con la finalidad de mostrar que estos últimos polímeros tienen una mejor interacción entre el fármaco y las cavidades formadas.

La visualización de los polímeros de impresión molecular como potenciales matrices de liberación implementadas en diferentes sistemas de liberación controlada para las áreas: la veterinaria y la farmacéutica. Este sistema podría proporcionar una formulación adecuada para aplicarse en el área veterinaria, pensando en un futuro se tendría que trabajar en área aséptica para implantar a animales de ganado.

X. BIBLIOGRAFÍA.

1. BAYER. *Manual Bayer de la garrapata*. sanidadanimal.com; Available from: <http://www.sanidadanimal.com/manuales.php?w=garrapatas>.
2. Merial México, S.A.d.C.V. *Las garrapatas*. 2001; Available from: <http://www.webveterinaria.com/merial/Garrapata.pdf>
3. Guglielmone y Atilio Alberto A., M.J., *Garrapata Común de los Bovinos*. IDIA XXI Revista de Información sobre Investigación y Desarrollo Agropecuario, Julio 2002. **2**: p. 132-136.
4. Alonso-Díaz, M.A., et al., *Ixodicide resistance of the the Boophilus microplus tick to ixodicidas*. Resistencia de la garrapata Boophilus microplus a los ixodicidas, 2006. **38(2)**: p. 105-113.
5. Fragoso, H., et al., *Protection against Boophilus annulatus infestations in cattle vaccinated with the B. microplus Bm86-containing vaccine Gavac*. Vaccine, 1998. **16(20)**: p. 1990-1992.
6. Pedroso, M.S., et al., *Control de las infestaciones de la garrapata Boophilus microplus en la ganadería Cubana y en regiones de latinoamérica con la aplicación del inmunógeno Gavac® dentro de un programa de lucha integral*.
7. Ernesto, V.C.C. *LOS CRUZAMIENTOS GENÉTICOS UNA ALTERNATIVA PARA EL CONTROL DE LA GARRAPATA COMÚN DEL GANADO BOOPHILUS MICROPLUS EN SUDAMÉRICA*. 2006; Available from: http://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/parasitarias/parasitarias_bovinos/88-cruzamientos_control_garrapata.pdf.
8. Instituto Nacional de Investigación Forestales, A.y.P. *Manual técnico para el control de garrapatas en el ganado bovino*. CENID-Parasitología Veterinaria Octubre 2006; Available from: http://www.ampave.org/archivos%20apoyo/Manual_tecnico.pdf.
9. RI Rodríguez-Vivas*, R.A.-R., LC Pérez-Cogollo, and G.R.-C. JA Rosado-Aguilar, G Basto-Estrella, *Uso de lactonas macrocíclicas para el control de la garrapata Rhipicephalus (Boophilus) microplus en el ganado bovino*. Archivos de Medicina Veterinaria, 2010. **42**: p. 115-123.
10. Humberto, A.E.G., *EFECTO DEL PARASITISMO GASTROINTESTINAL SOBRE LA DISPOSICIÓN PLASMÁTICA DE IVERMECTINA ADMINISTRADA POR VÍA SUBCUTÁNEA EN OVINOS*, in *Departamento de Ciencias Clínicas*2005, UNIVERSIDAD DE CONCEPCION: Chile. p. 42.
11. Ōmura, S., *Ivermectin: 25 years and still going strong*. International Journal of Antimicrobial Agents, 2008. **31(2)**: p. 91-98.
12. Tišler, T. and N. Kožuh Eržen, *Abamectin in the aquatic environment*. Ecotoxicology, 2006. **15(6)**: p. 495-502.
13. Herd, R., *Endectocidal drugs: Ecological risks and counter-measures*. International Journal for Parasitology, 1995. **25(8)**: p. 875-885.
14. Floate Kevin D., W.K.G., Boxall Alistair B. A. and Sherratt Thomas N., *FECAL RESIDUES OF VETERINARY PARASITICIDES: Nontarget Effects in the Pasture Environment*. Entomology, Octubre 7 2004. **50**: p. 153-179.
15. Tišler Tarjana, K.u.E.e.N., *Abamectin in the aquatic environment*. Ecotoxicology, 2006. **15**: p. 495-502.
16. Salud, S.d. and C.P.d.I.F.d.I.E.U. Mexicanos, *FARMACOPEA DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS*. Secretaría de Salud ed. Vol. 9. 2009, México.
17. Teresa, V.I.M., *Desarrollo galénico de preparados obtenidos por interacción del ácido 5-amino salicílico con halloysita*, in *Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica*2008, Universidad de Granada: Granada. p. 347.

18. Sáez Virginia, H.E.y.L.L., *Liberación Controlada de Fármacos. Aplicaciones Biomédicas*. Revista Iberoamericana de Polímeros, Abril 2003. **4 (2)**: p. 111-122.
19. Katdare Ashok, C.M.V., ed. *Excipient Development for Pharmaceutical, Biotechnology, and Drug Delivery Systems*. 10 ed. Vol. 10. 2006: New York, NY 10016. 436.
20. L., V.J.J., *Tecnología farmacéutica: Formas farmacéuticas*, SINTESIS, Editor 2001: España. p. 285-296.
21. Virginia Sáez, E.H.y.L.S.A., *Mecanismo de liberación de fármacos desde materiales poliméricos*. Revista Iberoamericana de Polímeros, Marzo 2004. **5(1)**: p. 55-70.
22. Virginia Sáez, E.H.y.L.S.A., *Sistemas de liberación controlada de medicamentos*. Revista Iberoamericana de Polímeros, Julio 2002. **3(3)**: p. 1-20.
23. Fernández-González Alfonso, G.L., *Reconocimiento molecular mediante materiales biomiméticos: impresión molecular*. Real Sociedad Española de Química, 13/06/2007. **103(2)**: p. 14-22.
24. Lorena, G.G., *FORMULACIÓN INTELIGENTE DE IVERMECTINA PARA EL CONTROL DE LA GARRAPATA EVITANDO EFECTOS ADVERSOS EN EL EQUILIBRIO ECOLÓGICO*, in *Posgrado UNAM2008*, UNAM: México D.F. p. 61.
25. Vasapollo, G., et al., *Molecularly imprinted polymers: Present and future prospective*. International Journal of Molecular Sciences, 2011. **12(9)**: p. 5908-5945.
26. RAMSTÖM, M.Y.O., ed. *MOLECULARLY IMPRINTED MATERIALS Science and Technology*. Vol. 10. 2005: New York 12701, USA. 729.
27. Alvarez-Lorenzo, C. and A. Concheiro, *Molecularly imprinted polymers for drug delivery*. Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences, 2004. **804(1)**: p. 231-245.
28. Cunliffe, D., A. Kirby, and C. Alexander, *Molecularly imprinted drug delivery systems*. Advanced Drug Delivery Reviews, 2005. **57(12)**: p. 1836-1853.
29. Uchegbu Ijeoma F., S.A.G., ed. *Polymers in Drug Delivery*. 2006: United States of America. 245.
30. Sousa, M.D. and C.M. Barbosa, *Molecularly imprinted polymers for controlling drug release. Part 1: Synthesis and characterization*. Polímeros com capacidade de reconhecimento molecular no controlo da libertação de fármacos. Parte 1: Síntese e caracterização, 2009. **32(6)**: p. 1609-1619.
31. Pichon, V. and F. Chapuis-Hugon, *Role of molecularly imprinted polymers for selective determination of environmental pollutants—A review*. Analytica Chimica Acta, 2008. **622(1-2)**: p. 48-61.
32. Sellergren, B. and C.J. Allender, *Molecularly imprinted polymers: A bridge to advanced drug delivery*. Advanced Drug Delivery Reviews, 2005. **57(12)**: p. 1733-1741.
33. Yolanda, D.G., *DISEÑO COMPUTACIONAL DE RECEPTORES DE AFINIDAD BASADOS EN POLÍMEROS MOLECULARES IMPRESOS PARA SENSORES ELECTROQUÍMICOS*, in *Departamento de Química y Física y Analítica2008*, UNIVERSIDAD DE OVIEDO: España. p. 320.
34. Jorge, V.M., *Polímeros Molecularmente Impresos: Una Alternativa en la Preparación de Muestras Forenses para Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución*, in *FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA2008*, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO: México. p. 85.
35. Xinming, L., et al., *Polymeric hydrogels for novel contact lens-based ophthalmic drug delivery systems: A review*. Contact Lens and Anterior Eye, 2008. **31(2)**: p. 57-64.
36. Bergmann, N.M. and N.A. Peppas, *Molecularly imprinted polymers with specific recognition for macromolecules and proteins*. Progress in Polymer Science, 2008. **33(3)**: p. 271-288.
37. Hiratani, H., Y. Mizutani, and C. Alvarez-Lorenzo, *Controlling drug release from imprinted hydrogels by modifying the characteristics of the imprinted cavities*. Macromolecular Bioscience, 2005. **5(8)**: p. 728-733.

38. Sumi, V.S., et al., *Imprinted polymers as drug delivery vehicles for metal-based anti-inflammatory drug*. International Journal of Pharmaceutics, 2008. **349**(1-2): p. 30-37.
39. C, J., M. A., and V. A., *INGENIERIA FARMACEUTICA*, ed. E.m. moderno. Vol. 2. 1986, México, D.F. 662.
40. Jato, J.L.V., *TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA Volumen 1: Aspectos fundamentales de los sistemas farmacéuticos y operaciones básicas*. Vol. 1. 2001, España. 623.
41. E., T.J. and D.L. W., *Práctica Contemporánea en Farmacia*. McGrawHill ed2006, México. 640.
42. Gennaru, A.R., *Remigton the Science and practice of pharmacy* 20 ed. Vol. 1 y 2. 2003. 1380.
43. Fu, X., et al., *Effect of particle shape and size on flow properties of lactose powders*. Particuology, 2012. **10**(2): p. 203-208.
44. Blizzard, T.A., et al., *Brine shrimp (Artemia salina) as a convenient bioassay for avermectin analogs*. Journal of Antibiotics, 1989. **42**(8): p. 1304-1307.
45. Fernández-Calienes Valdés, A., et al., *Evaluación de la toxicidad de extractos de plantas cubanas con posible acción antiparasitaria utilizando larvas de Artemia salina L*. Revista Cubana de Medicina Tropical, 2009. **61**: p. 254-258.
46. Krishnaraju, A.V., et al., *Assessment of bioactivity of Indian medicinal plants using brine shrimp (Artemia salina) lethality assay*. Int. J. Appl. Sci. Eng, 2005. **2**: p. 125-134.
47. Nunes, B.S., et al., *Use of the genus Artemia in ecotoxicity testing*. Environmental Pollution, 2006. **144**(2): p. 453-462.
48. Ameye, D., et al., *Trypsin inhibition, calcium and zinc ion binding of starch-g-poly(acrylic acid) copolymers and starch/poly(acrylic acid) mixtures for peroral peptide drug delivery*. Journal of Controlled Release, 2001. **75**(3): p. 357-364.
49. Olivos, H.M.T., *SÍNTESIS Y CRACTERIZACIÓN DE POLÍMEROS DE IMPRESIÓN MOLECULAR PARA LA LIBERACIÓN PROLONGADA DE IVERMECTINA*, in *FACULTAD DE QUÍMICA2010*, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO: MÉXICO, D.F. p. 82.
50. Esquivel, J.M.R., *SÍNTESIS DE POLÍMEROS DE IMPRESIÓN MOLECULAR DE IVERMECTINA EN DIFERENTES DISOLVENTES Y DETERMINACIÓN DE LA INFLUENCIA EN SU ADSORCIÓN Y LIBERACIÓN*, in *FACULTAD DE QUÍMICA2011*, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO: MÉXICO, D.F. p. 104.
51. Koynov, A., F. Romanski, and A.M. Cuitiño, *Effects of particle size disparity on the compaction behavior of binary mixtures of pharmaceutical powders*. Powder Technology, 2013. **236**: p. 5-11.