



**INSTITUTO POTOSINO DE INVESTIGACIÓN
CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA, A.C.**

POSGRADO EN NANOCIENCIAS Y MATERIALES

**“Compósito de SiO₂/Quitosano” prospecto para
uso como excipiente avanzado para la
administración de fármacos por vía oral**

Tesis que presenta
Jesús Alberto Lozano López

Para obtener el grado de
Maestro en Nanociencias y Materiales

Director de la Tesis:
Dr. Vicente Rodríguez González

San Luis Potosí, S.L.P., 17 de Noviembre de 2020



Constancia de aprobación de la tesis

La tesis “**Compósito de SiO₂/Quitano**” posible nuevo excipiente avanzado para la administración de fármacos por vía oral presentada para obtener el Grado de Maestro en Nanociencias y Materiales fue elaborada por **Jesús Alberto Lozano López** y aprobada el **día de mes de año** por los suscritos, designados por el Colegio de Profesores de la División de Materiales Avanzados del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.

Dr. Vicente Rodríguez González
Director de la tesis

Dra. Iliana Ernestina Medina Ramírez
Miembro del Comité Tutorial

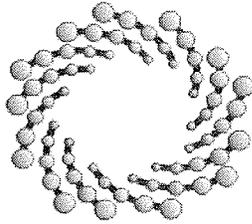
Dra. Olga Araceli Patrón Soberano
Miembro del Comité Tutorial



Créditos Institucionales

Esta tesis fue elaborada en el Laboratorio de Catálisis Heterogénea y Nuevos Materiales (LANOCAT) y Laboratorio Nacional de Investigaciones en Nanociencias y Nanotecnología (LINAN) de la División de Materiales Avanzados del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., bajo la dirección del Dr. Vicente Rodríguez González.

Durante la realización del trabajo el autor recibió una beca académica del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (No. de registro 634500) y del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A. C.



IPICYT

Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.

Acta de Examen de Grado

El Secretario Académico del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., certifica que en el Acta 066 del Libro Primero de Actas de Exámenes de Grado del Programa de Maestría en Nanociencias y Materiales está asentado lo siguiente:

En la ciudad de San Luis Potosí a los 25 días del mes de noviembre del año 2020, se reunió a las 09:30 horas en las instalaciones del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., el Jurado integrado por:

Dr. Vicente Rodríguez González
Dra. Olga Araceli Patrón Soberano

Presidente
Secretaria

IPICYT
IPICYT

a fin de efectuar el examen, que para obtener el Grado de:

MAESTRO EN NANOCIENCIAS Y MATERIALES

sustentó el C.

Jesús Alberto Lozano López

sobre la Tesis intitulada:

"Compósito de SiO₂/Quitosano" posible nuevo excipiente avanzado para la administración de fármacos por vía oral

que se desarrolló bajo la dirección de

Dr. Vicente Rodríguez González

El Jurado, después de deliberar, determinó

APROBARLO

Dándose por terminado el acto a las 11:37 horas, procediendo a la firma del Acta los integrantes del Jurado. Dando fe el Secretario Académico del Instituto.

A petición del interesado y para los fines que al mismo convengan, se extiende el presente documento en la ciudad de San Luis Potosí, S.L.P., México, a los 25 días del mes de noviembre de 2020.


Dr. Marcial Bonilla Marín
Secretario Académico


Mtra. Ivonne Lizette Cuevas Vélez
Jefa del Departamento del Posgrado



Dedicatorias

A mi yo del pasado. Aquel que pensaba que no podría terminar este tramo, hoy es otra persona. A mi familia que ha aprendido a confiar en mí y en mis sueños. A mis sobrinos que están aquí y los que están por venir. Quiero que sepan que la vida es difícil pero la determinación es necesaria para forjar un buen carácter y yo siempre los apoyaré. A mis amigos, aquellos que siempre estuvieron acompañándome aún sin entender de lo que hablaba ellos siempre estaban para escucharme. A Khiabet, que el término de este trabajo y de lo que pude lograr es por ese apoyo incondicional. Quiero dedicarte esto y nos inspiremos a crear más cosas. Quiero dedicarle esto a las personas que no puedan realizar una educación como lo quisieran. Aquellas personas que se creen que la educación es solo parte de un sistema, les invito a mirar a la ciencia. Un lugar donde todos podemos y somos iguales. Donde valemos por las ideas y no por las apariencias.

Agradecimientos

A todas las personas que se han cruzado en mi camino. De alguna manera han sido relevantes en mí. Pero como en toda historia, hay quienes tienen un papel fundamental en ella. Mi familia, es la base de lo que soy y quien soy. Mis amigos, por el apoyo y cariño, por la compañía y la confianza, porque de ellos nacieron muchos sueños que hoy me han llevado hasta aquí, me han ayudado a salir de mis peores lugares y estado en los mejores. A Khiabet, por la entrega del amor y el cariño que me da. También quiero agradecer el apoyo técnico al personal del LINAN que ayudaron en la realización de esta tesis, a la Mtra. Ana Iris Peña Maldonado, la Mtra. Beatriz Adriana Rivera Escoto, Dr. Héctor Gabriel Silva Pereyra, Mtra. Fabiola Estrella Figueroa Cervantes, Dra. Gladis Judith Labrada Delgado y a la Mtra. Mireya Guadalupe Sánchez Garza; ya que sin ellos y su tiempo jamás se habría logrado esto. A todos mis maestros del IPICYT y administrativos que me ayudaron a lo largo de todo este proceso. Al Dr. Vicente por su apoyo y guía, y a pesar de los regañones siempre aprendí muchas cosas con su ayuda. A las Dras. Iliana y Araceli que fungieron también como guía y aportaron una visión diferente al proyecto. A todos mis compañeros del LANOCAT que aportaron con ideas y observaciones durante mi trayecto. Mis amigos y compañeros del posgrado, ya que fueron una gran compañía y un gran gusto conocerlos, y gracias por aportarme una visión diferente de las ciencias y crecer conmigo, les deseo lo mejor.

Resumen

La ciencia de los materiales continúa estudiando y generando una nueva generación de excipientes, denominados *excipientes avanzados*. Estos, están diseñados como soportes activos de los fármacos y ayudan a aumentar su biodisponibilidad por medio del diseño de sus propiedades estructurales y fisicoquímicas. Tales como la capacidad de liberación prolongada más específica, controlada y responsiva a estímulos determinados basados en su metodología de síntesis.

En esta investigación se presenta un compósito (CM) constituido de partículas esféricas de SiO₂ mesoporosas (PmSiO₂) (218 nm diámetro promedio) y el biopolímero Quitosano (Qt) (94% grado de deacetilación) empleando Sulfametoxazol (SMX) como fármaco de estudio. Las PmSiO₂ fueron sintetizadas por la ruta de Stöber modificada. Los materiales sintetizados y precursores fueron caracterizados por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (IRTF) y Raman para identificar los grupos funcionales. También se analizaron por difracción de rayos X (DRX) para identificar la estructura cristalina, así como por microscopía electrónica de barrido (MEB) y de transmisión (MET). La fisisorción de N₂ revela un área superficial (4247 m²/g) y volumen de poro (3.5 m²/g) que en comparación con los materiales reportados en la literatura son superiores. El Potencial ζ en las condiciones de síntesis del CM (pH=6) indica estabilidad en solución y atracciones electrostáticas entre ambos materiales. Se realizaron pruebas preliminares para evaluar a los materiales y determinar si el CM posee las características de excipiente avanzado. La adsorción de SMX en las PmSiO₂ (SiO₂SMX) resultó de 375 mg SMX / 1 g PmSiO₂ y se estudió la liberación en diferentes medios; solución buffer de fosfatos (SBF, pH=7), agua acidificada (pH=4) y solución de fluidos gástricos simulados (FGSA, pH=2)). La liberación de SMX sigue una difusión por mecanismo de Fick. El potencial hemolítico preliminar resultó, para el CM, como no citotóxico para los eritrocitos humanos en una concentración de 0.1 mg/ mL de solución salina fisiológica (SSF) y las PmSiO₂ no mostraron toxicidad hasta una concentración de 0.9 mg/mL SSF. El compósito obtenido SiO₂/quitosano presenta características microestructurales positivas para funcionar como posible excipiente avanzado de fármacos

Palabras clave: Excipiente avanzado, SiO₂, Quitosano, Compósito; mesoporosidad.

Abstract

Physical and chemical properties of the active principles limit the bioavailability in the pharmaceutical form of choice and characteristics like solubility and permeability affects his adsorption. Therefore, it is necessary new materials that could function as excipients and increases the bioavailability. Material science has created a new excipient generation, the *advanced excipients*. These are designed as support for the active principle and also to improve the bioavailability based on the new properties of these materials.

In this work we present a composite (CM) made out of silica nanoparticles (PmSiO₂) (218 nm mean diameter) and chitosan (Qt), a biopolymer (94% deacetylation degree) with Sulfamethoxazole (SMX). Silica particles were synthesized using a modified Stöber method. Tetraethyl orthosilicate (TEOS) was employed as silane precursor, NH₄OH as catalyst and hexadecyltrimethylammonium bromide (CTAB) as surfactant to obtain mesoporous particles. The composite was synthesized using a 0.2% w/v chitosan solution (pH=2). Then, PmSiO₂ were added to the solution and after 24 h of reaction, the composite is made. All materials were characterized using Fourier Transformed Infrared Spectroscopy (IRTF) and Raman spectroscopy to identify functionals groups. Also, the samples were characterized by X Ray Diffraction (DRX) to identify crystal structure. Scanning electron microscopy (MEB) and Transmission electron microscopy (MET) were used to see the morphology and size distribution of the materials. Also, we used physisorption of gases at low temperature to calculate surface area, size, form and pore volume. The CM demonstrates high surface area (4247 m²/g) y high pore volume (3.5 m²/g) in comparison with the literature. Z potential were used to prove electrostatic attraction between silica nanoparticles and chitosan under composite synthesis conditions (pH=6). Materials were tested to elucidate if the composite accomplish the requirements to be classified as an advanced excipient. SMX adsorption were realized in the silica particles and using UV-Vis spectrophotometry we determine indirectly the SMX adsorbed (375 mg SMX / 1 g SiO₂). After the composite synthesis, SMX release was tested to dilucidated the release mechanism in different mediums (Phosphate buffer solution (pH=7), acidic water (pH=4) and Fasted state Simulated Gastric Fluid (pH=2). Based on the results Fick's diffusion mechanism was the release model that fits best to the release kinetics in both materials. The composite demonstrates better characteristics releasing less SMX than the PmSiO₂ in all mediums. Hemolysis test was employed to determine the hemolytic potential of each material. Results demonstrate that CM is not cytotoxic with red blood human cells until 0.1 mg/ mL concentration and PmSiO₂ until 0.9 mg/mL. Therefore, the CM reveals positive characteristics that postulates this material as a possible advanced excipient

Key words: Advanced excipient, SiO₂, Chitosan, Composite

Contenido

Constancia de aprobación de la tesis	I
Créditos institucionales	II
Acta de examen	III
Dedicatorias	IV
Agradecimientos	V
Resumen	VI
Abstract	VII
Contenido	VIII
Lista de tablas	XI
Lista de figuras	XII
Introducción	1
Hipótesis y objetivos	2
1. Capítulo 1. Marco Teórico	3
1.1 Antecedentes	3
1.1.1 Excipientes	3
1.1.2 Excipientes avanzados	4
1.1.3 Los excipientes avanzados como sistemas de liberación controlada	5
1.1.4 Vías de administración de fármacos	6
1.1.5 La vía oral	7
1.1.6 Sulfametoxazol	8
1.2 SiO ₂	9
1.2.1 Adsorción y liberación de fármacos	10
1.3 Quitosano	11
1.3.1 Grado de deacetilación	13
1.3.2 Propiedades antibacteriales	13
1.4 Compósito de SiO ₂ /Quitosano	16
2. Capítulo 2. Síntesis de materiales	17
2.1 Síntesis de SiO ₂ con mesoporosidad ordenada	17

2.2 Síntesis del Compósito	19
3. Capítulo 3. Técnicas de caracterización y de evaluación	21
3.1 IRTF (Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier)	21
3.2 Espectrofotometría Raman	21
3.3 DRX (Difracción de rayos X)	21
3.4 MEB-ES/EDE (Microscopía electrónica de barrido por electrones secundarios/ Espectroscopía de dispersión de energía)	21
3.5 MET (Microscopía de electrónica de transmisión)	22
3.6 Fisisorción de N ₂ a baja temperatura	22
3.7 Potencial ζ	23
3.8 Adsorción de SMX	24
3.9 Liberación de SMX	25
3.9.1 Parámetros	27
3.9.2 Solución de Fluidos Gástricos Simulados en Ayuno (FGSA)	27
3.10 Prueba de Hemólisis	28
4. Capítulo 4. Resultados	29
4.1 Resultados de síntesis de PmSiO ₂ con mesoporosidad ordenada	29
4.1.1 Morfología y textura de las partículas de las PmSiO ₂	29
4.1.2 Microestructura de las PmSiO ₂	32
4.2 Propiedades adsortivas y adsorción de SMX en las PmSiO ₂	35
4.2.1 Resultados de adsorción de SMX	36
4.2.2 Propiedades de las PmSiO ₂ después de la adsorción	38
4.3 Resultados de la síntesis del excipiente avanzado PmSiO ₂ /Qt	41
4.3.1 Caracterización del Qt	41
4.3.2 Estabilidad de la solución de síntesis del CM	46
4.3.3 Propiedades texturales del excipiente	48
4.3.4 Microestructura	52

5. Capítulo 5. Estudio de la liberación del fármaco y biocompatibilidad	61
5.1 Resultados de la liberación de SMX	61
5.2 Biocompatibilidad (Prueba de hemólisis)	65
6. Capítulo 6. Conclusiones	67
7. Capítulo 7. Perspectivas	68
8. Anexo 1. Resultados de las cinéticas de liberación de SMX usando el modelo de orden cero vs modelo Korsmeyer-Peppas	69
• Compósito en SBF (pH=7)	70
• PmSiO ₂ en SBF (pH=7)	71
• Compósito en agua (pH=4)	72
• PmSiO ₂ en agua (pH=4)	73
• Compósito en FGSA (pH=2)	74
• PmSiO ₂ en FGSA (pH=2)	75
9. Anexo 2. Síntesis de estructuras de Qt/PmSiO ₂	76
10. Anexo 3. Reconocimiento obtenido durante la realización del proyecto	79
11. Referencias	80

Lista de tablas

1. Modelo de difusión en función del valor de n	27
2. Composición de la solución de FGSA	27
3. Cantidades a usar para la preparación de la prueba de hemólisis	28
4. Resultados de la caracterización por fisorción de N_2 de $PmSiO_2$	31
5. Resultados obtenidos en las adsorciones de SMX	37
6. Resultados de la caracterización por fisorción de N_2 de $PmSiO_2$ y SiO_2 SMX	38
7. Resultados de la caracterización por fisorción de N_2 a baja temperatura del Qt	42
8. Resultados del análisis del potencial ζ para las $PmSiO_2$ en pH=6	46
9. Resultados del análisis del potencial ζ para las Qt en pH=6	47
10. Resumen de los resultados obtenidos por la técnica de fisorción de N_2 a baja temperatura	50
11. Comparación del CM con materiales encontrados en la literatura con la misma composición (SiO_2 /Qt).	60
12. Resumen de los resultados de liberación de SMX. Se muestra el ajuste de cada modelo y el coeficiente n de K-P	63
13. Valores de k_{KP} para cada material de los distintos medios de evaluación	63
14. Resultados de los promedios obtenidos de la prueba de hemólisis de cada material	63
A1. Resultados de liberación del CM en SBF	66
A2. Resultados obtenidos de los ensayos independientes de liberación del SiO_2 en SBF	70
A3. Resultados obtenidos de los ensayos independientes de liberación del CM en pH=4	71
A4. Resultados obtenidos de los ensayos independientes de liberación del $PmSiO_2$ en pH=4	72
A5. Resultados obtenidos de los ensayos independientes de liberación del CM en FGSA	73
A6. Resultados obtenidos de los ensayos independientes de liberación de las $PmSiO_2$ en FGSA	74
	75

Lista de figuras

1. Presentación farmacéutica clásica de tabletas	3
2. Esquema representativo de la vía de administración oral	7
3. Molécula de SMX y sus distintas especies en función del pH	8
4. Representación del SiO ₂	9
5. Representación de una partícula porosa de SiO ₂	9
6. Esquema representativo de la interacción de las PmSiO ₂ con SMX	10
7. Estructura molecular de la quitina	11
8. Estructura de la quitina y su posterior estructura (Qt) después de la deacetilación	11
9. Estructura molecular del Qt	13
10. Composición de la envoltura celular de las bacterias Gram positivas.	14
11. Mecanismo de la acción bactericida del Qt con las bacterias Gram positivas	14
12. Composición de la envoltura celular de las bacterias Gram negativas	15
13. Mecanismo de la acción bactericida del Qt con las bacterias Gram negativas	15
14. Síntesis de las PmSiO ₂ por el método de Stöber modificado.	17
15. Síntesis de Stöber	18
16. Mecanismo del CTAB	18
17. Metodología de síntesis del CM	19
18. Representación de la interacción entre la sílica y el Qt	20
19. Esquema ilustrativo del CM con SMX	20
20. Potencial ζ y potencial superficial.	23
21. Metodología de adsorción de SMX en las PmSiO ₂ .	24
22. Modelos de liberación	25
23. Modelo de difusión por capa de difusión	26
24. Morfología y diámetro de las PmSiO ₂	29
25. Micrografía obtenida por MET con un detector DAACO de las PmSiO ₂ donde se aprecia su porosidad	30
26. Resultados del análisis por fisisorción de N ₂	31
27. Difractograma de DRX de PmSiO ₂ sintetizado	32
28. Espectro EDE del PmSiO ₂ sintetizado	32
29. Espectro IRTF de PmSiO ₂ y estructura superficial de las PmSiO ₂	33
30. Espectro Raman de las PmSiO ₂ y su estructura interna	34
31. Interacción de las PmSiO ₂ con el SMX por medio de puentes de H.	35
32. Curva de calibración de SMX por espectrofotometría UV-Vis	36
33. Resultados de fisisorción de N ₂ a baja temperatura	38
34. Espectro IRTF	39
35. Espectro Raman de SiO ₂ SMX y molécula de SMX	40
36. Micrografía del Qt obtenidas por MEB-SE	41
37. Isotermas de adsorción/desorción y distribución de volumen de poro.	42

38. Difractograma de rayos X del Qt	43
39. Espectro obtenido por EDE del Qt de la figura 36	43
40. Espectro IRTF del Qt y estructura del Qt.	44
41. Espectro Raman y molécula del Qt	45
42. Distribución del potencial ζ de las PmSiO ₂ en pH=6	46
43. Distribución del potencial ζ del Qt en pH=6	47
44. Micrografía obtenida por MEB-ES a 15,000x del CM	49
45. Comparativo de las isothermas de PmSiO ₂ , SiO ₂ SMX, Qt y CM	51
46. Gráficas de distribución del diámetro de poro de PmSiO ₂ , SiO ₂ SMX Qt y CM	51
47. Micrografía representativa del CM obtenida por MET con un detector DAACO.	52
48. Micrografía representativa del CM obtenida por MET con un detector DAACO.	53
49. Espectro IRTF del Qt, PmSiO ₂ y CM	54
50. Espectro Raman de PmSiO ₂ , Qt y CM	55
51. Micrografía del CM _{SMX} obtenida por MEB-ES a 15,000x	56
52. Espectro del CM _{SMX} obtenido por análisis de EDE	57
53. Espectro IRTF comparativo del SMX, CM y CM _{SMX}	57
54. Espectro Raman del CM _{SMX}	58
55. Gráfico de las respuestas de liberación de SMX de las PmSiO ₂ y el CM en distintos pH's	61
56. Gráfico de las distintas respuestas de liberación de SMX de las PmSiO ₂ y el CM en distintos pH's	62
57. Mecanismo propuesto para el comportamiento del CM en la liberación de SMX en pH<7	64
58. Resultados del potencial hemolítico de cada material pasadas las 5 h de exposición	66
A1.1 Curva de calibración por UV-Vis de SMX en SBF ($\lambda_{max}=257nm$)	69
A1.2 Curva de calibración por UV-Vis de SMX en agua ($\lambda_{max}=266nm$)	69
A1.3 Curva de calibración por UV-Vis de SMX en FGSA ($\lambda_{max}=269nm$).	69
A1.4 Gráfico del porcentaje promedio de la liberación de SMX en SBF del CM basado en el modelo de orden cero.	70
A1.5 Gráfico del modelo K-P para el CM en SBF (pH=7) para obtener el valor del exponente de difusión n	70
A1.6 Gráfico del porcentaje promedio de la liberación de SMX en SBF de las PmSiO ₂ basado en el modelo de orden cero	71
A1.7 Gráfico del modelo K-P para las PmSiO ₂ en SBF (pH=7) para obtener el valor del exponente de difusión n .	71
A1.8 Gráfico del porcentaje promedio de la liberación de SMX en agua (pH=4) del CM basado en el modelo de orden cero	72

A1.9 Gráfico del modelo K-P para el CM en agua (pH=4) para obtener el valor del exponente de difusión n	72
A1.10 Gráfico del porcentaje promedio de la liberación de SMX en agua (pH=4) de las PmSiO ₂ basado en el modelo de orden cero	73
A1.11 Gráfico del modelo K-P para las PmSiO ₂ en agua (pH=4) para obtener el valor del exponente de difusión n .	73
A1.12 Gráfico del porcentaje promedio de la liberación de SMX en FGSA (pH=2) del CM basado en el modelo de orden cero	74
A1.13 Gráfico del modelo K-P para el CM en FGSA (pH=2) para obtener el valor del exponente de difusión n .	74
A1.14 Gráfico del porcentaje promedio de la liberación de SMX en FGSA (pH=2) de las PmSiO ₂ basado en el modelo de orden cero.	75
A1.15 Gráfico del modelo K-P para las PmSiO ₂ en FGSA (pH=2) para obtener el valor del exponente de difusión n	75
A2.1 Micrografía de material a base de Qt/PmSiO ₂ obtenida por MEB-ES	76
A2.2 Micrografía de material a base de Qt/PmSiO ₂ obtenida por MEB-electrones retrodispersados (ER).	76
A2.3 Micrografía de material a base de Qt/PmSiO ₂ obtenida por MEB-ES.	77
A2.4 Micrografía de material a base de Qt/PmSiO ₂ obtenida por MEB-ER	77
A2.5 Micrografía de material a base de Qt/PmSiO ₂ obtenida por MEB-ES.	78
A2.6 Micrografía de material a base de Qt/PmSiO ₂ obtenida por MEB-ER.	78
A3.1 Reconocimiento obtenido por el proyecto “Nanocompósito de SiO ₂ /Quitosano para la liberación de fármacos” en el certamen IPITESIS del CONIP 2019	79

Introducción

Las bajas eficiencias de los excipientes clásicos tiene como consecuencia una baja biodisponibilidad, la cual se define como la fracción del principio activo en circulación sanguínea¹. Se sabe que cierta cantidad del principio activo es desechada por la vía urinaria, heces o sudor antes de llegar a su sitio de acción y realizar su acción terapéutica. Adicionalmente existe un fenómeno que disminuye la biodisponibilidad, *el primer paso hepático*, el cual sucede en el hígado. En este órgano se reciben los nutrientes y fármacos recién absorbidos en la digestión y se metabolizan. Enzimas de la familia P-450 actúan dando como resultado, en algunos casos, inactivación total y reducción de la biodisponibilidad o transformación a moléculas causantes de efectos secundarios no deseados.

Entiéndase excipiente como toda sustancia que constituya a la forma farmacéutica y no sea el principio activo. Actualmente se han implementado como alternativas para aumentar la biodisponibilidad. En estos casos, el excipiente no sólo actuará como soporte del principio activo sino que aumentará la biodisponibilidad, actuando como sistema de liberación controlada. Por lo tanto es necesario conocer las propiedades y eficiencia de los excipientes profundamente, para elaborar formas farmacéuticas más seguras y efectivas². Además, dependiendo de la forma farmacéutica que se elija como medio de administración, así será el número y tipo de barreras que deberá enfrentar el fármaco para llegar a la circulación sanguínea.

La ciencia de los materiales se postula como alternativa para desarrollar sistemas de liberación controlada. Actualmente existe una amplia variedad de micro y nanomateriales que se están implementado para mejorar la biodisponibilidad de los fármacos. Como ejemplos de estos sistemas podemos encontrar a las nanopartículas de SiO₂, Au, Fe₃O₂, TiO₂, SiO₂, ZnO, dendrímeros, nanotubos de carbono, entre otros más. Estos sistemas de liberación controlada³ han tenido avances en el campo de la farmacocinética, creando nuevos métodos más estables física y químicamente. El resultado es la nueva generación de excipientes, los *excipientes avanzados*. A diferencia de los excipientes clásicos, diseñados solamente para dar estabilidad y ayudar en la producción de la forma farmacéutica, los excipientes avanzados buscan aportar más. Ser un soporte del principio activo, mejorar la biodisponibilidad, controlar la tasa de liberación y/o liberarlo en una zona específica, actuando como un material bioactivo.

En esta investigación se propone la síntesis de un CM híbrido inorgánico/orgánico. Se pretende usar las propiedades inorgánicas de las PmSiO₂. Tales como el área superficial (>300 m²/g), volumen de poro (>0.5 cm³/g), diámetro de poro controlable (1-10 nm), forma y distribución de poro variable (con distribución hexagonal, cuadrangular o desordenada) y capacidad adsorción³. Y combinar las propiedades orgánicas del Qt, como son; su biocompatibilidad (induce hemostasia y crecimiento de células epidermales⁴), elevado potencial ζ (en función del grado de deacetilación⁵), capacidad bactericida (probada contra *S. Aureus* y *B. subtilis*⁶), solubilidad en pH's ácidos (pH<6, pKa= 6.2⁷) y mucoadhesividad. Creando en conjunto un material que puede aumentar la biodisponibilidad de fármacos administrados por la vía oral. Para evaluar la biocompatibilidad del CM se sometió a pruebas de hemólisis.

Hipótesis y objetivo

Hipótesis

El compósito híbrido, compuesto de partículas de SiO₂ esférico mesoporoso y recubierto del biopolímero Qt (94% grado de deacetilación), posee la capacidad de fungir como excipiente avanzado para administración oral. Esto, debido a la capacidad del SiO₂ de carga y protección de moléculas en su interior y, a la biocompatibilidad y solubilidad del Qt en pH ácidos (pH<7). Lo anterior permite la liberación controlada de Sulfametoxazol, fármaco modelo empleado en el tratamiento de infecciones bacterianas urinarias, cistitis y pielonefritis.

Objetivo

Diseñar y realizar la síntesis de bajo costo y reproducible para sintetizar un compósito híbrido de PmSiO₂ y Qt. Este, actuará como excipiente avanzado para la administración de fármacos por vía oral, cargado con SMX como fármaco modelo para el tratamiento de infecciones bacterianas.

Objetivos específicos

- Síntesis y caracterización de PmSiO₂ y CM
- Caracterización del Qt
- Evaluar la citotoxicidad del CM, mediante prueba de hemólisis
- Evaluar características del material como un posible excipiente
- Determinar y evaluar el mecanismo de liberación de SMX en fluido gástrico simulado en ayuno y las condiciones que lo afectan

Capítulo 1. Marco teórico

1.1 Antecedentes

1.1.1 Los excipientes

Los excipientes son componentes esenciales de las formas farmacéuticas y de ellos dependen sus características. Son definidos por el Consejo de la Federación Internacional de Excipientes Farmacéuticos como toda sustancia en la forma farmacéutica diferente al principio activo⁸. Para obtener una forma farmacéutica con las propiedades deseadas es necesario utilizar un excipiente en específico. En sistemas como en los comprimidos y tabletas el uso del excipiente será basado en las propiedades de dureza, compresibilidad y solvatación. Es de suma importancia que estos materiales sean inertes con el principio activo, debido a que se mezclan en los procesos de manufactura y se requiere que permanezcan sin cambios. Por lo tanto, de manera clásica un excipiente es un material bioinerte el cual sirve de soporte del principio activo en una presentación farmacéutica. Ejemplos de excipientes clásicos podemos encontrar a la fructosa, almidón, celulosa, lactosa, povidona, entre otros más²; muchos de ellos usados por su capacidad de solvatación y compresibilidad.



Figura 1. Presentación farmacéutica clásica de tabletas. Los principios activos son Trimetoprima y Sulfametoxazol (cbp=cantidad bastante para).

1.1.2 Los excipientes avanzados

Definiremos a un excipiente avanzado como un material que transporta un principio activo y es capaz de aumentar la biodisponibilidad. En las últimas décadas han surgido nuevos materiales, con el fin de mejorar la capacidad de almacenaje, biodisponibilidad, especificidad en la acción farmacéutica y protección del principio activo⁹. La lista de estos es muy grande, entre ellos están: nanopartículas (NPs) de Au¹⁰, SiO₂¹¹, grafeno¹², NPs de ZnO¹³, CuO¹⁴, Fe₃O₄¹⁵, dendrímeros¹⁶ y liposomas¹⁷.

En nuestro grupo de investigación se han desarrollado NPSiO₂ mesoporosas como potenciales vehículos de administración de fármacos¹⁸. Se reporta un diámetro promedio de partícula de 70 ± 7 nm y diámetro de poro promedio de 2.5 ± 0.5 nm. También se ha demostrado que mediante la funcionalización de las NPSiO₂ es posible aumentar la adsorción del fármaco¹⁹. Este es un material (SiO₂) que ha mostrado ser un buen candidato para usarse como sistema de liberación de fármacos. Diferentes estudios han aportado información acerca de su potencial. Es posible diseñarlo en fase amorfa con mesoporosidad ordenada. Esta fase ha mostrado propiedades únicas, principalmente la capacidad de adsorción de fármacos y su posterior liberación³. En la investigación de Argyo C. et al.²⁰, se describe cómo el tamaño de partícula influye por cuál medio la célula internalizará al material. También menciona los sistemas de compuertas que ayudan a regular la liberación del fármaco (por ejemplo usando proteínas, NPs de Au o NPs de óxido de hierro superparamagnético). Además postula sistemas de anclaje a las células que se desean atacar usando ligandos que se unan a factores de expresión celular de células dañadas, infectadas o cancerígenas que se encuentren sobre expresados (receptor de folato FR- α , integrinas, receptores de manosa o galactosa, CD44, CD168, entre otros²⁰). Möller y Bein¹⁹ reportan en su investigación haber sintetizado nanopartículas mesoporosas degradables basándose en su estabilidad acuosa. Murugadoss et. al.²¹ y T. Yu et al.²² muestran evidencias de cómo diseñar partículas y nanopartículas para obtener materiales no dañinos para el cuerpo. Explica en su estudio que la sílica posee menor toxicidad cuando se encuentra en su forma amorfa y porosa. También postula que bajas concentraciones y exposiciones no presentan riesgos de intoxicación por SiO₂.

El otro material de interés para la investigación es el Qt. Con las características y versatilidad que presenta, se puede usar en distintos ámbitos y formas. Un ejemplo de lo anterior está en las investigaciones de Y. Fu et al.²³, en donde sintetizan microesferas huecas de Qt en las cuales encapsulan Paclitaxel (fármaco poco soluble en agua para terapias antineoplásicas). Al cambiar el pH del medio, pierden estabilidad y liberan el fármaco. También se han descrito distintas modificaciones a este biopolímero, principalmente en el grupo funcional amino, para mejorar sus propiedades de solubilidad, adhesión a las mucosas e inhibición enzimática⁷. Puede formar películas e hidrogeles con facilidad para ser funcionalizado con

proteínas o con ácidos nucleicos electrodepositados²⁴. Sanyakamdhorn et al.²⁵ describen las condiciones en las que un fármaco pueda unirse fuertemente o no al interior del Qt. Le atribuyen esto a la naturaleza hidrofílica del fármaco, ayudando a su unión con el Qt. En la modalidad de hidrogeles²⁶ se han diseñado responsivos a estímulos y han mostrado estabilidad química y física.

En recientes años han surgido los compósitos híbridos inorgánicos/orgánicos como el caso del compósito SiO₂/Qt²⁷⁻³¹. Presentan una amplia versatilidad en cuanto a su diseño. Se han sintetizado y depositado nanopartículas en Qt creando un CM útil para controlar y frenar el sangrado generado en lesiones traumáticas³². Se reporta que la biocompatibilidad de este material es apta para aplicaciones médicas, demostrando su seguridad para ser usado en sistemas biológicos basados en la ausencia de la activación de la respuesta inflamatoria³³. Otro ejemplo de su versatilidad está en la formación de nanocápsulas con benzotriazol, combinando las propiedades de estabilidad química del SiO₂ y la sensibilidad de respuesta al pH del Qt³⁴. Otra aplicación del nanohíbrido SiO₂/Qt está en el tratamiento de heridas superficiales con ayuda de un factor de crecimiento de queratina, promoviendo la aceleración en el proceso de regeneración celular³⁵. En este proyecto se plantea la síntesis y evaluación de un CM híbrido de SiO₂/Qt el cual consta de las PmSiO₂ previamente adsorbidas con SMX y posteriormente recubiertas de Qt para la liberación prolongada de SMX.

1.1.3 Los excipientes avanzados como sistemas de liberación controlada

Un sistema de liberación controlada está diseñado para que la liberación del fármaco sea prolongada y sostenida, ayudando a mantener o aumentar su concentración sistémica respecto al tiempo³⁶. Se requiere que cumpla con los siguientes criterios para ser considerado como sistema de liberación controlada¹⁵:

- Evitar cualquier interacción no específica con el cuerpo
- Proveer transporte fácil y seguro de los fármacos hacia el sitio específico de administración
- Proteger al fármaco de degradaciones enzimáticas o hidrolíticas dentro del cuerpo
- Eliminar los componentes del sistema después de haber sido utilizado
- Demostrar una tasa de liberación regulada

Una de las alternativas más exploradas hasta ahora son los sistemas de liberación para la vía oral. Debido a los mecanismos implicados en esta ruta es posible diseñar formas farmacéuticas con distintas respuestas cinéticas. Dentro de los nuevos sistemas se encuentran las nanopartículas, recubrimientos poliméricos, bombas osmóticas, resinas de intercambio iónico, entre otras más³⁶. También se han explorado alternativas en el uso de nanopartículas con nanopartículas de Au, dendrímeros y algunos polímeros. Se han creado sistemas de compuerta que

responden a estímulos específicos (ya sea pulsaciones, cambios de temperatura o pH, aplicación de campos magnéticos, etc.) e inducen la liberación específica, controlada y prolongada del fármaco²⁰.

1.1.4 Vías de administración de fármacos

Para que un fármaco pueda realizar su función es necesario que este ingrese al paciente, y las maneras para realizar esto son distintas. Principalmente están dos vías básicas, la enteral y parenteral³⁷.

En la enteral encontramos³⁸:

- Oral: De las más frecuentes. La absorción de los fármacos sucede principalmente en la mucosa gástrica y partes de los intestinos.
- Sublingual: Vía de rápida absorción causada por la alta vascularización debajo de la lengua y una delgada membrana que la recubre.
- Rectal: Consta de la aplicación de formas farmacéuticas solubles en la mucosa anal para la absorción de los fármacos por las paredes rectales
- Tópica: Absorción de los fármacos mediante los poros de la piel con el uso de pomadas y ungüentos

En la parenteral se encuentra³⁸:

- Intravenosa: La más efectiva para asegurar la biodisponibilidad y rapidez del fármaco en el paciente, útil para tratamientos pre operatorios.
- Intramuscular: Aplicación directa en las fibras musculares, ideal para una administración localizada y rápida.
- Subcutánea: Se hace una administración directamente debajo de la piel, dejando que el fármaco se difunda lentamente a través de los músculos.

1.1.5 Vía Oral

Esta vía es una de las más comunes en casi todo tipo de tratamientos. A través de ella el fármaco inicia su trayecto en la cavidad bucal pasando por el esófago hasta llegar al estómago, donde se espera que los principios activos sean absorbidos (figura 2). Resulta cómoda, fácil y no genera un costo extra en su aplicación de ahí que sea muy utilizada, pero también presenta desventajas en su aplicación³⁸. En algunos casos sucede la interacción de los principios activos con los alimentos y/o los ambientes ácidos del estómago, inactivando a las moléculas. También se sabe de la inactivación por el *efecto de primer paso*, lo que aumenta la pérdida de principio activo³⁹. Además, esta vía no es útil para pacientes sedados, con náuseas o vómitos³⁸. Por lo tanto, es notorio por qué esta ruta es muy usada para la administración de distintos tipos de fármacos, de ahí surge el objetivo de una aplicación de nuevos materiales para la administración de fármacos por vía oral.

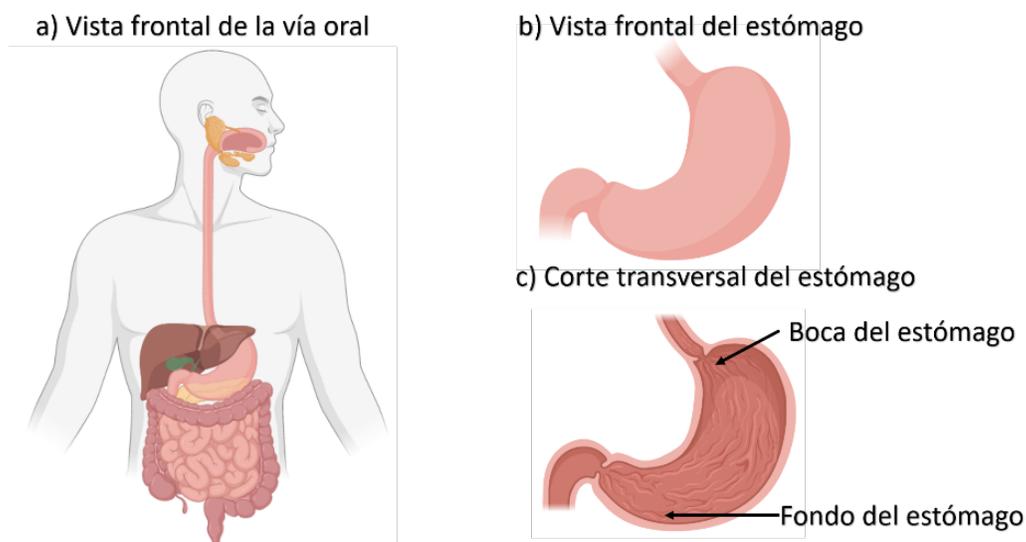


Figura 2. Esquema representativo de la vía de administración oral

1.1.6 Sulfametoxazol

El SMX (4-amino-N-(5-metil-1,2-oxazol-3-il)-beceno-1-sulfonamida, CAS No. 723-46-6, P.M.=253.278 g/mol, $C_{10}H_{11}N_3O_3S$) es un fármaco bacteriostático perteneciente a la familia de las sulfonamidas y es de amplio espectro bactericida^{40,41}. Es efectivo contra bacterias Gram positivas y negativas como *E. coli*, *Klebsiella sp*, *S. Aureus*, *Salmonella sp*, *Shigella sp* y algunas especies de *Enterobacter*. También recetado en el tratamiento de infecciones del tracto urinario y bronquitis⁴¹. Posee una solubilidad en agua de 610 mg/L, sin embargo su absorción es mayor en ambientes ácidos⁴². El mecanismo de acción involucra la inhibición de la síntesis de ácido fólico en el agente patógeno debido a una inhibición por competición antagonista con el ácido *p*-aminobenzoico (PABA), precursor de la síntesis de ácido fólico⁴¹. Una vez ingeridos por la vía oral las sulfonamidas son absorbidas en el tracto digestivo y la concentración máxima en sangre se alcanza en un rango de 0.5 a 3 h después de la administración⁴¹. Se reporta una vida media de 10 h en el organismo⁴². Posee una buena adhesión a las proteínas séricas (70%)⁴² asegurando una buena distribución del fármaco en el organismo. La excreción de este se da casi totalmente por la vía urinaria^{41,42}.

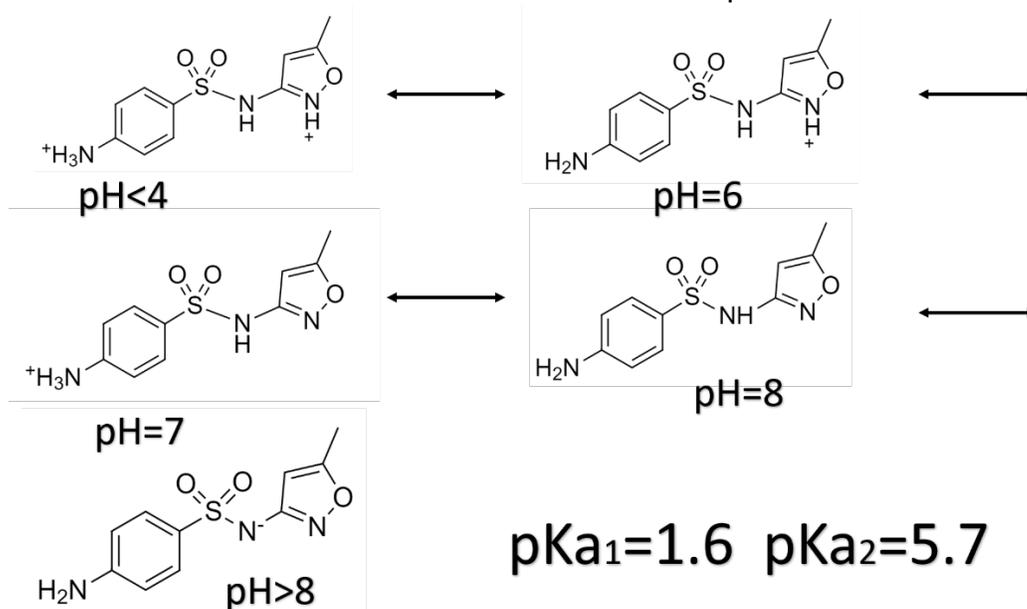


Figura 3. Molécula de SMX y sus distintas especies en función del pH⁴³

1.2 Partículas de SiO₂

El SiO₂ está constituido por celdas unitarias tetraédricas, donde el O está situado en los vértices del tetraedro, rodeando a un átomo de Si ubicado en el sitio intersticial tetraédrico⁴⁴ (figura 4a). Es un material que se puede encontrar tanto en fase cristalina, como amorfa (figura 4b).

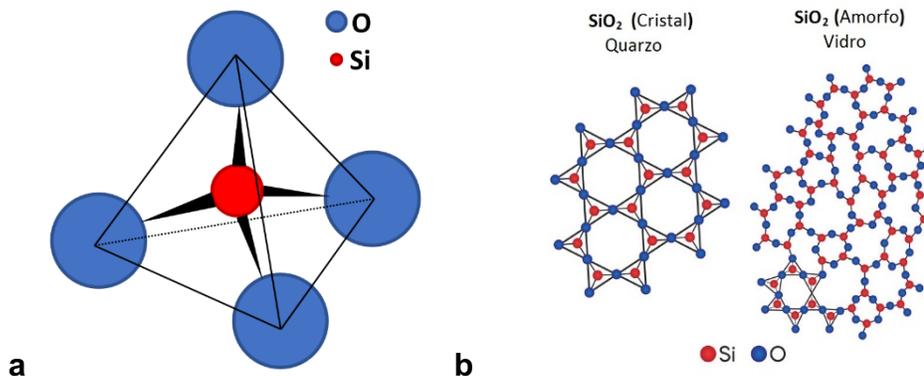


Figura 4. Representación del SiO₂ a) Perspectiva del cristal tetraédrico que conforma a la sílica, los aniones de oxígeno conforman los vértices del tetraedro y el silicio se encuentra en el sitio intersticial que estos forman⁴⁴ b) Representación del SiO₂ cristalino y amorfo

Es química, térmica y mecánicamente estable, con baja toxicidad (70% de viabilidad celular en una dosis de 100 mg/mL) y biocompatible con células humanas¹⁸, cualidades atribuidas a sus propiedades fisicoquímicas²¹ (densidad de hidroxilación, porosidad, tamaño de partícula y origen/síntesis del material). La OMS clasifica a la fase amorfa como no cancerígena y a la fase cristalina (cuarzo) como cancerígena para el humano⁴⁵. Sin embargo recientes estudios le atribuyen mayormente el potencial citotóxico a la carga superficial en función de los siloxanos y silanos, y a la morfología de partícula^{46,47}. Cuando se encuentra en su forma de nanopartícula porosa (20-300 nm diámetro promedio)³ se ha reportado elevado volumen de poro (>1 cm³·g⁻¹) y un ordenamiento periódico de estos⁴⁸. Puede poseer elevada área superficial (>1000 m²·g⁻¹) y es posible funcionalizar la superficie²⁰.



Figura 5. Representación de una partícula porosa de SiO₂

También puede ser modificado para obtener distintos diámetros de partícula y poro^{3,49}. Es un sólido muy resistente con una mesoestructura estable⁵⁰. Puede adsorber variedad de moléculas en su poros^{3,18,19,51,52} evitando que sean degradadas por enzimas u otros agentes²⁹. Es una alternativa de interés en el campo de la nanomedicina ya que se han realizado estudios con distintos tipos de fármacos como antibióticos, antiinflamatorios, osteogénicos y quimioterapéuticos, realizando una liberación sostenida y prolongada de estos³.

1.2.1 Adsorción y liberación de fármacos

La sílica pirogénica⁵³ es un material usado en la industria farmacéutica como excipiente⁵⁴, pero en la actualidad la sílica se ha implementado en su modalidad de nanopartícula porosa; justamente por su capacidad de adsorción. Por su composición química presenta grupos siloxano y silanol (-Si-Ö-Si-, -Si-ÖH) en la superficie. La presencia de oxígeno en ellos aporta un par electrones no apareados y expuestos. Estos le otorgan la capacidad de formar interacciones por puentes de hidrógeno o del tipo π - π con otras moléculas como los fármacos^{48,55} (Figura 6).

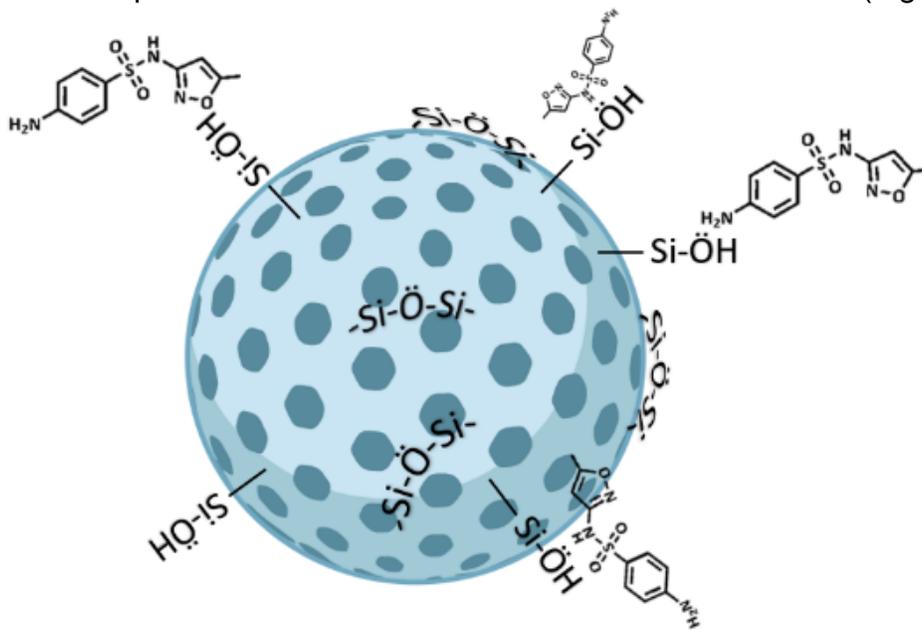


Figura 6. Esquema representativo de la interacción de las PmSiO₂ con SMX

Tiene la capacidad de liberar los fármacos adsorbidos de manera prolongada y paulatina^{18,48,55}. Al modificar sus propiedades de superficie y porosidad (como al funcionalizarlo) es posible cambiar sus cinéticas de liberación, por lo cual se postula como un excipiente avanzado.

1.3 Quitosano

La quitina (figura 7) es un polisacárido muy abundante en la naturaleza (el segundo biopolímero más abundante después de la celulosa), proveniente de crustáceos, insectos y hongos⁵⁶. Posee una estructura lineal de alto peso molecular (aproximadamente 60 kDa) constituida por unidades de N-acetil-D-glucosamina unidas por enlaces β -D (1,4). Es altamente insoluble y presenta baja reactividad⁵⁷.

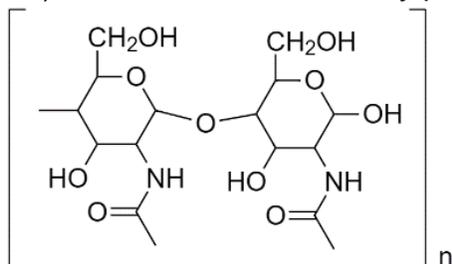


Figura 7. Estructura molecular de la quitina⁵⁸.

La deacetilación parcial (>60%) de la quitina da lugar al Quitosano, con mejores propiedades de reactividad y solubilidad. Se obtiene al convertir los grupos acetamida ($\text{CH}_3\text{-CO-NH-}$) de esta en grupos amino ($-\text{NH}_2$), al tratar la quitina con álcalis fuertes⁵⁹ (figura 8).

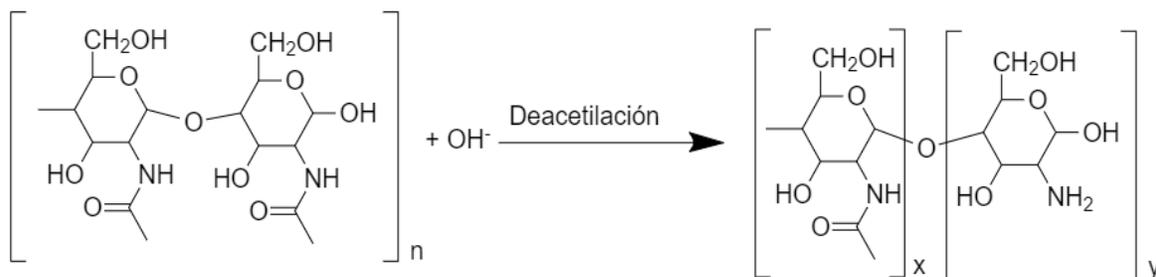


Figura 8. Estructura de la quitina y su posterior estructura (Qt) después de la deacetilación⁵⁸.

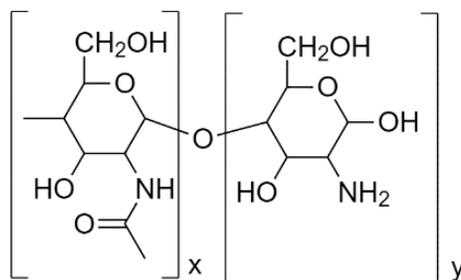
Se ha descrito como un polímero catiónico lineal, biodegradable, de fácil aplicación e inocuo ambientalmente⁶⁰. Los grupos amino primarios en su estructura básica adquieren carga positiva volviendo a la superficie compatible con sustancias polianiónicas como sulfatos, citratos y tripolifosfatos⁷. Un dato importante a resaltar, es que el término “Quitosano” no se refiere a una molécula específica y bien definida sino al biopolímero de forma general. Puede haber diferencias en pesos moleculares, grado de deacetilación y secuencia de ordenamiento (por ejemplo, los residuos acetilados pueden estar distribuidos de manera aleatoria a lo largo de toda la cadena o en pequeños bloques de esta²⁴).

Este material tiene la capacidad de adoptar distintas morfologías, dependiendo del método de síntesis usado. Para obtener nanopartículas y/o microesferas es posible emplear distintos métodos. Por ejemplo; mediante el método de enlace interfacial usando una base de Schiff y un Qt de 85% GD, es posible obtener microesferas huecas²³. Por medio del método de gelación iónica Li P. et al.⁶¹ logra sintetizar nanopartículas de Qt (GD>85%) para liberación de fármacos. También es posible obtener nanofibras con este material. Moo B. et al.⁶², utilizando la técnica de electrorrotación logra crear fibras con diámetros nanométricos usando un Qt de 85% GD. Otra forma de emplear este material es como hidrogel²⁶, obteniendo propiedades reológicas y mecánicas de interés comercial e industrial. Adicionalmente, una característica que puede ser modificada es la porosidad del material. Li J. et al.³² combina la técnica de microemulsión e inversión de fase inducida térmicamente para crear microesferas porosas de Qt (GD>95%). Esto, con la finalidad de probar su actividad hemostática. Mediante la técnica de gelación/congelación es posible sintetizar membranas porosas de Qt (GD 75%) para ser usada en sistemas de filtración⁶³.

1.3.1 Grado de deacetilación (GD)

El GD indica el porcentaje molar de unidades glucosamina monomérica en la cadena (figura 9) y puede variar desde 0% (quitina) hasta 100% (quitina totalmente deacetilada, Qt total). Es el parámetro más importante e influye en sus propiedades biológicas, fisicoquímicas y mecánicas. En general, cuando el Qt posee un alto GD exhibe mejores propiedades biológicas a comparación de los de bajo GD. Por lo tanto, la determinación del GD es esencial para predecir las propiedades y validarlo para aplicaciones específicas⁵⁷.

Una de las propiedades más influenciadas por el GD es la solubilidad, que se ve reflejada al existir un exceso de iones H^+ en el medio causando que el grupo amino del Qt se protone ($-NH_2 + H^+ \rightarrow -NH_3^+$). El material adquiere una carga positiva y se solubiliza⁶⁴. Así mismo la mucoadhesividad es otra característica que depende principalmente del grado de deacetilación⁶⁵. Otras propiedades de interés farmacológico y toxicológico reportadas hasta ahora son su biodegradabilidad, actividad hemostática y aceleración en la actividad de cicatrización^{32,65}. Para este proyecto de investigación se utilizará un Qt del productor Alzor Biotechnologies® (Yucatán, México) con un GD de 94%.



Grado de deacetilación = % de y unidades "y" en la cadena

Figura 9. Estructura molecular del Qt⁶⁶

1.3.2 Propiedades antibacteriales del Qt

El Qt es conocido por su actividad microbicida, la cual puede ser explicada si se trata al Qt como un agente antimicrobiano catiónico amino cuaternario⁶⁷. Su alta densidad de carga positiva interactúa fuertemente con los componentes aniónicos presentes en la membrana bacteriana. Uno de los mecanismos de acción propuestos para este material es que los grupos amino compiten por los iones Ca^{+2} y Mg^{+2} presentes en la membrana celular de los patógenos, actuando como agente quelante, desestabilizando la membrana celular de las bacterias causando lisis en estas⁵⁸.

En el caso de las bacterias Gram positivas los peptidoglicanos presentes en la pared celular (figura 10) se hidrolizan (figura 11b) causando una desestabilización en esta, llevando a la liberación de los componentes intracelulares del organismo y causando la muerte (figura 11c)^{58,68}.

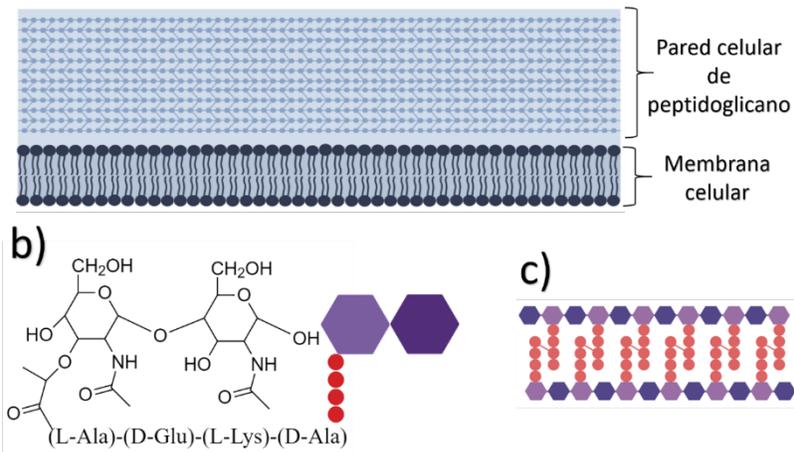


Figura 10. Composición de la envoltura celular de las bacterias Gram positivas.
 a) Componentes de la envoltura celular b) Representación de la unidad de peptidoglucano c) Pared de peptidoglucano

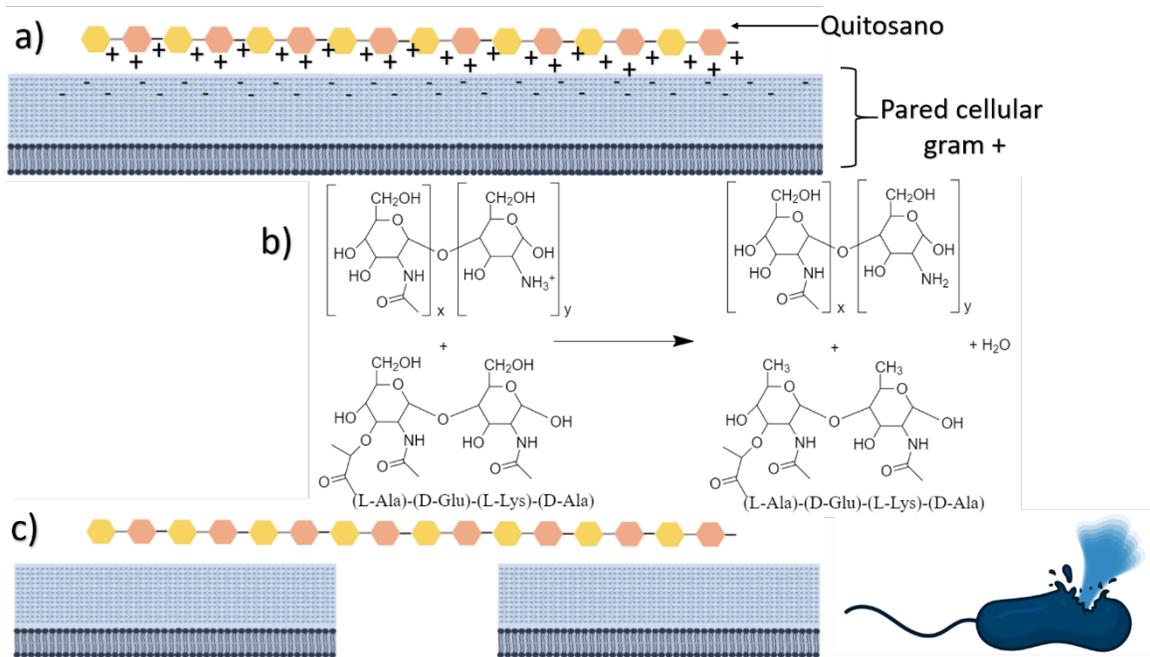


Figura 11. Mecanismo de la acción bactericida del Qt con las bacterias Gram positivas. a) Interacción del Qt con la pared celular b) Reacción de hidrólisis del peptidoglucano con el Qt c) Envoltura celular dañada

Para el caso de las Gram negativas, debido a su composición (figura 12), el Qt realiza cambios en la permeabilidad de la pared celular del microorganismo. Crea uniones iónicas dando como resultado una nueva envoltura (Figura 13a) que impide el paso de nutrientes dentro o fuera del microorganismo así como un cambio en su presión osmótica (Figura 13b), llevándolo a la muerte⁵⁸ (Figura 13c).

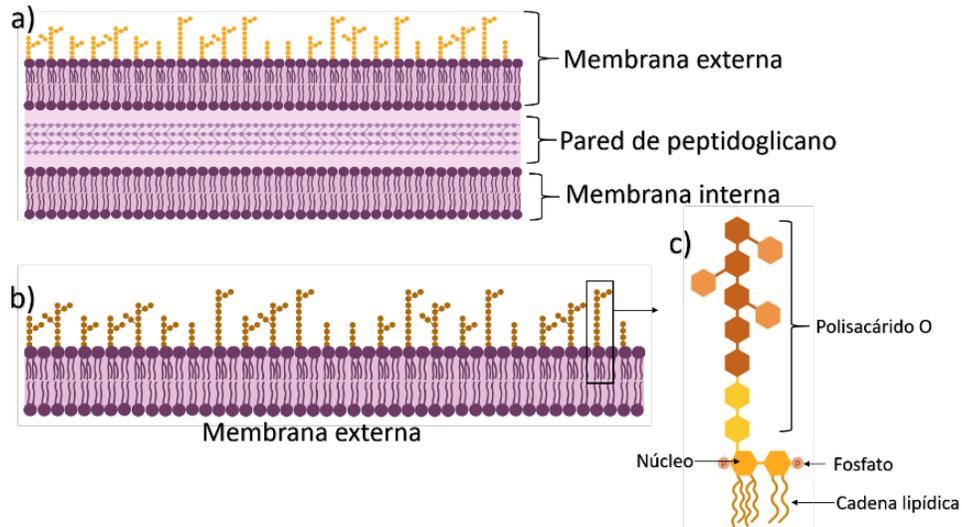


Figura 12. Composición de la envoltura celular de las bacterias Gram negativas. a) Composición de la envoltura celular de las bacterias Gram negativa b) Membrana externa c) Unidad de lipopolisacárido que constituye a la membrana externa

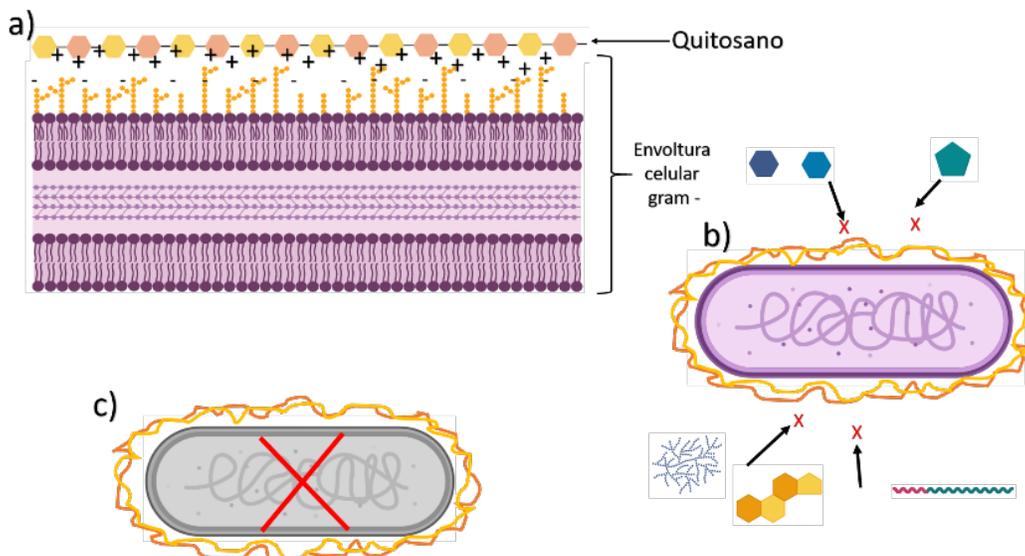


Figura 13. Mecanismo de la acción bactericida del Qt con las bacterias Gram negativas. a) Interacción del Qt con la envoltura celular b) Bloqueo del paso de los nutrientes y cambio en la permeabilidad celular c) Muerte del organismo por falta de nutrientes

1.4 Compósito híbrido de SiO₂/Qt

Los compósitos híbridos inorgánicos/orgánicos han llamado la atención debido a sus propiedades y aplicaciones en las áreas biomédicas. La incorporación de ambos tipos de materiales puede crear nuevas propiedades. De este modo, encontramos que los compósitos híbridos inorgánicos/orgánicos están constituidos por biopolímeros y materiales de naturaleza inorgánica, ya sea metálica o cerámica. Estos materiales son creados debido a que la naturaleza orgánica de los polímeros (como celulosa y derivados de esta; pectinas, lactosa, entre otras²), aumenta la biodisponibilidad y biocompatibilidad en los modelos biológicos evitando reacciones adversas³. Los componentes inorgánicos (como nanopartículas de TiO₂, Fe₂O₃, Au, SiO₂, ZnO³) aportan estabilidad mecánica y química logrando proteger moléculas interiorizadas en estos.

Debido a lo anterior los compósitos de SiO₂/Qt surgen como un material híbrido que pretende conjuntar las propiedades de estabilidad mecánica y química, alta área superficial y capacidad de almacenamiento del SiO₂ junto con las propiedades antibacteriales, de superficie catiónica y permeabilidad celular del Qt. Además que ambos materiales han demostrado biocompatibilidad.

Los sistemas de sílica/Qt han sido desarrollados con distintos propósitos tales como:

- Liberación de fármacos^{6,69,70}: Conjuntando la capacidad de adsorción y alta área superficial de las partículas se usa de adsorbato y se crean recubrimientos con Qt que puede ser modificado para responder a distintos medios.
- Liberación controlada de pesticidas⁷¹: En conjunto con el Qt se emplea glutaraldehído para crear una matriz responsiva a cambios de humedad o luz y se utiliza la sílica como material interno para la retención del agente pesticida.
- Sistemas de adsorción de iones metálicos⁷²: Creando una matriz continua de Qt se depositan partículas en ella de manera que el Qt aumente el tiempo de retención de los iones y la sílica los adsorba creando un enlace con estos con el O de la sílica.
- Como cápsulas responsivas a estímulos³⁴: Se crean microcápsulas de Qt que contienen dentro de sí partículas cargadas con fármacos, los cuales son liberados prolongadamente.

En este proyecto se propone el diseño de un compósito híbrido de SiO₂/Qt para administración de fármacos por vía oral. Se teoriza que el mecanismo de acción será que el compósito se ingiera por la boca y llega directamente hasta el estómago. Una vez ahí, el Qt se empezará a disolver por acción del ambiente ácido de los fluidos gástricos⁷³. Luego, las PmSiO₂ podrían entrar en contacto con las células epiteliales gástricas y, debido a su tamaño, ser introducidas a estas por endocitosis^{3,22}. Esto, podría permitir a las PmSiO₂ pasar directamente la circulación sanguínea y liberar prolongadamente el SMX por su baja solubilidad en el pH sanguíneo (pH≈7.4)³⁴.

Capítulo 2. Síntesis de materiales

2.1 Síntesis de PmSiO₂ con mesoporosidad ordenada

La síntesis de las PmSiO₂ fue basada en el método de Stöber⁷⁴ junto con las modificaciones empleadas por C. Silva¹⁸ de nuestro grupo de investigación (figura 14). Se disuelven 4.4 mmol de surfactante Bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB) (Sigma, E.U.A.) en 500 mL de agua destilada por 5 min a 700 rpm, con la finalidad de que este forme micelas las cuales sirvan de andamiaje para obtener los poros de las PmSiO₂. Luego, se adicionan 16 mL de NH₄OH (J. T. Baker, E.U.A.) para aumentar el pH de la solución y los iones OH⁻ actúen como catalizador en la reacción. Posteriormente se adiciona 17.14 mL del precursor de silanos, Tetraetil ortosilicato (TEOS) (Aldrich, China) por goteo. La temperatura se eleva a 95 °C y se deja reaccionar por una hora con agitación constante a 700 rpm para la formación de las PmSiO₂. Pasado el tiempo, se centrifuga a 15,000 rpm durante 15 min con tres lavados usando una solución etanol-agua (1:1) y centrifugados de 15 min a 15,000 rpm entre cada lavado. Todo esto para remover el tensoactivo y al final recuperar las PmSiO₂. Después se secan a 90 °C por 12 horas y se calcina a 550 °C por 4 h para eliminar humedad, restos del tensoactivo y proporcionar resistencia mecánica al material.

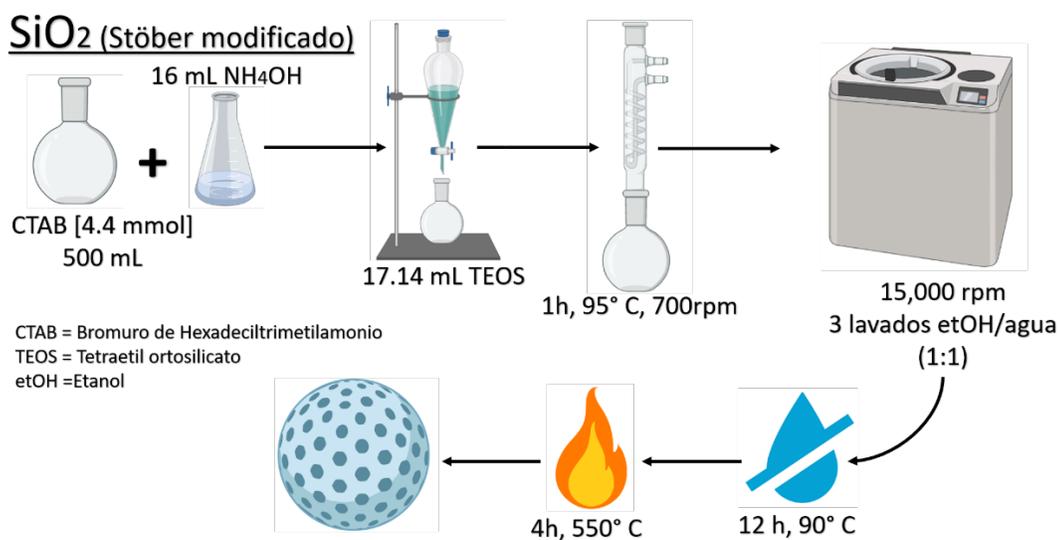
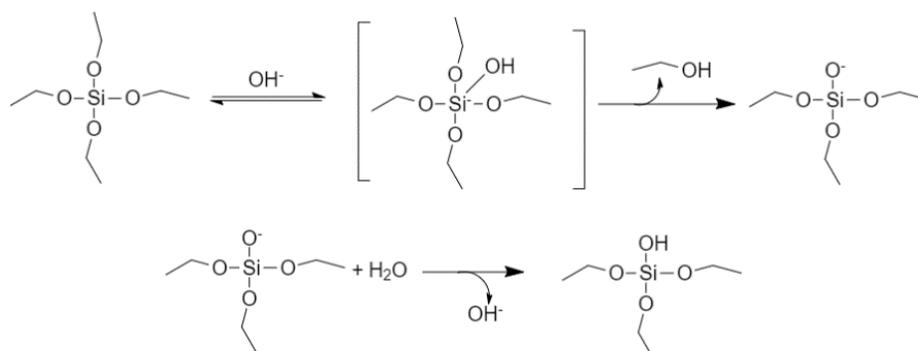


Figura 14. Síntesis de las PmSiO₂ por el método de Stöber modificado.

La síntesis de las PmSiO_2 puede dividirse en dos partes. Primero, la hidroxilación y pérdida de etanol, y segundo, la condensación de las cadenas de siloxano⁷⁵. Al inicio el proceso es acelerado por el OH^- del NH_4OH haciendo un ataque nucleofílico SN_2 al Si y liberando etanol (Figura 15a)⁷⁵. En la segunda parte de la reacción la condensación de los silanol a siloxano libera una molécula de agua formando la estructura característica de la sílica (Figura 15b).

a)



b)

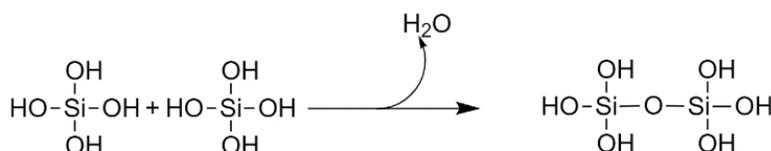


Figura 15. Síntesis de Stöber. a) Hidroxilación y pérdida de etanol b) Condensación de siloxanos

Para la formación de los poros se utiliza al CTAB (figura 16a). Esta molécula está compuesta de una parte polar y otra apolar. Las cabezas polares de los monómeros de CTAB se juntan para formar micelas (figura 16b). Estas micelas se juntan (figura 16c) y serán el andamiaje para la formación de los poros. Sobre de ellas se condensan las cadenas de silanol (figura 16d) para formar los poros⁷⁵.

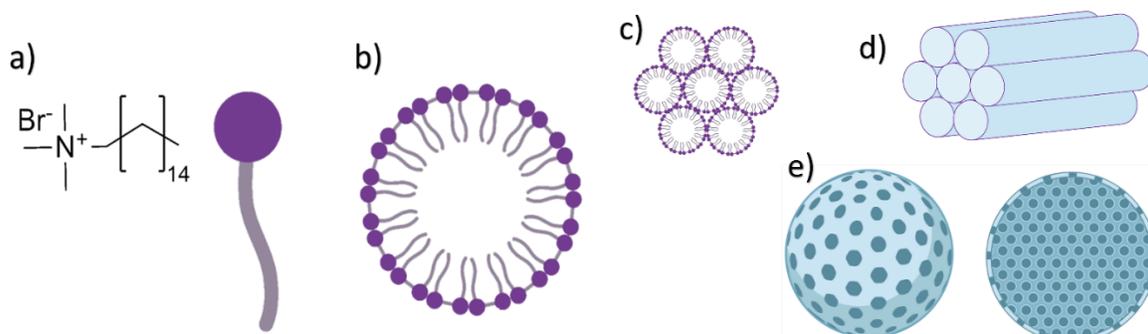


Figura 16. Mecanismo del CTAB. a) Monómero de CTAB b) Micela de CTAB c) Aglomeración micelar d) Formación de los poros de SiO_2 sobre las micelas e) Partícula de SiO_2 . Vista frontal y corte transversal

2.2 Síntesis del Compósito

Como se muestra en la figura 17, la metodología se diseñó para que sea reproducible con los elementos básicos de cualquier laboratorio de síntesis de materiales, sin representar un elevado costo de aplicación. Se debe partir de una solución de 100 mL de Qt 0.2% p/v acidificada al 0.1 M con HCl ($\text{pH} \approx 1$) para solubilizar el Qt. Una vez disuelto, se toman 25 mL de la solución inicial y se le adiciona por goteo NaOH 0.1 M hasta llegar a un $\text{pH} = 6$. Al reducir la acidez del medio se lleva al Qt al punto de cuasi precipitación. Alcanzado el $\text{pH} = 6$ se agregan 0.1 g de PmSiO_2 y se deja la solución por 24 h a 700 rpm para que las PmSiO_2 interaccionen con el Qt. Pasado el tiempo, dejar secar a 80°C por 12 h y se obtiene el CM. La síntesis está diseñada para sintetizar al CM con una proporción de $\text{PmSiO}_2:\text{Qt}$ de 2:1 (0.1 g de $\text{PmSiO}_2/0.05\text{ g}$ Qt)

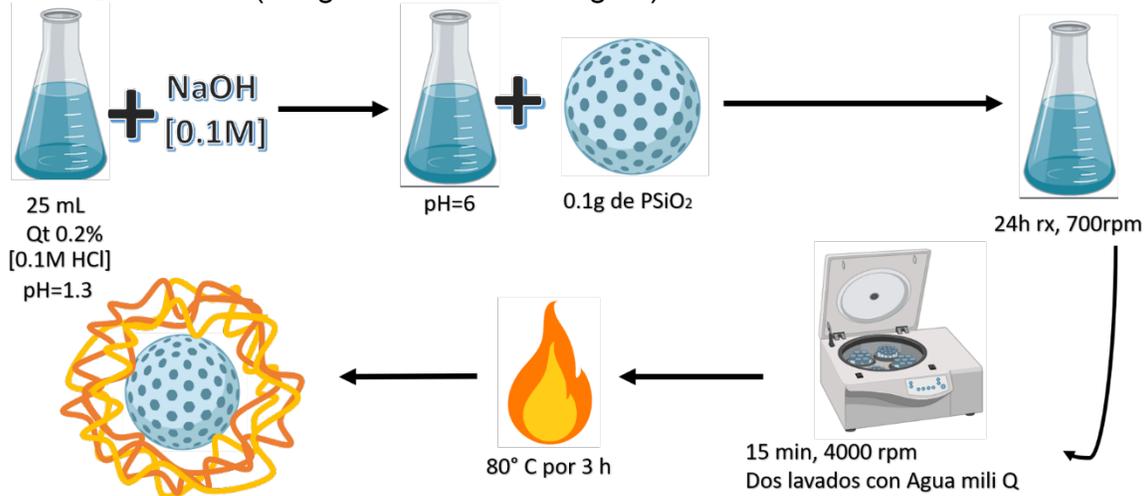


Figura 17. Metodología de síntesis del CM.

La síntesis propuesta está diseñada para favorecer las interacciones entre el Qt y las PmSiO₂ mediante puentes de hidrógeno (figura 18). Los grupos silanol superficiales de las PmSiO₂ pueden actuar como un agente de *entrecruzamiento* con el Qt⁷⁶. Cuando este se encuentra en su forma catiónica al estar cerca de las PmSiO₂ se atraen iónicamente³⁰ por fuerzas electrostáticas e interaccionan por puente de hidrógeno⁶ formando así al CM (figura 19).

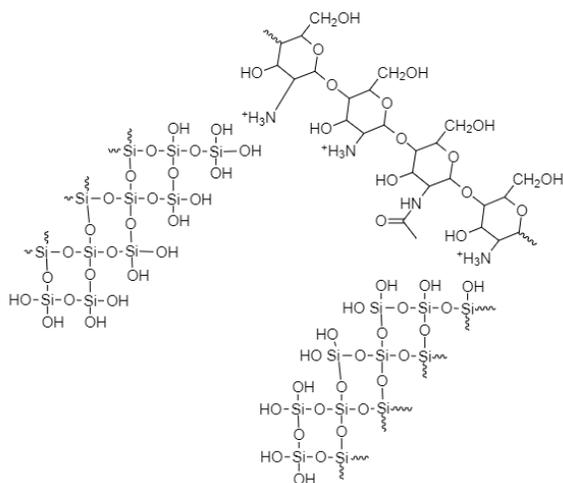


Figura 18. Representación de la interacción entre la sílica y el Qt

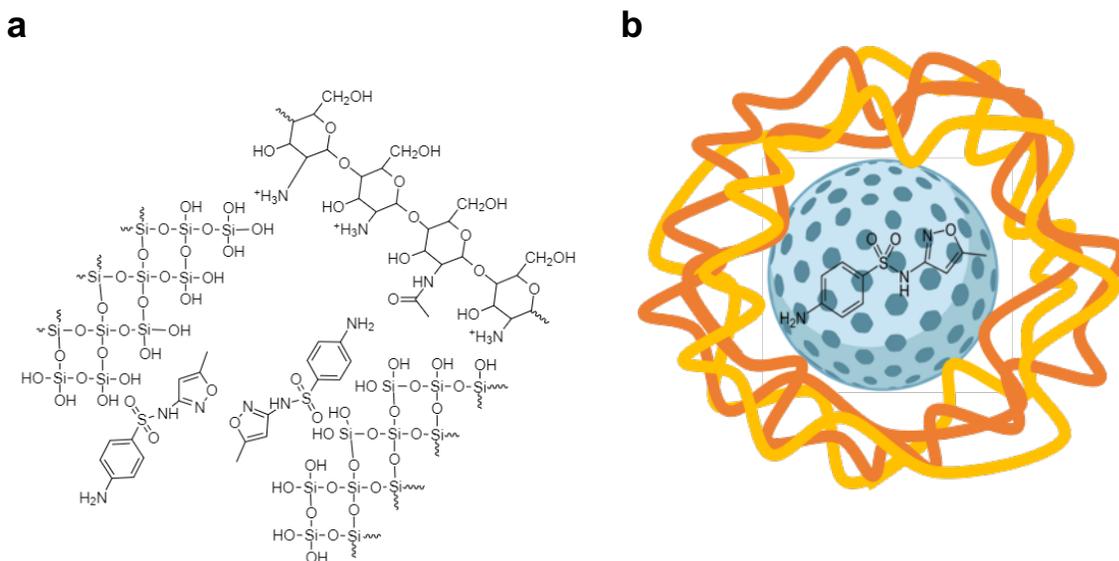


Figura 19. Esquema ilustrativo del CM con SMX a) Representación de las interacciones de los puentes de hidrógeno entre los materiales b) Esquema del CM con SMX

Capítulo 3. Técnicas de caracterización y evaluación

3.1 IRTF (Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier)

Esta técnica se utilizó para identificar y confirmar la presencia de los grupos funcionales principales en la superficie de cada material. Las interacciones entre ellos pueden ser corroboradas mediante esta técnica al observar cambios en las vibraciones de los grupos funcionales. Las principales interacciones entre los materiales es por medio de puentes de hidrógeno^{6,34}, lo cual se refleja principalmente en las bandas pertenecientes a grupos -OH, Si-OH, -NH, -NH₂. Las bandas de vibración de estos grupos se verán desplazadas y/o más anchas debido a la deformación de la vibración por el puente de hidrógeno⁶. La técnica se realizó en un IRTracer-100, de la marca Shimadzu, en un rango de 400 a 4000 cm⁻¹, con una velocidad de barrido de 4 para todas las muestras.

3.2 Espectrofotometría Raman

La técnica fue empleada para complementar y ampliar los resultados obtenidos por IRTF. Con esta técnica es posible identificar vibraciones internas en los materiales. Se usó un espectrómetro InVía MICRORAMAN, de la marca RENISHAW equipado con dos láseres; rojo ($\lambda=633$ nm) y verde ($\lambda=532$ nm). También cuenta con filtros holográficos Notch y un fotodetector para medir la luz dispersada (cámara CCD). Las condiciones de análisis para cada muestra fueron las siguientes:

- PmSiO₂→20 s de exposición al láser verde con 10% de su potencia
- SiO₂SMX→15 s de exposición al láser verde con 100% de su potencia
- Qt→20 s de exposición al láser rojo con 5% de su potencia
- CM→30 s de exposición al láser verde con 10% de su potencia
- CM_{SMX}→15 s de exposición al láser rojo con 1% de su potencia

3.3 DRX (Difracción de rayos X)

En los micro y nanomateriales, es necesario determinar la estructura y grado cristalino de estos para entender sus propiedades físicas. En el caso de la sílica se ha clasificado al cuarzo como cancerígeno del tipo 1, mientras que a la fase amorfa como del tipo 3⁴⁷; no cancerígena. Se utilizó un difractómetro de Rayos-X – SmartLab, de la marca RIGAKU como generador de rayos X, el cual utiliza un tubo de Cu ($\lambda=1.54184$ nm), un detector de alta velocidad “D/teX Ultra” y un filtro para rayos CuK β . Se llevó a cabo la lectura con un intervalo de barrido en 2 θ de 10° a 60°, 40 kV y 44 mA, la velocidad angular del goniómetro fue de 0.1°/s para todas las muestras.

3.4 MEB-ES/EDE (Microscopía electrónica de barrido por electrones secundarios/ Espectroscopía de dispersión de energía)

Resulta importante conocer la morfología y tamaño de los materiales para entender mejor otras de sus propiedades. Mediante la técnica de MEB-ES se caracterizó a los materiales para conocer su morfología. Se utilizó un equipo FEI - ESEM QUANTA FEG-250, con un cañón de electrones (FEG, por sus siglas en inglés) de W con una potencia de haz de 16 kV . Se determinó la morfología de superficie con un detector para electrones secundarios (LFD) a bajo vacío. Adicionalmente, se

utilizó un segundo detector para realizar espectroscopía de dispersión de rayos X (EDE), como análisis semicualitativo elemental de los materiales. Para las mediciones del tamaño promedio de partícula se realizaron con ayuda del software Image J.

3.5 MET (Microscopía electrónica de transmisión)

Los poros en la sílica es una característica sumamente importante para el correcto funcionamiento del compuesto propuesto. Con ayuda de la técnica de MET se buscó caracterizar la presencia y ordenamiento de los poros en las PmSiO₂. Se utilizó un equipo HR-TEM marca FEI, modelo Tecnai F30, equipado con un cañón FEG de W con un detector de amplio ángulo en modo campo oscuro (DAACO). Todas las muestras se colocaron en rejilla de cobre con membrana de carbón y se prepararon por vía seca.

3.6 Fisisorción de N₂ a baja temperatura

Para la determinación del área superficial, volumen, forma, distribución y diámetro de poro se usó un equipo de la marca Quantachrome, modelo NOVA 2200e en modo He. Se utilizaron 30 puntos de adsorción y 30 de desorción para los ensayos, desde 0.005 hasta 0.995 P/Po. Para el análisis de datos se utilizó el software NovaWin versión 11.03. Para calcular el volumen, diámetro y distribución de diámetro de poro se empleó el método basado en la Teoría del Funcional de la Densidad (TFD). Este, proporciona mayor precisión para determinar microporos y mesoporos⁷⁷. Este procedimiento está basado en mecánica estadística y considera fenómenos moleculares en el comportamiento del N₂ para el cálculo. Los modelos de cálculo fueron los siguientes:

- PmSiO₂, SiO₂SMX y CM → N₂ a 77 °K en sílica con poros cilíndricos con adsorción ramificada basada en el modelo de la Teoría del Funcional de la Densidad No Localizada (TFDNL)
- Qt → N₂ a 77 °K en carbón con hendiduras en equilibrio basada en la Teoría del Funcional de la Densidad Sólida por Enfriamiento (TFDSE)

Se usó el modelo BET multipunto para determinar el área superficial específica de todos los materiales. Las temperaturas de desgasificación fueron de 80 °C para el Qt, CM y SiO₂SMX y 180 °C para las PmSiO₂. Se usó 18 h de desgasificación para todas las muestras.

3.7 Potencial ζ

El potencial ζ es la magnitud del potencial electrocinético de un material en una solución determinada, creado en la doble capa interfacial; el punto de unión entre la capa de Stern y la capa difusa (figura 20)⁷⁸. A este parámetro se le atribuye un efecto de carga y ayuda entender la estabilidad de suspensiones y emulsiones⁷⁹. Se busca determinar la estabilidad del Qt y PmSiO₂ en la solución de síntesis del CM. Además se pretende caracterizar la carga de cada material cuando se encuentran en la solución durante la síntesis del CM y entender el tipo de atracción que pueda existir entre ellos. El análisis se realizó en un equipo Zetasizer Nano ZS90 de la marca Malvern. Los ensayos independientes se realizaron en agua ajustada a pH=6 con HCl 0.5 M e NaOH0.5 M y por triplicado en un intervalo de 4 min. Se utilizó 1 mg de muestra en 100 mL de solución.

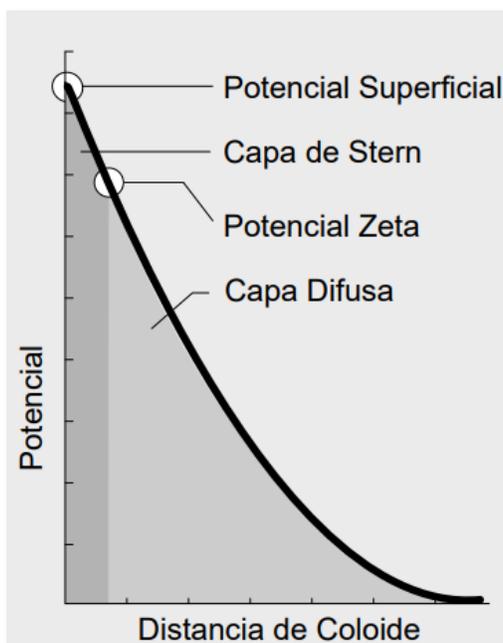


Figura 20. Potencial ζ y potencial superficial. Imagen tomada de <http://depa.fquim.unam.mx/>⁸⁰

3.8 Adsorción de SMX

El protocolo de adsorción de SMX en las PmSiO₂ (figura 21) se basó en la metodología propuesta por C. Silva¹⁸. Consistió en disolver 80 mg de SMX en 5 mL de etanol, posteriormente se adicionaron 0.04 g de PmSiO₂. Se sometió a baño sónico por 5 min. Se dejó interaccionando por 24 h a 700 rpm. Pasado el tiempo se centrifugó la solución a 4,000 rpm y se secaron las partículas al vacío a 45 °C por 3 h.

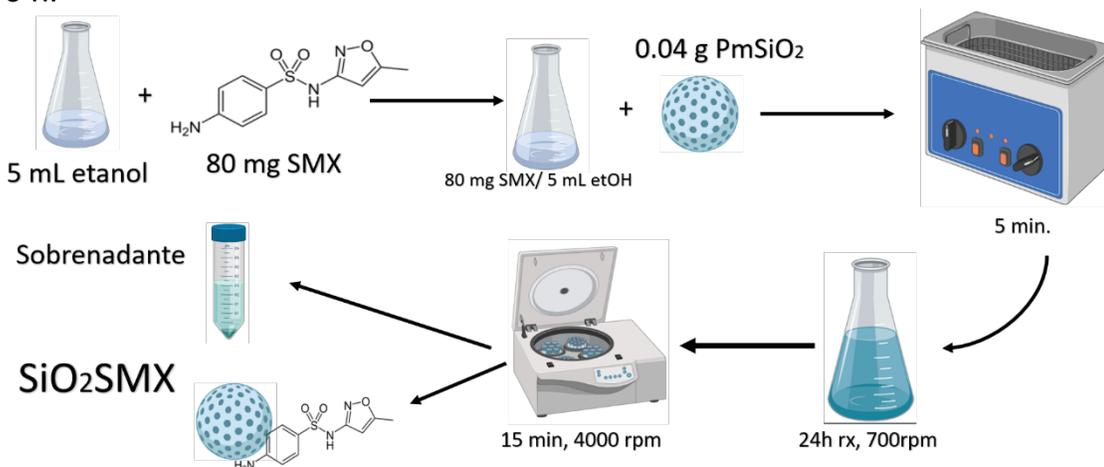


Figura 21. Metodología de adsorción de SMX en las PmSiO₂.

Se obtuvo la ecuación de la recta, en base a la calibración con espectrofotetría UV-Vis, y a partir de ella se calculó los mg de SMX presentes en el sobrenadante, el cual sería la cantidad no adsorbida del total disuelto (0.08 g). Por lo tanto, este dato se le resta a la cantidad de gramos disueltos en la solución inicial y así obtener los gramos adsorbidos. Se realizaron tres ensayos de adsorción de SMX independientes.

$$x = \frac{y - 0.0074}{0.0803} = \text{ppm en el sobrenadante diluído} \quad (1)$$

$$(\text{ppm en el sobrenadante})(\text{Factor de dilución } 300) = \text{ppm reales} \quad (2)$$

$$\left(\frac{\text{ppm reales}}{1000 \text{ ml}}\right)\left(\frac{5 \text{ mL}}{1}\right) = \text{g no adsorbidos} \quad (3)$$

$$\left(\frac{\text{g no adsorbidos}}{0.08 \text{ g disueltos}}\right) 100\% = \% \text{ no adsorbido} \quad (4)$$

$$100\% - \% \text{ no adsorbido} = \% \text{ adsorbido de sulfametoxazol} \quad (5)$$

3.9 Liberación de SMX

Para evaluar el mecanismo y cinéticas de liberación del CM y las PmSiO₂, se usaron 3 distintos medios para observar su comportamiento en diferentes ambientes. Se usó Solución buffer de fosfatos (SBF, pH=7), agua (pH=4) y Solución de fluidos gástricos simulados en ayuno (FGSA, pH=2) como medios de evaluación. El último se seleccionó ya que así obtendremos información acerca del comportamiento del compósito en el ambiente estomacal. Dichas evaluaciones se realizaron todas por triplicado a 37 °C, usando 0.005 g de material en 5 mL de medio evaluación, 125 rpm de agitación por 4 h y tomando una muestra inicial después de 1 min (Liberación Inmediata "LI") y cada 30 min, ya que con estas condiciones se pretende simular el ambiente estomacal. Así mismo, para cada medio de evaluación, se realizó una curva patrón para interpolar los resultados obtenidos y determinar las concentraciones liberadas por medio de interpolación. La longitud de onda de mayor absorbancia (Abs) para el SMX fue diferente en cada uno de los medios de evaluación (Anexo 1. Figura 1-3)

3.9.1 Parámetros

Existen distintos modelos matemáticos que ayudan a entender y describir el mecanismo de liberación de fármacos⁸¹. Dentro de los más usados para evaluar se propone el modelo de cinética orden cero como el ideal en los excipientes clásicos ya que describe una liberación que depende únicamente de la solubilidad de la molécula (figura 22a)⁸². En contraste, un modelo de primer orden se caracteriza por la dependencia de la liberación en función de la concentración de la molécula en el medio (figura 22b)⁸².

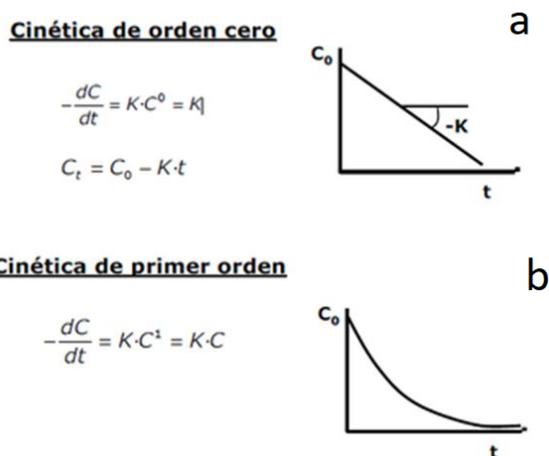


Figura 22. Modelos de liberación a) Orden cero b) Primer orden⁸²

Otro de los más usados es el de Korsmeyer-Peppas (K-P), el cual describe el mecanismo de liberación de un sistema polimérico. En este modelo se describen mecanismos que suceden a la par, tales como la difusión de agua dentro de la matriz polimérica, el hinchamiento de la matriz y la disolución de la misma⁸¹. Con ayuda de este modelo es posible determinar si la liberación sucede o no por el mecanismo de Fick⁸³. En este, se propone que la difusión de las moléculas sucede

por un gradiente de concentración. Pasando de una zona de mayor concentración hacia una de menor hasta llegar a un equilibrio, donde la tasa de transporte es directamente proporcional al gradiente de concentración⁸³. A esta zona la denomina como capa de difusión (figura 23).

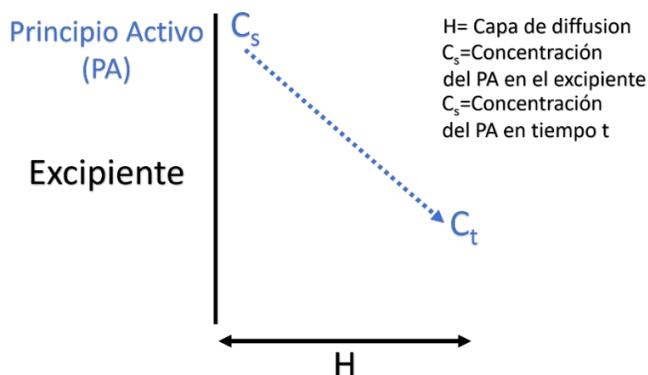


Figura 23. Modelo de difusión por capa de difusión

El modelo de KP plantea la siguiente ecuación:

$$\frac{M_t}{M} = k_{KP} t^n \quad (6)$$

Donde M_t corresponde a la cantidad de fármaco liberado en un tiempo t , M es la cantidad de fármaco total disponible (por lo tanto " M_t/M " es la fracción de la concentración del fármaco en un tiempo t). k_{KP} es la constante de liberación de Korsmeyer-Peppas (que incorpora características estructurales y geométricas del sistema)¹⁸. t es el tiempo de liberación y n es el exponente de difusión o exponente de liberación de fármaco que indica el mecanismo mediante el cual ocurre la liberación del fármaco^{18,83,84}.

Como se muestra en la tabla 1, de acuerdo al modelo de Korsmeyer-Peppas cuando $n=0.5$ el mecanismo de difusión obedece a la ley de Fick. Si $n \leq 0.45$ el mecanismo responde a la ley de Fick además que describe una liberación controlada^{81,85,86} (sin embargo cuando el sistema de encapsulación es esférico y $n < 0.43$ se puede considerar que el mecanismo de difusión de Fick viene implícito⁸¹). Si $0.5 < n < 0.89$ Se describe un transporte clasificado como anómalo⁸⁶. Cuando $n=0.89$ se describe un caso de super transporte II y cuando $n > 0.89$ corresponde a un caso de super transporte tipo III, los cuales corresponden a mecanismo por erosión y no por difusión^{83,87}.

Tabla 1. Modelo de difusión en función del valor de n

Valor de n	Tipo de difusión
$n \leq 0.45$	Mecanismo de Fick y liberación controlada
$n = 0.5$	Mecanismo de Fick
$0.5 < n < 0.89$	Transporte anómalo
$n = 0.89$	Súper transporte II
$n > 0.89$	Súper transporte III

Por lo tanto, a partir de la ecuación (6) se le aplica \log y se puede determinar n tratando a la ecuación como una del tipo $y=b+mx$:

$$\log\left(\frac{M_t}{M}\right) = \log(k_{KP}) + n \log(t) \quad (7)$$

Graficando $\log(M_t/M)$ (o lo que es lo mismo, $\log[\% \text{ liberación}]$) vs $\log(t)$, se logra ajustar los resultados al modelo de Korsmeyer-Peppas y obtener la ecuación de la gráfica resultante. La pendiente de la recta obtenida es el valor de $n^{18,83}$.

Para determinar el modelo que mejor se ajusta para describir las cinéticas de liberación se grafican los modelos y se obtiene el valor de R^2 para cada gráfica. El valor que más se acerque a 1 será el que mejor describa el mecanismo de liberación.

3.9.2 Solución de Fluidos Gástricos Simulados en Ayuno (FGSA)

Se sintetizó una solución de fluido gástrico simulado en ayuno usando la composición propuesta por M. Marques⁸⁸. Simulando este medio podremos obtener información sobre cómo podría ser la cinética del CM en el estómago del paciente. Para 100 mL de solución se usó las siguientes cantidades:

Tabla 2. Composición de la solución de FGSA

Reactivo/Parámetro	Concentración
Taurocolate de sodio hidratado (Sigma-Aldrich, Italia)	80 μM
Lecitina (Merck Milipore, Alemania)	20 μM
Pepsina (Golden Bell, México)	0.01 g/ 100 mL
NaCl (Sigma-Aldrich, E.U.A.)	34200 μM
pH	2

3.10 Prueba de hemólisis

La hemólisis es la ruptura de los eritrocitos, causando la liberación de la hemoglobina. La determinación del potencial hemolítico es uno de los parámetros que ayudan a determinar la biocompatibilidad de un material⁷⁴. Además, la mayoría de los nanomateriales y micromateriales entrarán en contacto con el tejido sanguíneo ya sea por su tamaño o por la ruta de administración elegida, por lo que determinar la capacidad hemolítica es fundamental⁸⁹. Se realizaron tres ensayos por separado basados en la metodología propuesta por I. Medina Ramírez⁹⁰, la cual consta de la obtención del tejido sanguíneo y almacenamiento en tubo con heparina. Luego, se prepara una serie de tubos de ensayo con 100 µL de sangre como se indica en la tabla 3. Para las soluciones de los materiales, se parte de una solución de ácido acético al 1% (peso/volumen). Se agrega cada material para obtener una concentración de 10 mg/ mL. Se adicionan 10 mL de SSF a cada tubo y se mantiene en incubación por 5 h a 37 °C y 65 rpm. Posterior a esto, se centrifugan los tubos a 3500 rpm por 5 min. Se toma una muestra de cada tubo y se analiza por espectroscopía UV-Vis a 540 nm para determinar el porcentaje de hemólisis. Para calcular el porcentaje hemolítico se usa la siguiente ecuación :

$$\left(\frac{Abs\ muestra}{Abs\ control\ positivo} \right) * 100 = \% \text{ de hemólisis}$$

Donde la Abs del control positivo corresponde al 100% de hemólisis y 0% para el control negativo

Tabla 3. Cantidades a usar para la preparación de la prueba de hemólisis

Tubo	Conc. de material (mg/mL)	Solución de material añadido (µL)	Sangre (µL)	Agua (mL)	Sol. Salina fisiológica (mL)
Control -	0	0	100	0	10
1	0.1	10	100	0	10
2	0.3	30	100	0	10
3	0.6	60	100	0	10
4	0.9	90	100	0	10
Control +	0	0	100	10	0

Capítulo 4. Resultados

4.1 Resultados de síntesis de PmSiO_2 con mesoporosidad ordenada

4.1.1 Morfología y textura de las PmSiO_2

En la figura 24a se presenta una micrografía representativa obtenida por MEB-ES de las partículas sintetizadas. En ella, puede observarse la morfología esférica de las partículas. El histograma (figura 24b) obtenido a partir del conteo de 150 partículas en distintas micrografías, muestra un valor promedio de 218 nm de diámetro en un rango de 100 a 350 nm. Los resultados concuerdan con lo reportado en la tesis de maestría de C. Silva¹⁸, partículas esféricas con distribución normal. Kwon et al.³ reporta que se han sintetizado partículas de SiO_2 con diámetros similares usando la misma metodología de síntesis. También se ha reportado que, nanopartículas con diámetros entre 70 a 300 nm son biocompatibles con células animales^{3,22}. De acuerdo a la literatura, la toxicidad de la sílica amorfa depende de la porosidad, tamaño de partícula y carga superficial²². Estudios demuestran que partículas de SiO_2 con características similares inducen su potencial citotóxico en base a la producción de especies reactivas de oxígeno causadas por el estrés oxidativo y no por daño físico a las membranas⁹¹.

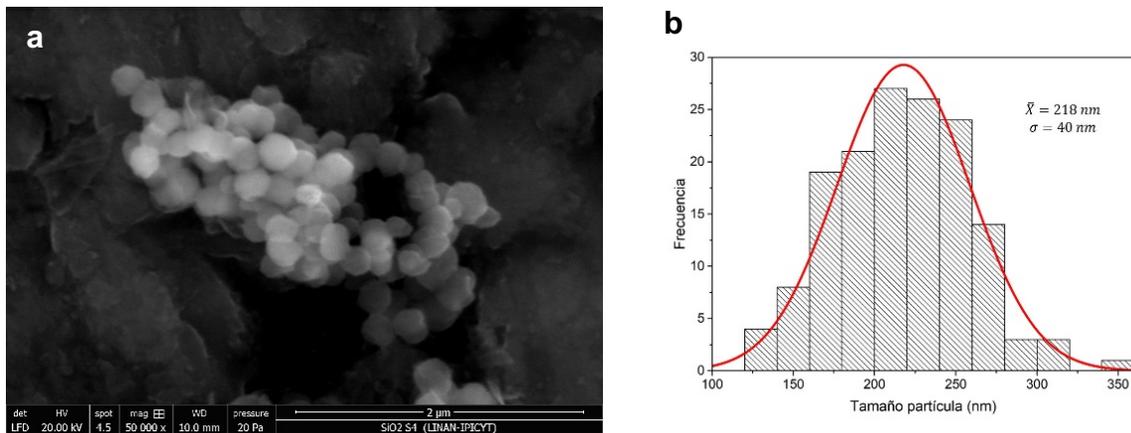


Figura 24. Morfología y diámetro de las PmSiO_2 . a) Micrografía obtenida por MEB-ES de las PmSiO_2 a 50,000x. Puede identificarse la monodispersión de las partículas b) Histograma del diámetro promedio de partícula de SiO_2 . El diámetro promedio de partícula es de $218 \pm 40 \text{ nm}$ (N=150).

En la figura 25, micrografía obtenida por MET con un detector DAACO, se aprecian los poros con arreglo hexagonal en su acomodo. Así mismo, muestran forma tubular con distribución ordenada, características que concuerdan con lo reportado en la literatura cuando se usa la síntesis de Stöber modificada^{18,92}.

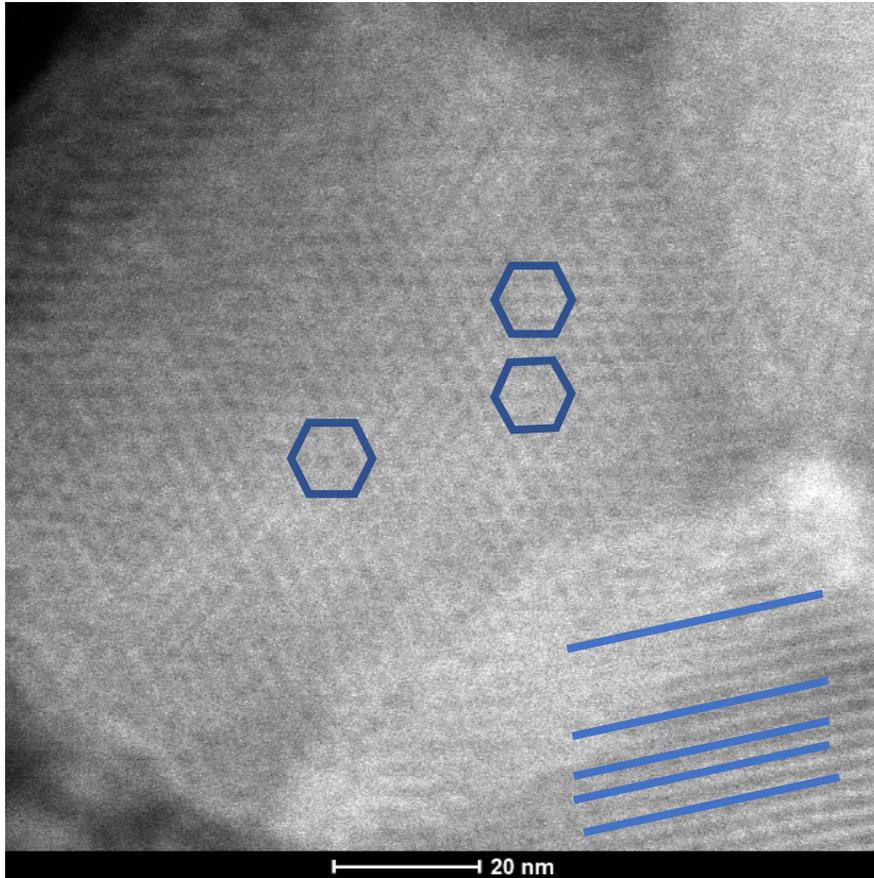


Figura 25. Micrografía obtenida por MET con un detector DAACO de las PmSiO₂ donde se aprecia su porosidad

El área superficial específica resultó de 377 m²/g. El diámetro promedio de poro es de 3.8 nm en un intervalo de 2 nm a 5 nm (figura 26b). El volumen de poro es 0.393 cm³/g de acuerdo al método sustentado en la TFD. Basados en la clasificación de la IUPAC, debido al diámetro de poro del material y la isoterma que se muestra en la figura 26a, el material se clasifica como mesoporoso⁷⁷. Adicionalmente el ciclo de histéresis de la figura 26a, clasificado como tipo H2a, corresponde a materiales mesoporosos ordenados⁷⁷. El modelo de cálculo que mejor se ajusta al material (tabla 4), describe un tipo de porosidad tubular interconectada como se muestra en los resultados por MET (figura 25). Por lo tanto, con base en la clasificación de la IUPAC⁷⁷, se describe a un material mesoporoso ordenado con poros cilíndricos interconectados. De acuerdo a la literatura, materiales de SiO₂ sintetizados por la misma ruta presentan características similares a las obtenidas^{19,93}. Por lo que la ruta síntesis resulta adecuada para sintetizar partículas mesoporosas.

Tabla 4. Resultados de la caracterización por fisisorción de N₂ de PmSiO₂

Parámetro	Resultado PmSiO ₂
Área superficial	377 m ² /g
Diámetro de poro	3.8 nm
Vol. de poro	0.393 cm ³ /g
Tipo de isoterma	IVa
Tipo de porosidad	Mesoporoso
Tipo de histéresis	H2a
Error de cálculo	1.591%
Modelo de cálculo	N ₂ a 77 °K en sílica con poros cilíndricos con adsorción ramificada basada en la TFDNL

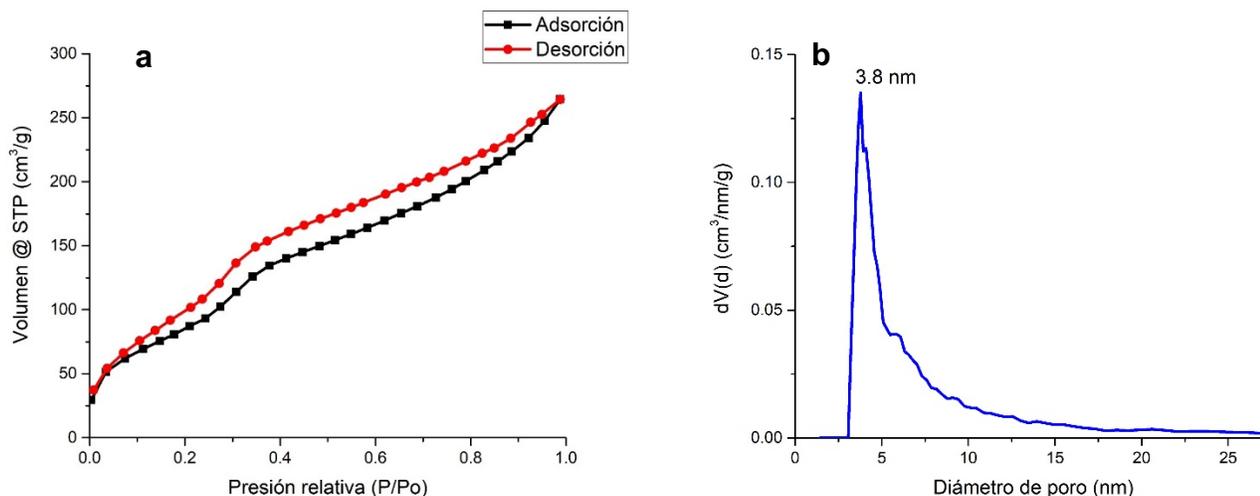


Figura 26. Resultados del análisis por fisisorción de N₂. a) Isotherma de adsorción/desorción de PmSiO₂. b) Distribución de diámetro de poro de PmSiO₂

4.1.2 Microestructura de las PmSiO₂

En la figura 27, se muestra el difractograma de rayos X de las PmSiO₂ y la carta cristalográfica [SiO₂, ICDD 00-029-0085]. Se observa una amplia reflexión con mayor intensidad en los 22° 2θ, fenómeno que se reporta para materiales mesoporosos de SiO₂ sintetizados por métodos similares¹⁸. Esto demuestra que las partículas sintetizadas están en fase amorfa. A este tipo de material se le refiere comúnmente como sílica amorfa⁹⁴⁻⁹⁶. Por lo tanto, la biocompatibilidad de las PmSiO₂ aumenta al encontrarse en esta fase. Se reporta que no induce una respuesta inflamatoria y no está clasificado como un posible cancerígeno²¹.

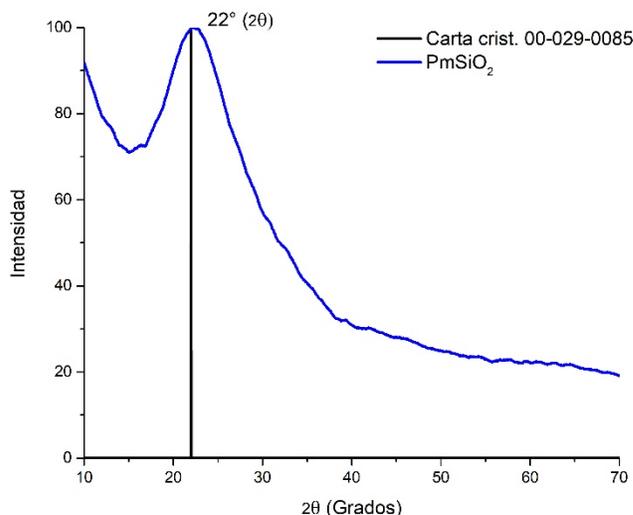


Figura 27. Difractograma de DRX de PmSiO₂ sintetizado

Se realizó un análisis por EDE para identificar la composición química del material, el perfil resultante concuerda a lo propuesto (SiO₂). Como se observa en la figura 28, las señales correspondientes a la energía dispersada de Si y O se muestran presentes en la sílica sintetizada. Las demás señales presentes corresponden a elementos metálicos ubicados en el porta muestras.

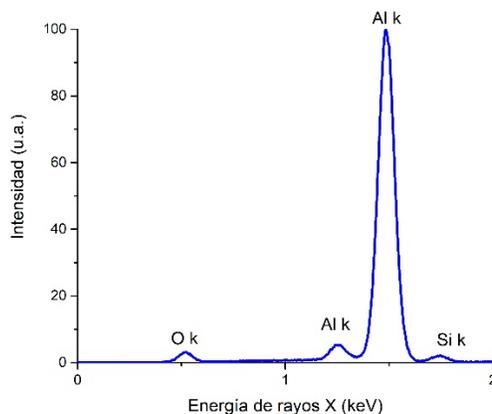


Figura 28. Espectro EDE del PmSiO₂ sintetizado

Se identificaron las vibraciones correspondientes a los grupos funcionales superficiales de las PmSiO₂. En la figura 29 se muestra el espectro de IRTF, de acuerdo a la literatura concuerda con la forma característica del espectro de materiales sintetizados por el mismo método de síntesis⁹⁷. Para el grupo funcional siloxano se identificó la banda en 572 cm⁻¹, que corresponde a una vibración de balanceo en el enlace Si-O^{97,98}. En 804 cm⁻¹ corresponde una vibración de doblamiento simétrico en los enlaces Si-O-Si⁹⁷. En 1056 cm⁻¹ corresponde a un estiramiento transversal óptico⁹⁷ del enlace Si-O en siloxanos cíclicos⁹⁸ y el hombro en la región de 1226 cm⁻¹ corresponde a un estiramiento longitudinal óptico⁹⁷.

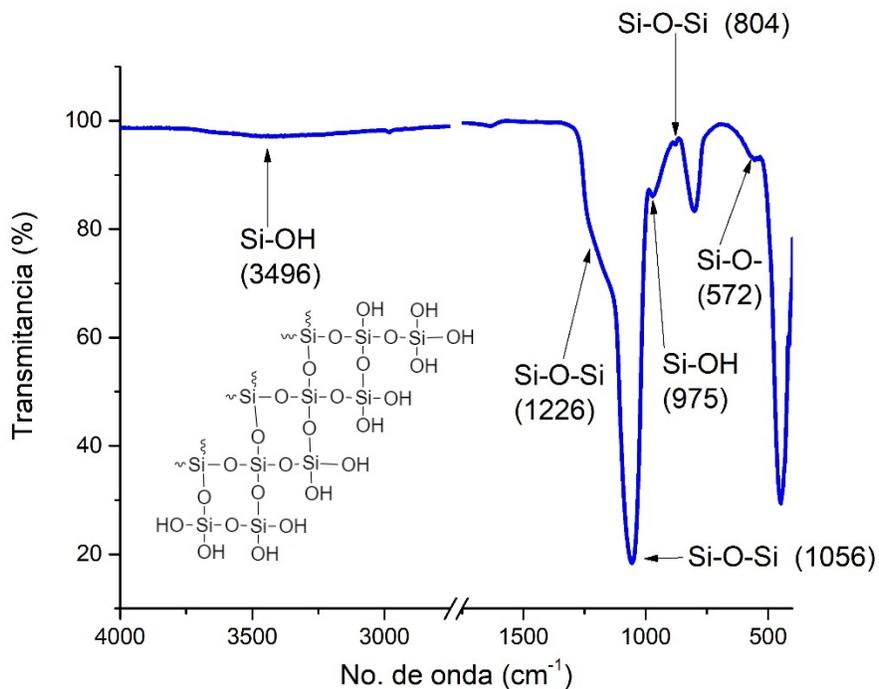


Figura 29. Espectro IRTF de PmSiO₂ y estructura superficial de las PmSiO₂

Usando espectrofotometría Raman se complementaron los resultados obtenidos por IRTF, observando los grupos funcionales estructurales del material. En la región de $3000\text{-}3800\text{ cm}^{-1}$ de la figura 30, se encuentran las bandas (3423 y 3247 cm^{-1}) correspondientes a la vibración de estiramiento del grupo silanol⁹⁹. La banda en 976 cm^{-1} corresponde al estiramiento del enlace Si-O⁹⁷. En los 798 cm^{-1} se registró la banda de la vibración simétrica del grupo Si-O-Si, correspondiente al esqueleto de las PmSiO_2 ⁹⁷ y en los 472 cm^{-1} se registra la vibración de estiramiento y relajación del anillo de siloxanos (con aproximadamente 3 o 4 unidades⁹⁷).

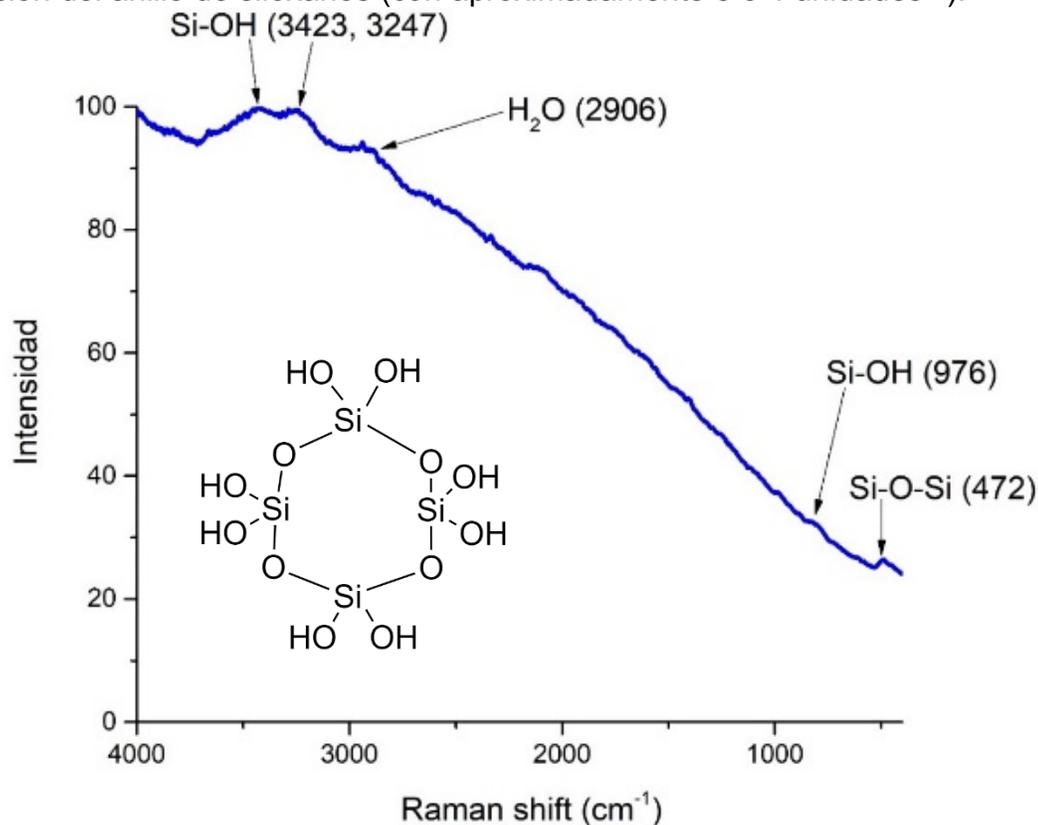


Figura 30. Espectro Raman de las PmSiO_2 y su estructura interna

4.2 Propiedades adsorptivas y adsorción de SMX en las PmSiO₂

La adsorción de los fármacos en las PmSiO₂ se lleva a cabo por fisorción¹⁰⁰; producto de interacciones del tipo π - π ¹⁰¹, atracciones electrostáticas⁵⁵ y principalmente por puentes de hidrógeno^{51,102,103}. De acuerdo con la literatura, suceden entre el grupo silanol de las partículas de SiO₂^{51,102} y los grupos amino, metil y sulfa del SMX¹⁰² (figura 31). Esto quiere decir que las interacciones entre las PmSiO₂ y el SMX se da por fenómenos físicos, lo que no altera la composición de ningún material.

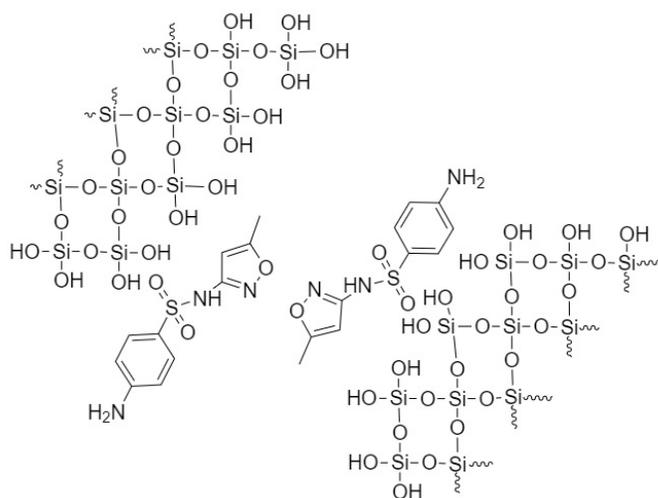


Figura 31. Interacción de las PmSiO₂ con el SMX por medio de puentes de H.

4.2.1 Resultados de adsorción de SMX

Se determinó la capacidad de adsorción, usando el SMX como fármaco modelo, mediante un cálculo indirecto por interpolación. Se realizó una curva de calibración de SMX en etanol, usando espectrofotometría UV-Vis, con una correlación de $R^2=0.9994$, como se muestra en la figura 32.

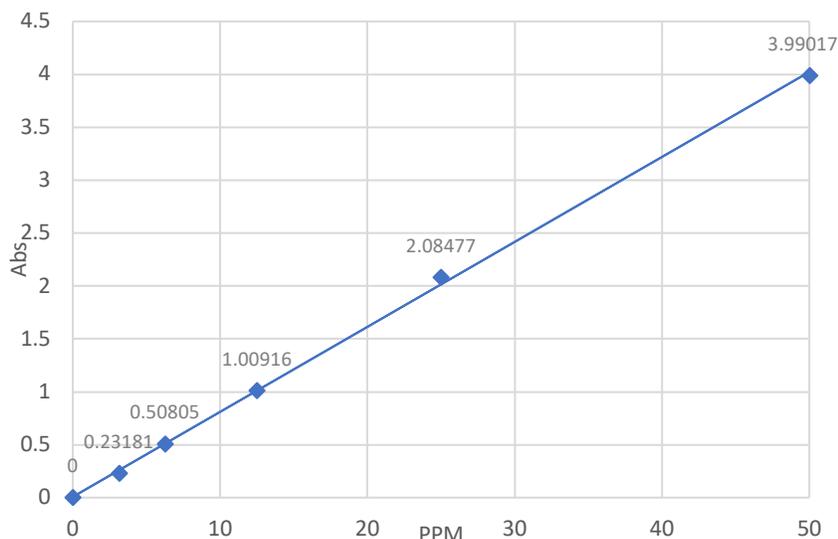


Figura 32. Curva de calibración de SMX por espectrofotometría UV-Vis. La ecuación de la recta es $y=0.0803x+0.0074$ con $R^2=0.9994$

La longitud de onda seleccionada para medir la absorbancia (Abs) fue en 270 nm, que es donde el SMX muestra su mayor punto de absorbancia en etanol. Como se aprecia en la figura 32, las absorbancias muestran valores elevados (mayores a 1), resultado de las altas concentraciones usadas para la calibración. Esta vibración es atribuida al cromóforo *Benceno-SO₂-NH₂*^{41,104} (figura 3) de la molécula, que posee varios enlaces π - π entre sus átomos. Por lo tanto, existen varias transiciones del tipo $\pi \rightarrow \pi^*$, además de las tipo $n \rightarrow \pi^*$ ¹⁰⁵. La literatura describe que, cuando existen estas transiciones ($\pi \rightarrow \pi^*$) el máximo de absorbancia se ve afectado por efectos batocrómicos¹⁰⁶. Fenómeno presente en los análisis, ya que al disminuir el pH del medio de evaluación de liberación, el máximo de absorbancia cambió a una longitud de onda mayor debido a la protonación del SMX¹⁰⁵ (Anexo 1. pH=7, $\lambda_{max}=257$ nm; pH=4, $\lambda_{max}=266$ nm; pH=2, $\lambda_{max}=269$ nm).

Basados en los análisis por IRTF (figura 29) las bandas correspondientes a los grupos silanol se encuentran en una mucho menor proporción que las de siloxanos¹⁰⁷ (18% Si-O-Si y 86% Si-OH de transmitancia). Por lo tanto existe una limitada cantidad de grupos silanol, lo que influye en el porcentaje de adsorción⁵¹. Como se muestra en la tabla 5 en promedio se adsorbió 18% del SMX disuelto, equivalente a 0.015 g de SMX en 0.04 g de PmSiO₂. Por lo tanto la capacidad de adsorción de las PmSiO₂ es de 375 mg SMX en 1 g PmSiO₂. De acuerdo al trabajo de V. Morales et al.¹⁰⁸, las PmSiO₂ muestran mejores resultados de adsorción

cuando estas se funcionalizan con Bromuro de tetrahexilamonio (THAB). Esto aumenta la cantidad de sitios de unión en las PmSiO₂ permitiendo una mayor adsorción. En dicho trabajo utilizan metilprednisolona (MTP) como fármaco modelo y las PmSiO₂ (455 m²/g área superficial, 0.73 cm³/g volumen de poro) funcionalizadas con THAB junto con C₆₀ como sitio de anclaje. En sus resultados ellos lograron adsorber como máximo 137 mg de MTP por g de SiO₂, mientras que en nuestro modelo se logró la adsorción de 375 mg SMX por g SiO₂. Esto demuestra que nuestro material fue capaz de adsorber SMX sin ser funcionalizado, haciendo más eficiente y menos costosa la metodología propuesta. Factor importante, ya que hace que el CM conlleve un costo menor en su fabricación.

Tabla 5. Resultados obtenidos en las adsorciones de SMX

Muestra	Abs	ppm	% adsorbido
A	3.42	43	18
B	3.60	45	19
C	3.37	42	18
Promedio	3.46	43	18

4.2.2 Propiedades de las PmSiO₂ después de la adsorción

Posteriormente al proceso de adsorción las PmSiO₂ sufrieron cambios texturales. Como se muestra en la tabla 6, el volumen de poro y el área superficial disminuyeron significativamente (31% y 45% respectivamente). La forma y tipo de la isoterma permanecieron igual, así como el tipo de histéresis. El SMX al no adherirse en las paredes de los poros sino en la superficie externa bloqueó a los poros, disminuyendo así el volumen de poro (figura 33b)¹⁰⁹. Adicionalmente, el área superficial también disminuyó (figura 33a). Debido a la interacción de las PmSiO₂ con el SMX en condiciones de alta presión. Se indujo una compresión de los materiales; reduciendo así la superficie de contacto. Como se muestra en la figura 33b la dispersión de la distribución del diámetro de poro en SiO₂SMX se redujo, acción causada por la aglomeración del material. Estas características coinciden con lo reportado en materiales con características similares. El AEROSIL® 200¹¹⁰, material usado como excipiente, al igual que las PmSiO₂ está compuesto de SiO₂. De acuerdo al fabricante Evonik este material al combinarse con fármacos, se caracteriza por su capacidad de compresibilidad al someterse a condiciones de alta presión¹¹⁰.

Tabla 6. Resultados de la caracterización por fisisorción de N₂ de PmSiO₂ y SiO₂SMX

Parámetro	Resultado PmSiO ₂	Resultado SiO ₂ SMX
Área superficial	377 m ² /g	207 m ² /g
Diámetro de poro	3.8 nm	3.8 nm
Vol. de poro	0.393 cm ³ /g	0.271 cm ³ /g
Tipo de isoterma	IVa	IVa
Tipo de porosidad	Mesoporoso	Mesoporoso
Tipo de histéresis	H2a	H2a
Error de cálculo	1.591%	1.704 %
Modelo de cálculo	N ₂ a 77 °K en sílica con poros cilíndricos con adsorción ramificada basada en la TFDNL	

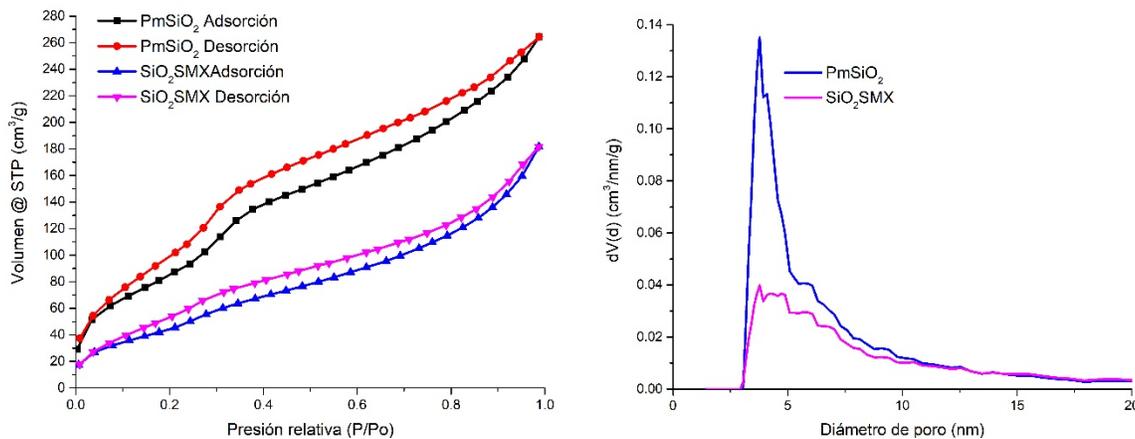


Figura 33. Resultados de fisisorción de N₂ a baja temperatura a) Isotherma de adsorción/desorción de PmSiO₂ y SiO₂SMX b) Distribución de diámetro de poro de PmSiO₂ y SiO₂SMX.

En la figura 34c se muestra el espectro IRTF de las PmSiO₂ después de la adsorción. El resultado es similar al de las PmSiO₂ (figura 34a) pero con nuevas bandas de vibración atribuidas a la presencia del SMX (Figura 34b). En la figura 34c, en los 554 cm⁻¹ se muestra la banda de vibración correspondiente a la vibración de estiramiento en el enlace C-S⁹⁸. En 570 cm⁻¹ la vibración de estiramiento del enlace C-S- del grupo =C-S-⁹⁸. En 928 cm⁻¹ la banda de vibración del enlace N-S¹⁰². En el rango de 500 a 600 cm⁻¹ se encuentra las bandas de vibración del enlace C-S del grupo =C-S-. Una de las bandas más importantes está en 682 cm⁻¹ ya que corresponde a un puente de hidrógeno fuerte debido al grupo S=O en el grupo funcional -SO₂NH-⁹⁸. Con esto se comprueba la presencia del SMX en las PmSiO₂.

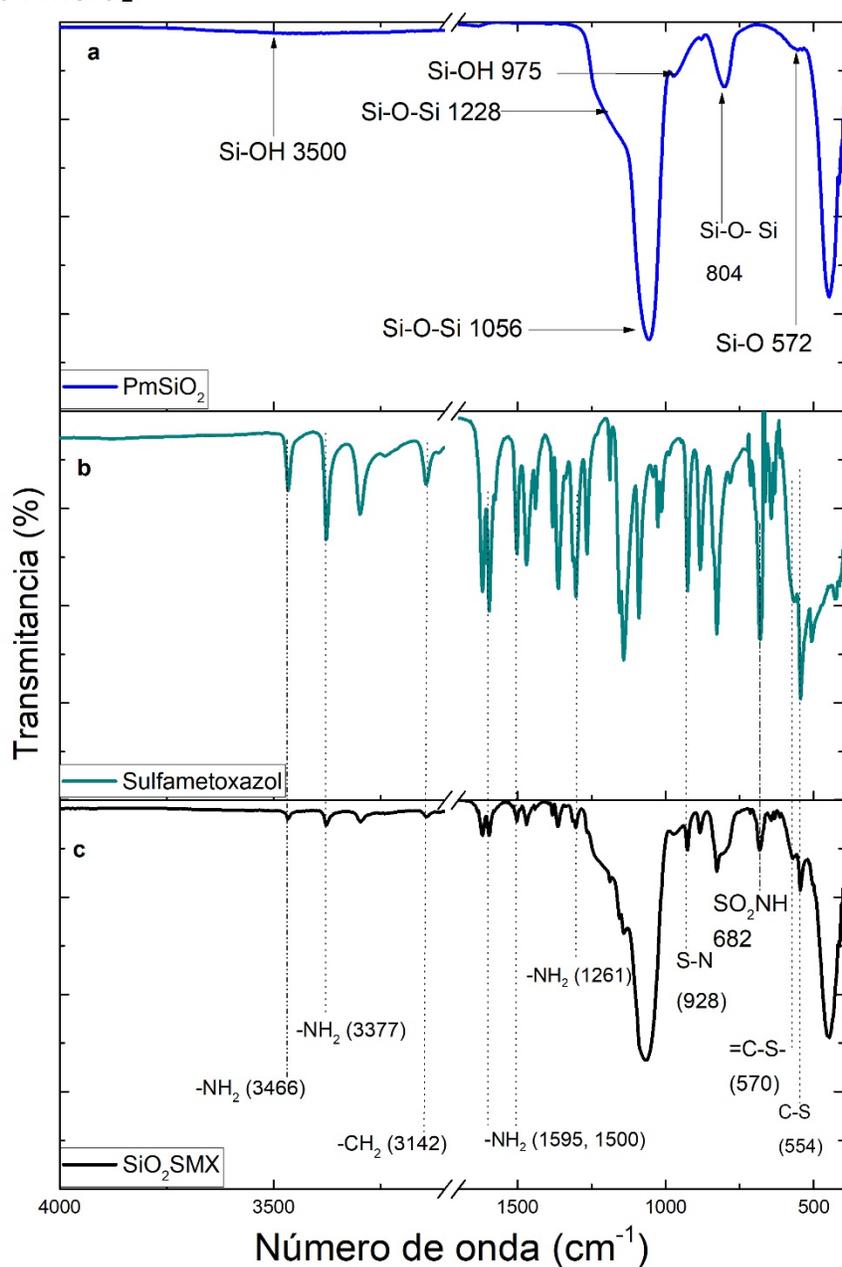


Figura 34. Espectro IRTF de a) PmSiO₂ b) SMX c) SiO₂SMX

Para corroborar los análisis por IRTF se usó espectrofotometría Raman. Como se observa la figura 35, en los 2927 cm^{-1} se encuentra la banda de vibración de estiramiento de los grupos silanol^{98,99} y en 114 cm^{-1} , la banda de vibración del esqueleto de siloxano. Las bandas que confirman la presencia de SMX son las siguientes. En los 1607 cm^{-1} se registra la banda de vibración de estiramiento de los enlaces C=C de un anillo bencénico^{98,111} y en 830 cm^{-1} , la vibración de deformación fuera del plano (2H) de un benceno 1,4 di sustituido⁹⁸. En 3065 cm^{-1} se identificó la banda de vibración de estiramiento de una amina primaria⁹⁸. En 1454 cm^{-1} la banda de vibración de aleteo de una amina secundaria⁹⁸. También se registraron las bandas de vibración de estiramiento asimétrico¹¹¹ en los 1316 cm^{-1} y la banda de vibración de estiramiento simétrico en los 1167 cm^{-1} en los enlaces O=S=O del grupo sulfonamida⁹⁸.

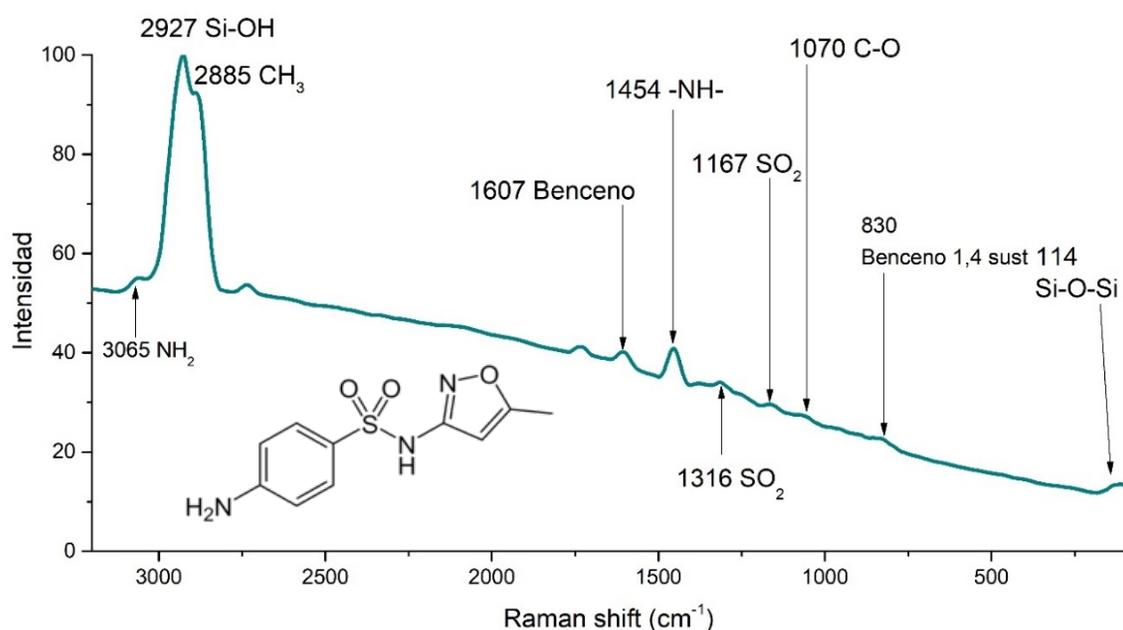


Figura 35. Espectro Raman de SiO_2SMX y molécula de SMX

4.3 Resultados de la síntesis del excipiente avanzado PmSiO₂/Qt

4.3.1 Caracterización del Qt

El Qt es clasificado como un biopolímero, y es común que este tipo de materiales sean irregulares en su morfología. En la figura 36 se muestran micrografías representativas del Qt. Es visible que las partículas no exhiben una forma definida, (figura 36a) pero sí muestra una superficie texturizada (figura 36b)⁵⁷. De acuerdo a la literatura, el Qt en su forma prístina muestra micropartículas con formas irregulares o en ojuelas⁷.

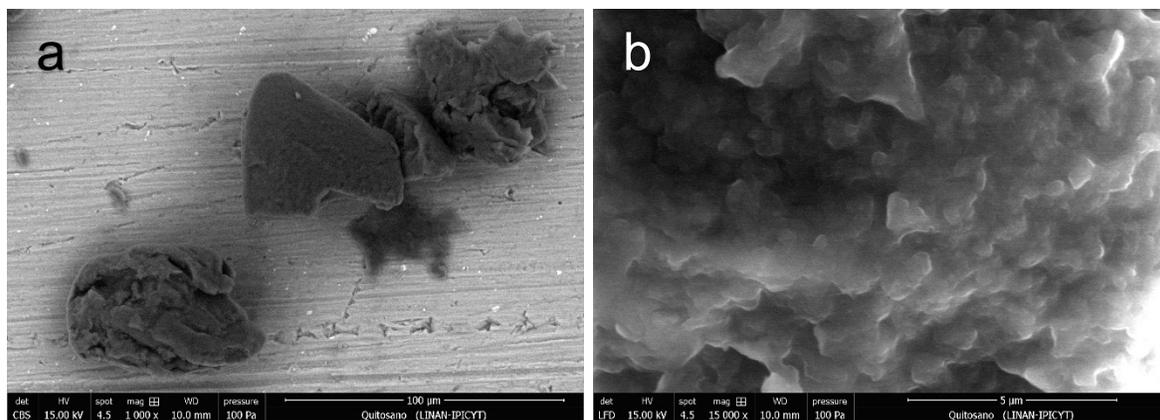


Figura 36. Micrografía del Qt obtenidas por MEB-SE. a) Micrografía a 1,000x de partículas de Qt. b) Micrografía a 15,000x donde se muestra la rugosidad de la superficie.

El Qt prístino (figura 36), muestra una isoterma del tipo II (figura 37a) causada por un crecimiento ilimitado de la multicapa en zonas de 0.5-0.9 P/Po⁷⁷. Además, revela un diámetro promedio de poro de 2.8 nm sin embargo, también muestra distribución heterogénea en un rango de 2-8 nm (Figura 37b). El modelo de cálculo con mejor ajuste (tabla 7), describe un material con superficie texturizada y hendiduras en la superficie⁷⁷. Por lo tanto basados en la clasificación de la IUPAC⁷⁷, el modelo de cálculo, la isoterma, el tipo de histéresis y las micrografías obtenidas en MEB-SE (figura 36); Se describe a un sólido irregular con superficie microporosa.

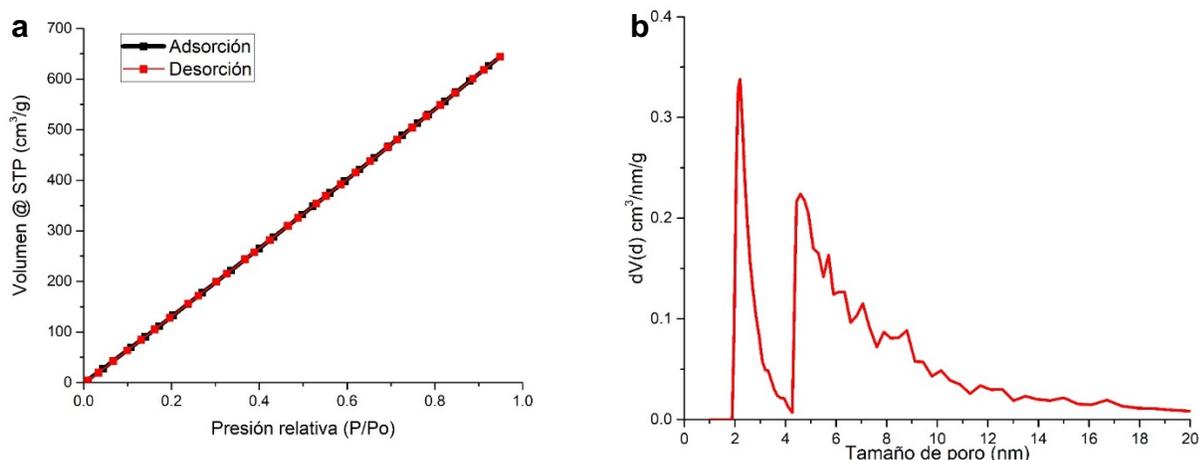


Figura 37. Isothermas de adsorción/desorción y distribución de volumen de poro. a) Isothermas de adsorción y desorción del Qt. b) Distribución de diámetro de poro del Qt.

Tabla 7. Resultados de la caracterización por fisisorción de N₂ a baja temperatura del Qt

Parámetro	Resultado
Área superficial	1264 m ² /g
Diámetro de poro	2.8 nm
Vol. de poro	0.9 cm ³ /g
Tipo de isoterma	II
Tipo de porosidad	Microporoso
Tipo de histéresis	H1a
Error de cálculo	6.8%
Modelo de cálculo	N ₂ a 77 °K en carbón con hendiduras en equilibrio basada en la TFDSE

De acuerdo al difractograma de rayos X y comparándolo con la carta cristalográfica [Quitosano, ICDD 00-067-1540] (figura 38), el Qt muestra un bajo grado de cristalinidad. F. Feng et al.¹¹² muestra resultados similares en sus difractogramas, usando un Qt con 91% GD describe un material con un grado de cristalinidad de aproximadamente 21%. Por lo tanto, en base a los análisis DRX, fisisorción de N₂ y MEB-SE (figura 36), el Qt se caracteriza como un sólido semiamorfo con morfología irregular y superficie texturizada con hendiduras.

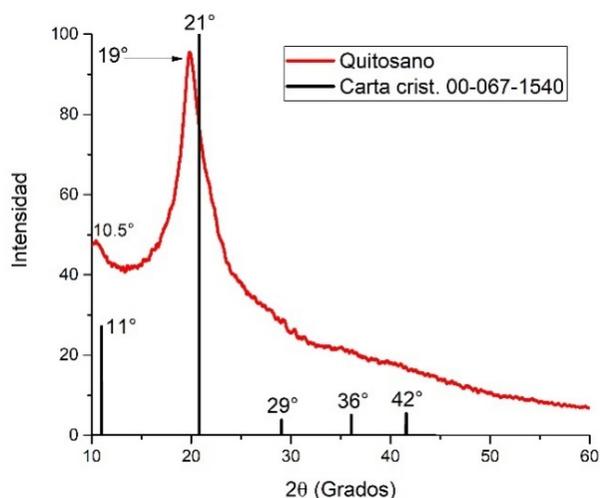


Figura 38. Difractograma de rayos X del Qt

Por su origen orgánico el Qt está compuesto de C, O e H, lo cual se observa (a excepción del H, el cual no es posible detectar mediante esta técnica) en el análisis semicualitativo por EDE (figura 39). Estos mismos elementos son los que componen los grupos funcionales registrados en los análisis por IRTF y espectrofotometría Raman.

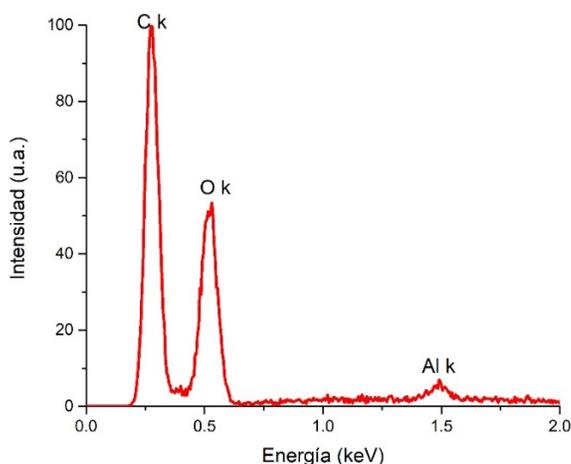


Figura 39. Espectro obtenido por EDE del Qt de la figura 36

En la figura 40, se muestra el espectro obtenido por IRTF. En los 891 cm^{-1} está la vibración de estiramiento simétrico del grupo C-O-C, característico del anillo de piranosa en el Qt¹¹³. Las bandas en 1026 cm^{-1} y 1058 cm^{-1} corresponden al estiramiento en el enlace C-O del grupo éter^{64,113}. En 1149 cm^{-1} se registra la vibración asimétrica del estiramiento del grupo C-O-C^{64,113}. En el caso del grupo metil (-CH₃) se ubican distintas bandas. En 985 cm^{-1} se registró la vibración de vapooleo simétrico de los enlaces C-H¹¹³. En 1323 cm^{-1} un doblamiento simétrico¹¹³, así como en 1373 cm^{-1} y en 2870 cm^{-1} un estiramiento asimétrico^{64,98,113} del grupo metil. Para el grupo amino (-NH₂) también se identificaron varias bandas. La primera ubicada en 1197 cm^{-1} que corresponde a un movimiento de balanceo del enlace N-H¹¹³. En 1587 cm^{-1} un vibración de doblamiento simétrico en H-N-H^{64,113}. En 1656 cm^{-1} se registra una banda correspondiente a la vibración de estiramiento del enlace C=O de una amida primaria (R-CO-NH₂)^{64,113} y en la banda 3356 cm^{-1} un estiramiento asimétrico del grupo -NH₂^{98,113}.

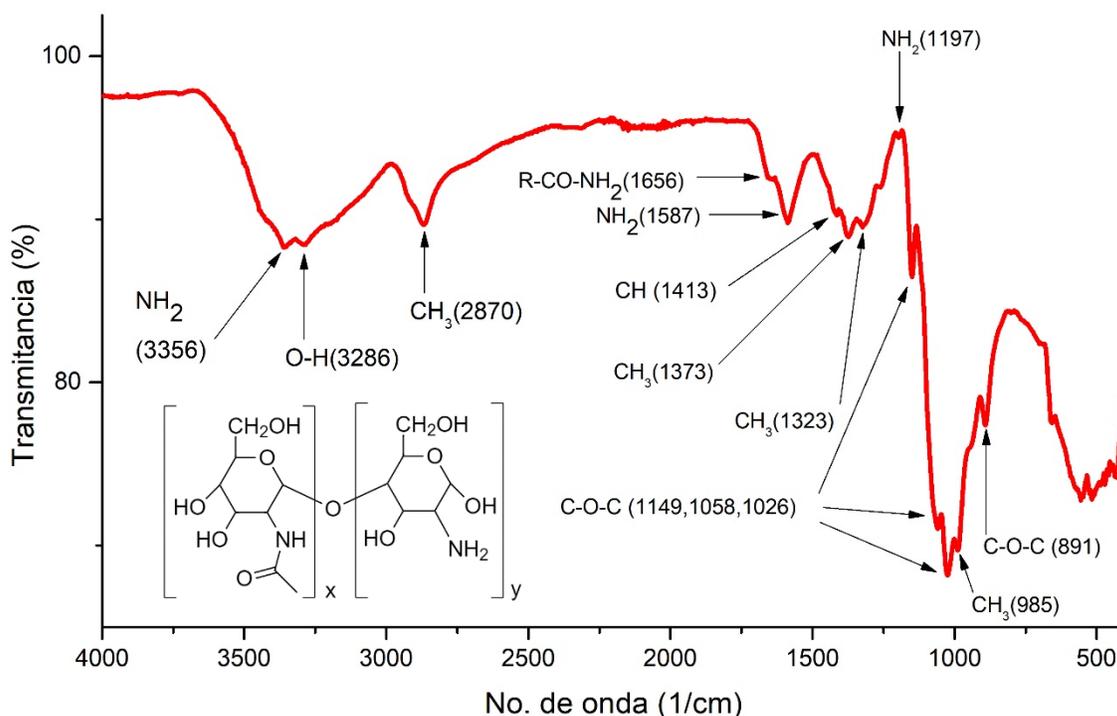


Figura 40. Espectro IRTF del Qt y estructura del Qt.

En la figura 41, espectro obtenido por espectrofotometría Raman. Se encuentran las vibraciones en 508 cm^{-1} y 896 cm^{-1} correspondientes a una vibración de doblamiento fuera del plano en el grupo C-O-C del anillo de piranosa del Qt, así como un estiramiento simétrico del mismo grupo, respectivamente¹¹⁴. En la banda de los 1108 cm^{-1} se observa la vibración general de las aminas primarias⁹⁸. La banda de los 1594 cm^{-1} pertenece a la vibración de tijereteo en los enlaces H-N-H^{98,114} y en la banda ubicada en 3308 cm^{-1} corresponde a un estiramiento simétrico del grupo amino debido a la posible influencia de puentes de hidrógeno¹¹⁴. Por último, se encontraron las bandas correspondientes a carbonos intermedios del esqueleto de la molécula, en 1268 cm^{-1} se encuentra la banda correspondiente a una vibración de deformación en el plano^{98,114}, en 1470 cm^{-1} la banda perteneciente a una deformación asimétrica del grupo metil de una amida⁹⁸ ($\text{CH}_3\text{-NH-CO-CH}_3$).

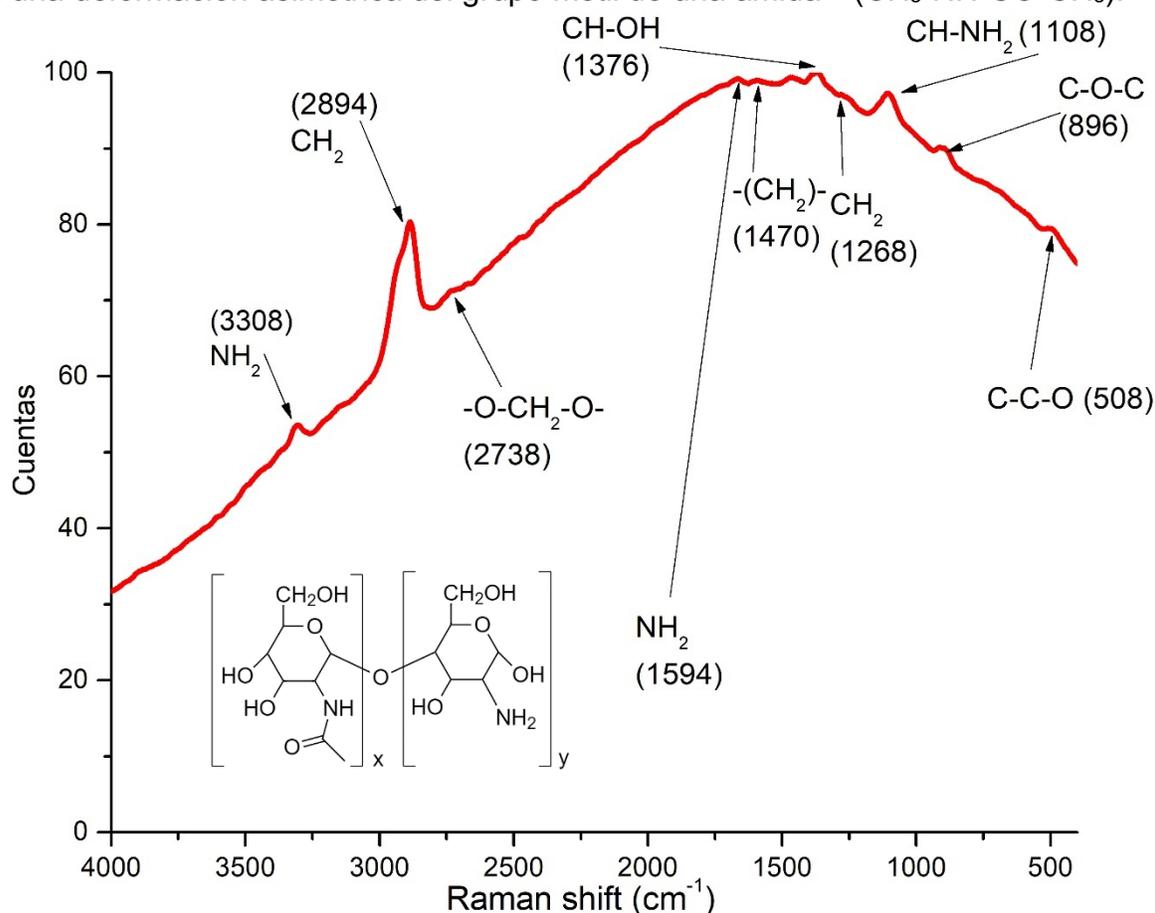
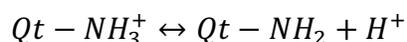


Figura 41. Espectro Raman y molécula del Qt.

4.3.2 Estabilidad de la solución de síntesis del CM

Los resultados de la tabla 8 y 9 describen soluciones con una carga neta elevada en su potencial ζ ($P\zeta > |20| \text{mV}$) cuando el medio tiene $\text{pH}=6$. En comparación con las PmSiO_2 (figura 42), la desviación estándar en los resultados del Q_t describe una solución que va perdiendo carga neta (figura 43), y por lo tanto estabilidad ($\sigma_{\text{SiO}_2}=1.10$ y $\sigma_{Q_t}=3.11$). De acuerdo con la literatura esto sucede por el carácter de ácido débil del Q_t , además que su transición de estado soluble-insoluble sucede en el rango de $\text{pH}= 6.0-6.5$ ($\text{pK}_a=6.3$)^{31,84}, reflejado por la reacción reversible:



Además, por la carga de signo contrario de cada material en el pH de la solución de síntesis (tabla 8 y 9), se comprueba la atracción electrostática entre las PmSiO_2 y el Q_t ^{34,115}.

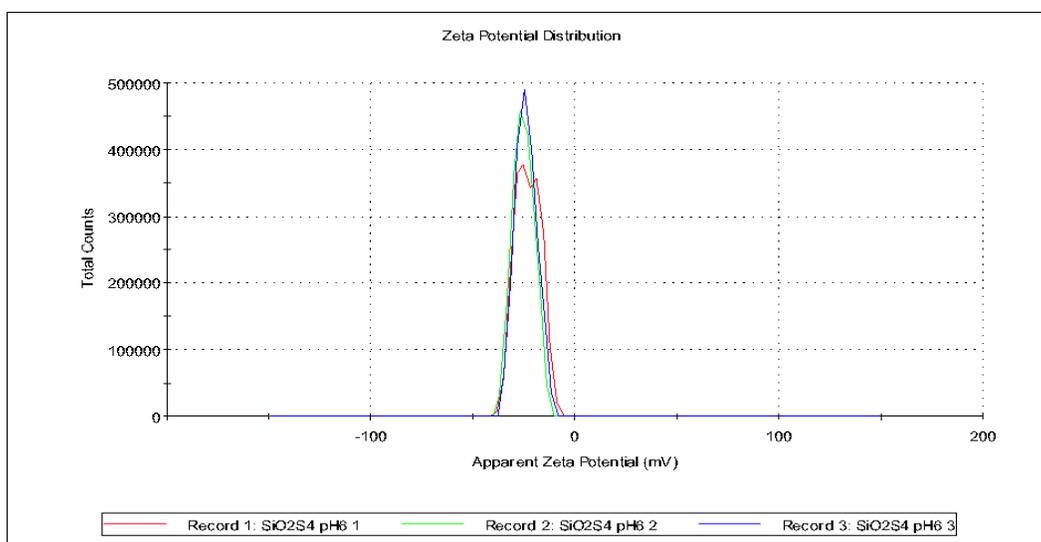


Figura 42. Distribución del potencial ζ de las PmSiO_2 en $\text{pH}=6$

Tabla 8. Resultados del análisis del potencial ζ para las PmSiO_2 en $\text{pH}=6$

Muestra PmSiO_2	ζP (mV)	Conductividad (mS/cm)
1	-22.9	0.05
2	-25.1	0.04
3	-23.9	0.04
Promedio	-24	0.05
Desv. Std.	1.1	0.004

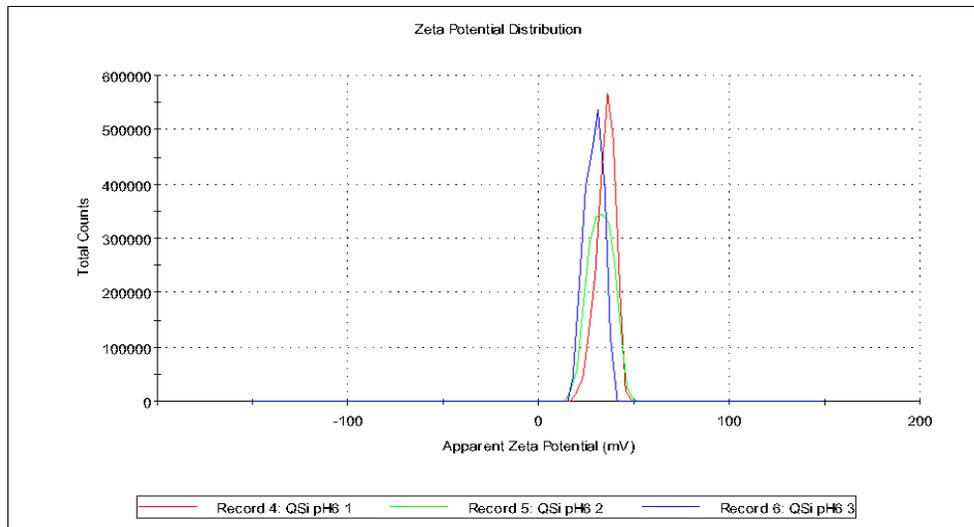


Figura 43. Distribución del potencial ζ del Qt en pH=6

Tabla 9. Resultados del análisis del potencial ζ para las Qt en pH=6

Muestra Qt	ζP (mV)	Conductividad (mS/cm)
1	35.3	0.13
2	32.6	0.13
3	29.1	0.13
Promedio	32.3	0.13
Desv. Std.	3.11	0.001

4.3.3 Propiedades texturales del excipiente

En la figura 44 se presenta una micrografía representativa del CM obtenida por MEB-ES, donde el Qt parece recubrir a las PmSiO₂ de manera uniforme. En comparación a la micrografía en la figura 37, el Qt demuestra un comportamiento totalmente distinto una vez disuelto en la solución para sintetizar el CM. Cuando el pH < 7, el Qt en su forma catiónica adquirió un grado de repulsión entre sus cadenas, permitiéndole formar estructuras similares a hojas extendidas y otras, dobladas^{30,34} (figura 44). De acuerdo a la literatura, usando la técnica de *electrorrotación* es posible obtener nanofibras de Qt. Usando fuerzas de repulsión eléctrica se consiguen distintos radios y formas, sin embargo no se muestran resultados similares a los nuestros. Se postula que el origen de estas delgadas estructuras es causado por fuerzas como puentes de hidrógeno^{48,116,117}. Esta misma característica de carga positiva en el Qt y la carga negativa en las PmSiO₂, inducen atracciones electrostáticas entre los materiales^{30,34}.

Gaware et al. (2019) plantea la síntesis del CM con una solución inicial de Qt al 2% p/v, una concentración diez veces mayor a la propuesta⁶. Las síntesis iniciales de este proyecto también se hicieron a partir de la concentración antes propuesta y se obtuvieron estructuras muy distintas a las que antes se presentan (Anexo 2, figuras A2.1 a A2.6). En estas se puede encontrar una densidad de Qt mayor, lo que causa que el Qt que recubra a las PmSiO₂ atrapándolas en una matriz del polímero (Anexo 2, figuras A2.1 y A2.2). También se encontraron estructuras con diámetros de 1 hasta 5 μm con formas irregulares. En el anexo 2, las figuras A2.3 y A2.4 muestran micrografías obtenidas por MEB con una forma similar a un toroide. En la figura A2.5 y A2.6, se muestran micrografías con una partícula esférica de Qt con PmSiO₂ en su superficie recubiertas de Qt. En comparación, el CM seleccionado para este proyecto muestra una densidad de distribución de Qt menor. Por lo tanto, la morfología del CM se ve influenciada por la cantidad de Qt presente en él.

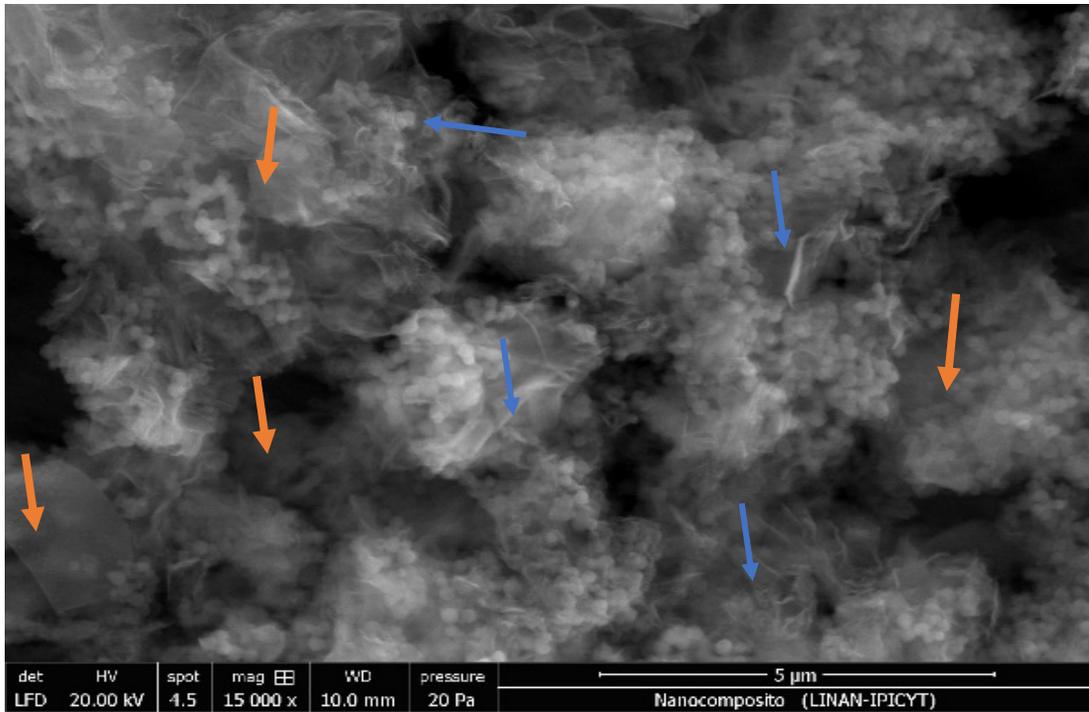


Figura 44. Micrografía obtenida por MEB-ES a 15,000x del CM. Puede identificarse la monodispersión de las PmSiO₂ en hojas translucidas corrugadas de Qt. En azul, se señalan estructuras similares a pliegues y en naranja las hojas

Las características texturales del CM resultan muy distintas a las de los materiales precursores. La isoterma del CM, obtenida por fisisorción de N₂, es del tipo IVa lo que describe a un material mesoporoso (figura 45). Esta inicia en los 500 cm³/g debido a que los microporos del material se llenaron rápidamente debido al efecto de *llenado primario de microporos*⁷⁷. Adicionalmente el ciclo de histéresis del CM (H5) corresponde a un sistema de poros abiertos y otros parcialmente bloqueados⁷⁷. El diámetro de poro del CM es de 3.2 nm, similar al de las PmSiO₂ (tabla 10). Sin embargo, la distribución del volumen de poro es más homogénea, en un rango de 3 a 4 nm (figura 46). De acuerdo a la literatura esto quiere decir que el Qt recubre a las PmSiO₂ formando una cubierta sobre las partículas, la cual podría actuar como sistema de protección para el SMX⁶⁹. Este sistema se observó en las micrografías por MEB-ES (figura 44). También, al formar el recubrimiento se evita una elevada liberación inmediata; manteniendo al SMX dentro de las PmSiO₂ por más tiempo. Esto propone al Qt como un sistema de regulación para la liberación de moléculas en las PmSiO₂. Se postula que la elevada área superficial es resultado de los pliegues que forma el Qt al formar las hojas, formando delgadas pero extensas láminas. Al aumentar los pliegues de las hojas de Qt se aumenta el área superficial, similar a los pliegues internos de las membranas mitocondriales para aumentar su superficie, dando como resultado su elevada área superficial.

Tabla 10. Resumen de los resultados obtenidos por la técnica de fisisorción de N₂ a baja temperatura

Parámetro	Resultado PmSiO ₂	Resultado SiO ₂ SMX	Resultado Qt	Resultado CM
Área superficial	377 m ² /g	209 m ² /g	1264 m ² /g	4247 m ² /g
Diámetro de poro	3.8 nm	3.8 nm	2.8 nm	3.2 nm
Vol. de poro	0.393 cm ³ /g	0.271 cm ³ /g	0.9 cm ³ /g	3.5 cm ³ /g
Tipo de curva	IVa	IVa	II	IVa
Tipo de porosidad	Mesoporoso	Mesoporoso	Microporoso	Mesoporoso
Tipo de histéresis	H2a	H2a	H1a	H5
Error de cálculo	1.591%	1.704 %	6.760%	0.220 %
Modelo de cálculo	N ₂ a 77 °K en sílica con poros cilíndricos con adsorción ramificada basada en la TFDNL		N ₂ a 77 °K en carbón con hendiduras en equilibrio basada en la TFDSE	N ₂ a 77 °K en sílica con poros cilíndricos con adsorción ramificada basada en la TFDNL

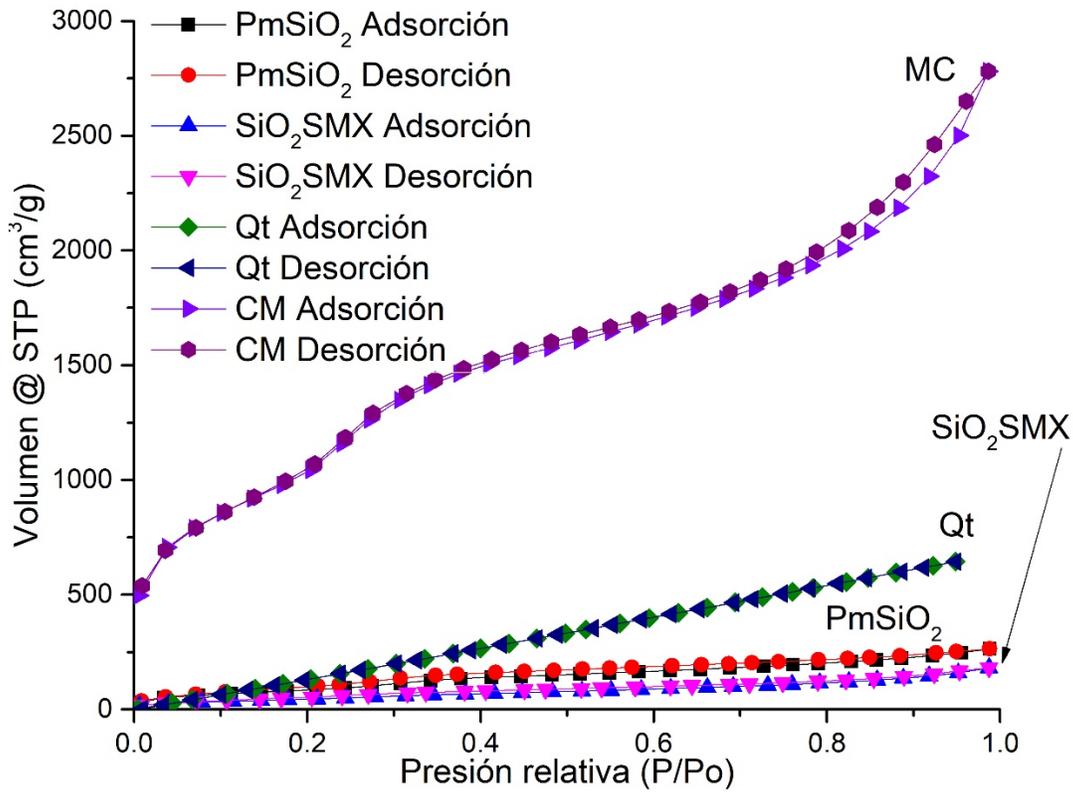


Figura 45. Comparativo de las isothermas de PmSiO₂, SiO₂SMX, Qt y CM

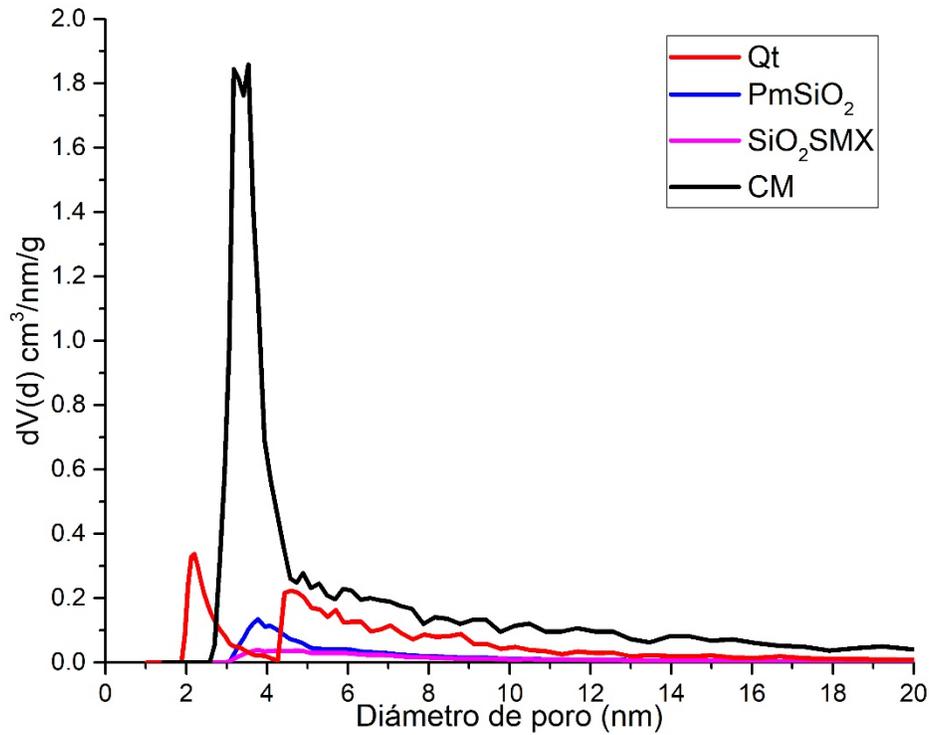


Figura 46. Gráficas de distribución del diámetro de poro de PmSiO₂, SiO₂SMX Qt y CM

4.3.4 Microestructura

Las figuras 47 y 48 muestran micrografías representativas del CM, obtenidas por MET con un detector DAACO. En la figura 47 se observaron PmSiO₂ aglomeradas y embebidas en una matriz de Qt de un grosor aproximado de 50 nm. Debido a esto, fue posible observar la mesoporosidad ordenada de las PmSiO₂ (figura 48). Al igual que en las micrografías obtenidas por MEB-SE (figura 44), se apreciaron las estructuras de hojas y fibras formadas por el Qt. Este comportamiento es el resultado de la extensión superficial del Qt al solvatarse, reflejado en la elevada área superficial (4247 m²/g, tabla 9). En contraste con los resultados obtenidos por L. Santos et al.³⁴, el aumento en el área superficial de su material no es tan elevado. En su modeo el Qt crea capas densas sobre nanopartículas de SiO₂ debido a el proceso de síntesis utilizado. Esto demuestra que las síntesis usada para el CM favoreció el crecimiento y extensión del área superficial del material.

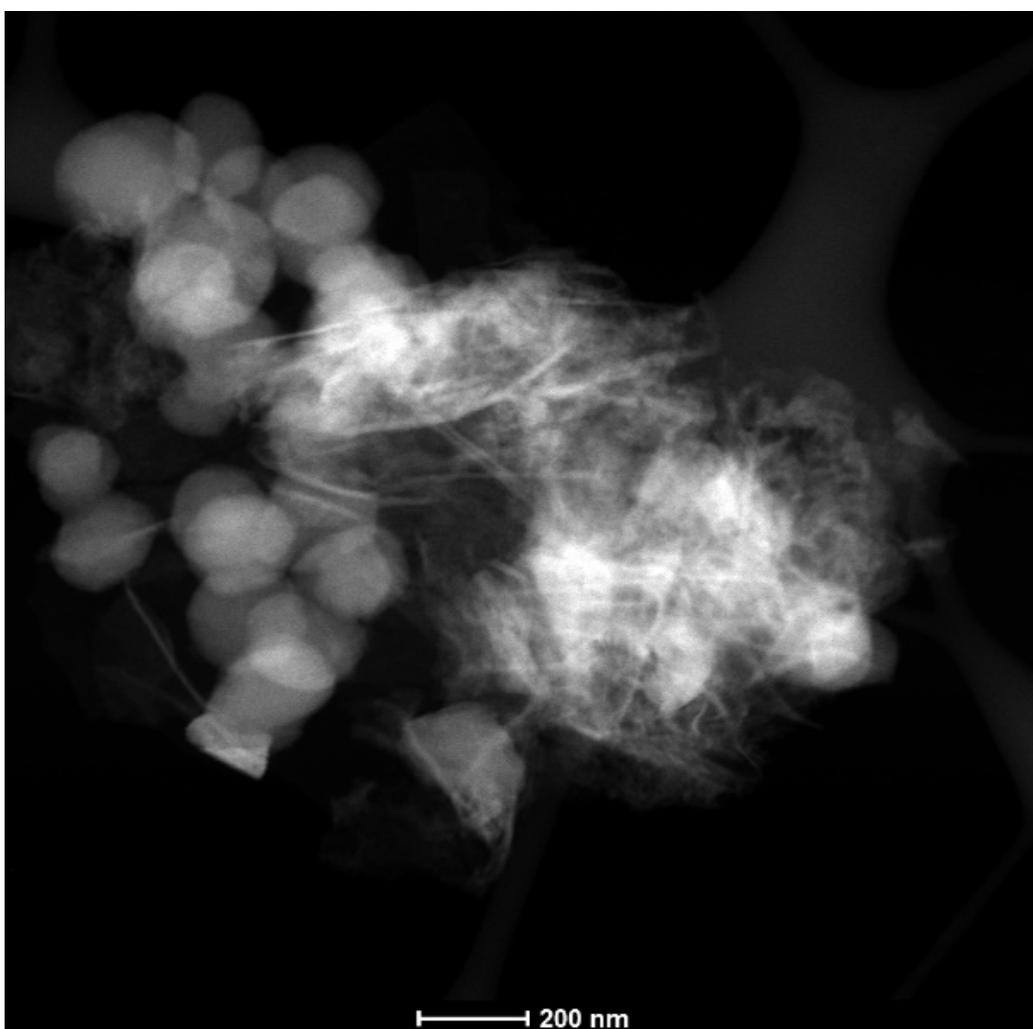


Figura 47. Micrografía representativa del CM obtenida por MET con un detector DAACO. Se observa la monodispersión de las PmSiO₂ en la matriz de Qt.



Figura 48. Micrografía representativa del CM obtenida por MET con un detector DAACO. En ella se muestra la mesoporosidad de las PmSiO_2 cubiertas de una capa de Qt.

Como se observa en la figura 49, espectro obtenido por IRTF del CM, se identificaron bandas pertenecientes a los grupos funcionales de las PmSiO₂ y del Qt. En los 1056 cm⁻¹ se registra la banda de vibración del grupo siloxano así como en 802 cm⁻¹ para el grupo silanol^{97,98}. El resto de las bandas presentes en el espectro del CM fueron aportadas por el Qt. En 1371 cm⁻¹ una banda de estiramiento asimétrico en los enlaces C-H del grupo CH₃^{64,113}. En 1631 cm⁻¹ se registra una banda correspondiente a la vibración de estiramiento del enlace C=O de una amida primaria (R-CO-NH₂)^{64,113}. Luego, en la zona de 3300 cm⁻¹ a 3600 cm⁻¹ se observa una banda ancha la cual pertenece a modos vibracionales deformados por puentes de hidrógeno^{34,64}. En el caso del Qt en esta zona se le atribuye a una vibración de estiramiento asimétrico del grupo amino primario¹¹³ y para las PmSiO₂ se le atribuye a un estiramiento de los enlaces O-H en Si-OH³⁴.

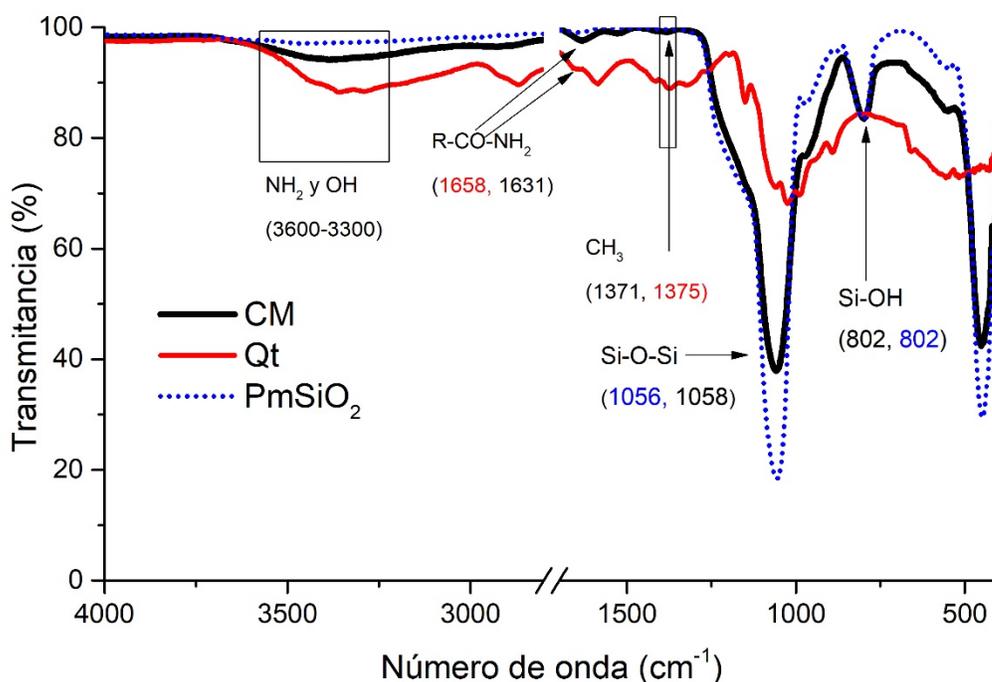


Figura 49. Espectro IRTF del Qt, PmSiO₂ y CM

Para corroborar el análisis IRTF, se utilizó espectroscopía Raman. Se encontró los grupos funcionales característicos de ambos materiales (SiO_2 y Qt) en el CM. En la figura 50, en los 3236 cm^{-1} se registra la vibración de estiramiento simétrico de los enlaces H-N-H del grupo amino del Qt¹¹⁴. En los 2923 cm^{-1} está la banda de vibración de estiramiento simétrico del grupo $-\text{CH}_2$ en sus enlaces con el H^{6,114} que corresponde al Qt. En los 1767 cm^{-1} se registra la vibración de tijereteo de los enlaces H-C-H del grupo acetato del Qt^{6,98,114}. Así mismo, los grupos funcionales característicos de la sílica también fueron identificados. En los 2329 cm^{-1} se encuentra la banda de vibración de estiramiento del enlace O-H del grupo Si-OH ⁹⁷ y en los 269 cm^{-1} se registra la banda de vibración de estiramiento simétrico de los enlaces Si-O-Si del grupo siloxano⁹⁷.

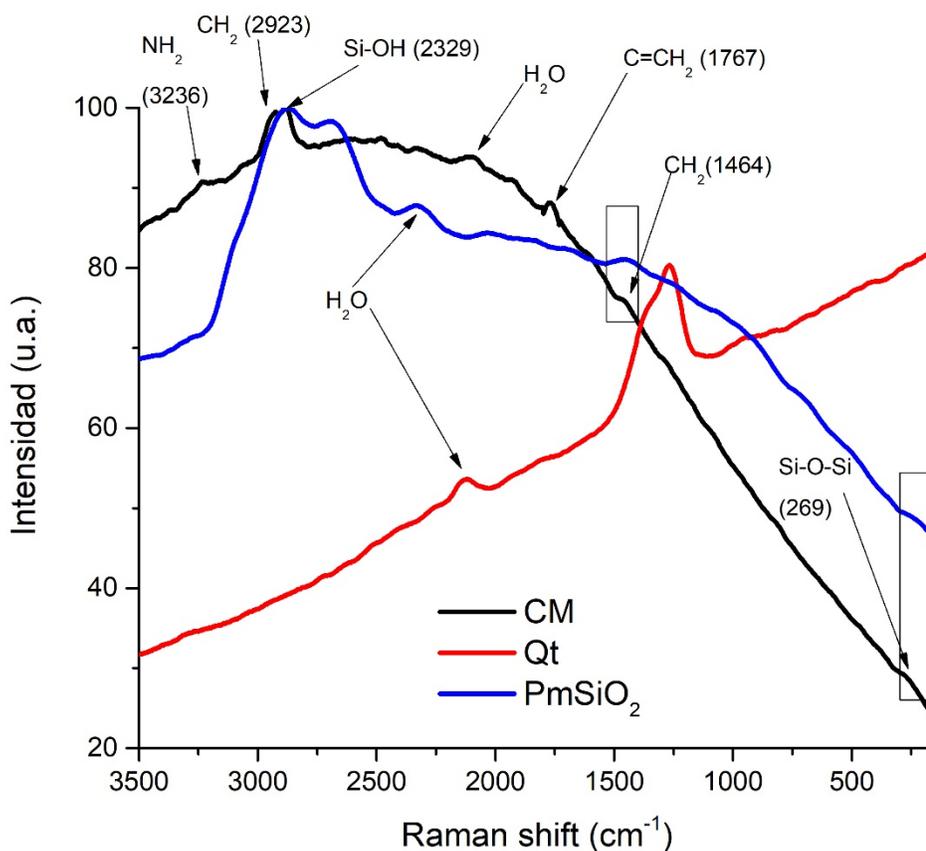


Figura 50. Espectro Raman de PmSiO₂, Qt y CM

Una vez realizada la síntesis del CM con éxito, se llevó a cabo usando SiO_2SMX con intención de observar algún posible cambio en la morfología del CM. Debido a la baja solubilidad del SMX en el agua (610 mg/L)⁴², se planteó la hipótesis que el SMX permanecería en las PmSiO_2 al no solubilizarse en el medio acuoso ($\text{pH}=6$). La figura 51, micrografía representativa del CM con SMX (CM_{SMX}) obtenida por MEB-ES, no muestra cambios en la morfología observada en la figura 44. Por lo tanto, la adsorción del SMX en las PmSiO_2 no influye en la síntesis del CM_{SMX} .

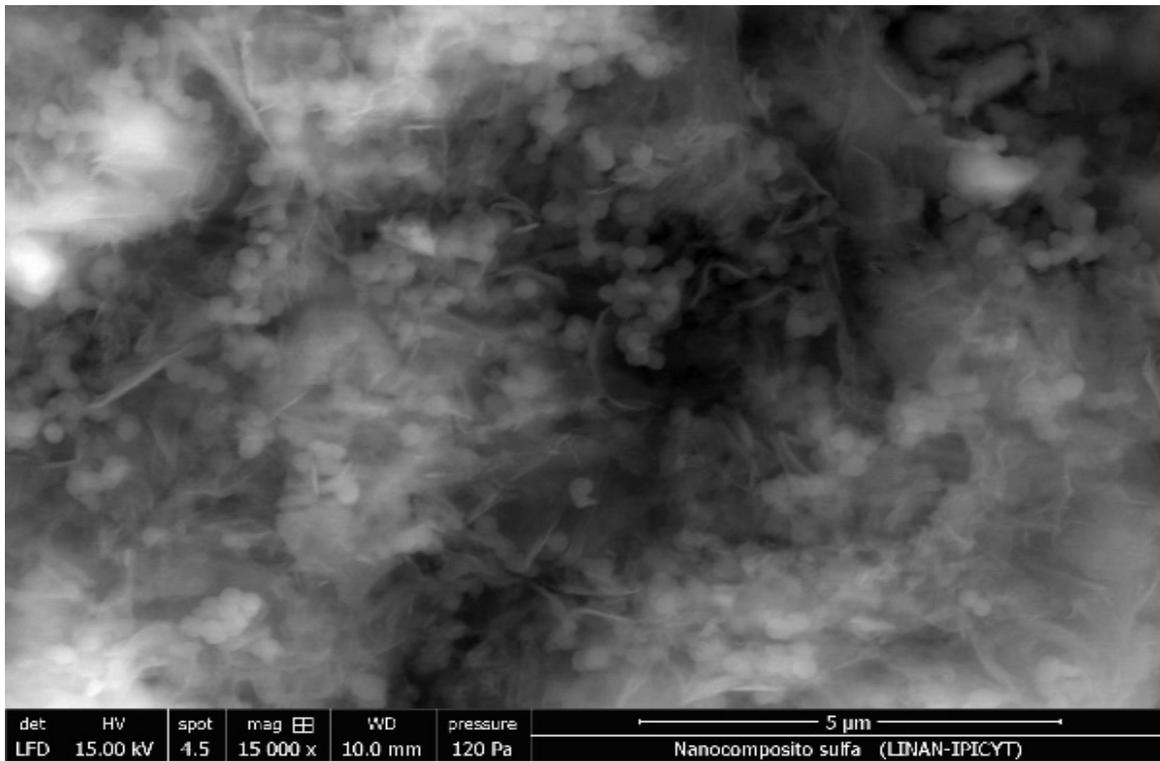


Figura 51. Micrografía del CM_{SMX} obtenida por MEB-ES a 15,000x. Se observa la monodispersión de las PmSiO_2 y el Qt

El análisis por EDE confirma la presencia del SMX en el CM. Como se observa en la figura 52 los resultados encontrados en el espectro EDE del CM_{SMX} (figura 51) muestran una banda de S, elemento que sólo se encuentra presente en el SMX. La radiación del elemento Al proviene del porta muestras usado para el análisis.

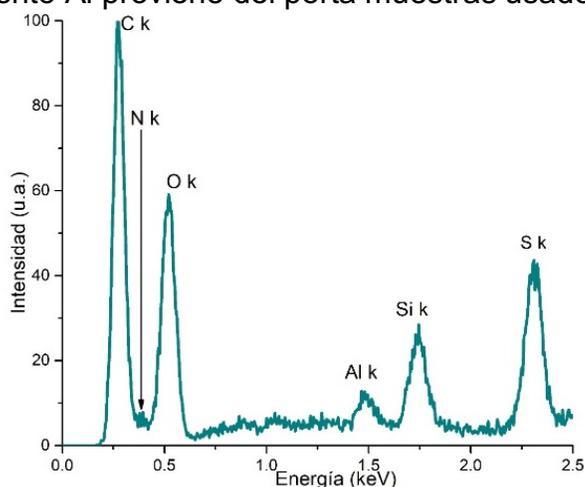


Figura 52. Espectro del CM_{SMX} obtenido por análisis de EDE.

La espectrofotometría IRTF del CM_{SMX} ayudó a corroborar la presencia del SMX adsorbido en las PmSiO₂. El análisis se llevó a cabo de 600 a 400 cm⁻¹, zona característica de las vibraciones de los grupos SO₂⁹⁸. En la figura 53 se muestra la presencia de las bandas de vibración de tijereteo correspondiente al grupo SO₂ (511 cm⁻¹), la banda de vibración de inversión de los enlaces en SO₂ del grupo -SO₂NH- (414 cm⁻¹) y la banda de vibración de torsión de los enlaces en NH₂ del mismo grupo funcional (405 cm⁻¹)⁹⁸.

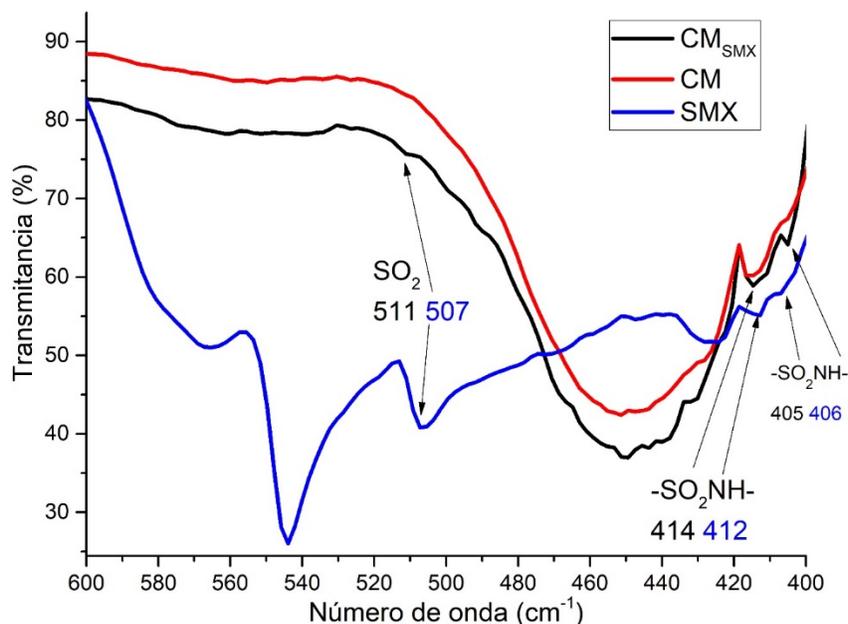


Figura 53. Espectro IRTF comparativo del SMX, CM y CM_{SMX}

Con el fin de corroborar los resultados de IRTF, se procedió a realizar un análisis de 1600 cm^{-1} a 400 cm^{-1} por espectrofotometría Raman para el NC_{SMX} . En la figura 54 se observaron las bandas de las vibraciones correspondientes a grupos funcionales característicos del SMX y las PmSiO_2 . En los 1075 cm^{-1} se registró la banda característica del grupo $-(\text{SiO})_n-$ de la cadena de siloxanos de las PmSiO_2 . En los 503 cm^{-1} se observa la vibración de estiramiento de deformación en los enlaces $\text{O}=\text{S}=\text{O}$ del grupo $-\text{SO}_2\text{NH}-$. En 585 cm^{-1} está la banda de la vibración de tijereteo de los enlaces $\text{O}=\text{S}=\text{O}$ del grupo $-\text{SO}_2-$. En 636 cm^{-1} la banda de la vibración de deformación del enlace $\text{N}-\text{H}$ en el grupo $-\text{SO}_2\text{NH}-$. Así mismo, en los 1295 cm^{-1} se registra la banda de la vibración de estiramiento asimétrico de los enlaces $\text{O}=\text{S}=\text{O}$ en el grupo SO_2 . En los 1342 cm^{-1} se registra vibración de estiramiento asimétrico en el grupo $-\text{SO}_2\text{NH}-$. También, se registró en 1483 cm^{-1} la banda de la vibración de estiramiento del enlace $\text{N}-\text{H}$ de una amina secundaria. Con esto se corroboran los resultados obtenidos por IRTF y se afirma la presencia de SMX en el CM.

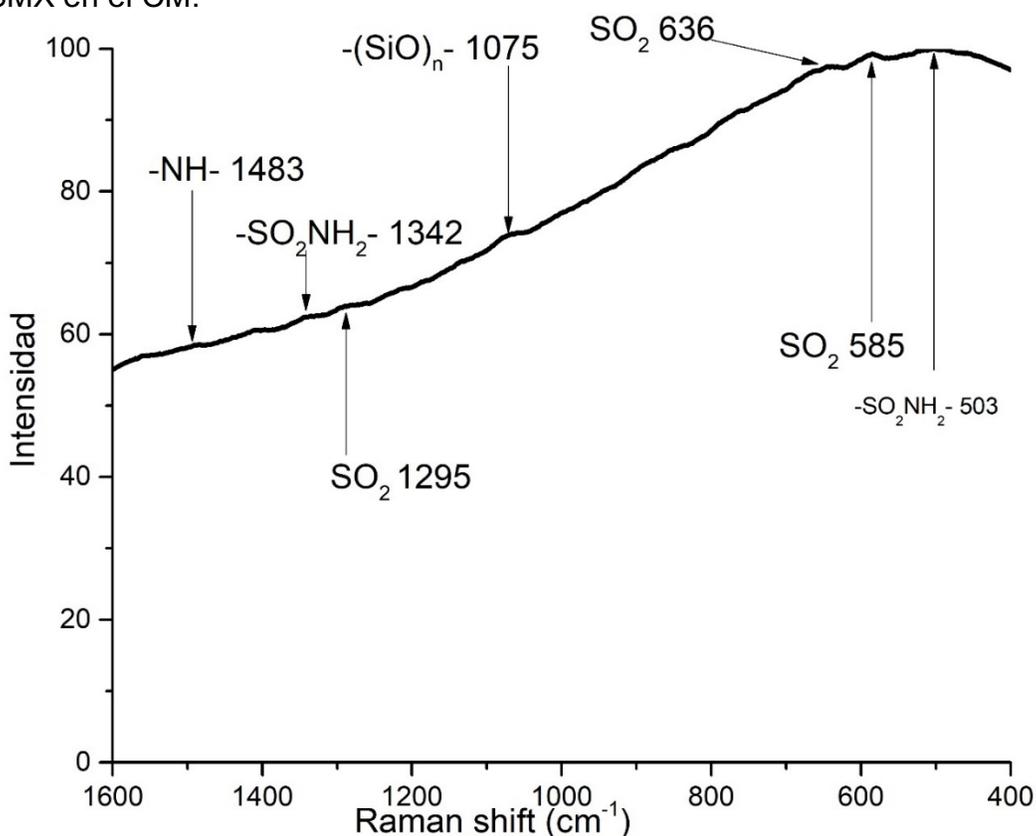


Figura 54. Espectro Raman del CM_{SMX}

En comparación con la literatura, el material sintetizado (CM) exhibe características muy llamativas no sólo para la liberación de fármacos sino para otro tipo de aplicaciones como recubrimientos antibacteriales, adsorción de colorantes, fármacos o contaminantes orgánicos. En la tabla 11 se hace una comparación del CM con la literatura, evidenciando las características sobresalientes del CM sobre otros materiales con la misma composición.

Las características más sobresalientes del CM son el área superficial y el volumen de poro. L. Sun et al. (2013) propone un material similar al CM, con la diferencia de que utilizan SiO_2 funcionalizado para aumentar la adsorción del fármaco empleado. Usando las mismas proporciones de SiO_2/Qt obtiene un área superficial mucho menor a la del CM, demostrando que la metodología de síntesis del CM permite una mejor dispersión del Qt. También, el CM muestra una mayor cantidad de fármaco adsorbido sin necesidad de funcionalizar el SiO_2 demostrando mayor eficiencia en este proceso. A diferencia del material propuesto por T. Budnyak et al. (2019), la relación SiO_2/Qt es diferente a la propuesta en el CM. Debido a esto, es notorio cómo el área superficial es influenciada por la cantidad de Qt en el material, ya que la metodología de síntesis es similar a la propuesta en este trabajo. R. L. Luzia et al. (2019) y Palla-Rubio B. Et al. (2019), en sus trabajos de investigación utilizan la síntesis de Stöber al igual que en este proyecto, con la variante que incorporan el Qt en este proceso. Debido a lo anterior, el área superficial de los compósitos resultantes no son elevadas. Demostrando que, la incorporación del Qt posterior a la síntesis de las PmSiO_2 mejora las propiedades texturales del compósito. Por último, A. Szegedi et al. (2019) incorpora en su material a la carragenina como polímero extra además del Qt para aumentar las características de biocompatibilidad. Sin embargo, las propiedades texturales del compósito resultante no superan a las del CM, revelando un área superficial 10 veces menos a la del CM. Por lo tanto, es notorio cómo el CM sintetizado en este proyecto, en base a la ruta de síntesis usada y las proporciones de SiO_2/Qt , favorecen las propiedades texturales del material resultante, siendo así atractivo para emplearse en sistemas que no sólo sean para liberación de fármacos sino en otras funciones.

Tabla 11. Comparación del CM con materiales encontrados en la literatura con la misma composición (SiO₂/Qt). Dp=Diámetro de partícula As=Área superficial Vp=Volumen de poro Dp=Diámetro de poro Cc=Capacidad de carga Ca=Capacidad de adsorción

Material	Método de síntesis	Morfología	%SiO ₂ /%Qt	Propiedades texturales	Aplicación	Referencia
Compósito de PmSiO ₂ /Qt	SiO ₂ →Stöber modificado Comp.→Deposición del SiO ₂ en el Qt por secado	Partículas esféricas de SiO ₂ mesoporosas embebidas en hojas Qt	66/34	Dp SiO ₂ =218 nm As.=4247 m²/g Vp =3.5 cm³/g Dp=3.2 nm Cc=375 mg SFX/1 g SiO ₂ (18% ads)	Excipiente de fármacos	Este trabajo
Compósito de NPsSiO ₂ funcionalizadas en una matriz de Qt	SiO ₂ →Stöber modificado Comp.→Encapsulación del SiO ₂ en el Qt por centrifugación y secado	Micropartículas de SiO ₂ /Qt esféricas con superficie texturizada	50/50	Dp SiO ₂ =200 nm As.=635 m²/g Vp=0.63 cm³/g Dp=2.4 nm Cc=60 mg/ 1 g SiO ₂	Liberación de fármacos poco solubles en agua	L. Sun et al. ³⁰
NPsSiO ₂ cubiertas de Qt	Impregnación del SiO ₂ en la matriz de Qt y posterior secado	NPsSiO ₂ esféricas cubiertas de Qt con superficie lisa	90/10	As=170 m²/g Vp=30 cm³/g Dp=3 nm Ca=97 μmol/ 1 g SiO ₂	Adsorción de ácidos biliares	T. Budnyak et al. ³¹
Partículas de SiO ₂ con Qt	Síntesis de Stöber con Qt añadido	Esferas irregulares de SiO ₂ recubiertas de un matriz de Qt	81/9	As=315 m²/g Vp =1.05cm³/g Dp=9 nm Cc=90% en 5h	Liberación de fármacos	R. L. Luziat al. ³⁴
Compósito de recubrimiento híbrido de SiO ₂ /Qt	Síntesis de Stöber con Qt añadido y secado sobre sustrato de Ti	Películas de Qt con partículas esféricas de SiO ₂	95/5	As=401 m²/g Vp=0.6 cm³/g Dp=6.3 nm	Recubrimientos dentales antibacteriales	Pallarubio B. et al. ¹¹⁸
NPsSiO ₂ cubiertas de Qt y carragenina	SiO ₂ →Síntesis de Stöber Comp.→Deposición de SiO ₂ y posterior secado al vacío	Partículas esféricas de SiO ₂ con superficie cubierta de Qt	50/50	As=191 m²/g Vp=0.59 cm³/g Dp=9.4 nm Capacidad de adsorción=28%	Liberación de fármacos	A. Szegedi et al. ⁶⁹

Capítulo 5. Estudio preliminar de la liberación del fármaco y biocompatibilidad

5.1 Resultados de la liberación de SMX

Como se observa en las figuras 4-15 del Anexo 1, las cinéticas de liberación, presentan tendencia en aumento en la dispersión de los resultados. Esto es consecuencia de la correlación con la cantidad de SMX en el analito, fenómeno antes observado en los ensayos de adsorción. Además, la dispersión también está influenciada por la inestabilidad del sistema con respecto al tiempo. Los efectos de precipitación y evaporación que sucedieron durante los análisis, aumentaron en estos el grado de error. La dispersión es más notoria en las cinéticas de liberación de las PmSiO₂, comparando los resultados de las PmSiO₂ en SBF (Anexo 1. Figura 7) contra los de FGSA (Anexo 1. Figura 15). Adicionalmente, el CM al mantener una liberación menor reduce la dispersión en sus resultados (Anexo 1. Figura 5, 9 y 13).

En la figura 55 se muestra los dos primeros puntos de la prueba de liberación. El primero, corresponde al de LI. Se observa que en todos los casos las PmSiO₂ muestran una liberación inmediata mucho mayor que el CM. Por lo que el Qt al recubrir a las PmSiO₂ ayuda a regular la liberación inmediata del CM, cuando entra en contacto con el medio de evaluación. Además en ningún caso se presenta una liberación inmediata total.

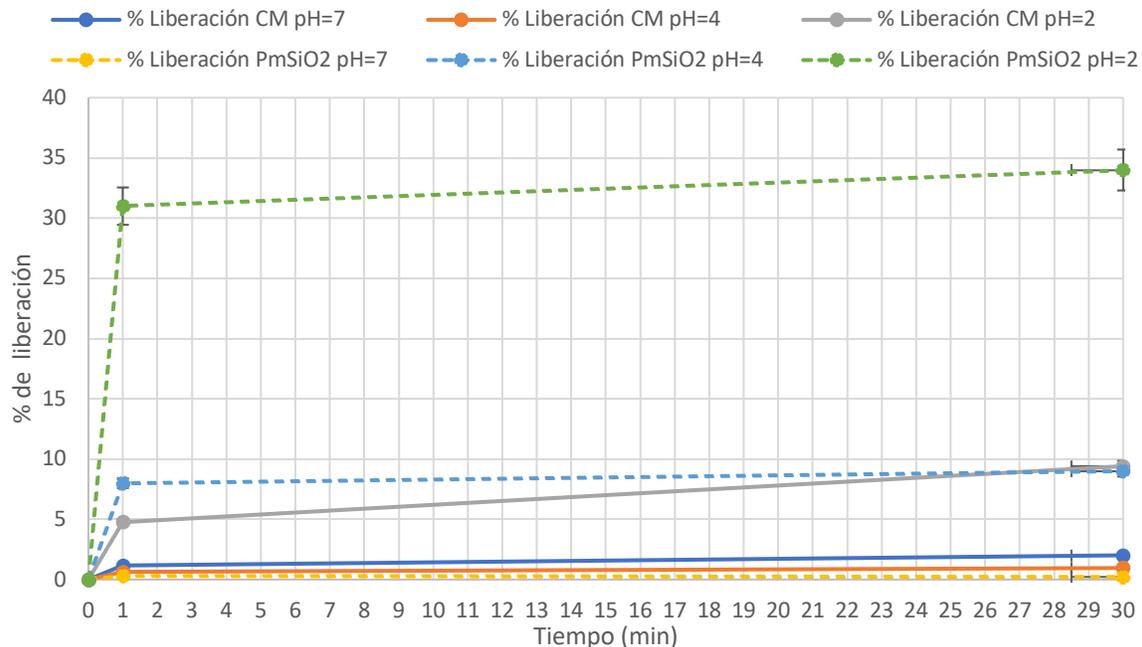


Figura 55. Gráfico de las respuestas de liberación de SMX de las PmSiO₂ y el CM en distintos pH's. Se muestra el punto LI (1 min) y 30 min después

En la figura 56 se muestra la respuesta de los materiales en los distintos medios de evaluación durante todo el proceso. Es visible que en la mayoría de los casos las PmSiO₂ liberan un mayor porcentaje de SMX. Lo que quiere decir que el CM tiene una liberación más controlada que las PmSiO₂. Además, es notoria la influencia del pH sobre las interacciones entre el SMX y los materiales. En el caso de las PmSiO₂ en pH=2, el fenómeno de protonación y desprotonación del SMX induce carga en él (figura 3); causando la readsorción por atracciones electrostáticas¹¹⁹. Esto concuerda con la literatura^{6,34,69}, en la cual compósitos de Qt/SiO₂ muestran un cambio en sus cinéticas de liberación al modificar el pH. Por lo tanto, en base a este efecto y los resultados en la figura 56, se concluye que el pH funciona como estímulo para favorecer la liberación de SMX cuando este disminuye.

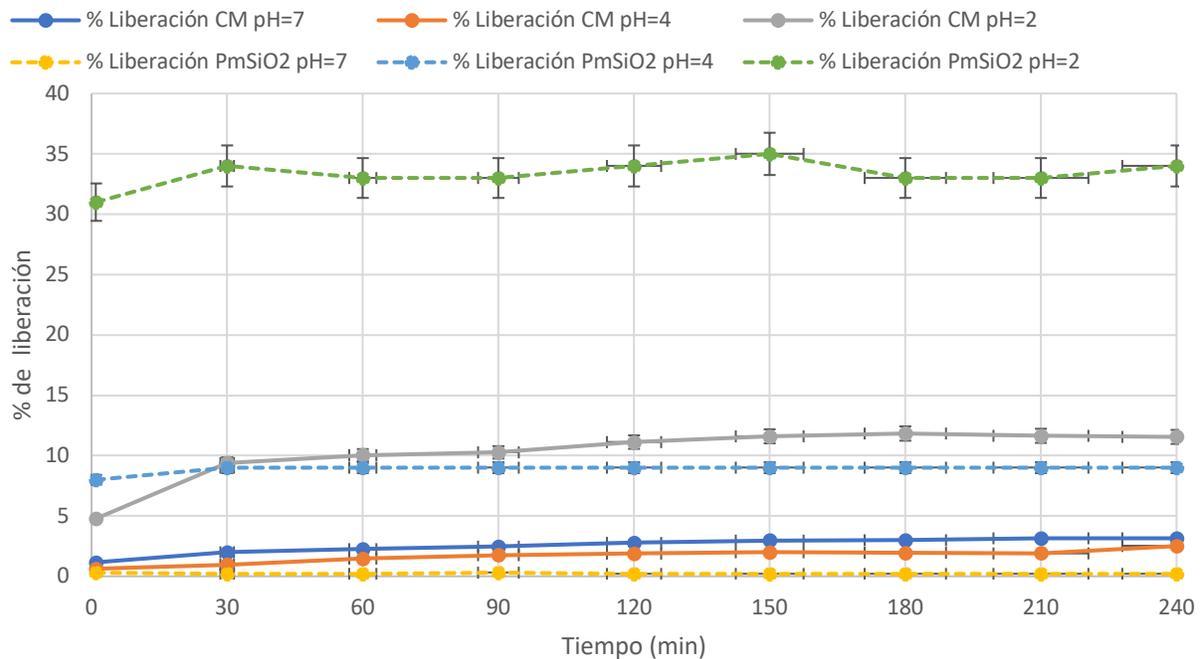


Figura 56. Gráfico de las distintas respuestas de liberación de SMX de las PmSiO₂ y el CM en distintos pH's

La tabla 12 muestra los resultados de las liberaciones de SMX al término del experimento. En general, los valores de R^2 obtenidos usando el modelo de orden cero son menores contra los del modelo de K-P. Esto quiere decir que, el modelo de K-P se ajusta mejor para explicar el mecanismo de liberación del SMX. Adicionalmente, se observa que en todos los ensayos de ambos materiales $n < 0.45$. De acuerdo a la literatura, lo anterior describe una liberación controlada con base en el mecanismo de difusión de Fick⁸¹.

Tabla 12. Resumen de los resultados de liberación de SMX. Se muestra el ajuste de cada modelo y el coeficiente n de K-P.

Medio/Parámetro	PmSiO ₂				CM			
	R ² orden cero	R ² K-P	n	% liberación máxima en 4 h	R ² orden cero	R ² K-P	n	% liberación máxima en 4 h
SBF (pH=7)	0.124	0.257	-0.02	1.96	0.863	0.941	0.13	3.15
Agua (pH=4)	0.743	0.998	0.27	46.00	0.847	0.839	0.16	3.00
FGSA (pH=2)	0.687	0.947	0.06	50.00	0.632	0.979	0.17	11.55

El CM muestra una tasa de liberación más controlada que las PmSiO₂. De acuerdo a Basnet et al.¹⁷, el valor de k_{KP} demuestra lo anterior. Mientras k_{KP} aumente, la tasa de liberación aumentará^{17,82,86}. Como se muestra en la tabla 13, los valores de k_{KP} para las PmSiO₂ son siempre mayores a los del CM. Lo que da como resultado un mayor porcentaje de liberación (figura 56). Esto quiere decir que el CM posee una liberación controlada y prolongada del SMX. Sin embargo, también se debe considerar la solvatación del Qt cuando pH < 7. Se ha reportado en la literatura como uno de los mecanismos por los cuales la liberación se puede favorecer⁸¹. Al disminuir el pH el Qt empieza a solubilizarse y esto puede influir en la tasa de liberación de SMX³⁰.

Tabla 13. Valores de k_{KP} para cada material de los distintos medios de evaluación

Medio/Parámetro	PmSiO ₂	CM
k_{KP} en SBF (pH=7)	2.0423	0.3859
k_{KP} en agua (pH=4)	0.2333	0.1989
k_{KP} en FGSA (pH=2)	1.5709	0.6950

Se propone un mecanismo (figura 57) para el CM en medios ácidos (agua pH=4 y FGSA). La protonación de los grupos amino⁶⁴ causa que los poros del Qt se abran permitiendo la entrada de agua al CM favoreciendo la liberación del SMX³⁴. La literatura describe que, cuando $n < 0.5$ las cadenas poliméricas se relajan y abren sus poros^{81,120}. Sumado a esto, el Qt empezará a disolverse por acción del pH, eliminando capas de Qt para dejar finalmente a las PmSiO₂ descubiertas. De acuerdo a la literatura, de suceder lo anterior y en base al tamaño de las PmSiO₂, estas podrían ser introducidas a las células por endocitosis^{3,22}.

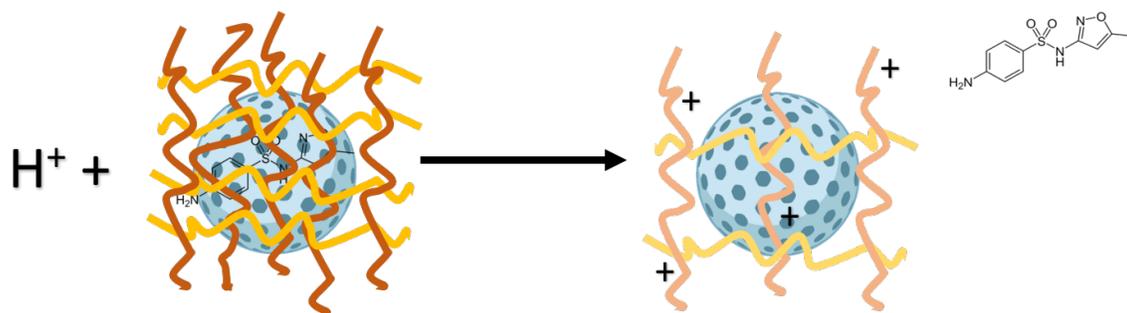


Figura 57. Mecanismo propuesto para el comportamiento del CM en la liberación de SMX en pH<7

5.2 Biocompatibilidad (Prueba de hemólisis)

Los resultados demuestran el potencial hemolítico de los materiales (figura 58). Como se observa en la tabla 14, el CM y el Qt revelan un significativo potencial hemolítico, mayor al 5%¹²¹ (12% CM y 33% Qt), a partir de la segunda concentración empleada (0.3 mg material en 1 mL de SSF). El CM demuestra no ser citotóxico a una concentración de 0.1 mg en 1 mL de SSF. Lo anterior se le atribuye mayoritariamente a las características físicas de porosidad y tamaño de las PmSiO₂²². En el caso del Qt y el CM, se postula que la hemólisis puede ser causada por dos razones, influencia del pH y el GD del Qt. En comparación con los resultados de J. Lima et al.¹²² aplicando esta misma prueba con NPs de Qt, muestran resultados con porcentajes mucho menores de hemólisis en concentraciones similares a las usadas. Le atribuye esta cualidad a la neutralización del pH de evaluación así como a la morfología del Qt, la cual induce hemaglutinación y mayor probabilidad de hemólisis. Generalmente, el Qt se reporta como un material muy biocompatible. Sin embargo, de acuerdo a A. Grenha, et al. (2010) el GD es un factor muy importante para determinar lo anterior. Basado en los resultados de su investigación¹²³ se concluye que, cuando el Qt presenta elevado GD (>80%) la viabilidad celular puede ser comprometida (apenas del 20%). De acuerdo con el autor, este fenómeno se desarrolla debido al elevado potencial ζ que el Qt puede presentar en base a la alta densidad de grupos -NH₃⁺, consecuencia del elevado GD. Como se observó en los análisis de potencial ζ (tabla 9), el Qt mostró una carga elevada (P ζ >20mV). Esto puede causar que cuando exista interacción con los eritrocitos, se desencadene desestabilización en las membranas de las células, causando la hemólisis. Sin embargo, como se observa en la figura 58, las PmSiO₂ no presentan potencial hemolítico hasta una concentración de 0.9 mg/mL. En base a las propiedades superficiales de carga, se reporta que las partículas de SiO₂ también pueden ejercer, mayormente, su efecto citotóxico¹²⁴. La literatura explica que la densidad de grupos silanol en el SiO₂ causa las interacciones con las membranas celulares^{21,124,125}. Y basados en los análisis por IRTF, los grupos silanol presentan baja densidad, lo cual también se refleja en los análisis de adsorción de SMX. Por lo que la baja toxicidad de las PmSiO₂ puede ser explicada por su densidad de carga superficial.

De acuerdo al análisis anterior, se demuestra que la conjunción del Qt y las PmSiO₂ logran crear un material compatible con los eritrocitos a una concentración de 0.1 mg/ 1mL SSF.

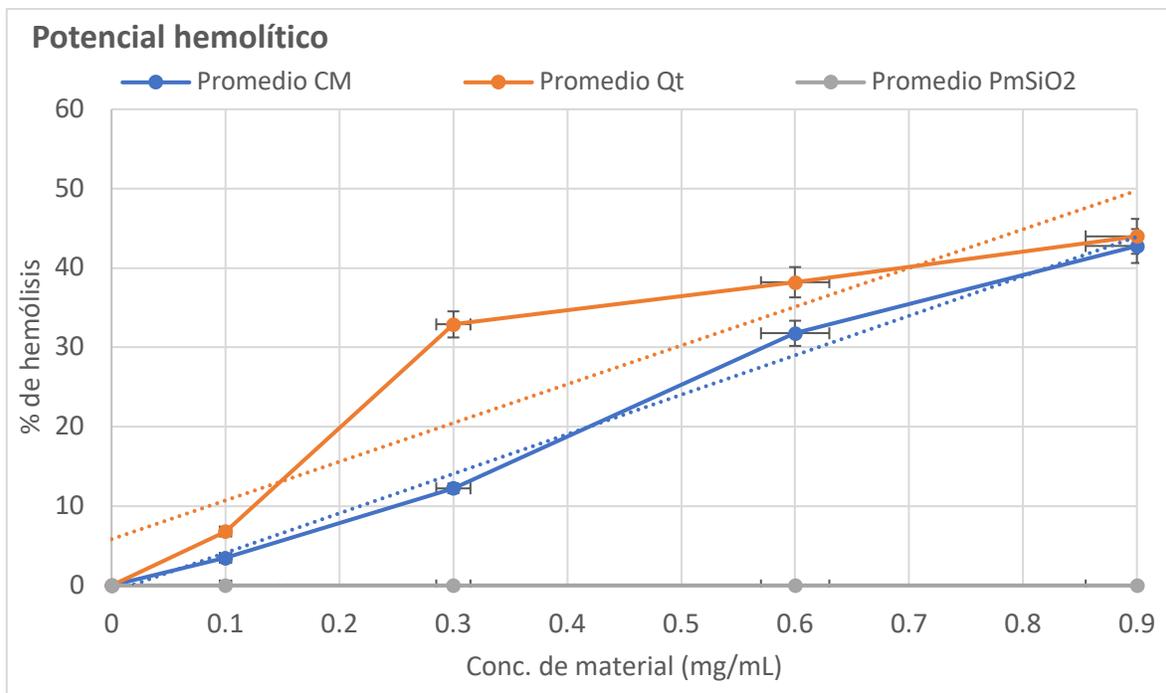


Figura 58. Resultados del potencial hemolítico de cada material pasadas las 5 h de exposición

Tabla 14. Resultados de los promedios obtenidos de la prueba de hemólisis de cada material.

Conc. de material (mg/mL)	Promedio CM % hemolisis	Promedio Qt % hemolisis	Promedio PmSiO ₂ % hemolisis
0	0	0	0
0.1	3	7	0
0.3	12	33	0
0.6	32	38	0
0.9	43	44	0

Capítulo 6. Conclusiones

Síntesis y caracterización

- La interacción SMX-PmSiO₂ se desarrolla en la superficie de las partículas mesoporosas en base a que el área superficial específica y volumen de poro cambian en presencia de SMX.
- La metodología de síntesis del CM resulta práctica y fácil de reproducir, además que permite dispersión homogénea de las PmSiO₂.
- Las micrografías obtenidas por las técnicas de microscopía electrónica, revelan transparencia en las hojas de Qt, que recubren a las PmSiO₂. Estas, están embebidas en las hojas de Qt de aproximadamente 50 nm de grosor.
- Las interacciones entre el SiO₂ y el Qt suceden principalmente mediante puentes de hidrógeno de acuerdo a los análisis por IRTF y Raman, principalmente entre los grupos SO₂ del SMX y los grupos Si-OH de las PmSiO₂. Y factiblemente también existan fuerzas electrostáticas, como lo revela el potencial ζ .
- El excipiente sintetizado demuestra características favorables. Exhibe un área superficial específica 5 veces mayor a los materiales precursores y un elevado volumen de poro, propiedades importantes para sistemas de adsorción de contaminantes orgánicos⁷², componentes ácidos para mucosas³¹ y fármacos.
- Debido a sus características es posible evaluar al CM sintetizado como un excipiente para la liberación de fármacos; Sulfametoxazol como caso de estudio.

Liberación y bioestabilidad

- Las pruebas preliminares de adsorción y liberación de SMX revelan que las interacciones dependen de la concentración del activo y el medio donde se evaluó. El modelo de K-P puede describir las cinéticas de liberación de acuerdo al mecanismo de difusión de Fick. La reproducibilidad de los análisis se ven comprometidas por la alta absorbancia del cromóforo (benceno-SO₂-NH-) en el SMX y las especies catiónicas formadas en pH<7. Comparando la respuesta de las PmSiO₂ con la del CM en distintos pH's es posible concluir que la liberación de SMX es de una menor tasa así como de una menor cantidad en el CM.
- Con base en la prueba preliminar de hemólisis el CM demuestra que puede ser un material no citotóxico con los eritrocitos humanos a una concentración de 0.1 mg/ 1 mL SSF, además de la nula citotoxicidad de las PmSiO₂ hasta una concentración de 0.9 mg/ mL SSF. Siendo así, el CM podría ser empleado como un excipiente avanzado para la liberación controlada de SMX, sin embargo son necesarias más pruebas para determinar las condiciones óptimas.

Capítulo 7. Perspectivas

- Se pretende disminuir el diámetro promedio de las partículas de SiO₂ para obtener nanopartículas (100nm > Diámetro > 40 nm)
- Se desea aumentar la densidad de grupos Si-OH en el SiO₂ para aumentar el porcentaje de adsorción
- Poder controlar la morfología del Qt para inducir la formación de fibras que recubran a las PmSiO₂.
- Buscar estudiar la funcionalización de las partículas de SiO₂ para favorecer la adsorción de fármacos sin interferir en las interacciones con el Qt.
- Poder realizar la síntesis del CM con distintas concentraciones de Qt en la solución inicial para tratar de observar detalladamente su influencia en la morfología, las cinéticas de liberación y ensayos de biocompatibilidad.
- Diseñar experimentos para comprobar el porcentaje solvatación del Qt en función del pH.
- Someter al CM a ensayos contra agentes patógenos gran positivos y negativos
- Tratar de realizar un protocolo de investigación para la síntesis del CM para la administración y tratamiento de patologías antivirales en las vías respiratorias.

Anexo 1

Resultados de las cinéticas de liberación de SMX usando el modelo de orden cero vs modelo Korsmeyer-Peppas

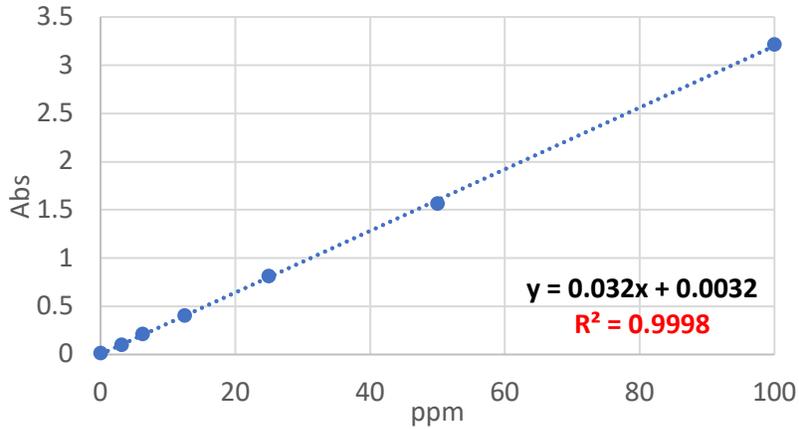


Figura A1.1. Curva de calibración por UV-Vis de SMX en SBF ($\lambda_{\max}=257\text{nm}$).

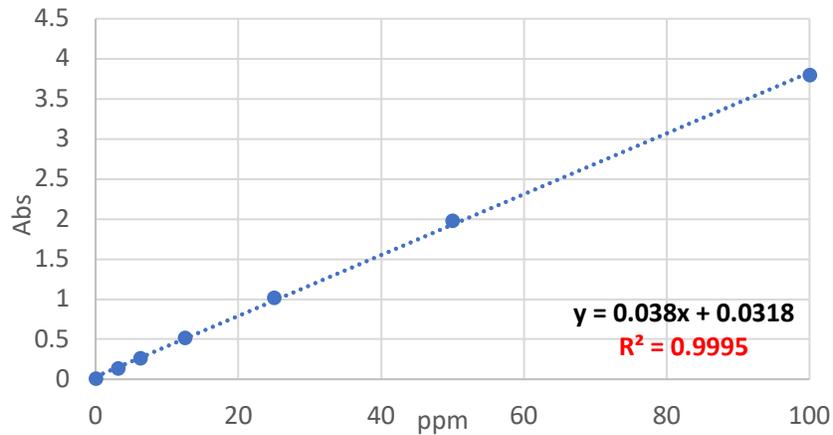


Figura A1.2. Curva de calibración por UV-Vis de SMX en agua ($\lambda_{\max}=266\text{nm}$).

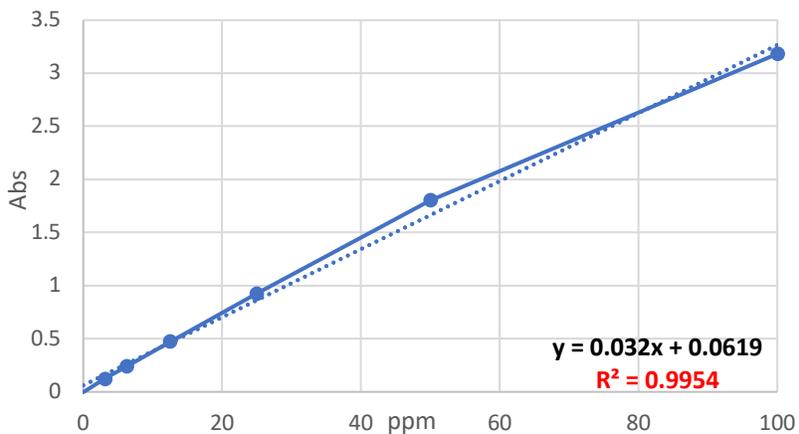


Figura A1.3. Curva de calibración por UV-Vis de SMX en FGSA ($\lambda_{\max}=269\text{nm}$).

Compósito en SBF (pH=7)

Tabla A1. Resultados de liberación del CM en SBF. Las columnas 3 y 4, de izquierda a derecha, corresponden al modelo K-P aplicado.

Tiempo (min)	Promedio CM % lib.	log(tiempo)	log(%lib)
1 LI	1.2	-2.30	0.14
30	2.0	3.40	0.69
60	2.3	4.09	0.81
90	2.5	4.50	0.90
120	2.8	4.79	1.02
150	3.0	5.01	1.08
180	3.0	5.19	1.09
210	3.2	5.35	1.15
240	3.1	5.48	1.15

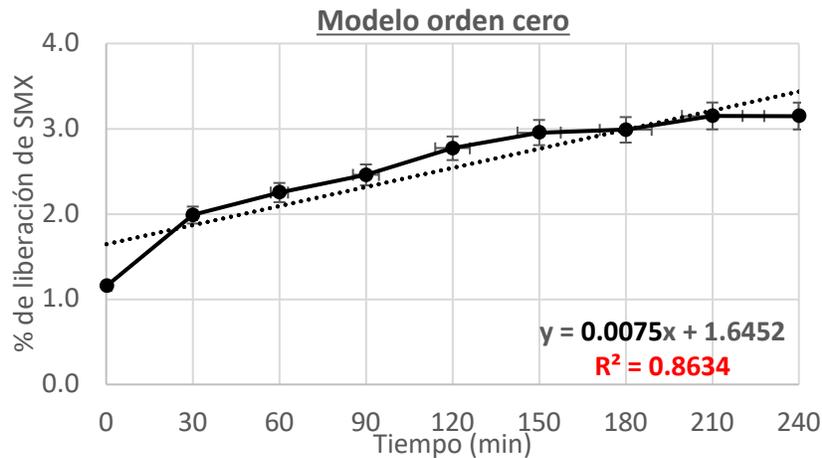


Figura A1.4. Gráfico del porcentaje promedio de la liberación de SMX en SBF del CM basado en el modelo de orden cero.

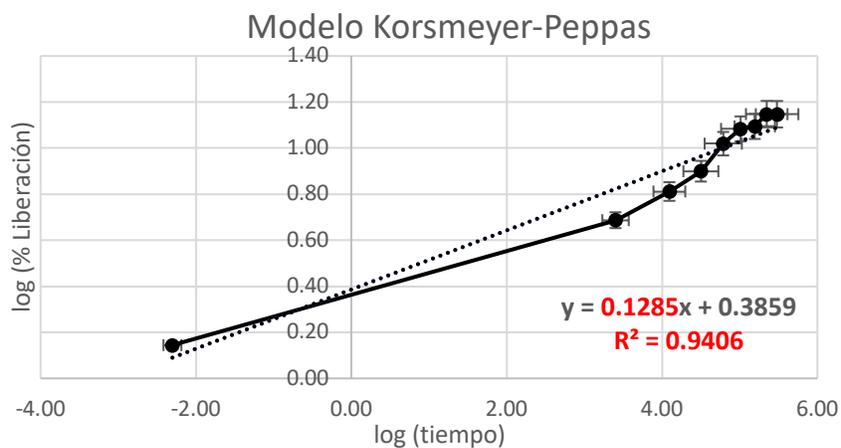


Figura A1.5. Gráfico del modelo K-P para el CM en SBF (pH=7) para obtener el valor del exponente de difusión n .

PmSiO₂ en SBF (pH=7)

Tabla A2. Resultados obtenidos de los ensayos independientes de liberación del SiO₂ en SBF

Tiempo (min)	Promedio PmSiO ₂ (% lib.)	Log (Tiempo)	Log (%Lib)
1 LI	8.1	-2.3	2.09
30	7.0	3.4	1.94
60	6.7	4.1	1.91
90	8.4	4.5	2.13
120	6.9	4.8	1.93
150	7.0	5.0	1.95
180	7.0	5.2	1.95
210	7.0	5.3	1.95
240	7.1	5.5	1.96

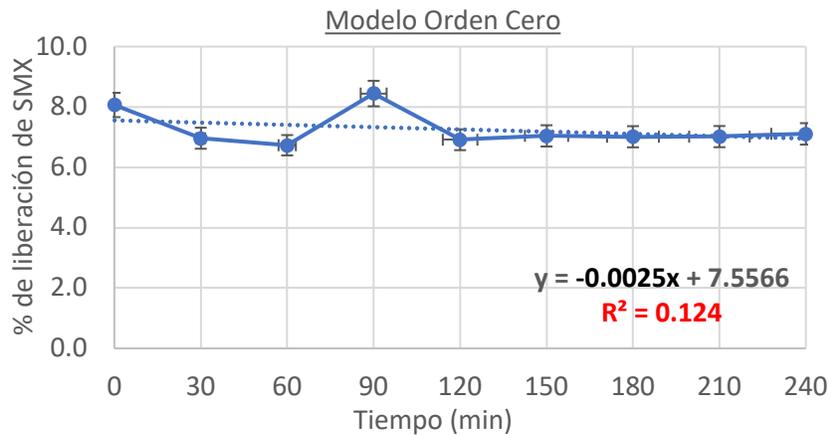


Figura A1.6. Gráfico del porcentaje promedio de la liberación de SMX en SBF de las PmSiO₂ basado en el modelo de orden cero.

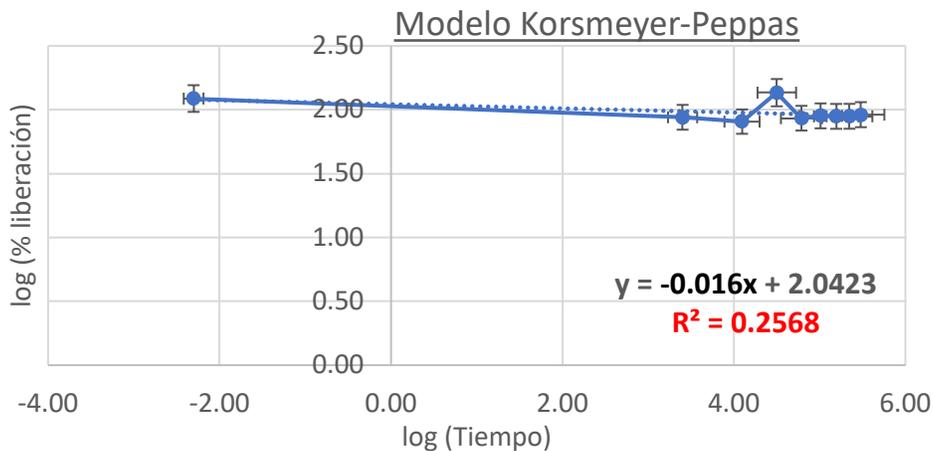


Figura A1.7. Gráfico del modelo K-P para las PmSiO₂ en SBF (pH=7) para obtener el valor del exponente de difusión n .

Compósito en agua (pH=4)

Tabla A3. Resultados obtenidos de los ensayos independientes de liberación del CM en pH=4

Tiempo (min)	Promedio CM % lib.	log (Tiempo)	log (%lib)
1 (LI)	0.77	-2.3	-0.5
30	1.18	3.4	0.0
60	1.60	4.1	0.4
90	1.82	4.5	0.6
120	1.94	4.8	0.6
150	1.97	5.0	0.7
180	1.92	5.2	0.7
210	2.18	5.3	0.6
240	2.51	5.5	0.9

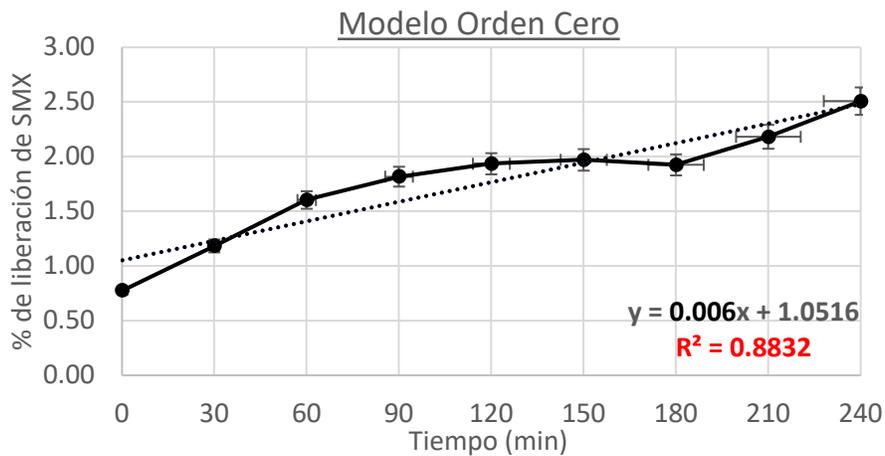


Figura A1.8. Gráfico del porcentaje promedio de la liberación de SMX en agua (pH=4) del CM basado en el modelo de orden cero.

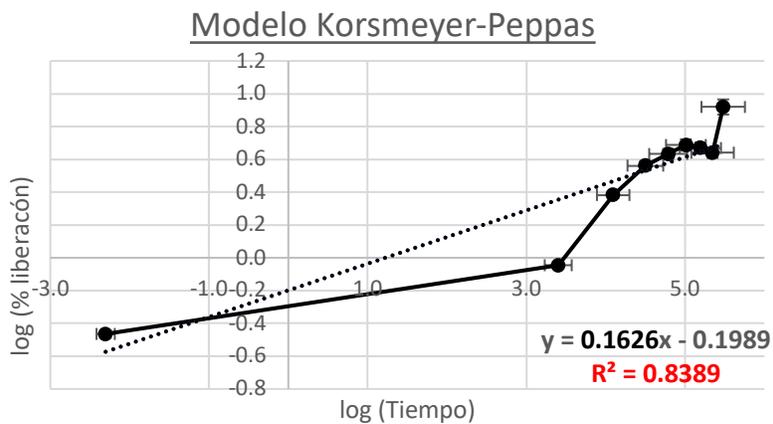


Figura A1.9. Gráfico del modelo K-P para el CM en agua (pH=4) para obtener el valor del exponente de difusión n .

PmSiO₂ en agua (pH=4)

Tabla A4. Resultados obtenidos de los ensayos independientes de liberación del PmSiO₂ en pH=4

Tiempo (min)	Promedio PmSiO ₂ % lib.	log (Tiempo)	log (%lib)
1 LI	33	1.52	0.18
30	40	1.60	0.20
60	41	1.62	0.21
90	43	1.63	0.21
120	44	1.65	0.22
150	45	1.65	0.22
180	45	1.65	0.22
210	45	1.66	0.22
240	46	1.66	0.22

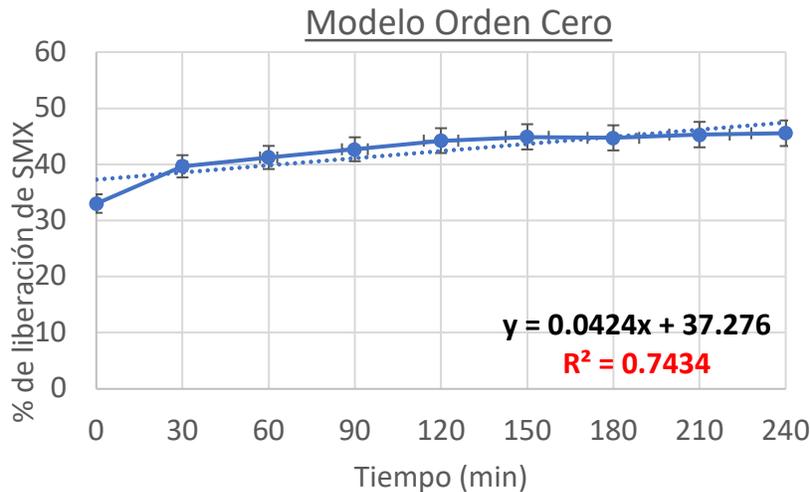


Figura A1.10. Gráfico del porcentaje promedio de la liberación de SMX en agua (pH=4) de las PmSiO₂ basado en el modelo de orden cero

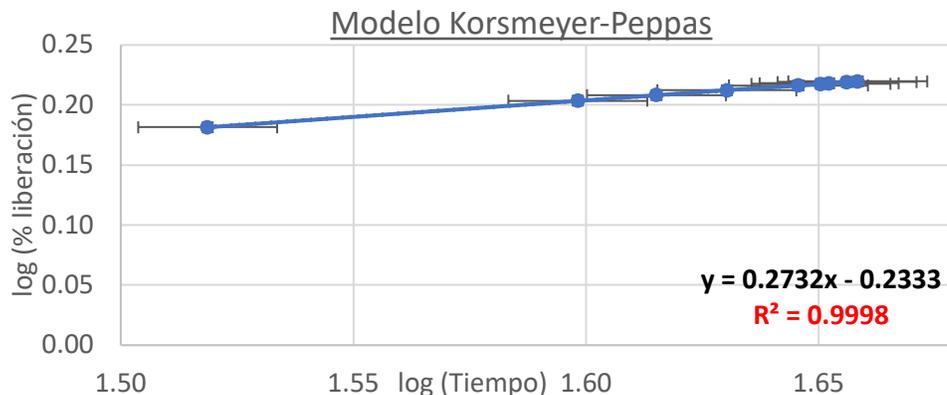


Figura A1.11. Gráfico del modelo K-P para las PmSiO₂ en agua (pH=4) para obtener el valor del exponente de difusión n .

Compósito en FGSA (pH=2)

Tabla A5. Resultados obtenidos de los ensayos independientes de liberación del CM en FGSA

Tiempo (min)	Promedio (% lib.)	log (Tiempo)	log (%lib)
1 (LI)	5	0.00	0.68
30	9	1.48	0.97
60	10	1.78	1.00
90	10	1.95	1.01
120	11	2.08	1.05
150	12	2.18	1.06
180	12	2.26	1.07
210	12	2.32	1.07
240	12	2.38	1.06

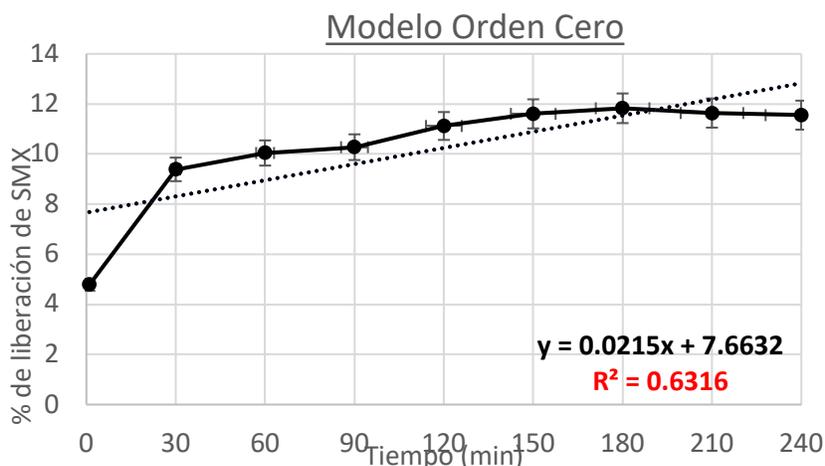


Figura A1.12. Gráfico del porcentaje promedio de la liberación de SMX en FGSA (pH=2) del CM basado en el modelo de orden cero.

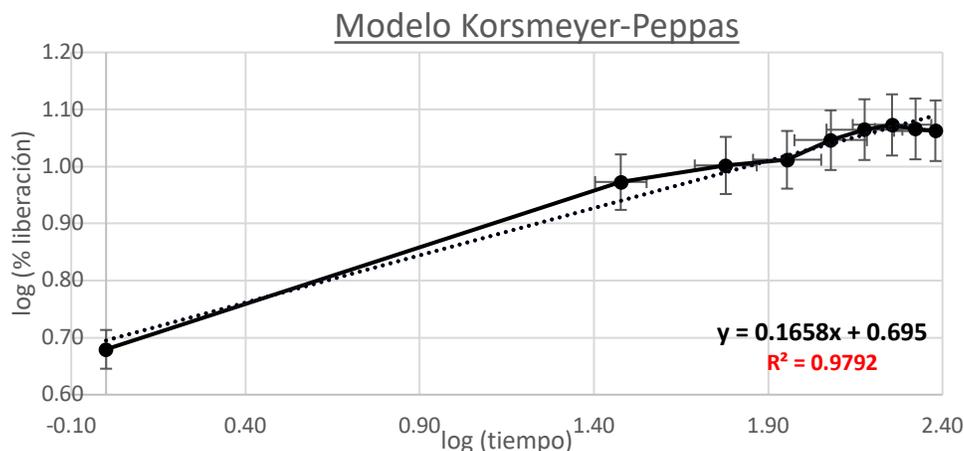


Figura A1.13. Gráfico del modelo K-P para el CM en FGSA (pH=2) para obtener el valor del exponente de difusión n .

PmSiO₂ en FGSA (pH=2)

Tabla A6. Resultados obtenidos de los ensayos independientes de liberación de las PmSiO₂ en FGSA

Tiempo (min)	Promedio PmSiO ₂ % lib.	log (tiempo)	log (%lib)
1 (LI)	37	0.00	1.57
30	45	1.48	1.66
60	47	1.78	1.68
90	46	1.95	1.66
120	47	2.08	1.68
150	50	2.18	1.70
180	51	2.26	1.70
210	50	2.32	1.70
240	50	2.38	1.70

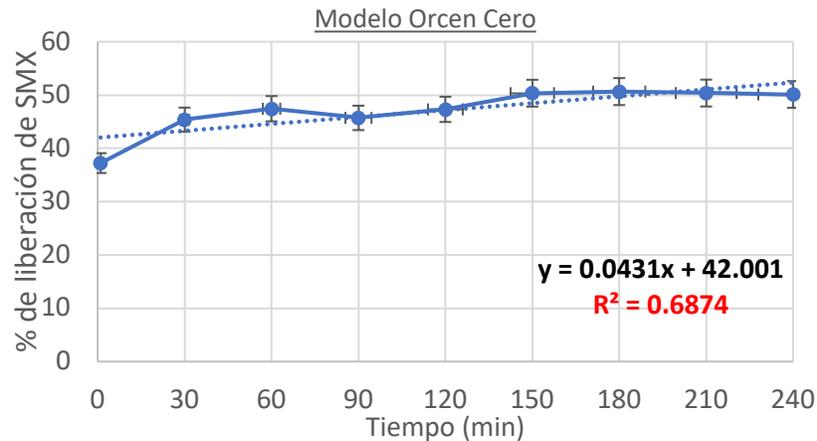


Figura A1.14. Gráfico del porcentaje promedio de la liberación de SMX en FGSA (pH=2) de las PmSiO₂ basado en el modelo de orden cero.

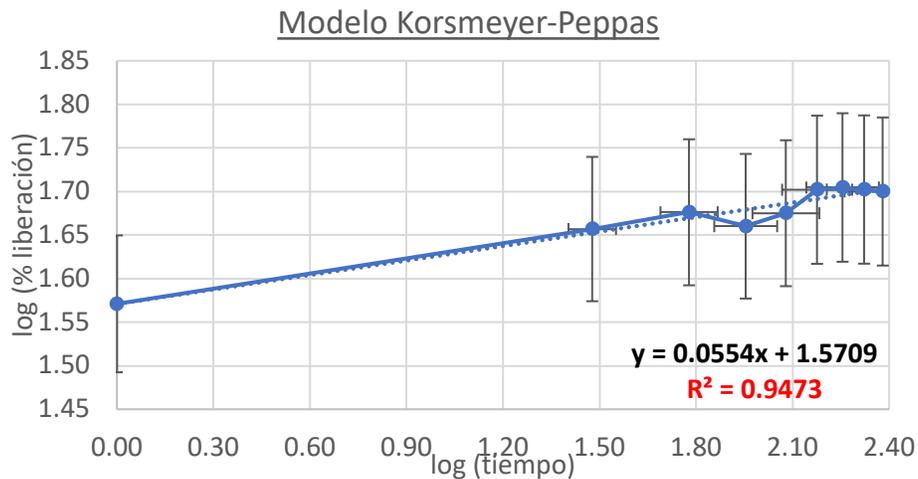


Figura A1.15. Gráfico del modelo K-P para las PmSiO₂ en FGSA (pH=2) para obtener el valor del exponente de difusión n .

Anexo 2

Síntesis de estructuras de Qt/PmSiO₂

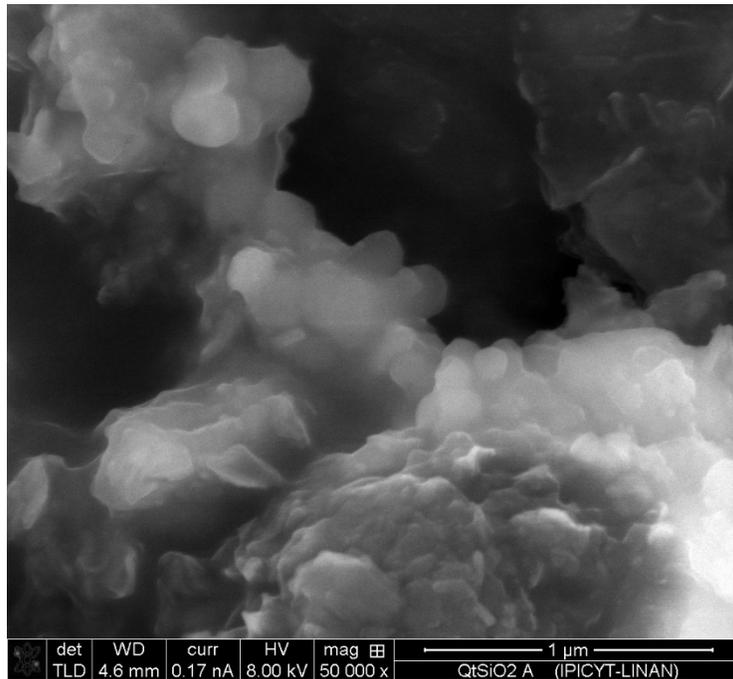


Figura A2.1. Micrografía de material a base de Qt/PmSiO₂ obtenida por MEB-ES. Se muestra una alta densidad de Qt recubriendo a las PmSiO₂

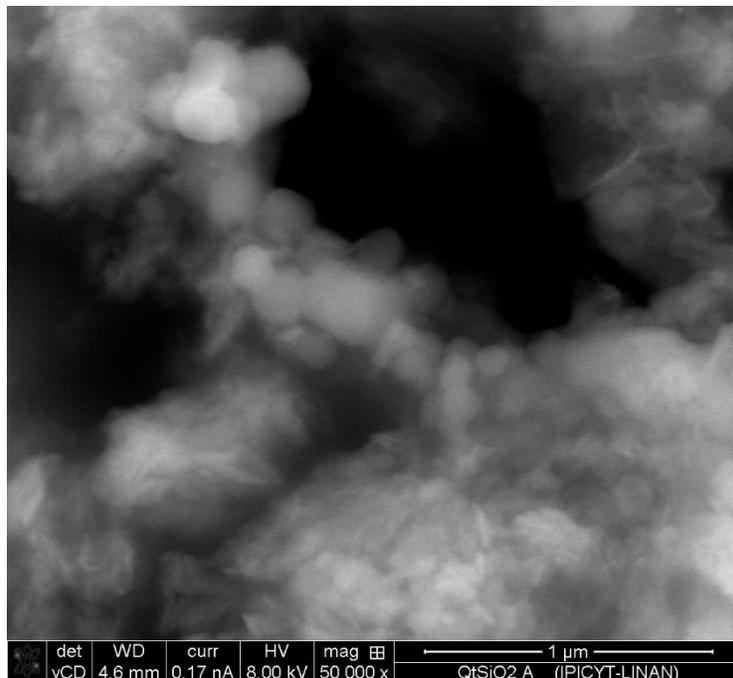


Figura A2.2. Micrografía de material a base de Qt/PmSiO₂ obtenida por MEB-electrones retrodispersados (ER). Se muestra una alta densidad de Qt recubriendo a las PmSiO₂

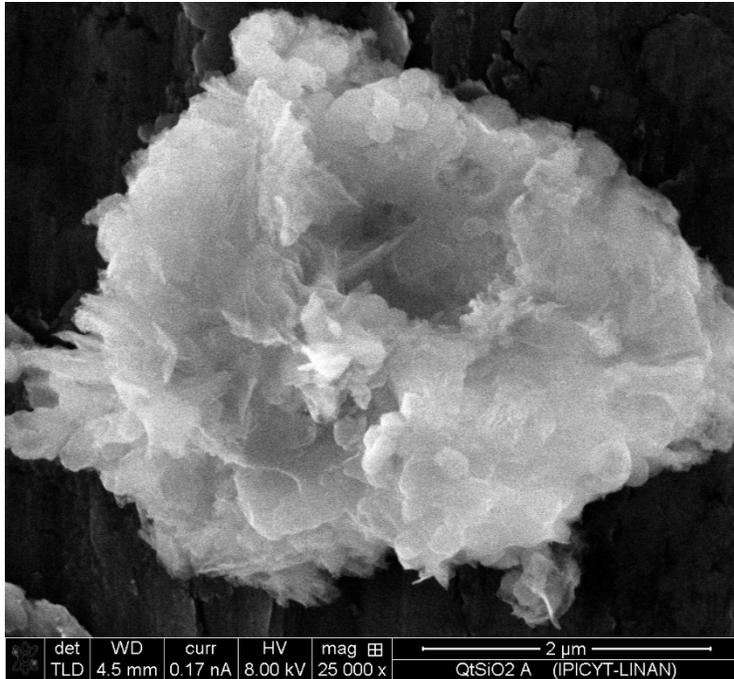


Figura A2.3. Micrografía de material a base de Qt/PmSiO_2 obtenida por MEB-ES. En esta se observa una estructura con forma de toroide

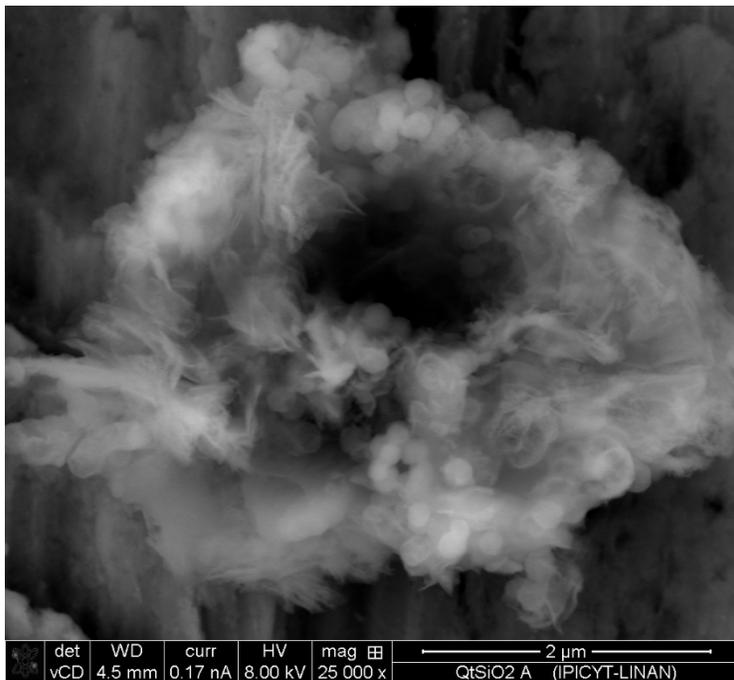


Figura A3.4. Micrografía de material a base de Qt/PmSiO_2 obtenida por MEB-ER. En esta se observa una estructura con forma de toroide

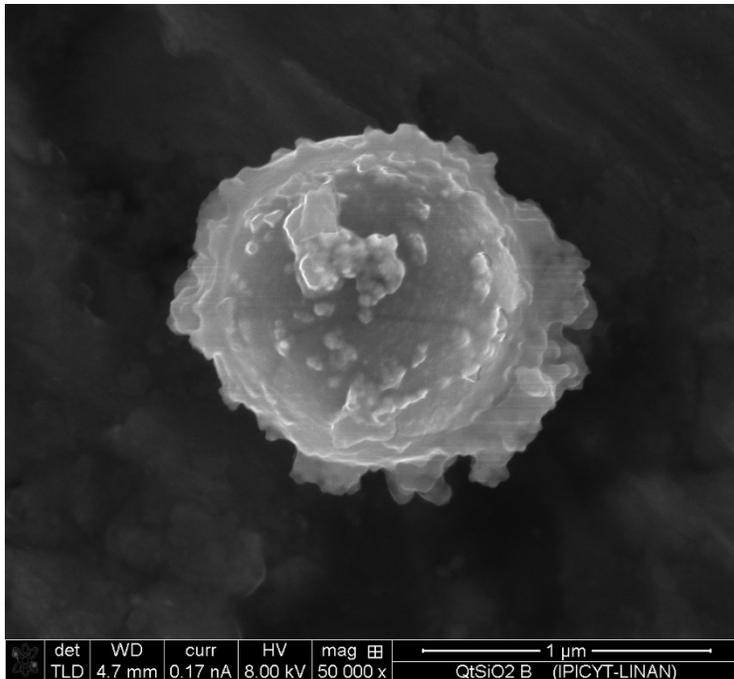


Figura A2.5. Micrografía de material a base de Qt/PmSiO₂ obtenida por MEB-ES. En esta se observa una partícula de Qt en la cual están depositas PmSiO₂ las cuales le dan textura a la partícula

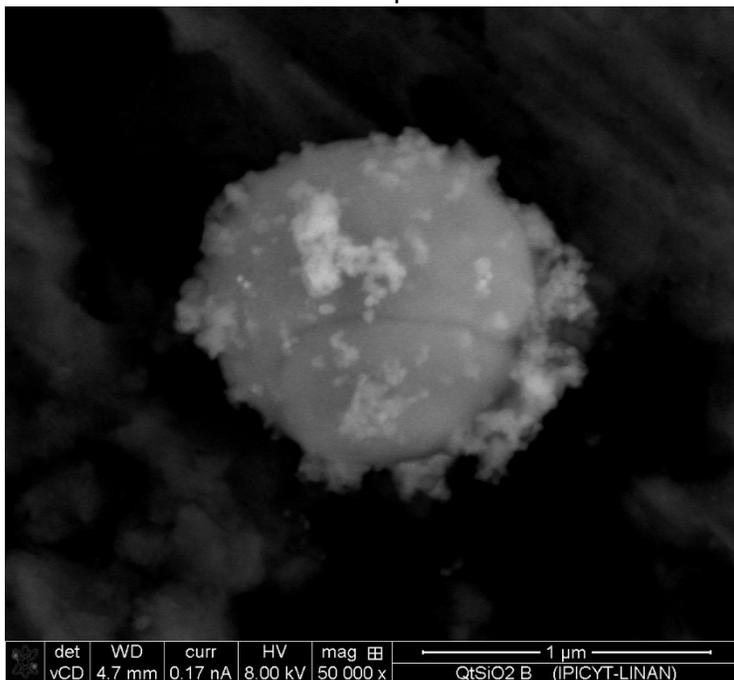


Figura A2.6. Micrografía de material a base de Qt/PmSiO₂ obtenida por MEB-ER. En esta se observa una partícula de Qt en la cual se observan las aglomeraciones de PmSiO₂ debido al contraste de intensidad de señal

Anexo 3

Reconocimiento obtenido durante la realización del proyecto



Imagen A3.1. Reconocimiento obtenido por el proyecto “Nanocompósito de SiO₂/Quitosano para la liberación de fármacos” en el certamen IPITESIS del CONIP 2019

Referencias

1. Gutiérrez Hernández, P. R. Bioequivalencia, biodisponibilidad y EFG Algunas consideraciones. *Rev. Int. Andrología* **6**, 88–92 (2001).
2. Robles, L. V. Los excipientes y su funcionalidad en productos farmacéuticos sólidos. *Rev. Mex. Ciencias Farm.* **42**, 18–36 (2011).
3. Kwon, S. *et al.* Silica-based mesoporous nanoparticles for controlled drug delivery. *J. Tissue Eng.* **4**, 1–18 (2013).
4. Elgadir, M. A. *et al.* Impact of chitosan composites and chitosan nanoparticle composites on various drug delivery systems: A review. *Journal of Food and Drug Analysis* **23**, 619–629 (2015).
5. Sinha, V. *et al.* Chitosan microspheres as a potential carrier for drugs. *Int. J. Pharm.* **274**, 1–33 (2004).
6. Gaware, S. A., Rokade, K. A. & Kale, S. N. Silica-chitosan nanocomposite mediated pH-sensitive drug delivery. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* **49**, 345–351 (2019).
7. Sonia, T. A. & Sharma, C. P. Chitosan and Its Derivatives for Drug Delivery Perspective. in *Chitosan for biomaterials I* 23–53 (Springer, Berlin, Heidelberg, 2011). doi:10.1007/12_2011_117
8. Roy, J. Formulated drugs. in *An introduction to pharmaceutical sciences: Production, chemistry, techniques and technology* 111–140 (Biohealthcare, 2011).
9. Lu, Z.-R. & Qiao, P. Drug Delivery in Cancer Therapy, Quo Vadis? *Mol. Pharm.* **15**, 3603–3616 (2018).
10. Kim, B. *et al.* Ternary and senary representations using DNA double-crossover tiles. *Nanotechnology* **10**, 105601 (2016).
11. Jin, R., Liu, Z., Bai, Y., Zhou, Y. & Chen, X. Multiple-Responsive Mesoporous Silica Nanoparticles for Highly Accurate Drugs Delivery to Tumor Cells. *ACS Omega* **3**, 4306–4315 (2018).
12. Vashist, S. K. *et al.* Delivery of drugs and biomolecules using carbon nanotubes. *Carbon* **49**, 4077–4097 (2011).
13. Medina-Ramírez, I. E., Arzate-Cardenas, M. A., Mojarro-Olmos, A. & Romo-López, M. A. Synthesis, characterization, toxicological and antibacterial activity evaluation of Cu@ZnO nanocomposites. *Ceram. Int.* **45**, 17476–17488 (2019).
14. *Handbook of Nanomaterials Properties. Handbook of Nanomaterials Properties* (Springer Berlin Heidelberg, 2014). doi:10.1007/978-3-642-31107-9
15. Biswas, A., Shukla, A. & Maiti, P. Biomaterials for Interfacing Cell Imaging and Drug Delivery: An Overview. *Langmuir* (2019). doi:10.1021/acs.langmuir.9b00419
16. Goldberg, M., Langer, R. & Jia, X. Nanostructured materials for applications in drug delivery and tissue engineering. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **18**, 241–268 (2007).
17. Wu, I. Y., Bala, S., Škalko-Basnet, N. & di Cagno, M. P. Interpreting non-linear drug diffusion data: Utilizing Korsmeyer-Peppas model to study drug release from liposomes. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **138**, 105026 (2019).
18. Silva, C. V. E. Síntesis de nanopartículas de SiO₂ como potenciales

- vehículos para administración de fármacos. (Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, 2015).
19. Möller, K. & Bein, T. Degradable Drug Carriers: Vanishing Mesoporous Silica Nanoparticles. *Chem. Mater.* [acs.chemmater.9b00221](https://doi.org/10.1021/acs.chemmater.9b00221) (2019). doi:10.1021/acs.chemmater.9b00221
 20. Argyo, C., Weiss, V., Bräuchle, C. & Bein, T. Multifunctional Mesoporous Silica Nanoparticles as a Universal Platform for Drug Delivery. *Chem. Mater.* **26**, 435–451 (2014).
 21. Murugadoss, S. *et al.* Toxicology of silica nanoparticles: an update. *Arch. Toxicol.* **91**, 2967–3010 (2017).
 22. Yu, T., Greish, K., McGill, L. D., Ray, A. & Ghandehari, H. Influence of Geometry, Porosity, and Surface Characteristics of Silica Nanoparticles on Acute Toxicity: Their Vasculature Effect and Tolerance Threshold. *ACS Nano* (2012). doi:10.1021/nn2043803
 23. Fu, Y. *et al.* Adaptive Chitosan Hollow Microspheres as Efficient Drug Carrier. *Biomacromolecules* **18**, 2195–2204 (2017).
 24. Yi, H. *et al.* Biofabrication with Chitosan. *Biomacromolecules* **6**, 2882–2894 (2005).
 25. Sanyakamdhorn, S., Agudelo, D. & Tajmir-Riahi, H.-A. Encapsulation of Antitumor Drug Doxorubicin and Its Analogue by Chitosan Nanoparticles. *Biomacromolecules* **14**, 557–563 (2013).
 26. Fu, J., Yang, F. & Guo, Z. The chitosan hydrogels: from structure to function. *New J. Chem.* **42**, 17162–17180 (2018).
 27. Cui, Q., Zhao, H., Luo, G. & Xu, J. An efficient chitosan/silica composite core-shell microspheres-supported Pd catalyst for aryl iodides sonogashira coupling reactions. *Ind. Eng. Chem. Res.* **56**, 143–152 (2017).
 28. Stenger Moura, F. C. *et al.* Chitosan composite microparticles: A promising gastroadhesive system for taxifolin. *Carbohydr. Polym.* **218**, 343–354 (2019).
 29. Poostforooshan, J. *et al.* Aerosol-Assisted Synthesis of Tailor-Made Hollow Mesoporous Silica Microspheres for Controlled Release of Antibacterial and Anticancer Agents. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **12**, 6885–6898 (2020).
 30. Sun, L. *et al.* Novel chitosan-functionalized spherical nanosilica matrix as an oral sustained drug delivery system for poorly water-soluble drug carvedilol. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **5**, 103–113 (2013).
 31. Budnyak, T. M., Vlasova, N. N., Golovkova, L. P., Slabon, A. & Tertykh, V. A. Bile acids adsorption by chitoan-fumed silica enterosorbent. *Colloid Interface Sci. Commun.* **32**, 100194 (2019).
 32. Li, J. *et al.* Porous chitosan microspheres for application as quick in vitro and in vivo hemostat. *Mater. Sci. Eng. C* (2017). doi:10.1016/j.msec.2017.03.276
 33. Guo, M. *et al.* In vivo immuno-reactivity analysis of the porous three-dimensional chitosan/SiO₂ and chitosan/SiO₂/hydroxyapatite hybrids. *J. Biomed. Mater. Res. - Part A* **106**, 1223–1235 (2018).
 34. Santos, L. R. L., Marino, C. E. B. & Riegel-Vidotti, I. C. Silica/chitosan hybrid particles for smart release of the corrosion inhibitor benzotriazole. *Eur. Polym. J.* **115**, 86–98 (2019).
 35. Oh, J.-S. & Lee, E.-J. Engineered dressing of hybrid chitosan-silica for

- effective delivery of keratin growth factor and acceleration of wound healing. *Mater. Sci. Eng. C* **103**, 109815 (2019).
36. Rathbone, M. J. *Controlled Release in Oral Drug Delivery. Controlled Release in Oral Drug Delivery* (Springer US, 2011). doi:10.1007/978-1-4614-1004-1
 37. George M. Brenner, C. S. *Farmacología Básica*. (Elsevier, 2019).
 38. Fernández, P. L. *et al.* *Farmacología Básica*. in *Farmacología Básica y Clínica* (ed. S.A., E. M. P.) 13–35 (Editorial Médica Panamericana, 2009).
 39. *Principios de Farmacología Clínica - Josep Eladi Baños Díez - Google Libros*. Available at: [https://books.google.com.mx/books?id=AfgSb8rPQ7QC&pg=PA20&dq=principios+de+farmacologia+paso+hepático&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwj_3ZT8sujpAhUPQq0KHUfDBA4Q6AEIKDAA#v=onepage&q=principios de farmacologia paso hepático&f=false](https://books.google.com.mx/books?id=AfgSb8rPQ7QC&pg=PA20&dq=principios+de+farmacologia+paso+hepático&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwj_3ZT8sujpAhUPQq0KHUfDBA4Q6AEIKDAA#v=onepage&q=principios+de+farmacologia+paso+hepático&f=false). (Accessed: 4th June 2020)
 40. Nielsen, L. & Bandosz, T. J. Analysis of sulfamethoxazole and trimethoprim adsorption on sewage sludge and fish waste derived adsorbents. *Microporous Mesoporous Mater.* **220**, 58–72 (2016).
 41. Tačić, A., Nikolić, V., Nikolić, L. & Savić, I. Antimicrobial sulfonamide drugs. *Adv. Technol.* **6**, 58–71 (2017).
 42. Sulfamethoxazole - DrugBank. Available at: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB01015>. (Accessed: 11th February 2020)
 43. E.B. da Silva, F. *et al.* The effect of pH on the simultaneous determination of Sulfamethoxazole and Trimethoprim by Ultraviolet Spectrophotometry and Multivariate Calibration. *Drug Anal. Res.* **1**, 15–23 (2017).
 44. Hammond, C. *The basics of crystallography and diffraction*. Oxford Science Publications **12**, (Oxford University Press, 2009).
 45. International Agency for Research on Cancer. List of Classifications – IARC Monographs on the Identification of Carcinogenic Hazards to Humans. *Agents classified by the IARC Monographs, Volumes 1–127* 1–39 (2020). Available at: <https://monographs.iarc.fr/list-of-classifications>. (Accessed: 6th November 2020)
 46. Chen, L. *et al.* The toxicity of silica nanoparticles to the immune system. *Nanomedicine* **13**, 1939–1962 (2018).
 47. Napierska, D., Thomassen, L. C., Lison, D., Martens, J. A. & Hoet, P. H. The nanosilica hazard: Another variable entity. *Part. Fibre Toxicol.* **7**, 39 (2010).
 48. Delle Piane, M., Vaccari, S., Corno, M. & Ugliengo, P. Silica-Based Materials as Drug Adsorbents: First Principle Investigation on the Role of Water Microsolvation on Ibuprofen Adsorption. *J. Phys. Chem. A* **118**, 5801–5807 (2014).
 49. Peh, S. B., Wang, Y. & Zhao, D. Scalable and Sustainable Synthesis of Advanced Porous Materials. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering* **7**, 3647–3670 (2019).
 50. Maria, L. D. & García, S. *Nanopartículas de sílice: preparación y aplicaciones en biomedicina*. (2014).
 51. Szegedi, A., Popova, M., Goshev, I. & Mihály, J. Effect of amine functionalization of spherical MCM-41 and SBA-15 on controlled drug release. *J. Solid State Chem.* **184**, 1201–1207 (2011).

52. Bo, X., Zhang, Q., Li, X. & Zhao, Y. Multifunctional porous silica nanoparticles for dual responsive drug release. *J. Sol-Gel Sci. Technol.* (2019). doi:10.1007/s10971-019-05133-w
53. Producción de comprimidos. Available at: <https://www.cabotcorp.mx/solutions/applications/pharmaceuticals-and-personal-care/tablet-production>. (Accessed: 3rd June 2020)
54. Qian, K. K. & Bogner, R. H. Application of Mesoporous Silicon Dioxide and Silicate in Oral Amorphous Drug Delivery Systems. *J. Pharm. Sci.* **101**, 444–463 (2012).
55. Mitran, R.-A., Matei, C. & Berger, D. Correlation of Mesoporous Silica Structural and Morphological Features with Theoretical Three-Parameter Model for Drug Release Kinetics. *J. Phys. Chem. C* **120**, 27 (2016).
56. Halada, G. *et al.* Formation and Characterization of Chitosan-Based Coatings on Stainless Steel. in *ACS Symposium Series* **1054**, 159–171 (UTC, 2010).
57. Pillai, C. K. S., Paul, W. & Sharma, C. P. Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. *Progress in Polymer Science (Oxford)* **34**, 641–678 (2009).
58. Sahariah, P. & Másson, M. Antimicrobial Chitosan and Chitosan Derivatives: A Review of the Structure–Activity Relationship. *Biomacromolecules* **18**, 3846–3868 (2017).
59. Kumari, S., Kumar Annamareddy, S. H., Abanti, S. & Kumar Rath, P. Physicochemical properties and characterization of chitosan synthesized from fish scales, crab and shrimp shells. *Int. J. Biol. Macromol.* **104**, 1697–1705 (2017).
60. Mármol, Z. *et al.* Quitina y Quitosano polímeros amigables. Una revisión de sus aplicaciones / Chitin and Chitosan friendly polymer. A review of their applications. *Rev. Tecnocientífica URU* **0**, 53–58 (2013).
61. Li, P. *et al.* Microencapsulation of coupled folate and chitosan nanoparticles for targeted delivery of combination drugs to colon. *J. Microencapsul.* **32**, 40–45 (2015).
62. Min, B. M. *et al.* Chitin and chitosan nanofibers: Electrospinning of chitin and deacetylation of chitin nanofibers. *Polymer (Guildf)*. **45**, 7137–7142 (2004).
63. Pandis, C. *et al.* Chitosan–silica hybrid porous membranes. *Mater. Sci. Eng. C* **42**, 553–561 (2014).
64. Dimzon, I. K. D. & Knepper, T. P. Degree of deacetylation of chitosan by infrared spectroscopy and partial least squares. *Int. J. Biol. Macromol.* **72**, 939–945 (2015).
65. Sun, X. *et al.* Mesoporous silica nanoparticles carried on chitosan microspheres for traumatic bleeding control. *Int. J. Biol. Macromol.* **127**, 311–319 (2019).
66. Pérez-Álvarez, L., Ruiz-Rubio, L. & Vilas-Vilela, J. L. Determining the Deacetylation Degree of Chitosan: Opportunities To Learn Instrumental Techniques. *J. Chem. Educ.* **95**, 1022–1028 (2018).
67. Gilbert, P. & Moore, L. E. Cationic antiseptics: Diversity of action under a common epithet. *J. Appl. Microbiol.* **99**, 703–715 (2005).
68. Valencia, A. Efecto Antimicrobiano Del Quitosano: Una Revisión De La

- Literatura Antimicrobial Effect of Chitosan: a Review. *Sci. Agroaliment. ISSN* **2**, 2339–4684 (2015).
69. Szegedi, Á. *et al.* Modified mesoporous silica nanoparticles coated by polymer complex as novel curcumin delivery carriers. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* **49**, 700–712 (2019).
 70. Chen, S., Zhang, H., Chinnathambi, S. & Hanagata, N. Synthesis of novel chitosan-silica/CpG oligodeoxynucleotide nanohybrids with enhanced delivery efficiency. *Mater. Sci. Eng. C* **33**, 3382–3388 (2013).
 71. He, S. *et al.* Preparation and characterization of double-shelled avermectin microcapsules based on copolymer matrix of silica-glutaraldehyde-chitosan. *J. Mater. Chem. B* **1**, 1270–1278 (2013).
 72. Lalchhingpuii, Tiwari, D., Lalhmunsiana & Lee, S. M. Chitosan templated synthesis of mesoporous silica and its application in the treatment of aqueous solutions contaminated with cadmium(II) and lead(II). *Chem. Eng. J.* **328**, 434–444 (2017).
 73. Díaz-Casasola, L. Mucosa gástrica: mecanismos protectores y efectos dañinos del ácido acetilsalicílico. Enfoques fisiológico y bioquímico. *Med. e Investig.* **3**, 100–103 (2015).
 74. Liberman, A., Mendez, N., Trogler, W. C. & Kummel, A. C. Synthesis and surface functionalization of silica nanoparticles for nanomedicine. *Surf. Sci. Rep.* **69**, 132–158 (2014).
 75. Ghimire, P. P. & Jaroniec, M. Renaissance of Stöber Method for Synthesis of Colloidal Particles: New Developments and Opportunities. *J. Colloid Interface Sci.* (2020). doi:10.1016/j.jcis.2020.10.014
 76. Liu, Y. *et al.* Structure-property of crosslinked chitosan/silica composite films modified by genipin and glutaraldehyde under alkaline conditions. *Carbohydr. Polym.* **215**, 348–357 (2019).
 77. Thommes, M. *et al.* Physisorption of gases, with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC Technical Report). *Pure Appl. Chem.* **87**, 1051–1069 (2015).
 78. Mayoral, J. B., Moreno, A. C. & San Martín-Martínez, E. Potencial zeta en la determinación de carga superficial de liposomas I. INTRODUCCIÓN. *Am. J. Phys. Educ* **8**, (2014).
 79. Zaichik, S., Steinbring, C., Jelkmann, M. & Bernkop-Schnürch, A. Zeta potential changing nanoemulsions: Impact of PEG-corona on phosphate cleavage. *Int. J. Pharm.* **581**, 119299 (2020).
 80. Zeta-Meter Inc. Potencial Zeta: Un Curso Completo en 5 Minutos. Available at: http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/PotencialZeta_1246.pdf. (Accessed: 3rd June 2020)
 81. Permanadewi, I., Kumoro, A. C., Wardhani, D. H. & Aryanti, N. Modelling of controlled drug release in gastrointestinal tract simulation. *J. Phys. Conf. Ser.* **1295**, 012063 (2019).
 82. Lisik, A. & Musiał, W. Conductometric Evaluation of the Release Kinetics of Active Substances from Pharmaceutical Preparations Containing Iron Ions. *Materials (Basel)*. **12**, 730 (2019).
 83. Baishya, H. Application of Mathematical Models in Drug Release Kinetics of Carbidopa and Levodopa ER Tablets. *J. Dev. Drugs* **06**, (2017).

84. Fu, Y. & Kao, W. J. Drug release kinetics and transport mechanisms of non-degradable and degradable polymeric delivery systems. *Expert Opinion on Drug Delivery* **7**, 429–444 (2010).
85. Chandra Basak, S., Senthil Kumar, K., Ramalingam, M. & Basak, S. C. Design and release characteristics of sustained release tablet containing metformin HCl. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* **44**, (2008).
86. Arora, G., Malik, K. & Singh, I. Formulation and evaluation of mucoadhesive matrix tablets of taro gum: optimization using response surface methodology. *Polim. Med.* **41**, 23–34 (2011).
87. Suvankata, D., Padala, N. M., Lilakanta, N. & Prasanta, C. Kinetic model of drug release from controlled drug delivery systems. *Acta Pol. Pharm. Res.* **67**, 217–223 (2010).
88. Marques, M. R. C., Loebenberg, R. & Almukainzi, M. Simulated Biological Fluids with Possible Application in Dissolution Testing. *Dissolution Technol.* **18**, 15–28 (2011).
89. Dobrovolskaia, M. A. *et al.* Method for Analysis of Nanoparticle Hemolytic Properties in Vitro. *Nano Lett.* **8**, 2180–2187 (2008).
90. Medina-Ramírez, I. *et al.* Synthesis, characterization, photocatalytic evaluation, and toxicity studies of TiO₂–Fe³⁺ nanocatalyst. *J. Mater. Sci.* **49**, 5309–5323 (2014).
91. Kim, I. Y., Joachim, E., Choi, H. & Kim, K. Toxicity of silica nanoparticles depends on size, dose, and cell type. *Nanomedicine Nanotechnology, Biol. Med.* **11**, 1407–1416 (2015).
92. Katiyar, A., Yadav, S., Smirniotis, P. G. & Pinto, N. G. Synthesis of ordered large pore SBA-15 spherical particles for adsorption of biomolecules. *J. Chromatogr. A* **1122**, 13–20 (2006).
93. Iturbe-Ek, J., Andrade-Martínez, J., Gómez, R. & Rodríguez-González, V. A functional assembly of SiO₂ nanospheres/graphene oxide composites. *Mater. Lett.* **142**, 75–79 (2015).
94. Chauvin, J., Thomas, K., Clet, G. & Houalla, M. Comparative Influence of Surface Tungstate Species and Bulk Amorphous WO₃ Particles on the Acidity and Catalytic Activity of Tungsten Oxide Supported on Silica. *J. Phys. Chem. C* **119**, 12345–12355 (2015).
95. Vaccaro, G., Agnello, S., Buscarino, G. & Gelardi, F. M. Thermally Induced Structural Modification of Silica Nanoparticles Investigated by Raman and Infrared Absorption Spectroscopies. *J. Phys. Chem. C* **114**, 13991–13997 (2010).
96. Alessi, A., Agnello, S., Buscarino, G. & Gelardi, F. M. Raman and IR investigation of silica nanoparticles structure. *J. Non. Cryst. Solids* (2013). doi:10.1016/j.jnoncrysol.2012.11.006
97. Capeletti, L. B., Baibich, I. M., Butler, I. S. & Dos Santos, J. H. Z. Infrared and Raman spectroscopic characterization of some organic substituted hybrid silicas. *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **133**, 619–625 (2014).
98. Geroge, S. *Infrared and Raman characteristic group frequencies. Tables and charts.* *Journal of Raman Spectroscopy* (John Wiley & Sons Ltd.,

- c2001., 2001).
99. Anedda, A., Carbonaro, C. M., Clemente, F., Corpino, R. & Ricci, P. C. Raman Investigation of Surface OH-Species in Porous Silica. *J. Phys. Chem. B* **107**, 13661–13664 (2003).
 100. Davidson, S., Lamprou, D. A., Urquhart, A. J., Grant, M. H. & Patwardhan, S. V. Bioinspired Silica Offers a Novel, Green, and Biocompatible Alternative to Traditional Drug Delivery Systems. *ACS Biomater. Sci. Eng.* **2**, 1493–1503 (2016).
 101. Lan, Y. K. *et al.* Adsorption Behavior and Mechanism of Antibiotic Sulfamethoxazole on Carboxylic-Functionalized Carbon Nanofibers-Encapsulated Ni Magnetic Nanoparticles. *Langmuir* **32**, 9530–9539 (2016).
 102. Ling, C. *et al.* High Adsorption of Sulfamethoxazole by an Amine-Modified Polystyrene-Divinylbenzene Resin and Its Mechanistic Insight. *Environ. Sci. Technol.* **50**, 10015–10023 (2016).
 103. Liu, W. T. *et al.* Facile and simple preparation of pH-sensitive chitosan-mesoporous silica nanoparticles for future breast cancer treatment. *Express Polym. Lett.* **9**, 1068–1075 (2015).
 104. Yadav, L. D. S. *Organic Spectroscopy. Journal of Chemical Information and Modeling* **53**, (Springer Netherlands, 2005).
 105. Zhou, W. & Moore, D. E. Photosensitizing activity of the anti-bacterial drugs sulfamethoxazole and trimethoprim. *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* **39**, 63–72 (1997).
 106. Thermo Spectronic. *Basic UV-Vis Theory, Concepts and Applications*.
 107. M., M., A., R., J.-L., G. & L., S. Adaptation of silanol groups in mesoporous silica to be silylated and their evaluation by ftir. in *Studies in Surface Science and Catalysis* **154 A**, 562–567 (Elsevier, 2004).
 108. Morales, V., Idso, M. N., Balabasquer, M., Chmelka, B. & García-Muñoz, R. A. Correlating surface-functionalization of mesoporous silica with adsorption and release of pharmaceutical guest species. *J. Phys. Chem. C* **120**, 16887–16898 (2016).
 109. Zheng, X. *et al.* MSNCs and MgO-MSNCs as drug delivery systems to control the adsorption kinetics and release rate of indometacin. *Asian J. Pharm. Sci.* **14**, 275–286 (2019).
 110. Evonik. AEROSIL 200 Pharma. *Product Information* Available at: https://products-re.evonik.com/www2/uploads/productfinder/AEROSIL-200-Pharma-EN.pdf?xd_co_f=ZDg4YTZhZjltYzYyYi00M2Q2LWFiNDQtM2FhYWQxZWl4ZGZh. (Accessed: 1st July 2020)
 111. Lai, K. *et al.* Application of surface enhanced Raman spectroscopy for analyses of restricted sulfa drugs. *Sens. Instrum. Food Qual. Saf.* **5**, 91–96 (2011).
 112. Feng, F., Liu, Y., Zhao, B. & Hu, K. Characterization of half N-acetylated chitosan powders and films. *Procedia Eng.* **27**, 718–732 (2012).
 113. Ko, Y. G., Yu, S. M., Park, S. J., Chun, H. J. & Kim, C. H. Characterization of surface properties and cytocompatibility of ion-etched chitosan films. *Langmuir* **28**, 7223–7232 (2012).
 114. Zając, A., Hanuza, J., Wandas, M. & Dymińska, L. Determination of N-

- acetylation degree in chitosan using Raman spectroscopy. *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **134**, 114–120 (2015).
115. Bollhorst, T., Jakob, S., Köser, J., Maas, M. & Rezwani, K. Chitosan supraparticles with fluorescent silica nanoparticle shells and nanodiamond-loaded cores. *J. Mater. Chem. B* **5**, 1664–1672 (2017).
 116. Brunel, F., Véron, L., David, L., Domard, A. & Delair, T. A Novel Synthesis of Chitosan Nanoparticles in Reverse Emulsion. *Langmuir* **24**, 11370–11377 (2008).
 117. Gignone, A., Delle Piane, M., Corno, M., Ugliengo, P. & Onida, B. Simulation and Experiment Reveal a Complex Scenario for the Adsorption of an Antifungal Drug in Ordered Mesoporous Silica. *J. Phys. Chem. C* **119**, 13068–13079 (2015).
 118. Palla-Rubio, B. *et al.* Synthesis and characterization of silica-chitosan hybrid materials as antibacterial coatings for titanium implants. *Carbohydr. Polym.* **203**, 331–341 (2019).
 119. Zhang, D., Pan, B., Zhang, H., Ning, P. & Xing, B. Contribution of Different Sulfamethoxazole Species to Their Overall Adsorption on Functionalized Carbon Nanotubes. *Environ. Sci. Technol.* **44**, 3806–3811 (2010).
 120. Chen, F. & Zhu, Y. Chitosan enclosed mesoporous silica nanoparticles as drug nano-carriers: Sensitive response to the narrow pH range. *Microporous Mesoporous Mater.* **150**, 83–89 (2012).
 121. Pedroza-Herrera, G., Medina-Ramírez, I. E., Lozano-Álvarez, J. A. & Rodil, S. E. Evaluation of the Photocatalytic Activity of Copper Doped TiO₂ nanoparticles for the Purification and/or Disinfection of Industrial Effluents. (2018). doi:10.1016/j.cattod.2018.09.017
 122. Lima, J. M. De *et al.* Evaluation of Hemagglutination Activity of Chitosan Nanoparticles Using Human Erythrocytes. *Biomed Res. Int.* **2015**, 1–6 (2015).
 123. Grenha, A., Al-Qadi, S., Seijo, B. & Remuñán-López, C. The potential of chitosan for pulmonary drug delivery. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* **20**, 33–43 (2010).
 124. Yu, T., Malugin, A. & Ghandehari, H. Impact of silica nanoparticle design on cellular toxicity and hemolytic activity. *ACS Nano* **5**, 5717–5728 (2011).
 125. Bye, E., Davies, R., Griffiths, D. M., Gylseth, B. & Moncrieff, C. B. In vitro cytotoxicity and quantitative silica analysis of diatomaceous earth products. *Br. J. Ind. Med.* **41**, 228–234 (1984).