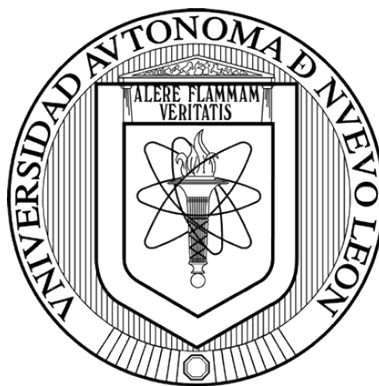


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



**OBTENCIÓN DE NANOESTRUCTURAS DE HIDROXIAPATITA-Au Y SU
POTENCIAL APLICACIÓN EN LIBERACIÓN DE FÁRMACOS**

POR

ANA GABRIELA AMOR DE JESÚS

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN QUÍMICA DE LOS
MATERIALES**

AGOSTO, 2018

RESUMEN

Nombre: Ana Gabriela Amor de Jesús Fecha de graduación: Agosto de 2018

Universidad Autónoma de Nuevo León

Facultad de Ciencias Químicas

Título del Estudio: OBTENCIÓN DE NANOESTRUCTURAS DE
HIDROXIAPATITA-Au Y SU POTENCIAL APLICACIÓN EN
LIBERACIÓN DE FÁRMACOS

Número de páginas: 78

Candidato para el Grado de Maestría en
Ciencias con Orientación en Química de
los Materiales

Área de Estudio: Química de los materiales

Propósito y Métodos de Estudio: El campo de la administración de fármacos ha evolucionado desde los sistemas de administración oral y transdérmica hasta los sistemas de administración inteligentes. Recientemente, el uso de nanopartículas y nanoestructuras ha resultado atractivo para la generación de sistemas de administración de fármacos. Por otro parte, los materiales compuestos resultan de gran interés por la ventaja de integrar las propiedades de cada uno de los componentes en un material único. La hidroxiapatita (HA) y las nanopartículas de Au son de gran interés en el área biomédica debido a que por un lado la HA posee una excelente biocompatibilidad y baja toxicidad, mientras que las nanopartículas de Au presentan una alta estabilidad química, baja toxicidad y la propiedad óptica de Resonancia de Plasmón Superficial Localizado (LSPR). En el presente trabajo se llevó a cabo la síntesis de microestructuras huecas de CaCO_3 por un método de precipitación a partir de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, Na_2CO_3 y SDS como estabilizante. Después, a partir de una transformación del precursor CaCO_3 con una solución de Na_3PO_4 mediante irradiación de microondas, se obtuvo la HA manteniendo la morfología del precursor. Se sintetizaron nanobarras de Au a través del método de crecimiento mediante semillas. Las nanobarras de Au fueron incorporadas a las microesferas de HA a través de un método de inmersión para generar el material compuesto HA-Au. La caracterización de los materiales se llevó a cabo mediante FTIR, DRX, SEM, UV-vis y UV-visDRS. Por último, se analizaron las propiedades de adsorción y liberación en ausencia y presencia de radiación infrarroja de DOX.

Contribuciones y Conclusiones: Se obtuvieron microesferas huecas de HA mediante una transformación a partir de precursores vía microondas a partir de CaCO_3 . Las nanobarras de Au sintetizadas mediante un crecimiento de semilla presentan una LSPR dentro de la ventana de agua. El material HA-Au se obtuvo mediante un método por inmersión. Por último, el material promueve una mayor liberación de DOX bajo irradiación infrarroja que en ausencia de la misma.

Firma del director: _____

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para el desarrollo de la presente tesis.

A la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL) y a la Facultad de Ciencias Químicas (FCQ) por las instalaciones y los recursos brindados para llevar a cabo el trabajo experimental del trabajo expuesto en este documento.

A mi asesor, el Dr. Boris I. Kharisov, por su confianza, su apoyo y su guía en mi desarrollo académico y científico. Así mismo, a la Dra. Fabiola León y a la Dra. Mónica Trejo por su apoyo en mi estancia de investigación.

A la Dra. Lorena Garza Tovar y Dr. Sergio Obregón por su apoyo en las técnicas de DRX y UV-vis DRS utilizadas en la presente tesis.

A mis compañeros del grupo de investigación y amigos del laboratorio Brandon, Ferreira, Guti, Sandy, los niños Abner, Fernanda y Maridely, por los momentos de ocio, de trabajo y estrés que hemos pasado juntos.

A mis ángeles, mis padres Silvia de Jesús Guadarrama y Jorge Amor Salazar, por siempre cuidar de mí desde la tierra como del cielo. Gracias a ambos por su todo su amor.

Al Dr. Alejandro Vázquez por su apoyo, su compañía y sus ánimos constantes en cada momento, feliz, triste y cardiaco, del camino.

Gracias a Dios.

TABLA DE CONTENIDO

Capítulo	Página
RESUMEN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
TABLA DE CONTENIDO	V
LISTA DE FIGURAS	VIII
LISTA DE TABLAS	X
NOMENCLATURA.....	XI
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Administración de fármacos	2
1.2 Sistemas de administración de fármacos	2
1.3 Nanotecnología.....	3
1.4 Nanoestructuras y nanocompósitos.....	5
1.5 Nanotecnología en el campo de los sistemas de administración de fármacos.....	5
1.6 Apatitas.....	6
1.6.1 Hidroxiapatita	7
1.7 Síntesis de HA.....	8
1.8 Síntesis asistida por microondas	11
1.8.1 Mecanismo de calentamiento	11
1.9 Metales	12
1.9.1 Enlace metálico	13
1.9.2 Plasmón	13
1.9.3 Resonancia de plasmón superficial localizada	14
1.10 Metales nobles.....	17

1.10.1 Au	18
1.10.2 Nanopartículas de Au	19
1.10.3 Síntesis de nanopartículas de Au	20
1.11 Efecto fototérmico	21
2. ANTECEDENTES	22
2.1 Hipótesis	28
2.2 Objetivo general	28
2.3 Objetivos específicos	28
3. MATERIALES Y MÉTODOS	30
3.1 Síntesis de nanoestructuras de CaCO ₃	31
3.2 Caracterización de nanoestructuras de CaCO ₃	32
3.3 Transformación de CaCO ₃ en HA	32
3.4 Caracterización de nanoestructuras de HA	33
3.5 Síntesis de nanobarras de Au	33
3.6 Caracterización de las nanobarras de Au	34
3.7 Obtención de nanoestructuras de HA-Au	35
3.8 Caracterización de nanoestructuras de HA-Au	35
3.9 Evaluación de la adsorción de fármaco	36
3.10 Evaluación de la liberación de fármaco	36
3.11 Disposición de residuos	37
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	38
4.1 Caracterización de nanoestructuras de CaCO ₃	38
4.1.1 Espectroscopía de Infrarrojo por Transformadas de Fourier (FT-IR)	38
4.1.2 Difracción de Rayos X (DRX)	39
4.1.3 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)	41
4.1.4 Mecanismo de formación de nanoestructuras de CaCO ₃	42
4.2 Caracterización de nanoestructuras de HA	43
4.2.1 Espectroscopía de Infrarrojo por Transformadas de Fourier (FT-IR)	43
4.2.2 Difracción de Rayos X (DRX)	46
4.2.3 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)	48
4.3 Nanobarras de Au	49
4.3.1 Espectroscopía Ultravioleta visible (UV-vis)	49

4.3.2 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).....	51
4.4 Nanoestructuras de HA-Au.....	52
4.4.1 Espectroscopía Ultravioleta visible de Reflectancia Difusa (UV-vis DRS).....	52
4.4.2 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).....	53
4.5 Evaluación de adsorción de fármaco.....	54
4.6 Evaluación de liberación de fármaco.....	59
4.6.1 Liberación sin asistencia de irradiación infrarroja.....	59
4.6.2 Liberación con asistencia de irradiación infrarroja.....	61
5. CONCLUSIONES	65
REFERENCIAS	67

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Sistema cristalino de la HA visto sobre el eje c (a) y girando en el eje b (b). calcio en verde, fósforo en naranja, oxígeno en rojo e hidrógeno en blanco.....	7
2. Mecanismo de polarización dipolar de moléculas de agua bajo un campo eléctrico generado por la irradiación de microondas	11
3. Oscilación de un plasma de electrones libres o plasmón de volumen.....	14
4. Ejemplificación de la resonancia de plasmón en volumen (a) y la resonancia de plasmón superficial (b).....	15
5. Esquema de la resonancia de plasmón superficial localizada de una nanoesfera metálica en respuesta a una radiación electromagnética incidente	16
6. Comparación de la interacción del plasma de electrones libres de una nanoesfera y una nanobarra de un mismo metal frente a una radiación electromagnética	17
7. Distribución de los átomos de Au en una red cristalina	18
8. Espectro de FT-IR para CaCO ₃ sintetizado.....	38
9. Difractogramas para CaCO ₃ sintetizado así como para la calcita (JCPDS 72-1937)	39
10. Micrografías para CaCO ₃ sintetizado a a) 16 000 y b) 30 000 aumentos....	40
11. Esquema de mecanismo de formación de nanoestructuras de CaCO ₃	41
12. Espectro de FT-IR para HA sintetizado	43

13. Espectros de FTIR para HA y para su precursor correspondiente como comparación	44
14. Difractogramas para HA sintetizada a 30 y 60 min así como para HA (JCPDS 9-432)	45
15. Difractogramas para HA sintetizada a 30 y 60 min, así como para su precursor correspondiente	46
16. Micrográficas para HA sintetizada a 60 min a a) 9 000 y b) 22 000 aumentos	47
17. Espectro de UV-vis para las nanobarras de Au donde se muestra la correspondencia de las LSPR transversal y longitudinal	49
18. Micrografía de SEM para nanobarras de Au a 120 000 aumentos con tamaños de partícula señalados	50
19. Espectro de UV-Vis DRS para las nanoestructuras de HA-Au obtenidas ...	52
20. Micrografía de SEM para el material HA-Au a 15 000 aumentos	53
21. Espectro de la DOX y su molécula correspondiente	54
22. Curva de calibración utilizada en los análisis de adsorción	55
23. Curva de adsorción de DOX en el material HA-Au contra tiempo de contacto	56
24. Factores que ayudan a la adsorción de la DOX en el material HA-Au	57
25. Curva de calibración utilizada en los análisis de liberación	58
26. Curva de porcentaje acumulado de liberación de DOX del material compuesto HA-Au en PBS pH 7.4	59
27. Curva de % acumulado de liberación de DOX del material compuesto HA-Au en PBS pH 7.4 bajo lapsos de irradiación infrarroja (señalado en rojo) .	61
28. Comportamiento de liberación de DOX del material compuesto HA-Au en PBS pH 7.4 en presencia y ausencia de irradiación infrarroja	62
29. Esquema de liberación de DOX bajo irradiación infrarroja	63

LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
1. Comparación de la concentración de DOX adsorbida en el material HA-Au con reportes de materiales de composición similar	57

NOMENCLATURA

OMS	Organización Mundial de la Salud
USD	<i>United State Dollar</i>
EUA	Estados Unidos de América
DDS	Sistemas de administración de fármacos
SDSys	Sistemas inteligentes de administración
nm	Nanómetro
HA	Hidroxiapatita
W/O	Fase polar/fase no polar
O/W	Fase no polar/fase polar
GHz	Gigahertz
mm	Miliméto
m	Metro
LSPR	Resonancia de plasmón superficial localizada
d. C.	Antes de Cristo
a. C.	Después de Cristo
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
et al.	Y colaboradores

°C	Grados Celcius
h	Hora
SDS	Dodecil sulfato de sodio
µm	Micrómetro
g	Gramo
W	Watt
min	Minuto
PSS	Sal sódica de poliácido estirensulfónico
nm	Nanómetro
DRX	Difracción de Rayos X
FTIR	Espectroscopía de Infrarrojo por Transformada de Fourier
SEM	Microscopía Electrónica de Barrido
UV-vis	Espectroscopía Ultravioleta visible
UV-vis RDS	Espectroscopía Ultravioleta visible de Reflectancia Difusa
%	Por ciento
CTAB	Bromuro de cetiltrimetilamonio
DOX	Doxorrubicina
M	Molar (mol L ⁻¹)
λ	Longitud de onda (nm)
Å	Angstrom
°	Grados
s	Segundo
mL	Mililitro

μL	Microlitro
rpm	Revoluciones por minuto
mg	Miligramo
PBS	Buffer Salino de fosfatos
JCPDS	<i>Joint Committee on Powder Diffraction Standards</i>
cm^{-1}	Número de onda en los análisis por FTIR
u_1	Estiramiento simétrico
u_2	Flexión simétrica
u_3	Estiramiento asimétrico
u_4	Flexión asimétrica
CMC	Concentración Micelar Crítica
DOI	<i>Digital Object Identifier</i>

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

La esperanza de vida a nivel mundial se ha mejorado a un ritmo de aproximadamente tres años por década desde 1950, mientras que del año 2000 al año 2015 hubo un aumento global de cinco años en promedio. Cifras de la OMS, para la población mundial muestran que hombres y mujeres nacidos en 2015 tienen una esperanza de vida promedio de 69.1 y 73.7 años respectivamente [1]. Por otro lado, en México se llegó en el año 2015 a los 72.9 y 77.9 años de esperanza de vida para hombres y mujeres respectivamente [2]. Dicha situación se ha favorecido en gran medida debido a los avances científicos y tecnológicos en el campo de la medicina; de manera más particular, en el ramo de la administración adecuada de fármacos como tratamiento para la gran mayoría de las enfermedades y dolencias que han afectado al ser humano a lo largo de la historia.

1.1 Administración de fármacos

Durante más de seis décadas el campo de la administración de fármacos ha evolucionado hasta el grado de obtener su propia disciplina. Cada uno de sus avances causa un impacto en la comodidad y cumplimiento del paciente hacia su tratamiento farmacológico [3]. Un avance importante ha sido el control de los tiempos de liberación del fármaco dentro del cuerpo, los cuales se han extendido desde horas hasta días, semanas, e inclusive meses; así mismo, las tecnologías de administración de fármacos también se han ocupado de la dosificación dirigida, es decir, la entrega de un fármaco a células específicas [4], lo cual mejora la biodisponibilidad mediante la prevención de la degradación prematura y la mejora de la absorción del fármaco, al mismo tiempo que reduce los efectos secundarios por la liberación directa sobre el sitio de la enfermedad [5]. Sin embargo, el diseño de sistemas adecuados de administración controlada de fármacos sigue siendo un gran campo de investigación en la comunidad científica, ya que el mercado farmacéutico representa globalmente alrededor de 980 mil millones de USD, sólo en EUA [6].

1.2 Sistemas de administración de fármacos

Los sistemas de administración de fármacos (DDS por sus siglas en inglés de *Drug Delivery Systems*) han evolucionado hasta la fecha a través de tres

generaciones [7]. En la primera generación ubicada en el periodo de 1950 a 1980 se inició con los DDS de ruta oral y transdérmica, además se discernieron las bases de los principales mecanismos de liberación de fármacos. En 1980 se ubicó el inicio de la segunda generación de DDS y se dieron los primeros pasos hacia los sistemas inteligentes de administración (SDSys por sus siglas en inglés de *Smart Delivery Systems*) entre los cuales se encuentran principalmente: micelas [8], liposomas [9], polímeros [10], nanopartículas virales [11], dendrímeros [12] y nanopartículas inorgánicas [13].

En la segunda generación de SDSys a pesar de los avances en nuevos materiales que se estaba dando, surgió la problemática de eliminar las barreras biológicas tales como: transporte de fármacos poco solubles, transporte de péptidos/proteínas/ácidos nucleicos, entrega dirigida de fármacos y regulación de la liberación del fármaco. Dicha situación dio comienzo a la tercera generación de SDSys en 2010 [14], donde se ha buscado mejorar los materiales surgidos en la segunda generación en busca de traspasar las ya mencionadas barreras.

1.3 Nanotecnología

La nanotecnología se define como el control y entendimiento de la materia a escalas comprendidas entre 1 y 100 nm en cuanto a los sistemas físicos, químicos y biológicos que la rodean, así como su aplicación en el mundo real.

Lo cual puede involucrar a átomos o moléculas individuales enlazadas a nanopartículas o nanoestructuras, así como la integración de estos en sistemas más grandes [15].

El galardonado con el premio nobel de física en 1965 Richard Feynman anticipó la llegada de la nanotecnología en su discurso "*There's Plenty of Room at the Bottom*" (Hay espacio de sobra en el fondo) el 29 de diciembre de 1959. Feynman proponía que se podrían manipular directamente átomos y moléculas, lo que causó revuelo entre la comunidad científica despertando el interés en el desarrollo de técnicas encaminadas hacia el control y entendimiento de la materia a nanoescala. Posteriormente en 1986 Erik Drexler, publicó el libro "*Engines of Creation*" (Motores de la creación) donde bosqueja un mundo cambiado para siempre, gracias a la nanotecnología, popularizando así el tema [16].

El desarrollo de nuevas herramientas para el estudio de la materia a escala nanométrica se ha traducido en una producción en crecimiento exponencial de artículos científicos centrados en el entendimiento de las propiedades de los nanomateriales y los sistemas en los que interactúa, así mismo, la tecnología genera cada vez más productos y/o procesos donde se involucran los materiales a nanoescala.

1.4 Nanoestructuras y nanocompósitos

Una nanoestructura es aquella estructura en la que al menos una de sus dimensiones se encuentra en escala nanométrica [17] o estructuras de mayor tamaño compuestas por bloques nanométricos [18].

Los compósitos son aquellos materiales compuestos por dos o más especies física y químicamente diferentes unidas en una misma entidad, la especie mayoritaria es llamada la fase matriz y la fase minoritaria es llamada la fase dispersa [19]. Este tipo de materiales son de gran importancia debido a que se puede agrupar las propiedades de cada una de las especies en una sola entidad, brindando de esta manera un material con propiedades superiores a cualquiera de las especies presentes por separado [20]. Un material compuesto puede ser nombrado nanocompósito cuando al menos uno de los componentes se encuentra en escala nanométrica [21].

1.5 Nanotecnología en el campo de los sistemas de administración de fármacos

En 2004 la *European Science Foundation* introdujo el concepto de nanomedicina como una nueva área en la investigación de administración de fármacos [22]. La atención hacia los nanomateriales aumentó debido a que

presentan propiedades físicas, eléctricas, magnéticas y ópticas únicas debido al efecto de la mecánica cuántica a escala nanométrica. Así mismo las partículas a escala nanométrica ofrecían la posibilidad de llegar a los sitios exactos de acción y, aunado a la baja toxicidad y/o alta biocompatibilidad de algunos materiales, prometían atravesar las barreras biológicas antes mencionadas.

1.6 Apatitas

La familia de las apatitas agrupa a los compuestos con fórmula general de $M_{10}(\text{NO}_4)_6\text{X}_2$ donde M generalmente es un catión divalente como Ca^{2+} , Mg^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} , Pb^{2+} ; NO_4 es un anión trivalente como PO_4^{3-} , VO_4^{3-} , AsO_4^{3-} ; mientras que X usualmente es un anión monovalente como OH^- , F^- , Cl^- , Br^- . La hidroxiapatita (HA) con fórmula general $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ es, junto con la fluorapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{F})_2$), las apatitas encontradas en mayor proporción de manera natural en los sedimentos oceánicos y rocas meteorizadas [23]. Así mismo la HA en su forma de hidroxiapatita carbonatada (con sustituciones del ion carbonato en sitios correspondientes a los aniones presentes en la estructura) es el principal constituyente mineral del hueso natural y dientes en una proporción del 70 % [24].

1.6.1 Hidroxiapatita

La HA tiende a cristalizar en un sistema hexagonal con un grupo espacial $P6_3/m$ ejemplificado en la Figura 1 (página 7) [25] o, en menor proporción, en un sistema monoclinico con un grupo espacial $P2_1/b$ [26]. El sistema monoclinico de la HA es inestable ante la presencia de iones ajenos a la estructura por lo que es difícil encontrarlo en sistemas naturales, mientras que el sistema hexagonal es estable ante la presencia de iones extraños en el medio en que se encuentre [27].

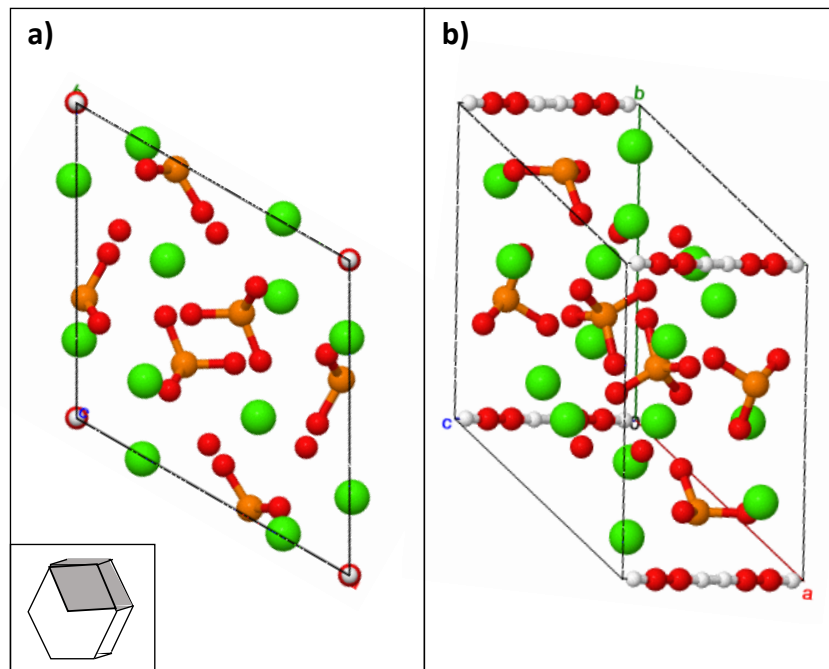


Figura 1. Sistema cristalino de la HA visto sobre el eje c (a) y girando en el eje b (b). calcio en verde, fósforo en naranja, oxígeno en rojo e hidrógeno en blanco.

La HA sintética presenta una excelente biocompatibilidad y no-toxicidad hacia el cuerpo humano [28, 29], así mismo presenta una alta superficie

específica [30], porosidad [31] y la capacidad de adsorber distintas especies químicas [32, 33]. Por lo anterior, se ha convertido en un material interesante para distintas aplicaciones biomédicas como reemplazo de huesos pequeños [34], ingeniería de tejidos [35], administración de fármacos [36], materiales odontológicos [37] y recubrimientos bioactivos sobre implantes metálicos óseos [38].

1.7 Síntesis de HA

La HA se ha sintetizado por distintos métodos entre los más destacados se encuentran:

- Precipitación: es un método ampliamente utilizado dado su bajo costo, consiste en la mezcla de reactivos en solución con los iones PO_4^{3-} y Ca^{2+} presentes en un medio que pueda aportar los iones OH^- [39]. La desventaja de esta técnica es la dificultad de controlar el tamaño de partícula y su morfología.
- Método solvotermal: este método de síntesis se caracteriza por llevar a cabo la reacción en un sistema cerrado que permita la interacción entre la fase vapor y la fase líquida del solvente, el cual puede ser agua (hidrotermal) o cualquier solvente orgánico (solvotermal) [40]. La reacción por lo general se realiza en una autoclave de acero inoxidable con revestimiento interno de teflón [41]. Este método tiene como

desventajas el costo del equipo a utilizar, así como el uso de solventes no biocompatibles.

- Método sol-gel: esta técnica consiste en un proceso de varios pasos pasando por la formación de una suspensión coloidal (llamada sol), la conversión a un gel y por último un tratamiento térmico para obtener el sólido correspondiente [42]. Las principales desventajas de este método son los altos costos de los reactivos iniciales y la aparición de fases secundarias al final del tratamiento térmico [43].
- Microemulsión: este método se caracteriza por ser una dispersión compuesta básicamente por tres partes: un líquido polar, un líquido no polar y un surfactante que ayuda a la estabilidad de la dispersión [44]. Su notación general es dispersión W/O cuando la fase no polar es la mayoritaria y dispersión O/W cuando la fase polar (generalmente agua) es la mayoritaria [45]. Las principales desventajas de este método es el uso de una gran cantidad de surfactante para mantener estable la emulsión y la inestabilidad de la reacción frente a cambios pequeños de temperatura y salinidad [46].
- Métodos biomiméticos: la HA está presente tanto en sistemas bióticos como abióticos con distintas morfologías y tamaños en amigable interacción con su ambiente. Las técnicas biomiméticas se basan en utilizar a nivel laboratorio condiciones o elementos similares a los ya presentes en la naturaleza donde se desarrolla la presencia de HA para potenciar su uso en aplicaciones biológicas, un ejemplo es el uso de

proteínas [47], aminoácidos [48] y matrices simuladas de fluidos animales [49]. Las principales desventajas son los tiempos largos de reacción y el pequeño rango de pH en el que se puede llevar a cabo la experimentación [50].

- Síntesis por microondas: La característica básica de esta metodología es el reemplazo del calentamiento convencional por el uso de las microondas [51] en metodologías ya existentes como en la síntesis por precipitación [52] o el método hidrotermal [53] principalmente.

En los últimos años ha surgido una novedosa técnica de transformación de precursores. El método utiliza como material de partida compuestos compatibles con la HA como el CaCO_3 [54] o la xonolita, $(\text{Ca}_6(\text{Si}_6\text{O}_{17})(\text{OH})_2)$ [55] y a través de un intercambio de aniones, generalmente con soluciones de sales de fosfato, se obtiene la HA. Esta transformación resulta ser una estrategia muy atractiva ya que se mantiene la estructura inicial de las partículas, por lo que el control de la morfología se puede hacer durante la síntesis del precursor y no de la HA, donde normalmente es más complicado el control morfológico por síntesis directa [56], y se puede acoplar a métodos de síntesis como la precipitación y el método solvotermal.

1.8 Síntesis asistida por microondas

Las microondas son las ondas electromagnéticas con frecuencias que van desde 0.3 hasta 300 GHz y con longitudes de onda de entre 1 mm hasta 1 m [57]. El efecto de calentamiento de microondas fue descubierto accidentalmente en 1945 por Percy LeBaron Spencer, quien se encontró con que una barra de chocolate que tenía en su bolsillo se derritió mientras trabajaba en aplicaciones de microondas para radares en su laboratorio. Gran parte de las frecuencias de microondas se utiliza para las telecomunicaciones, por lo que para evitar interferencias, la frecuencia utilizada comúnmente, tanto en los equipos electrodomésticos como en los de laboratorio, es de 2.45 GHz [58].

1.8.1 Mecanismo de calentamiento

El calentamiento por microondas implica dos mecanismos: la polarización dipolar y la conducción iónica. Las microondas calientan generalmente cualquier material que contiene cargas eléctricas móviles, tales como las moléculas polares o iones que se encuentran en solución. Durante el calentamiento por microondas las moléculas polares, como las moléculas de agua, tratan de orientarse con el campo eléctrico que cambia alternadamente de una manera rápida, lo que provoca la rotación, fricción, y colisión de las moléculas (mecanismo de polarización dipolar) generando calentamiento como se ejemplifica en la Figura 2 (página 12). En el caso de los iones, estos se mueven en distintas direcciones a través de la solución orientándose de igual

manera con el campo eléctrico, causando un aumento de la temperatura debido a la fricción y el choque (conducción iónica) [59].

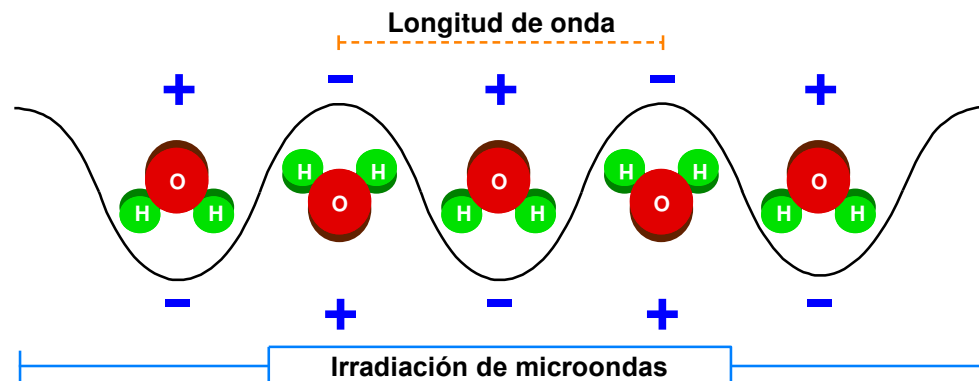


Figura 2. Mecanismo de polarización dipolar de moléculas de agua bajo un campo eléctrico generado por la irradiación de microondas.

La técnica de síntesis asistida por microondas ha surgido como una alternativa para obtener una mayor velocidad de reacción, mejor selectividad y mayores rendimientos, aunado a un menor tiempo de reacción y por lo tanto un menor gasto energético en el proceso, todo esto en comparación con los métodos de calentamiento convencionales, lo cual hace de esta herramienta una alternativa interesante para la síntesis de nanomateriales.

1.9 Metales

Los materiales metálicos generalmente se caracterizan por poseer una buena conductividad térmica y eléctrica, una alta rigidez y ductilidad [60]. Cada

una de las propiedades de un material se origina debido a su arreglo e interacción atómica.

1.9.1 Enlace metálico

La estructura de un sólido metálico se puede describir como núcleos positivos ordenados en un mar de electrones de valencia [61]. Los electrones pueden fluir libremente en toda la extensión del sólido e interactuar con otros núcleos, esta libertad de movimiento electrónica les otorga a los metales sus propiedades eléctricas y térmicas correspondientes.

El fundamento del movimiento electrónico dentro de los sólidos metálicos se ha desarrollado a través del tiempo a través de dos principales modelos. El primero de ellos publicado en 1900 se basa en las ideas de Drude y Lorentz, donde se considera a los electrones como un gas de partículas clásicas en movimiento aleatorio sin colisiones entre sí [62]. El segundo de ellos es el modelo cuántico de Sommerfeld desarrollado en 1928, el cual toma en cuenta la naturaleza cuántica de los electrones libres [63].

1.9.2 Plasmón

Un plasma describe a un estado de la materia compuesto por cargas negativas y positivas en misma proporción resultando en una sustancia neutra, y al menos un tipo de carga es móvil [64]. En un metal los electrones se mueven libremente en una red ordenada de iones positivos, lo cual genera un

sistema neutro. Por lo tanto, el comportamiento de un metal frente a distintas perturbaciones se puede explicar analizándolo como un plasma, o más específico, un plasma de electrones libres.

La oscilación de un plasma de electrones libres, considerando al metal, ejemplificado en la Figura 3, es la excitación colectiva longitudinal del mar de electrones en el metal, y a un cuanto de esta oscilación se le llama plasmón o plasmón de volumen [65].

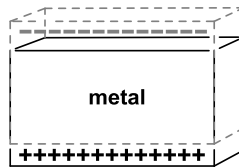


Figura 3. Oscilación de un plasma de electrones libres o plasmón de volumen.

1.9.3 Resonancia de plasmón superficial localizada

La resonancia se refiere a la correspondencia de la frecuencia y el vector de onda de dos ondas [66]. En un medio ópticamente receptivo, como lo es un plasma de electrones libres, una onda electromagnética puede excitar las cargas libres y generar una onda resultante cuya energía se encuentre compartida entre la oscilación del campo electromagnético y la oscilación de la excitación interna del medio, a un cuanto de la onda resultante se le conoce como polaritón. Si la excitación del medio es identificable se le puede llamar de una manera más específica al cuanto de la onda resultante como x-polaritón (donde x es el cuanto de la excitación identificable del medio) [67]. Cuando el

medio receptor es un metal, su cuanto de excitación frente a un fotón incidente es el plasmón, por lo que se produce un plasmón-polaritón.

Se le conoce como resonancia de plasmón en volumen a la oscilación colectiva de electrones en un metal resultante de una onda electromagnética incidente, igualmente se le puede llamar resonancia de plasmón-polaritón en volumen [67]. También se puede hablar de la resonancia de plasmón superficial (o resonancia de plasmón-polaritón superficial), la cual es la oscilación colectiva de electrones en la interfase entre un metal y un medio dieléctrico que genera la onda resultante en paralelo a la superficie del metal [68]. Ambas resonancias se ejemplifican en la Figura 4.

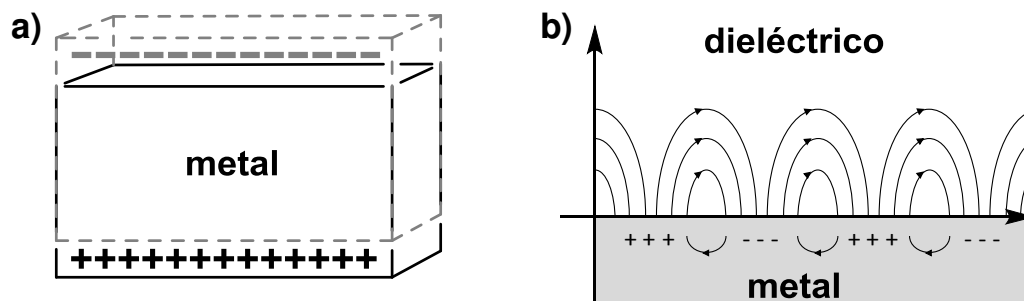


Figura 4. Ejemplificación de la resonancia de plasmón en volumen (a) y la resonancia de plasmón superficial (b).

Cuando una onda electromagnética incide sobre una nanopartícula metálica con un tamaño menor a la longitud de onda, la oscilación del plasma total de electrones libres se encuentra confinado en un volumen definido, a esto se le conoce como resonancia de plasmón superficial localizada (LSPR por sus siglas en inglés de *Localized Surface Plasmon Resonance*) [69]. La LSPR de

una nanoesfera metálica por efecto de una onda electromagnética se ejemplifica en la Figura 5.

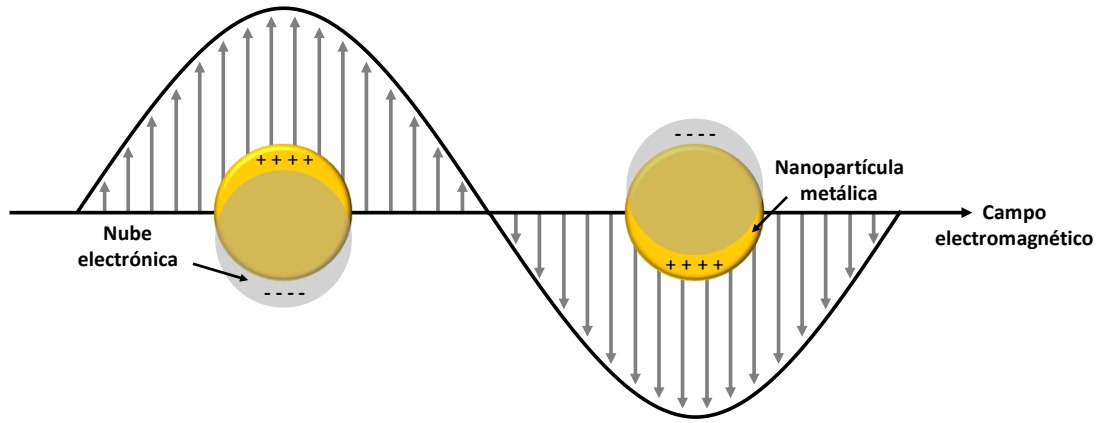


Figura 5. Esquema de la resonancia de plasmón superficial localizada de una nanoesfera metálica en respuesta a una radiación electromagnética incidente.

La absorción de energía de nanopartículas metálicas a una determinada radiación electromagnética, dentro del espectro visible o infrarrojo cercano, para resultar en una resonancia de plasmón superficial localizada puede analizarse mediante técnicas de análisis espectrofotométricas.

La forma de las nanopartículas metálicas es un factor que puede modificar el comportamiento del plasma de electrones libres confinado frente a la radiación electromagnética, y por consecuencia, variar la LSPR y la señal obtenida mediante un análisis de caracterización. Por ejemplo, como se muestra en la Figura 6 (página 17), la LSPR de un mismo metal es diferente si la morfología es nanoesfera o nanobarra debido a que una longitud de onda incidente a cualquier ángulo sobre una esfera generará sólo un tipo de dipolo, mientras que

si incide sobre una nanobarra se generará un cuadrupolo, es decir, un dipolo si la radiación incide de manera longitudinal y otro si llega de manera transversal.

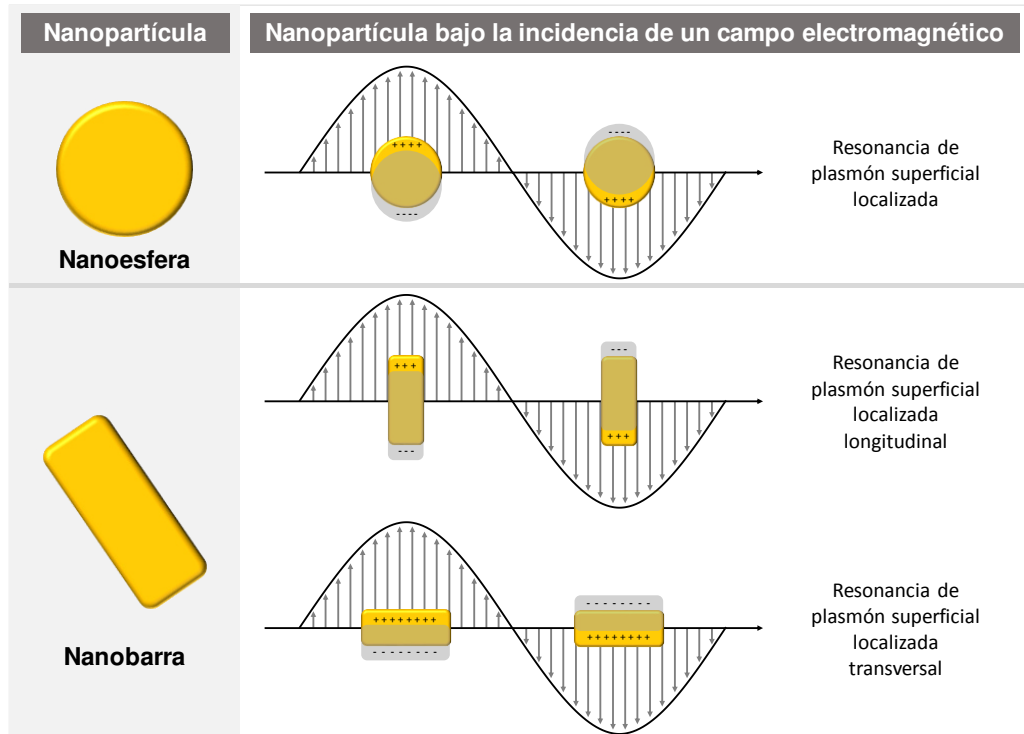


Figura 6. Comparación de la interacción del plasma de electrones libres de una nanoesfera y una nanobarra de un mismo metal frente a una radiación electromagnética.

1.10 Metales nobles

Los elementos oro (Au), plata (Ag), platino (Pt), paladio (Pd), iridio (Ir), osmio (Os), rutenio (Ru) y rodio (Rh) se consideran metales nobles. Entre sus principales propiedades se encuentran su naturaleza altamente inerte frente a

distintos agentes corrosivos, así como una alta conductividad eléctrica y térmica [70].

1.10.1 Au

El oro es un elemento perteneciente a los metales de transición dentro de la tabla periódica con número atómico de 79 y símbolo químico “Au” derivado del latín *aurum* que significa “brillante amanecer” [71]. El Au tiende a cristalizar en un sistema cúbico centrado en las caras con grupo espacial $Fm\bar{3}m$ [72]. La Figura 7 (página 18) muestra la distribución de los átomos de Au en la red cristalina. Cada plano cristalográfico dentro de la red cristalina presenta propiedades físicas y químicas diferentes [73], lo cual puede modificar el crecimiento de la partícula y la interacción con su medio circundante.

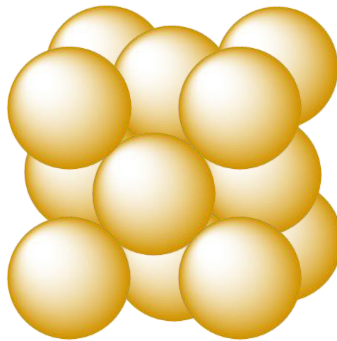


Figura 7. Distribución de los átomos de Au en una red cristalina.

Al Au se le puede encontrar en su forma elemental en fuentes minerales generalmente mezclado con otros metales como Ag, hierro (Fe), cobre (Cu),

zinc (Zn) y níquel (Ni), entre otros [74], mientras que en cuerpos de agua suele estar presente en su forma iónica como Au^{1+} y Au^{3+} [75].

El Au ha estado presente en la sociedad desde tiempos antiguos. Se han encontrado vestigios de su uso y comercialización en las civilizaciones egipcias [76] y mesopotámicas [77]. Se ha vinculado a la moneda y, por ende, a la riqueza de un país [78]. Entre sus principales propiedades se encuentran su alta estabilidad química [79], Bajo coeficiente de dilatación térmica, alta conductividad eléctrica y térmica, maleabilidad y ductilidad [80]. Actualmente los principales usos del Au se ven repartidos entre las industrias aeroespacial [81], electrónica [82] y el ramo de la medicina [83].

1.10.2 Nanopartículas de Au

Las nanopartículas de Au han sido utilizadas desde tiempos antiguos, aunque el entendimiento de las propiedades de los materiales a escala nanométrica inició hasta el siglo XX. Se han encontrado vestigios en elementos decorativos de la civilización romana como en la copa de *Lycurgus* datada en el siglo 4 d. C. [84], así como información de remedios medicinales en las civilizaciones china e hindú pertenecientes a los siglos 5 y 4 a. C. [85].

El Au a nanoescala es uno de los materiales más utilizados en materia de formación y uso de la LSPR [86], esto aunado a sus propiedades de baja toxicidad [87] y su funcionalización superficial [69], hace de las nanopartículas

de Au un material atractivo para aplicaciones biomédicas [88], ambientales [89] y detección de materiales peligrosos [90].

1.10.3 Síntesis de nanopartículas de Au

Entre los métodos de síntesis más utilizados para la obtención de nanopartículas de Au se encuentran:

- Litografía [69]: De una manera general, este método utiliza un haz de iones focalizados para generar patrones de alta resolución sobre un sustrato en el que después se puede depositar al Au. Aunque su control de tamaño es muy alto, requiere de equipos y software altamente especializado.
- Síntesis electroquímica [73]: Este método consiste básicamente en la inmersión en una solución de surfactante/cosurfactante de una placa de Au (ánodo) y una placa de Pt (cátodo) unidos a una fuente de poder. Al iniciar el paso de corriente a través del sistema se generan iones en el ánodo que viajan a través del medio soportados por el surfactante y se reducen en el cátodo a Au^0 .
- Crecimiento a partir de semillas [91]: En este método reaccionan una "dispersión de semillas" y una "solución de crecimiento". La dispersión de semillas contiene nanopartículas de Au preparadas mediante la reducción de iones de Au^{3+} con un compuesto altamente reductor en presencia de un agente surfactante. La solución de crecimiento contiene iones Au^+ provenientes de una reducción suave de Au^{3+} en una matriz de

surfactante. La principal ventaja de este método es que se puede llevar a cabo a temperatura ambiente y con mínimos pasos sin el uso de equipos especializados.

Cada uno de los métodos de obtención cuentan con sus correspondientes factores que permiten generar nanopartículas con distintos tipos de morfologías como nanoesferas, nanobarras, nanocinturones, nanoplatos, nanoestrellas y nanoestructuras de poliedros con diversos números de caras [92].

1.11 Efecto fototérmico

Al excitar a la nube electrónica de nanopartículas metálicas susceptible a la incidencia de radiación electromagnética en el rango del infrarrojo cercano (como nanobarras de Au o nanoesferas huecas de silicio), el decaimiento de los electrones excitados a su estado basal libera energía en forma de calor al medio circundante, esto se conoce como efecto fototérmico [87].

Aquellas nanopartículas que pueden llevar a cabo el efecto fototérmico se han convertido en un foco importante de investigación para aplicaciones como la termoterapia aplicada a destrucción de células cancerígenas [93] o administración controlada de fármacos [94] limitado sólo por la distancia de penetración en el tejido de la radiación electromagnética empleada.

CAPÍTULO 2

ANTECEDENTES

La investigación en el campo de la administración de fármacos ha tomado gran importancia para la medicina, enfocándose principalmente hacia la dosificación dirigida en concentraciones terapéuticamente aceptables [95]. El descubrimiento de un nuevo sistema de administración de fármacos en promedio tiene un costo total de 20 a 50 millones de USD y toma alrededor de 3 a 4 años; lo cual es un menor coste en tiempo y dinero invertido que para el descubrimiento y aplicación de un nuevo fármaco, donde se gasta alrededor de 150 millones de USD y toma alrededor de 10 a 20 años [96].

Un sistema de administración de fármacos debe de cumplir con: facilitar el camino del fármaco desde el sitio de entrada hacia el sitio de acción (órganos, tejidos, células); desprender la carga de fármaco útil en su forma activa en el sitio objetivo, proteger el medicamento de los factores ambientales perjudiciales (pH, enzimas); evitar lo más posible la toxicidad o reacciones adversas del

medicamento en regiones no específicas y administrar dosis más bajas, pero con mejor especificidad [97].

La primera aprobación de un sistema de administración de fármacos de nueva generación por la FDA (*Food and Drug Administration*) fue para la anfotericina B liposomal en 1990, desde entonces se han aprobado más de 10 sistemas [98]. Así mismo las primeras aprobaciones concedidas por la misma institución para nanopartículas inorgánicas como sistema de administración de fármacos se hicieron a mediados de los noventa para Feridex I.V.[®] (nanopartículas de hierro) [99] y para GastroMARK[™] (nanopartículas de sílice) [100]; desde entonces ha aumentado exponencialmente la incorporación de estos materiales en los ensayos clínicos y/o en el mercado [101]. Entre los materiales inorgánicos más destacados con aplicaciones biomédicas prometedoras se encuentran la hidroxiapatita y el Au. A continuación, se hace un recorrido por el estado del arte sobre estos dos materiales y su uso en el rubro de la biomédica.

En 2016 Kolmas, J. *et al.* [29] presentaron un artículo de revisión donde se agrupan trabajos desde 1998 hasta 2015 sobre el uso de la hidroxiapatita en el campo de la farmacéutica como un portador para fármacos utilizados en el tratamiento local de tejido óseo (implantes multifuncionales) y para fármacos poco solubles, aumentando la biodisponibilidad de los mismos. En su trabajo destacan el hecho de que, gracias a la estructura cristalina porosa de la HA, tiene una alta capacidad de carga, lo cual significa que se puede utilizar como vehículo para fármacos y/o como un sistema para la liberación controlada de los

mismos. Así mismo Zhao *et al.* [102] reportaron un estudio de la citotoxicidad del material en distintas morfologías (aguja, plato, esfera y barra) donde concluyeron que las morfologías de aguja y de plato son las que provocan un mayor daño celular, mientras que las morfologías de esfera y barra fueron las menos dañinas, por lo que se demuestra la importancia del uso de técnicas apropiadas para un mejor control morfológico de la HA cuando se busca una aplicación biomédica.

Se han desarrollado diversas estrategias para la generación de nanoestructuras con diferentes morfologías que permitan una buena capacidad de carga de fármacos. Por ejemplo, en 2014 Minh, D. P., *et al.* [56] reportaron la obtención de microesferas huecas de HA mediante una síntesis por precipitación a partir de una dispersión de CaCO_3 y una solución de H_3PO_4 . El sistema se mantuvo a temperatura constante de $80\text{ }^\circ\text{C}$ durante distintos tiempos de reacción, obteniendo su mejor producto a las 24 h. Las esferas resultan de tamaño micrométrico. En el artículo mencionan la comparación entre varios trabajos y el suyo, donde se puede observar que los procedimientos de síntesis tienden a utilizar temperaturas moderadamente altas y/o largos tiempos de reacción, así mismo mencionan la dificultad para el control de la morfología del material y la repetibilidad de los resultados en cuanto a la homogeneidad morfológica.

Una estrategia que permite evitar los tiempos largos de reacción y tener un mejor control morfológico es usar la transformación de precursores asistida por microondas como lo reportado por Chen, H., *et al.* [54] en 2015. Ellos reportaron

la obtención de microesferas huecas de HA mediante una transformación asistida por microondas de microesferas huecas de CaCO_3 en su polimorfo calcita, sin cambios de morfología en el precursor. Sintetizaron el CaCO_3 mediante una precipitación, a partir de CaCl_2 y Na_2CO_3 , con dodecil sulfato de sodio (SDS) como estabilizante, las microesferas sintetizadas tuvieron una distribución de tamaño entre $2\ \mu\text{m}$ y $4\ \mu\text{m}$. Mientras que la transformación se hizo mezclando $1\ \text{g}$ del precursor en una solución de Na_3PO_4 , y llevando esta mezcla a un microondas de $300\ \text{W}$ de potencia durante $30\ \text{min}$. La aportación al presente proyecto de tesis es el método de transformación de CaCO_3 a HA, conservando la morfología de las partículas, lo cual es importante debido a que el control morfológico en la síntesis de HA es más complicado.

En 2016 Lai, W., *et al.* [103] reportaron la obtención de microesferas huecas de pared porosa de HA a partir de una transformación de CaCO_3 en su polimorfo de vaterita mediante un método hidrotérmal a través de un proceso de intercambio de aniones. Sintetizaron el CaCO_3 , a partir de soluciones de CaCl_2 y Na_2CO_3 , en su polimorfo de vaterita utilizando una plantilla de polímero en una solución acuosa de la sal sódica de poliácido estirensulfónico (PSS), las microesferas sintetizadas tuvieron una distribución de tamaño entre $0.8\ \mu\text{m}$ y $2\ \mu\text{m}$. La transformación de la HA se llevó a cabo en una solución de Na_2HPO_4 a $120\ ^\circ\text{C}$ durante $1\ \text{h}$ utilizando una autoclave de acero inoxidable con recubrimiento de teflón. El reciente reporte indica la relevancia y actualidad del tema de investigación.

En 2013 Bao, G., *et al.* [104] presentaron un artículo de revisión bibliográfica donde agrupan trabajos desde 1995 hasta 2013 sobre nanopartículas multifuncionales de diversos materiales como oro, partículas magnéticas, puntos cuánticos, polímeros, entre otros. Las partículas abordadas en dicha publicación tienen el potencial para integrar varias funciones al mismo tiempo como: contraste para diferentes modalidades de imagen, administración de fármacos y termoterapia. Destaca el uso de nanopartículas de Au en aplicaciones biomédicas debido a su biocompatibilidad y su modificación superficial, aunado a sus propiedades ópticas/térmicas [105]. Así mismo Mannerström *et al.* [106] llevaron a cabo un estudio de citotoxicidad para materiales empleados en aplicaciones biomédicas (nanopartículas de Au, de Ag, de SiO₂ y nanotubos de carbono de multipared) donde concluyen que las nanopartículas de Au no presentaron citotoxicidad en los estudios realizados, este resultado se lo atribuyen a que el tamaño de partícula del Au era mayor a 13 nm en promedio, lo que de acuerdo a literatura, a la que se refieren los mismos autores, el tamaño de las nanopartículas de Au en las que empiezan a presentar elevada citotoxicidad es menor a 2 nm. Por lo que las nanopartículas de Au pueden tener aplicaciones biomédicas poniendo atención en el tamaño de partícula obtenido. De igual manera señalan que es mejor dejar las pruebas de citotoxicidad hasta la parte final de un proyecto de nuevos materiales para aplicaciones biomédicas en pro de los costos implicados para los estudios.

En 2012 Alkilany, A. M., *et al.* [87] llevaron a cabo un artículo de revisión bibliográfica sobre las nanobarras de Au y sus aplicaciones en el rubro de la

administración de fármacos y la terapia fototérmica. Mencionan que la tecnología médica se encuentra en un punto donde ya es factible utilizar la fibra óptica, láseres de estado sólido, y endoscopios para irradiar luz a muchas partes del cuerpo, y debido a estos avances se ha intensificado la investigación en materiales con propiedades ópticas y fototérmicas; también señalan que la habilidad de las nanobarras de oro de absorber luz en la región de la “ventana de agua” (región considerada para terapias y análisis fototérmicos) que va de los 700 nm a 1200 nm en longitud de onda, aunado a su baja reactividad, las hacen un material de especial interés para el área médica; así mismo les brinda una ventaja sobre las esferas de Au, las cuales solo absorben en la región del espectro visible.

Con base en la literatura revisada, se puede señalar que se han sintetizado, por separado, estructuras de HA y Au para potenciales aplicaciones biomédicas. Las estructuras de HA generalmente se han utilizado para transportar y liberar fármacos de efecto prolongado debido a sus propiedades de estabilidad y de alta capacidad de carga, mientras que las nanopartículas de Au se han utilizado como un material funcionalizado en sus distintas morfologías, así como para terapias fototérmicas en su morfología de nanobarra. Nanoestructuras compuestas por HA y nanobarras de Au con aplicación para administración de fármacos permitiría combinar las propiedades ya mencionadas de ambos materiales, como la buena capacidad de carga de la HA y el efecto fototérmico del Au en su morfología de nanobarras, para generar

una estructura que pueda ser activada para la liberación del fármaco empleando un tratamiento con radiación infrarroja.

2.1 Hipótesis

Las nanoestructuras de hidroxiapatita-Au transportan fármacos y los liberan bajo tratamiento con irradiación infrarroja.

2.2 Objetivo general

Obtener nanoestructuras de hidroxiapatita-Au y evaluar su potencial aplicación en liberación de fármacos bajo tratamiento con irradiación infrarroja.

2.3 Objetivos específicos

- Sintetizar nanoestructuras de CaCO_3 .
- Caracterizar nanoestructuras de CaCO_3 mediante DRX, FTIR y SEM.
- Transformar las nanoestructuras de CaCO_3 en HA.
- Caracterizar las nanoestructuras de HA mediante DRX, FTIR y SEM.
- Sintetizar nanobarras de Au.
- Caracterizar las nanobarras de Au mediante UV-vis y SEM.

- Obtener nanoestructuras de HA-Au.
- Caracterizar las nanoestructuras de HA-Au mediante DRX, UV-vis RDS y SEM.
- Evaluar la potencial aplicación del material en liberación de fármacos.

CAPÍTULO 3

MATERIALES Y MÉTODOS

En el presente capítulo se describe: el procedimiento empleado para la síntesis de nanoestructuras de CaCO_3 mediante un método por precipitación así como las técnicas utilizadas para la caracterización de dichas nanoestructuras; el método empleado para la transformación de CaCO_3 en HA mediante la técnica de irradiación por microondas y la caracterización del material obtenido; la síntesis de las nanobarras de Au mediante crecimiento de semillas así como la caracterización óptica y estructural de dichas partículas; el método empleado para la obtención del material compuesto de HA-Au y su correspondiente caracterización; por último, el procedimiento utilizado para las pruebas de adsorción y liberación de fármaco como muestra de la potencial aplicación del material HA-Au en el área biomédica.

Los reactivos utilizados fueron $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ Sigma-Aldrich pureza > 99 %, Na_2CO_3 Sigma-Aldrich pureza > 99.5 %, dodecil sulfato de sodio (SDS) Sigma-Aldrich pureza > 99 %, Na_3PO_4 anhidro Sigma-Aldrich pureza 96 %, etanol CTR

Scientific pureza 96 %, HAuCl_4 Sigma-Aldrich pureza 99.95 %, bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB) Sigma-Aldrich pureza > 98 %, NaBH_4 Sigma-Aldrich pureza > 98 %, AgNO_3 Sigma-Aldrich pureza ≥ 99.0 %, ácido ascórbico Sigma-Aldrich pureza 99 %, doxorubicina (DOX) Sigma-Aldrich (material de referencia certificado), NaCl Fermont pureza 99.9 %, KCl Sigma-Aldrich pureza 99.0-100.5 %. Na_2HPO_4 Karal pureza 99 %, KH_2PO_4 Karal pureza 98 % y HCl al 37 %. Todos fueron utilizados sin purificación previa.

3.1 Síntesis de nanoestructuras de CaCO_3

Basándose en la metodología utilizada por Chen y colaboradores [54] se mezcló una solución acuosa de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.2 M como fuente de calcio, con una solución acuosa de SDS 0.1 M como surfactante bajo agitación vigorosa. Después, aún con el sistema en agitación, se agregó rápidamente una solución acuosa de Na_2CO_3 0.2 M como fuente de carbonato y se continuó la agitación vigorosa durante 2 h, estableciendo así una relación molar 1:1 de los iones $\text{Ca}^{2+}/\text{CO}_3^{2-}$. Al término de la reacción se lavó el precipitado obtenido ocho veces con agua destilada y dos veces con etanol para eliminar sales y SDS residuales. Después el material se llevó a sequedad a 120 °C durante 24 h para eliminar agua y etanol remanentes.

3.2 Caracterización de nanoestructuras de CaCO₃

El material obtenido se molió en un mortero de Agatha para su homogenización. Posteriormente se analizó el material por Espectroscopía de Infrarrojo por Transformada de Fourier (FT-IR) empleando un espectrómetro Perkin-Elmer Spectrum One para conocer los modos vibracionales, distintos en cada polimorfo del CaCO₃ debido a la simetría del cristal. Así mismo el material se caracterizó por Difracción de Rayos X (DRX) utilizando un equipo Bruker D2 Phaser, empleando la radiación de Cu K α ($\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$) a una velocidad de 0.5 ° cada 0.5 s con un barrido de 5 a 90 ° para conocer las fases cristalinas presentes del CaCO₃. Por último, con el fin de obtener información estructural y morfológica de las nanoestructuras obtenidas, se caracterizó el material mediante Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) con un equipo Zeiss FE-GeminiSEM 450.

3.3 Transformación de CaCO₃ en HA

Se tomó un gramo del precursor de CaCO₃ y se mezcló con 85 mL de una solución acuosa de Na₃PO₄ 0.2 M, La mezcla se llevó a un horno de microondas convencional Mabe modelo HMM70SW de 2.45 GHz y 1050 W de potencia nominal, donde se irradió la muestra al 10 % de potencia nominal [54]. El producto resultante se lavó ocho veces con agua y dos veces con etanol para eliminar sales residuales. Después el material se llevó a sequedad a 120 °C durante 24 h para eliminar agua y etanol remanentes.

3.4 Caracterización de nanoestructuras de HA

El material obtenido se molió en un mortero de Agatha para su homogenización. Posteriormente se analizó el material por Espectroscopía de Infrarrojo por Transformada de Fourier (FT-IR) empleando un espectrómetro Perkin-Elmer Spectrum One para analizar los modos vibracionales presentes y hacer una primera determinación de la transformación en HA así como del CaCO_3 si existiera un residual. Así mismo el material se caracterizó por Difracción de Rayos X (DRX) utilizando un equipo Bruker D2 Phaser, empleando la radiación de $\text{Cu K}\alpha$ ($\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$) a una velocidad de 0.5° cada 0.5 s con un barrido de 5 a 90° para conocer las fases cristalinas presentes y corroborar la transformación en HA así como del CaCO_3 precursor en caso de presentarse como un residual. Por último, con el fin de confirmar la permanencia de la estructura y morfología de las nanoestructuras precursoras después del procedimiento de transformación, se caracterizó el material mediante Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) con un equipo Zeiss FE-GeminiSEM 450.

3.5 Síntesis de nanobarras de Au

De acuerdo con los reportes del grupo de investigación de Murphy y colaboradores [107, 87, 108, 109, 91] se tomaron en cuenta las condiciones para la preparación de las nanobarras de Au. En 9.75 mL de CTAB 0.1 M bajo agitación se agregaron $250 \mu\text{L}$ de HAuCl_4 0.01 M , después se le agregaron 600

μL de NaBH_4 0.01 M recientemente preparado y frío y se mantuvo la agitación por 2 min, en este proceso la solución cambió de color de un amarillo brillante a un café claro. Posteriormente la solución se dejó en reposo sin movimiento por 1 h, generando así las semillas de Au. Para la obtención de las nanobarras de Au en 9.5 mL de CTAB 0.1 M bajo agitación se agregaron 0.5 mL de HAuCl_4 0.01 M seguido de 90 μL de AgNO_3 0.01 M, después se agregaron 55 μL de ácido ascórbico 0.1 M cambiando el color de la solución de amarillo brillante a incolora, posteriormente se agregaron 250 μL de semillas de Au preparadas el mismo día y se mantuvo el sistema en agitación por 10 s Por último, la solución se mantuvo en reposo sin movimiento por 2 h, observándose en este lapso un aumento en la intensidad de color de la solución.

3.6 Caracterización de las nanobarras de Au

La solución de Au obtenida se analizó sin ningún pretratamiento mediante Espectroscopía Ultravioleta visible (UV-vis) empleando el espectrofotómetro Shimadzu UV 1800 para examinar las bandas de máxima absorción de la muestra, las cuales son dependientes de la morfología de las nanopartículas de Au. Por otro lado una solución de nanopartículas de Au se centrifugó a 12000 rpm por 6 min, después se descartó la fase acuosa y el sólido se resuspendió en agua destilada, posteriormente de la suspensión obtenida se tomó una gota y se colocó sobre una placa de vidrio previamente lavada, por último se dejó secar a temperatura ambiente y se analizó la muestra obtenida mediante

Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) con un equipo Zeiss FE-GeminiSEM 450 para analizar las dimensiones y la morfología obtenida de las nanopartículas.

3.7 Obtención de nanoestructuras de HA-Au

De una solución final de nanobarras de Au se prepararon las diluciones 1:10, 3:10 y 5:10 de [solución de nanobarras de Au:agua destilada] en un volumen de 10 mL. Cada dilución se colocó en contacto con 0.1 g de HA y se mantuvo en agitación suave por 1 h. Después el sólido se lavó ocho veces con agua destilada y dos veces con etanol para eliminar sales y CTAB residuales. Por último, la muestra se dejó secar a temperatura ambiente.

3.8 Caracterización de nanoestructuras de HA-Au

Las nanoestructuras se caracterizaron mediante Espectroscopía Ultravioleta visible de Reflectancia Difusa (UV-vis DRS) con un equipo Agilent Technologies UV-vis-NIR modelo Cary 5000 series equipado con esfera de integración para analizar las bandas de máxima absorción de la muestra, las cuales sólo pueden estar presentes si hay Au en la muestra examinada. Así mismo se caracterizó la muestra obtenida mediante Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) con un equipo FE-SEM JEOL JSM 6701F para analizar la morfología.

3.9 Evaluación de la adsorción de fármaco

Primero se realizó un análisis de UV-vis de la DOX dentro del espectro electromagnético visible para obtener su longitud de onda máxima.

En la metodología expuesta a continuación, se tomó como apoyo el trabajo de Gu y colaboradores [110]. En un solo experimento 10 mg de HA se colocaron en contacto con 5 mL de una solución de DOX $734 \mu\text{g mL}^{-1}$ y la suspensión se mantuvo en agitación suave a temperatura ambiente. Se retiraron experimentos a distintos intervalos de tiempo para centrifugar las suspensiones y analizar la concentración de DOX remanente mediante UV-vis utilizando una curva de calibración de DOX previamente realizada. Esta metodología brinda información para saber si el material es capaz de adsorber el fármaco y la concentración de DOX adsorbido por mg de HA.

3.10 Evaluación de la liberación de fármaco

Se llevó a cabo un medio de Buffer Salino de fosfatos (PBS) pH 7.4 para los experimentos de liberación con el fin de generar un ambiente cercano al fisiológico diluyendo NaCl, KCl, Na_2HPO_4 y KH_2PO_4 en un determinado volumen de agua nanopura. En caso necesario se utilizó HCl para fijar el pH al acordado.

En un experimento modelo se colocaron 25 mg de HA/DOX en 10 mL de PBS y se mantuvo inmóvil el procedimiento. Se retiraron 6 mL del medio acuoso

a distintos intervalos de tiempo para analizar la concentración de DOX liberada mediante UV-vis utilizando una curva de calibración de DOX previamente realizada, inmediatamente se agregaron 6 mL de medio PBS recientemente preparado. Esta metodología brinda información para saber si el material es capaz de liberar el fármaco en condiciones cercanas al pH fisiológico y su comportamiento de liberación.

Así mismo, se llevó a cabo un experimento modelo donde se colocaron 25 mg de HA/DOX en 10 mL de PBS y se mantuvo inmóvil el procedimiento. A continuación, se irradió el contenedor con luz infrarroja [111] y se analizó la concentración de DOX liberada mediante UV-vis utilizando una curva de calibración de DOX previamente realizada. Con esta metodología se puede comparar el comportamiento de liberación de DOX sin y con radiación infrarroja.

3.11 Disposición de residuos

Los residuos de la experimentación fueron dispuestos de acuerdo con el reglamento interno de la Facultad de Ciencias Químicas utilizando principalmente los siguientes contenedores: contenedor A (sales inorgánicas) para residuos de síntesis de CaCO_3 e HA; contenedor C (compuestos orgánicos no clorados) para residuos orgánicos de la síntesis de CaCO_3 e HA; Contenedor F (sales preciosas) para residuos con Au; y contenedor E orgánico (compuestos orgánicos peligrosos) para residuos con DOX.

CAPÍTULO 4

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Caracterización de nanoestructuras de CaCO₃

4.1.1 Espectroscopía de Infrarrojo por Transformadas de Fourier (FT-IR)

Con el fin de hacer una primera determinación sobre la identidad de la muestra y, en su caso, los polimorfos presentes del CaCO₃ sintetizado mediante el método por precipitación utilizado, la muestra fue caracterizada mediante FT-IR.

La Figura 8 (página 39) muestra el espectro correspondiente a las nanoestructuras de CaCO₃. Se puede observar la aparición de 3 bandas principales: a 1438 cm⁻¹ perteneciente a un estiramiento asimétrico (ν_3) del carbonato; a 876 cm⁻¹ perteneciente a una flexión simétrica (ν_2) del carbonato; y a 713 cm⁻¹ perteneciente a una flexión asimétrica (ν_4) del carbonato [112]. De las bandas principales observadas, la posicionada en 1438 cm⁻¹ se pueden adjudicar a cualquiera de los tres polimorfos del CaCO₃ mientras que las

bandas posicionadas en 876 cm^{-1} y 713 cm^{-1} denotan la presencia del CaCO_3 en su polimorfo calcita [113]. Cada uno de los polimorfos presenta bandas de estiramiento o flexión a frecuencias distintas debido a las diferencias presentadas en el acomodo de los átomos dentro de cada una de las estructuras cristalinas propia de cada polimorfo.

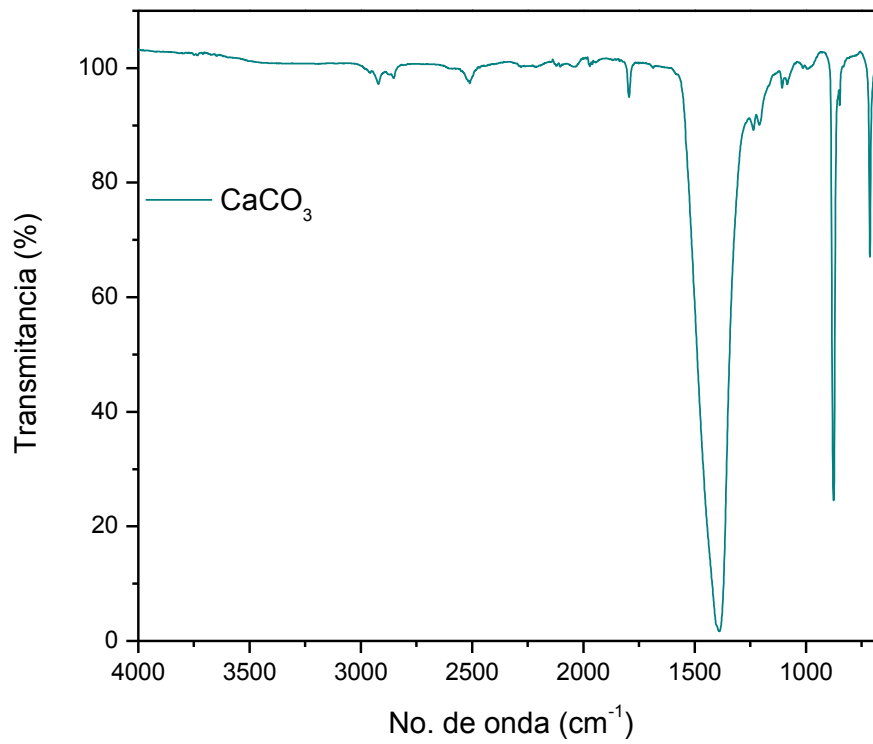


Figura 8. Espectro de FT-IR para CaCO_3 sintetizado.

4.1.2 Difracción de Rayos X (DRX)

Se llevó a cabo la caracterización por DRX con el fin de corroborar la identidad del CaCO_3 y de sus polimorfos presentes, La Figura 9 (página 40) muestra el patrón de difracción correspondiente a las nanoestructuras de

CaCO₃ sintetizadas, así como para el CaCO₃ en su polimorfo calcita reportado (JCPDS 72-1937).

El análisis de difracción permite corroborar la identidad del carbonato de calcio debido a la obtención de señales de difracción en los planos (104), (113), (018), (116), (202), (110), (012) y (122); dichas difracciones coinciden con las reportadas para el CaCO₃ en su polimorfo calcita (JCPDS 72-1937). Así mismo se observa un patrón de difracción definido y con poco ruido de fondo lo cual habla de un sistema altamente cristalino.

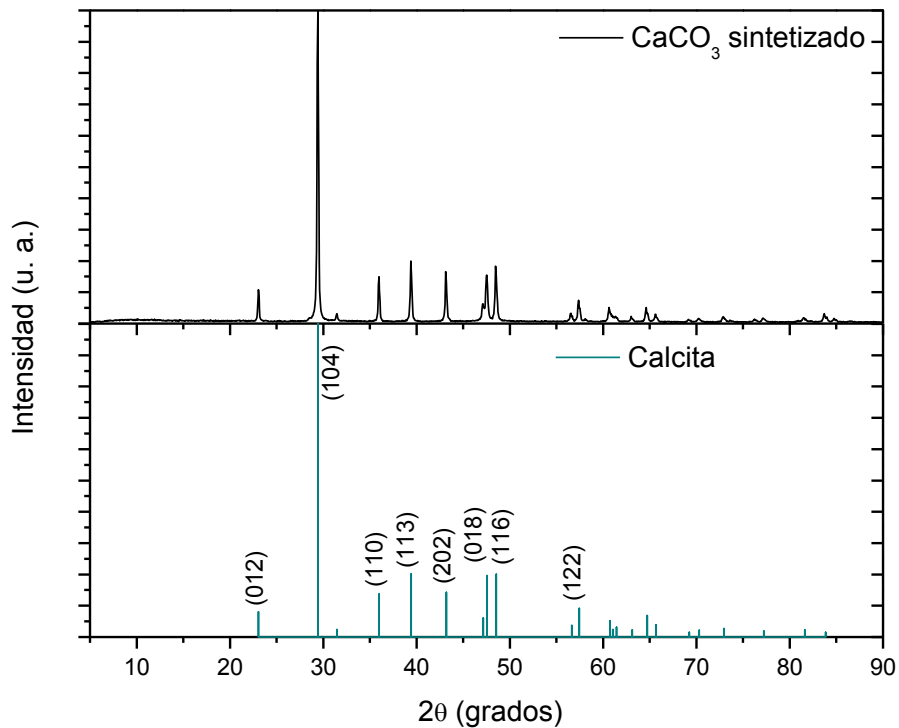


Figura 9. Difractogramas para CaCO₃ sintetizado así como para la calcita (JCPDS 72-1937).

4.1.3 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

La muestra fue analizada mediante SEM con el fin de observar la morfología, estructura y tamaño aproximado de las nanoestructuras. La Figura 10 (página 41) muestra micrografías magnificaciones de 16 000 (Figura 10a) y 30 000 (Figura 10b) aumentos de las nanoestructuras de CaCO_3 obtenidas mediante el método propuesto.

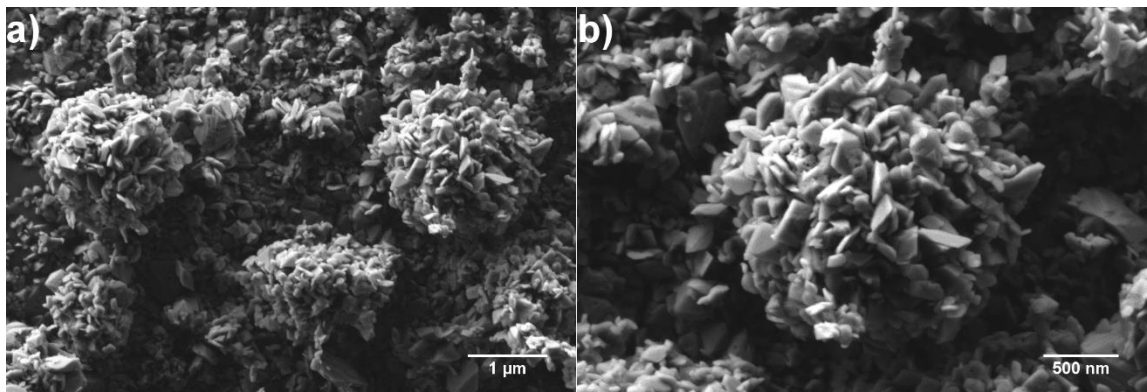


Figura 10. Micrografías para CaCO_3 sintetizado a a) 16 000 y b) 30 000 aumentos.

Se aprecia que las estructuras poseen una morfología esférica con un tamaño aproximado de alrededor de $2 \mu\text{m}$ estructurada de cristales sin forma regular. Estos resultados son similares a los reportados por Chen y colaboradores [54] quienes utilizaron como fuente de calcio el CaCl_2 , el cual es un reactivo más costoso y requiere más cuidados de almacenamiento que el $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, el cual fue utilizado en esta investigación.

4.1.4 Mecanismo de formación de nanoestructuras de CaCO_3

Un mecanismo propuesto para la formación de las nanoestructuras de CaCO_3 se ejemplifica en la Figura 11 (página 42) y se explica a continuación. Una parte importante de la metodología es la preparación de la solución de SDS, donde el surfactante debe tener una concentración por arriba de la Concentración Micelar Crítica (CMC) para promover la formación de micelas [114]; al ser una solución acuosa se espera que la micela tenga una conformación donde la parte no polar del SDS se encuentre lo más alejado del medio acuoso y la parte polar del SDS se encuentre en pleno contacto con el medio acuoso.

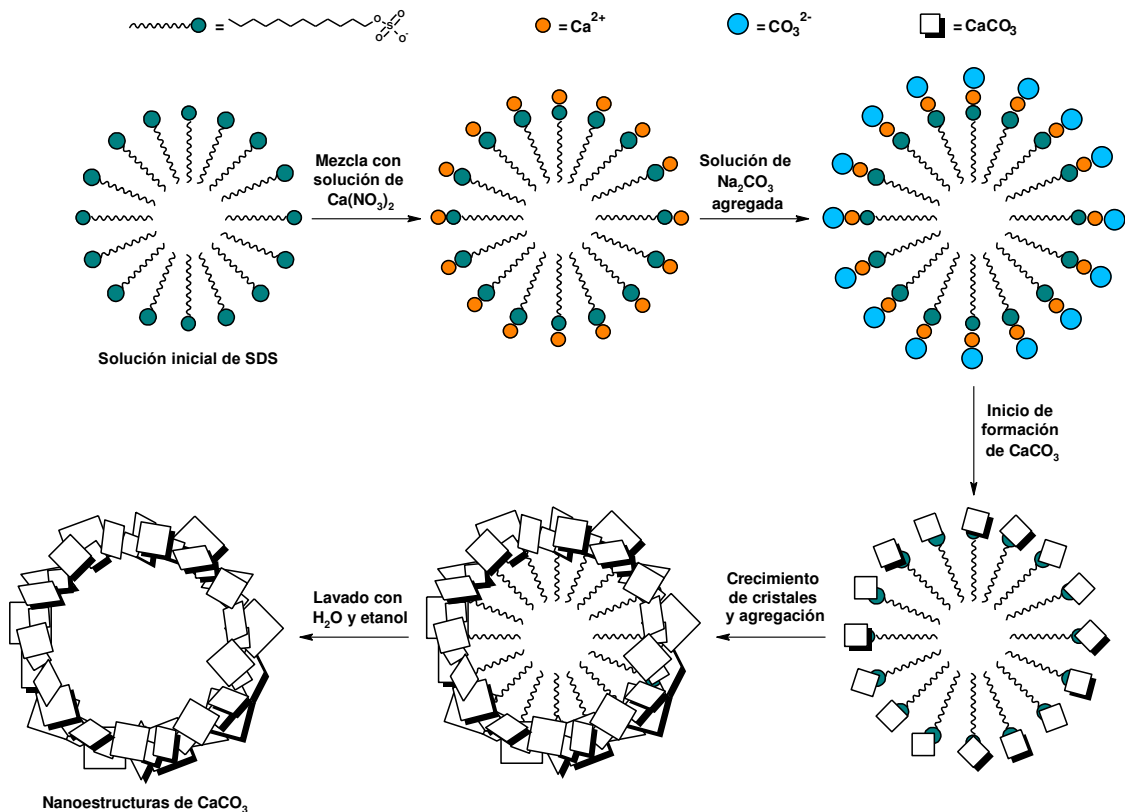


Figura 11. Esquema de mecanismo de formación de nanoestructuras de CaCO_3 .

El procedimiento de la síntesis de nanoestructuras de CaCO_3 inicia con la mezcla de las soluciones de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ y de SDS para que se establezcan los equilibrios entre los iones dodecil sulfato y los iones calcio, donde los iones Ca^{2+} se ubican en la parte externa de la micela y fungen como sitio inicial de reacción con el Na_2CO_3 , con el cual se da por iniciada la reacción al momento de agregar su solución a la mezcla inicial. Al momento de lavar el sólido resultante de la reacción con agua se busca eliminar la sal soluble de NaNO_3 y SDS, este último por su naturaleza polar/no polar se elimina de una manera más eficaz al lavar también con etanol.

4.2 Caracterización de nanoestructuras de HA

4.2.1 Espectroscopía de Infrarrojo por Transformadas de Fourier (FT-IR)

Con el fin de hacer una primera determinación sobre el éxito de la transformación del precursor en HA, o en su caso, la presencia de precursor remanente, la muestra fue caracterizada mediante FT-IR.

La Figura 12 (página 44) muestra el espectro de FT-IR de la muestra transformada a partir del precursor del CaCO_3 bajo irradiación por microondas. Se puede observar principalmente la presencia de las siguientes bandas: a 1036 cm^{-1} y a 963 cm^{-1} pertenecientes a un estiramiento asimétrico (ν_3) y a un estiramiento simétrico (ν_1) del fosfato respectivamente; a 1465 cm^{-1} y a 1419

cm^{-1} perteneciente a estiramientos asimétricos (u_3) del carbonato; y a 874 cm^{-1} perteneciente a una flexión simétrica (u_2) del carbonato [115].

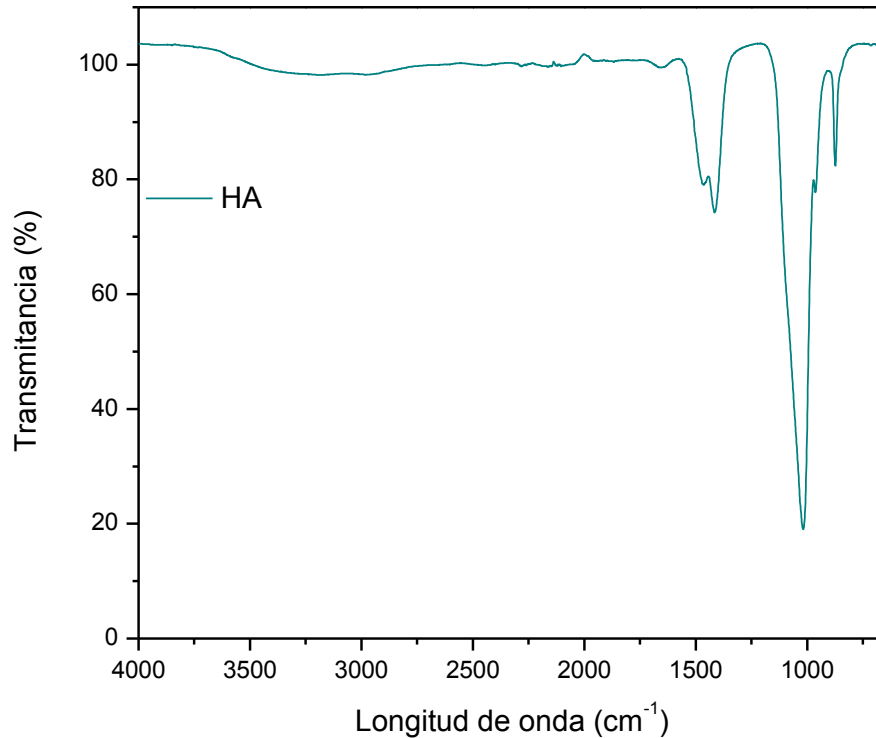


Figura 12. Espectro de FT-IR para HA sintetizado.

La presencia de bandas pertenecientes a vibraciones del carbonato habla de una inserción de este ion dentro de la estructura de la HA, este comportamiento ayuda a aumentar la biocompatibilidad del compuesto dado un mayor parecido a la apatita de hueso humano [116]. La inserción del ion carbonato en la estructura de la HA se puede dar de tres maneras diferentes. Una inserción tipo A se refiere al establecimiento del ion CO_3^{2-} en el lugar perteneciente a un ion OH^- ; una inserción tipo B se refiere a la ubicación del CO_3^{2-} en un sitio vinculado al ion PO_4^{3-} ; mientras que una inserción tipo AB se refiere a una mezcla de las inserciones antes mencionadas [117]. De las bandas pertenecientes al ion

carbonato en la Figura 12 (página 44), la banda ubicada a 1465 cm^{-1} se relaciona con una inserción tipo AB, la banda situada a 1419 cm^{-1} se vincula a una inserción tipo B y la banda ubicada a 874 cm^{-1} se relaciona a una inserción tipo A [118].

En la Figura 13 se muestra la comparación entre los espectros de HA transformado a 60 min y el precursor CaCO_3 , donde se puede observar en el espectro de la HA la desaparición de la banda a los 713 cm^{-1} del CaCO_3 en su polimorfo calcita, lo cual es un primer indicio de la transformación de la naturaleza química del precursor; la desaparición de las otras bandas pertenecientes al precursor (1438 cm^{-1} y 876 cm^{-1}) no se logra apreciar en el espectro de la HA debido a que la posición de tales bandas se traslapan en la posición de bandas correspondientes a la HA.

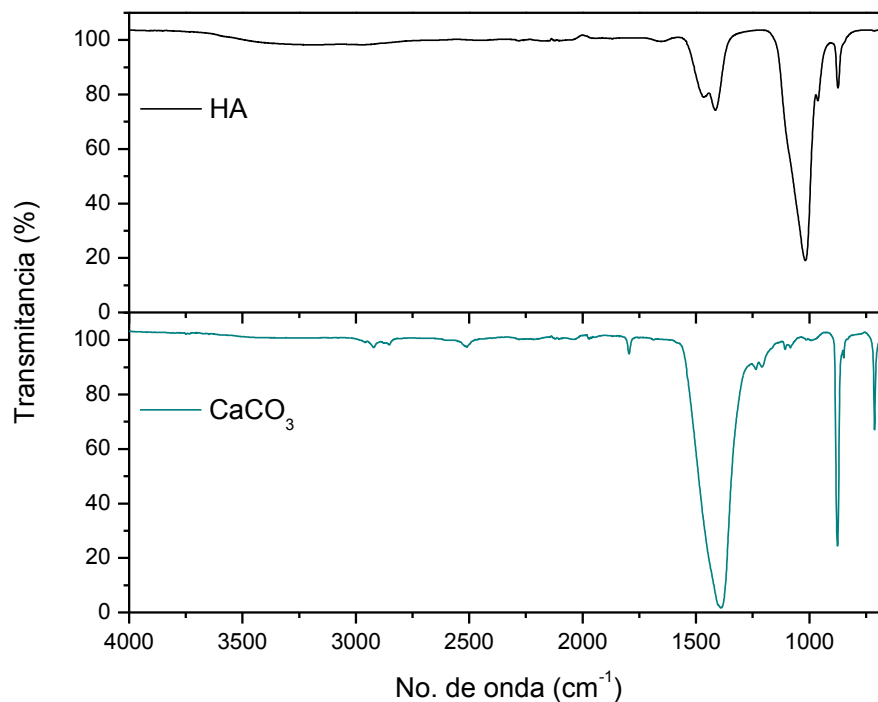


Figura 13. Espectros de FTIR para HA y para su precursor correspondiente como comparación.

4.2.2 Difracción de Rayos X (DRX)

Se llevó a cabo la caracterización por DRX con el fin de corroborar la identidad de la HA, o en su caso, observar la presencia de precursor remanente.

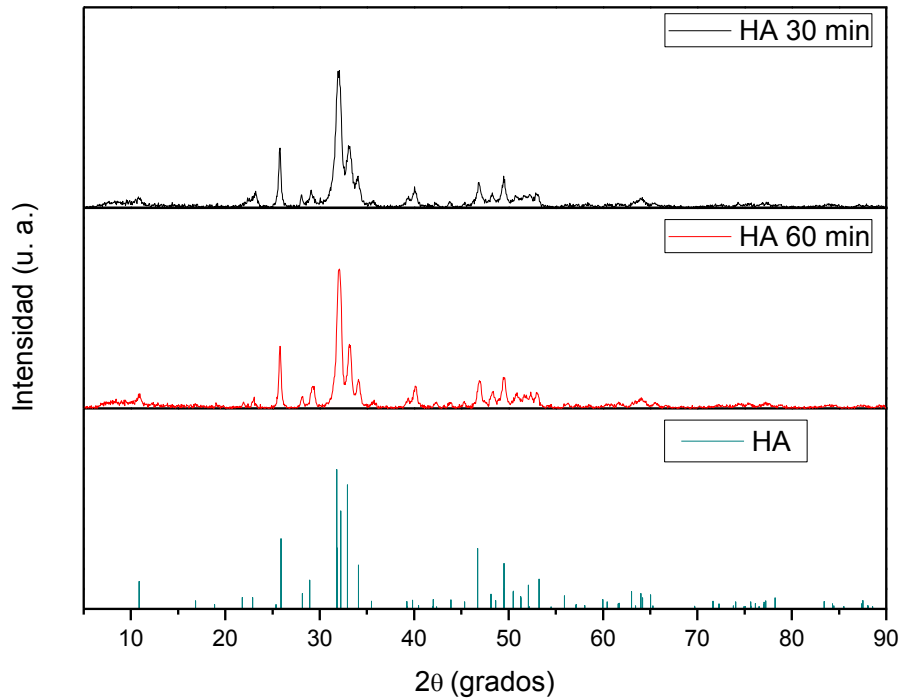


Figura 14. Difractogramas para HA sintetizada a 30 y 60 min así como para HA (JCPDS 9-432).

La Figura 14 muestra el patrón de difracción correspondiente a las nanoestructuras de HA sintetizadas a 30 y 60 min mediante el método utilizado, así como el reportado para la HA (JCPDS 9-432). El análisis de difracción permite corroborar la identidad de la HA debido a la correspondencia entre sus principales señales de difracción y las señales predominantes reportadas para la HA (JCPDS 9-432) en los planos (121), (112), (300), (002), (223), (123) y (100). En la zona entre los 31° y 36° en 2θ se observa un traslape de las

señales de difracción debido a que en esta zona hay difracciones de alta intensidad muy cercanas entre sí.

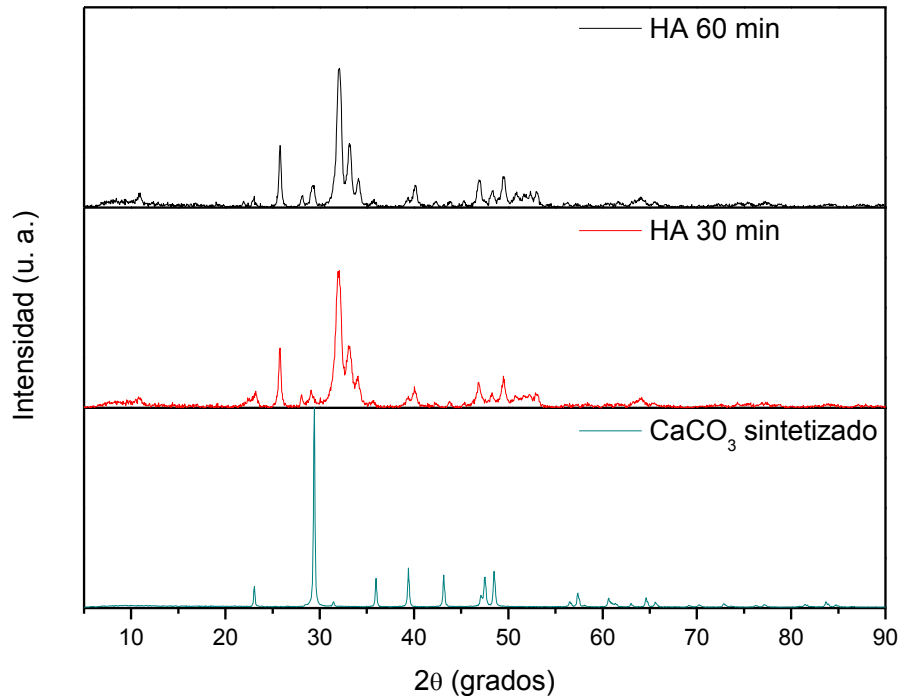


Figura 15. Difractogramas para HA sintetizada a 30 y 60 min, así como para su precursor correspondiente.

La comparación entre los patrones de difracción del precursor y el material transformado resultante es el principal análisis expuesto en la literatura [54, 103, 119] para sustentar la transformación completa de un precursor en HA. En la Figura 15 se muestra una comparación entre el patrón de difracción del precursor inicial y los del material a los 30 min y 60 min de avance de la reacción de transformación; se puede observar que la principal señal de difracción del CaCO₃ a los 29.3 ° en 2θ desaparece desde los 30 min de reacción, lo cual expone que se da una transformación de la identidad química del material desde los 30 min. Entre el análisis a los 30 min y a los 60 min se

observa que en este último hay una mayor definición de las señales de difracción, lo cual es muestra de una mayor cristalinidad del sistema. La muestra de HA a 60 min de transformación fue la que se decidió utilizar de aquí en adelante tanto en la metodología como en los análisis de caracterización de HA posteriores.

4.2.3 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

La muestra de HA sintetizada a 60 min fue analizada mediante SEM con el fin de observar la permanencia de la morfología y estructura, así como para estimar el tamaño de las nanoestructuras.

La Figura 16 muestra micrografías de las nanoestructuras de HA obtenidas mediante el método propuesto a magnificaciones de 9 000 (Figura 16 a) y 22 000 (Figura 16 b) donde es posible apreciar que las estructuras poseen una morfología esférica con un tamaño aproximado de alrededor de 4 μm estructurada de barras en dimensiones nanométricas.

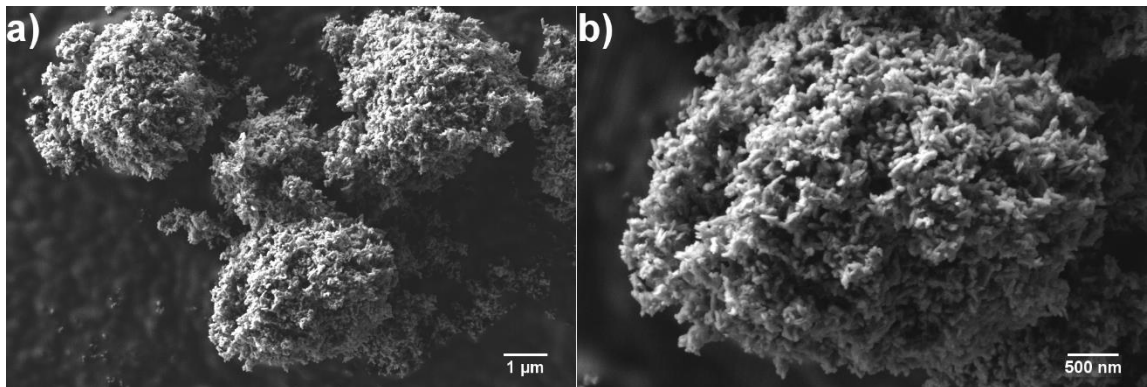


Figura 16. Micrografías para HA sintetizada a 60 min a a) 9 000 y b) 22 000 aumentos.

En una comparación de las micrografías de SEM de las nanoestructuras del CaCO_3 precursor (Figura 10, página 41), así como de la HA (Figura 16, página 48) se puede observar que la morfología de las nanoestructuras se mantiene a pesar de que la identidad química del material cambió de acuerdo a los resultados de FT-IR y DRX.

La reacción de transformación propuesta brinda las especies necesarias para la formación de la HA tomando en cuenta que el medio acuoso funge como fuente de iones OH^- , el CaCO_3 como fuente de iones Ca^{2+} y el Na_3PO_4 como fuentes de iones PO_4^{3-} . El proceso se puede describir mediante un intercambio de aniones entre $\text{PO}_4^{3-}/\text{CO}_3^{2-}$ y $\text{OH}^-/\text{CO}_3^{2-}$ [116].

4.3 Nanobarras de Au

4.3.1 Espectroscopía Ultravioleta visible (UV-vis)

La dispersión de nanopartículas de Au sintetizada por el método de crecimiento de semilla fue caracterizada mediante UV-vis con el fin de analizar las bandas de máxima absorción, importantes para determinar la morfología requerida, y la longitud de onda de máxima absorción, importante para la aplicación del presente proyecto.

El espectro de absorción de las partículas de Au sintetizadas mediante el método de crecimiento de semilla se muestra en la Figura 17 (página 50). A

partir de dicho gráfico se puede observar que las partículas presentan una banda de máxima absorción a los 732 nm correspondiente a la resonancia de plasmón superficial longitudinal de una nanopartícula de Au en su morfología de nanobarra. También se percibe una banda con un máximo de absorción a los 522 nm correspondiente a la resonancia de plasmón superficial transversal de una nanopartícula de Au en su morfología de nanobarra. Estas bandas de absorción son consistentes con lo reportado en literatura en cuanto a la obtención de nanobarras de Au siguiendo la metodología de crecimiento de semilla [91]. Así mismo se observa que las nanopartículas son sensibles a la radiación electromagnética (LSPR longitudinal) dentro del espectro del agua, lo que es importante para una potencial aplicación biomédica.

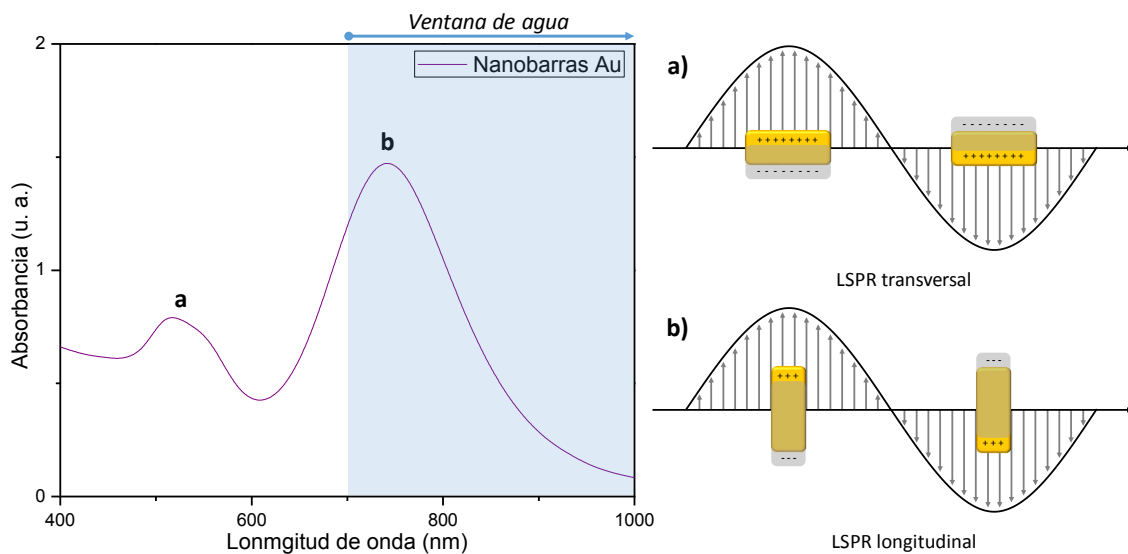


Figura 17. Espectro de UV-vis para las nanobarras de Au donde se muestra la correspondencia de las LSPR transversal y longitudinal.

4.3.2 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

La muestra de Au previamente preparada fue analizada mediante SEM con el fin de observar su morfología y estimar sus dimensiones.

La Figura 18 muestra la micrografía de las nanopartículas de Au obtenidas mediante el método propuesto a una magnificación de 120 000 aumentos donde es posible apreciar que las nanopartículas poseen una morfología de nanobarra con un tamaño aproximado de 40 nm de longitud. Lo cual corrobora la predicción de la morfología mediante los resultados obtenidos por UV-vis.

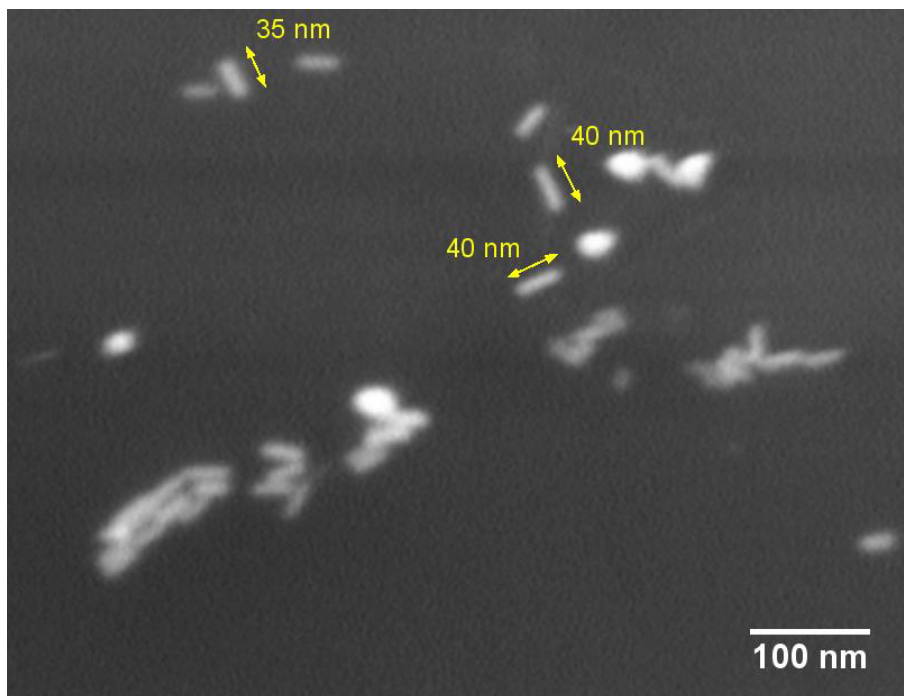


Figura 18. Micrografía de SEM para nanobarras de Au a 120 000 aumentos con tamaños de partícula señalados.

4.4 Nanoestructuras de HA-Au

4.4.1 Espectroscopía Ultravioleta visible de Reflectancia Difusa (UV-vis DRS)

El material compuesto de HA-Au se caracterizó mediante UV-vis DRS para determinar la presencia de Au en las nanoestructuras.

El espectro de UV-vis DRS de las nanoestructuras de HA-Au obtenidas mediante el método de inmersión se muestran en la Figura 19 (página 53). Se puede observar que las nanoestructuras presentan dos bandas de absorción, las cuales se adjudican al Au presente en el material, ya que las nanopartículas de Au presentan la interacción energética del LSPR ante la radiación electromagnética del espectro visible y la hidroxiapatita no presenta bandas de absorción ante esta misma radiación. Se observan una banda de máxima absorción a los 648 nm correspondiente a la resonancia de plasmón superficial longitudinal de las nanobarras de Au y una banda con un máximo de absorción a los 522 nm correspondiente a la resonancia de plasmón superficial transversal de las nanobarras de Au.

La banda de absorción correspondiente a la LSPR longitudinal de las nanobarras de Au sufre un efecto hipsocrómico comparada con la banda de LSPR longitudinal del espectro de las nanobarras sintetizadas en la Figura 17 (página 50), esto resulta de la variación del índice de refracción en la superficie de la nanobarra ahora rodeado de cristales de HA [120].

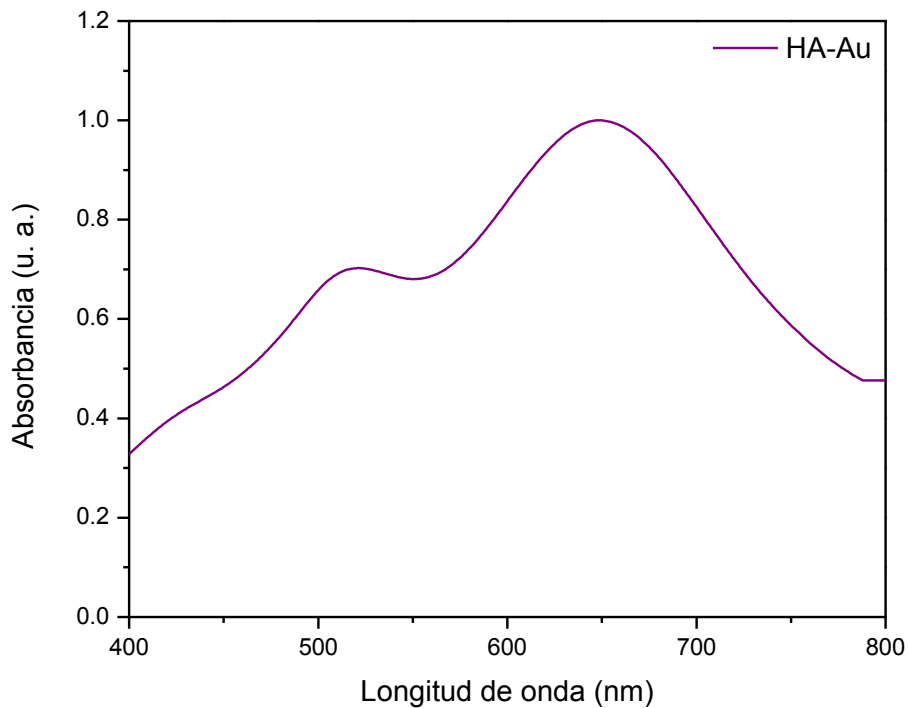


Figura 19. Espectro de UV-Vis DRS para las nanoestructuras de HA-Au obtenidas.

4.4.2 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

El material compuesto de HA-Au se caracterizó mediante SEM para observar la morfología del material después del proceso de obtención del material compuesto.

La Figura 20 (página 54) muestra la micrografía de las microesferas de HA-Au obtenidas a condiciones 3:10 del procedimiento experimental a una magnificación de 15 000 aumentos donde es posible apreciar que las partículas siguen conservando su morfología esférica de un tamaño aproximado de 3 μm de diámetro conformada de nanocristales, por lo que la morfología de microesfera hueca nanoestructurada de la HA se sigue manteniendo. El Au no

se logra visualizar en las micrografías debido a que se encuentra en una cantidad muy pequeña en el material compuesto.

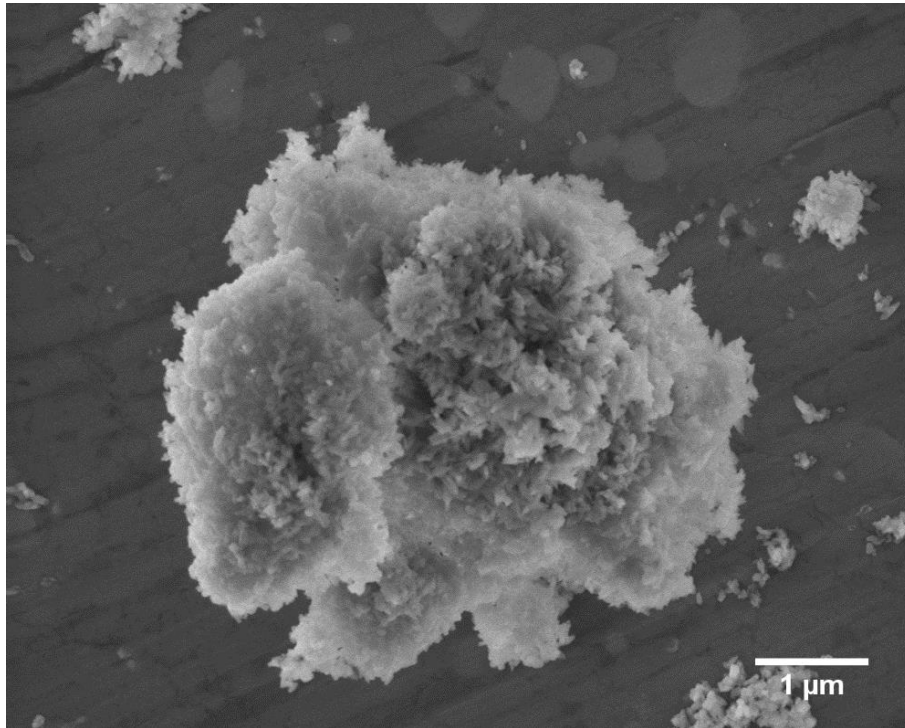


Figura 20. Micrografía de SEM para el material HA-Au a 15 000 aumentos.

4.5 Evaluación de adsorción de fármaco

En la literatura [44, 103, 110] referente a materiales con una potencial aplicación de transporte de fármacos cuya naturaleza se preste a una interacción con el espectro electromagnético en la región del ultravioleta visible se utiliza la técnica instrumental de UV-vis para hacer el seguimiento de la adsorción y liberación de tal fármaco.

La DOX pertenece a la familia de antibióticos de las antraciclinas y es utilizada como fármaco en el tratamiento anticancerígeno para tumores sólidos y tipos agudos de leucemia [121]. La DOX es utilizada como modelo de fármaco en materiales con potencial aplicación de transporte de fármacos, pues debido a su naturaleza poco soluble necesita de un sistema de transporte.

En la Figura 21 se muestra el espectro de UV-vis de la DOX en el rango de 400 nm a 800 nm, así como su molécula correspondiente, esto con el fin de obtener su longitud de onda máxima, la cual se estableció en 480 nm.

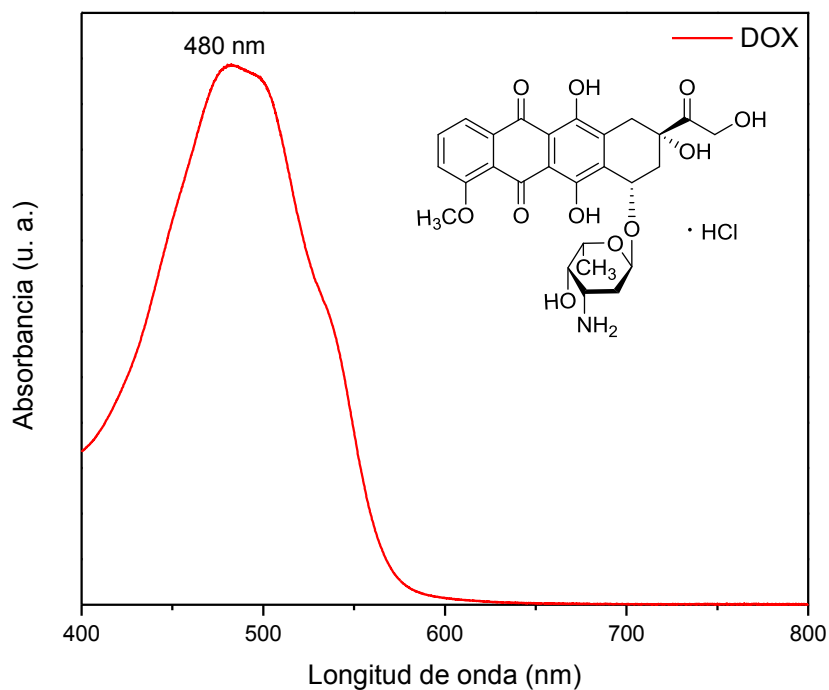


Figura 21. Espectro de la DOX y su molécula correspondiente.

En el proceso de adsorción de DOX en el material HA-Au se llevaron a cabo varios experimentos a distintos intervalos de tiempo para determinar la concentración de DOX remanente en el sistema utilizando la curva de

calibración presentada en la Figura 22 así como la ecuación y el coeficiente de correlación correspondiente.

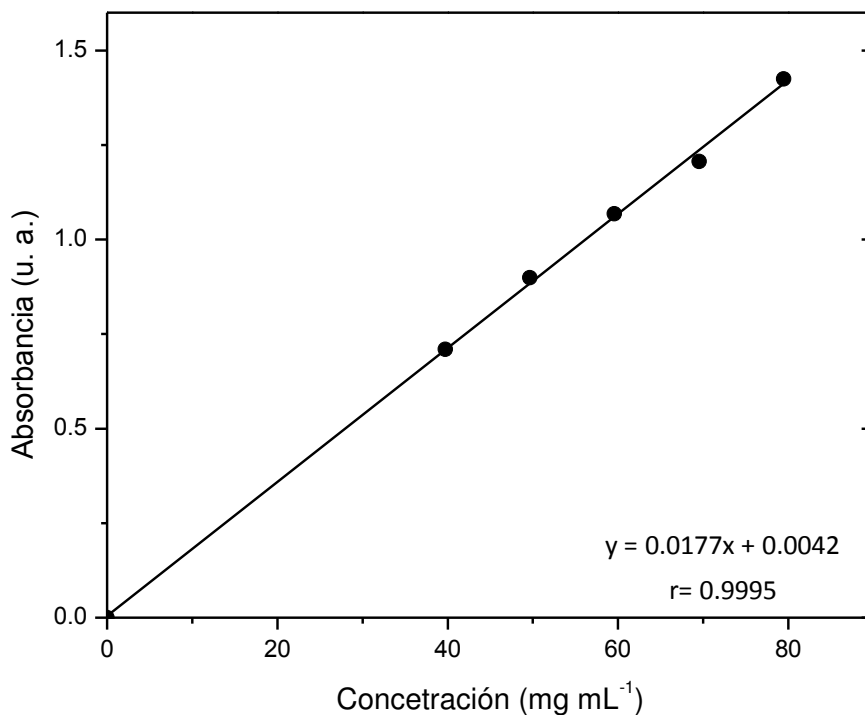


Figura 22. Curva de calibración utilizada en los análisis de adsorción.

A partir de los datos recabados se calculó la concentración de DOX adsorbida en el material HA-Au utilizando la fórmula 1 [110] presentada a continuación:

$$Q_t = \frac{(C_0 - C_f)V_{sol}}{m_{HA}} \quad (1)$$

Donde C_0 es la concentración inicial de DOX ($\mu\text{g mL}^{-1}$), C_f es la concentración remanente de DOX a cierto intervalo de tiempo ($\mu\text{g mL}^{-1}$) calculada mediante la curva de calibración, V_{sol} es el volumen de solución de DOX en el sistema (mL), m_{HA} es la cantidad de material HA-Au utilizado (mg) y

Q_t es la concentración de DOX adsorbida en el material HA-Au ($\mu\text{g mg}^{-1}$). La Figura 23 muestra la curva de adsorción de DOX para las nanoestructuras de HA-Au.

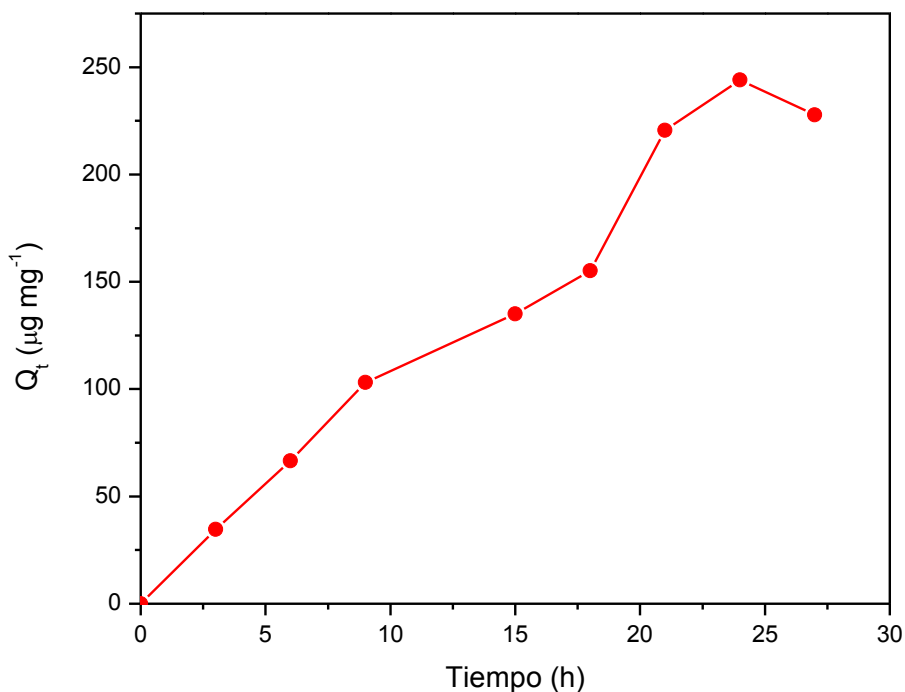


Figura 23. Curva de adsorción de DOX en el material HA-Au contra tiempo de contacto.

Se determinó $227.8 \mu\text{g mg}^{-1}$ como concentración adsorbida de DOX en el material de HA-Au a 27 h de contacto, este resultado sobrepasa valores reportados en literatura con materiales compuestos sólo por HA o en combinación con otros materiales como se puede visualizar en la Tabla 1 (página 58).

Tabla 1

Comparación de la concentración de DOX adsorbida en el material HA-Au con reportes de materiales de composición similar

Concentración de DOX adsorbida	Material	Referencia
90.3 $\mu\text{g mg}^{-1}$ *	Microesferas huecas porosas de HA	[103]
93 $\mu\text{g mg}^{-1}$ *	Nanobarras de Au recubiertas de HA/SiO ₂	[120]
120 $\mu\text{g mg}^{-1}$	Barras porosas de HA	[110]
227.8 $\mu\text{g mg}^{-1}$	Microesferas huecas nanoestructuradas de HA-Au	Tesis actual

*Concentración convertida a unidades de $\mu\text{g mg}^{-1}$ a partir del dato brindado en el reporte para efectos de comparación con la tesis actual.

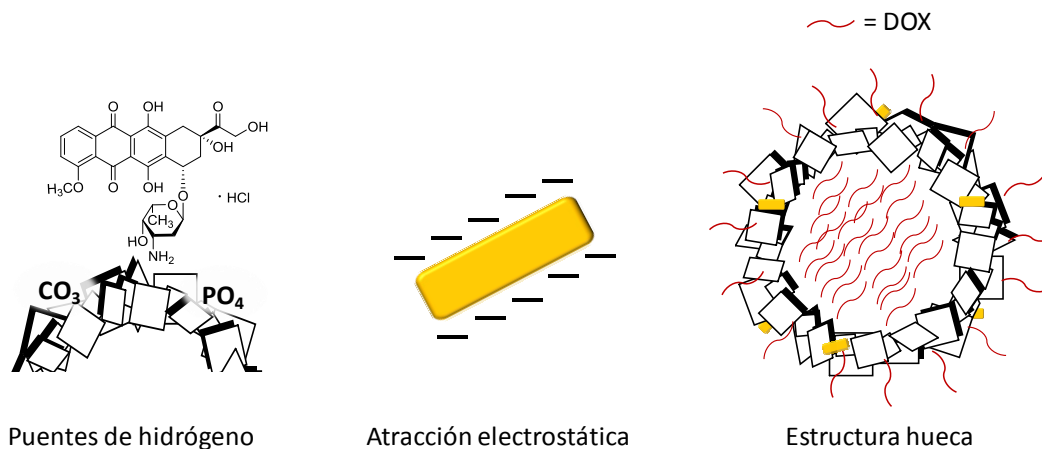


Figura 24. Factores que ayudan a la adsorción de la DOX en el material HA-Au.

La adsorción de la DOX en el material de HA-Au obtenido en el presente trabajo se puede atribuir a los siguientes factores representados en la Figura 24:

- Puentes de hidrógeno entre los oxígenos de los hidróxidos, carbonatos y fosfatos presentes en la HA con los hidrógenos de los grupos funcionales hidróxidos y amino de la DOX.
- Atracción electrostática entre grupos amino e hidróxido protonados de la DOX con cargas negativas en la superficie de las nanobarras de Au, producto de su síntesis.
- La morfología de estructura hueca permite contener una mayor cantidad de DOX, aunado a lo adsorbido en la superficie de los materiales HA-Au.

4.6 Evaluación de liberación de fármaco

4.6.1 Liberación sin asistencia de irradiación infrarroja

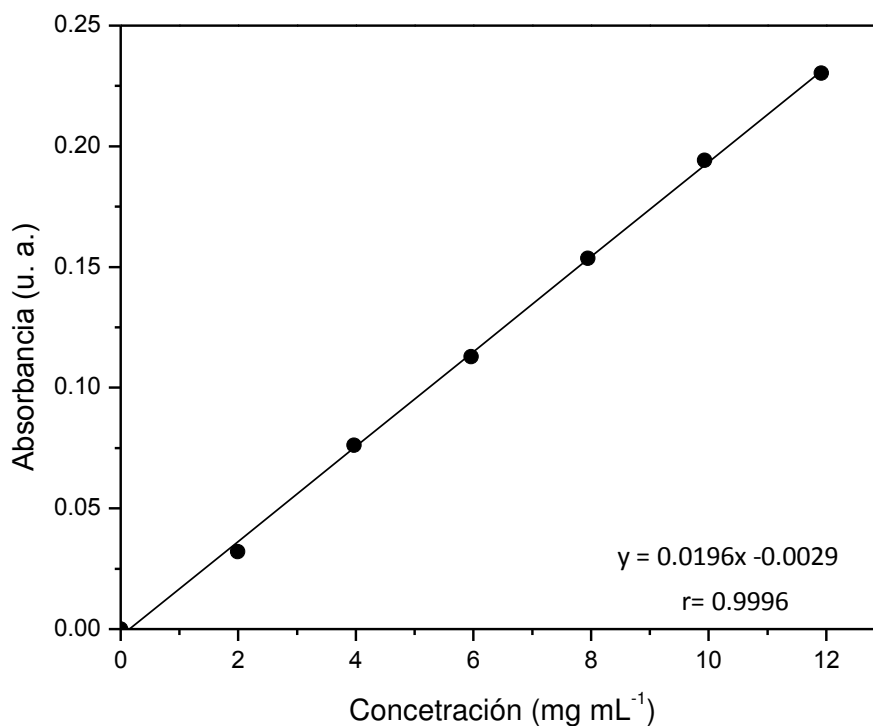


Figura 25. Curva de calibración utilizada en los análisis de liberación.

En el proceso de liberación de fármaco sin asistencia infrarroja se llevaron a cabo varias tomas de muestra a distinto tiempo t . Para determinar la cantidad de DOX liberada en el medio de PBS se utilizó la curva de calibración presentada en la Figura 25 (página 59) así como la ecuación y el coeficiente de correlación correspondiente.

A partir de los datos recabados se llevó a cabo una curva de porcentaje acumulado de liberación en un periodo de 144 h presentada en la Figura 26. A las 144 h se llegó a un valor de 3.69 % acumulado de liberación de la DOX tomando en cuenta a la concentración adsorbida a las 27 h como un 100 %.

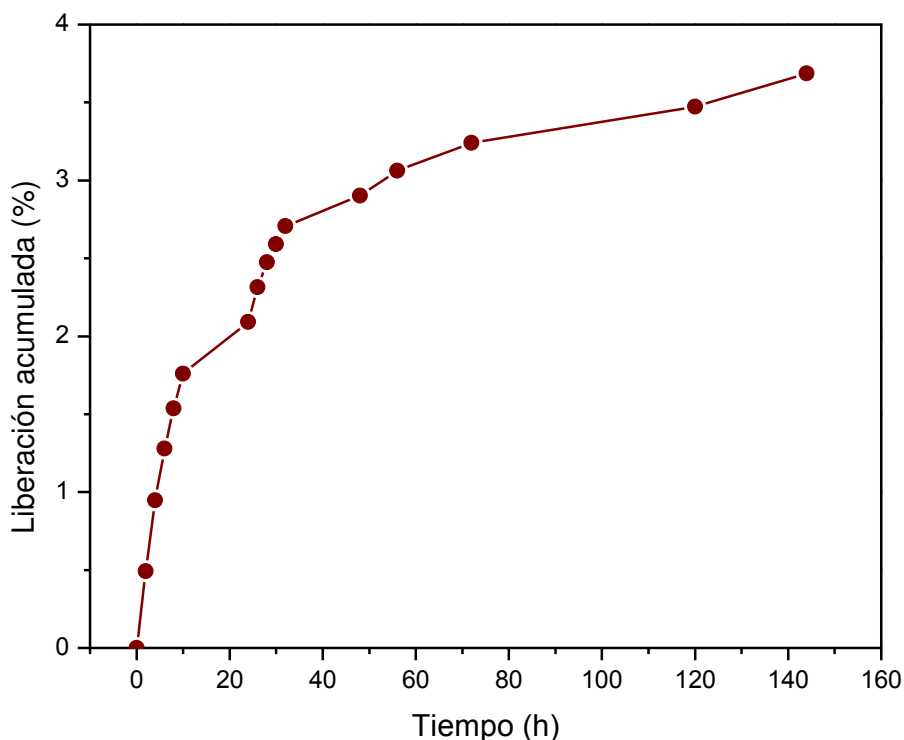


Figura 26. Curva de porcentaje acumulado de liberación de DOX del material compuesto HA-Au en PBS pH 7.4.

De acuerdo con literatura relacionada a los materiales utilizados, Lai y colaboradores obtuvieron un valor de 49.8 % acumulado de liberación para su material de microesferas huecas de HA [103] mientras que Song y colaboradores reportaron un valor de 8.61 % para su material de nanobarras de Au recubiertas de HA/SiO₂ [120]. El valor reportado en el presente trabajo es menor que los ya mencionados, esto se puede explicar debido a que desde la adsorción se vio una mayor interacción entre la DOX y el material HA-Au, lo cual hace que se dificulte su desprendimiento.

4.6.2 Liberación con asistencia de irradiación infrarroja

Para la experimentación bajo irradiación infrarroja se utilizó la misma curva de calibración presentada en la Figura 25 (página 59) con el fin de determinar la cantidad de DOX liberada en un medio de PBS a diferentes tiempos t.

A partir de los datos recabados se llevó a cabo una curva de porcentaje acumulado de liberación en un periodo de 0.5 h bajo irradiación infrarroja. Después de cada media hora de irradiación infrarroja el experimento se dejó en reposo y oscuridad por 23.5 h hasta el siguiente día para repetir la misma metodología, esto se llevó a cabo por 4 días. En la Figura 27 (página 62) se puede observar el comportamiento del % acumulado de liberación de DOX a través de las etapas de experimentación bajo irradiación infrarroja y en reposo.

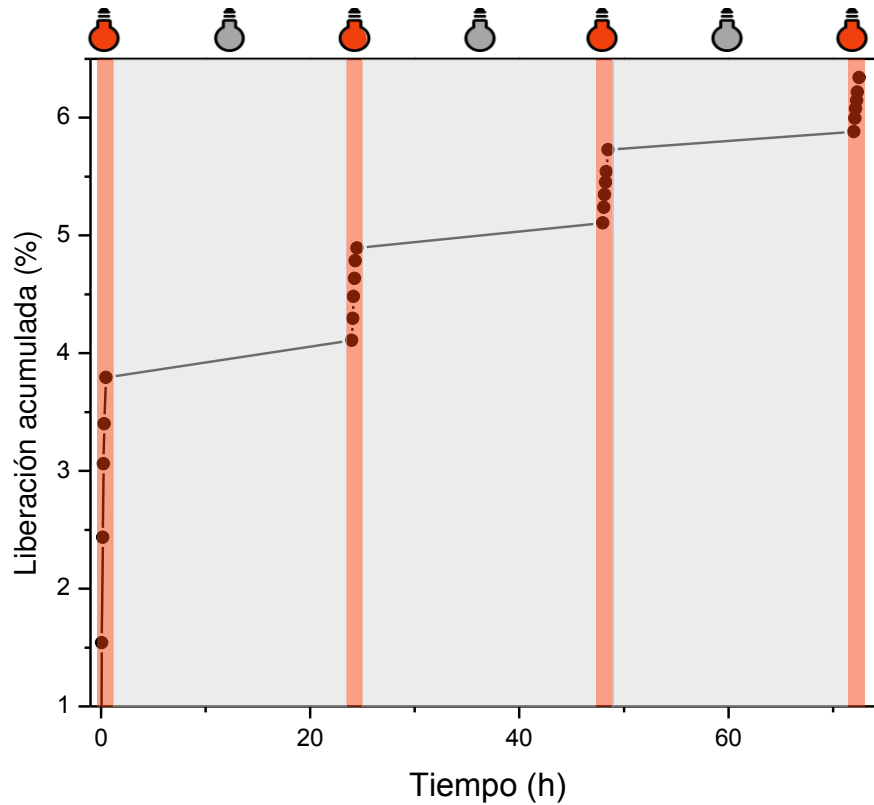


Figura 27. Curva de % acumulado de liberación de DOX del material compuesto HA-Au en PBS pH 7.4 bajo lapsos de irradiación infrarroja (señalados en rojo).

En los resultados se observa que después de 3 periodos de 0.5 h de experimentación bajo irradiación infrarroja se libera 6.34 % de DOX tomando como un 100 % la concentración de DOX adsorbida a 27 h, así mismo se observa que en los periodos de reposo bajo oscuridad no aumenta de manera considerable el % acumulado de liberación a pesar de tratarse de un mayor intervalo de tiempo. Por otro lado, en la Figura 28 (página 63) se muestra que a 0.5 h de irradiación infrarroja sobre el material de HA-Au-DOX el porcentaje acumulado de liberación de DOX es similar al resultado a 144 h sin intervención de la irradiación infrarroja.

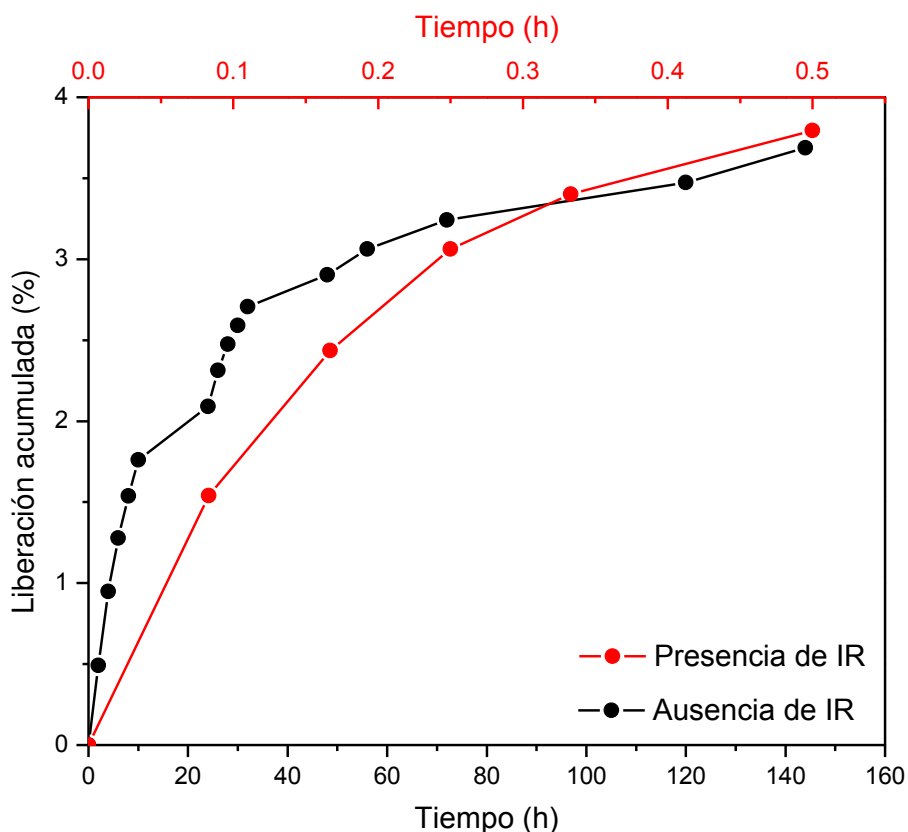


Figura 28. Comportamiento de liberación de DOX del material compuesto HA-Au en PBS pH 7.4 en presencia y ausencia de irradiación infrarroja.

El hecho de que el procedimiento de liberación de DOX por parte del material HA-Au bajo irradiación infrarroja aumente la cantidad de DOX liberada que en ausencia de ella bajo las mismas condiciones de medio y pH se puede explicar a través del efecto fototérmico que experimentan las nanobarras de Au. Como se observa en la Figura 29 (página 64), la radiación infrarroja provoca un aumento de temperatura en el medio circundante de la nanobarras de Au, lo cual promueve que la microesfera libere una mayor cantidad de DOX al medio de PBS.

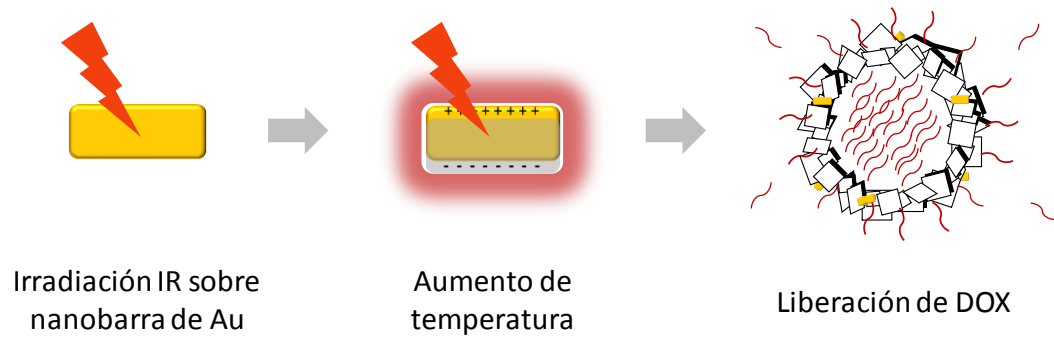


Figura 29. Esquema de liberación de DOX bajo irradiación infrarroja.

CAPÍTULO 6

CONCLUSIONES

A partir de una síntesis por precipitación y utilizando SDS como estabilizante, se obtuvieron microesferas huecas de CaCO_3 en fase cristalina calcita con un tamaño aproximado de 2 μm de acuerdo a los datos obtenidos mediante espectroscopía de infrarrojo, difracción de rayos X y microscopía electrónica de barrido.

Con base en los resultados de espectroscopía de infrarrojo y difracción de rayos X, la conversión del CaCO_3 en HA se logró mediante la reacción con Na_3PO_4 utilizando irradiación por microondas mediante una transformación de precursores.

Se mantuvo la morfología del precursor de microesferas huecas de las partículas antes y después del tratamiento de irradiación por microondas de acuerdo con la caracterización mediante microscopía electrónica de barrido, aun cuando la identidad del material cambió de CaCO_3 a HA.

De acuerdo a los análisis de espectroscopía ultravioleta visible y microscopía electrónica de barrido, se lograron obtener nanobarras de Au mediante el método de crecimiento sobre semillas con un tamaño aproximado de 40 nm de longitud y una máxima absorción de la banda de plasmón longitudinal en 742 nm, valor que se encuentra dentro de la ventana de agua y hace del material un candidato para aplicaciones biomédicas.

De acuerdo a los resultados de UV-vis DRS se logró obtener el material compuesto HA-Au.

El material HA-Au adsorbe DOX en una concentración de $227.8 \mu\text{g mg}^{-1}$, así mismo en ausencia de irradiación infrarroja a las condiciones propuestas se observa una liberación del fármaco lenta y constante mientras que en presencia de irradiación infrarroja se promueve una mayor liberación. Con esto último se confirma la hipótesis del proyecto.

REFERENCIAS

- [1]. Organización Mundial de la Salud. (2017). *World health statistics 2017: monitoring health for the SDGs, Sustainable Development Goals*. Geneva, ISBN: 78-92-4-156548-6
- [2]. INEGI. Esperanza de vida al nacimiento por entidad federativa según sexo, 2010 a 2017 [en línea]. [fecha de consulta: 25 febrero 2018]. Disponible en: http://www.beta.inegi.org.mx/app/tabulados/pxweb/inicio.html?rxid=75ada3fe-1e52-41b3-bf27-4cda26e957a7&db=Mortalidad&px=Mortalidad_9
- [3]. Park, K. (2016). Drug Delivery Research: The Invention Cycle. *Molecular Pharmaceutics*, 13, 2143–2147. DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.6b00015
- [4]. Tibbitt, M. W., Dahlman, J. E., & Langer, R. (2016). Emerging Frontiers in Drug Delivery. *Journal of the American Chemical Society*, 138, 704–717. DOI: 10.1021/jacs.5b09974
- [5]. Zhang, Y., Chan, H. F., & Leong, K. W. (2013). Advanced materials and processing for drug delivery: The past and the future. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 65(1), 104–120. DOI: 10.1016/j.addr.2012.10.003
- [6]. IMS Institute for Healthcare Information. (2014). *Global Outlook for Medicines Through 2018*. USA
- [7]. Park, K. (2014). Controlled drug delivery systems: Past forward and future back. *Journal of Controlled Release*, 190, 3–8. DOI: 10.1016/j.jconrel.2014.03.054
- [8]. Mandal, A., Bisht, R., Rupenthal, I. D., & Mitra, A. K. (2017). Polymeric micelles for ocular drug delivery: From structural frameworks to recent preclinical studies. *Journal of Controlled Release*, 248, 96–116. DOI: 10.1016/j.jconrel.2017.01.012

- [9]. Zununi, S., Salehi, R., Davaran, S., & Sharifi, S. (2017). Liposome-based drug co-delivery systems in cancer cells, *71*, 1327–1341. DOI: 10.1016/j.msec.2016.11.073
- [10]. Pandey, A. (2017). An Overview on Advances in the Nanocarriers Drug Delivery Systems. In A. K. Shukla (Ed.), *EMR/ESR/EPR Spectroscopy for Characterization of Nanomaterials* (pp. 65–76). New Delhi: Springer India. DOI: 10.1007/978-81-322-3655-9_3
- [11]. Zeng, Q., Wen, H., Wen, Q., Chen, X., Wang, Y., Xuan, W., Liang, J., & Wan, S. (2013). Cucumber mosaic virus as drug delivery vehicle for doxorubicin. *Biomaterials*, *34*, 4632–4642. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2013.03.017
- [12]. Caminade, A.-M., & Turrin, C.-O. (2014). Dendrimers for drug delivery. *Journal of Materials Chemistry B*, *2*, 4055–4066. DOI: 10.1039/c4tb00171k
- [13]. Anselmo, A. C., & Mitragotri, S. (2015). A Review of Clinical Translation of Inorganic Nanoparticles. *The AAPS Journal*, *17*(5), 1041–54. DOI: 10.1208/s12248-015-9780-2
- [14]. Yun, Y. H., Lee, B. K., & Park, K. (2015). Controlled Drug Delivery: Historical perspective for the next generation. *Journal of Controlled Release*, *219*, 2–7. DOI: 10.1016/j.jconrel.2015.10.005
- [15]. Bhushan, B. (2010). Introduction to Nanotechnology. In B. Bhushan (Ed.), *Springer Handbook of Nanotechnology* (pp. 1–13). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. DOI: 10.1007/978-3-642-02525-9_1
- [16]. Alonso, B., López, A., Rodríguez, C., & Lázaro, D. (2015). La nanotecnología a 40 años de su aparición: logros y tendencias. *Ingenierías*, *XVIII*(66), 13–23.
- [17]. Cao, G. & Wang, Y. (2011). *Nanostructures and Nanomaterials: Synthesis, Properties, and Applications*. Singapur: World Scientific, 2a Ed. ISBN: 978-981-4322-50-8
- [18]. Umeno, Y., Shimada, T., Kinoshita, Y., & Kitamura, T. (2017). Introduction. In *Multiphysics in Nanostructures* (pp. 1–3). Tokyo: Springer Japan. DOI: 10.1007/978-4-431-56573-4_1

- [19]. Sharath Shekar, H. S., & Ramachandra, M. (2018). Green Composites: A Review. *Materials Today: Proceedings*, 5(1), 2518–2526. DOI: 10.1016/j.matpr.2017.11.034
- [20]. Chawla, K. K. (2012). Introduction. In *Composite Materials: Science and Engineering* (pp. 3–6). New York, NY: Springer New York. DOI: 10.1007/978-0-387-74365-3_1
- [21]. Schneider, G. J. (2017). Dynamics of nanocomposites. *Current Opinion in Chemical Engineering*, 16, 65–77. DOI: 10.1016/j.coche.2017.04.006
- [22]. Kumar, C. G., Poornachandra, Y., & Pombala, S. (2017). Chapter 1 - Therapeutic nanomaterials: from a drug delivery perspective. In E. Andronescu & A. M. Grumezescu (Eds.), *Nanostructures for Drug Delivery* (pp. 1–61). Elsevier. DOI: 10.1016/B978-0-323-46143-6.00001-4
- [23]. Emsley J (1980) The Phosphorus Cycle. In: *The Natural Environment and the Biogeochemical Cycles*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp 147–167.
- [24]. Szcześ, A., Hołysz, L., & Chibowski, E. (2017). Synthesis of hydroxyapatite for biomedical applications. *Advances in Colloid and Interface Science*, 249, 321–330. DOI: 10.1016/j.cis.2017.04.007
- [25]. Kay MI, Young RA & Posner, A. S. (1964). Crystal Structure of Hydroxyapatite. *Nature*, 204, 1050-1052. DOI: 10.1038/2041050a0
- [26]. Elliott, J. C., Mackie, P. E., & Young, R. A. (1973). Monoclinic Hydroxyapatite. *Science*, 180, 1055–1057. DOI: 10.1126/science.180.4090.1055
- [27]. Wang, L., & Nancollas, G. H. (2008). Calcium Orthophosphates: Crystallization and Dissolution. *Chemical Reviews*, 108, 4628–4669. DOI: 10.1021/cr0782574
- [28]. Hydroxyapatite. (2008). In *Bioceramics: Properties, Characterizations, and Applications* (pp. 177–197). New York, NY: Springer New York. DOI: 10.1007/978-0-387-09545-5_9
- [29]. Kolmas, J., Krukowski, S., Laskus, A., & Jurkitewicz, M. (2016). Synthetic hydroxyapatite in pharmaceutical applications. *Ceramics International*, 42(2), 2472–2487. DOI: 10.1016/j.ceramint.2015.10.048

- [30]. Parakhonskiy, B. V., Svenskaya, Y. I., Yashchenok, A. M., Fattah, H. A., Inozemtseva, O. A., Tessarolo, F., Antolini, R. & Gorin, D. A. (2014). Size controlled hydroxyapatite and calcium carbonate particles: Synthesis and their application as templates for SERS platform. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 118, 243–248. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2014.03.053
- [31]. Jadalannagari, S., Deshmukh, K., Ramanan, S. R., & Kowshik, M. (2013). Antimicrobial activity of hemocompatible silver doped hydroxyapatite nanoparticles synthesized by modified sol–gel technique. *Applied Nanoscience*, 4, 133–141. DOI: 10.1007/s13204-013-0197-x
- [32]. Meshkini, A., & Oveisi, H. (2017). Methotrexate-F127 conjugated mesoporous zinc hydroxyapatite as an efficient drug delivery system for overcoming chemotherapy resistance in osteosarcoma cells. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 158, 319–330. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2017.07.006
- [33]. Wang, D., Guan, X., Huang, F., Li, S., Shen, Y., Chen, J., & Long, H. (2016). Removal of heavy metal ions by biogenic hydroxyapatite: Morphology influence and mechanism study. *Russian Journal of Physical Chemistry A*, 90(8), 1557–1562. DOI: 10.1134/S0036024416080069
- [34]. Bellucci, D., Sola, A., Gazzarri, M., Chiellini, F., & Cannillo, V. (2013). A new hydroxyapatite-based biocomposite for bone replacement. *Materials Science & Engineering C*, 33, 1091–1101. DOI: 10.1016/j.msec.2012.11.038
- [35]. Cox, S. C., Thornby, J. A., Gibbons, G. J., Williams, M. A., & Mallick, K. K. (2015). 3D printing of porous hydroxyapatite scaffolds intended for use in bone tissue engineering applications. *Materials Science & Engineering C*, 47, 237–247. DOI: 10.1016/j.msec.2014.11.024
- [36]. Dubnika, A., Loca, D., Rudovica, V., Parekh, M. B., & Berzina-Cimdina, L. (2017). Functionalized silver doped hydroxyapatite scaffolds for controlled simultaneous silver ion and drug delivery. *Ceramics International*, 43, 3698–3705. DOI: 10.1016/j.ceramint.2016.11.214
- [37]. Zhibarev, A. M., Akhmetshin, E. A., & Zharikov, E. V. (2013). Synthesis of Hydroxyapatite for Bioactive Coatings. *Russian Journal of Inorganic Chemistry*, 58(12), 1573–1576. DOI: 10.1134/S0036023613120243

- [38]. Guan, J.-J., Tian, B., Tang, S., Ke, Q.-F., Zhang, C.-Q., Zhu, Z.-A., & Guo, Y.-P. (2015). Hydroxyapatite coatings with oriented nanoplate arrays: synthesis, formation mechanism and cytocompatibility. *Journal of Materials Chemistry B*, *3*, 1655–1666. DOI: 10.1039/C4TB02085E
- [39]. Wijesinghe, W. P. S. L., Mantilaka, M. M. M. G. P. G., Premalal, E. V. A., Herath, H. M. T. U., Mahalingam, S., Edirisinghe, M., Rajapakse, R. P. V. J. & Rajapakse, R. M. G. (2014). Facile synthesis of both needle-like and spherical hydroxyapatite nanoparticles: Effect of synthetic temperature and calcination on morphology, crystallite size and crystallinity. *Materials Science and Engineering C*, *42*, 83–90. DOI: 10.1016/j.msec.2014.05.032
- [40]. Hao, L., Yang, H., Zhao, N., Du, C., & Wang, Y. (2014). Controlled growth of hydroxyapatite fibers precipitated by propionamide through hydrothermal synthesis. *Powder Technology*, *253*, 172–177. DOI: 10.1016/j.powtec.2013.11.020
- [41]. Yu, S.-H., & Qian, Y.-T. (2006). Soft Synthesis of Inorganic Nanorods, Nanowires, and Nanotubes. In M. Adachi & D. J. Lockwood (Eds.), *Self-Organized Nanoscale Materials* (pp. 101–158). New York, NY: Springer New York. DOI: 10.1007/0-387-27976-8_3
- [42]. Rabinovich, E. M. (1994). Sol Gel Processing-General Principles. In L. C. Klein (Ed.), *Sol-Gel Optics: Processing and Applications* (pp. 1–37). Boston, MA: Springer US. DOI: 10.1007/978-1-4615-2750-3_1
- [43]. Eshtiagh-Hosseini, H., Housaindokht, M. R., & Chahkandi, M. (2007). Effects of parameters of sol–gel process on the phase evolution of sol–gel-derived hydroxyapatite. *Materials Chemistry and Physics*, *106*(2), 310–316. DOI: 10.1016/j.matchemphys.2007.06.002
- [44]. Foroughi, F., Hassanzadeh-Tabrizi, S. A., & Bigham, A. (2016). In situ microemulsion synthesis of hydroxyapatite-MgFe₂O₄ nanocomposite as a magnetic drug delivery system. *Materials Science and Engineering: C*, *68*, 774–779. DOI: 10.1016/j.msec.2016.07.028
- [45]. Callender, S. P., Mathews, J. A., Kobernyk, K., & Wettig, S. D. (2017). Microemulsion utility in pharmaceuticals: Implications for multi-drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, *526*, 425–442. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2017.05.005

- [46]. McClements, D. J. (2012). Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and similarities. *Soft Matter*, *8*, 1719–1729. DOI: 10.1039/c2sm06903b
- [47]. Peng, H., Zhang, D., Sun, B., Luo, Y., Lv, S., Wang, J., & Chen, J. (2016). Synthesis of protein/hydroxyapatite nano-composites by a high-gravity co-precipitation method. *RSC Advances*, *6*, 12414–12421. DOI: 10.1039/C5RA27018A
- [48]. Tsiourvas, D., Tsetsekou, A., Kammenou, M. I., & Boukos, N. (2016). Biomimetic synthesis of ribbon-like hydroxyapatite employing poly(L-arginine). *Materials Science and Engineering C*, *58*, 1225–1231. DOI: 10.1016/j.msec.2015.09.076
- [49]. Pham Minh, D., Nzihou, A., & Sharrock, P. (2014). Carbonated hydroxyapatite starting from calcite and different orthophosphates under moderate hydrothermal conditions: Synthesis and surface reactivity in simulated body fluid. *Materials Research Bulletin*, *60*, 292–299. DOI: 10.1016/j.materresbull.2014.08.052
- [50]. Asri, R. I. M., Harun, W. S. W., Hassan, M. A., Ghani, S. A. C., & Buyong, Z. (2016). A review of hydroxyapatite-based coating techniques: Sol-gel and electrochemical depositions on biocompatible metals. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, *57*, 95–108. DOI: 10.1016/j.jmbbm.2015.11.031
- [51]. Hassan, M. N., Mahmoud, M. M., El-Fattah, A. A., & Kandil, S. (2016). Microwave-assisted preparation of nano-hydroxyapatite for bone substitutes. *Ceramics International*, *42*, 3725–3744. DOI: 10.1016/j.ceramint.2015.11.044
- [52]. Radha, G., Balakumar, S., Venkatesan, B., & Vellaichamy, E. (2015). Evaluation of hemocompatibility and in vitro immersion on microwave-assisted hydroxyapatite–alumina nanocomposites. *Materials Science and Engineering: C*, *50*, 143–150. DOI: 10.1016/j.msec.2015.01.054
- [53]. Zhao, J., Zhu, Y. J., Cheng, G. F., Ruan, Y. J., Sun, T. W., Chen, F., Wu, J., Zhao, X.-Y., & Ding, G. J. (2014). Microwave-assisted hydrothermal rapid synthesis of amorphous calcium phosphate nanoparticles and hydroxyapatite microspheres using cytidine 5'-triphosphate disodium salt as a phosphate source. *Materials Letters*, *124*, 208–211. DOI: 10.1016/j.matlet.2014.03.054

- [54]. Chen, H., & Leng, S. (2015). Rapid synthesis of hollow nano-structured hydroxyapatite microspheres via microwave transformation method using hollow CaCO_3 precursor microspheres. *Ceramics International*, 41(2), 2209–2213. DOI: 10.1016/j.ceramint.2014.10.021
- [55]. Lin, K., Liu, X., Chang, J., & Zhu, Y. (2011). Facile synthesis of hydroxyapatite nanoparticles, nanowires and hollow nano-structured microspheres using similar structured hard-precursors. *Nanoscale*, 3, 3052–3055. DOI: 10.1039/c1nr10334b
- [56]. Pham Minh, D., Rio, S., Sharrock, P., Sebei, H., Lyczko, N., Tran, N. D., Raii, M., & Nzihou, A. (2014). Hydroxyapatite starting from calcium carbonate and orthophosphoric acid: Synthesis, characterization, and applications. *Journal of Materials Science*, 49, 4261–4269. DOI: 10.1007/s10853-014-8121-7
- [57]. Chang, R. (2013). *Química*. México: McGraw-Hill Interamericana, 11 ed. ISBN: 9786071509284.
- [58]. Zhu, Y.-J., & Chen, F. (2014). Microwave-Assisted Preparation of Inorganic Nanostructures in Liquid Phase, *Chemical Reviews*, 114, 6462–6555. DOI: 10.1021/cr400366s
- [59]. Collins, M. J. (2010). Future trends in microwave synthesis. *Future Medicinal Chemistry*, 2(2), 151–155. DOI: 10.4155/fmc.09.133
- [60]. Mittemeijer, E. J. (2011). Chemical Bonding in Solids; with Excursions to Material Properties. In *Fundamentals of Materials Science: The Microstructure--Property Relationship Using Metals as Model Systems* (pp. 37–101). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. DOI: 10.1007/978-3-642-10500-5_3
- [61]. Askeland, D. R. & Wriqth, W. J. (2016). *Ciencia en ingeniería de los materiales*. México: CENGAGE Learning, 7a ed. ISBN: 9786075260624.
- [62]. Solid-State Physics. (2012). In *The Physical Chemist's Toolbox* (pp. 443–502). Wiley-Blackwell. DOI: 10.1002/9781118195598.ch8
- [63]. Iadonisi, G., Cantele, G., & Chiofalo, M. L. (2014). Transport and Equilibrium Properties. In *Introduction to Solid State Physics and Crystalline Nanostructures* (pp. 371–507). Milano: Springer Milan. DOI: 10.1007/978-88-470-2805-0_4

- [64]. Bittencourt, J. A. (2004). Introduction. In *Fundamentals of Plasma Physics* (pp. 1–32). New York, NY: Springer New York. DOI: 10.1007/978-1-4757-4030-1_1
- [65]. Maier, S. A. (2007). Electromagnetics of Metals. In *Plasmonics: Fundamentals and Applications* (pp. 5–19). New York, NY: Springer US. DOI: 10.1007/0-387-37825-1_1
- [66]. Kittel, C. (2004). *Introduction to Solid State Physics*. USA: John Wiley & Sons, Inc, 8a Ed. ISBN: 047141526X
- [67]. Ru, E. C. Le, & Etchegoin, P. G. (2009). Chapter 3 - Introduction to plasmons and plasmonics. In E. C. Le Ru & P. G. Etchegoin (Eds.), *Principles of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy* (pp. 121–183). Amsterdam: Elsevier. DOI: 10.1016/B978-0-444-52779-0.00009-X
- [68]. Thomas, K. G. (2007). Surface Plasmon Resonances in Nanostructured Materials. In *Nanomaterials Chemistry* (pp. 185–218). Wiley-Blackwell. DOI: 10.1002/9783527611362.ch6
- [69]. Zhou, J., Cao, Z., Panwar, N., Hu, R., Wang, X., Qu, J., Tjin, S. C., Xu, G., & Yong, K. (2017). Functionalized gold nanorods for nanomedicine: Past, present and future. *Coordination Chemistry Reviews*, 352, 15–66. DOI: 10.1016/j.ccr.2017.08.020
- [70]. Beamish, F. E. (1966). Chapter 1 - The action of acids, bases, oxygen and chlorine on the noble metals. In Beamish, F. E. (Ed.), *The Analytical Chemistry of the Noble Metals* (Vol. 24, pp. 1–38). Pergamon. DOI: 10.1016/B978-1-4832-0094-1.50006-X
- [71]. Macdonald, E. H. (2007). 1 - Nature and history of gold. In E. H. Macdonald (Ed.), *Handbook of Gold Exploration and Evaluation* (pp. 1–61). Woodhead Publishing. DOI: 10.1533/9781845692544.1
- [72]. Klein, C. & Hurlbut, C. S. Jr. (1996). *Manual de mineralogía*. Reverte. ISBN: 978-8429146066
- [73]. Huang, X., Neretina, S., & El-Sayed, M. A. (2009). Gold nanorods: From synthesis and properties to biological and biomedical applications. *Advanced Materials*, 21, 4880–4910. DOI: 10.1002/adma.200802789
- [74]. Gas'kov, I. V. (2017). Major impurity elements in native gold and their association with gold mineralization settings in deposits of Asian

folded areas. *Russian Geology and Geophysics*, 58, 1080–1092. DOI: 10.1016/j.rgg.2017.08.004

- [75]. Vlassopoulos, D., & Wood, S. A. (1990). Gold speciation in natural waters: I. Solubility and hydrolysis reactions of gold in aqueous solution. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 54, 3–12. DOI: 10.1016/0016-7037(90)90189-R
- [76]. Klemm, R., & Klemm, D. (2013). Value of Gold in Ancient Egypt. In *Gold and Gold Mining in Ancient Egypt and Nubia: Geoarchaeology of the Ancient Gold Mining Sites in the Egyptian and Sudanese Eastern Deserts* (pp. 21–27). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. DOI: 10.1007/978-3-642-22508-6_2
- [77]. Schmidbaur, H. (1992). Gold Chemistry is Different, *Interdisciplinary Science Reviews*, 17(3), 213–220. DOI: 10.1179/030801892789816118
- [78]. World Gold Council. History of gold [en línea]. [Fecha de consulta: 10 marzo 2018]. Disponible en: <https://www.gold.org/about-gold/history-of-gold>
- [79]. Johnson, B. F. G., & Davis, R. (1973). 29 - Gold. In Massey, A. G., Thompson, N. R., Johnson, B. F. G., & Davis, R. (Eds.), *The Chemistry of Copper, Silver and Gold* (pp. 129–186). Pergamon. DOI: 10.1016/B978-0-08-018860-7.50008-6
- [80]. Tylecote, R. F. (1976). Copper, Silver and Gold. In Tylecote, R. F. (Ed), *History of Metallurgy* (pp. 1173-1200). Metals Society. DOI: 10.1016/B978-0-7506-3365-9.50034-1
- [81]. Villa, E. (2015). Chapter 4 - Manufacturing of Shape Memory Alloys. In L. Lecce & A. Concilio (Eds.), *Shape Memory Alloy Engineering* (pp. 79–96). Boston: Butterworth-Heinemann. DOI: 10.1016/B978-0-08-099920-3.00004-8
- [82]. Newton, L., Slater, T., Clark, N., & Vijayaraghavan, A. (2013). Self assembled monolayers (SAMs) on metallic surfaces (gold and graphene) for electronic applications Lauren. *Journal of Materials Chemistry C*, 1, 376–393. DOI: 10.1039/c2tc00146b
- [83]. Zhang, X. (2015). Gold Nanoparticles: Recent Advances in the Biomedical Applications. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 72, 771–775. DOI: 10.1007/s12013-015-0529-4

- [84]. Freestone, I., Meeks, N., Sax, M., & Higgitt, C. (2007). The Lycurgus Cup-A Roman Nanotechnology. *Gold Bulletin*, 40(4), 270–277. DOI: 10.1007/BF03215599
- [85]. Dykman, L., & Khlebtsov, N. (2012). Gold nanoparticles in biomedical applications: recent advances and perspectives. *Chemical Society Reviews*, 41, 2256–2282. DOI: 10.1039/c1cs15166e
- [86]. Xiao-Ming, M., Mi, S., Yue, L., Yin-Jin, L., Fang, L., Long-Hua, G., Bin, Q., Zhen-Yu, L., & Guo-Nan, C. (2018). Progress of Visual Biosensor Based on Gold Nanoparticles. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 46(1), 1–10. DOI: 10.1016/S1872-2040(17)61061-2
- [87]. Alkilany, A. M., Thompson, L. B., Boulos, S. P., Sisco, P. N., & Murphy, C. J. (2012). Gold nanorods: Their potential for photothermal therapeutics and drug delivery, tempered by the complexity of their biological interactions. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64, 190–199. DOI: 10.1016/j.addr.2011.03.005
- [88]. Elahi, N., Kamali, M., & Baghersad, M. H. (2018). Recent biomedical applications of gold nanoparticles: A review. *Talanta*, 184, 537–556. DOI: 10.1016/j.talanta.2018.02.088
- [89]. Qin, L., Zeng, G., Lai, C., Huang, D., Xu, P., Zhang, C., Cheng, M., Liu, X., Liu, S., Li, B., & Yi, H. (2018). “Gold rush” in modern science: Fabrication strategies and typical advanced applications of gold nanoparticles in sensing. *Coordination Chemistry Reviews*, 359, 1-31. DOI: 10.1016/j.ccr.2018.01.006
- [90]. Al-rubaye, A. G., Nabok, A., & Tsargorodska, A. (2017). LSPR Biosensor Based on Nanostructured Gold Films: Detection of Mycotoxins. *Procedia Technology*, 27, 131–132. DOI: 10.1016/j.protcy.2017.04.057
- [91]. Burrows, N. D., Harvey, S., Idesis, F. A., & Murphy, C. J. (2017). Understanding the Seed-Mediated Growth of Gold Nanorods through a Fractional Factorial Design of Experiments. *Langmuir*, 33, 1891–1907. DOI: 10.1021/acs.langmuir.6b03606
- [92]. Lohse, S. E., Burrows, N. D., Scarabelli, L., Liz-Marzán, L. M., & Murphy, C. J. (2014). Anisotropic Noble Metal Nanocrystal Growth: The Role of Halides. *Chemistry of Materials*, 26, 34–43. DOI: 10.1021/cm402384j

- [93]. Jain, P. K., Huang, X., El-Sayed, I. H., & El-Sayed, M. A. (2008). Noble Metals on the Nanoscale: Optical and Photothermal Properties and Some Applications in Imaging, Sensing, Biology, and Medicine. *Accounts of Chemical Research*, 41(12), 1578–1586. DOI: 10.1002/chin.200914223
- [94]. Singhana, B., Slattery, P., Chen, A., Wallace, M., & Melancon, M. P. (2014). Light-activatable gold nanoshells for drug delivery applications. *AAPS PharmSciTech*, 15(3), 741–52. DOI: 10.1208/s12249-014-0097-8
- [95]. Holowka, E. P., & Bhatia, S. K. (2014). Introduction. In *Drug Delivery: Materials Design and Clinical Perspective* (pp. 1–6). inbook, New York, NY: Springer New York. DOI: 10.1007/978-1-4939-1998-7_1
- [96]. Verma, R. K. and Garg, S. (2001). Current Status of Drug Delivery Technologies and Future Directions. *Pharmaceutical Technology*, 25(2), 1-14.
- [97]. Pattni, B. S., & Torchilin, V. P. (2015). Targeted Drug Delivery Systems: Strategies and Challenges. In P. V Devarajan & S. Jain (Eds.), *Targeted Drug Delivery: Concepts and Design* (pp. 3–38). inbook, Cham: Springer International Publishing. DOI: 10.1007/978-3-319-11355-5_1
- [98]. Allen, T. M. & Cullis, P. R. (2004). Drug delivery systems: entering the mainstream, *Science*, 303, 1818-1822. DOI: 10.1126/science.1095833
- [99]. Groman, E. V, & Josephson, L. (1988). Biologically degradable superparamagnetic particles for use as nuclear magnetic resonance imaging agents. U. S., 4770183 A, Groman, E. V., Josephson, L. & Lewis, J. M. (1988). Biodegradable superparamagnetic metal oxides as contrast agents for MR imaging. U.S., 4951675 A
- [100]. Whitehead, R. A., Chagnon, M. S., Groman, E. V. & Josephson, L. (1988). Magnetic particles for use in separations. U. S., 4695392, Groman, E. V., Josephson, L. & Lewis, J. M. (1986). Hydrated biodegradable superparamagnetic metal oxides. U. S., 5219554 A
- [101]. Nicolas, J. (2016). Drug-Initiated Synthesis of Polymer Prodrugs: Combining Simplicity and Efficacy in Drug Delivery. *Chemistry of Materials*, 28, 1591-1606. DOI: 10.1021/acs.chemmater.5b04281
- [102]. Zhao, X., Ng, S., Heng, B. C., Guo, J., Ma, L., Tan, T. T. Y., Ng, K. W. & Loo, S. C. J. (2013). Cytotoxicity of hydroxyapatite nanoparticles is

shape and cell dependent. *Archives of Toxicology*, *87*, 1037–1052. DOI: 0.1007/s00204-012-0827-1

- [103]. Lai, W., Chen, C., Ren, X., Lee, I.-S., Jiang, G., & Kong, X. (2016). Hydrothermal fabrication of porous hollow hydroxyapatite microspheres for a drug delivery system. *Materials Science and Engineering C*, *62*, 166–172. DOI: 10.1016/j.msec.2016.01.055
- [104]. Bao, G., Mitragotri, S. & Tong, S. (2013). Multifunctional Nanoparticles for Drug Delivery and Molecular Imaging. *Annual Review of Biomedical Engineering*, *15*, 253-258. DOI: 10.1146/annurev-bioeng-071812-152409
- [105]. Dreaden, E. C., Alkilany, A. M., Huang, X., Murphy, C. J. & El-Sayed, M. A. (2012). The golden age: gold nanoparticles for biomedicine. *Chemical Society Reviews*, *41*(7), 2740-2779. DOI: 10.1039/C1CS15237H
- [106]. Mannerström, M., Zou, J., Toimela, T., Pyykkö, I. & Heinonen, T. (2016). The applicability of conventional cytotoxicity assays to predict safety/toxicity of mesoporous silica nanoparticles, silver and gold nanoparticles and multi-walled carbon nanotubes. *Toxicology in Vitro*, *37*, 113-120. DOI: 10.1016/j.tiv.2016.09.012
- [107]. Gou, L., & Murphy, C. J. (2005). Fine-tuning the shape of gold nanorods. *Chemistry of Materials*, *17*, 3668–3672. DOI: 10.1021/cm050525w
- [108]. Gao, J., Bender, C. M., & Murphy, C. J. (2003). Dependence of the Gold Nanorod Aspect Ratio on the Nature of the Directing Surfactant in Aqueous Solution Dependence of the Gold Nanorod Aspect Ratio on the Nature of the Directing Surfactant in Aqueous Solution. *Langmuir*, *19*, 9065–9070. DOI: 10.1021/la034919i
- [109]. Lohse, S. E., & Murphy, C. J. (2013). The quest for shape control: A history of gold nanorod synthesis. *Chemistry of Materials*, *25*, 1250–1261. DOI: 10.1021/cm303708p
- [110]. Gu, L., He, X., & Wu, Z. (2014). Mesoporous hydroxyapatite: Preparation, drug adsorption, and release properties. *Materials Chemistry and Physics*, *148*, 153–158. DOI: 10.1016/j.matchemphys.2014.07.024
- [111]. Chen, S., Du, X., Wang, T., Jia, L., Huang, D., & Chen, W. (2018). Synthesis of near-infrared responsive gold nanorod-doped

gelatin/hydroxyapatite composite microspheres with controlled photo-thermal property. *Ceramics International*, 44, 900–904. DOI: 10.1016/j.ceramint.2017.10.020

- [112]. Xu, B., & Poduska, K. M. (2014). Linking crystal structure with temperature- sensitive vibrational modes in calcium carbonate minerals. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 16, 17634–17639. DOI: 10.1039/C4CP01772B
- [113]. Feng, J., Wu, G., & Qing, C. (2016). Biomimetic synthesis of hollow calcium carbonate with the existence of the agar matrix and bovine serum albumin. *Materials Science and Engineering C*, 58, 409–411. DOI: 10.1016/j.msec.2015.09.005
- [114]. Domínguez, A., Fernández, A., González, N., Iglesias, E., & Montenegro, L. (1997). Determination of Critical Micelle Concentration of Some Surfactants by Three Techniques. *Journal of Chemical Education*, 74(10), 1227–1231. DOI: 10.1021/ed074p1227
- [115]. Qi, M., Qi, J., Xiao, G., Zhang, K., Lu, C., & Lu, Y. (2016). One-step hydrothermal synthesis of carbonated hydroxyapatite porous microspheres with a large and uniform size regulated by L-glutamic acid. *CrystEngComm*, 18, 5876–5884. DOI: 10.1039/C6CE00902F
- [116]. Bigi, A., Boanini, E., & Gazzano, M. (2016). 7 - Ion substitution in biological and synthetic apatites. In C. Aparicio & M.-P. Ginebra (Eds.), *Biomaterialization and Biomaterials* (pp. 235–266). Boston: Woodhead Publishing. DOI: 10.1016/B978-1-78242-338-6.00008-9
- [117]. Madupalli, H., Pavan, B., & Tecklenburg, M. M. J. (2017). Carbonate substitution in the mineral component of bone: Discriminating the structural changes, simultaneously imposed by carbonate in A and B sites of apatite. *Journal of Solid State Chemistry*, 255, 27–35. DOI: 10.1016/j.jssc.2017.07.025
- [118]. Gonzalez, G., Costa-Vera, C., Borrero, L. J., Soto, D., Lozada, L., Chango, J. I., Diaz, J. C., & Lascano, L. (2018). Effect of carbonates on hydroxyapatite self-activated photoluminescence response. *Journal of Luminescence*, 195, 385–395. DOI: 10.1016/j.jlumin.2017.11.058
- [119]. Xia, X., Chen, J., Shen, J., Huang, D., Duan, P., & Zou, G. (2018). Synthesis of hollow structural hydroxyapatite with different morphologies using calcium carbonate as hard template. *Advanced Powder Technology*, In Press, 1–9. DOI: 10.1016/j.appt.2018.03.021

- [120]. Song, Z., Liu, Y., Shi, J., Ma, T., Zhang, Z., Ma, H., & Cao, S. (2018). Hydroxyapatite/mesoporous silica coated gold nanorods with improved degradability as a multi-responsive drug delivery platform. *Materials Science & Engineering C*, 83, 90–98. DOI: 10.1016/j.msec.2017.11.012
- [121]. Mirza, A. Z., & Shamshad, H. (2011). Preparation and characterization of doxorubicin functionalized gold nanoparticles. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 46, 1857–1860. DOI: 10.1016/j.ejmech.2011.02.048

RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO

Ana Gabriela Amor de Jesús

Candidato para el Grado de

Maestría en Ciencias con Orientación en Química de los Materiales

Tesis: OBTENCIÓN DE NANOESTRUCTURAS DE HIDROXIAPATITA-Au Y SU POTENCIAL APLICACIÓN EN LIBERACIÓN DE FÁRMACOS

Campo de estudio: Química de los Materiales

Biografía:

Datos personales: Nacida en Nezahualcóyotl, Estado de México el 19 de enero de 1994, hija de Jorge Amor Salazar y Silvia Guadalupe de Jesús Guadarrama.

Educación: Egresada de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, grado obtenido Licenciado en Química Industrial en 2016 con mérito académico, primer lugar de generación.

Experiencia Profesional: Profesor de Tiempo Parcial de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León en el periodo de enero a diciembre de 2017.