



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.

FACULTAD DE QUÍMICA.

**“OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE ACUASOMAS CON
PRAZIQUANTEL”.**

TESIS

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

PRESENTA

Carlos Cortina Rosas.

ASESORADO POR

DR. Jorge Esteban Miranda Calderón.



Ciudad Universitaria CDMX México 2018.



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: Dra. María Josefa Bernad Bernad.

VOCAL: QFB. Verónica Zamora Salazar.

SECRETARIO: Dr. Jorge Esteban Miranda Calderón.

1er. SUPLENTE: Lorena García González.

2° SUPLENTE: Norma Angélica Villanueva Martínez.

SITIOS DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Laboratorio N-106, Edificio N, Departamento De Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco.

Laboratorios 002 y 003, Cubículo 001 Edificio F y Laboratorio 100 Edificio B, de la H. Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma De México,

ASESOR DEL TEMA:

Dr. Jorge Esteban Miranda Calderón.

SUSTENTANTE:

Carlos Cortina Rosas.

Índice.

Lista de Figuras	ix, x, xi y xii
Anexo	xii
Lista de Tablas	xii-xiii
Lista de abreviaturas	xiv y xv
1. Introducción	1
2. Antecedentes	2
2.1. Nanotecnología	2
2.1.1. Nanopartículas	3
2.1.1.1 Nanopartículas y toxicidad	4
2.1.1.2 Nanopartículas biodegradables	5
2.1.2. Métodos de elaboración de Nanomateriales	6
2.2. Aspectos biológicos y farmacéuticos de las Nanopartículas	9
2.3. Aplicaciones en el área de la salud	10
2.4. Acuasomas	11
2.4.1. El núcleo inorgánico de los Acuasomas	13
2.4.2. Hidroxiapatita como núcleo inorgánico	14
2.4.2.1 Método de síntesis	15
2.4.2.1.1 Precipitación	15
2.4.2.1.2 Método de Sol-gel	16
2.4.2.1.3 Técnicas de caracterización	18
2.4.2.1.3.1 Difracción de rayos X (XRD)	18
2.4.2.1.3.2 Microscopia electrónica de transmisión (MET)	20
2.4.3 Película polihidroxilada de los Acuasomas	21
2.4.4 Método de preparación de los Acuasomas	22
2.4.4.1 Formación de un núcleo inorgánico	22
2.4.4.1.1 Autoensamblaje nanocristalino de brushita (fosfato de calcio dihidratado)...	22
2.4.4.1.2 Recubrimiento del núcleo con carbohidratos	23
2.4.4.1.3 Carga del fármaco de su elección para el ensamblaje	23
2.4.5 Ventajas de la preparación de Acuasomas	23
	vi

2.4.6 Propiedades de los Acuasomas	24
2.5 Molécula modelo	24
2.5.1 Prazinquantel	24
3. Justificación	26
4. Objetivos	27
4.1 Objetivo general	27
4.2 Objetivos particulares	27
5. Desarrollo experimental	28
5.1 Materiales y equipo	28
5.2 Síntesis del núcleo inorgánico por medio del método de precipitación sol-gel	28
5.2.1 Método de síntesis de precipitación	28
5.2.1.1 Núcleo inorgánico de fosfato de calcio con el homogeneizador dispersor ultraturrax t-25	28
5.2.1.2 Preparación de soluciones precursoras	28
5.2.1.3 Mezclado de las soluciones precursoras	29
5.2.1.4 Homogenización con el dispersor ultraturrax t-25	29
5.2.1.5 Homogenización con el dispersor ultraturrax t-25	30
5.2.1.6 Liofilización de las muestras	30
5.2.1.7 Núcleo inorgánico de HAP con el sonicador hielscher	30
5.2.1.8 Preparación de soluciones precursoras	30
5.2.1.9 Mezclado de las soluciones precursoras	30
5.2.1.10 Sonicación de las muestras	31
5.2.1.11 Centrifugación de las muestras	31
5.2.1.12 Lavado de las muestras	31
5.2.1.13 Secado de las muestras	31
5.2.2 Metodología de síntesis del núcleo inorgánico de HAP por medio del proceso de sol-gel	32
5.2.2.1 Preparación de soluciones	32
5.2.2.2 Mezclado de precursores	32
5.2.2.3 Secado de las muestras	32
5.2.2.4 Calcinación de la muestra	33

5.2.2.5 Lavado de los polvos	33
5.2.2.6 Recubrimiento de los núcleos inorgánicos de HAP con lactosa monohidratada y manitol	34
5.2.2.7 Preparación de las soluciones	34
5.3 Núcleos de fosfato de calcio recubiertos con diferentes azúcares	34
5.3.1 Adsorción del fármaco	35
5.3.2 Preparación de soluciones de azúcares	35
5.4 Perfiles de disolución	35
5.4.1 Curva de calibración	35
6. Resultados y Discusión	39
6.1 Difracción de Rayos X de polvos del núcleo inorgánico	39
6.2 Difracción de Rayos X de polvos del recubrimiento de los núcleos	47
6.3 Microscopia electrónica de transmisión	49
6.4 Tamaño de Partícula	52
6.5 Curva de calibración	52
6.6 Perfiles de disolución	52
7. Conclusiones	68
8. Perspectivas	70
9. Referencias bibliográficas	71
10. Anexo	77

Lista de figuras.

Figura 1. Ramas de aplicación de la Nanotecnología	2
Figura 2. Tamaño de partículas y representaciones de estas	4
Figura 3. Comparación de un protector solar convencional y uno de última generación, al tener NP(S) el de última generación no permite el traspaso de radiación UV	10
Figura 4. Estructura cristalina de HAP	15
Figura 5. Etapas del proceso Sol-Gel	18
Figura 6. Equipo de difracción de rayos X	19
Figura 7. Reflexión de rayos X a partir de dos capas de átomos	20
Figura 8. Método de preparación de acuasomas	22
Figura 9. Estructura química de la molécula de PZQ	25
Figura 10. Muestra de la HAP al finalizar la calcinación	33
Figura 11. Curva de calibración	36
Figura 12. Diagrama experimental de la obtención y caracterización de los Acuasomas	38
Figura 13. Difractograma de rayos X de las muestras sin acetato de polivinilo (5, 10, 20 y 25 mil, rpm)	39
Figura 14. Difractograma de rayos X de la muestra con 0.1% acetato de polivinilo (25 mil, rpm)	40
Figura 15. Difractograma de rayos X de la muestra con 0.1% acetato de polivinilo (10 mil, rpm)	41
Figura 16. Difractograma de rayos X de las muestra con 1% acetato de polivinilo (5,10 mil, rpm)	42
Figura 17. Difractograma de rayos X de las muestras con sonicador	43

Figura 18. Difractograma de rayos X de la muestra de la síntesis de sol-gel	44
Figura 19. Difractograma de rayos X de la muestra de la síntesis de sol-gel posterior al lavado	45
Figura 20. Difractograma de rayos X de HAP con lactosa	47
Figura 21. Difractograma de rayos X de HAP con manitol	48
Figura 22. Microscopia de electrónica de transmisión de HAP sintetizada por el método de precipitación	49
Figura 23. Microscopia de electrónica de transmisión de HAP sintetizada por el método sol-gel	50
Figura 24. Microscopia de electrónica de transmisión muestra HAP con lactosa	50
Figura 25. Microscopia de electrónica de transmisión muestra HAP con manitol	51
Figura 26. Perfiles de disolución del PZQ, Mezcla física de Manitol 0.03 M y Acuasomas de Manitol 0.03 M	52
Figura 27. Perfiles de disolución del PZQ, Mezcla física de Maltosa 0.03 M y Acuasomas de Manitol 0.03 M	53
Figura 28. Perfiles de disolución del PZQ, Mezcla física de Trehalosa 0.03 M y Acuasomas de Trehalosa 0.03 M	54
Figura 29. Perfiles de disolución del PZQ, Mezcla física de Manitol 0.06 M y Acuasomas de Manitol 0.06 M	55
Figura 30. Perfiles de disolución del PZQ, Mezcla física de Maltosa 0.06 M y Acuasomas de Maltosa 0.06 M	56
Figura 31. Perfiles de disolución del PZQ, Mezcla física de Trehalosa 0.06 M y Acuasomas de Trehalosa 0.06 M	57
Figura 32. Perfiles de disolución del PZQ, Mezcla física de Manitol 0.09 M y Acuasomas de Manitol 0.09 M	58
Figura 33. Perfiles de disolución del PZQ, Mezcla física de Maltosa 0.09 M y Acuasomas de Maltosa 0.09 M	59

Figura 34. Perfiles de disolución del PZQ, Mezcla física de Trehalosa 0.09 M y Acuasomas de Trehalosa 0.09 M	60
Figura 35 y Figura 36. Perfiles de disolución de PZQ, Acuasomas de Manitol y Mezclas Físicas correspondientes	61
Figura 37 y Figura 38. Perfiles de disolución de PZQ, Acuasomas de Maltosa y sus Mezclas físicas correspondientes	62
Figura 39 y Figura 40. Perfiles de disolución de PZQ, Acuasomas de Trehalosa y sus Mezclas correspondientes	63
Figura 41 y Figura 42. Perfiles de disolución de PZQ, Acuasomas y Mezclas Físicas de Manitol, Maltosa y Trehalosa 0.03 M respectivamente	64
Figura 43 y Figura 44. Perfiles de disolución de PZQ, Acuasomas y Mezclas Físicas de Manitol, Maltosa y Trehalosa 0.06 M respectivamente	65
Figura 45 y Figura 46. Perfiles de disolución de PZQ, Acuasomas y Mezclas Físicas de Manitol, Maltosa y Trehalosa 0.09 M respectivamente	66

Anexo.

Tabla 1. Diseño experimental del núcleo inorgánico de fosfato de calcio, por el método de precipitación con el homogeneizador dispersor ULTRATURRAX T25	77
Tabla 2. Diseño experimental del núcleo inorgánico de HAP, por el método de precipitación con el sonicador HIELSCHER	77
Tabla 3. Nombre de las soluciones dependiendo de su tratamiento	78
Tabla 4. Preparación de las soluciones de azúcar utilizadas para recubrir los núcleos de fosfato de calcio	78
Tabla 5. Componentes y (%) respectivo en el AQ de Manitol 0.03 M	79
Tabla 6. Componentes y (%) respectivo en el AQ de Manitol 0.06 M	79
Tabla 7. Componentes y (%) respectivo en el AQ de Manitol 0.09 M	80
Tabla 8. Componentes y (%) respectivo en el AQ de Maltosa 0.03 M	80
Tabla 9. Componentes y (%) respectivo en el AQ de Maltosa 0.06 M	81
Tabla 10. Componentes y (%) respectivo en el AQ de Maltosa 0.09 M	81
Tabla 11. Componentes y (%) respectivo en el AQ de Trehalosa 0.03 M	82
Tabla 12. Componentes y (%) respectivo en el AQ de Trehalosa 0.06 M	82
Tabla 13. Componentes y (%) respectivo en el AQ de Trehalosa 0.09 M	83
Tabla 14. AQS o MFS y sus respectivas equivalencias para tener 30 mg de PZQ	83
Tabla 15. Parámetros de red y tamaños de cristales calculados para la síntesis de precipitación con el sonicador	84
Tabla 16. Parámetros de red y tamaños de cristales calculados para la muestra por método sol-gel	85
Tabla 17. Parámetros de red y tamaños de cristales calculados para la HAP con lactosa	86

Tabla 18. Parámetros de red y tamaños de cristales calculados para la HAP con manitol	87
Tabla 19. AQS y sus tamaños respectivos	88
Tabla 20. Datos de la curva de calibración, medio de HCl 0.1 N + LSS, medidos a longitud de onda de 263 nm	88
Tabla 21. Absorbancias y concentraciones del PZQ, AQ Manitol 0.03 y MF Manitol 0.03 M	89
Tabla 22. Absorbancias y concentraciones del PZQ, AQ Manitol 0.06 y MF Manitol 0.06 M	90
Tabla 23. Absorbancias y concentraciones del PZQ, AQ Manitol 0.09 y MF Manitol 0.09 M	90
Tabla 24. Absorbancias y concentraciones del PZQ, AQ Maltosa 0.03 y MF Maltosa 0.03 M	91
Tabla 25. Absorbancias y concentraciones del PZQ, AQ Maltosa 0.06 y MF Maltosa 0.06 M	91
Tabla 26. Absorbancias y concentraciones del PZQ, AQ Maltosa 0.09 y MF Maltosa 0.09 M	92
Tabla 27. Absorbancias y concentraciones del PZQ, AQ Trehalosa 0.03 y MF Trehalosa 0.03 M	92
Tabla 28. Absorbancias y concentraciones del PZQ, AQ Trehalosa 0.06 y MF Trehalosa 0.06 M	93
Tabla 29. Absorbancias y concentraciones del PZQ, AQ Trehalosa 0.09 y MF Trehalosa 0.09 M	93

Lista de abreviaturas.

Abreviatura	Significado
ADN	Ácido desoxirribonucleico.
AQ(S)	Acuasoma(s).
Ca	Calcio.
Cl	Cloro.
DSC	Calorimetría diferencial de barrido.
g	Gramo.
H	Hidrógeno.
HAP(S)	Hidroxiapatita(s).
LLS	Laurilsulfato de Sodio.
MEB	Microscopía electrónica de barrido.
MET	Microscopía electrónica de transmisión.
MF(S)	Mezcla(s) Física(s).
NHAP	Nanohidroxiapatita.
MELS	Microestructurales.
MPS	Micropartículas.
MRI	Imagen por resonancia magnética.
mg	Miligramo.
mL	Mililitro.
μm	Micrómetro.
NBM	Nanobiomaterial.
NBTLG	Nanobiotecnología.
NC(S)	Nanocápsula(s).
NCTN	Nanocristalino.
NER(S)	Nanoesfera(s).
NE(S)	Nanoestructura(s).
NETD(S)	Nanoestructurado(s).

NHAP	Nanohidroxiapatita.
NM(S)	Nanomaterial(es).
NMT(S)	Nanométrica(s).
NP(S)	Nanopartícula(s).
NPTS	Nanopartículado(s).
NV	Nanovesicular.
nm	Nanómetro.
P	Fósforo.
PZQ	Prazinquantel.
SNC	Sistema nervioso central.
SRET	Sistema reticuloendotelial.
XRD	Difracción de rayos X.
%	Porcentaje.

1. Introducción.

Una nueva clase de vehículos de fármacos sólidos, acuasomas, han surgido en la última década. Los acuasomas son estructuras de tres capas (es decir, el núcleo, el recubrimiento, y el fármaco) que son auto-ensamblados a través de enlaces no covalentes, enlaces iónicos y fuerzas de van der Waals.

Se componen de un núcleo cerámico cuya superficie está modificada de forma no covalente con hidratos de carbono para obtener una bola de azúcar, que luego es expuesto a la adsorción de un agente terapéutico. El núcleo proporciona estabilidad estructural a un sólido en gran medida inmutable.

Los acuasomas ofrecen un modo atractivo de la entrega de agentes terapéuticos que pertenecen a la clase de proteínas y péptidos, ya que son capaces de superar algunos de los problemas inherentes asociados con estas moléculas. Estos problemas incluyen la ruta adecuada de la entrega, así como la inestabilidad química, escasa biodisponibilidad y los efectos secundarios. La modificación de la superficie con los hidratos de carbono crea una película de estabilización molecular cristalina que absorbe las proteínas terapéuticas con un mínimo de desnaturalización estructural.

Por lo tanto, estas partículas proporcionan una protección completa de naturaleza acuosa a los fármacos adsorbidos contra los efectos de desnaturalización de pH y de la temperatura externa, porque no hay hinchazón y porosidad, cambios en el pH o la temperatura.

La elección de la Nanohidroxiapatita como núcleo inorgánico se basó en la importancia que tiene este cristal en la biomedicina como restaurador, ya que es el principal componente en el soporte de los tejidos óseos por su actividad continua remodeladora.

En este trabajo se estudió la variación del tamaño de los cristales, con la finalidad de encontrar en cual síntesis (precipitación o sol-gel) podemos obtener cristales de tamaño nanométrico entre 1 y 200 nm, el resultado de recubrir con diferentes azúcares y como es la liberación de los sistemas formados, encontrando que las MF'S en general aumenta la solubilidad del PZQ y en otros un comportamiento de liberación sostenida o prolongada..

2. Antecedentes.

2.1. Nanotecnología.

La Nanociencia, en sentido amplio, es el conjunto de conocimientos y métodos dirigidos a estudiar, fabricar y caracterizar estructuras funcionales con dimensiones por debajo de unas pocas decenas de nanómetros¹ (nm) y en general se caracteriza por²:

- a) Constituir una rama de la ciencia con carácter interdisciplinaria, donde la física, la química y la biología tienen un punto característico en la escala del nanómetro (1-1000 nm).
- b) Conjuntar diferentes visiones de investigación y de entender la naturaleza, diferentes metodologías técnico-científicas para la creación y utilización de estructuras, dispositivos y sistemas con propiedades novedosas debido a su tamaño pequeño^{1,2}.

El estudio de dichas estructuras incluye el análisis de propiedades estructurales, mecánicas, eléctricas, magnéticas y químicas, así como su interacción con otras NES, por ejemplo, con ondas electromagnéticas y medios biológicos entre otras¹, debido a que los NMS se utilizan en la electrónica, el magnetismo, la optoelectrónica, las ciencias biomédicas, la industria cosmética, la energética, en aplicaciones de catálisis y la farmacéutica², que es de nuestro especial interés.

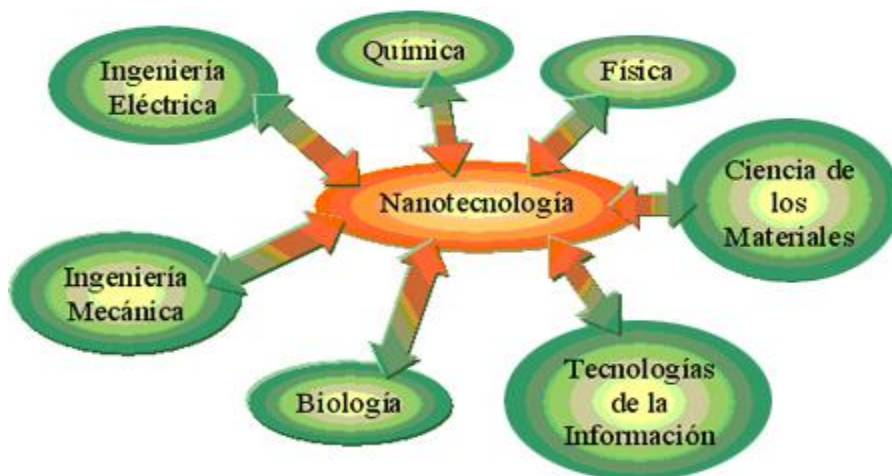


Figura 1. Ramas de aplicación de la Nanotecnología.

2.1.1 Nanopartículas.

Para fines prácticos, el concepto de nanopartícula hace referencia a un nanobiomaterial constituido por un núcleo cuya superficie puede utilizarse para un ensamble molecular, y puede estar compuesto de materiales inorgánicos y poliméricos³. El núcleo puede presentarse en forma nanovesicular, rodeado por una membrana o revestimiento⁴.

Las formas geométricas en tercera dimensión más frecuentes son la esférica-cilíndrica y laminar⁵. El tamaño y la distribución de las partículas son importantes en los casos en que se requiera atravesar un poro de la membrana celular.

El núcleo de las partículas se pueden proteger con una o varias capas de materiales inertes como la sílice y ciertas moléculas orgánicas que se adsorben sobre la superficie. No obstante, cuando se requiere obtener cierta funcionalidad, frecuentemente se le adsorbe una capa de una molécula enlazante específica.

Esta molécula tiene dos grupos reactivos, uno en la parte inicial y otro en la parte final de su estructura molecular, de modo que uno de los grupos se une a la superficie de la partícula y el otro es utilizado para enlazar entidades biocompatibles tales como: dextrano, anticuerpos y fármacos entre otros, dependiendo de la aplicación que se requiera.

Actualmente se están desarrollando aplicaciones e investigaciones de las NPS en los siguientes campos⁵:

- a) Ingeniería de tejidos.
- b) Terapia contra el cáncer.
- c) Codificación óptica multicolor para ensayos biológicos.
- d) Manipulación de células y de biomoléculas.
- e) Detección de proteínas.

El estudio de dichas estructuras incluye el análisis de propiedades estructurales, mecánicas, eléctricas, magnéticas y químicas, así como su interacción con otras NES.

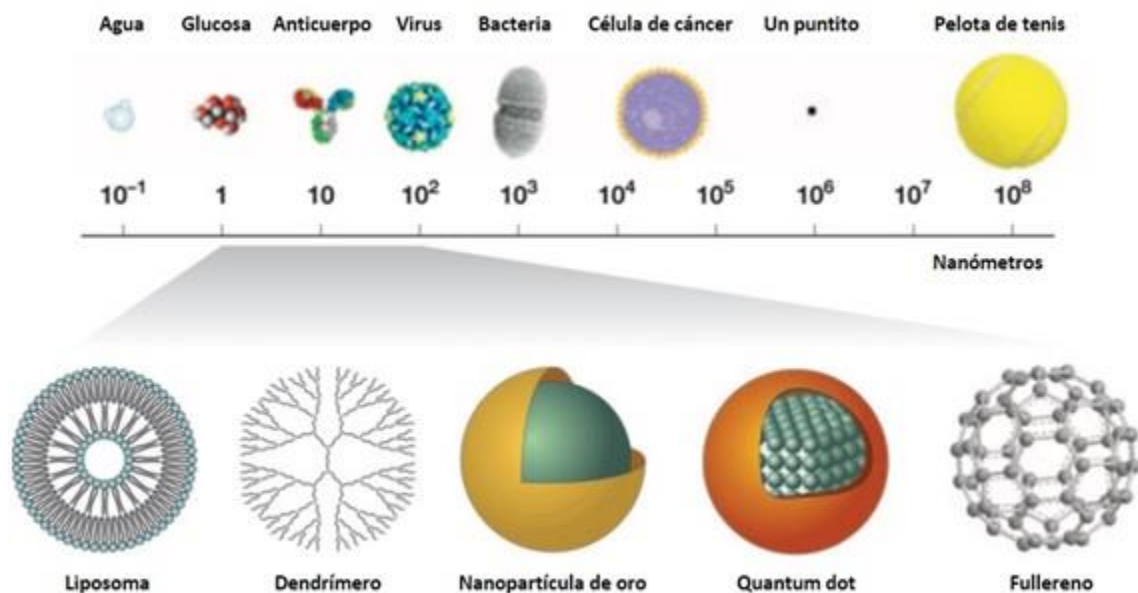


Figura 2. Tamaño de partículas y representaciones de estas⁶.

2.1.1.1. Nanopartículas y Toxicidad.

Aunque las NPS presentan claras ventajas para lograr una administración controlada y específica de fármacos hacia órganos de difícil acceso, es necesario hablar de los problemas que pueden presentar este tipo de partículas, conocidas como reacciones adversas en los organismos que tengan contacto con estas.

Las partículas de esta naturaleza pueden acceder al organismo por varias rutas, incluyendo la inhalación, la ingestión y la cutánea. Se ha reportado que las NPS pueden producir inflamación en los riñones después de una exposición de estas al utilizar aerosoles⁷.

Por otro lado, existen estudios in vitro con células viables que han confirmado la gran capacidad de las NPS para producir radicales libres que pueden causar daño celular⁸. Este daño puede manifestarse de diferentes formas, incluyendo la genotoxicidad y grados anormales de muerte celular, entre ellas la apoptosis⁹.

Como medida para remediar estos problemas se ha optado por recubrir a este tipo de partículas con excipientes orgánicos e inorgánicos, tales como azúcares y silicio respectivamente, o mediante la adición de agentes antioxidantes y vitaminas para contrarrestar de cierto modo el efecto de los radicales libres¹⁰.

Debemos de tomar en cuenta que el uso de las NPS puede incrementar el estrés oxidativo⁷ debido a la exposición por periodos de tiempos prolongados a los sistemas vivos. En la actualidad se considera que el efecto del tamaño de estas partículas es el factor más importante para considerar como “tóxica” a una NP que a la composición del material con las cuales fueron elaboradas.

2.1.1.2. Nanopartículas Biodegradables.

Para conseguir una liberación de fármacos efectiva y segura es necesario colocarlos en el sitio de acción adecuado, en general, un cambio en la composición química del principio activo es asociado con la degradación, alteración y/o pérdida de sus propiedades funcionales y estructurales^{10, 37 y 41}.

Durante los últimos 30 años se han desarrollado distintos sistemas NPTS con materiales biodegradables, los cuales ofrecen una gran variedad de aplicaciones, pero la principal característica de usar materiales biodegradables es que permitirán la conformación de sistemas de naturaleza coloidal, que a su vez serán utilizados como transportadores bajo distintas formas farmacéuticas como: liposomas, niosomas, microemulsiones, acuasomas entre otros sistemas NPTS, que a su vez, pueden formar cápsulas o esferas matriciales, dependiendo de la existencia de un núcleo inerte recubierto por una película o más capas de otro material con o sin activo, o formando una partícula en la que todo el conjunto es el resultado de una matriz o mezcla del activo y del material utilizado como transportador.¹¹

Muchos vehículos se derivan de polímeros sintéticos como el poliestireno o el metacrilato y otros biopolímeros como el ácido poliláctico, el poli- β -hidroxibutirato entre otros.

De igual manera se han utilizado macromoléculas orgánicas como la albumina, polisacáridos como el dextrano y lípidos como la lecitina en los liposomas¹².

Las NPS constituidas por polímeros biodegradables están siendo objeto de estudio más que los liposomas en farmacia, debido a su gran potencial en la terapéutica, así como a su estabilidad en fluidos biológicos y durante su almacenamiento. Entre los estudios más prometedores para su aplicación se pueden mencionar:

- a) La vectorización de fármacos anticancerígenos y antibióticos para administración parenteral, a modo de conseguir una mayor selectividad en el órgano o tejido diana y con ello un aumento del índice terapéutico.
- b) La disminución de efectos secundarios de fármacos que administrados por vía oral, por ejemplo, los antiinflamatorios no esteroideos (AINES) tales como el diclofenaco y la indometacina que causan con frecuencia irritación gástrica.
- c) La protección contra la degradación biológica en el tracto gastrointestinal y aumento de la biodisponibilidad de péptidos, proteínas y hormonas, administrados por vía oral.

El control de la liberación, la disminución de efectos colaterales debido a la absorción sistémica y aumento de la biodisponibilidad ocular de ciertos fármacos, mediante la administración oftálmica.

2.1.2 Métodos De Elaboración De Los Nanomateriales.

En la literatura se pueden encontrar varios métodos para la obtención de nanopartículas biodegradables a partir de materiales poliméricos y, de una forma general se pueden clasificar en¹²:

- a) Métodos basados en una polimerización “in situ” de monómeros monodispersos.
- b) Métodos de precipitación de polímeros preformados.

Los métodos de obtención de NPS biodegradables a partir de polímeros preformados son los que más atención han tenido en los últimos años, debido a que en el primer método, durante la polimerización de los monómeros dispersados, los productos no son totalmente biocompatibles y pueden quedar residuos tóxicos de monómeros, oligómeros y catalizadores, además que se ha observado reacciones de entrecruzamiento de los principios activos o la degradación de los componentes cuando se emplea la radiación para inducir la polimerización¹³.

Mientras que, las NPS biodegradables obtenidas a partir de polímeros sintéticos-preformados como los poliésteres tales como el ácido poliláctico (PLA), el poli- β -hidroxibutirato (PBH), el poliláctido-co-glicólico (PLGA) y la poli- ϵ -caprolactona

(PCL), están siendo objeto de mayor atención e incluso varios productos de liberación controlada a partir de ellas ya se han comercializado, debido entre otros factores a su demostrada histocompatibilidad, biodegradabilidad y por no generar subproductos tóxicos¹¹.

Para la obtención de NPS con polímeros preformados existen distintos métodos que han sido clasificados principalmente en función de los procesos fisicoquímicos involucrados o del sistema de eliminación del disolvente^{11, 12, 13}, se pueden clasificar de la siguiente manera:

- a) Métodos de evaporación/extracción del disolvente.
- b) Métodos de separación de fases (coacervación).
- c) Métodos diversos (secado por atomización, fusión).

La selección de un método dependerá de las propiedades del polímero y del principio activo a utilizar, así como también de las características esperadas de las NPS y de la vía de administración.

Entre los principales problemas para la aplicación industrial y la comercialización de los productos con NPS, radica en que la mayoría de los sistemas de obtención de las NPS, se forman suspensiones coloidales acuosas, las cuales durante su almacenamiento pueden dar lugar a fenómenos de agregación y a la formación final de precipitados difíciles de resuspender. También ocurren problemas de estabilidad química tanto de los polímeros como de las demás materias primas, incluyendo el principio activo. Una forma de resolver esta situación ha sido la aplicación de procesos de deshidratación o secado del sistema coloidal formado.

La liofilización ha sido uno de los procesos de deshidratación o de secado que más se ha utilizado tanto en liposomas como a los demás tipos de NPS. Para ello se ha recurrido al uso de crioprotectores como lo son los carbohidratos, que actúan evitando la agregación de las partículas durante el congelamiento. Como método de secado, hasta el momento, la liofilización ha sido la más empleada en la elaboración de NERS que de NCS, ya que se ha atribuido a la liofilización modificaciones en la liberación del principio activo debido principalmente cambios que ocurren en la estructura de la película que cubre al núcleo de la NC, porque al

cristalizar el agua, se generan tensiones internas que “rompen” las NCS y liberan el principio activo, algo que no se desea.

Los crioprotectores más comunes son los monosacáridos y disacáridos, así como algunos oligosacáridos, tales como la glucosa, sacarosa, lactosa, fructuosa y celobiosa, sorbitol y manitol respectivamente, que actúan formando una matriz amorfa alrededor de las NPS para conferirles cohesividad y a la vez evitar la agregación interparticular durante el congelamiento¹⁴.

Una de las principales limitantes para el desarrollo comercial de las NPS ha sido el hecho de que por su naturaleza coloidal, no ha sido sencillo desarrollar técnicas analíticas que permitan su caracterización granulométrica, morfológica y fisicoquímica, además de la necesidad de cuantificar y evaluar la cinética o las propiedades de liberación del principio activo y la estabilidad física, química y microbiológica de los productos durante el almacenamiento.

Entre las propiedades fisicoquímicas que se pueden evaluar para este tipo de sistemas podemos mencionar:

- a) potencial Zeta.
- b) pH.
- c) distribución de la masa molar del polímero y del principio activo en la NP.
- d) cantidad de fármaco asociado a las nanoestructuras.
- e) identificación del sistema corresponde al tipo cápsula o matriz.

Para la evaluación morfológica y la granulométrica de las NPS se dispone de técnicas como la microscopía electrónica de barrido (MEB) y la microscopía electrónica de transmisión (MET), las cuales a su vez se apoyan y complementan con otras metodologías que utilizan de programas computacionales como la digitalización de imágenes.

A su vez, la determinación de la masa molar del polímero suele realizarse mediante la cromatografía de exclusión y para determinar la forma de asociación del fármaco y de los otros materiales en las NPS, se recurre a técnicas termoanalíticas como lo es la calorimetría diferencial de barrido (DSC), la difracción de rayos X de polvos, así como la espectroscopia infrarroja.

2.2. Aspectos biológicos y farmacéuticos de las nanopartículas.

Se comenta que los pulmones no están bien equipados para enfrentar a partículas de materia muy pequeñas, debido a esta naturaleza es posible que estas “engañen” al sistema inmunológico que protege al sistema respiratorio, y en algunos otros casos crucen la barrera hematoencefálica que protege al cerebro¹⁴.

Otra posible entrada es por la vía cutánea, estudios recientes han demostrado que las partículas de hasta 1 μm de diámetro pueden llegar tan profundamente en la piel que las puede absorber el sistema linfático, mientras que las partículas de mayor tamaño no tienen esta posibilidad de penetración^{15 y 56}.

En el campo de la tecnología farmacéutica, el desarrollo de productos a partir de sistemas NPTS que ha crecido y se ha diversificado rápidamente en los últimos años, debido entre otros, a que es posible aplicarlos a distintos fármacos, así como a sistemas de liberación convencional o modificados, y porque entre las diferentes formas de dosificación existentes, las NPS y MPS han generado una gran importancia debido a la tendencia a acumularse en las áreas inflamadas del cuerpo o en los tejidos afectados por los procesos patológicos como lo es el cáncer^{16, 17}.

Los sistemas de liberación modificados de fármacos obtenidos con NPS y MPS son de gran importancia para prevenir numerosos inconvenientes relacionados con el propio fármaco, por ejemplo, la velocidad de degradación, y con operaciones unitarias involucradas en los procesos productivos como la purificación, esterilización y el secado^{15, 18}.

Por otro lado, las partículas NMTS son apreciadas por su reactividad química y otras características cuánticas, ya son de uso diario en bloqueadores solares, cosméticos y aderezos para ensaladas junto con otros productos y procesos.

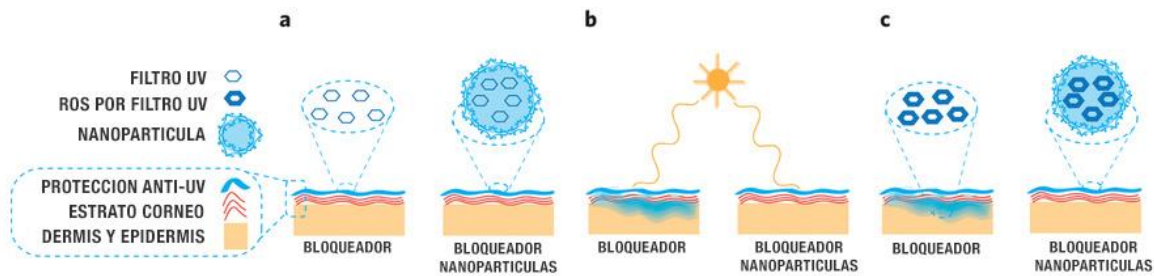


Figura 3. Comparación de un protector solar convencional y uno de última generación, al tener NP(S) el de última generación no permite el traspaso de radiación UV.^{73,74}

2.3. Aplicaciones en el área de la salud.

En cuanto a las aplicaciones que pueden ser objeto los materiales NETDS en el campo de la biología, la farmacia y la medicina, se mencionan las siguientes⁷:

- a) Marcadores biológicos fluorescentes.
- b) Liberación de fármacos y genes.
- c) Biodetección de agentes patógenos.
- d) Detección de proteínas.
- e) Mapeo estructural del ADN.
- f) Ingeniería de tejidos.
- g) Destrucción de tumores por calentamiento (hipertermia).
- h) Separación y purificación de moléculas biológicas y de células.
- i) MRI de alto contraste.
- j) Estudios fagocinéticos.

Aunque en fase experimental, existen ya numerosos artefactos de diminutas dimensiones, entre los cuales se pueden mencionar¹⁹:

- a) Nanobomba: Se trata de una maquina experimental que es capaz de distinguir entre bacterias y células humanas. Una vez seleccionado su blanco, ataca a la bacteria hasta acabar con ella y respeta a la célula humana.
- b) Fago T4: Su diseño está motivado en los virus, dando vida a una sorprendente máquina que tiene la capacidad de colocar sus patas sobre la superficie de las bacterias e inyectarles ADN.

- c) Nanomotores: Ilustran un ejemplo de engranaje atómico realizado por un ordenador. Aunque todavía es tan solo una propuesta teórica, en un futuro no muy lejano podría ser parte integrante de una maquina microscópica diseñada para reparar células.
- d) Nanotransportadores: Otra probable aplicación de la NBTG dentro del campo de la medicina se decantará por la creación de minúsculos transportadores de gran eficacia a la hora de transportar fármacos y ADN.
- e) Nanolaboratorio: Constituyen otra apuesta de futuro y frente a los laboratorios convencionales que ocupan amplias salas, podrán diseñarse auténticos centros de investigación del tamaño de un microchip.

2.4 Acuasomas.

Como parte de los sistemas NPTS, en las últimas dos décadas, se ha estado desarrollando uno que se caracteriza por estar constituido por un núcleo de composición NCTN y un autoensamblaje de uno o varios recubrimientos, el cual se le ha denominado **“ACUASOMA (AQS)”**.

Como su nombre lo indica, los AQS son descritos como “cuerpos de agua” y tienen entre sus propiedades ser utilizados como vehículos de liberación controlada de distintas sustancia, proteger, preservar y vectorizar moléculas biológicas lábiles como polipéptidos y proteínas^{31, 32, 33,34 y 35}.

La elaboración de AQS consiste en la obtención o síntesis de un núcleo nanocristalino inorgánico con una superficie modificada covalentemente, una película de un polihidroxicompuesto y a las moléculas recubiertas se les adsorbe un fármaco o proteínas^{36, 38, 40,}.

En estos sistemas, los núcleos tienen la característica de proveer, en primer término, estabilidad estructural, ya que se ha demostrado que utilizando un núcleo NCTN recubierto con una capa de celobiosa, se ha conseguido liberar antígenos, proteínas y anticuerpos policlonales para usos terapéuticos, industriales y de diagnóstico, también han facilitado una efectiva liberación de fármacos en los órganos diana, reduciendo la toxicidad de los mismos.

Algunos ejemplos de lo anterior, se pueden mencionar:

- a) al utilizar un núcleo NCTN de fosfato de calcio recubierto con piridoxal-5-pirofosfato se ha liberado insulina en pacientes diabéticos y también se ha logrado liberar la enzima DNAasa.
- b) Otro ejemplo es, la protección efectiva en la liberación biomolecular de moléculas lábiles como lo es la hemoglobina.

En general, estos sistemas de liberación NPTS complejos constan de polímeros simples, mezclas de lípidos complejos o materiales cerámicos, que miden aproximadamente entre 30-50 μm de diámetro. Al ser sólidos o partículas recubiertas dispersas en medios acuosos, su mecanismo de acción es controlado por su superficie. Las modificaciones de la superficie crean una película de estabilización que adsorbe proteínas farmacéuticas con una desnaturalización estructural mínima. Por lo anterior, estos sistemas pueden liberar distintos agentes mediante la combinación de blancos específicos, protección molecular y procesos de liberación lenta o controlada²⁰.

Debido a su tamaño y a su inherente actividad de superficie, los AQS pueden cargarse con cantidades sustanciales de distintos compuestos mediante procesos no covalentes. Adicionalmente, por su tamaño y relativa estabilidad estructural, también pueden encubrirse para evitar ser filtrados rápidamente por el SRET.

La importancia biológica y farmacéutica de los AQS, radica en el conocimiento en donde las interacciones agua-proteínas son necesarias para mantener la conformación de las proteínas, que a su vez son vitales para las actividades biológicas²¹. De manera similar, la presencia de agua afecta a todas las conformaciones de las proteínas mediante interacciones electrostáticas entre grupos polares y cargados. Otra propiedad del agua, es que actúa como un flexibilizante que lubrica la dinámica local de las proteínas y brinda en la suficiente flexibilidad para asumir las conformaciones que caracterizan los sustratos, ligandos y antígenos.

De manera general, a un nivel molecular, el agua facilita el reconocimiento espacial de una molécula por otra, de esta manera se transmite energía e información, se generan productos, se inician respuestas y se construyen las

estructuras biológicas. Sin embargo, mientras que el agua es vital para la conservación de su forma molecular, en el estado acuoso las proteínas no pueden resistir por mucho tiempo sin sufrir una desnaturalización, debido a que se generan cambios en el medio, como la temperatura, el pH, la presencia de sales y disolventes, pueden causar la degradación de la proteína.

Generalmente, las proteínas son estables en estado sólido, sin embargo, para lograr que éstas se acoplen a un vehículo de liberación, se requiere de un proceso realizado al estado líquido para posteriormente eliminar el disolvente (liofilizado).

Asimismo, varios vehículos utilizados para la liberación de proteínas en estado sólido, al igual que las superficies de los contenedores de almacenamiento, tienden a inactivar o adsorber a estas al igual que a otros fármacos, lo cual se ha asociado con la deshidratación o el secado, que tienden a producir cambios moleculares conformacionales significativos, por lo que la tecnología que ha conducido al desarrollo de los AQS tiene el propósito en particular de lograr un sistema que permita preservar la integridad conformacional y de la actividad bioquímica de las macromoléculas²².

2.4.1. El núcleo inorgánico de los Acuasomas.

Para producir los núcleos de los AQS, en la literatura científica publicada hasta la fecha se ha informado el uso de tres tipos de materiales:

- a) óxido de estaño³⁹.
- b) carbón cerámico NCTN (diamantes)⁵⁵.
- c) brushita (fosfato de calcio dihidratado)^{21,42}.

Este último es el núcleo de mayor interés biológico debido a su presencia natural en el cuerpo humano. La brushita, sin embargo es inestable y se convierte en HAP^{45,47}.

La vinculación de la HAP con los órganos dentarios, explican su amplio uso en la preparación de implantes para la liberación de fármacos y al parecer sería “*el mejor e ideal*” núcleo para la obtención de AQS. Sin embargo, para la preparación de la HAP se requiere utilizar la técnica de precipitación-calcinación directa o por autoprecipitación lenta de fluidos corporales simulados¹¹.

2.4.2. Hidroxiapatita como núcleo inorgánico.

La HAP es un biocristal, formado por átomos de Ca, P y H, de acuerdo con la fórmula $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ⁵⁴. La HAP está presente en dientes y huesos confiriéndoles su dureza característica, pertenece a la familia de las apatitas, presentan una estructura hexagonal^{43, 44,48 y 49}. En la naturaleza las apatitas se pueden encontrar formando parte de las rocas sedimentarias y metamórficas²³.

En los huesos está siempre acompañada de estructuras orgánicas como el colágeno²⁴. Otras apatitas de importancia biológica son la fluoroapatita y la cloroapatita²⁴⁻²⁶.

Los principales componentes químicos de la HAP son el calcio y el fosfato. Sin embargo, la HAP natural contiene porcentajes mínimos de Na, Cl, carbonatos y Mg, los cuales juegan un papel preponderante en la función remodeladora del hueso²⁷. Por esta razón, no se le considera una apatita pura.

Las HAPS sintéticas que se obtienen a partir de fosfatos dicálcicos y tricálcicos a través de un proceso de síntesis relativamente simple, presentan una pobre resistencia mecánica, además de disolverse fácilmente, lo cual no es deseable para utilizarla como biomaterial de sustitución ósea²⁸.

La HAP o sus precursores, también se pueden encontrar en exoesqueletos como el de la estrella de mar *Mellita sp*, en los corales marinos, en los esqueletos de los vertebrados, en el esmalte y dentina de los dientes, en especies de bovinos y porcinos.

La HAP es un biomaterial por excelencia⁵⁷. La HAP es un cristal biocompatible que ha incursionado en la biomedicina como un restaurador, se utiliza en ortopedia, odontología y en oftalmología. En ortopedia ha dado excelentes resultados la HAP bovina, porcina y humana. Se han probado también precursores como los fosfatos y carbonatos de calcio sobre todo en la práctica odontológica.

Sin embargo, se deben considerar aspectos físicos y químicos importantes del comportamiento de la HAP en su aplicación como biomaterial, tales como la resistencia, la dureza, la porosidad, la disolución, la adhesividad entre otras.

La resistencia de la HAP, depende del tamaño del grano, su distribución, porosidad y otros defectos MELS, por lo que la HAP ha sido sintetizada por varios métodos, entre los que se encuentran:

- a) el químico-húmedo en solución acuosa⁵³.
- b) el sol-gel^{50, 51,52}.
- c) el hidrotermal²¹.
- d) y el método de precipitación²¹.

Teniendo en cuenta lo anterior, una nueva generación de materiales porosos sintéticos de HAP, se han clasificado de acuerdo con el tamaño y la estructura del poro.²²

Este trabajo reporta la elaboración de HAP sintética mediante dos métodos (sol-gel y precipitación) y su posterior caracterización, con el fin de determinar con cuál de los métodos utilizados se obtiene un material sintético con mejores propiedades y similares características; como son el tamaño de cristal y la pureza, para ser utilizado como material inorgánico para el núcleo de los AQS.

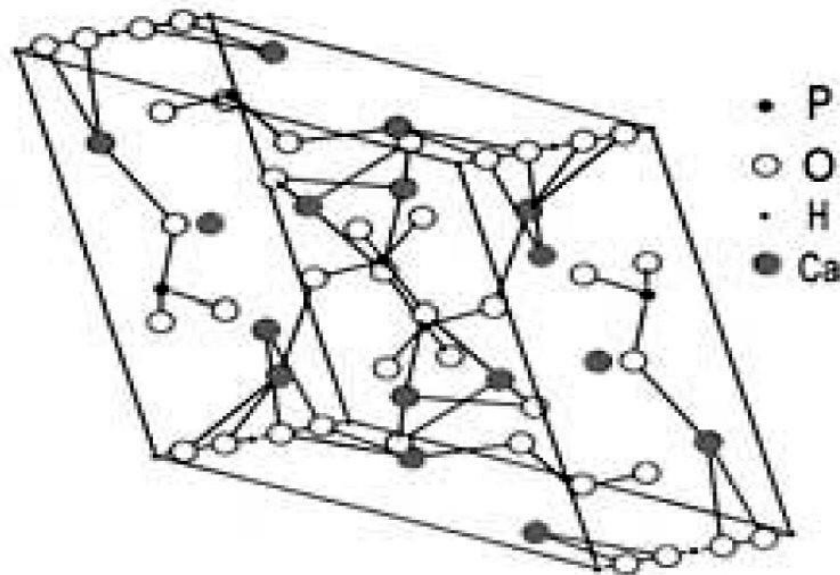


Figura 4. Estructura cristalina de HAP⁴⁵.

2.4.2.1 Método de Síntesis.

2.4.2.1.1 Precipitación.

La síntesis de HAP por el método de precipitación es ventajosa debido a su bajo costo y simplicidad, en tanto la mayoría de los procedimientos sintéticos presenta

la formación de productos no estequiométricos y mezcla de fases, lo que se debe a la presencia de sustituciones iónicas en la red, tales como carbonatos, hidrógeno-fosfatos, K, Na, nitrato y Cl^{29} .

Los procesos de precipitación consisten en la adición de grupos fosfatos a suspensiones que contengan iones calcio a partir de diferentes reactivos. Los métodos de precipitación presentan variables tales como pH, temperatura de obtención, concentración molar de los reactivos, tasa de adición de reactivos, tiempo de agitación, tiempo de envejecimiento y temperatura de calcinación.

La tasa en la cual los reactivos son adicionados, o sea, el tiempo de goteo, influye en la tasa de nucleación de los cristales. La velocidad de goteo está directamente relacionada a la cinética de la reacción, la adición lenta de iones fosfato proporciona menor tasa de nucleación y mayor tasa de crecimiento, lo que implica la obtención de partículas mayores; por el contrario, altas tasas de adición de reactivos permite la formación de mayor números de núcleos, mas sin que haya tiempo suficiente para el crecimiento del cristal.

La formación de un sólido implica precipitación a partir de una solución y cristalización. Estos dos procesos ocurren simultáneamente si el precipitado es cristalino. Esta razón puede ser controlada por la variación de la saturación de la solución y por el tiempo medio de cristalización, que tiene como parámetros la temperatura y la tasa de goteo.

La temperatura en la cual la precipitación se procesa tiene gran importancia en la fase obtenida y en la conversión de una en otra. El tamaño de la partícula y la morfología también son influenciados por la temperatura: temperaturas más altas permiten la obtención de polvos más cristalinos.

El desempeño biológico de materiales sintéticos para uso biomédico depende de parámetros fundamentales como composición química, morfología y biodegradabilidad.²⁴

2.4.2.1.2. Método de Sol-gel.

El método de sol-gel presenta múltiples ventajas entre ellas la alta pureza del producto, composición homogénea, baja presión y temperatura de síntesis, el pequeño tamaño de cristal y su gran área superficial.²⁵ La técnica sol-gel es muy

utilizada en la preparación de muchos compuestos principalmente catalizadores, por sus múltiples ventajas. El principio químico del método se emplea con muchas variaciones en reactivos, solventes y temperatura.

Existen muchos reportes bibliográficos sobre el uso de este método en la síntesis de la HAP y se presenta variedad en los reactivos de partida, pero los más utilizados son el P_2O_5 y el $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$, utilizando como solvente el etanol absoluto, debido a que favorece la formación de un sol más estable.²⁶

El proceso sol-gel recibe su nombre de la transición que se produce de una solución coloidal a otra, es decir, de sol a un gel, aunque durante el proceso es muy difícil distinguirlas debido a que las reacciones químicas se efectúan consecutivamente. Un sol es una solución coloidal en la que la fase continua (la que se encuentra en mayor proporción) es una sustancia en estado líquido, y la fase dispersa (la que se encuentra en menor proporción) es otra sustancia en estado sólido. Por otra parte, un gel también es una solución coloidal, pero en este caso la fase continua se encuentra en estado sólido, mientras que la fase dispersa se encuentra en estado líquido.

Una vez obtenido el gel, se debe secar para remover la fase líquida, por lo que es necesario aplicarle un tratamiento térmico. Si éste tratamiento térmico consiste solamente en el incremento de la temperatura del gel en un horno convencional a presión atmosférica, entonces, el producto obtenido se conoce como xerogel. En cambio, si el proceso se realiza en una autoclave a condiciones críticas de presión y temperatura, el material resultante se conoce como aerogel.²⁷

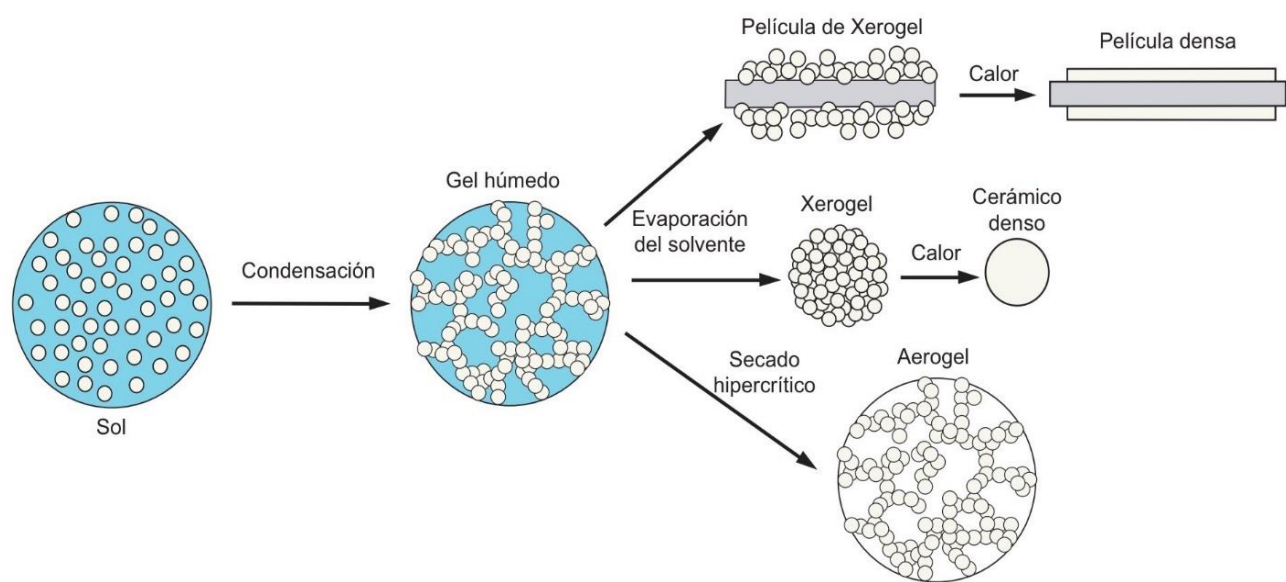


Figura 5. Etapas del proceso Sol-Gel⁵².

2.4.2.1.3. Técnicas de caracterización.

2.4.2.1.3.1 Difracción de rayos X (XRD).

La XRD se refiere a la dispersión de los rayos X debida a las unidades de un sólido cristalino. Gracias a los patrones de dispersión (o difracción) es posible deducir el ordenamiento de las partículas en la red sólida.

Dado que los rayos X son una forma de radiación electromagnética, y por tanto de ondas, cabe esperar que manifiesten un comportamiento ondulatorio en condiciones adecuadas. En 1912, el físico alemán Max von Laue sugirió correctamente que debido a que la longitud de onda de los rayos X es comparable con la magnitud de las distancias que hay entre los puntos reticulares en un cristal, la red sería capaz de difractar los rayos X. Un patrón de difracción de rayos X es consecuencia de las interferencias en las ondas asociadas a los rayos X.

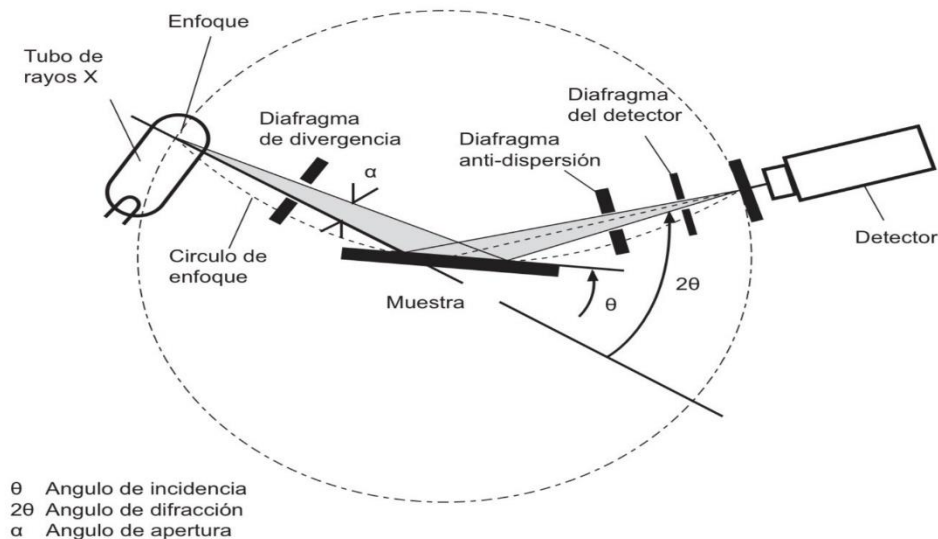


Figura 6. Equipo de difracción de rayos X^{23,48}.

La figura 10 ilustra el arreglo típico de los componentes de un equipo de difracción de rayos X. El haz de rayos X se enfoca a un cristal montado. Los átomos del cristal absorben parte de la radiación recibida y luego la emiten; este proceso se denomina dispersión de rayos X.

Para entender cómo se genera un patrón de difracción, se analizará la dispersión de rayos X debida a los átomos de dos paralelos (figura 10). Al principio, los dos rayos incidentes están en fase, uno respecto del otro (sus máximos y mínimos coinciden en las mismas posiciones). La onda superior es dispersada, o reflejada, por un átomo del primer plano, en tanto que la onda inferior es dispersada por un átomo del segundo plano. Para que estas dos ondas dispersadas entren en fase de nuevo, la distancia adicional que recorre la onda inferior debe ser un múltiplo entero de la longitud de onda (λ) de los rayos X; es decir:

$$2d \text{ sen } \theta = n\lambda$$

Donde θ es el ángulo entre los rayos X y el plano del cristal, y d es la distancia entre planos adyacentes. La ecuación $2d \text{ sen } \theta = n\lambda$ se conoce como ecuación de Bragg en honor de William H. Bragg y sir William L. Bragg.

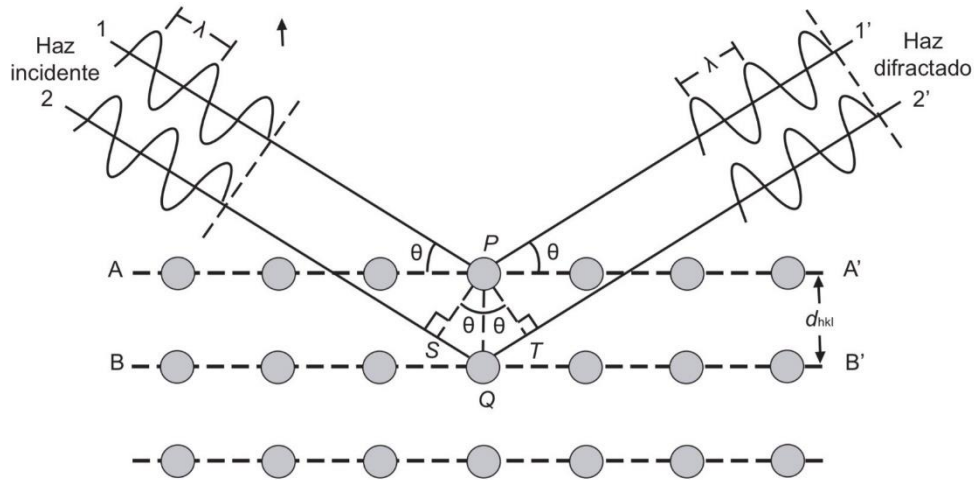


Figura 7. Reflexión de rayos X a partir de dos capas de átomos^{23,52}.

La técnica de difracción de rayos X es el método más exacto para determinar las distancias y los ángulos de enlace de las moléculas en estado sólido. Dado que los rayos X son dispersados por los electrones.²¹

2.4.2.1.3.2 Microscopía electrónica de transmisión (MET).

En la MET las lentes son electromagnéticas y todo el sistema funciona a alto vacío. Los microscopios electrónicos están equipados con cámaras que permiten tomar fotografías llamadas micrografías electrónicas.

El microscopio electrónico utiliza un fino haz de electrones acelerados que, al impactar con la muestra, genera una serie de señales directamente relacionadas con la estructura atómica del objeto investigado. Estas señales se seleccionan por separado para generar distintos tipos de imágenes y obtener datos analíticos. En el MET los electrones transmitidos con y sin dispersión se utilizan para crear imágenes de transmisión convencionales, de campo oscuro y alta resolución, revelando la estructura interna de las muestras, tamaño y distribución de partículas, su red cristalina, interfases y defectos puntuales de la red atómica, etc.

Los rayos X generados son utilizados para estudiar la composición química de la muestra, pudiendo analizar aisladamente zonas de muy pocas micras e incluso NMTS. Finalmente, mediante la difracción de electrones (electrones dispersados

elásticamente) puede hacerse un detallado estudio cristalográfico del material investigado.

Los microscopios de transmisión tienen una capacidad de resolución de hasta 0.23 nm entre puntos y 0.14 nm entre líneas, lo que permite aplicarlo en múltiples campos de investigación: biología vegetal, nuevos materiales, medicina, farmacología, arqueología, control de calidad, investigación forense, catálisis, combustibles fósiles, energía solar, biodegradación de materiales, etc.

Las muestras deben ser siempre representativas del material que se quiere estudiar. Debe evitarse cualquier tipo de contaminación previa a la entrega. Es obligado prevenir de cualquier riesgo que pueda derivarse de las muestras (radiactividad, inflamables, riesgo biológico, etc.). Las muestras sólidas y secas pueden venir trituradas, en forma de polvo o en disolución volátil. Si no es posible o no desea moler, la muestra necesitará un proceso previo de mecanizado mediante corte, pulido y adelgazamiento para poder ser observada en el microscopio.²²

Para poder observar las muestras de HAP en el microscopio de transmisión, éstas se pulverizaron y se depositaron en una rejilla de cobre con recubrimientos de Formvar y carbón.

2.4.3. Película polihidroxilada de los Acuasomas.

Una serie experimentos microbiológicos han revelado que la familia de moléculas conocidas como compuestos hidrocarbonados o polihidroxocompuestos poseen propiedades antideshidratantes y de conservación molecular en el estado sólido y en el estado acuoso, de moléculas bioquímicamente activas^{20, 58,59 y 60}. Es por lo anterior que los azúcares proveen una estabilidad estructural a las proteínas contra los cambios conformacionales que se pueden presentar durante los procesos de secado como la liofilización^{11, 62}.

El mecanismo propuesto para explicar la estabilidad que proveen los azúcares a las proteínas, es que el carbohidrato forma una capa “*pseudohidratada*” con la superficie del agua de la proteína circundante y estabiliza la estructura de la molécula²⁹.

Habitualmente, los datos aportados hasta el momento apoyan a la presunción de que la actividad bioquímica conformacional específica se conserva cuando una molécula bioquímicamente activa es inmovilizada sobre núcleos cerámicos con polihidroxocompuestos^{20, 61}.

La familia de los azúcares que poseen estas propiedades antideshidratantes es extensa, se les relaciona por su habilidad para formar capas³⁰.

En la liberación de fármacos, generalmente, la película polihidroxicarbonada se utiliza para retener las propiedades espaciales del fármaco, lo que sugiere un alto grado de conservación molecular y de actividad biológica^{31, 62,63 y 64}.

2.4.4 Método de preparación de los Acuasomas.

El método de preparación de los AQS implica tres pasos.

El procedimiento general consiste en la formación de un núcleo inorgánico, seguido por un revestimiento del núcleo con un carbohidrato y finalmente la carga del fármaco de elección (Figura 14).^{8, 11, 12.}

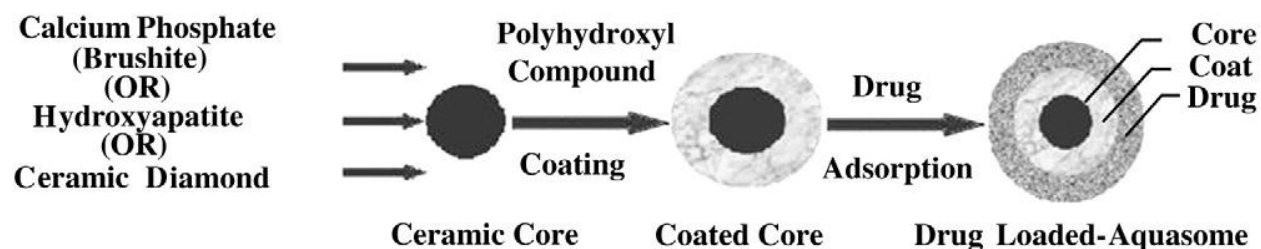


Figura 8. Método de preparación de acuasomas.^{8,11,12,26.}

2.4.4.1 Formación de un núcleo inorgánico.

Se trata de la fabricación de un núcleo de cerámica y el procedimiento depende de los materiales seleccionados. Los dos núcleos cerámicos más comunes son el fosfato de calcio y el diamante.

2.4.4.1.1 Autoensamblaje nanocristalino de brushita (fosfato de calcio dihidratado).

Se pueden preparar por precipitación coloidal y sonicación por la reacción de la solución de fosfato monobásico de sodio y cloruro de calcio.

La ecuación para la reacción es la siguiente:



2.4.4.1.2 Recubrimiento del núcleo con carbohidratos.

En el segundo paso, los núcleos de cerámica se recubren con carbohidratos. El recubrimiento se lleva a cabo mediante la adición de carbohidratos en una dispersión acuosa de los núcleos bajo sonicación. Estos se someten después a liofilización para promover una adsorción irreversible de los carbohidratos en la superficie del núcleo inorgánico. El carbohidrato que no es adsorbido es eliminado por centrifugación. Los materiales de recubrimiento comúnmente utilizados son celobiosa, citrato, fosfato de piridoxal-5-, trehalosa y sacarosa.

2.4.4.1.3 Carga del fármaco de su elección para el ensamblaje.

La etapa final consiste en la carga del fármaco a las partículas recubiertas por adsorción. Para ello, una solución de concentración conocida de fármaco se prepara con un buffer de pH apropiado y las partículas recubiertas son dispersadas en la solución. La dispersión se mantiene durante toda noche, a baja temperatura con el fin de obtener la formulación cargada con el fármaco (es decir, AQS).¹³.

2.4.5 Ventajas de la preparación de Acuasomas.

El principal objetivo de la preparación de los AQS es proteger bioactivos.

Los AQS poseen más ventajas que otros sistemas en la administración de fármacos como los profármacos y liposomas, ya que son propensos a sufrir interacciones destructivas entre el fármaco y el vehículo. En los AQS el recubrimiento de los carbohidratos impide la interacción destructiva entre los fármacos y los vehículos. Los AQS mantienen la conformación molecular y una óptima actividad farmacológica.

Una molécula activa posee cualidades como una conformación única tridimensional, libertad de reordenamiento molecular interno que es inducido por las interacciones moleculares, la libertad de movimiento en masa. Los AQS contienen estabilizadores naturales como los azúcares polihidroxilados que actúan

como un protector antideshidratante que ayuda en el mantenimiento del agua como estado y conserva moléculas a partir del cambio del pH en el estado acuoso, temperatura, disolventes, sales que causan la desnaturalización^{14, 65,66, y 67}.

2.4.6 Propiedades de los Acuasomas.

Los AQS poseen gran tamaño y superficie activa, por lo tanto, puede ser cargados de manera eficiente con cantidades sustanciales de agentes a través de enlaces iónicos, no covalentes, fuerzas de Van der Waals y fuerzas entrópicas. Así las partículas sólidas dispersas en un medio acuoso poseen propiedades físicas de los coloides.

El mecanismo de acción de los AQS es controlado por la química de su superficie. Los AQS liberan su contenido a través de una combinación específica de su blanco, el apantallamiento molecular y el proceso de liberación sostenida. Los AQS tienen propiedades como las del agua que proporciona una plataforma para preservar la integridad conformacional y la estabilidad bioquímica de bioactivos.

Los AQS debido a su tamaño y estabilidad estructural, evitan la separación por el sistema del retículo endotelial o la degradación por otros cambios ambientales. Los AQS son tipo NPS coloidales biodegradables, por lo tanto se concentrarán en el hígado y los músculos. De esta manera, el fármaco se absorbe sobre la superficie del sistema sin ninguna modificación como es en el caso de la liberación de la insulina, que no podrá encontrar ninguna dificultad en el reconocimiento del receptor del sitio activo de modo que la actividad farmacológica o biológica puede ser activada inmediatamente.

Los AQS se caracterizan principalmente por el análisis estructural, tamaño de partícula, y la morfología. Estos fueron caracterizados estructuralmente mediante difracción de rayos-X (DRX) y morfológicamente por la microscopía electrónica de transmisión (MET).¹⁵

2.5. Molécula modelo.

2.5.1 Praziquantel.

Es un antihelmíntico-antiparasitario de amplio espectro, contra numerosas especies de cetodos y trematodos, para tratar la esquistosomiasis (*Schistosoma*

mansoni, japonicum), y la cisticercosis, *Taenia solium*, *Hymenolepsis nanis*, *fascioliasis*^{68 y 69}. Se absorbe en forma rápida y completa (> 80%) luego de su administración oral, en especial cuando se ingiere con las comidas. Su solubilidad en agua a 25 C° es de 0.4 mg/mL⁷².

El PZQ actúa causando severos espasmos y parálisis a los músculos de los gusanos. Esta parálisis se acompaña, y muy probablemente causada por un rápido flujo de Ca⁺² en el interior de esquistosoma (gusano). Las alteraciones morfológicas es el otro efecto del PZQ⁷¹. Estas alteraciones morfológicas se acompañan de un aumento a la exposición de antígenos del esquistosoma en la superficie del parásito⁷⁰. Los gusanos se destruyen por completo a continuación, ya sea en el intestino o por la expulsión con las heces.

Algo muy interesante de este fármaco, es que es relativamente ineficaz contra los esquistosomas juveniles. Al principio es eficaz, pero conforme pasa el tiempo (de 3-4 semanas) esta disminuye, después la eficacia aumenta de nuevo con el tiempo (6-7 semanas). La glutatión S-transferasa (GST), es una enzima de desintoxicación esencial en los parásitos helmintos, esta enzima es un objetivo para el desarrollo de nuevos fármacos contra la esquistosomiasis, los canales iónicos de calcio de los esquistosomas son actualmente el único blanco conocido del PZQ.

El PZQ sufre una importante biotransformación metabólica en el hígado (fenómeno o efecto de primer paso) y sus metabolitos inactivos, se eliminan por hidroxilación. Su vida media plasmática oscila entre 1 y 1.5 horas, se distribuye bien en SNC (por eso se indica en la neurocisticercosis), y en mayor parte (> 90%) se elimina por la orina de horas. El fármaco también se excreta por la leche materna, por lo que debe evitarse la lactancia durante 3 o 4 días después de su administración.

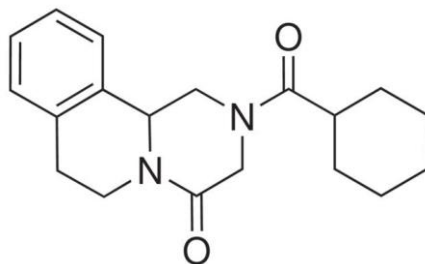


Figura 9. Estructura química de la molécula de PZQ.

3. Justificación.

Dado que existen muchos fármacos con baja solubilidad, y esta es clave para tener una buena biodisponibilidad y se tenga el efecto terapéutico deseado, es necesaria la investigación en nuevos vehículos farmacéuticos para la entrega oportuna y eficaz de principios activos.

Con descubrimientos y estudios acerca de moléculas biológicamente activas y debido a su inestabilidad ante diversos factores como pH, humedad, temperatura, concentración de sales y demás, es favorable realizar estudios, descubrir y evaluar nuevos vehículos para el transporte, entrega y protección de estas moléculas biológicamente activas.

Relativamente los nuevos vehículos de entrega de moléculas terapéuticas, en este caso los AQS, son de época reciente, menos de 10 años, dado que existen estudios de obtención y caracterización de AQS con diferentes azúcares y estudios para poder caracterizarlos, algo muy importante es evaluar su comportamiento en la liberación del principio activo.

La nanotecnología está en potencial crecimiento y en el área farmacéutica es de gran interés, en un futuro se logrará una mayor eficacia por las amplias ventajas de estos sistemas NMTS.

4. Objetivos.

4.1 Objetivo General.

Desarrollar AQS cargados de PZQ mediante el uso de HAP como vehículo de soporte, incrementar la solubilidad del principio activo y conseguir una liberación prolongada o sostenida.

4.2 Objetivos Particulares.

- a) Optimización de un método de producción de AQS con tamaños de menos de 200 nm a partir de la síntesis de NHAP como núcleo inorgánico.
- b) Obtener NPS de HAP como núcleo inorgánico para elaborar acuasomas.
- c) Determinar su composición química, estructura y método de síntesis.
- d) Recubrir los núcleos inorgánicos de HAP con Manitol, Maltosa y Trehalosa y adsorber el PZQ.
- e) Obtener AQS cargados con PZQ menor a 1 micra (1-1000 nm).

5. Desarrollo Experimental.

5.1 Materiales y equipo.

-Manitol, Maltosa, Lactosa, Trehalosa, HCl, PZQ, Fosfato de Sodio, Agua deionizada, Hidróxido de Sodio, Cloruro de Calcio, Acetato de Polivinilo, Pentaóxido de Fosforo, Etanol, Nitrato de Calcio, Fosfato de Calcio, HAP, Acetona.

-Microscopios electrónico de transmisión, espectrofotómetro, balanza electrónica, parrilla de agitación mecánica, campana de extracción, membranas de 0.45 μm , difractor de Rayos X, ultraturrax T-25, liofilizadora Labcom, nanosizer.

5.2 Síntesis del núcleo inorgánico por medio del método de precipitación y sol-gel.

En esta etapa se sintetizaron núcleos inorgánicos de fosfato de calcio e HAP con la finalidad de observar en cuál de las síntesis (precipitación o sol-gel), incrementaría la homogeneidad química a escala NMT.

5.2.1 Método de síntesis de precipitación.

5.2.1.1 Núcleo inorgánico de fosfato de calcio con el homogeneizador dispersor ultraturrax t-25.

Este método se divide en 5 etapas: preparación de las soluciones, mezclado de las mismas, homogenización con el dispersor ultraturrax t-25, filtración y liofilización.

5.2.1.2 Preparación de soluciones precursoras.

Se prepararon las mezclas precursoras en vasos de precipitado por separado, en uno de ellos se disolvieron 3.38g de fosfato de sodio monobásico en 100mL de agua deionizada (0.25 M), en otro se disolvieron 4.07g de cloruro de calcio en 50 mL de agua deionizada (0.75 M). En otro vaso de precipitado se disolvieron 8g de hidróxido de sodio en 100 mL de agua deionizada (2 M), ajustador de pH.

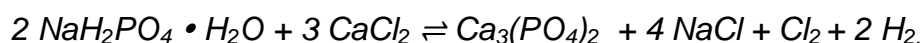
Acetato de polivinilo 0.1%. Se depositaron 100 mL de agua deionizada en un vaso de precipitado y se calentó hasta llegar a una temperatura de 90° C, se

adicionaron 100 mg de PVA lentamente y se mantuvo en agitación magnética hasta tener una solución transparente, translúcida y homogénea.

Acetato de polivinilo 1%. Se depositaron 100 mL de agua deionizada en un vaso de precipitado y se calentó hasta llegar a una temperatura de 90 ° C, se adicionó 1g de PVA lentamente y se mantuvo en agitación magnética hasta tener una solución transparente, translúcida y homogénea.

Nota: La solución de PVA (alcohol polivinílico) se dejó enfriar a temperatura ambiente y se adicionó el fosfato de sodio monobásico, a continuación se siguió la metodología ya mencionada.

Reacción propuesta para este proceso:



5.2.1.3 Mezclado de las soluciones precursoras.

Posteriormente se realizó el mezclado de las soluciones precursoras. Para este procedimiento se mantuvo la solución de fosfato de sodio monobásico con agitación magnética y se alcalinizó con la solución de hidróxido de sodio hasta llegar a un pH \approx 10; se le agregó por goteo la solución de cloruro de calcio con la ayuda de un embudo de separación a temperatura ambiente y a una tasa de velocidad de 5mL/min. Después del goteo se obtuvo una solución blanca, no translúcida y heterogénea.

Se prepararon quince soluciones, cinco de ellas se realizaron sin la adición de PVA, otras cinco soluciones se les adicionó 0.1% de Acetato de polivinilo y a las últimas cinco soluciones se les adicionó el 1% PVA. Todo esto con la finalidad de observar la influencia del PVA como emulsionante.

5.2.1.4 Homogenización con el dispersor ultraturrax t-25.

Al concluir la mezcla de las soluciones, se realizó la homogenización de cada una de ellas teniendo como variable la velocidad, la cual se realizó en 5 mil, 10 mil, 15 mil, 20 mil y 25 mil r.p.m. y el tiempo que se llevó a cabo cada dispersión fue de 15 minutos. Todo esto con la finalidad de evaluar la manera en que influye la velocidad del homogeneizador en el tamaño de partícula.

5.2.1.5 Homogenización con el dispersor ultraturrax t-25.

Lo siguiente fue filtrar las soluciones al vacío con membranas de 0.45µm. Las partículas retenidas en la membrana se conservaron y se secaron a 80° C por 48 horas.

5.2.1.6 Liofilización de las muestras.

Al concluir la filtración de las soluciones, el filtrado se liofilizó durante 48 horas y se tomó una alícuota para realizar su caracterización por difracción de rayos X de polvos con la única finalidad de tener el conocimiento de que productos se encontraban retenidos.

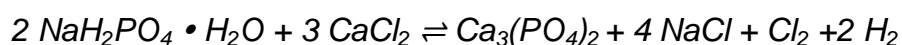
5.2.1.7 Núcleo inorgánico de HAP con el sonicador hielscher.

Este método se divide en: preparación de las soluciones, mezclado de las mismas, sonicación de la muestra, centrifugación de la muestra, lavado de la muestra y secado.

5.2.1.8 Preparación de soluciones precursoras.

Se prepararon las mismas mezclas precursoras (NaH_2PO_4 , $CaCl_2$, $NaOH$) que en el método de síntesis de precipitación de fosfato de calcio.

Reacción propuesta para este proceso:



5.2.1.9 Mezclado de las soluciones precursoras.

Se realizó el mismo orden de mezclado de las soluciones precursoras que en el método de precipitación para la síntesis fosfato de calcio con la única diferencia que al adicionar la solución de hidróxido de sodio a la solución de fosfato de sodio monobásico se alcalinizo hasta llegar a un pH \approx 12.50

Se prepararon cuatro soluciones, dos de ellas se realizaron con las mismas condiciones, manteniendo la agitación magnética durante treinta minutos posterior al goteo en cada una, y posteriormente se aplicó la sonicación, pero las otras dos soluciones se sonicaron durante el goteo de la solución de cloruro de sodio y después se mantuvo la mezcla en agitación magnética durante treinta minutos.

Todo esto con la finalidad de observar la influencia de la sonicación en el tamaño de la partícula.

5.2.1.10 Sonicación de las muestras.

Con lo anterior a las dos soluciones a las que se les aplicó la sonicación después de la precipitación se les aplicó un nivel de frecuencia de ultrasonido de 30 y 90 durante 20 minutos al finalizar el goteo de la solución de cloruro de sodio.

A las otras dos soluciones se les realizó la sonicación durante la precipitación que se generó al mezclar las soluciones precursoras y se les aplicó el mismo nivel de frecuencia que a las dos soluciones anteriores de 30 y 90, estas soluciones ya no se mantuvieron en agitación magnética porque se realizó antes de llevar a cabo la sonicación.

Durante la sonicación se trató de controlar la temperatura de la mezcla a 4 ° C, sin embargo por el calor generado al aplicar la frecuencia de ultrasonido, las soluciones alcanzaron una temperatura de 20 ° C como máxima.

5.2.1.11 Centrifugación de las muestras.

Después de concluir la sonicación de las soluciones, se llevó a cabo la centrifugación durante una hora, a una velocidad de 15,000 r.p.m. y a una temperatura de 4 ° C. Se aplicó este tiempo de centrifugación con la única finalidad de favorecer la sedimentación de las partículas más pequeñas y facilitar los lavados.

5.2.1.12 Lavado de las muestras.

A continuación, se desechó el sobrenadante del pellet formado y se realizaron tres lavados con agua deionizada, con la finalidad de retirar las sales formadas.

5.2.1.13 Secado de las muestras.

Finalmente se secaron las muestras a una temperatura de 80 ° C por 48 horas, con la finalidad de evaporar el exceso de agua y posteriormente se pulverizaron las muestras con un mortero. Dichas muestras se caracterizaron con difracción de rayos X.

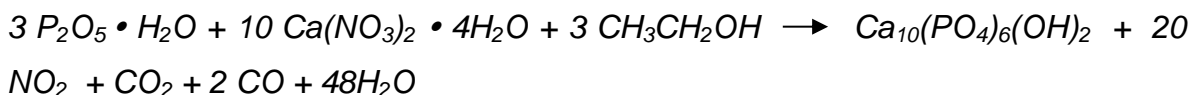
5.2.2 Metodología de síntesis del núcleo inorgánico de HAP por medio del proceso de sol-gel.

Este método se divide en: preparación de soluciones precursoras, mezclado de las mismas, secado de la mezcla resultante, calcinación de la muestra y lavado de los polvos.

5.2.2.1 Preparación de soluciones.

Se prepararon las mezclas precursoras en vasos de precipitado por separado, en uno de ellos se disolvieron 4.26 g de pentóxido de fósforo en 88 mL de etanol (0.4 M), y en el otro se disolvieron 23.6 g de nitrato de calcio en 292 mL de etanol (0.35 M), manteniéndolas en agitación mecánica a temperatura ambiente hasta que cada una de ellas se observó homogénea.

A continuación se presenta la reacción para este proceso:



5.2.2.2 Mezclado de precursores.

Al concluir la preparación de las soluciones, el siguiente paso fue la mezcla de los precursores. Para ello, se mantuvo la disolución de nitrato de calcio en agitación magnética y se le agregó por goteo la disolución de pentóxido de fósforo con la ayuda de una bureta, a temperatura ambiente y a una tasa de 10mL/min. Se obtuvo una solución blanquizca, no traslúcida y heterogénea. Se mantuvo la agitación magnética durante la hora posterior al goteo. Solo se obtuvo una solución.

5.2.2.3 Secado de las muestras.

El siguiente paso del proceso fue dejar secar la solución resultante, la cual se mantuvo en agitación mecánica y se incrementó la temperatura de la mezcla a 56° C manteniéndola durante 48 horas, con la finalidad de evaporar el etanol de la solución.

5.2.2.4 Calcinación de la muestra.

Al concluir el secado, se obtuvieron espumas color blanco con alta porosidad y amorfas las cuales se pulverizaron en el mortero hasta obtener polvos. Posteriormente se realizó la calcinación a una velocidad de calentamiento de $4^{\circ}\text{C}/\text{min}$ hasta llegar a una temperatura de 700°C manteniéndola durante 2 horas y se retiró la muestra hasta enfriar a temperatura ambiente. La calcinación tuvo la finalidad de promover la formación de los cristales de HAP.

Después de la calcinación, se pulverizó la muestra con el mortero hasta obtener polvos (Figura 10) y se tomó una alícuota para realizar la caracterización de difracción de rayos X y microscopia electrónica de barrido.



Figura 10. Muestra de la HAP al finalizar la calcinación.

5.2.2.5 Lavado de los polvos.

Al realizar la prueba de difracción de rayos X, se observó en los difractogramas la presencia de óxido de calcio, que se eliminó con dos lavados y filtrados de las muestras con agua destilada. Al finalizar el lavado se obtuvo una muestra en forma de pasta, por lo que se puso a secar 90 minutos a una temperatura de 120°C con la finalidad de evaporar el exceso de agua y obtener las muestras pulverizadas. Se realizó difracción de rayos X, para observar el efecto de los lavados con agua destilada en la muestra.

5.2.2.6 Recubrimiento de los núcleos inorgánicos de HAP con Lactosa monohidratada y Manitol.

En esta etapa se recubrieron los núcleos inorgánicos de HAP con lactosa monohidratada y manitol para formar una película superficial polihidroxicarbonada.

5.2.2.7 Preparación de las soluciones.

Se prepararon dos soluciones en vasos de precipitado por separado, en uno de ellos se disolvieron 1.08 g de lactosa monohidratada en 100mL de agua destilada (0.03 M), y en el otro se disolvieron 0.54 g de manitol en 100mL de agua destilada (0.03 M), manteniéndolas en agitación mecánica a temperatura ambiente hasta que cada una de ellas se observara homogénea.

Se prepararon dos dispersiones de HAP de 1 mg/mL, a una dispersión se le adicionó 100 mL de lactosa 0.03M y a la otra dispersión 100mL de manitol 0.03M; y se mantuvieron con agitación magnética durante 90 minutos cada solución, para formar la película superficial polihidroxicarbonada sobre los núcleos inorgánicos de HAP.

La dispersión resultante se filtró al vacío con membranas de nitrocelulosa de 0.22 μm , para eliminar las partículas de mayor tamaño o exceso de algún producto. Como resultado de lo anterior cada dispersión se liofilizó y posteriormente se realizó difracción de rayos X, para observar el efecto de cada hidrato en las dispersiones de HAP.

5.3 Núcleos de fosfato de calcio recubiertos con diferentes azúcares.

Los núcleos inorgánicos de fosfato de calcio se recubrieron con una película superficial de 3 diferentes carbohidratos, los cuales son: Manitol, Maltosa y Trehalosa respectivamente, mediante soluciones de cada uno de estos azúcares al 0.03 M, 0.06 M y 0.09 M, después se adicionaron a las dispersiones de 10 mg/mL de los núcleos inorgánicos (para la dispersión de los núcleos se utilizaron 50 mg de núcleos inorgánicos en 5 mL de agua desionizada).

Se aplicó agitación mecánica media durante 120 minutos para formar la película superficial, se liofilizó hasta obtener el sólido correspondiente, aquí teóricamente se formaron los AQS sin cargar.

5.3.1 Adsorción del fármaco.

Para la adsorción del PZQ sobre la película superficial de cada uno de los carbohidratos depositados en los núcleos inorgánicos de fosfato de calcio, se elaboraron soluciones saturadas de PZQ con Acetona (se pesó 281.100 mg de PZQ, se adicionó en 10 mL de Acetona y agitando mecánicamente, con esto se obtuvieron soluciones 0.09 M de PZQ en 10 mL con Acetona), las soluciones de PZQ se mezclaron con las dispersiones de los polvos obtenidos (AQS sin cargar, el polvo obtenido para cada sistema se dispersó en 5 mL de agua deionizada), agitando mecánicamente de manera moderada durante 120 minutos para adsorber el fármaco (PZQ) a los AQS, se secó a temperatura ambiente con ayuda de una campaña de extracción.

Se determinó el tamaño de partícula agregando 50 mg de los polvos obtenidos en 3 mL de agua destilada.

5.3.2 Preparación de soluciones de azúcares.

Para preparar las soluciones de:

-Manitol: Se llevaron al aforo de 10 mL con agua deionizada: 0.0546 g, 0.1093 g y 0.1639 g de Manitol ($C_6H_{14}O_6$, Masa Molecular: 182.172 g/mol) para obtener soluciones 0.03 M, 0.06 M y 0.09M respectivamente.

-Maltosa: Se llevaron al aforo de 10 mL con agua deionizada: 0.1026 g, 0.2053 g y 0.3080 g de Maltosa ($C_{12}H_{22}O_{11}$, Masa Molecular: 342.29 g/mol) para obtener soluciones 0.03 M, 0.06 M y 0.09 M respectivamente.

-Trehalosa: Se llevaron al aforo de 10 mL de agua deionizada: 0.1134 g, 0.2269 g y 0.3404 g de Trehalosa Dihidratada ($C_{12}H_{22}O_{11} \cdot 2H_2O$, Masa Molecular: 378.29 g/mol) para obtener soluciones 0.03 M, 0.06 M y 0.09 M respectivamente.

5.4 Perfiles de disolución.

5.4.1 Curva de calibración.

Para la curva de calibración se tomó como referencia la farmacopea de los estados unidos mexicanos (FEUM) 11^{ava} edición Praziquantel tabletas Página 806 en el MGA 0291 Disolución, Aparato 2 $Q=75\%$ para el PZQ⁷⁵, en donde mencionan como preparar el medio de disolución para someter a pruebas de

disolución tabletas de PZQ, el cual se necesitan 2 g de LSS llevarlos a un matraz volumétrico de un litro, disolver y aforar con solución de HCl 0.1 N.

Las concentraciones para la curva de calibración fueron desde 0 hasta 1.200 (mg/mL).

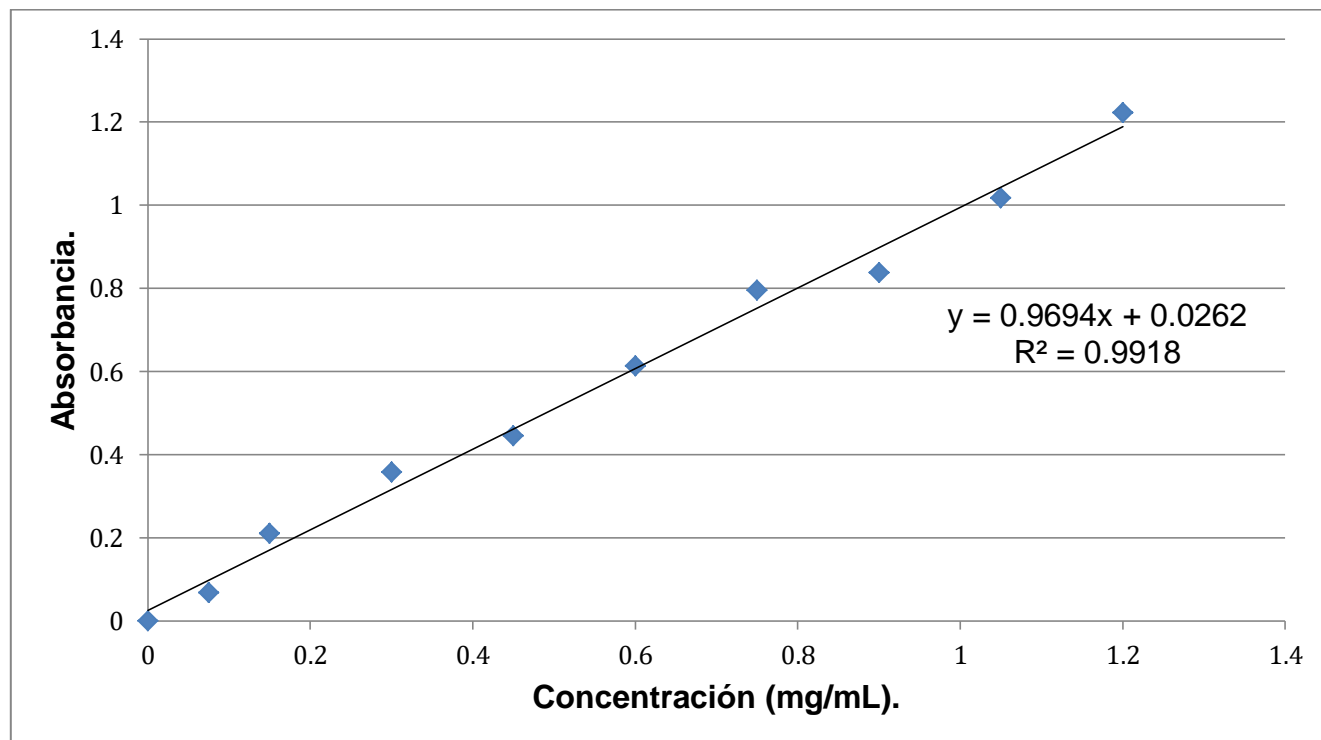


Figura 11. Curva de calibración.

Para una tableta de 600 mg de PZQ que se somete a prueba de disolución con 900 mL medio de HCl 0.1 N, su concentración es 0.6666 mg/mL, si a esta concentración la multiplicamos por 50 mL (es el volumen que ocupa un vaso de un equipo recirculador de agua a temperatura constante 37 °C), el resultado es 33.3333 mg de PZQ, es por ello que se tomó la decisión de pesar el equivalente a 30 mg de PZQ, lo equivalente a 30 mg de PZQ en mezclas físicas y en los AQS cargados de fármaco:

-Cálculos:

Para el PZQ se pesó 30 mg de este fármaco, debido a que esta puro.

Para las equivalencias de cómo fue que se tomó tanto para el AQS cargado y su mezcla física respectiva, se realizará un ejemplo de cálculo:

AQS de Manitol (0.03 mol azúcar/0.09 mol PZQ):

En el AQS existen tres componentes (HAP, PZQ, Manitol), los cuales están presentes en 50, 281.1 y 54.6 mg respectivamente.

La masa total del AQS es 385.700 mg lo que equivale al 100% del peso en el sistema:

385.7 mg AQS----100% Sistema.

50 mg HAP-----12.9634% HAP en el sistema.

281.1 mg PZQ-----72.8840% PZQ en el sistema.

54.6 mg Manitol-----14.1560% Manitol en el Sistema.

12.9634, 72.8840 y 14.1560 es el porcentaje que ocupan la HAP, el PZQ y el Manitol respectivamente en el sistema.

Debido a que deseamos tener 30 mg de PZQ en los perfiles de solubilidad tenemos que calcular la equivalencia que necesitamos pesar para obtener esos 30 mg.

$$(30 \text{ mg PZQ}) \frac{385.7 \text{ mg AQS Manitol}}{281.1 \text{ mg PZQ}} = 41.16 \text{ mg AQS Manitol}$$

Las cantidades equivalentes para los demás sistemas se calculan de la misma manera, teniendo en cuenta el porcentaje de los componentes del sistema, en las tablas que se encuentran en el anexo se resumen.

Cabe mencionar que son las mismas cantidades a pesar para los casos de las mezclas físicas, las cuales se obtuvieron al pesar las cantidades de todos los componentes para los sistemas, solo que como su nombre lo dice son mezclas físicas que no se sometieron a algún proceso más que el mezclado físico.

Después de pesar se sometió a pruebas de disolución por un intervalo de 0 a 60 minutos, utilizando 50 mL de medio de disolución (LSS-HCl 0.1 N), a tiempos de 10, 15, 20, 30, 45 y 60 minutos, se tomaban 4 mL, se filtra 1 mL el cual se desecha y se ponía el restante una vez filtrado en filtros de pirinola en un tubo de ensayo para después medir su absorbancia a una longitud de onda de 263 nm, se reponían los 4 mL de muestra. El blanco es el medio de disolución.

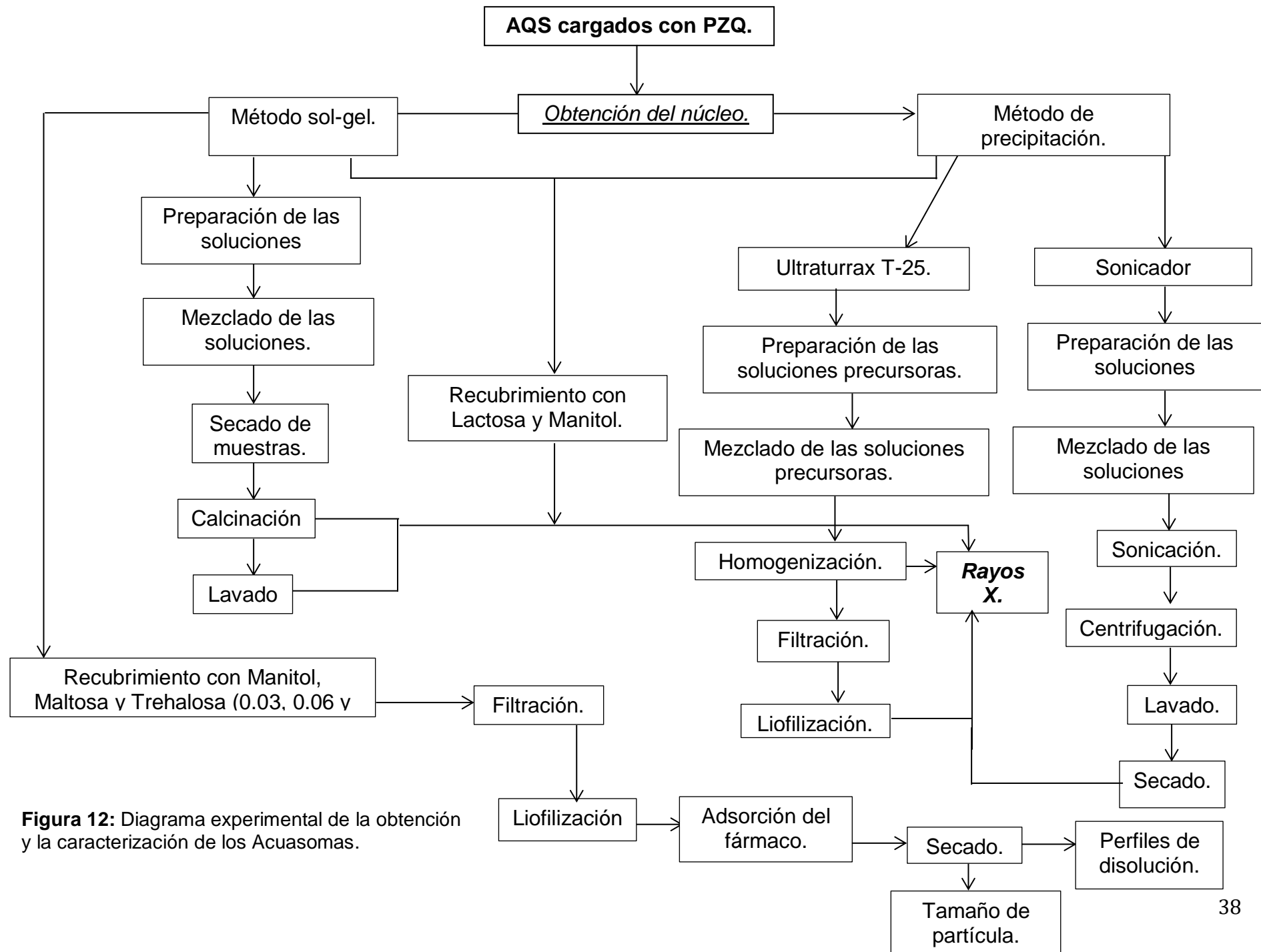


Figura 12: Diagrama experimental de la obtención y la caracterización de los Acuasomas.

6. Resultados y Discusión.

6.1 Difracción de Rayos X de polvos del núcleo inorgánico.

Los patrones de difracción de rayos X de los polvos analizados fueron obtenidos en un difractorómetro Bruker-D8 Advance con una radiación $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda=1.554 \text{ \AA}$). Las mediciones se realizaron en el intervalo angular de 20° a 80° en 2θ (picos característicos de la HAP).

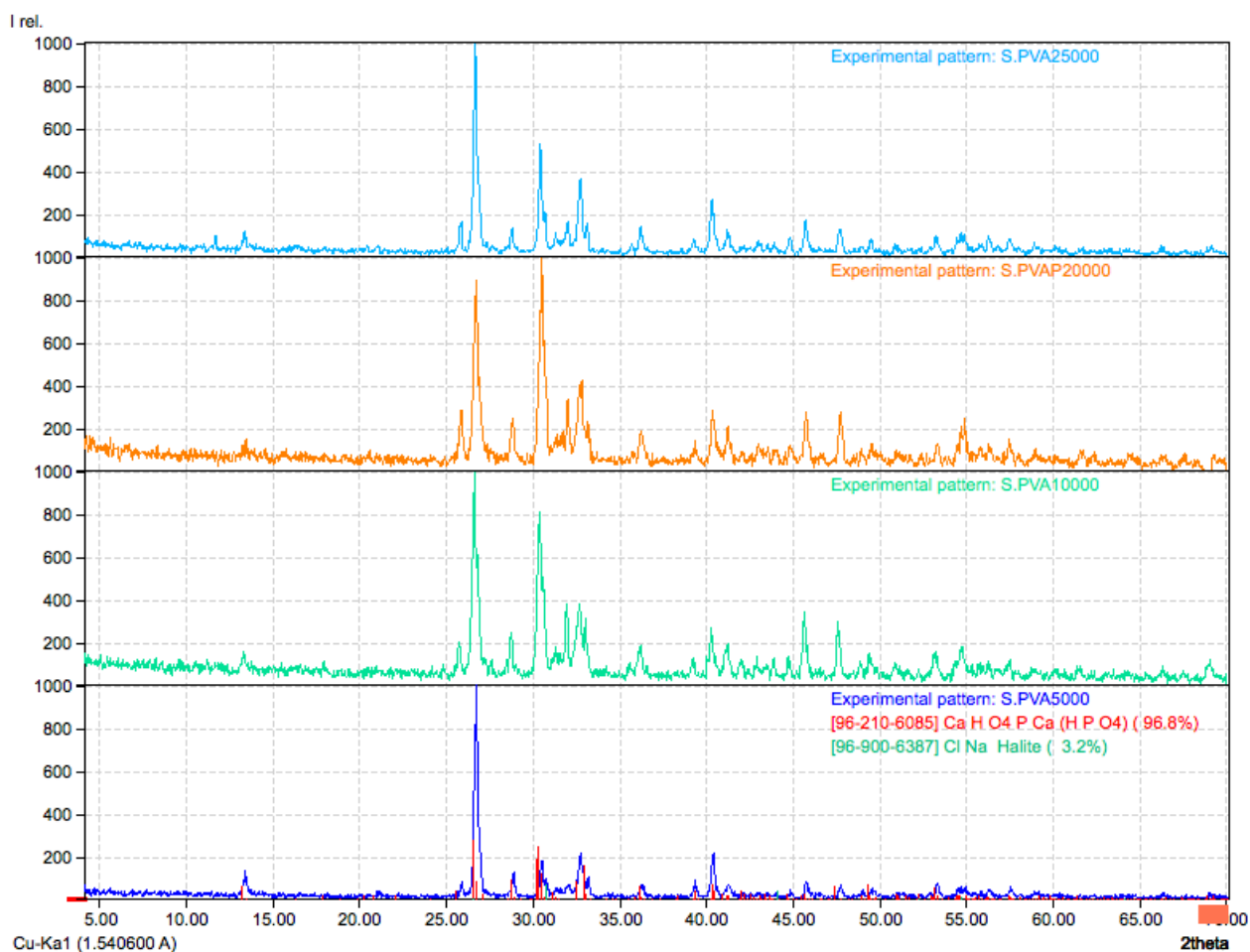


Figura 13. Difractograma de rayos X de las muestras sin PVA. (5, 10, 20 y 25 mil, rpm).

En la figura 13 de acuerdo con los patrones de difracción obtenidos de las muestras que no se les adicionó PVA, no se observó la presencia de HAP. En los patrones de difracción podemos observar la presencia de fosfato de calcio, que es un mineral presente en un 70% en los huesos que está constituido por HAP.

Otro material encontrado en un pequeño porcentaje (3.2%) es el cloruro de sodio, que es un mineral utilizado como medicamento, ya sea en enfermedades por

exceso o déficit de este compuesto, otro de sus usos frecuentes es en la industria alimentaria como conservador.

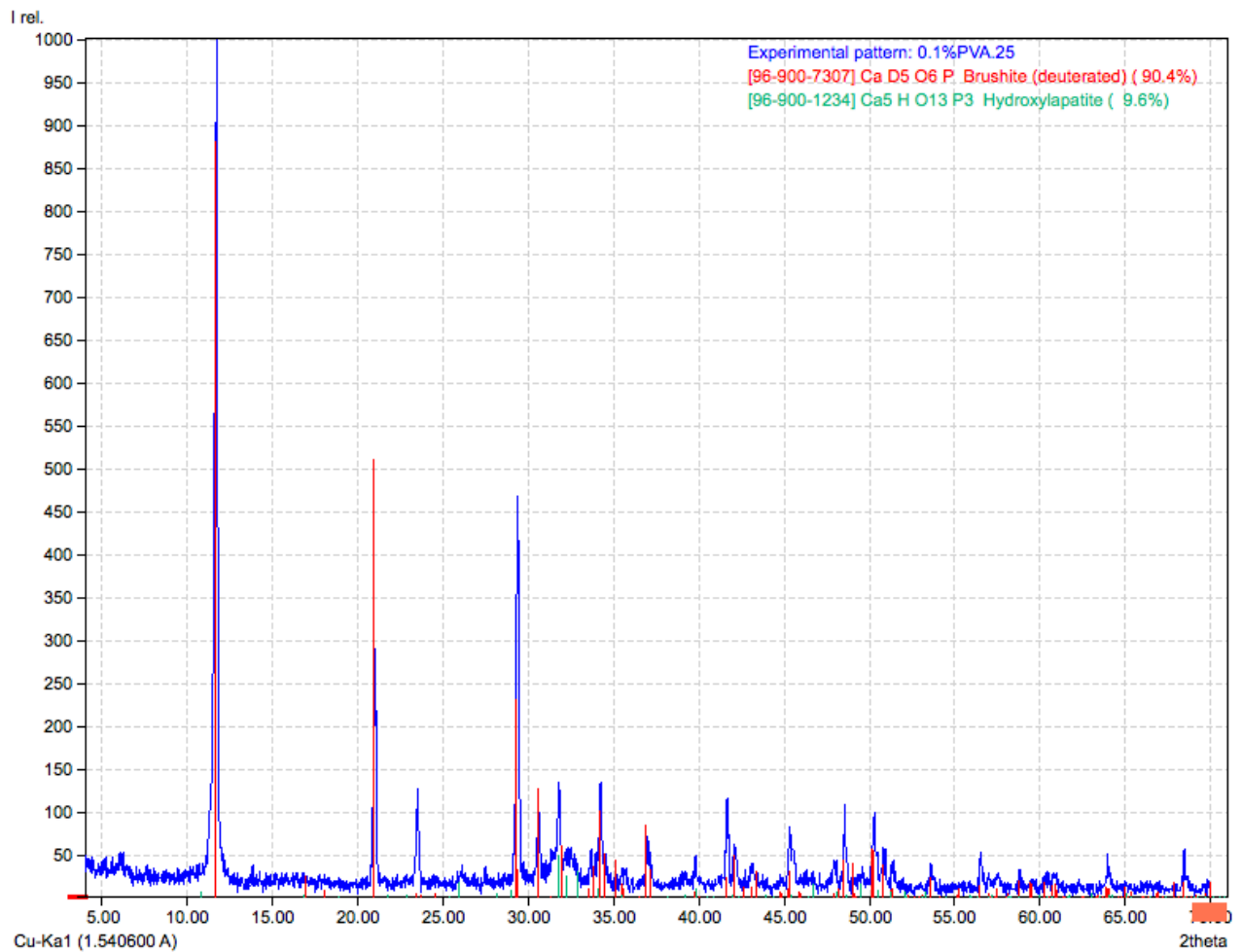


Figura 14. Difractograma de rayos X de la muestra con 0.1% PVA. (25 mil, rpm).

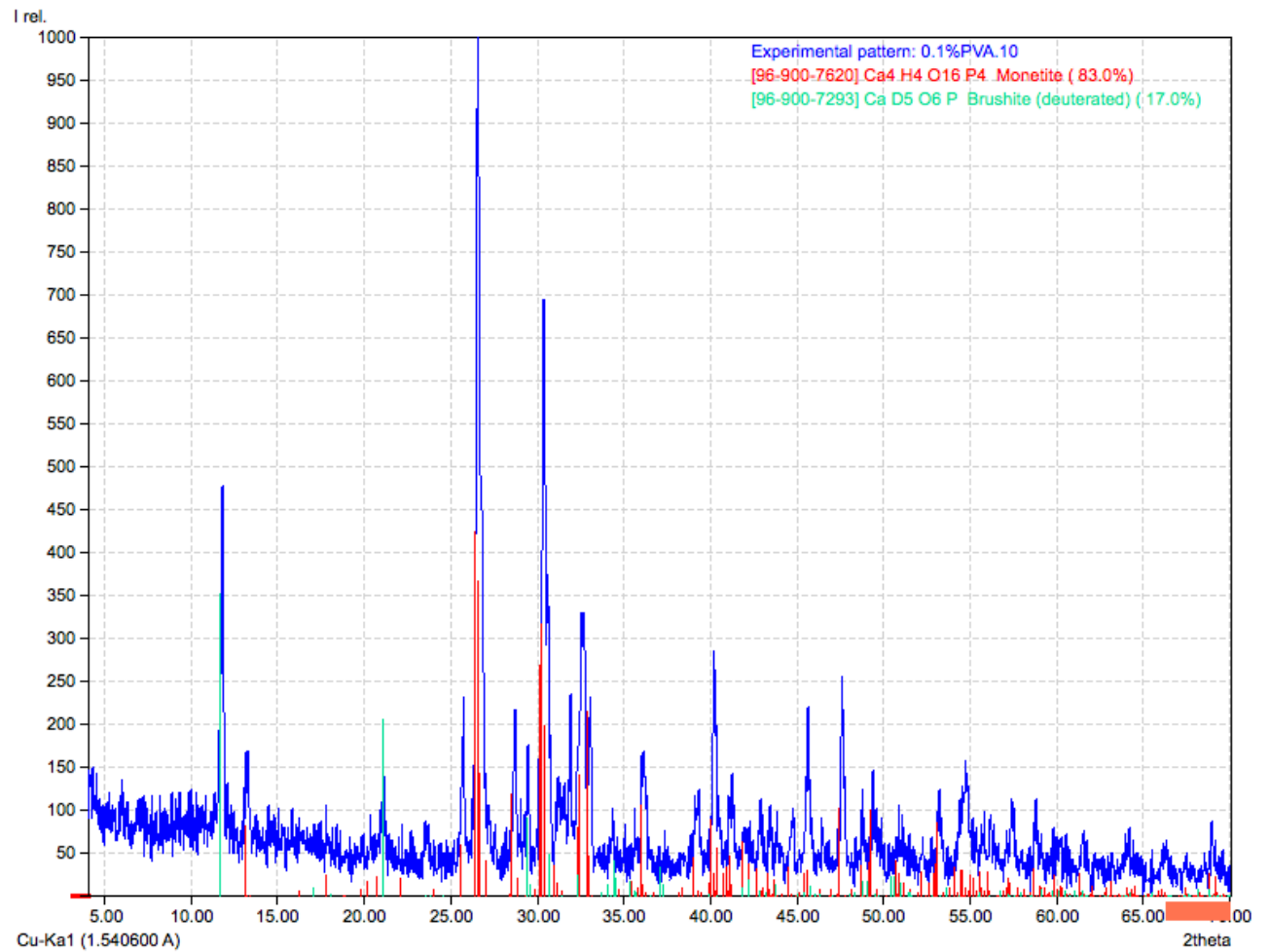


Figura 15. Difractograma de rayos X de la muestra con 0.1% PVA. (10 mil, rpm).

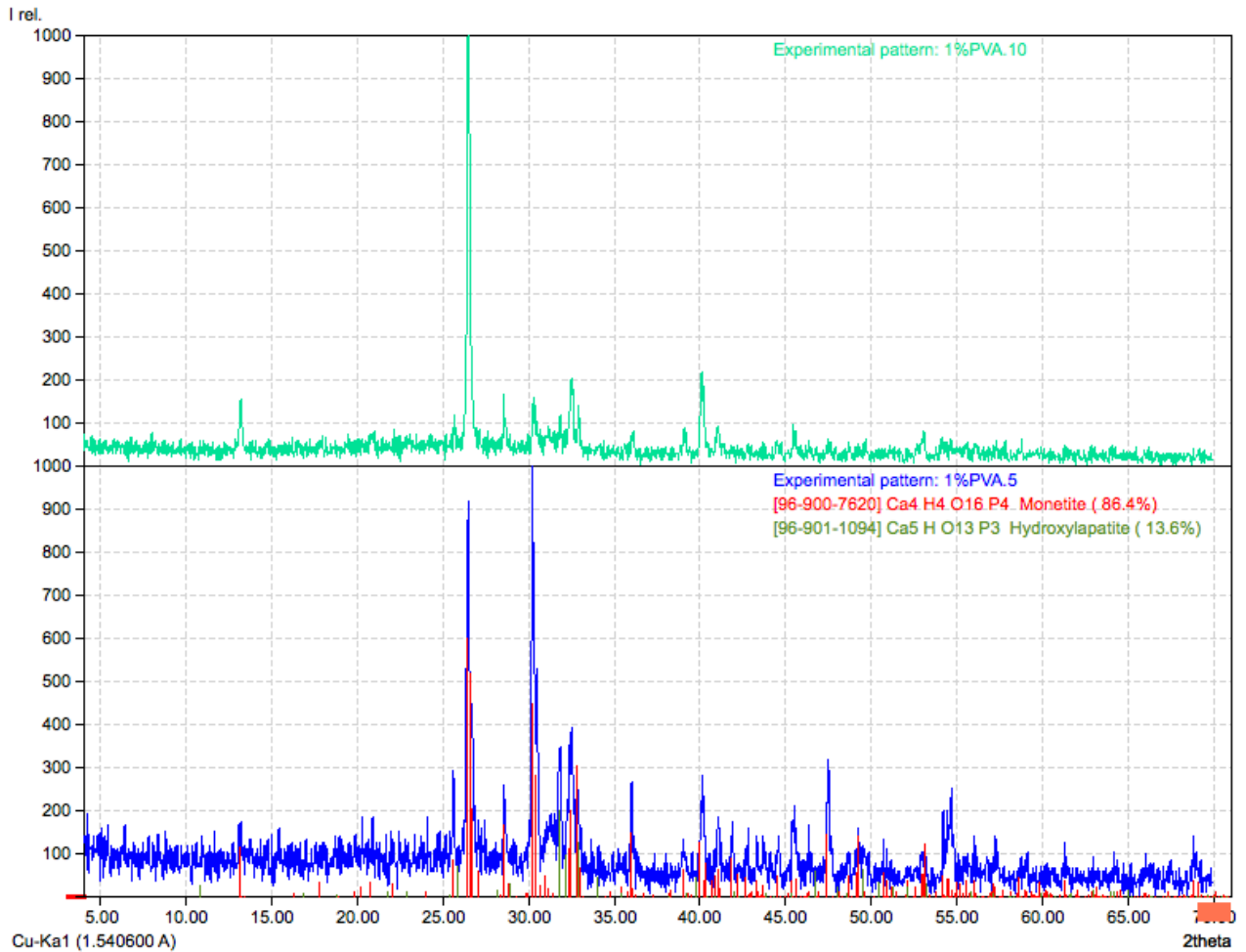


Figura 16. Difractograma de rayos X de la muestra con 1% PVA. (5,10 mil, rpm).

En los patrones de difracción obtenidos de las muestras (Figuras 15 y 16) a las cuales se les adiciono 0.1% de PVA, se observa la presencia de brushita, que es un tipo de fosfato de calcio empleado en la industria como un retardante del fuego, otro material presente es la monetita (figura 15 y 16) la cual es resultado de la fosfatación de las rocas sedimentarias y también tenemos presencia de HAP (figura 15 y 16) en un bajo porcentaje (9.6%).

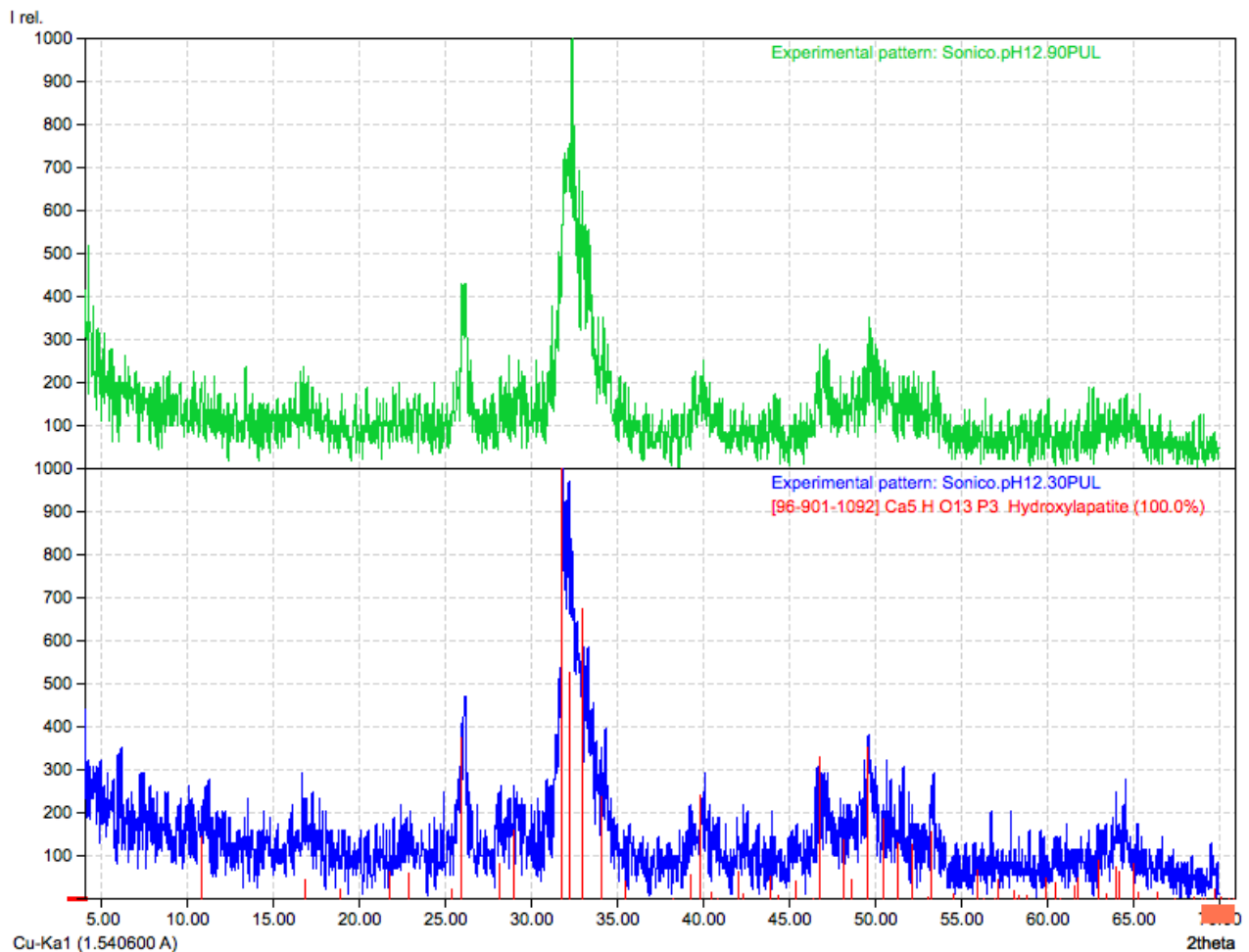


Figura 17. Difractograma de rayos X de las muestras con sonicador.

En los patrones de difracción obtenidos de las muestras (Figura 17) en las cuales se utilizó el sonicador, podemos observar que en efecto al aumentar el pH (pH≈12) de la solución favorece la formación de la HAP, esto se debe a que el fosfato monobásico de sodio tiene un pKa de 12.6 y por lo tanto, al hacer una solución más básica se favorecerán los aniones (H_2PO_4^-).

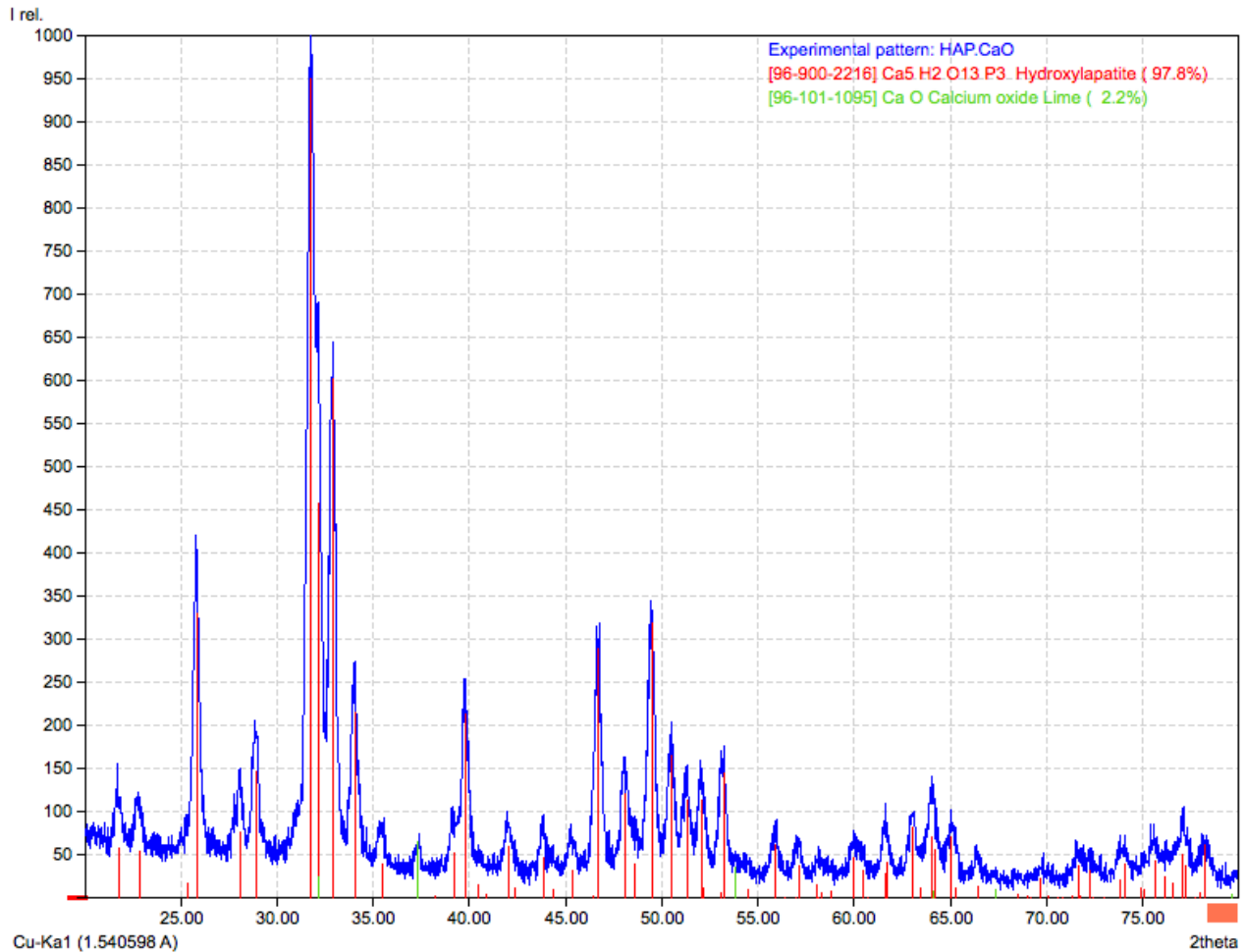


Figura 18. Difractograma de rayos X de la muestra de la síntesis de sol-gel.

De acuerdo con los patrones de difracción obtenidos de la muestra que se realizó por método sol-gel, podemos observar que en la figura 18 hay un material que es el óxido de calcio (2.2%), que es detectado por el difractómetro, y esto significa que se encuentra en la proporción suficiente para causar algún tipo de toxicidad y provocar irritación en los tejidos, por lo tanto, se realizan lavados con agua destilada por la alta solubilidad en ésta, logrando obtener HAP en su totalidad (Figura 19).

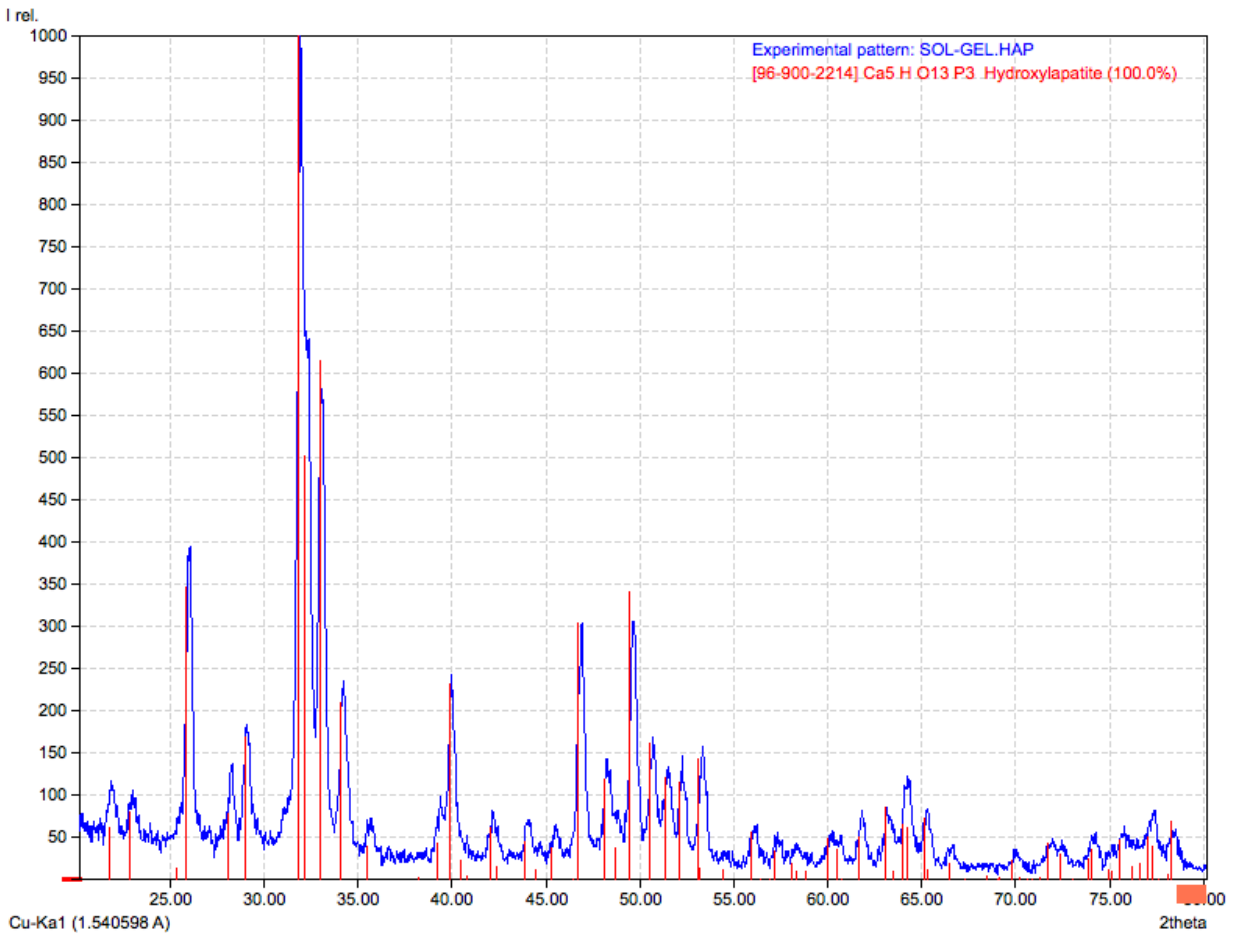


Figura 19. Difractograma de rayos X de la muestra de la síntesis de sol-gel posterior al lavado.

Solo se tomarán los patrones de difracción de la figura 19 para continuar con el estudio de las muestras, es decir en las cuales se obtuvo HAP en un 100%, esta elección se basó en la importancia que tiene este cristal en la biomedicina como restaurador, ya que es el principal componente en el soporte de los tejidos por su actividad continua remodeladora.

Para calcular los parámetros red de cada una de las muestras obtenidas y tomando en cuenta la forma hexagonal de la HAP, se utilizó la fórmula de Scherrer.

$$D = \frac{K\lambda}{\beta \cos \theta}$$

D es el tamaño medio de los dominios ordenados.

K es el factor de forma tiene un valor típico de aproximadamente 0.9, pero varía con la forma real del cristalito. HAP 0.94.

λ es la de rayos X de longitud de onda. 1.5406 Å

β es la ampliación de la línea a la mitad del máximo de intensidad (FWHM).

θ posición de pico.

Se tomaron como referencia los picos ubicados en $2\theta \approx 43^\circ$, debido a que son los picos singuletes con mayor intensidad.

En la tabla 15 y en la tabla 16 (ver anexo) se muestran los tamaños de los cristales obtenidos usando la fórmula de Scherrer para cada muestra.

Comparando los parámetros de red obtenidos experimentalmente de ambas muestras, podemos observar que el tamaño promedio de los cristales de la muestra que fue sintetizada por el método sol-gel fue de 40.395nm, debido a que hay una mayor área superficial para la adsorción sobre el núcleo inorgánico, fue la muestra de HAP que se recubrió con los carbohidratos.

También se puede observar que el lavado es útil para la eliminación del óxido de calcio y no promueve la formación de nuevas fases, dado que la diferencia entre cada difractograma radica en la presencia o ausencia de los picos que son característicos del óxido de calcio.

6.2 Difracción de Rayos X de polvos del recubrimiento de los núcleos inorgánicos.

En las figuras 20 y 21 de acuerdo con los patrones de difracción obtenidos podemos observar que en efecto, las dispersiones de HAP a las cuales se le adicionó la solución de lactosa y manitol presenta los picos característicos de cada uno de los compuestos, esto quiere decir que las muestras mostraron un cambio en la superficie expuesta a los rayos X.

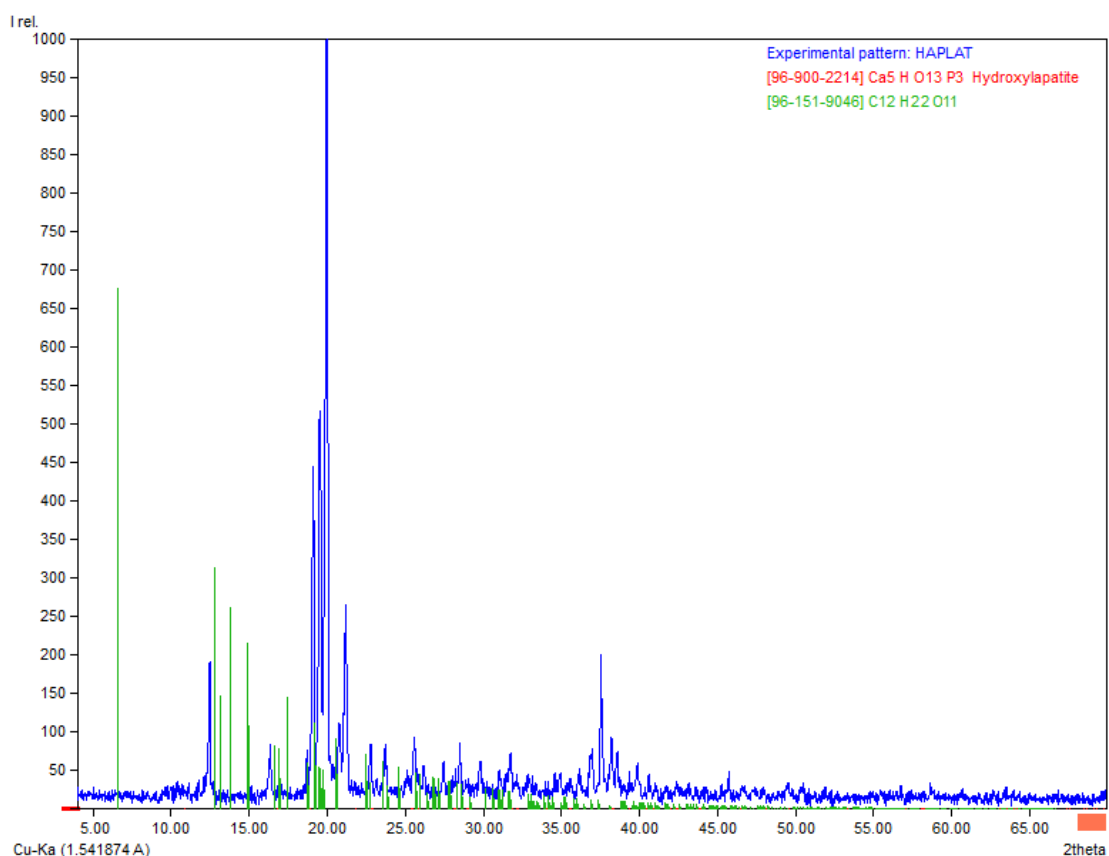


Figura 20. Difractograma de rayos X de HAP con lactosa.

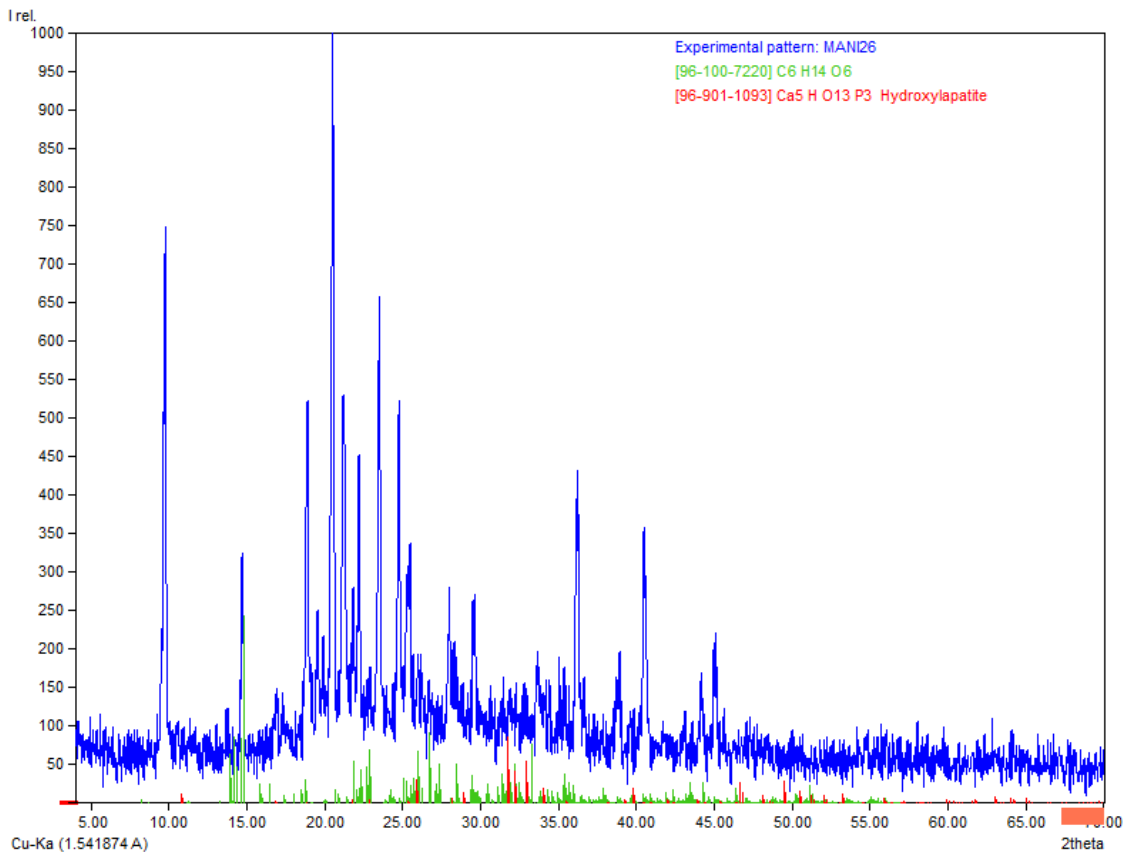


Figura 21. Difractograma de rayos X de HAP con manitol.

Nuevamente se utilizó la fórmula de Scherrer para el cálculo del tamaño de los cristales y se tomaron en cuenta los mismos picos que en la síntesis del núcleo inorgánico debido a que son los singuletes con mayor intensidad de la HAP.

En las tablas 17 y 18(que se ubican en el anexo) , se muestran los parámetros que se obtuvieron de la HAP recubierta con lactosa y manitol, comparando el tamaño promedio de las muestras podemos observar que en la muestra de manitol tenemos un tamaño de 156.65 nm y en la muestra de lactosa es de 170.65 nm, es decir el tamaño de ambas muestras se encuentra en un tamaño menor de 200 nm, la ventaja de haber obtenido tamaños menores a 200 nm es poder lograr una administración controlada y específica de fármacos hacia órganos o tejidos de un difícil acceso, ya que hay compartimientos del cuerpo o algunos receptores que miden de 100 a 300 nm, por lo tanto es un tamaño idóneo para poder transportar macromoléculas como proteínas.

6.3 Microscopia electrónica de transmisión.

Las micrografías de transmisión de electrones fueron obtenidas con un microscopio marca Joel modelo JEM-1200EX en campo claro a 10 y 15 kV. En cuanto a la morfología, en general, se presentan partículas uniformes.

En las tabla 15 se observan partículas de aproximadamente 151.926 nm de la síntesis de precipitación de HAP y en la tabla 16, de aproximadamente 40.395 nm de la síntesis de sol-gel de HAP. Estos valores son el tamaño promedio de los cristales calculados con la fórmula de Scherrer y son congruentes con las micrografías de la figura 22 y de la figura 23, lo que nos indica que las partículas y los cristales son del mismo tamaño. El tamaño de la HAP por la síntesis de sol-gel favorece a la formación de los acuasomas por tener mayor área superficial.

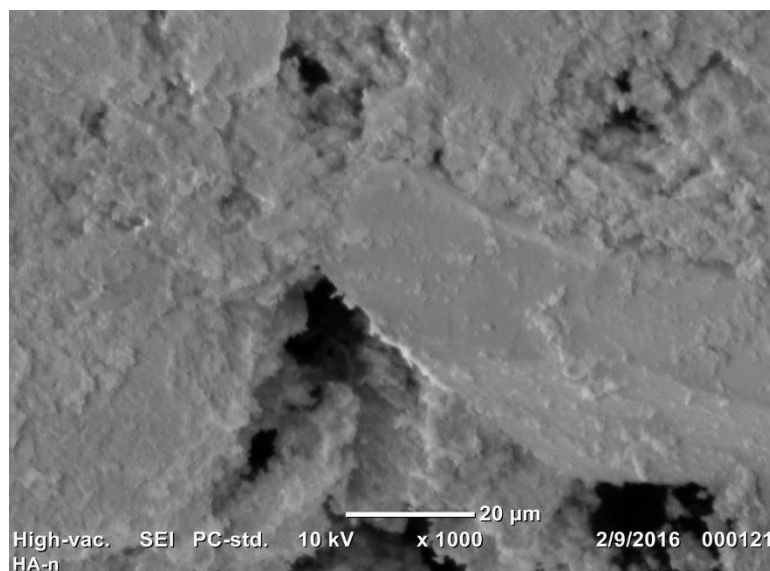


Figura 22. Microscopia de electrónica de transmisión de HAP sintetizada por el método de precipitación.

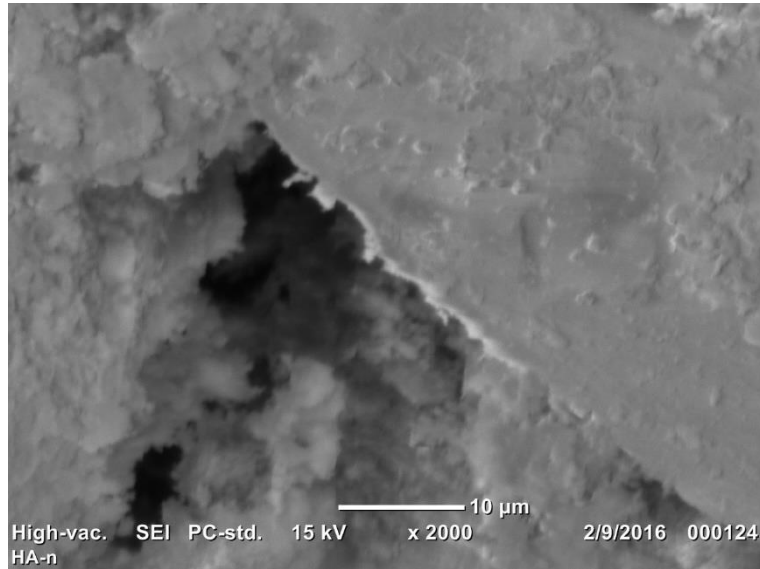


Figura 23. Microscopia de electrónica de transmisión de HAP sintetizada por el método sol-gel.

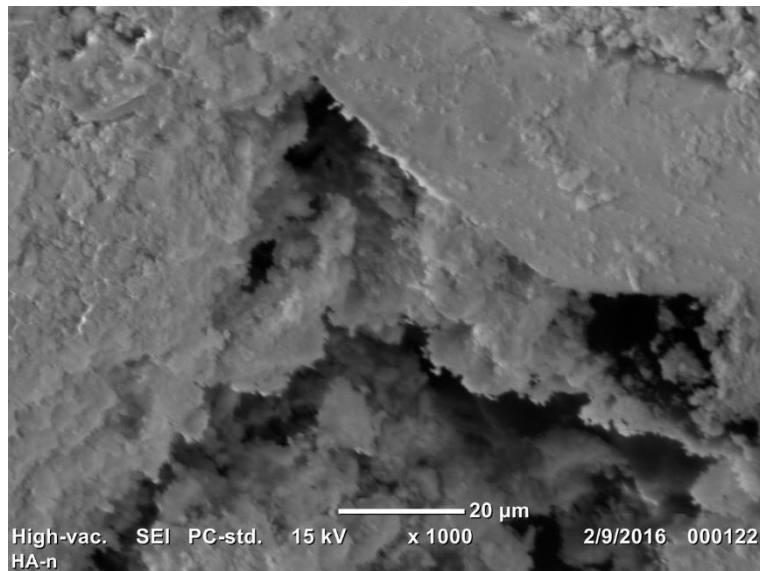


Figura 24. Microscopia de electrónica de transmisión muestra HAP con lactosa.

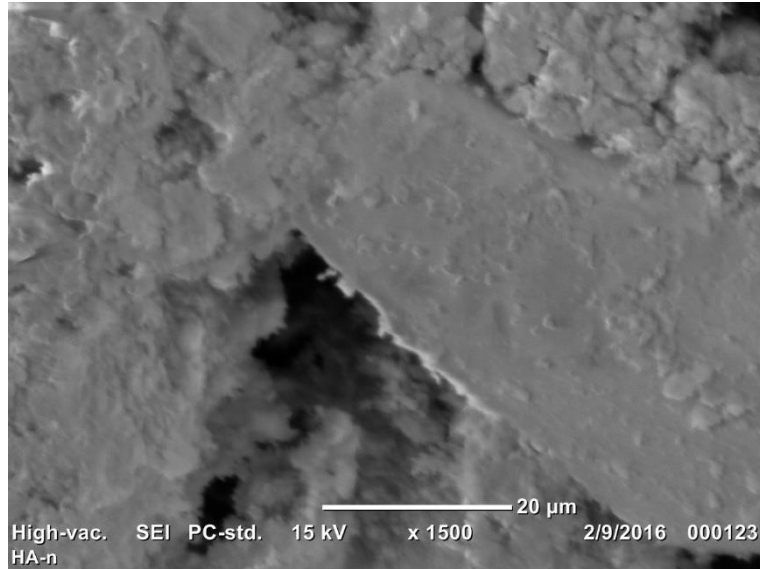


Figura 25. Microscopia de electrónica de transmisión muestra HAP con manitol.

En la tabla 17 se observan partículas de HAP recubiertas con lactosa con un tamaño aproximadamente de 170.652 nm y en la tabla 18 tenemos partículas de HAP recubiertas de manitol de aproximadamente 156.653 nm; de igual forma estos valores son el tamaño promedio de los cristales calculados con la fórmula de Scherrer y son congruentes con las micrografías de la figura 16 y de la figura 25, lo que nos indica que las partículas obtenidas de ambos recubrimientos se encuentran dentro del tamaño deseado de 200 nm, cosa que no sucede en la figura 22.

6.4 Tamaño de Partícula.

Teóricamente esperamos que al aumentar la cantidad del azúcar aumente el tamaño de partícula de los AQS correspondientes, para el caso del Manitol y la Maltosa esto no sucede, para el único caso que esto se cumple es para la Trehalosa, obteniéndose tamaños de 46.43, 570.30 y 659.90 nm respectivamente. Cabe mencionar que los tamaños de los AQS están aún de la escala nanométrica (1-1000 nm) con esto podemos comprobar que es posible diseñar NPS con tamaño en esta escala (ver tabla en el anexo).

6.5 Curva de calibración.

La curva de calibración nos ayuda a encontrar la concentración de cada muestra en determinado punto de tiempo, esta curva que se construyó es lineal debido a que tiene una R^2 de 0.9918 que lo ideal es tener una R^2 de 0.9999 teniendo una diferencia de 0.0081, con lo cual se puede aceptar el uso de esta ecuación $y=0.9694x + 0.0262$ para determinar la concentración del fármaco haciendo los cálculos matemáticos correspondientes.

6.6 Perfiles de disolución.

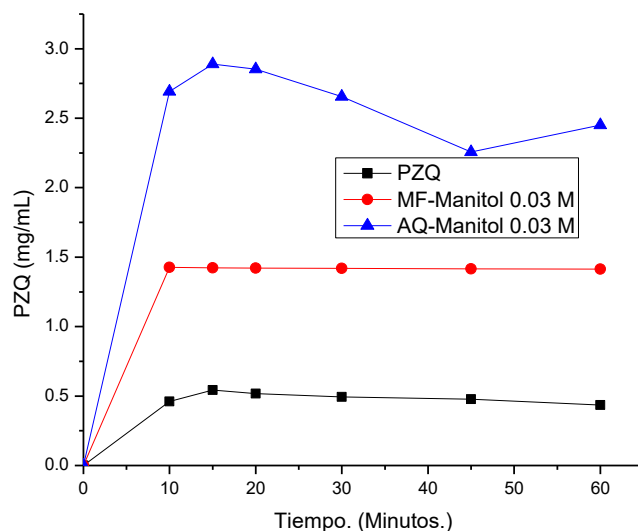


Figura 26. Perfiles de disolución del PZQ, Mezcla física de Manitol 0.03 M y Acuasomas de Manitol 0.03 M.

En la figura 26 se muestra el comportamiento que tienen el PZQ, la MF y el AQ de Manitol 0.03 M, podemos observar que la solubilidad del PZQ aumenta pero después baja a partir del minuto 15, la mezcla física aumenta la solubilidad respecto al PZQ, pero dicha solubilidad se mantiene constante a través del tiempo, para el caso del AQ la solubilidad aumenta, llegando a un máximo pero esta se va declinando y aumenta en el minuto 45.

Para los perfiles de PZQ y MF no existe la formación de AQS y esto es lógico ya que no se les dio el tratamiento correspondiente, pero la presencia del Manitol en la mezcla física funcionaría como un cosoluto que favorece la disolución y es por ello que aumenta la solubilidad del fármaco en el sistema en comparación con el de PZQ, para la formación de estos sistemas, pero tampoco para el caso de los "AQS" de manitol, a pesar de seguir la metodología para la elaboración de estos, el perfil no cuenta con el comportamiento que en teoría se espera, el cual es un perfil de liberación sostenida o prolongada, lo que quiere decir que no hubo las interacciones necesarias entre las moléculas que conforman al "AQ", para formar dicho sistema.

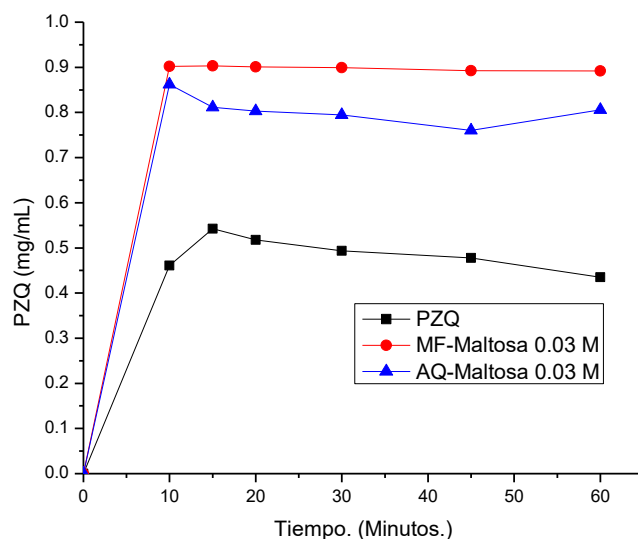


Figura 27. Perfiles de disolución del PZQ, Mezcla física de Maltosa 0.03 M y Acuasomas de Manitol 0.03 M.

En la figura 27 se muestra el comportamiento que tienen el PZQ, la MF y el AQ de Maltosa 0.03 M, podemos observar que la solubilidad del PZQ aumenta pero después baja a partir del minuto 15, la mezcla física aumenta la solubilidad respecto al PZQ y por encima del AQ, pero dicha solubilidad se mantiene constante a través del tiempo, para el caso del AQ la solubilidad aumenta respecto a la del PZQ pero por debajo de la MF, llegando a un máximo pero esta se va declinando y aumenta en el minuto 45.

Estos comportamientos son similares a los del caso anterior y se pueden explicar de la misma manera.

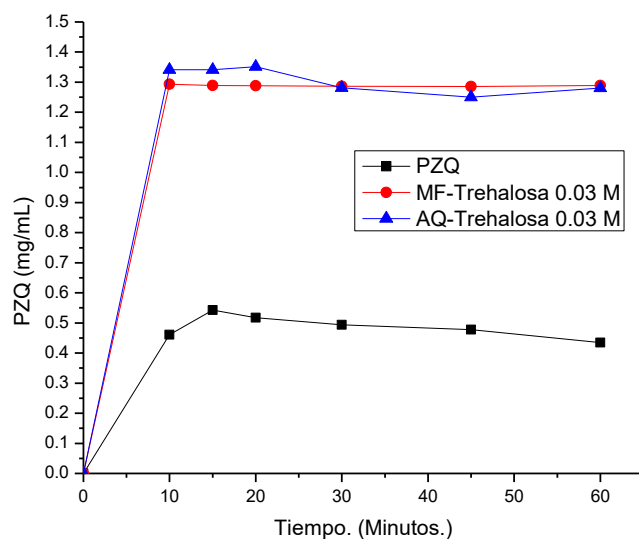


Figura 28. Perfiles de disolución del PZQ, Mezcla física de Trehalosa 0.03 M y Acuasomas de Trehalosa 0.03 M.

En la figura 28 se muestra el comportamiento que tienen el PZQ, la MF y el AQ de Trehalosa 0.03 M, podemos observar que la solubilidad del PZQ aumenta pero después baja a partir del minuto 15, la mezcla física aumenta la solubilidad respecto al PZQ, pero dicha solubilidad se mantiene constante a través del tiempo, para el caso del AQ la solubilidad aumenta, llegando a un máximo y se declina en el minuto 20.

Estos comportamientos son similares y se pueden explicar de la misma manera que los casos anteriores.

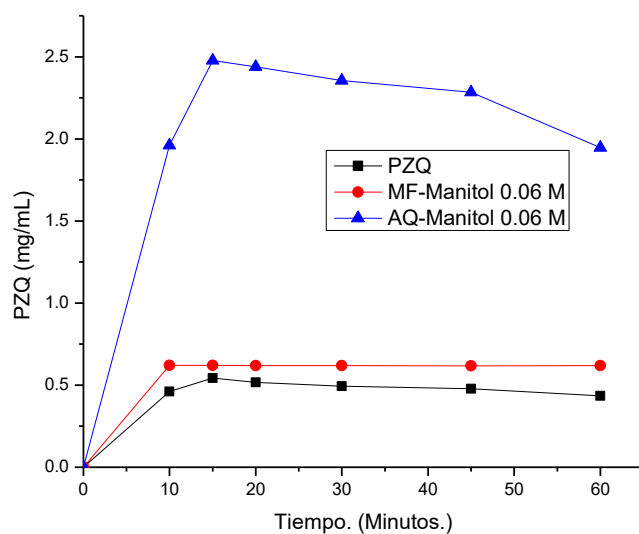


Figura 29. Perfiles de disolución del PZQ, Mezcla física de Manitol 0.06 M y Acuasomas de Manitol 0.06 M.

En la figura 29 se muestra el comportamiento que tienen el PZQ, la MF y el AQ de Manitol 0.06 M, podemos observar que la solubilidad del PZQ aumenta pero después baja a partir del minuto 15, la mezcla física aumenta la solubilidad respecto al PZQ, pero dicha solubilidad se mantiene constante a través del tiempo, para el caso del AQ la solubilidad aumenta, llegando a un máximo pero esta se va declinando.

Estos comportamientos son similares y se pueden explicar de la misma manera que los casos anteriores.

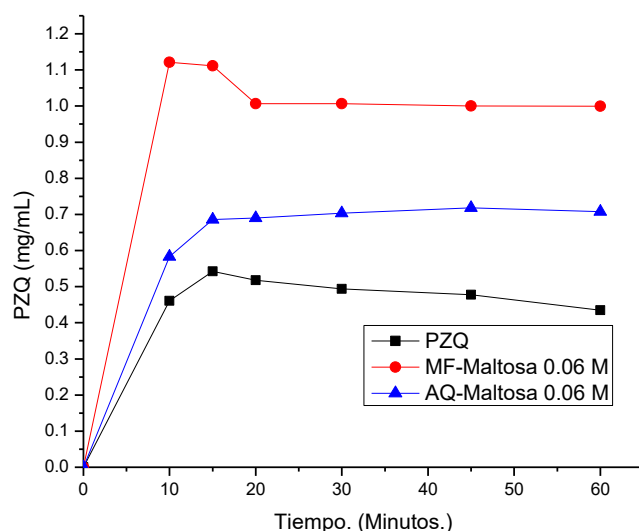


Figura 30. Perfiles de disolución del PZQ, Mezcla física de Maltosa 0.06 M y Acuasomas de Maltosa 0.06 M.

En la figura 30 se muestra el comportamiento que tienen el PZQ, la MF y el AQ de Maltosa 0.06 M, podemos observar que la solubilidad del PZQ aumenta pero después baja a partir del minuto 15, la mezcla física aumenta la solubilidad respecto al PZQ, pero dicha solubilidad baja y a partir del minuto 20 permanece constante a través del tiempo, para el caso del AQ la solubilidad aumenta ligeramente a través del tiempo, pero mostrando una liberación sostenida o prolongada.

Estos comportamientos son similares y se pueden explicar de la misma manera que los casos anteriores, pero para el caso de los “AQS” de Maltosa, podemos aseverar que hubo la formación de estos sistemas debido al comportamiento en el perfil de solubilidad que mostró, ya que para estos sistemas se espera un perfil de liberación prolongada o sostenida, aunque es ligero el cambio en la solubilidad muestra este comportamiento, lo que quiere decir que hubo las interacciones necesarias entre las moléculas que conforman al “AQ”, para formar a dicho sistema, para lo cual existe una disminución en el tamaño de partícula lo que conlleva al aumento del área superficial, que aumenta la solvatación y es así que

podemos explicar el aumento de la solubilidad, además de la formación del sistema formado.

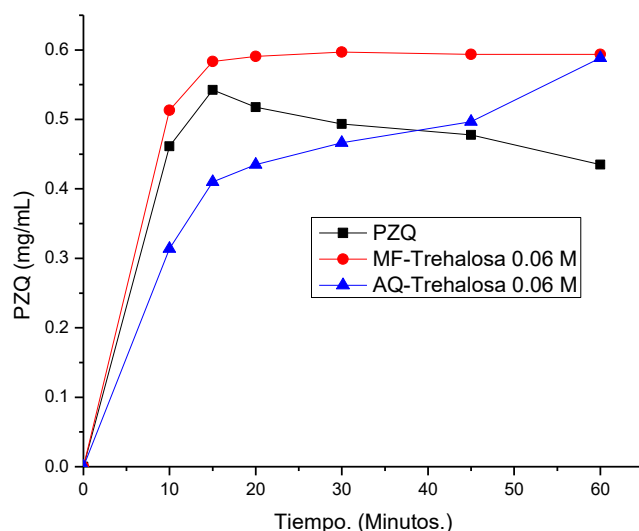


Figura 31. Perfiles de disolución del PZQ, Mezcla física de Trehalosa 0.06 M y Acuosomas de Trehalosa 0.06 M.

En la figura 31 se muestra el comportamiento que tienen el PZQ, la MF y el AQ de Trehalosa 0.06 M, podemos observar que la solubilidad del PZQ aumenta pero después baja a partir del minuto 15, la mezcla física aumenta la solubilidad respecto al PZQ, pero dicha solubilidad se mantiene constante a través del tiempo, para el caso del AQ la solubilidad aumenta, mostrando un perfil de solubilidad sostenida o prolongada, a pesar por estar por debajo de los perfiles de PZQ y de la MF, cruzando el primer perfil mencionado aproximadamente a los 37 minutos y en algún momento cruzará el segundo perfil mencionado si se continuara la medición a través del tiempo .

Estos comportamientos son similares y se pueden explicar de la misma manera que los casos anteriores, pero para el caso de los "AQS" de Trehalosa, si existe la formación de estos sistemas, ya que su perfil de solubilidad muestra un comportamiento de liberación prolongada o sostenida que es lo que se espera para este tipo de sistemas, lo que quiere decir que no hubo las interacciones necesarias entre las moléculas que conforman al "AQ", para formar a dicho

sistema, además de esto se aumentó el área de contacto o superficial que conlleva a un aumento de la solubilidad por la disminución del tamaño de partícula con lo que se favorece la solvatación.

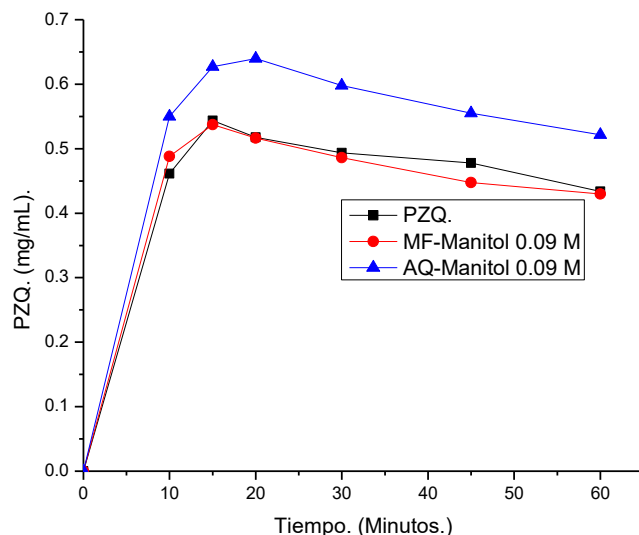


Figura 32. Perfiles de disolución del PZQ, Mezcla física de Manitol 0.09 M y Acuasomas de Manitol 0.09 M.

En la figura 32 se muestra el comportamiento que tienen el PZQ, la MF y el AQ de Manitol 0.09 M, podemos observar que la solubilidad del PZQ aumenta pero después baja a partir del minuto 15, la mezcla física tiene la solubilidad similar respecto al PZQ, los perfiles son muy parecidos y podemos afirmar que debido a que son casi idénticos no se formó el sistema ni el Manitol actúa como un cosoluto con lo cual no se favoreció la solubilidad del principio activo, para el caso del AQ la solubilidad aumenta, llegando a un máximo pero esta se va declinando a través del tiempo.

Estos comportamientos son similares y se pueden explicar de la misma manera que los casos anteriores donde se muestra un comportamiento similar a estos.

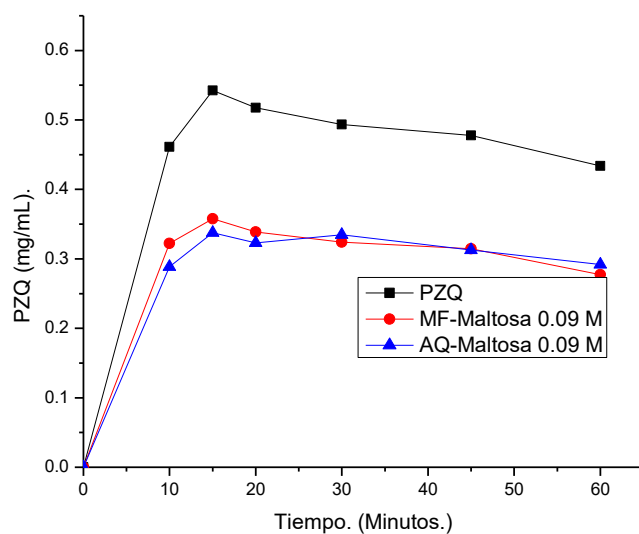


Figura 33. Perfiles de disolución del PZQ, Mezcla física de Maltosa 0.09 M y Acuasomas de Maltosa 0.09 M.

En la figura 33 se muestra el comportamiento que tienen el PZQ, la MF y el AQ de Maltosa 0.09 M, podemos observar que la solubilidad del PZQ aumenta pero después baja a partir del minuto 15, la mezcla física y el AQ tiene un comportamiento similar al PZQ, pero ambos perfiles están por debajo de la solubilidad del PZQ, además que son similares entre ellos y va decreciendo dicha solubilidad a través del tiempo, podemos explicar estos comportamientos de la siguiente manera, al existir Maltosa en gran proporción esta interfiera en el proceso de solubilidad y en vez de favorecer la solubilidad del principio activo tenga un efecto contrario.

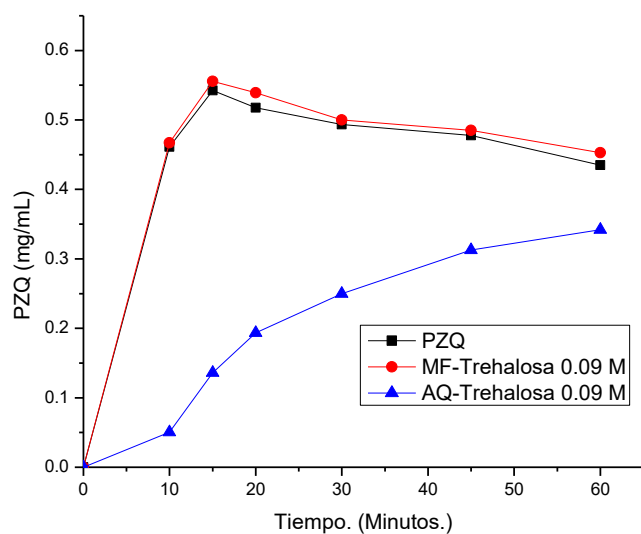


Figura 34. Perfiles de disolución del PZQ, Mezcla física de Trehalosa 0.09 M y Acuasomas de Trehalosa 0.09 M.

En la figura 34 se muestra el comportamiento que tienen el PZQ, la MF y el AQ de Trehalosa 0.09 M, podemos observar que la solubilidad del PZQ aumenta pero después baja a partir del minuto 15, la mezcla física tiene un comportamiento muy similar al del PZQ, los perfiles son muy parecidos y podemos afirmar que debido a que son casi idénticos no se formó el sistema ni la Trehalosa actúa como un cosoluto con lo cual no se favoreció la solubilidad del principio activo, para el caso del AQ la solubilidad aumenta, a pesar de estar por debajo de los perfiles de PZQ y MF, el comportamiento es una liberación sostenida y prolongada, se podría seguir este comportamiento a través del tiempo para observar que sucede, lo más probable es que en algún momento cruzará los comportamientos antes mencionados.

Los “AQS” de Trehalosa, cuenta el perfil con el comportamiento que en teoría se espera, el cual es un perfil de liberación sostenida o prolongada, lo que quiere decir que hubo las interacciones necesarias entre las moléculas que conforman al “AQ”, para formar a dicho sistema, además de que se disminuyó el tamaño de partícula, lo que conlleva a un aumento del área de contacto que además favorece la solvatación y por ende se aumenta la solubilidad.

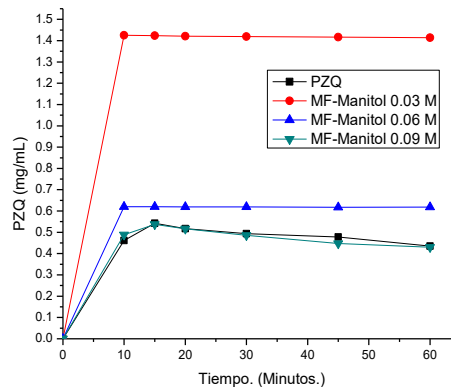
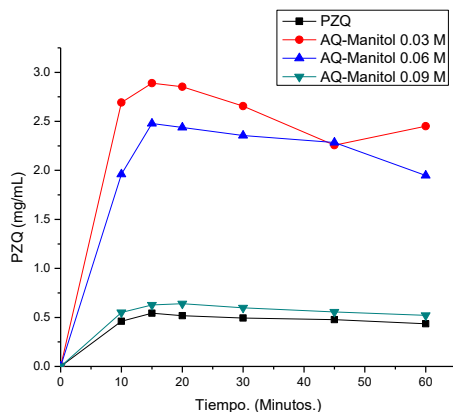


Figura 35 y Figura 36. Perfiles de disolución de PZQ, Acuasomas de Manitol y Mezclas físicas correspondientes.

En las figuras 35 y 36 se comparan los perfiles de solubilidad del PZQ, de los AQS del Manitol y sus MF'S correspondientes en sus concentraciones de 0.03 M, 0.06 M y 0.09 M, en el caso de los AQS 0.03 y 0.06 M podemos observar que la solubilidad aumenta en comparación al AQS 0.09 y del PZQ, para estos dos últimos los perfiles que son muy parecidos, podemos afirmar que debido a que son casi idénticos no se formó el sistema ni el Manitol actúa como un cosoluto con lo cual no se favoreció la solubilidad del principio activo, en cambio para los dos primeros perfiles la solubilidad aumenta respecto al perfil del PZQ, podemos afirmar que el Manitol actúa como un cosoluto y es por ello que se aumenta la solubilidad del principio activo debido a los comportamientos mostrados, y con lo cual aseveramos que no existe la formación del sistema.

Podemos confirmar con los perfiles de solubilidad de las mezclas físicas la teoría anterior pues tienen una solubilidad menor a los dos primeros perfiles, además de corroborar que al variar la cantidad de Manitol se afecta al proceso de solubilidad, al aumentar la proporción de Manitol se disminuye la solubilidad, la liofilización ayuda al aumento de la solubilidad.

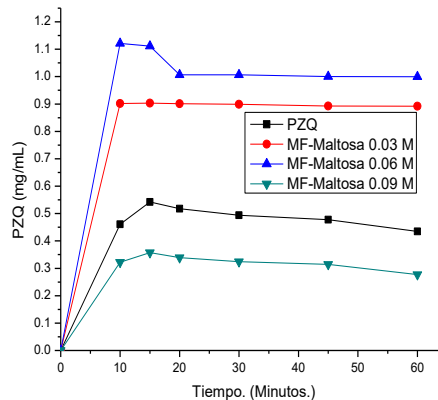
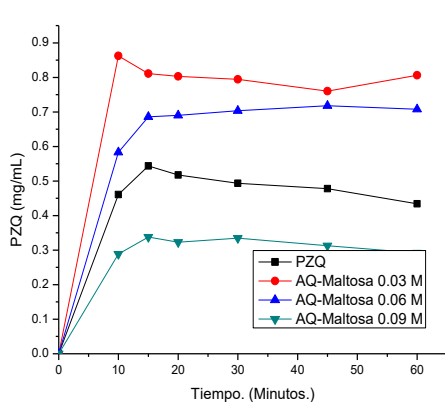


Figura 37 y Figura 38. Perfiles de disolución de PZQ, Acuasomas de Maltosa y sus mezclas físicas correspondientes.

En las figuras 37 y 38 se comparan los perfiles de disolución de PZQ, AQS de Maltosa y sus mezclas físicas correspondientes, podemos observar que el comportamiento del PZQ, AQ Maltosa 0.09 M son similares, aunque la solubilidad del PZQ aumenta en comparación del AQS Maltosa 0.09M pero el AQS de Maltosa muestra una menor solubilidad con lo cual aseveramos que la Maltosa no actúa como un cosoluto por lo cual no favorece la solubilidad del principio activo, para los AQS de 0.06 M Y 0.03 M la solubilidad está por encima del PZQ y del AQS Maltosa 0.09 M, aunque el único que tiene una ligera liberación sostenida o prolongada es el AQS de Maltosa 0.06 M, además corroborando aun la teoría que a mayor cantidad de azúcar menor solubilidad, para el AQS de Maltosa 0.06 M podemos afirmar que es el único sistema en el cual existieron las interacciones moleculares necesarias para la formación de dichos sistemas, además del aumento del área de contacto debido a la disminución de la partícula y es por ello que aumenta la solubilidad mientras que para los otros no existieron con lo cual no hay formación de AQS.

Las mezclas físicas de Maltosa 0.03 y 0.09 M tienen una solubilidad mayor que los AQS correspondientes, mientras que para el PZQ y la mezcla física de Maltosa 0.09 M tienen la misma solubilidad que los AQS respectivos, una vez más corroborando que a mayor cantidad de Maltosa menor solubilidad esto solo aplica para la mezcla física 0.06 y 0.09 M de Manitol, para la mezcla física de Maltosa

0.06 M no cumple, pero el AQS de dicha concentración fue el único que mostró un perfil de liberación sostenida o controlada. Cabe mencionar que en el proceso de liofilización se tuvieron problemas al utilizar Maltosa, pues se formó un “chicle”, lo cual podemos interpretar como un mal proceso de secado al vacío.

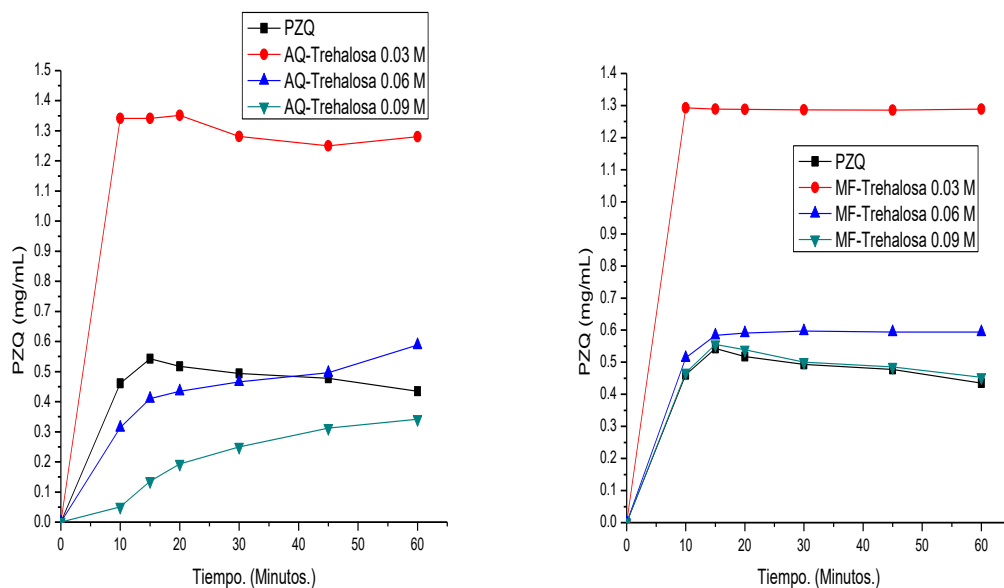


Figura 39 y Figura 40. Perfiles de disolución de PZQ, Acuasomas de Trehalosa y sus mezclas físicas respectivas.

En la figura 39 y 40 se muestran los perfiles de disolución correspondientes a los AQS de Trehalosa en sus respectivas concentración de azúcar, el comportamiento de PZQ y el AQ Trehalosa 0.03 M tienen un comportamiento similar, aunque para este último la solubilidad es mayor, afirmando que la Trehalosa actúa como un cosoluto que favorece el proceso de solubilidad a pesar de esto no se formó el sistema deseado por el perfil mostrado, para los AQS Trehalosa 0.06 M y 0.09 M estos sistemas tienen una liberación sostenida o prolongada, que para el caso del AQS Trehalosa 0.06 M cruza al perfil del PZQ cerca del minuto 35 y que para el AQS Trehalosa 0.09 M en algún momento cruzará, debido a los comportamientos de los sistemas podemos aseverar que para los AQS de Trehalosa 0.06 y 0.09 M existieron las interacciones moleculares necesarias para formar el sistema deseado mientras que para el otro sistema de Trehalosa 0.03 M no existieron

tales, aunque si se mejoró su solubilidad del PZQ, una vez más se corrobora que a mayor cantidad de azúcar menor solubilidad del principio activo.

Las mezclas físicas de Trehalosa una vez más corroboran que a mayor cantidad de Trehalosa menor solubilidad, aunque para el AQS Trehalosa 0.09 M es casi idéntico al perfil del PZQ, con esto podemos concretar que el azúcar no tiene un efecto de cosoluto el cual favorece la solubilidad que en los casos de las mezclas físicas de 0.03 y 0.06 M si tiene un efecto de cosoluto, el proceso de liofilización favoreció la formación de AQS de Trehalosa, excepto para el sistema donde se utiliza un concentración de 0.03 M de Trehalosa, pues su solubilidad en primera instancia es similar y tiene un comportamiento no tan diferente en el sistema liofilizado y en la mezcla física.

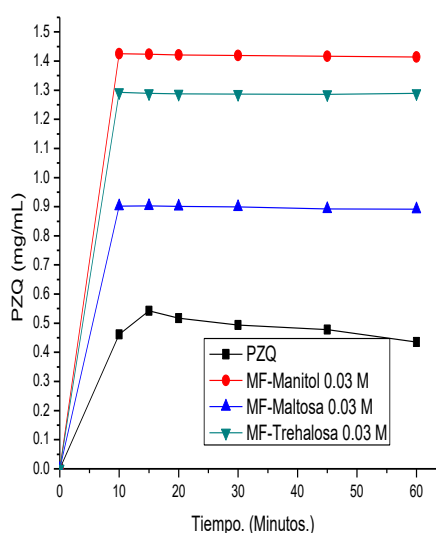
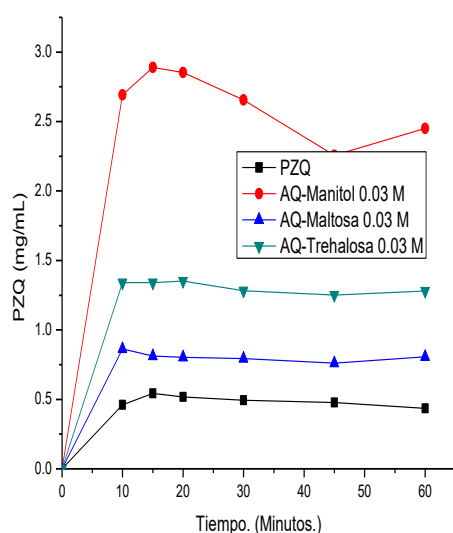


Figura 41 y Figura 42. Perfiles de disolución de PZQ, Acuasomas y Mezclas Físicas de Manitol, Maltosa y Trehalosa 0.03 M respectivamente.

En la figuras 41 y 52 se comparan los perfiles de disolución de PZQ, AQS y mezclas físicas de Manitol, Maltosa y Trehalosa 0.03 M, los sistemas liofilizados no tienen una liberación sostenida o prolongada pero si un aumento de solubilidad respecto a las mezclas físicas, corroborando que proceso de liofilización ayuda en el aumento de solubilidad y que los azúcares se comportan como cosolutos

aumentando la solubilidad del PZQ, el manitol tiene un mejor desempeño como cosoluto y el peor como cosoluto es la Trehalosa.

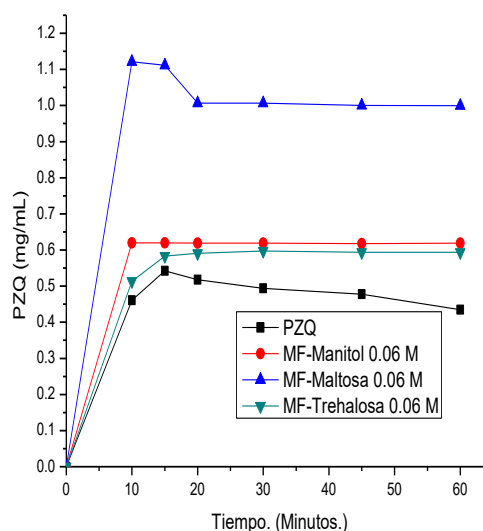
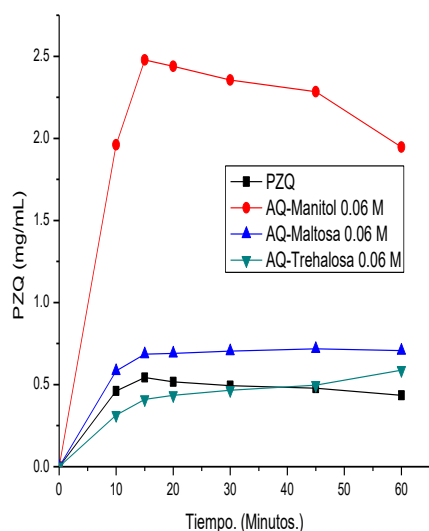


Figura 43 y Figura 44. Perfiles de disolución de PZQ, Acuasomas y Mezclas Físicas de Manitol, Maltosa y Trehalosa 0.06 M respectivamente.

En las figuras 43 y 44 se comparan los perfiles de disolución de PZQ, AQS de Manitol, Maltosa y Trehalosa 0.06 M, el PZQ presenta un declive a través del tiempo, algo similar sucede con el AQS de Manitol 0.06 M pero que aumenta su solubilidad del principio activo en comparación al PZQ, mientras que para los AQS de Maltosa y Trehalosa aumenta la solubilidad pero dicha solubilidad está por debajo del sistema de Manitol pero teniendo un comportamiento de liberación sostenida o prolongada, que en el caso de los AQS de Trehalosa esta liberación es más notoria, aseverando que debido al comportamiento del perfil del sistema Manitol 0.06 M no hubo formación de AQS pero el Manitol actúa como un cosoluto, mientras que para los sistemas de Maltosa y Trehalosa, si lo hubo, y dadas las circunstancias la formación está en mayor proporción por el sistema formado por Trehalosa debido al comportamiento mostrado, que en algún punto cruzará el perfil del sistema formado por Maltosa.

Para los perfiles de las mezclas físicas, el sistema formado por la Maltosa fue el que tiene mayor solubilidad del principio activo seguido del Manitol y de la

Trehalosa, los tres sistemas están por encima del perfil del PZQ, corroborando que los azúcares actúan como cosolutos, aunque para el sistema liofilizado de Manitol es el que posee una mayor solubilidad del principio activo comparado con las mezclas físicas, confirmando que el proceso de liofilizado ayuda en la solubilidad del PZQ.

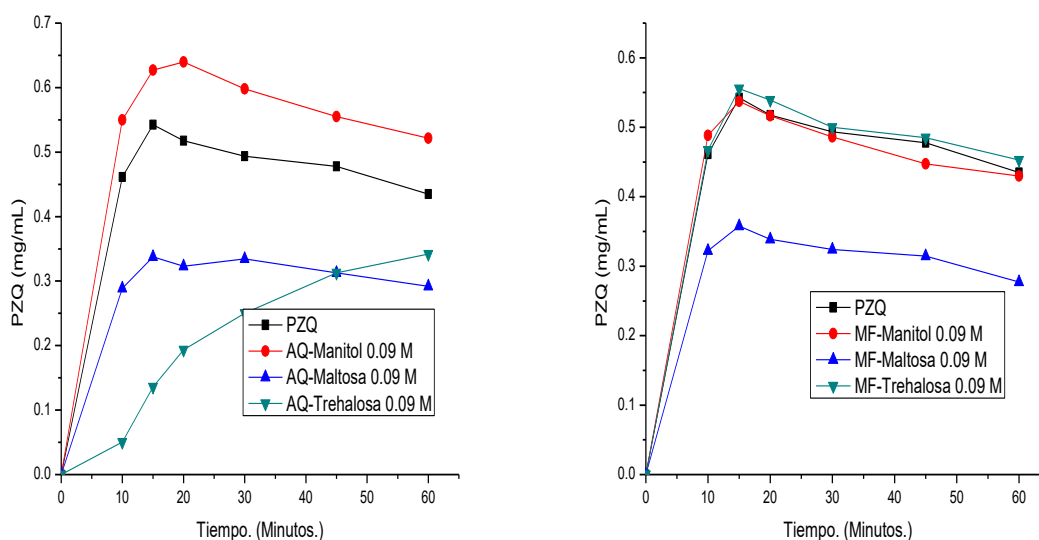


Figura 45 y Figura 46. Perfiles de disolución de PZQ, Acuasomas y Mezclas Físicas de Manitol, Maltosa y Trehalosa 0.09 M respectivamente.

En las figuras 45 y 46 se comparan los perfiles de disolución de PZQ y los AQS de Manitol, Maltosa y Trehalosa 0.09 M, la solubilidad declina en el siguiente orden, AQ Manitol 0.09 M, PZQ y Maltosa 0.09 M respectivamente, debido a dicho comportamiento podemos afirmar que no existió la formación de AQS en los sistemas formados por los azúcares pero que para el sistema formado para el Manitol, este actúa como cosoluto debido a que aumenta la solubilidad del principio activo, para el sistema formado por la Maltosa esta solubilidad disminuye, corroborando que la cantidad del azúcar influye en la solubilidad del principio activo aunque se haya liofilizado el sistema, caso contrario que sucede con los AQS de Trehalosa 0.09 M, donde por su comportamiento el cuál es de liberación prolongada o sostenida, afirmamos que existe la formación de AQS por mostrar dicho comportamiento, que podemos justificarlo por la disminución del tamaño de

partícula, aumentando el área de contacto, el proceso de secado al vacío y la solvatación que conlleva a un aumento de la solubilidad del principio activo.

Para los perfiles de las mezclas físicas, los sistemas formados por la Trehalosa y el Manitol tienen un comportamiento similar al perfil del PZQ, afirmando que en estos casos no actúan como cosolutos debido a que no favorecen el proceso de solubilidad, en cambio para el sistema formado por la Maltosa el perfil está por debajo de los sistemas antes ya mencionados disminuyendo la solubilidad y de igual manera no actúa como cosoluto, además por la cantidad de azúcar presente.

7. Conclusiones.

Se pudo obtener el núcleo inorgánico de los acuasomas a partir de un método de precipitación y sol-gel, en los que se obtienen cristales de fosfato de calcio e HAP.

El pH de la mezcla es uno de los factores a tomar en la cristalización de la HAP.

Los pH básicos favorecen la formación de HAP debido a que hay un aumento en la concentración de los iones de fósforo.

Se observó que el tamaño de los cristales calculado mediante la ecuación de Scherrer y el tamaño de partícula observado mediante la microscopia electrónica de transmisión son congruentes y al obtener tamaños de cristales más pequeños en la síntesis de sol-gel.

Con la síntesis de sol-gel se obtuvo un núcleo inorgánico, la cual fue elegida para obtener núcleos con un tamaño menor a 200 nm lo cual se confirmó en las micrografías electrónicas.

La pureza de las muestras de ambas síntesis en los difractogramas de rayos X es completa, descartando la presencia de algún otro elemento, teniendo como único material a la HAP.

Se lograron recubrir los núcleos inorgánicos de HAP con los azúcares.

Solo para los AQS de Maltosa 0.06 M y Trehalosa 0.06 M y 0.09 M se logró adsorber el PZQ.

Con lo cual se pudieron obtener AQS cargados de PZQ en un intervalo menor a 1 micra (1-1000 nm).

Solo para el caso de la Trehalosa se cumple que a mayor cantidad de azúcar, mayor tamaño de partícula de los AQS.

Para las MFS no existió la formación de AQS pero si modifican la solubilidad del PZQ.

Para los "AQS de Manitol, Maltosa 0.03 y 0.09 M y Trehalosa 0.03 M, no existió la formación de estos sistemas de acuerdo al perfil y su comportamiento mostrado.

La formación de los AQS de PZQ en presencia de los azúcares Maltosa 0.06 M y Trehalosa 0.06 y 0.09 M se corrobora debido al perfil y comportamiento mostrado, concluyendo que existieron las interacciones intermoleculares para la formación de estos sistemas.

Para el AQS de Trehalosa 0.06 M se presenta la mejor liberación de PZQ hablando en cuestión de solubilidad pero en el AQS de Trehalosa 0.09 M se tiene el mejor comportamiento de liberación sostenida o prolongada.

La liofilización ayuda al aumento de la solubilidad del PZQ.

Al aumentar la cantidad de azúcar generalmente disminuye la solubilidad del PZQ en los sistemas.

Para los sistemas de 0.03 M del azúcar, el mejor cosoluto es el sistema liofilizado con Manitol y la mezcla física de Manitol, siendo el peor caso la Trehalosa de la mezcla física como soluto.

Para los sistemas de 0.06 M del azúcar, el mejor cosoluto es el sistema liofilizado de Manitol y la mezcla física de la Maltosa, siendo el peor cosoluto la mezcla física de la Trehalosa.

Para los sistemas 0.09 M del azúcar, el mejor cosoluto fue el sistema liofilizado de Manitol, siendo el peor cosoluto la mezcla física de la Maltosa.

8. Perspectivas.

Existe la evidencia de que hubo la formación de AQS, se puede probar con algunos otros azúcares la formación de AQS para poder optimizar el proceso.

La carga del fármaco es de suma importancia, se tiene que establecer estrategias para la correcta carga de fármacos y/o principios activos.

Se puede realizar una optimización del proceso de formación de AQS cargados con el fármaco.

La formulación con otros principios activos queda sujeta a experimentar.

Se pueden probar los sistemas formados en modelos animales y determinar si el desempeño de los sistemas es eficiente.

El uso de agentes biológicos como principios activos se puede realizar para la preservación de estos y someterlos a evaluaciones para comprobar si se pueden preservar o proteger contra condiciones desfavorables de dichos agentes.

9. Referencias bibliográficas.

1. Comité Científico de la Red NanoSpain, 2003. Informe sobre la situación de la Nanociencia y de la Nanotecnología en España y propuesta de acción estratégica dentro del Plan Nacional de I+D+I (2004 – 2007). NanoSpain. pp. 1-39.
2. <http://www.nanoproducts.com> consultada el 17/09/ 2016.
3. Whitesides, G. M. (2003). "The 'right' size in nanobiotechnology." *Nat Biotech* 21 (10) 1133-1136
4. Mazzola, L. (2003). "Commercializing nanotechnology." *Nat Biotech* 21(10):1137-1143.
5. Paull, R., et al. (2003). "Investing in nanotechnology." *Nat Biotech* 21(10): 1144-1147.
6. Diagnóstico de cáncer en etapas tempranas a través de examen de sangre utilizandonanopartículas de oro.
<http://armandocayula.blogspot.mx/2015/07/diagnostico-de-cancer-en-etapas.html>
consultada 28/Noviembre/2017.
7. Salata, O. (2004). "Applications of nanoparticles in biology and medicine." *Journal of Nanobiotechnology* 2(1): 1-6.
8. Donaldson, K., et al. (2002). "The pulmonary toxicology of ultrafine particles." *J Aerosol Med* 15.
9. Uchino, T., Tokunaga, H., Ando, M. & Utsumi, H. 2002. "Quantitative determination of OH radical generation and its cytotoxicity induced by TiO₂-UVA treatment. *Toxicology in vitro.* 16:629 – 635.
10. Rahman, Q., Lohani, M., Dopp, E., Pemsel, H., Jonas, L., Weiss, D.G. & Schiffmann, D. 2002. "Evidence that ultrafine Titanium Dioxide induces micronucleic and apoptosis in Syrian Hamster embryo fibroblasts. *Environ. Health Perspect.* 110(8): 797-800.
11. Yokoyama, M., Okano, T., Sakurai, Y., Ekimoto, H., Shibazaki, C., Kataoka, K., 1991. "Toxicity and antitumor activity against solid tumors of micelle-forming polymeric anticancer drug and its extremely long circulation in blood". *Cancer Res.* 51, 3229-3226.

12. Quintanar-Guerrero, D., Alléman, E., Fessi, H. & Doelker, E. 1998. "Preparation techniques and mechanism of formation of biodegradable nanoparticles from preformed polymers. *Drug Dev, Ind. Pharm.* 24(12). 113-128.
13. Rezende, S. Shceila e Staniscuaski, G, S. 2003. "Caractericáo e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administracáo de fármacos". *Quím, Nova.* 26(5). 726-737.
14. Ramos-Picos D, Gómez-Carril M. y Fernández-Mena D. 2001. "Métodos de obtención de microesferas biodegradables". *Rev Cubana Farm.* 35(2):126-135.
15. Grupo ETC. 2003. No es poca cosa II: El caso de una moratoria global. ¡El tamaño sí importa! Occasional Paper Series Vol. 7.
16. Tinkle, S.S., Antonini, JM., Rich, B.A., Roberts. J.R., Salmon, R., DePree, K., Adkins, E.J. 2003. "Skin as a route of exposure and sensitization in chronic Beryllium disease". *Environ. Health Perspect.* (disponible en <http://dx.doi.org/>).
17. Kim, I.S., Kim, S.H., 2002. "Development of a polymeric nanoparticulate drug delivery system. In vitro characterization of nanopasticles based on sugar-containing. *Int. J. Pharm.* 245, 67-73.
18. Illum, L., Wright, J., Davis, S.S., 1989. "Targeting of microspheres to sites of inflammation. *Int. J. Pharm.* 52, 221-224.
19. Alleman, E., Gurny, R., Doelker, E., 1993. "Drug-loaded nanoparticles preparation method and drug targeting tissues". *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 39, 173-191.
20. <http://www.biotechnologica.com/articulos6.htm>. 2004. Consultada el 10/11/2016
21. Chow, G-M., Gonsalves, K.E. 1996. "Nanotechnology. Molecularly designed materials". *J. Ame. Che. Soc.* 622:335-348.
22. Khopade A.J., Khopade, S., Jain, N.K. 2002. "Development of haemoglobin aquasomes form spherical hydroxyapatite cores precipitated in the presence of half-generation poly(amidoamine) dendrimer. *Int. J. Pharm.* 241: 145-154.
23. Martínez, A., (2011). Servicios Centrales de Apoyo a la Investigación. Málaga, España.: Unidad de Microscopía Electrónica de Transmisión. Recuperado de: http://www.scai.uma.es/servicios/area_microscopia/tem/tem.html consultado el 01/20/17.
24. Ratner, D., Buddy & Hoffman, J.A. "An introduction to materials in medicine" (Academic Press, USA, 1966).

25. Landis, W.J., et al. "Mineralization of collagen may occur on fibril surfaces evidence for conventional and high voltage Electron Microscopy and three dimensional imaging" *J. Structural Biology* 117, 24-35 (1996).
26. R. Oviedo, A. R. S. Lopez, J. R. Gasga, and C. T. Q. Barreda, Elaboration and structural analysis of aquasomes loaded indomethacin. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 32, (2007), 223.
27. S. Saraf and S. Srivastava, Aquasome: An over view, *pharmainfo.net* 6, 1 (2008).
28. Vyas SP, Khar RK., Introduction to parenteral drug delivery. In: Vyas SP, Khar RK, editors. Targeted and controlled drug delivery. New Delhi: CBS Publishers & Distributors; 2002. p.3-37.
29. Kossovsky N, Gelman A, Rajguru S, Nguyen R, Sponsler E, Hnatyszyn CK, et al. Control of molecular polymorphism by a structured carbohydrate/ceramic delivery vehicle-aquasomes. *J Control Release* 1996;39:383-8
30. Luo D, Han E, Belcheva N, Saltzman WM. A self-assembled, modular delivery system mediated by silica nanoparticles. *J Control Release* 2004;95:333-41.
31. Basavaraj K. Nanjwade, Gurudev M. Hiremath, F. V. Manvi, and Teerapon Srichana. Formulation and Evaluation of Etoposide Loaded Aquasomes. *Journal of Nanopharmaceutics and Drug Delivery* 1, 92-101, 2013.
32. Jain SS, Jagtap PS, Dand NM, Jadhav KR, Kadam VJ. Aquasomes: a novel drug carrier. *J. Appl. Pharm. Sci.* 2012; 2(1): 184-192.
33. Kossovsky N., Gelman A., Sponsler E.D., Hantyszyn A.J., Rajguru S., Torres M., Pharm M., Crowder J., Shah R. Surface modified nanocrystalline ceramic for drug delivery applications. *Biomaterials*, 1994a; 15:1201-1207.
34. Jain NK. Advances in controlled and novel drug delivery system. CBS Publishers & Distributors, New Delhi (2001) 317-328.
35. Saurabh P, Ashutosh B, Ganesh KB, Preeti K. An Overview on Aquasomes. *Int.J. Pharm. Chem.Sci.* 2013; 2(3):1282-1287.
36. Kossovsky N., Bunshah R.F., Gelman A., Sponsler E.D., Umarjee D.M. A non-denaturing solid phase pharmaceutical carrier comprised of surface modified nanocrystalline materials. *J. Appl.Biomater.*, 1990; 1:289-294.
37. Kossovsky N. and Millett D. Materials biotechnology and blood substitutes. *Matr. Res. Soc. Bull.* 1991; Sept.:78-81.

38. Jain NK, Umamaheshwari RB. Control and novel drug delivery systems. In: Jain NK, editor. Pharmaceutical product development. CBS Publishers & Distributors, New Delhi (2006) 419-455.
39. Dunitz J.D. The entropic cost of bound water in crystals and biomolecules. *Sciences*. 1994; 264, 670.
40. Vays SP, Khar RK. Targeted & controlled Drug Delivery. CBC Publisher & distributors, New Delhi (2004) 28-30.
41. Rahaman MN, Yao A, Bal BS, Garino JP, Ries MD. Ceramics for prosthetic hip and knee joint replacement. *J Am Ceram Soc* 2007;90:1965–88.
42. Sergey V. Dorozhkin. Bioceramics of calcium orthophosphates. *Biomaterials* 31 (2010) 1465–1485
43. McQuire R G, Green D, Walsh D, Hall S, Chane-Ching J Y, Oreffo R O C and Mann S, Fabrication of hydroxyapatite sponges by dextran sulphate/amino acid templating, *Biomaterials*, 26, 6652–6656, 2005.
44. Rusu V M, Ng C H, Wilke M, Tiersch B, Fratzl P and Peter M G, Size-controlled hydroxyapatite nanoparticles as self-organized organic-inorganic composite materials, *Biomaterials*, 26, 5414–5426, 2005.
45. García-Garduño MV, Reyes-Gasga J, La hidroxiapatita su importancia en los tejidos mineralizados y su aplicación biomédica, *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 9(2):90-95, 2006.
46. Chang, R., (2010), *Química*, México D.F, México: Mc Graw Hill.
47. Sequeda, L., Milciades, J., Gutiérrez, S., Perdomo, S., y Gómez, O., (2012). Obtención de hidroxiapatita sintética por tres métodos diferentes y su caracterización para ser utilizada como sustituto óseo. *Rev. Colomb. Cienc. Quim. Farm*, 41(1), 50-52.
48. Koutsopoulos, S., (2002). Synthesis and characterization of hydroxyapatite crystals: A review study on the analytical methods. *Journal of Biomedical Materials Research*: 62: 600-602.
49. Tadic, D., Peters, F., Epple M., (2002). Continuous synthesis of amorphous carbonated apatites. *Biomaterials* 23, 2553- 2554.
50. Feng, W., Mu, S., Yu, Pen. (2005). A simple sol-gel technique for preparing hydroxyapatite nanopowders. *Material Letters.*, 59, 916-918.

51. Rajabi, Z., Behnamghader, A., Kazemzadeh, A., (2008). Synthesis of nanocrystalline carbonated hydroxyapatite powder via nonalkoxide sol-gel method. *Materials Science and Engineering*. 28(8). 1326-1329.
52. González, R., Síntesis y Caracterización de Nanocristales de Hidroxiapatita obtenidos por el Método de Sol-Gel. Tesis de maestría. Instituto de Investigaciones en Materiales. Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F 2012.
53. Zapanta Legeros, R. "Biological and synthetic apatites. In *Hydroxyapatite and related materials* (eds. Broens, P.W. & Constantz B., 1995) 3-28 (CRC Oress, London, 2000).
54. Naray-Szabo, S. "The structure of apatite (CaF)Ca₄(PO₄)₃". *Z. Crist.* 75, 387-398 (1992).
55. De Jong, W.F. "La substance minerale dans le os". *Rev. Tam. Chim.* 4, (45), 448 (1926).
56. Tresguerras, J.A.F. "Fisiologia humana" (Mc Graw Hill Interamericana, 2003) 2a ed. Págs. 983-1020.
57. Takeshita, N., et al. "Osteoclastic features of multinucleate giant cells responding to synthetic hydroxyapatite implanted in rat jaw bone". *J. Electron Microscopy* 41, 141-146 (1992).
58. Masatosh, I., Yongning, Z., 1998. "Influence of saccharides on the stabilization of frozen heme protein". *Chem. Abs.* 45, 539-544.
59. Levine, H., Slade, L. 1992. "Another view of trehalose for drying and stabilizing biological materials. *BioPharm.* May 36-40.
60. Kossovsky, N., Gelman, A., Rajguru, S., Nguyen, R., Sponler, E., Hnatyszyn, H.J., Chow, K., Cuhng, A., Torres, M., Zemanovich, J., Crowder, J., Barnajian, P., Ly, K., Philipose, J., Ammons, D., Anderson, S., Goodwin, C., Soliemanzadeh, P., Yao, G., Wie, K., 1996. "Control of molecular polymorphism by a structured carbohydrate/ceramic delivery vehicle-aquasome". *J. Control. Release.* 39, 383-388.
61. Cherian A.K., Rana A.C., Jain S.K. Self-assembled carbohydrate-stabilized ceramic nanoparticles for the parenteral delivery of insulin. *Drug Dev Ind Pharm.* 2000; 26:459-63.

62. Crowe J.H., Crowe L.M. and Jackson S.A. Preservation of Structural and functional activity in lyophilized sarcoplasmic reticulum. 1983; 220 (2):477-484.
63. Crowe J. H., Crowe L.M., Carpenter J.F., Rudolph A.S., Wistrom C.A., Spargo B.J. Interaction of sugars with membrane. *Biochim.Biophys. Acta*, 1988; 947:367-384.
64. Crowe J. H., Crowe L.M. and Chapman D. Infrared spectroscopic studies on interactions of water and carbohydrate with a biological membrane. *Arch. Biochem.Biophys.* 1984; 232:400.
65. Dunitz J.D. The entropic cost of bound water in crystals and biomolecules. *Sciences*. 1994; 264, 670.
66. Frankel D.A., Lamparski H. Liman U, O' Brien d.f. Photoinduced destabilization of bilayered vesicles. *J Am. Chem. Soc.*1989; 111:9262.
67. Franks F. Long term stabilization of biological. *Bio/Technology*, 1994; 12:253.
68. P.R. Vade-mécum Brasil. 2004/2005
69. Coles, G.C. (1979) "The effect of Praziquantel on *Schistosoma mansoni*"; *Journal of Helminthology* 53:31-33. Cambridge University Press.
70. Angelucci, F.; A. Basso; A. Bellelli; M. Brunori; L. Pica Mattoccia and C. Valle (2007) "The anti-schistosomal drug praziquantel is an adenosine antagonist" *Parasitology* 134(9): 1215-21.
71. Medline plus Praziquantel. Biblioteca nacional de Medicina de los Estados Unidos. Consultada 02/Febrero/2017.
72. <https://www.drugbank.ca/drugs/DB01058n> consultada: 25/Septiembre/2017.
73. <http://www.nature.com/nmat/journal/vaop/ncurrent/full/nmat4422.html> consultada: 28/Noviembre/2017.
74. <http://news.yale.edu/2015/09/28/yale-new-sunblock-doesn-t-penetrate-skin> consultada: 28/Noviembre/2017.
75. Farmacopea De Los Estados Unidos Mexicanos (FEUM) 11ava edición.

10. Anexo.

Tabla 1. Diseño experimental del núcleo inorgánico de fosfato de calcio, por el método de precipitación con el homogeneizador dispersor ULTRATURRAX T-25.

Variables	Muestras				
	1	2	3	4	5
Sin la adición de PVA	$5 \cdot 10^3$	10^3	$15 \cdot 10^3$	$20 \cdot 10^3$	$25 \cdot 10^3$
Adición de 0.1% de PVA	$5 \cdot 10^3$	10^3	$15 \cdot 10^3$	$20 \cdot 10^3$	$25 \cdot 10^3$
Adición de 1% de PVA	$5 \cdot 10^3$	10^3	$15 \cdot 10^3$	$20 \cdot 10^3$	$25 \cdot 10^3$
Velocidad del ULTRATURRAX T-25	r.p.m.	r.p.m.	r.p.m.	r.p.m.	r.p.m.

PVA: alcohol polivinílico.

Tabla 2. Diseño experimental del núcleo inorgánico de HAP, por el método de precipitación con el sonicador HIELSCHER.

Variables	Muestras			
	1	2	3	4
Momento en el cual se realizó la sonicación	A	D	A	D
Nivel de la frecuencia de ultrasonido (UF)	30	30	90	90

A: después de la precipitación.

D: durante la precipitación.

Tabla 3. Nombre de las soluciones dependiendo de su tratamiento.

Sin PVA	0.1% PVA	1% PVA
1.-S.PVA_(5,000) rpm	1.-PVA_0.1%_(5,000) rpm	1.-PVA_1%_(5,000) rpm
2.-S.PVA_(10,000) rpm	2.-PVA_0.1%_(10,000) rpm	2.-PVA_1%_(10,000) rpm
3.-S.PVA_(15,000) rpm	3.-PVA_0.1%_(15,000) rpm	3.-PVA_1%_(15,000) rpm
4.-S.PVA_(20,000) rpm	4.-PVA_0.1%_(20,000) rpm	4.-PVA_1%_(20,000) rpm
5.-S.PVA_(25,000) rpm	5.-PVA_0.1%_(25,000) rpm	5.-PVA_1%_(25,000) rpm

Tabla 4. Preparación de las soluciones de azúcar utilizadas para recubrir los núcleos de fosfato de calcio.

Azúcar.	Volumen de Agua deionizada (mL).	g de azúcar.	Moles de azúcar	Concentración Molar.
Manitol	10	0.0546	0.0003	0.03
Manitol	10	0.1093	0.0006	0.06
Manitol	10	0.1639	0.0009	0.09
Maltosa	10	0.1026	0.0003	0.03
Maltosa	10	0.2053	0.0006	0.06
Maltosa	10	0.3080	0.0009	0.09
Trehalosa	10	0.1134	0.0003	0.03
Trehalosa	10	0.2269	0.0006	0.06
Trehalosa	10	0.3404	0.0009	0.09

Tabla 5. Componentes y (%) respectivo en el AQ de Manitol 0.03 M.

AQ 1 (Manitol 0.03 M - PZQ 0.09 M).	Cantidad (mg). Peso total: 385.7.	% en el sistema. 100%
HAP	50	12.9634
PZQ	281.1	72.8840
Manitol	54.6	14.1560

Para tener la cantidad equivalente a 30 mg de PZQ en este sistema es necesario pesar la cantidad de 41.16 mg de Polvo obtenido.

Tabla 6. Componentes y (%) respectivo en el AQ de Manitol 0.06 M.

AQ 2 (Manitol 0.06 M - PZQ 0.09 M).	Cantidad (mg). Peso total: 440.60.	% en el sistema. 100%
HAP	50	11.3481
PZQ	281.1	63.7993
Manitol	109.30	24.8070

Para tener la cantidad equivalente a 30 mg de PZQ en este sistema es necesario pesar la cantidad de 47 mg de Polvo obtenido.

Tabla 7. Componentes y (%) respectivo en el AQ de Manitol 0.09 M.

AQ 3 (Manitol 0.09 M - PZQ 0.09 M).	Cantidad (mg). Peso total: 495.0	% en el sistema. 100%
HAP	50.0	10.1010
PZQ	281.10	56.7878
Manitol	163.90	33.1111

Para tener la cantidad equivalente a 30 mg de PZQ en este sistema es necesario pesar la cantidad de 52.82 mg de Polvo obtenido.

Tabla 8. Componentes y (%) respectivo en el AQ de Maltosa 0.03 M.

AQ 4 (Maltosa 0.03 M - PZQ 0.09 M).	Cantidad (mg). Peso total: 433.70	% en el sistema. 100
HAP	50	11.5287
PZQ	281.1	64.8143
Maltosa	102.6	23.6569

Para tener la cantidad equivalente a 30 mg de PZQ en este sistema es necesario pesar la cantidad de 46.28 mg de Polvo obtenido.

Tabla 9. Componentes y (%) respectivo en el AQ de Maltosa 0.06 M.

AQ 5 (Maltosa 0.06 M - PZQ 0.09 M).	Cantidad (mg). Peso total: 536.40	% en el sistema. 100
HAP	50	9.3214
PZQ	281.1	52.4049
Maltosa	205.30	38.2736

Para tener la cantidad equivalente a 30 mg de PZQ en este sistema es necesario pesar la cantidad de 57.24 mg de Polvo obtenido.

Tabla 10. Componentes y (%) respectivo en el AQ de Maltosa 0.09 M.

AQ 6 (Maltosa 0.09 M - PZQ 0.09 M).	Cantidad (mg). Peso total: 639.10	% en el sistema. 100
HAP	50	7.8235
PZQ	281.1	43.9837
Maltosa	308.0	48.1927

Para tener la cantidad equivalente a 30 mg de PZQ en este sistema es necesario pesar la cantidad de 68.20 mg de Polvo obtenido.

Tabla 11. Componentes y (%) respectivo en el AQ de Trehalosa 0.03 M.

AQ 7 (Trehalosa 0.03 M - PZQ 0.09 M).	Cantidad (mg). Peso total: 444.5	% en el sistema. 100
HAP	50.0	11.2485
PZQ	281.1	63.2395
Trehalosa	113.40	25.5118

Para tener la cantidad equivalente a 30 mg de PZQ en este sistema es necesario pesar la cantidad de 47.43 mg de Polvo obtenido.

Tabla 12. Componentes y (%) respectivo en el AQ de Trehalosa 0.06 M.

AQ 8 (Trehalosa 0.06 M - PZQ 0.09 M).	Cantidad (mg). Peso total: 558.0	% en el sistema. 100
HAP	50.0	8.9605
PZQ	281.1	50.3763
Trehalosa	226.90	40.6630

Para tener la cantidad equivalente a 30 mg de PZQ en este sistema es necesario pesar la cantidad de 59.55 mg de Polvo obtenido.

Tabla 13. Componentes y (%) respectivo en el AQ de Trehalosa 0.09 M.

AQ 9 (Trehalosa 0.09 M - PZQ 0.09 M).	Cantidad (mg). Peso total: 671.50	% en el sistema. 100
HAP	50.0	7.4460
PZQ	281.1	41.8615
Trehalosa	340.40	50.6924

Para tener la cantidad equivalente a 30 mg de PZQ en este sistema es necesario pesar la cantidad de 71.66 mg de Polvo obtenido.

Cabe mencionar que son las mismas cantidades a pesar para los casos de las mezclas físicas (MFS), las cuales se obtuvieron al pesar las cantidades de todos los componentes para los sistemas, solo que como su nombre lo dice son mezclas físicas que no se sometieron a algún proceso más que el mezclado físico.

Tabla 14. AQS o MFS y sus respectivas equivalencias para tener 30 mg de PZQ.

AQS-MFS	Cantidad a pesar (mg) para obtener 30 mg de PZQ.
1	41.16
2	47.0
3	52.82
4	46.28
5	57.24
6	68.20
7	47.43
8	59.55
9	71.66

Tabla 15. Parámetros de red y tamaños de cristales calculados para la síntesis de precipitación con el sonicador.

No.	2 Theta Posición	Posición [Rad]	FWHM	FWHM [rad]	Tamaño de cristal [nm]
1	22.6	0.197222205	0.22	0.003839724	76.9367568
3	23.45	0.204639855	0.26	0.004537856	65.19876258
4	26.79	0.233786853	0.18	0.003141593	94.78958277
6	27.89	0.243386164	0.167	0.0029147	102.4072294
10	29.41	0.256650667	0.089	0.001553343	192.8093832
12	32.68	0.2851868	0.067	0.001169371	258.1581078
18	33.12	0.289026524	0.06	0.001047198	288.6035685
29	35.41	0.309010544	0.089	0.001553343	195.7665203
34	40.98	0.357617964	0.108	0.001884956	164.0647281
38	43.19	0.376903852	0.2648	0.004621632	67.41295956
43	45.37	0.395927941	0.109	0.001902409	165.0428024
				Tamaño Promedio [nm]	151.9264001

Tabla 16. Parámetros de red y tamaños de cristales calculados para la muestra por método sol-gel.

No.	2Theta Posición	Posición [Rad]	FWHM	FWHM [rad]	Tamaño de cristal [nm]
1	21.8	0.190240888	0.4	0.006981317	42.25729737
3	22.86	0.199491134	0.4	0.006981317	42.33451867
4	25.39	0.221569549	0.48	0.00837758	35.44561433
6	25.92	0.226194671	0.488	0.008517207	34.90127522
10	28.14	0.245567826	0.4575	0.007984881	37.40178724
12	31.86	0.27803095	0.48	0.00837758	35.96004849
18	32.21	0.281085276	0.48	0.00837758	35.99159296
29	34.14	0.297927703	0.4056	0.007079055	42.80783335
34	39.89	0.348105919	0.3483	0.006078982	50.69488427
38	42.09	0.367304541	0.3636	0.006346017	48.91143583
43	49.57	0.432579855	0.4857	0.008477064	37.64045908
				Tamaño Promedio [nm]	40.3951588

Tabla 17. Parámetros de red y tamaños de cristales calculados para la HAP con lactosa.

No.	2 Theta Posición	Posición [Rad]	FWHM	FWHM [rad]	Tamaño de cristal [nm]
1	42.3	0.369137137	0.22	0.003839724	80.89444
3	44.67	0.389819288	0.26	0.004537856	69.01608234
4	46.97	0.409890575	0.18	0.003141593	100.5391539
6	48.98	0.427431134	0.167	0.0029147	109.214681
10	59.14	0.51609386	0.089	0.001553343	214.4217204
12	62.74	0.547509786	0.067	0.001169371	290.142962
18	64.29	0.561036088	0.06	0.001047198	326.7171415
29	67.13	0.585819763	0.089	0.001553343	223.8127625
34	71.69	0.62561327	0.108	0.001884956	189.5930275
38	74.85	0.653189473	0.2648	0.004621632	78.92864995
43	76.49	0.667501172	0.109	0.001902409	193.8891932
				Tamaño Promedio [nm]	170.6518013

Tabla 18. Parámetros de red y tamaños de cristales calculados para la HAP con manitol.

No.	2Theta Posición	Posición [Rad]	FWHM	FWHM [rad]	Tamaño de cristal [nm]
1	32.4	0.282743339	0.22	0.003839724	78.56483139
3	33.84	0.295309709	0.26	0.004537856	66.72680709
4	36.18	0.315730062	0.18	0.003141593	97.00594597
6	37.77	0.329605429	0.167	0.0029147	105.0435119
10	39.14	0.341560935	0.089	0.001553343	197.9277262
12	42.36	0.369660736	0.067	0.001169371	265.6773877
18	43.23	0.377252918	0.06	0.001047198	297.556993
29	45.87	0.400291264	0.089	0.001553343	202.5023382
34	50.27	0.438688507	0.108	0.001884956	169.7595061
38	53.93	0.470628033	0.2648	0.004621632	70.3268231
43	55.53	0.484590667	0.109	0.001902409	172.0881926
				Tamaño Promedio [nm]	156.652733

Tabla 19. AQS y sus tamaños respectivos.

AQS.	Azúcar y relación M con PZQ.	Tamaño promedio (nm).
1	Manitol (0.03-0.09) PZQ	231.00
2	Manitol (0.06-0.09) PZQ	141.50
3	Manitol (0.09-0.09) PZQ	536.70
4	Maltosa (0.03-0.09) PZQ	262.20
5	Maltosa (0.06-0.09) PZQ	682.80
6	Maltosa (0.09-0.09) PZQ	379.70
7	Trehalosa (0.03-0.09) PZQ	46.430
8	Trehalosa (0.06-0.09) PZQ	570.30
9	Trehalosa (0.09-0.09) PZQ	659.90

Tabla 20. Datos de la curva de calibración, medio de HCl 0.1 N + LSS, medidos a longitud de onda de 263 nm.

(X) [mg/mL]	(Y) Abs
0	0
0.075	0.069
0.150	0.211
0.300	0.358
0.450	0.445
0.600	0.614
0.750	0.795
0.900	0.838
1.050	1.017
1.200	1.223

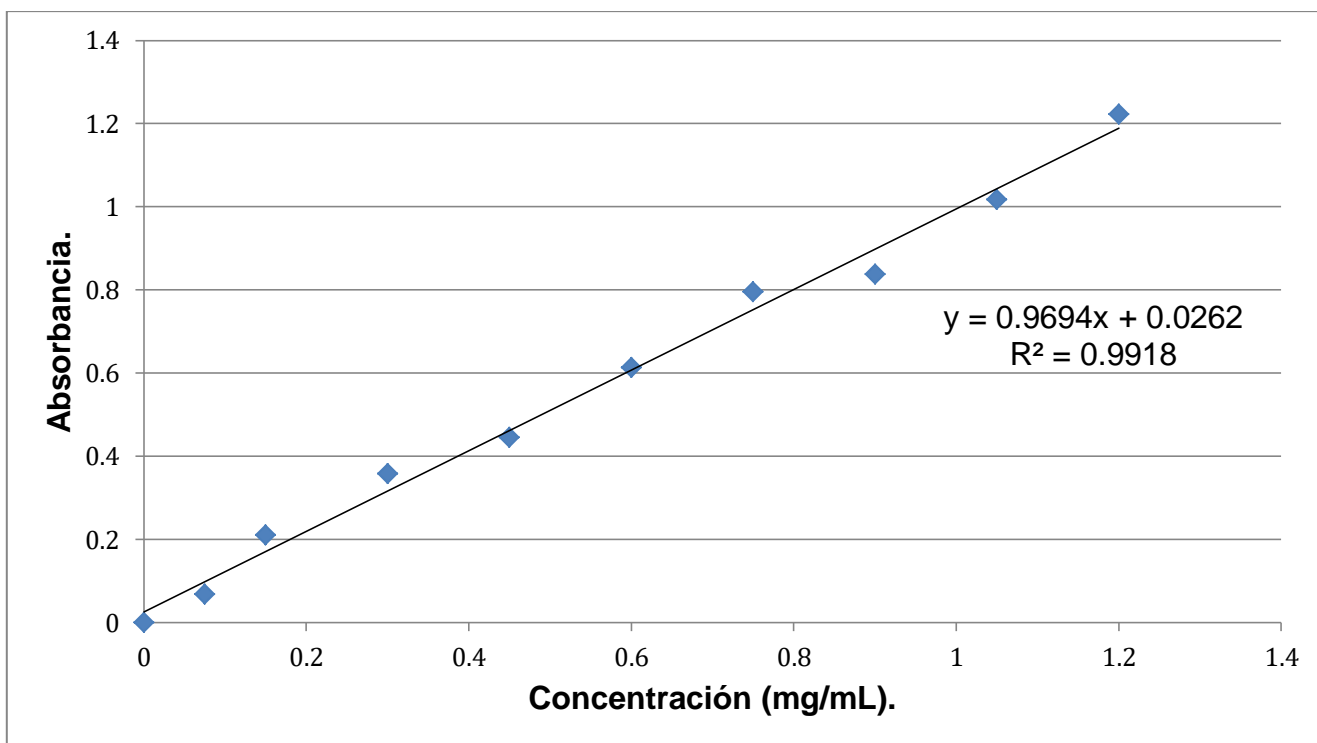


Figura 19. Curva de calibración.

Tabla 21. Absorbancias y concentraciones del PZQ, AQ Manitol 0.03 y MF Manitol 0.03 M.

Tiempo.	Abs PZQ	Abs MF	Abs AQ	Concentración PZQ [mg/mL].	Concentración MF [mg/mL]	Concentración AQ [mg/mL]
10	0.4780	1.4010	2.6130	0.4611	1.4257	2.6925
15	0.5560	1.3990	2.7990	0.5426	1.4237	2.8800
20	0.5320	1.3900	2.7670	0.5175	1.4205	2.8534
30	0.5090	1.3950	2.5780	0.4935	1.4195	2.6555
45	0.4940	1.3920	2.1970	0.4778	1.4163	2.2577
60	0.4520	1.3900	2.382	0.4339	1.4142	2.4510

Tabla 22. Absorbancias y concentraciones del PZQ, AQ Manitol 0.06 y MF Manitol 0.06

M.

Tiempo.	Abs PZQ	Abs MF	Abs AQ	Concentración PZQ [mg/mL].	Concentración MF [mg/mL]	Concentración AQ [mg/mL]
10	0.4780	0.6300	1.9130	0.4611	0.6199	1.9609
15	0.5560	0.6300	2.4080	0.5426	0.6199	2.4782
20	0.5320	0.6290	2.3700	0.5175	0.6189	2.4385
30	0.5090	0.6290	2.2900	0.4935	0.6189	2.3549
45	0.4940	0.6280	2.2230	0.4778	0.6178	2.2849
60	0.4520	0.6300	1.9000	0.4339	0.6199	1.9473

Tabla 23. Absorbancias y concentraciones del PZQ, AQ Manitol 0.09 y MF Manitol 0.09

M.

Tiempo.	Abs PZQ	Abs MF	Abs AQ	Concentración PZQ [mg/mL].	Concentración MF [mg/mL]	Concentración AQ [mg/mL]
10	0.4780	0.5040	0.5630	0.4611	0.4882	0.5499
15	0.5560	0.5510	0.6370	0.5426	0.5374	0.6272
20	0.5320	0.5310	0.6490	0.5175	0.5165	0.6398
30	0.5090	0.5020	0.6090	0.4935	0.4862	0.5980
45	0.4940	0.4650	0.5680	0.4778	0.4475	0.5551
60	0.4520	0.4480	0.5360	0.4339	0.4297	0.5217

Tabla 24. Absorbancias y concentraciones del PZQ, AQ Maltosa 0.03 y MF Maltosa 0.03

M.

Tiempo.	Abs PZQ	Abs MF	Abs AQ	Concentración PZQ [mg/mL].	Concentración MF [mg/mL]	Concentración AQ [mg/mL]
10	0.4780	0.9000	0.8620	0.4611	0.9021	0.8624
15	0.5560	0.9010	0.8130	0.5426	0.9032	0.8112
20	0.5320	0.8990	0.8050	0.5175	0.9011	0.8028
30	0.5090	0.8970	0.7970	0.4935	0.8990	0.7945
45	0.4940	0.8910	0.7640	0.4778	0.8927	0.7600
60	0.4520	0.8900	0.8080	0.4339	0.8917	0.8060

Tabla 25. Absorbancias y concentraciones del PZQ, AQ Maltosa 0.06 y MF Maltosa 0.06

M.

Tiempo.	Abs PZQ	Abs MF	Abs AQ	Concentración PZQ [mg/mL].	Concentración MF [mg/mL]	Concentración AQ [mg/mL]
10	0.4780	1.1099	0.5650	0.4611	1.1215	0.5834
15	0.5560	1.1000	0.6930	0.5426	1.1112	0.6858
20	0.5320	0.9999	0.6970	0.5175	1.0065	0.6900
30	0.5090	0.9999	0.7100	0.4935	1.0065	0.7035
45	0.4940	1.0000	0.7240	0.4778	1.0066	0.7182
60	0.4520	1.0000	0.7240	0.4339	1.0066	0.7077

Tabla 26. Absorbancias y concentraciones del PZQ, AQ Maltosa 0.09 y MF Maltosa 0.09 M.

Tiempo.	Abs PZQ	Abs MF	Abs AQ	Concentración PZQ [mg/mL].	Concentración MF [mg/mL]	Concentración AQ [mg/mL]
10	0.4780	0.3450	0.3130	0.4611	0.3221	0.2886
15	0.5560	0.3790	0.3600	0.5426	0.3576	0.3377
20	0.5320	0.3610	0.3460	0.5175	0.3388	0.3231
30	0.5090	0.3470	0.3570	0.4935	0.3242	0.3346
45	0.4940	0.3380	0.3360	0.4778	0.3147	0.3127
60	0.4520	0.3020	0.3160	0.4339	0.2771	0.2918

Tabla 27. Absorbancias y concentraciones del PZQ, AQ Trehalosa 0.03 y MF Trehalosa 0.03 M.

Tiempo.	Abs PZQ	Abs MF	Abs AQ	Concentración PZQ [mg/mL].	Concentración MF [mg/mL]	Concentración AQ [mg/mL]
10	0.4780	1.2740	1.3200	0.4611	1.2930	1.3411
15	0.5560	1.2700	1.3200	0.5426	1.2888	1.3411
20	0.5320	1.2690	1.3300	0.5175	1.2878	1.3515
30	0.5090	1.2680	1.2630	0.4935	1.2867	1.2815
45	0.4940	1.2670	1.2330	0.4778	1.2857	1.2502
60	0.4520	1.2700	1.2620	0.4339	1.2888	1.2805

Tabla 28. Absorbancias y concentraciones del PZQ, AQ Trehalosa 0.06 y MF Trehalosa 0.06 M.

Tiempo.	Abs PZQ	Abs MF	Abs AQ	Concentración PZQ [mg/mL].	Concentración MF [mg/mL]	Concentración AQ [mg/mL]
10	0.4780	0.5280	0.3370	0.4611	0.5133	0.3137
15	0.5560	0.5950	0.4290	0.5426	0.5834	0.4099
20	0.5320	0.6020	0.4520	0.5175	0.5907	0.4339
30	0.5090	0.6080	0.4830	0.4935	0.5969	0.4663
45	0.4940	0.6050	0.5120	0.4778	0.5938	0.4966
60	0.4520	0.6005	0.600	0.4339	0.5938	0.5886

Tabla 29. Absorbancias y concentraciones del PZQ, AQ Trehalosa 0.09 y MF Trehalosa 0.09 M.

Tiempo.	Abs PZQ	Abs MF	Abs AQ	Concentración PZQ [mg/mL].	Concentración MF [mg/mL]	Concentración AQ [mg/mL]
10	0.4780	0.4670	0.0850	0.4611	0.4496	0.0503
15	0.5560	0.5550	0.1670	0.5426	0.5415	0.1360
20	0.5320	0.5290	0.2220	0.5175	0.5144	0.1935
30	0.5090	0.5000	0.2760	0.4935	0.4841	0.2500
45	0.4940	0.4850	0.3360	0.4778	0.4684	0.3127
60	0.4520	0.4530	0.3640	0.4339	0.4349	0.3419