



**FACULTAD DE FARMACIA  
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE  
DE MADRID**

**TRABAJO FIN DE GRADO  
BIOMATERIALES CERÁMICOS PARA LA  
LIBERACIÓN DE FÁRMACOS**

Autor: Gabriela Theodora Bajenaru

Tutor: Juan Carlos Doadrio Villarejo

Convocatoria: Julio 2019

# ÍNDICE

RESUMEN.....	3
ABSTRACT.....	3
INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES.....	4
OBJETIVOS.....	5
METODOLOGÍA.....	12
- Síntesis.....	12
- Caracterización.....	15
- Funcionalización.....	15
- Adsorción y liberación del fármaco.....	16
CONCLUSIONES.....	17
BIBLIOGRAFÍA.....	18

## RESUMEN

Las biocerámicas mesoporosas son sistemas inorgánicos ordenados, con un tamaño de poro del orden de 2-50 nm, una elevada superficie específica y capacidad para anclar moléculas orgánicas con el objetivo de liberar fármacos de forma controlada. Estas características, junto con su biocompatibilidad y bioactividad, las convierte en unos sistemas ideales para la regeneración de tejidos óseos y el diseño de implantes cada vez más seguros, que pueden incorporar antibióticos que traten de forma local las posibles infecciones del implante, que muchas veces causa la extracción del mismo.

La síntesis de las matrices silíceas permite un amplio control sobre las características finales de estas, como el tamaño de poro o la superficie específica, parámetros esenciales que determinan su capacidad de adsorber fármacos, ya que este es un fenómeno de superficie. Cabe destacar que la funcionalización de estas matrices es un paso crucial en su obtención, ya que es lo que hace posible el anclaje y liberación controlada de un gran número de fármacos.

Además, actualmente se está desarrollando una amplia investigación acerca de la utilización de nanopartículas mesoporosas de sílice implantadas que liberan una gran diversidad de biomoléculas únicamente en respuesta a estímulos internos o externos, como pH, luz, campos magnéticos o ultrasonidos. La aplicación clínica de estas nanoplataformas supondría un avance importante hacia una terapéutica más segura y eficaz.

## ABSTRACT

Mesoporous bioceramics are ordered inorganic systems, with a pore size of around 2-50 nm, a large specific surface area and the capacity to anchor organic molecules in order to release drugs in a controlled manner. These characteristics, together with their biocompatibility and bioactivity, make them ideal systems for the regeneration of bone tissue and the design of increasingly safer implants, which can incorporate antibiotics that treat locally the possible infections of the implant, which often causes the extraction of it.

The synthesis of the siliceous matrices allows a wide control over the final characteristics of these, such as pore size or the specific surface, essential parameters that determine their capacity to adsorb drugs, since this is a surface phenomenon.

It should be noted that the functionalization of these matrices is a crucial step in obtaining them, as it is what makes it possible to anchor and control the release of a large number of drugs.

In addition, extensive research is currently underway into the use of implanted mesoporous silica nanoparticles that release a wide range of biomolecules only in response to internal or external stimuli, such as pH, light, magnetic fields or ultrasound. The clinical application of these nanoplatforms would represent an important step towards safer and more effective therapeutics.

# INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

Los biomateriales cerámicos son introducidos en la década de los 70, cuando se comienzan a detectar fracasos en los biomateriales utilizados hasta el momento, como el acero, aleaciones de cobalto y polimetil metacrilato [1].

Aquellos utilizados en cirugía reconstructiva se agrupan en dos clases: los inertes, que fueron los primeros utilizados, como la alúmina y la zirconia, y los bioactivos. Las biocerámicas inertes tienen poca o nula influencia sobre los tejidos vivos que las rodean, ya que su cinética de reacción es muy lenta. Esto a simple vista se puede considerar su principal ventaja, ya que garantiza la biocompatibilidad con el tejido vivo.

Por otra parte, las cerámicas bioactivas tienen cinéticas de reacción rápidas, lo cual permite que, en contacto con fluidos fisiológicos, reaccionen químicamente y produzcan hueso neoformado[2]. Por lo tanto, las biocerámicas se consideran unos biomateriales ideales, debido a su biocompatibilidad y osteointegración, y además son los materiales más parecidos al componente mineral óseo [1].

“La biocompatibilidad se define como una condición que todo biomaterial debe cumplir, y que consiste en que este no sólo ha de evitar producir efectos no deseados, sino también ha de inducir una respuesta adecuada por parte del organismo para poder así desempeñar una función de la manera más apropiada posible” [4].

Actualmente, las aplicaciones biomédicas de estos materiales abarcan un amplio rango de sistemas para liberación de fármacos y genes, la ingeniería de tejidos, la terapia celular o los sistemas de diagnóstico, entre otros [4].

Las matrices cerámicas son de naturaleza química muy variable:

- biocerámicas cristalinas, como los fosfatos de calcio
- biocerámicas amorfas, como los vidrios bioactivos
- vitrocerámicas bioactivas
- cementos de sales de calcio
- combinaciones de materiales bifásicos, como hidroxiapatita-biovidrio
- cerámicas híbridas bioactivas
- materiales mesoporosos ordenados de óxido de silicio [2]

Este trabajo se va a centrar en el estudio de los materiales mesoporosos ordenados de óxido de silicio, su síntesis y utilización como matrices de liberación de fármacos para distintas aplicaciones biomédicas.

La primera síntesis de un material mesoporoso ordenado fue patentada en el año 1969, aunque la estructura, por falta de análisis, no fue reconocida hasta 1992, cuando los investigadores de la compañía Mobil Oil Co. sintetizaron y describieron la estructura de la familia de materiales mesoestructurados de base silícea KSW-n y M41S [4].

A partir de ese momento, la síntesis y aplicaciones de los materiales mesoporosos ha recibido mucha atención, especialmente el MCM-41, que ha sido el más estudiado [9].

Fue en 2001 cuando estos materiales fueron propuestos por primera vez como sistemas de liberación controlada de fármacos.

Su estructura porosa ordenada, tamaño de poro homogéneo y elevada superficie específica les confiere gran capacidad de adsorción de biomoléculas. Además, en su superficie existen grupos silanol susceptibles de reaccionar químicamente con moléculas orgánicas en un proceso denominado **funcionalización**, que, además de mejorar la biocompatibilidad, permite controlar la interacción biomolécula-matriz y así modular los procesos de adsorción y liberación de fármacos [4].

## **OBJETIVOS**

El principal objetivo de este trabajo es la comprensión de las matrices silíceas, su síntesis y numerosas aplicaciones biomédicas, algunas de las cuales se explicarán a continuación.

Los sistemas más ampliamente utilizados para la liberación controlada de fármacos han sido los poliméricos, sin embargo, se ha demostrado que la degradación in vivo de estos, que es su mecanismo para liberar fármacos, puede originar una respuesta inflamatoria que interfiere con la terapia deseada [10].

Estudios más recientes han mostrado que las matrices silíceas obtenidas por el método sol-gel presentan muchas ventajas con respecto a los polímeros, como son: mayor estabilidad química y mecánica de la sílice, posibilidad de controlar su degradación, el medio acuoso biológicamente inerte que aportan los geles de sílice y la versatilidad y flexibilidad del proceso sol-gel [6].

Las matrices mesoporosas de sílice tienen distintas aplicaciones en cuanto a la liberación de fármacos:

### **1. Liberación de fármacos para prevención y tratamiento de infecciones**

A pesar de todas las ventajas que ofrecen las biocerámicas en cirugía ortopédica, tienen el inconveniente de que son susceptibles a las infecciones nosocomiales, con efectos potencialmente devastadores que en muchos de los casos llevan a la retirada del implante. Esto es debido a que los materiales ordenados de sílice tienen una elevada superficie específica fácilmente colonizable por microorganismos, siendo los más comunes *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* [4].

La aparición de las bacterias multirresistentes, junto con la formación de biofilms, lleva a la instauración de infecciones muy difíciles de manejar. Las estrategias para la prevención y tratamiento de estas infecciones son las siguientes:

#### **1.1. Diseño de superficies de implantes para disminuir la adhesión bacteriana, y como consecuencia, prevenir la formación de biofilms.**

Las primeras fases de la formación del biofilm son la adhesión de las bacterias y formación de micro-colonias, y estas son gobernadas por las interacciones electrostáticas entre las bacterias

y la superficie del implante. En esta fase, la naturaleza electroquímica del biomaterial juega un papel muy importante.

Las siguientes etapas son mediadas por interacciones moleculares y celulares asociadas directamente con la expresión de genes específicos del biofilm y la secreción de una capa protectora de mucopolisacáridos, que hace que el biofilm sea extremadamente resistente a la antibioterapia y al sistema inmune del hospedador [3].

Una de las estrategias más novedosas para prevenir la formación de biofilms es la zwitterionización de la superficie del biomaterial, que consiste en conseguir el mismo número de cargas positivas y negativas. Con esto se consigue formar una capa de hidratación alrededor de la superficie del biomaterial, que constituye una barrera física y energética, dificultando así la adsorción de proteínas no específicas, la adhesión de bacterias y la formación de biofilms.

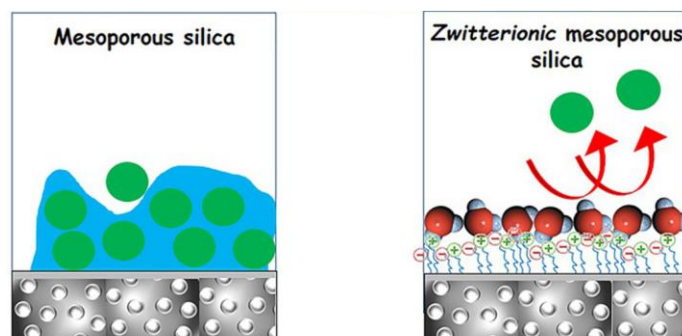


Figura 1. Comparación entre superficies mesoporosas zwitterion y no zwitterion.

M. Vallet-Regí et al. ha diseñado el primer material poroso de sílice con carácter zwitterion a pH fisiológico. La superficie de la biocerámica SBA-15 ha sido funcionalizada con (N-(2-aminoetil)-3-aminopropiltrimetoxisilano), (DAMO), obteniendo así el Zwitter-SBA15. El DAMO presenta dos grupos amino que a pH fisiológico se encuentran cargados, y que, en combinación con las cargas negativas de los silanoles, consigue el carácter zwitterion deseado.

Además, se puede llevar a cabo una doble funcionalización del SBA-15, cargando los poros del biomaterial con Cefalexina, que se libera de forma sostenida con el fin de destruir las bacterias que rodean a la biocerámica [5].

La funcionalización de la superficie del biomaterial no conlleva pérdida de su biocompatibilidad, ya que estudios in vitro han revelado que las superficies zwitterion permiten la adhesión, colonización y propagación de los osteoblastos. Esto se debe a que el tamaño de las bacterias ( $1\mu\text{m}$ ) es mucho menor que el de las células hospedadoras ( $50\mu\text{m}$ ) [3].

## 1.2. Matrices macroporosas 3D en ingeniería de tejidos óseos

En la obtención de las matrices 3D se combinan las dos propiedades principales de las biocerámicas mesoporosas, su bioactividad in vitro y la capacidad de liberación controlada de fármacos.

El reto actual consiste en diseñar y sintetizar unas estructuras tridimensionales macroporosas, que permitan la oxigenación del hueso, la vascularización y el aporte de nutrientes, facilitando así el proceso de regeneración, y que además sean mesoporosas para poder liberar antibióticos a nivel local y evitar la infección bacteriana.

Las cavidades de las estructuras mesoporosas detalladas anteriormente eran del tamaño de 2-50 nm, demasiado pequeñas en comparación con los poros de los huesos, que están en torno a 1-3500  $\mu\text{m}$ . Por lo tanto, la macroporosidad de estas matrices es esencial para permitir la penetración de las células óseas, su adherencia, crecimiento y proliferación, que hacen posible la vascularización del implante.

Para tratar infecciones es importante combinar distintos agentes antimicrobianos con liberación sostenida y controlable en el tiempo, para evitar la resistencia bacteriana.

Recientemente han sido diseñadas unas matrices 3D que contienen Rifampicina (RIF), Levofloxacino (LEVO) y Vancomicina (VAN). La matriz macro-mesoporosa está formada por una mezcla de un nanocompuesto biocerámico y Polivinil alcohol (PVA). Además, está cubierta por una capa de gelatin-glutaraldehído (GEL).

Los antibióticos están situados en los distintos compartimentos, para conseguir diferentes cinéticas de liberación. De esta manera, el LEVO está localizado en la estructura mesoporosa, la VAN en el polímero PVA y la RIF en la capa GEL.

La liberación temprana y rápida de RIF, seguida de una liberación sostenida y prolongada de VAN y LEVO, es la única manera de conseguir una total destrucción del biofilm de *Staphylococcus aureus* [6,8].

## 1.3. Nanopartículas mesoporosas de sílice

El diseño de nanopartículas (NP's) que transportan agentes antimicrobianos selectivamente hasta las bacterias o los biofilms supone un gran avance en el uso de fármacos de manera más eficaz y segura.

Los materiales mesoporosos de sílice son unos candidatos excelentes para llevar a cabo esta labor, en vista de que tienen la capacidad para cargar con una amplia gama de agentes antimicrobianos y la habilidad para liberarlos en la diana de una forma controlada, gracias a su alta versatilidad para ser modificados químicamente. Además, se ha demostrado su biocompatibilidad tanto in vitro como in vivo, y su estabilidad en diferentes medios biológicos [3].

Las matrices mesoporosas de sílice más utilizadas para este fin son: **MCM-41**, **SBA-15** y **MCM-48**.

Características de las NP's de sílice mesoporosa:

- Elevada área superficial ( $>1000 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$ ), que permite almacenar una gran cantidad de carga (35%)
- Elevado volumen de poro ( $>1 \text{ cm}^3\text{g}^{-1}$ ), gran porosidad y elevado orden del poro
- Tamaño de poro modificable con una estrecha distribución (2-10 nm)
- Buena estabilidad química y térmica
- No tóxicas y biocompatibles con el organismo humano
- Dos superficies funcionalizables (interna y externa)
- Fácilmente modificables morfológicamente (control en tamaño, poro y forma)
- Fácilmente sintetizables
- Mesoestructura estable [6]

En este campo de investigación se han conseguido los siguientes avances:

- Liberación controlada de antibióticos en función de las características texturales, químicas y estructurales de las matrices
- Liberación sostenida y prolongada de antibióticos de amplio espectro y liberación dependiente de pH
- Estabilidad de los agentes antimicrobianos en la estructura mesoporosa, que es capaz de mantener la actividad biológica del antibiótico una vez que este es liberado de la matriz
- Posibilidad de introducir diferentes agentes antimicrobianos en la estructura mesoporosa

Estudios recientes han demostrado que el control de la funcionalización de la superficie de las nanopartículas puede predecir el comportamiento que estas tienen sobre el biofilm.

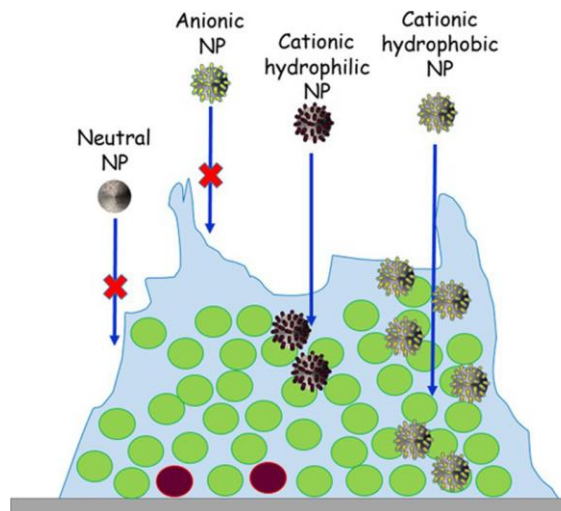


Figura 2. Comportamiento de las NP's según su funcionalización

De manera que, las nanopartículas neutras y aniónicas no pueden internalizarse en el biofilm, mientras que las nanopartículas cationicas pueden penetrar fácilmente.



También influye la hidrofobicidad de las nanopartículas, ya que las hidrofóbicas penetran más que las hidrofílicas.

Se ha diseñado un nanoantibiótico formado por nanopartículas mesoporosas de sílice (MSN's), funcionalizadas con DAMO, que confiere cargas positivas de los grupos amino a la superficie de la nanopartícula. Las nanopartículas están cargadas con Levofloxacino (LEVO), una fluoroquinolona.

Al comparar la actividad in vitro de MSN-LEVO y MSN-DAMO-LEVO, tras 90 minutos de incubación con un biofilm de S.aureus rodeado de una matriz de mucopolisacáridos, se pone de manifiesto que el MSN-LEVO, sin funcionalizar, no es capaz de destruir el biofilm.

Además, M.Vallet-Regi et al. ha diseñado un nuevo nanovehículo capaz de penetrar selectivamente en la pared celular de las bacterias E.coli, Gram-, gracias a los dendrímeros policatiónicos que tiene en su superficie [5].

El vehículo consiste en MSN's funcionalizadas en su superficie con polipropiliminina (PPI), un dendrímero de tercera generación (G3) y cargado con Levofloxacino en su estructura interna. En este caso, la carga positiva que aporta el dendrímero, debería permitir la penetración en las bacterias cuya pared está cargada negativamente, y una vez dentro, el Levofloxacino será liberado.

Los ensayos se han realizado con MSN-DAMO y MSN-G3, observando internalización únicamente en el segundo caso. Esto se debe a que el dendrímero presenta un mayor número de puntos de interacción que el MSN-DAMO [3].

## 2. Liberación de fármacos controlada por estímulos

Para conseguir un transporte de fármacos selectivo y una liberación eficaz, se han diseñado unas nanopuertas inteligentes que tapan los poros de la matriz, en los que se encuentra el fármaco, y que se abren únicamente en respuesta a un estímulo. Este puede ser interno, como cambios de pH, medios reductores y actividad enzimática, que depende de la homeostasis celular, o externo, como la luz, ultrasonidos o campos magnéticos. La ventaja de estos últimos es que pueden controlarse en tiempo y localización [7].

Además, estas nanopartículas se acumulan en las áreas tumorales por el efecto de permeación y retención aumentada, permitiendo tratamientos más eficientes y precisos, y con menos efectos no deseados [11].

Las nanopuertas pueden abrirse a través de 3 mecanismos:

- **Apertura por eliminación de un grupo bloqueante.** Se ancla un grupo químico que bloquea los poros de las MSNs, mediante enlaces reactivos sensibles a determinados estímulos. Por ejemplo, enlaces covalentes, grupos voluminosos (nanopartículas de oro), o moléculas fotoisomerizables.
- **Apertura mediante polímeros.** Estos envuelven la superficie externa de las nanopartículas, taponando sus poros. Ante ciertos estímulos, los polímeros se inflan, se enrollan o directamente se eliminan, permitiendo la salida de la carga de los poros.

- **Apertura mediante válvulas.** Estas válvulas consisten en una molécula fijada covalentemente al eje del poro y una molécula cíclica que actúa a modo de tapón. Cuando el tapón se disocia, el contenido del poro se libera [6].

### 2.1. Los estímulos internos pueden ser:

- **pH.** Se diseñan compuertas sensibles a pH, para que estas se abran selectivamente en aquellos tejidos que presenten un pH más bajo de lo normal, como pueden ser el tejido inflamado o el tumoral. De esta manera se consigue una liberación de fármacos como los citotóxicos únicamente en el tumor, evitando así los efectos secundarios que estos producen sobre las células sanas.
- **REDOX.** Se aprovechan las diferencias de potencial Redox que existen entre el espacio intra y extracelular, y entre el tejido normal y el tumoral, para liberar ciertos fármacos. La estrategia consiste en anclar compuertas voluminosas a través de enlaces disulfuro, que son sensibles a la acción del GSH o de las ROS.
- **Enzimas.** El cáncer y otras patologías cursan con una sobreexpresión y desregulación de numerosas enzimas, como las esterasas y las metaloproteinasas de matriz (MMP), entre otras.

Las MMP están sobreexpresadas particularmente en tumores de hígado y colon. Liu et al. ha descrito un nanovehículo para el transporte de Doxorubicina, formado por una albúmina de suero bovino como extremo, un péptido sustrato de la MMP como nexo y el ácido lactobiónico como fracción diana.

El nanovehículo se ha internalizado con éxito en células tumorales hepáticas inducidas en ratón, liberando la Doxorubicina de forma selectiva.

- **Glucosa.** Se pueden obtener MSNs que transporten insulina y sean sensibles a los niveles de glucosa en sangre, de manera que se puede llegar a liberar insulina únicamente en respuesta a un aumento de la glucemia.

Para ello se ha ensayado con MSNs funcionalizadas en su superficie con ácido borónico y con unas proteínas modificadas. Además de insulina, en la matriz de las MSNs también hay unas moléculas de AMP cíclico.

La liberación tanto de la insulina modificada como del AMPc es inducida por la introducción de sacáridos como la glucosa. Se trata de un sistema de doble liberación en el cual el descenso en los niveles de insulina podría ser superado por la distribución de AMPc al citosol de las células beta pancreáticas, para estimular la secreción de esta hormona [7].

### 2.2. Los estímulos externos más utilizados son:

- **Luz.** Las principales ventajas que tiene son la fácil aplicación desde el exterior del cuerpo y que se puede concentrar en el tejido de interés, aunque la penetración no es tan alta como en otros estímulos, por ejemplo el ultrasonido.

El grupo de investigación de M. Vallet-Regí ha diseñado unas MSN's cubiertas con un armazón de proteínas utilizando un conector fotosensible que se rompe en presencia de la luz UV a 366 nm. El armazón de proteínas ha sido funcionalizado en el exterior con transferrina, un ligando que interacciona con los receptores que se sobreexpresan en la superficie de las células cancerígenas. Una vez que las células cancerígenas reconocen e internalizan las

MSN's, la aplicación de luz UV desencadena la liberación del fármaco. Esta idea puede ser aplicable al tratamiento de tumores accesibles a la radiación, como los melanomas.

Sin embargo, la luz UV tiene dos principales limitaciones: puede ser tóxica debido a su elevada energía y presenta baja capacidad de penetración.

Como alternativa, se ha propuesto el uso de luz visible para la liberación del fármaco de las MSNs, porque esta es más segura y presenta mayor capacidad de penetración en el tejido que la luz UV. Esto consiste en cubrir las entradas del poro de MSN's con porfirinas que se unen a través de enlaces sensibles a especies reactivas de oxígeno. A pesar de que la luz visible es mucho más inocua que la UV, tiene la energía suficiente para producir estas especies reactivas de oxígeno que desencadenan la liberación de las porfirinas y como consecuencia del fármaco citotóxico. De esta manera se consigue un efecto antitumoral dual: liberación del fármaco citotóxico y generación de las especies reactivas de oxígeno que también atacan al tumor.

- **Temperatura.** Esta puede ser empleada como estímulo interno en ciertas patologías como tumores, inflamación o infecciones, que aumentan la temperatura hasta 4 o 5 °C. También se produce un aumento de temperatura cuando se aplican estímulos externos como el campo magnético. Los polímeros hidrosolubles con capacidad para responder a cambios de temperatura son la opción ideal para tapar los poros, el más empleado es el poli(N-isopropilacrilamida) (pNIPAM). Estos además contribuyen a mejorar la estabilidad coloidal de las MSNs.
- **Campos magnéticos.** Se han diseñado nuevos dispositivos de liberación por estímulos que están basados en el llamado "hot spot effect". Esto consiste en incluir un óxido de hierro superparamagnético en la matriz mesoporosa de sílice durante la síntesis de las MSNs, que ante la aplicación de un campo magnético alterno crea los "puntos de calor". La superficie de las nanopartículas se ha revestido con un co-polímero termosensible (pNIPAM) que tapa los poros y que sufre una transición de la forma lineal a la globular ante aumentos de temperatura (40-43°C). De esta manera, al generarse los "puntos calientes" al aplicar el campo magnético, el calor llega a la superficie, induciendo un cambio conformacional en el polímero y consecuentemente la liberación del fármaco que se encuentra embebido en la matriz mesoporosa.

La principal ventaja del "hot spot effect" es que se consigue la liberación del fármaco sin necesidad de aumentar de forma global la temperatura, sino de forma localizada [7,11].

- **Ultrasonidos.** Estos se han convertido en una de las opciones más prometedoras para el control de la liberación de fármacos en el campo de la biomedicina.

El grupo Vallet-Regí ha empezado a trabajar recientemente con MSN's cuyos poros están tapados con un co-polímero diseñado especialmente. Este posee un grupo acetal lábil que puede ser descompuesto por el ultrasonido, dando lugar a otra molécula con distinta hidrofobicidad. Este cambio de hidrofobicidad cambia la conformación del polímero y consecuentemente, abre la compuerta del poro para liberar la carga.

Se ha evaluado este sistema cargándolo con Doxorubicina, un anticancerígeno, y enfrentándolo a células cancerígenas de próstata. Antes del ultrasonido no se ha observado

ninguna toxicidad celular, lo que significa que los poros están correctamente tapados, por lo que no hay liberación prematura del fármaco. Una vez que las MSN's son expuestas al ultrasonido, las células cancerígenas son destruidas.

Los sistemas de liberación controlada de fármacos expuestos anteriormente suponen un gran avance en la investigación nanomédica, sin embargo, su traslado a la práctica clínica supone un reto debido a dos inconvenientes que aún quedan por resolverse: la estandarización de estos materiales con apropiadas síntesis y caracterización físico-química, y la homogeneización de la evaluación biológica. Ésta última es más difícil de conseguir, ya que la variación de los diseños experimentales para los estudios in vivo es demasiado amplia para obtener conclusiones válidas [7].

## **METODOLOGÍA**

### **1. Síntesis de materiales mesoporosos de sílice**

El método de síntesis requiere el empleo de moléculas de surfactante en disolución acuosa. Este puede ser catiónico, aniónico o no iónico. Cuando la concentración de surfactante alcanza la concentración micelar crítica, las moléculas de este forman unos agregados micelares, de forma y tamaño dependiente de factores como: naturaleza, composición química y concentración del surfactante, temperatura, pH de la disolución y concentración total salina.

A temperaturas moderadas, las micelas cilíndricas se agrupan en una fase hexagonal, que evoluciona hacia una fase cúbica y posteriormente a una estructura laminar, a medida que aumenta la concentración de surfactante.

Los oligómeros de silicato presentes en la disolución acuosa condensan entre sí alrededor de las micelas, que actúan como una plantilla.

Como resultado se obtiene un producto sólido que contiene una elevada cantidad de surfactante en su interior y que hay que eliminar [2].

### **Tipos de estructuras mesoporosas**

Se pueden obtener materiales mesoporosos con distintas topología, en función de las características de síntesis. Se diferencian tres grupos principales:

- Estructuras que contienen poros unidireccionales, como MCM-41 o SBA-15, ambas con empaquetamiento hexagonal de poros longitudinales.

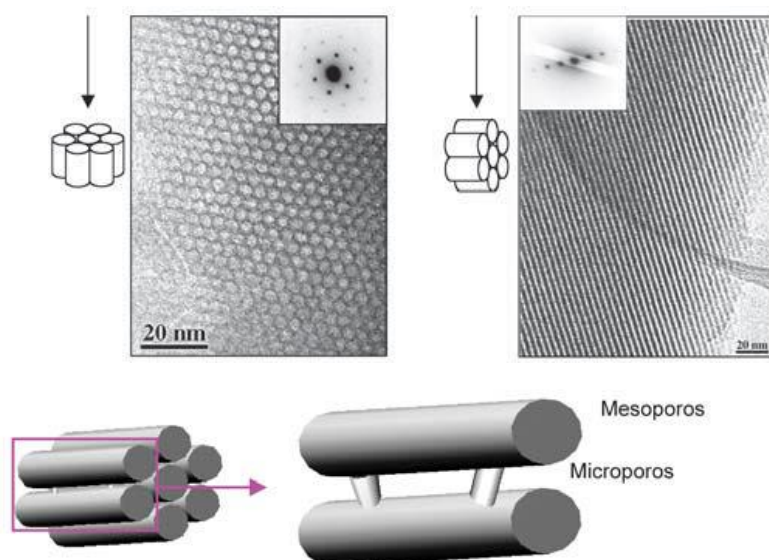


Figura 3. Se ilustra la disposición hexagonal de los poros longitudinales del sistema SBA-15

- Estructuras que poseen sistema de poros tridireccionales, formados por la intersección de poros longitudinales a lo largo de las tres direcciones del espacio. A este grupo pertenece el MCM-48.
- Estructuras constituidas por cavidades pseudoesféricas conectadas entre sí por distintas configuraciones de poros [2].

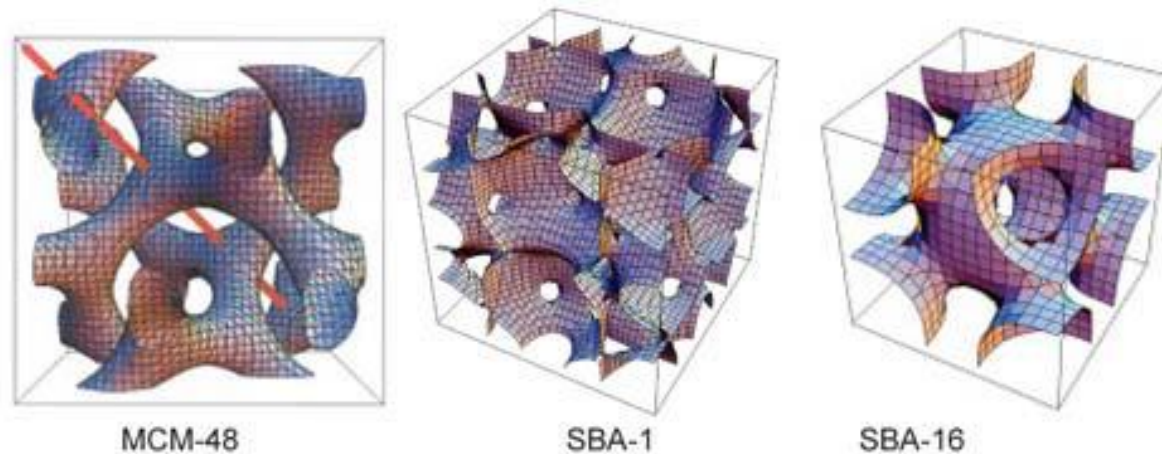


Figura 4. Diferentes estructuras mesoporosas

### 1.1. Síntesis de nanopartículas mesoporosas de sílice

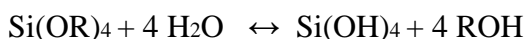
“Se combina el proceso de sol-gel, una técnica muy utilizada para preparar vidrios inorgánicos, con surfactantes catiónicos que permiten la obtención de estructuras ordenadas y monodispersas mediante la formación típica de micelas, que actuarán a modo de molde o plantilla y darán lugar a la formación de poros” [6].

El método sol-gel es una ruta de síntesis muy versátil. Se caracteriza por unas bajas temperaturas de reacción, en las que se permite incorporar especies orgánicas o incluso biológicas. Los materiales que se obtienen presentan elevada pureza y homogeneidad a escala molecular [4].

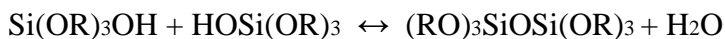
El procedimiento consiste en mezclar un precursor de silicato, generalmente el Tetraetilortosilicato (TEOS), con un surfactante catiónico, siendo el más utilizado el Bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB), a una temperatura comprendida entre 30 y 60°C, en medio básico (pH=11).

El proceso transcurre en 3 etapas:

1. **Hidrólisis del alcóxido.** Se obtiene una suspensión coloidal que contiene partículas de tamaño <100nm, a la vez que se forman grupos silanol (Si-OH) y se libera el alcohol correspondiente.



2. **Condensación.** Los grupos silanol polimerizan por condensación, formando estructuras tridimensionales unidas por enlaces siloxano (Si-O-Si), con eliminación de agua y alcohol concomitante. Se forma un gel, más o menos compacto y denso.



En esta fase, la presencia de las micelas formadas por el surfactante es crítica, ya que actúan a modo de plantilla. Estas micelas son unos agregados que se forman cuando la concentración de surfactante alcanza la concentración micelar crítica. Su forma y tamaño dependen esencialmente de la naturaleza y composición química de la molécula de surfactante, de su concentración y de la temperatura, aunque factores como el pH de la disolución y la concentración total salina también influyen en el proceso de agregación micelar [2].

El surfactante catiónico atrae las cargas negativas de las especies de sílice, las cuales se concentran alrededor de las micelas, formando una estructura de sílice tubular.

Las nanopartículas van aumentando de tamaño hasta que la carga neta negativa, introducida por las especies de sílice, es tan elevada que esta deja de crecer.

Las características de las nanopartículas, como tamaño, forma, regularidad, dependen de factores como:

- temperatura,
- velocidad de adición,
- agitación,
- cantidad de catalizador utilizado respecto a la de TEOS,

siendo este último factor el que más influye en el tamaño de las nanopartículas, seguido de la temperatura.

### 3. Eliminación del surfactante.

La última etapa en la síntesis consiste en eliminar el surfactante del interior de los poros. Esto se puede realizar de dos formas:

- Calcinación en aire: no se debe calentar la muestra a alta temperatura, ya que esta tiene alto porcentaje de materia orgánica (hasta 50% en peso), y puede arder o

entrar en ignición violenta. Para evitar que esto ocurra, se calienta primero en una corriente de gas inerte de N<sub>2</sub>, He o Ar, hasta descomponer las moléculas de tensoactivo en fragmentos pequeños volátiles. Una vez que esto ha ocurrido, se sustituye el gas inerte por aire u oxígeno para quemar el residuo orgánico que ha quedado en el sólido. Este tratamiento influye en la estabilidad de las paredes inorgánicas debido a la condensación de la matriz, pudiendo originar distorsiones y grietas por contracción de la estructura.

- **Métodos de extracción química.** Este es el único método que se puede llevar a cabo en caso de que el material tenga grupos orgánicos unidos covalentemente al esqueleto inorgánico de sílice. Se puede realizar un reflujo en alcohol acidulado con ácido clorhídrico, o un tratamiento con nitrato amónico. Sin embargo, estos métodos no consiguen eliminar por completo el surfactante y por ello suelen venir acompañados de una calcinación final en condiciones suaves [2,4].

## **2. Caracterización de los materiales mesoporosos de sílice**

La caracterización consiste en la determinación de los siguientes parámetros:

- Para determinar el tamaño de las nanopartículas se utiliza la dispersión de luz dinámica (DLS). Esta permite relacionar el desplazamiento aleatorio de las partículas con el diámetro hidrodinámico de estas. El valor que se obtiene es un promedio de la muestra, lo que permite estimar su polidispersidad.
- Un parámetro fundamental de los sólidos porosos es su superficie específica. Esto se estima utilizando el método de Brunauer, Emmett y Teller (BET), basado en la capacidad de los sólidos en absorber gases en su superficie. Resulta muy útil a la hora de estimar el grado de funcionalización que se ha dado a la superficie de los poros, comparando el volumen de los poros de las matrices funcionalizadas con las no funcionalizadas.
- Para estudiar la morfología interna mesoporosa se utiliza la difracción de rayos X. Esta técnica resulta útil para verificar la integridad de la estructura mesoporosa de las MNP's después de efectuar manipulaciones químicas sobre ellas que puedan erosionar su estructura.
- La microscopía de transmisión electrónica (TEM) permite visualizar la estructura y tamaño de una nanopartícula en concreto o de un conjunto de ellas [6].

## **3. Funcionalización de los materiales mesoporosos**

La superficie de los materiales mesoporosos de sílice está formada por grupos silanol, que interactúan con las moléculas de fármaco a través de fuerzas débiles, como de Van der Waals o enlaces de hidrógeno.

La funcionalización de los materiales mesoporosos de sílice es el pilar en el desarrollo de estos como sistemas de liberación controlada de fármacos. Este proceso consiste en insertar grupos orgánicos, bajo condiciones anhidras, en la matriz mesoporosa silíceo previamente sintetizada, con el objetivo de que estas funciones orgánicas interactúen con los fármacos

que se desean introducir en el poro. Por lo tanto, los grupos con los que se funcionaliza dependen del fármaco que se desea introducir.

Este proceso se puede llevar a cabo por 2 métodos: post-síntesis, por injerto, o durante la síntesis, por co-condensación.

El método del injerto o "grafting" es post-sintético y consiste en la reacción de los organosilanos del tipo  $(R'O)_3SiR$ , o menos frecuentemente, de los clorosilanos  $ClSiR_3$  o silazanes  $HN(SiR_3)_3$ , con los silanoles libres de la superficie de los poros. Las funciones orgánicas se localizan únicamente en el exterior de la estructura mesoporosa [8].

El método de co-condensación se basa en el proceso de sol-gel modificado, en este caso se va a adicionar un siloxano funcionalizado  $(R'O)_3SiR_3$ , junto con el precursor de sílice (TEOS), y en presencia de agentes que dirigen la estructuración durante el proceso de síntesis.

La diferencia entre ambos métodos es el grado máximo de modificación orgánica conseguible. En el método de co-condensación, los grupos orgánicos están anclados tanto en el interior como en el exterior del material mesoporoso, por eso, el grado de orden mesoscópico de los productos obtenidos disminuye al aumentar la concentración del precursor organosilíceo. Esta es la razón por la cual el contenido en funciones orgánicas de una matriz de sílice no suele superar 40 mol%, para evitar el desordenamiento de la matriz.

Por otra parte, en el método del grafting, las funciones orgánicas están ancladas únicamente en la superficie externa de la matriz, permitiendo un mayor grado de funcionalización, ya que no hay peligro de desordenamiento.

Como resultado de la funcionalización se obtienen matrices mesoporosas híbridas orgánicas-inorgánicas, que permiten interacciones con las moléculas de fármacos de tipo: atracciones electrostáticas, electrónicas o interacciones hidrofóbicas [6,8].

La funcionalización de las matrices mesoporosas silíceas permite además disminuir la lixiviación de la sílice al medio fisiológico y de esta manera mantener su concentración por debajo de los niveles tóxicos [4].

#### **4. Adsorción y liberación del fármaco**

La adsorción se realiza por impregnación de una disolución de fármaco en la matriz mesoporosa, comprimida o en polvo, manteniendo la temperatura constante hasta comprobar que se ha alcanzado el máximo de adsorción.

Una vez transcurrido este tiempo, se seca la muestra en estufa, a 37°C durante 24h. A continuación se analiza para ver qué cantidad de fármaco se ha adsorbido y además se vuelve a caracterizar el material para asegurar que no ha sufrido alteraciones en el proceso.

La liberación del fármaco se realiza introduciendo el polvo o comprimido en medio SBF y suero fisiológico, con agitación y en estufa a 37°C.

La instrumentación utilizada es HPLC, que consiste en un sistema de dos bombas, inyector automático, detector de diodos y software para el manejo del equipo.



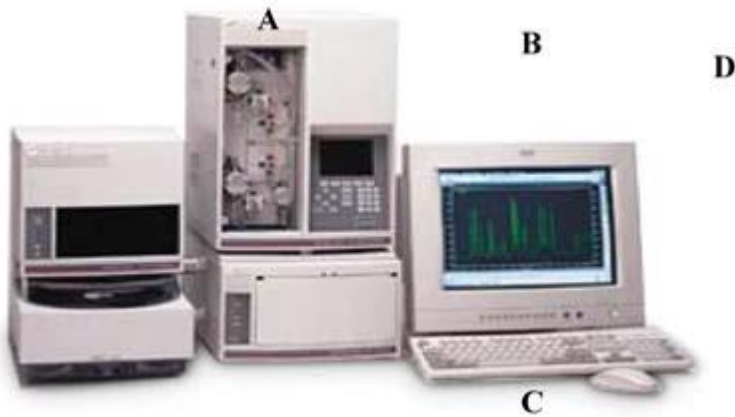


Figura 5. Instrumentación de HPLC para liberación de fármacos

La liberación de fármacos desde matrices mesoporosas de sílice sigue el modelo de Higuchi:  $% Q = k_H \cdot t^{1/2}$ , es decir, que son dependientes de la raíz del tiempo.

Uno de los parámetros que influyen en la liberación del fármaco es la funcionalización del material. Se consigue mayor retención del fármaco en los materiales que están funcionalizados que en los que no lo están. También tiene gran influencia el tamaño del poro, ya que la liberación es más rápida en aquellos en los que este es mayor [2].

## **CONCLUSIONES**

Las conclusiones que se pueden sacar de este trabajo de revisión bibliográfica son las siguientes:

- Las biocerámicas en general, y las matrices mesoporosas de sílice en particular, son materiales ideales para la regeneración de tejidos, ya que son bioactivos, y además se pueden funcionalizar, permitiendo la adsorción y liberación controlada de numerosos fármacos en su estructura.
- La utilización de estos biomateriales en terapéutica supondría un gran avance hacia una mayor seguridad y eficacia en el tratamiento, ya que son sistemas diseñados para liberar fármacos como antibióticos o antineoplásicos en un sitio o ante un estímulo específico, evitando así el efecto dañino que estos podrían tener sobre otras células del organismo.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Vallet Regi M. Biomateriales para sustitución y reparación de tejidos. Dep Química Inorgánica y Bioinorgánica Fac Farm Univ Complutense [Internet]. 2008; Available from: <http://www.aecientificos.es/empresas/aecientificos/documentos/Biomateriales.pdf>
2. Vallet M, Luis R-A, Villarejo D. Instituto De España Real Academia Nacional De Farmacia Monografía Xix Monografía Xix Monografía Xix Monografía Xix Monografía Xix.
3. Vallet-Regí M, Colilla M, Izquierdo-Barba I. Drug Delivery and Bone Infection [Internet]. 1st ed. Vol. 44, Enzymes. Elsevier Inc.; 2018. 35–59 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/bs.enz.2018.08.001>
4. Nieto A. Aplicaciones biomédicas de materiales mesoporosos de sílice y de carbón. KasUnibeCh [Internet]. 2011;150-153pp. Available from: [http://www.kas.unibe.ch/logo2013/Abstracts/PrimoCano\\_Carlos.pdf](http://www.kas.unibe.ch/logo2013/Abstracts/PrimoCano_Carlos.pdf)
5. Martínez-Carmona M, Gun'ko YK, Vallet-Regí M. Mesoporous silica materials as drug delivery: “the nightmare” of bacterial infection. *Pharmaceutics*. 2018;10(4):1–29.
6. Llinàs MC, Sánchez-garcía D. Nanopartículas de sílice preparadas. *Afinidad* LXXI. 2014;565:20–31.
7. Castillo RR, Lozano D, González B, Manzano M, Izquierdo-Barba I, Vallet-Regí M. Advances in mesoporous silica nanoparticles for targeted stimuli-responsive drug delivery: an update. *Expert Opin Drug Deliv* [Internet]. 2019;16(4):415–39. Available from: <https://doi.org/10.1080/17425247.2019.1598375>
8. Vallet-Regí M, Izquierdo-Barba I, Colilla M. Structure and functionalization of mesoporous bioceramics for bone tissue regeneration and local drug delivery. *Philos Trans R Soc A Math Phys Eng Sci*. 2012;370(1963):1400–21.
9. Vallet-Regí M, Rámila A, Del Real RP, Pérez-Pariante J. A new property of MCM-41: Drug delivery system. *Chem Mater*. 2001;13(2):308–11.
10. Radin S, El-Bassyouni G, Vresilovic EJ, Schepers E, Ducheyne P. In vivo tissue response to resorbable silica xerogels as controlled-release materials. *Biomaterials*. 2005;26(9):1043–52.
11. Guisasaola E, Baeza A, Talelli M, Arcos D, Moros M, De La Fuente JM, et al. Magnetic-Responsive Release Controlled by Hot Spot Effect. *Langmuir*. 2015;31(46):12777–82.