



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

CUAUTITLÁN

**ACTUALIZACIÓN BIBLIOGRÁFICA – HEMEROGRÁFICA DE SISTEMAS
NANOESTRUCTURADOS (NANOFÁRMACOS) FUNCIONALIZADOS
PARA USO EN BIOMEDICINA.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A:

Alma Rosa Hernández Martínez

Asesor: Dra. Eva María Molina Trinidad

Cuautitlán Izcalli, Estado de México,

2014



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

¿Cual es el problema de los humanos y el tamaño?

***Sólo porque algo sea muy, muy pequeño no
significa que no pueda ser importante.***

Frank a K, Men in Black

Huellas

*Una noche tuve un sueño.
Soñé que caminaba por la playa.
A través del firmamento se dibujaban escenas de mi vida.
En cada escena noté que había dos pares de pisadas en
la arena, un par pertenecía a mi y otro al Señor.*

***Cuando la última escena de mi vida relució ante mis ojos
miré hacia atrás para ver las pisadas en la arena.***

*Había solamente un juego de pisadas. Noté que había
sucedido durante la época más honda y triste de mi vida.*

***Esto me moletó y pregunté al Señor acerca de mi dilema.
Señor, tu me dijiste que una vez que hubiera yo decidido
seguirte, tu caminarías y hablarías conmigo toda la vida.***

*Pero he notado que durante las épocas más difíciles de mi
vida hay solamente un juego de pisadas. No comprendo por qué,
precisamente cuando más te necesitaba, me has abandonado.*

***El Señor me dijo al oído: “Mi hija amada, yo te quiero
mucho, y nunca te abandonaré en los tiempos de prueba y de
dolor.***

***Cuando tu viste solamente un par de pisadas era
entonces que yo***

te llevaba en mis Brazos.

***Toda una existencia para verme
Convertida en una buen Q. F. B.***

***Toda mi paciencia día a día
Para hacerme cada vez mejor
Voy a poderlo demostrar.***

***Tanto sacrificio, tanta rabia
Tanto tiempo para ver que soy
Que fuerza me empuja
Y me pone en liderato
De competición***

***Ser pasante no es igual
Que llegar a titularme***

***Un poco más, un poco más y soy
Química Farmacéutica Biologa.***

Señora Gorgonia Martínez Alcántara

***A ti que me diste tu vida, tu amor y tu espacio,
a ti que cargaste en tu vientre dolor y cansancio.***

***A ti que peleaste con uñas y dientes valiente en tu casa
y en cualquier lugar,
a ti rosa fresca de abril a ti mi fiel querubín.***

***A ti te dedico mis versos, mi ser, mis victorias a ti mis
respetos señora, señora, señora.***

***A ti mi guerrera invencible
a ti luchadora incansable,
a ti mi amiga constante, de todas las horas.***

***Tu nombre es un nombre común, como las margaritas
siempre mi poca presencia constante en mi mente y
para no hacer tanto alarde esa mujer de quien hablo es
linda mi amiga, gaviota,
su nombre es... mi madre***

Señora, señora de Denise De Kalafe

A mi padre:

Roberto Hernández Lima
A los Ángeles Dios se los lleva pronto.
Gracias por darme la vida

A mi esposo:

Gerardo Bernardo Rojas Pedraza
Gracias por ser mi compañero, mi amigo, mi esposo, mi pilar, mi
apoyo y por estar siempre conmigo en todo momento.
Nunca he sido tan feliz,
hoy quedo en deuda con el cielo mismo,
no hay un minuto que no esté agradecida
por este amor ,
que juntos tenemos y que ha crecido.
Toda mi vida depende de ti,
y eso es lo único que quise decir.
Como puedo pagarle al cielo,
por todo lo que tengo contigo.
Tú eres mi único y gran amor
Con esa manera singular de amar que tengo
Con esa forma particular que siempre siento,
Con esas locas manías mías de amarte siempre
A cada paso y a cada momento.

Con un mismo principio
con mil finales
tú junto a mí
yo junto a ti
una vida para recorrer
mil momentos para compartir
y un solo amor que vivir.

A mis hijas:

Dafne Yael Angélica Rojas Hernández

Victoria Denisse Rojas Hernández

**Que podre decirles, en el corto tiempo
En que se vive una ilusión
Que podre dejarles, tan pegado al alma
Que se quede allí en su corazón
Como pretendo enseñarles lo que es el mundo
Me falta también, pero vale la pena
Disfrutar cada día, lo que me han regalado
El privilegio de amarlas.**

**Digan lo que sientan, hagan lo que piensen
Den lo que tengan y no se arrepientan
Y si no llega lo que esperaban
No se conformen, jamás se detengan.**

**Pero sobre todas las cosas
Nunca se olviden de Dios.
Sera del tamaño de sus pensamientos
No se permitan fracasar
Lo más importante, son los sentimientos
Y lo que no pueden comprar
Y cuando llegue el momento
En que ustedes solas quisieran volar
Aunque no estemos juntas, estarán los recuerdos
Que con solo queriendo volverán a vivirlos.**

A mis hermanas:

Margarita

Por su amor.

Josefina

Por caminar siempre conmigo en mí sendero

Luz del Carmen

Por enseñarme a ser fuerte y valiente

A mi primo y esposa:

José de Jesús Juventino Martínez Sánchez

María Piedad Virginia Martínez Anell

Mi gratitud por siempre, por la gran ayuda económica a lo largo de mi carrera.

A una persona muy especial:

Constantina Hernández Juárez

*Dios me la Bendiga siempre y me la cuide mucho,
gracias por ayudarme a alcanzar mi meta.*

A mis suegros:

Sr. Angel Rojas Ramírez

Por ser un padre para mí.

Sra. Guadalupe Pedraza

Mi gratitud por su apoyo.

A la Señora:

Bertha Alicia Miranda Cetina

Gracias por su ayuda económica para finalizar mi carrera.

A mi Facultad de Estudios Superiores Cuautitlan:

***La ciencia no conoce país, porque el
conocimiento pertenece a la humanidad, y es la
antorcha que ilumina el mundo.***

Louis Pasteur

¡Orgullosamente UNAM!

A mi Jurado:

Dr. José Juan Escobar Chávez

M.I. José Frías Flores

Q. F. B. Claudia Pérez Garrido

M. en C. Ma. Zaida Urbán Morlán

***Mi agradecimiento por su
colaboración, para la realización de este
trabajo, por hacer posible mi superación.***

A mis Maestros(as):

***Al enseñar el maestro da parte de su ser,
hace que las cosas difíciles parezcan fáciles
y para todo problema tienen siempre una
solución.***

A mi asesora:

Dra. Eva María Molina Trinidad

¡Por ser excelente!

***Ser excelente es hacer las cosas,
no buscar razones para demostrar
que no se pueden hacer.***

***Ser excelente es comprender
que la vida no es algo que se nos da hecho,
sino que tenemos que producir
para alcanzar el éxito.***

***Ser excelente es trazarse un plan
y lograr los objetivos deseados
a pesar de todas las circunstancias.***

***Ser excelente es saber decir: "Me equivoqué"
y proponerse no cometer el mismo error.***

***Ser excelente es levantarse cada vez que se fracasa,
con un espíritu de aprendizaje y superación.***

***Ser excelente es reclamarse a sí mismo
el desarrollo pleno de nuestras potencialidades,
buscando incansablemente la realización.***

***Ser excelente es entender que a través
del privilegio diario de nuestro trabajo
podemos alcanzar la realización.***

***Ser excelente es ser creador de algo,
un sistema, un puesto, una empresa,
un hogar, una vida.***

***Se excelente es ejercer nuestra libertad
y ser responsable de cada una de nuestras acciones.***

***Ser excelente es levantar los ojos de la tierra,
elevantar el espíritu y soñar con lograr lo imposible.***

***Ser excelente es trascender
a nuestro tiempo legando
a las futuras generaciones
un mundo mejor.***

Miguel Angel Cornejo

A ti mi amiga(o):

***No puedo darte soluciones para todos los problemas de la vida,
ni tengo respuestas para tus dudas o temores,
pero puedo escucharte y compartirlo contigo.***

***No puedo cambiar tu pasado ni tu futuro,
pero cuando me necesites estaré junto a ti.***

***No puedo evitar que tropieces,
solamente puedo ofrecerte mi mano para que te sujetes y no caigas.***

***Tus alegrías, tus triunfos y tus éxitos.... no son míos,
pero disfruto sinceramente... cuando te veo feliz.***

***No juzgo las decisiones que tomas en la vida,
me limito a apoyarte, a estimularte y a ayudarte si me lo pides.***

***No puedo trazarte límites dentro de los cuales debes actuar,
pero sí te ofrezco el espacio.... necesario para crecer.***

***No puedo evitar tus sufrimientos cuando alguna pena te
parta el corazón, pero puedo llorar contigo y recoger
los pedazos para armarlo de nuevo.***

***No puedo decirte quien eres ni quien deberías ser,
solamente puedo quererte como eres y ser tu amiga.***

En estos días oré por ti...

Me puse a recordar a mis amistades más preciosas.

Soy una persona feliz: tengo más amigas(os) de lo que imaginaba.

Eso es lo que ellos me dicen, me lo demuestran.

Es lo que siento por todos ellas(os).

***Veo el brillo en sus ojos,
la sonrisa espontánea y la alegría que sienten al verme.***

***Y yo también siento paz y alegría cuando los veo y cuando hablamos,
sea en la alegría o sea en la serenidad, en estos días pensé en mis amigas
y amigos,
entre ellos, apareciste tú.***

No estabas arriba, ni abajo ni en medio.

No encabezabas ni concluías la lista.

No eras el número uno ni el número final.

***Lo que sé es que te destacabas por alguna cualidad que
transmitías y con la cual desde hace tiempo se ennoblece mi vida.***

***Dormir feliz... emanar vibraciones de amor.
Saber que estamos aquí de paso... mejorar las relaciones.***

Aprovechar las oportunidades, escuchar al corazón... acreditar la vida.

***Y tampoco tengo la pretensión de ser la primera, la segunda o la tercera
de tu lista.***

Basta que me quieras como amiga.

Entonces entendí que realmente somos amigas(os).

Hice lo que toda amiga:

Oré... y le agradecí a Dios por ti.

JORGE LUIS BORGES

Í N D I C E

	Páginas
ÍNDICE DE TABLAS.	I
ÍNDICE DE FIGURAS.	II
ABREVIATURAS.	III
RESUMEN.	IV
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN.	31
1.1. Objetivo General.	33
1.2. Objetivos Particulares.	33
1.3. Hipótesis.	33
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.	34
2.1. Antecedentes.	34
2.2. Historia.	37
2.3. Conceptos.	44
2.3.1. Dendrímeros.	44
2.3.2. Nanobiosensores.	45
2.3.3. Nanobiotecnología.	46
2.3.4. Nanocápsulas.	47
2.3.5. Nanociencia.	47
2.3.6. Nanodiagnóstico.	47
2.3.7. Nanodispositivos.	48
2.3.8. Nanoesferas.	48
2.3.9. Nanoherramientas.	48
2.3.10. Nanomateriales.	48
2.3.11. Nanomedicina.	49
2.3.12. Nanopartículas (NPs).	49
2.3.13. Nanotecnología.	51
2.3.14. Nanotubos de Carbono.	52
CAPÍTULO III. TIPOS DE SISTEMAS NANOESTRUCTURADOS	53
3.1. Nanocristales Dieléctricos.	53
3.2. NPs Semiconductoras.	53

3.3.	Nanoestructuras Conjugadas.	55
3.4.	Nanoestructuras Metálicas.	55
3.4.1.	Plasmones.	55
3.4.2.	NPs de Oro.	57
3.4.3.	NPs de Plata.	63
3.4.4.	NPs de Cobre.	64
3.5.	NPs Poliméricas.	65
3.6.	Quantum Dots.	68
3.7.	Nanotubos de Carbono.	69
3.8.	Nanomateriales.	71
3.9.	Sistemas Nanoestructurados Funcionalizados.	72
3.9.1.	Tipos de Funcionalización.	73
3.9.1.1.	Funcionalización Polimérica.	73
3.9.1.2.	Funcionalización Metálica.	77
CAPÍTULO IV.	MÉTODOS DE PREPARACIÓN DE SISTEMAS NANOESTRUCTURADOS.	86
4.1.	Método descrito por Turkevich et al.	89
4.2.	Método de Brust et al.	89
4.3.	Sonólisis.	90
4.4.	Evaporación Térmica, Solvotermal y Microondas.	92
4.4.1.	Evaporación Térmica.	92
4.4.2.	Síntesis Solvotermal.	93
4.4.3.	Irradiación por Microondas.	93
4.5.	Preparación por Polimerización.	93
4.5.1.	Polimerización en Emulsión.	93
4.5.2.	Polimerización en una fase acuosa continua.	95
4.5.2.1.	NPs de poli metacrilato de metilo.	95
4.5.2.2.	NPs de poli alquil cianoacrilato.	97
4.5.2.3.	NPs de copolímero acrílico.	100
4.5.2.4.	NPs de poliestireno.	101
4.5.2.5.	NPs de poli (vinil piridina).	101
4.5.2.6.	NPs de poli acroleína.	101

4.5.2.7.	NPs de poli glutaraldehído.	102
4.5.2.8.	NPs de Poli alquil metilidenemalonato.	103
4.6.	Polimerización Interfacial.	105
4.7.	Deposición de Solvente.	107
4.8.	Emulsificación- Evaporación de Solvente.	109
4.9.	Salting-Out.	110
4.10.	Emulsificación-Difusión.	110
4.11.	Microemulsión por Fusión.	111
4.12.	Producción de NPs Sólidas Lípidicas.	112
4.12.1.	Homogenización a Alta Presión.	113
4.13.	Producción de NPs por Proteínas.	115
4.13.1.	Producción de NPs de Albúmina en una Emulsión Oleosa.	115
4.13.2.	Producción de NPs de Gelatina en Emulsión Oleosa.	116
4.13.3.	Producción de NPs por Desolvatación de Macromoléculas.	118
4.14.	Producción de NPs de Carbohidratos.	121
4.15.	Preparación de Biovectores Supramoleculares.	123
4.16.	Preparación de NPs de Superficie Modificada.	126
4.17.	NPs de Hidrogel.	127
4.17.1.	NPs de Hidrogel a Base de Quitosan.	129
4.17.2.	NPs de Hidrogel a Base de Alginato.	132
4.17.3.	NPs de Hidrogel a Base de Alcohol Polivinílico.	133
4.17.4.	NPs de Hidrogel a Base de Óxido de Polietileno y Polietilen Amina.	133
4.17.5	NPs de Hidrogel a Base de Poli Vinil Pirrolidona.	134
CAPÍTULO V.	CARACTERIZACIÓN.	135
5.1.	Espectroscopía de Correlación de Fotones.	136
5.2.	Espectrofotometría UV-Visible.	137
5.3.	Microscopía Electrónica.	137
5.4.	Microscopía Electrónica de Transmisión (MET)	139
5.5.	Microscopía Electrónica de Barrido (MEB).	140
5.6.	Microscopía de Barrido de Fuerza Atómica.	141

5.7.	Microscopia de Barrido por Tunelaje (STM).	141
5.8.	Microscopía de Fuerza Atómica (AFM).	142
5.9.	Espectroscopía de Absorción de Rayos-X.	142
5.10.	Nanosizer:mediciones de tamaño de partícula.	143
5.11.	Micropolarímetro-Interferómetro.	144
5.12.	Método de Detección y Caracterización de NPs línea.	144
5.13.	Caracterización Química y Estructural de NPs por Microscopía Electrónica de Alta Resolución (HRTEM) y Microscopía Electrónica de Ángulo (HAADFSTEM).	146
CAPÍTULO VI.	TIPOS DE MUESTRAS A CARACTERIZAR.	148
6.1.	Características superficiales de las NPs.	148
6.2.	Tipos de materiales.	149
CAPÍTULO VII.	NANOPARTÍCULAS SÓLIDAS LIPÍDICAS Y SU VÍA DE ADMINISTRACIÓN.	152
7.1.	Estructura de las SLN.	153
7.2.	Propiedades de las SLN.	153
7.3.	Consideraciones generales para la elaboración de las SLN y NLC.	154
7.4.	Administración por vía oral y parenteral.	158
7.5.	Administración tópica.	158
CAPÍTULO VIII.	APLICACIONES MÉDICAS O BIOMÉDICAS.	160
8.1.	Ventajas del Uso de Nanoestructuras.	160
8.2.	Nanooncología.	164
8.3.	Soluciones Nanohemostásicas.	166
8.4.	Nanotecnología para Permear Barreras Biológicas.	167
8.5.	Nanotecnología en el Tratamiento de Enfermedades Ventilatorio-Respiratorias.	168
8.6.	Materiales Nanoestructurados para Mejores Implantes.	169
8.7.	Nanotecnología para Combatir Bacterias.	170

8.8.	Aplicaciones Biofarmacéuticas de los Dendrímeros.	171
8.9.	Transporte de Fármacos.	176
8.10.	Quemando tumores.	177
CAPÍTULO IX.	NANOSISTEMAS.	179
9.1.	Liposomas.	179
9.2.	Gotas Cuánticas.	180
9.3.	Nanopartículas.	180
9.4.	Nanoemulsiones.	181
9.5.	Dendrímeros.	181
CAPÍTULO X.	BIOMATERIALES.	183
10.1.	Microesferas.	183
10.1.1.	Preparación de Microesferas para Liberación de Fármacos.	184
10.1.2.	Propiedades Físicoquímicas de las Microesferas.	186
10.1.3.	Aplicaciones de las Microesfera.	187
CAPÍTULO XI.	NANODIAGNÓSTICO.	190
11.1.	Hacia los Nanomedicamentos Inteligentes.	191
11.2.	Fármacos Inteligentes.	192
CAPÍTULO XII.	IDENTIFICACIÓN.	195
CAPÍTULO XIII.	COMPARACIÓN CON MEDICAMENTOS TRADICIONALES.	197
13.1.	Nanotecnología Farmacéutica.	201
13.2.	Distintas Formas de Encapsular los Fármacos.	204
CAPÍTULO XIV	TERAPIA DIRIGIDA Y VÍAS DE ADMINISTRACIÓN.	205
14.1.	Liberación de Fármacos.	205
14.1.1.	Administración Oral.	209
14.1.2.	Administración Parenteral.	210
14.1.3.	Administración Oftálmica.	210
14.1.4.	Administración Pulmonar.	211
14.1.5.	Otras Rutas.	211
CAPÍTULO XV.	USOS.	214

15.1.	Usos ya Existentes.	214
15.2.	Usos a Futuro.	217
CAPÍTULO XVI.	CONCLUSIONES.	218
CAPÍTULO XVII.	RECOMENDACIONES.	220
CAPÍTULO XVIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	221

LISTA DE FÍGURAS

Número	Título de la Figura	Páginas
1	Guerrero sobre fondo de azul maya de Constantino Reyes - Valerio.	34
2	Dos ejemplos del uso de Nanopartículas de Oro entre 5-60 nm.	35
3	Proceso de Síntesis de un Dendrímero.	45
4	Imágenes generadas por ordenador de NPs.	46
5	Esquema de nano/micro-esferas nano/micro-cápsulas.	47
6	Diferentes formas de NPs.	50
7	NPs triangulares en donde se visualiza la modificación del campo eléctrico.	50
8	Representación de una nanoestrella.	51
9	NPs de tamaño de 20 nm que se pueden utilizar como sensor.	54
10	NPs de Oro de diferente tamaño.	58
11	Au Coloidal y NanoGold Fab'.	59
12	A) Oro unido a tioles, B) Oro unido a aminas.	59
13	Enlace covalente.	60
14	NP de oro.	61
15	Madroño.	64
16	Representación de los Puntos Cuánticos.	68
17	Representación de un Nanotubo.	70
18	Representación esquemática de la preparación de NPs por el Método de Polimerización en Emulsión.	95
19	La sustancia biológica activa, por ejemplo el fármaco o un antígeno, puede estar presente durante la polimerización o puede ser adicionado antes de producir las NPs vacías.	96
20	Representación esquemática de la preparación de NPs por el Método de Polimerización en fase acuosa continua (NP's de poli alquil cianoacrilato).	98

21	Mecanismo de Polimerización de poli alquil cianoacrilato.	98
22	Mecanismo de Polimerización del poli glutaraldehído.	102
23	Representación esquemática de la preparación de NPs por el Método de Polimerización en fase acuosa continua (NP's de polimetildenemalonato).	103
24	Representación esquemática de la preparación de NPs por el Método de Polimerización en una fase orgánica continúa.	105
25	Representación esquemática de la preparación de NPs por el Método de Polimerización interfacial (NP's de Poli (N γ -N ϵ -L-Lisin ditereftaloato).	106
26	Representación esquemática de la preparación de NPs por el Método de Polimerización interfacial (NP's de Poli alquil cianoacrilato).	106
27	Representación esquemática de la preparación de NPs por el Método de Deposición de Solvente.	108
28	Representación esquemática de la preparación de NPs por el Método de Evaporación de Solvente.	109
29	Representación esquemática de la preparación de NPs por el Método Salting-Out.	110
30	Representación esquemática de la preparación de NPs por el Método Emulsificación.	111
31	Representación esquemática de la preparación de NPs por el Método de Microemulsión por Fusión.	112
32	Representación esquemática de la preparación de SLN.	114
33	Representación esquemática de la preparación de NPs por Proteínas (Producción de NP's de albúmina en una emulsión oleosa).	116
34	Representación esquemática de la producción de NPs por Proteínas (NP's de gelatina en emulsión oleosa).	117
35	Representación esquemática de la preparación de NPs por Desolvatación de Macromoléculas.	119

36	Derivatización del polisacárido.	121
37	Representación esquemática de la producción de NPs de Carbohidratos.	122
38	Estructura esquemática de (a) una lipoproteína de baja densidad y de (b) un Bio-Vector Supramolecular.	123
39	Principio de la preparación de un Bio-Vector Supramolecular.	124
40	Representación esquemática de la preparación de Bio-Vectores supramoleculares.	126
41	NPs de hidrogel a base de quitosan preparadas por el Método Micelar Inverso.	131
42	Interacción de electrones primarios bombardeados a la muestra como los electrones secundarios.	138
43	Microscopio Electrónico de Transmisión de Alta Resolución.	140
44	Unidad de Microscopía Electrónica.	140
45	Microscopio Electrónico de Barrido de Emisión de Campo.	142
46	Esquema de un Sincrotrón. Espectroscopía de Absorción de Rayos-X.	143
47	Equipo Nanosizer que mide tamaño de partícula.	144
48	Representación esquemática de una Nanopartícula Lipídica Sólida (SLN).	153
49	Representación de los tipos de Nanomedicinas desarrollados, entre ellas los polímeros terapéuticos.	160
50	Posibles usos de las células madres.	163
51	Estudio sobre el efecto de Nanoesferas para quemar tumores de cáncer.	178
52	Niveles atómicos, molecular y nanoscópicos en comparación con tamaños virales, microbiológicos y celulares.	181
53	Esquema del proceso de preparación de microesferas.	185
54	Nanomedicamentos Inteligentes.	191

55	NPs de Oro empleadas en la Investigación del transporte de fármacos a la célula.	192
56	Esquema de un Nanosistema multifuncional capaz de identificar células cancerosas y liberar el citostático que contiene.	200
57	Problemas farmacocinéticos asociados a la administración de fármacos incluidos en nanosistemas.	201
58	Distintos tipos de agentes de transporte y liberación de moléculas, empleando nanoestructuras.	205
59	Liposomas.	207
60	Esquematización de la localización Activa y Pasiva de NPs.	209
61	Laboratorio Nacional de Nanotecnología.	220

LISTA DE TABLAS

Número	Título de la Tabla	Página
1	Métodos de caracterización de nanopartículas.	135
2	Polímeros más comúnmente utilizados para la modificación de superficie.	149
3	Productos Nanoparticulados existentes en el mercado, para la vía de administración tópica.	204
4	Usos de la Nanotecnología.	214
5	Aplicaciones de Nanotecnología ya existentes en el mercado.	217

LISTA DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Nombre
NEMs	Materiales Nanoestructurados
Au	Oro
Ag	Plata
Cu	Cobre
TiO ₂	Tiosulfato
AgNPs	Nanopartículas de Plata
CuNPs	Nanopartículas Cobre
NPs	Nanopartículas
USD	Dólares
nano	del griego enano
Js	Joules
FET	Transistor de Efecto de Campo
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
nm	nanómetro, 1 nm = 10 ⁻⁹ m
IC	Circuito Integrado
LED	Diodo Fotoluminiscente
MBE	Epitaxia por Haces Moleculares
STM	Microscopio de Escaneo por Tunelamiento o Microscopía Túnel de Barrido
AFM	Microscopio de Fuerza Atómica
FDA	Agencia de Alimentos y Medicamentos o Agencia de Drogas y Alimentos
CNTs	Nanotubos de Carbono
CNFET	Transistor con Nanotubitos
SET	Transistor de un Solo Electrón
NTs	Nanotubos
NT	Nanotubo
PCs	Puntos Cuánticos
ADDL	Ligandos difusibles derivados del péptido A β
CNPs	Nanopartículas de Carbono

EPA	Agencia del Medio Ambiente
I + D	Investigación y Desarrollo
NP	Nanopartícula
CdS	Sulfuro de Cadmio
CdSe	Selenuro de Cadmio
CdTe	Telenuro de Cadmio
ZnS	Sulfuro de Zinc
ZnSe	Selenuro de Zinc
AuNPs	Nanopartículas de Oro
PDT	Terapia Fotodinámica
NPMs	Nanopartícula Metálica
SERS	Espectroscopia Raman de Superficie
EAM	Método de Incrustación de Átomos
DM	Método de Dinámica Molecular
NRI	Resonancia Plasmónica de Superficie
ATP	Adenosin Trifosfato
TNF	Factor de Necrosis Tumoral
IR	Radiación Infrarroja
TNF-alfa	Factor de Necrosis Tumoral alfa
IL1-beta	Interleukin 1 beta
AgNO₃	Nitrato de Plata
UV/vis	Espectroscopía Ultravioleta-Visible
MET	Microscopía Electrónica de Transmisión
FTIR	Espectrometría Infrarroja con Transformada de Fourier
SPR	Resonancia Plasmónica de Superficie
STEM	Microscopía Electrónica de Barrido
PLA	Ácidos Polilácticos
PGA	Ácido Poliglicólico
PLGA	Copolímeros de Ácido Poliláctico-co-glicólico
µm	micrómetro o micra es una unidad de longitud
QDs	Quantums Dots
PbS	Sulfuro de Plomo

PCS	Espectroscopía de Correlación de Fotones
PFE	Poli-fenilenetilenos
TPa	Unidad de presión, Terapascal
MPa	Unidad de presión Megapascal
MOCVD	Depósito químico en Fase Vapor de Metalorgánicos
SEC o GPC	Cromatografía de Exclusión Molecular
RMN	Resonancia Magnética Molecular
IR	Espectrofotómetros de Rayos Infrarrojos
DRX	Difracción de rayos X
ATG-ATD	Análisis Térmico Diferencial–Termogravimetría
SEC	Cromatografía de Exclusión por Tamaño
GPC	Cromatografía de Exclusión Molecular
PFE	Polifenilenetilenos
DSC-TG	Termogravimetría (TG) y Calorimetría de Barrido Diferencial (DSC)
DLS	Dispersión de Luz Dinámica
PECA	Poli-isobutilcianoacrilato
H [AuCl₄]	Ácido Cloroáurico
BHE	Barrera Hematoencefálica
AuNPt	Nanopartículas de Oro de 10 nm Sintetizadas a través del Método descrito por Turkevich
NaBH₄	Borohidruro de Sodio
TOAB	Bromuro Tetraoctilamonio
Krad	Kilorads
DLVO	Derjaguin, Landau, Verwey y Overbeek
AuNPc	Nanopartículas de Oro de 5 nm Sintetizadas a través del Método descrito por Liu
Da	Daltons
NaOH	Hidróxido de Sodio
pH	Medida de acidez o alcalinidad de una disolución
v	Voltios

SLN	Nanopartículas Sólidas Lipídicas
NLC	Acarreadores Lipídicos Nanoestructurados
Bar	Unidad de presión
w/v	Porcentaje peso/volumen
rpm	Revoluciones por minuto
5-FU	5-fluoroacil
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
SMBVs	Biovectores Supramoleculares
TPP	Tripolifosfato
PEG	Poli etilen glicol
PBS	Buffer Salino de Fosfatos
PVA	Alcohol polivinílico
SB-PVA	Sulfobutíl - Alcohol polivinílico
PEO	Óxido de Polietileno
PEI	Polietilen Amina
PVP	Poli Vinil Pirrolidona
Kv	Kilovoltio
MEB	Microscopio Electrónico de Barrido
HRSEM	Alta Resolución o de Emisión de Campo
SPM	Microscopía de Prueba de Barrido
STM	Microscopía de Barrido por Tunelaje
AFM	Microscopía de Fuerza Atómica
XAS	Espectroscopía de Absorción de Rayos-X
XANES	Absorción de Rayos X Cerca de estructura de Borde (X-ray Absorption Near Edge Structure)
EXAFS	Rayos X tendido Absorción de Estructura Fina Extended x-ray Absorption Fine Structure
QELS	Dispersión de Luz Cuasi-elástica
SNOM	Microscopía Óptica Próxima de Campo
DLAP	Diodo Láser de Alta Potencia
kHz	Kilohercio
SNR	Señal de Ruido
HRTEM	Microscopía Electrónica de Alta Resolución

HAADFSTEM	Microscopía Electrónica de Ángulo
EDXS-STEM	Espectroscopía de Dispersión de Energía de Rayos X
INIFTA	Instituto de Investigaciones Fisicoquímicas Teóricas y Aplicadas
INTI	Instituto Nacional de Tecnología Industrial
ARN	Ácido Ribonucleico (ARN o RNA)
NLC	Acarreadores Lipídicos Nanoestructurados
PVA	Alcohol Polivinílico
PVP	Polivinilpirrolidona
ADNasas	Endonucleasa Digestiva Secretada por el Páncreas
SFM	Sistema Fagocítico Mononuclear
SERS	Espectroscopía de Raman
scFv	Anticuerpo Monocatenario, fragmento Fv Monocatenario
EA	Enfermedad de Alzheimer
Aβ	Proteína beta amiloide
TGF-β	Factores de Crecimiento Transformantes beta
IFN-γ	Interferón gamma o Interferón inmunitario o de tipo II
rIFN-γ	Interferón Recombinante gamma
CBS	Dendrímero Carbosilano
RNasas	Ribonucleasas
Ppm	Partes por millón
VIP	Péptido Intestinal Vasoactivo
Gd	Gadolinio
i.v.	vía intravenosa
RNM	Resonancia Nuclear Magnética
CsA	Polipéptido Cíclico compuesto por 11 aminoácidos
PAMAM	Poli (amidoamina)
PPI	Poli (propilenimina)

MNT	Nanotecnología Molecular
siRNA	ARN pequeño de interferencia siglas en inglés de <i>small interfering RNA</i>
EPOC	Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica
TGi	Terapia Genica invasiva
TAC	Tomografía Axial Computarizada
GI	Gastrointestinal
CONACYT	Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología

RESUMEN

En la actualidad las aplicaciones de la Nanotecnología forman parte de la práctica en la Medicina contemporánea.

La investigación en Nanomedicina es un recurso potencial en la aplicación de nuevas tecnologías y ha sido considerado en la clínica, ya que puede ofrecer el acceso a nuevos dispositivos y nanosistemas innovadores, basándose en el diseño de nanomateriales funcionales.

Por lo anteriormente dicho, el presente trabajo está relacionado directamente con la recopilación de la información Bibliográfica y Hemerográfica y de otra índole (páginas Web) con el fin de conocer más ampliamente el uso y desarrollo de nuevos fármacos con características especiales que beneficien en un futuro la calidad de vida de pacientes que presentan enfermedades crónico degenerativas y en especial para el tratamiento de cáncer.

I. INTRODUCCIÓN.

Los nuevos sistemas utilizados para diagnóstico en Medicina podrían ofrecer información crucial respecto al estado de tejidos y órganos dañados (como en el caso de tejidos cancerosos) de forma rápida y económica. Las ventajas de utilizar estos sistemas radican en considerar la mínima invasión de las células en los tejidos, así como el volumen y el tamaño de las muestras.

En la actualidad las aplicaciones de la Nanotecnología forman parte del desarrollo de nuevas tecnologías y posiblemente sea muy útil en la práctica biomédica.

De tal forma que la investigación en Nanomedicina podría beneficiar la forma y el mecanismo de administrar los fármacos en un futuro cercano y dado la importancia de su uso se han considerado diferentes estrategias en la clínica al ofrecer el acceso a nuevos dispositivos y nanosistemas innovadores, basándose en el diseño de nanomateriales funcionales.

Los materiales nanoestructurados (NEMs, por sus siglas en inglés) se encuentran en un intervalo de 1-100 nm e incluyen nanopartículas, nanocristales, nanoalambres, nanobarras, nanotubos, nanofibras, nanoespumas, etc.). Por sus características fisicoquímicas los NEMs pueden ser utilizados como semiconductores, por sus propiedades dieléctricas; como metales (por su contenido en: Au, Ag y Cu); como compuestos orgánicos e inorgánicos; en aleaciones, como nanofibras, biomateriales, biomoléculas, oligómeros y polímeros.

La ventaja de utilizar este tipo de materiales son las propiedades que presentan debido a su tamaño nanométrico, dentro de los cuales se pueden mencionar sus características ópticas, eléctricas, magnéticas y mecánicas. Aplicaciones de estos sistemas las tenemos: en la nanoterapia de cáncer y en matrices nanoestructuradas de TiO_2 para la eliminación de diversas bacterias.

La alta potencialidad de utilizar sistemas funcionalizados radica en las características de diseño como la permeabilidad de estos materiales que permiten atravesar membranas biológicas manifestando perfiles de liberación controlados, además de que pueden ser dirigidos y liberados en dianas terapéuticas específicas (moléculas que desempeñan una función esencial en una enfermedad).

Utilizar estos nuevos fármacos puede dar lugar a avances tecnológicos, beneficios a la sociedad y al medio ambiente. Los mecanismos de biodistribución en el organismo y sus posibles vías de eliminación ya están en estudio.

Reportes científicos indican que una de las desventajas del posible uso de estos materiales son los peligros relacionados con la toxicidad química, física y por la exposición a la inhalación, contacto y penetración cutánea, o por el tipo de administración (oral), asociados al tamaño de partícula, su superficie y su actividad, así como la agregación de las mismas.

Hoy en día son pocos los estudios asociados a la ecotoxicidad y su comportamiento en el ambiente (destino y transporte). De aquí la importancia al realizar esta investigación con el fin de dar a conocer el avance tecnológico relacionado con el diseño y desarrollo de nuevos fármacos que forma parte de nuestro plan de estudios encaminados a la actualización de profesionistas de la salud incluyendo de manera especial a los Químicos Farmacéuticos Biólogos (QFBs).

Por lo anteriormente descrito las nuevas estrategias en Nanomedicina terapéutica y degenerativa ayudarán a los profesionistas en salud involucrados a emprender acciones efectivas de forma oportuna e inocua para el paciente.

1.1. Objetivo General:

Llevar a cabo la investigación Bibliográfica y Hemerográfica relacionada con los Sistemas Nanoestructurados (nanofármacos) funcionalizados para uso en Biomedicina.

1.2. Objetivos Particulares:

- 1.- Definir el concepto de nanofármaco.
- 2.- Describir la función de los nanofármacos en el organismo.
- 3.- Describir los métodos de obtención de nanopartículas para funcionalización.
- 4.- Enfatizar los beneficios y usos de esta nueva tecnología en el desarrollo de nuevos nanofármacos en la actualidad.

1.3. Hipótesis:

Si la funcionalización de Sistemas Nanoestructurados con diferentes biomoléculas puede ser útil para fines Biomédicos entonces es importante informarse sobre el desarrollo de nuevos fármacos con características específicas de este tipo (por ejemplo los sistemas de liberación de fármacos).

II. MARCO TEÓRICO.

2.1. Antecedentes:

La Nanotecnología y los Mayas: es utilizada desde el siglo IX (Ver fig.1) por ejemplo el azul maya, es un pigmento fabricado por las culturas Maya y Azteca, está formado por partículas híbridas de material orgánico (índigo, derivado de las hojas del añil) e inorgánico (un filosilicato que se encuentra en algunas arcillas). Es una sustancia extremadamente resistente al paso del tiempo, a las inclemencias climáticas e incluso a la mayor parte de disolventes químicos y ácidos.



Figura 1. Guerrero sobre fondo de azul maya de Constantino Reyes-Valerio ^[1].

Los célebres ceramistas de Manises (Valencia), utilizaron la fórmula de los musulmanes andaluces con la cual obtenían el brillo metálico de sus piezas. Esta incluía nanopartículas de plata (AgNPs) y nanopartículas de cobre (CuNPs).

Con el acero de Damasco se han forjado, las espadas con características duras, resistentes y a la vez capaces de cortar, con su afiladísima hoja, un pelo en caída libre.

Otros estudios han reportado la existencia de nanotubos de carbono (CNTs) en su composición, los cuales están constituidos de nanopartículas (NPs) con propiedades de dureza extraordinarias.

En la actualidad tenemos las herramientas para ver lo que está ocurriendo a nivel nanométrico y desarrollar reglas predictivas, lo cual nos permite diseñar éstos materiales [1].

La copa de Lycurgus (Ver fig. 2) fue fabricada en torno al siglo IV A. C. en Roma. A la luz del día está representada en tonos verdes y opacos. Si se ilumina desde dentro adquiere tonos rojos y translúcidos. Estos cambios son debido a las Nanopartículas de Oro (AuNPs) y Nanopartículas de Plata (AgNPs) con que está elaborada [2].



Figura 2. Dos ejemplos del uso de Nanopartículas de Oro entre 5-60 nm. a) Copa de Lycurgus fabricada por los romanos (S, IV AD), se observa verde en luz reflejada y rojo en luz transmitida. b) Vitral de la Catedral de Milán, Italia, hecho por Niccolo da Varallo entre 1480-1486. El color rojo es producido por las Nanopartículas de Oro [3].

En la edad media la coloración del vidrio de las ventanas de las catedrales mostraba diferentes tonos que se obtenían calentando y enfriando el vidrio de forma controlada. Mediante este proceso se cambia el tamaño de los cristales a nivel nanométrico y por tanto su color [4]. (Ver fig. 2).

La Nanotecnología es una tecnología aplicada en diversos sectores de la industria y que contribuye a la creación de materiales, dispositivos y productos novedosos. De acuerdo con el área de aplicación, existen diferentes líneas de prototipos industriales respecto a la comercialización en esta disciplina.

Productos de primera generación, como pinturas, revestimientos y cosméticos, ya están en el mercado. Productos farmacéuticos, de diagnóstico y de aplicación relacionados con el almacenamiento de energía y la producción, se encuentran en fase de desarrollo.

Se calcula que las áreas de la nanoelectrónica (semiconductores, ultracapacitores, nanoalmacenamiento y nanosensores) ascenderán a alrededor de 450 mil millones USD para el año 2015 y las áreas de los nanomateriales (partículas, revestimientos y estructuras) representarán 450 mil millones USD en 2010 ^[5].

En el futuro, se desarrollarán nuevos productos de Nanotecnología aplicada basados en estructuras de escalas nanotecnológicas activas y en nanosistemas. En la actualidad, los desafíos de la Nanotecnología y los nanomateriales manufacturados se centran en nanoprodutos de primera generación. La tendencia al uso apropiado de novedosos nanosistemas debe estar dirigido al desarrollo de un marco regulatorio que permita la incorporación responsable de nanomateriales manufacturados a través de la evaluación científica y el manejo adecuado relacionado con riesgos potenciales.

La Nanotecnología (deriva del griego nano que significa enano) y representa el nivel de la materia a escalas de 1 a 100 nanómetros ^[6, 7]. El prefijo "nano": hace referencia a la milmillonésima parte de un metro (o de cualquier otra unidad de medida). Todos los materiales, dispositivos, instrumental, etc., que entren en esa escala, desde 5 a 50 ó 100 átomos es lo que conocemos como Nanotecnología, define las ciencias y técnicas que se aplican a nivel de nanoescala, medidas pequeñas "nanos" que permiten trabajar y manipular las estructuras moleculares, atómicas y subatómicas.

En síntesis nos lleva a fabricar materiales y máquinas a partir del reordenamiento de átomos y moléculas. Esta disciplina se introduce a partir de Richard Feynman ^[8], quién en 1959 propuso fabricar productos con base a un reordenamiento de átomos y moléculas, indicando que átomos individuales transportados a altas velocidades podrían consumir poca energía como en el caso de los nanotubos (NTs) dirigidos a blancos específicos utilizados como ordenadores genéticos ^[9].

2.2. Historia de la Nanotecnología.

Demócrito es el primer investigador en nanociencias, ya que, denominó el nombre átomo para las partes más pequeñas e indivisibles de la materia.

En 1900 Max Planck introduce 'Wirkungsquantum h', llamada Constante de Planck, iniciándose la Física Moderna y la Mecánica Cuántica, estudió también el tema de la energía de radiación, tratando de explicar el concepto de "catástrofe ultravioleta". La Constante de Planck tiene un valor aproximado de 6.6261×10^{-34} Js y completa la serie de las constantes atómicas fundamentales ^[10].

En 1905 Albert Einstein publica un artículo en el que calcula el diámetro de una molécula de azúcar en aproximadamente un nanómetro e interpreta el Efecto Fotoeléctrico con base a la Constante de Planck. Postula el dualismo onda-partícula de la radiación electromagnética introduciendo el concepto de fotón como partícula de la luz ^[10, 11].

En 1909 Paul Ehrlich desarrolló el Salvarsán (bala mágica), junto con su alumno Sahachiro Hata. Medicamento eficaz contra la sífilis y la tripanosomiasis. "El objetivo es (...) encontrar sustancias químicas con una afinidad especial por los organismos patógenos que, como balas mágicas, vayan directas en pos de sus objetivos..." ^[12].

Niels Bohr en 1913, publica su Modelo del Átomo. Da inicio a la mecánica Newtoniana: *natura non facit saltus* (la naturaleza no hace brincos). Basado en el átomo de Hidrógeno. El átomo propuesto por Niels Bohr consiste en un núcleo de Hidrógeno alrededor del cual gira en órbitas circulares un electrón, ocupando la órbita permitida de menor energía. Hoy en día es la percepción más común del átomo.

En 1925 Werner Heisenberg, Erwin Schrödinger, Paul Dirac y Max Born formulan la Teoría Cuántica (la *Quantentheorie*).

En 1926 Julius Lilienfeld, inventa y patenta el Transistor de Efecto de Campo (FET) que es la base de la computadora moderna. El transistor bipolar fue patentado hasta 1948 (erróneamente considerado como invento del transistor como tal) y realizado como prototipo de los avances en la tecnología de materiales, por Shockley, Bardeen y Brattain.

Paul Dirac en 1927, da una interpretación cuántica del efecto de la Emisión Estimulada. La historia del láser se remonta al año de 1916, cuando Albert Einstein estudió y predijo el fenómeno de emisión estimulada en los átomos ^[8].

En 1930 aparece la Microscopia Electrónica de Transmisión (MET).

Más tarde en 1931 Ernst Ruska y Max Knoll desarrollan el Microscopio Electrónico. Utilizando electrones. Un sistema de alto vacío permite su funcionamiento para obtener imágenes subnanométricas ^[8,9].

En 1950 Microscopia Electrónica de Barrido Watson y Crick dan cuenta de la estructura del Ácido Desoxirribonucleico (ADN).

Su impulso en la atención médica, se dio en 1953, cuando Watson y Crick propusieron al ADN, como la pieza clave en la regulación de todos los procesos químicos de los seres vivos, destacando la importancia de las moléculas en los procesos de la vida. La estructura del ADN es una pareja de largas cadenas de nucleótidos. La estructura de doble hélice del ADN fue lo esencial del descubrimiento. El ADN tiene una longitud de aproximadamente 2.5 nm, y algunas proteínas como la hemoglobina, tienen un diámetro de unos 5 nm [10, 13].

Se construye en 1958, el primer Circuito Integrado (IC) por Jack Kilby y Robert Noyce. Un circuito integrado es una pastilla (o "chip") muy delgada en la que se encuentran millones de dispositivos electrónicos interconectados [10].

En 1959 Richard Feynmann da a conocer que los principios de la Física no se pronuncian en contra de la posibilidad de maniobrar las cosas "átomo por átomo". La conferencia expuesta en 1965 "There's plenty of room at the bottom" es uno de los referentes teóricos de lo que en la actualidad la comunidad científica internacional cataloga como uno de los proyectos más innovadores y ambiciosos de la ciencia moderna [8, 11, 14, 15].

En 1960 Feynman, en su discurso de Premios Nobel, anticipa el interés que en el futuro tendrá la Nanotecnología.

En 1961, se patenta el Diodo Fotoluminiscente (LED) por Bob Biard y Gary Pittman, y el LÁSER Semiconductor (IBM, GE).

En 1962, Brian David Josephson propone una estructura base de dispositivos crionoelectrónicos (circuitos cuantomecánicos), que llevan su nombre como JOSEPHSON JUNCTION [10].

En 1964, Glenn Seaborg, premio Nobel de química, obtiene dos patentes en EUA sobre los elementos 95 Americium y 96 Curium. Un antecedente llamativo en cuanto a la obtención de la patente de elementos y materia nanoestructurada [11].

En 1966 se realiza la película "Viaje alucinante" que cuenta la travesía de unos científicos a través del cuerpo humano. Los científicos reducen su tamaño al de una partícula y se introducen en el interior del cuerpo de un investigador para destrozarse el tumor que le está matando [14].

En 1968, Alfred Cho y John Arthur inventan el proceso tecnológico de la Epitaxia por Haces Moleculares (MBE-Molecular Beam Epitaxy), que permite el crecimiento controlado de monocapas cristalinas sobre obleas [11].

Leo Esaki en 1969, propone y construye Pozos Cuánticos y Superredes en semiconductores y da inicio a la Microelectrónica Cuántica. Después en 1986 se fabrican los Puntos Cuánticos y los Alambres Cuánticos [10].

En 1970, se da a conocer la Resonancia Magnética. La asociación de radioisótopos a partículas poliméricas. Los estudios de liberación de fármacos y vacunas desarrolladas a partir de nanopartículas (NPs) poliméricas.

Para 1974 Norio Taniguchi concibe la palabra "Nanotecnología" refiriéndose al trabajo con materiales de menos de un micrón [8, 11].

La Nanociencia se desarrolla en la década de los 80s con Eric Drexler y sus aportaciones a la "Nanotecnología molecular", esto es, la construcción de nanomáquinas hechas de átomos y que son capaces de construir ellas mismas otros componentes moleculares [14, 16].

Con la aparición de la Microscopía Túnel de Barrido (STM) o de Fuerza Atómica (AFM), se hace posible primero observar los materiales a escala atómica [8, 10, 13], después manipular átomos individuales. Aparece la Tecnología ADN recombinante AFM.

Después en 1981, Heinrich Rohrer y Gerd Binnig crean el Rastertunnelmikroskop (STM-Microscopio de Escaneo por Tunelamiento), obteniendo imágenes de átomos individuales. Así se inicia la Nanotecnología con una herramienta auténtica [11].

Para 1985 Robert F. Curl Jr., Harold W. Kroto y Richard E. Smalley descubren la tercera modificación del Carbono (después del grafito y del diamante), una macromolécula de 60 átomos y un diámetro de aprox. 1 nm, el C₆₀ nombrado Fulereo ('Buckminster Fulleren', o bien Buckyball) [10, 14, 17].

En 1986, Gerd Binnig, Christoph Gerber y Calvin Quate construyen el primer Kraftmikroskop (AFM), el Microscopio de Fuerza Atómica. Así mismo, se estudian las NPs, que son más grandes que los átomos y de algunas moléculas. No obedecen a la química cuántica, ni a las leyes de la física clásica, teniendo características propias. En este año también se localizan Puntos Cuánticos (PCs), los Quantum Dots (QDs), por casualidad en un experimento de crecimiento epitaxial mal efectuado [10]. K. Eric Drexler en ese mismo año publica su libro "Engines of Creation", postulando una Nanotecnología Molecular [11].

Para 1989 se realiza la película "Cariño he encogido a los niños", una película que cuenta la historia de un científico que inventa una máquina que puede reducir el tamaño de las cosas utilizando láser [11, 14].

En 1990 se inicio del proyecto Genoma Humano primera aprobación de la Agencia de Drogas y Alimentos (FDA) para tratamiento con terapia génica. Primeros intentos de liberación de ADN a partir de NPs proteinómica. Verma, en una entrevista publicada en Time dice: "solo hay tres problemas en terapia génica: liberación, liberación y liberación".

En 1991, Sumio Iijima en Tsukuba, Japón, descubre los Nanotubos de Carbono (CNTs), nanobiosensores de excelentes propiedades mecánicas y eléctricas, macromoléculas largas con un diámetro de aprox. 1.3 nm [10, 11, 17]. Existen cerca de 3 mil productos generados con esta nanotecnología, la mayoría para usos industriales, aunque las investigaciones más avanzadas se registran en el campo de la Medicina y la Biología [10, 11, 17].

En 1993 Warren Robinett de la Universidad de Carolina del Norte y R. Stanley Williams de la Universidad de California en Los Ángeles desarrollan un sistema de realidad virtual conectado a un microscopio de exploración por túnel que permite al usuario ver y tocar los átomos y la Ric University establece el primer Laboratorio de Nanotecnología en EUA ^[11].

Leonard Adleman presenta en 1994, el primer prototipo de una Biocomputadora (Computadora ADN). Sugirió que el ADN podría ser usado para resolver problemas matemáticos complejos. Él soluciona con éxito el problema hamiltoniano de la trayectoria (entre 20 sitios).

Por otra parte Peter Shor inventa el primer algoritmo para una computadora cuántica, que es un dispositivo, en que datos en una red de sistemas cuantomecánicos de dos niveles (qubits) pueden ser almacenados y procesados. Dieter Bimberg construye el primer Laser de Puntos Cuánticos ^[10].

Curl, Kroto y Smalley en 1996, ganan el Premio Nobel de Química por descubrir las buckyballs. En 1986, en su libro "Engines of creation" introdujo las promesas y peligros de la manipulación molecular.

En 1997, se fabrica la guitarra más pequeña el mundo. Tiene el tamaño de una célula roja de sangre. Se establece la primera compañía específicamente Nanotecnológica en EUA. ^[11, 14].

En este mismo año, Wilhelm Bartlott descubre y patenta el Efecto Lotus, que consiste en una combinación de superhidrofobia y autolimpieza en base a superficies.

Nace en 1998, el Transistor con Nanotubitos (CNFET), creado por Cees Dekkr ^[8,9]. Se convierte un nanotubo de carbono en un nanolápiz que se puede utilizar para escribir ^[14].

En 1999, James Tour y Mark Reed realizan la operación de un Transistor de un Solo Electrón (SET-single electron transistor) ^[10,11].

Para el 2000 la administración de Clinton anuncia la Iniciativa Nacional en Nanotecnología, la cual, además de financiar ese campo de la investigación en EUA, también da un gran impulso a las expectativas que ésta genera ^[10].

Eigler et al., desarrollan el espejismo cuántico, colocando un átomo magnético en un extremo de un aro elíptico de átomos, genera un espejismo del mismo átomo hacia una dirección determinada (según sea enfocado): una posible alternativa para transmitir información sin cables ópticos y los laboratorios Lucent y Bell, en alianza con la Universidad de Oxford, crean el primer nanomotor de ADN ^[11].

En 2001, James Gimzewski entra en el libro de récords Guinness por haber inventado la calculadora más pequeña del mundo. Los primeros circuitos moleculares surgen en varios laboratorios a nivel mundial. Por otra parte Florian Bamberg logra unir dos Nanotubos (NTs) con un haz de electrones ^[10].

En Enero 2002: la película "El Viaje Fantástico" (basada en un libro del mismo nombre de Isaac Asimov) da a conocer una pequeña nave mucho más pequeña que una célula humana viajando a través de la corriente sanguínea de un paciente, a la caza de células enfermas para penetrar en sus membranas para hacer llegar dosis de fármacos. Las "naves" desarrolladas por los científicos llamadas NPs o nanocápsulas a base de NPs podrían ayudar a hacer realidad otra historia de ciencia ficción ^[19].

Aparece en 2003, el primer Circuito Integrado en base a NT ^[11].

En el 2004 se dio a conocer la versión terminada al 99% del Genoma Humano y en Marzo los investigadores de la Carnegie Mellon University crearon NPs capaces de limpiar sitios contaminados y eliminar elementos tóxicos contaminantes.

Rainer Blatt en 2005 logra la generación de 1 QuByte en una Computadora Cuántica. Se logra, transportar (no solamente desplazar) átomos con la ayuda de un STM. Y las propiedades Eléctricas de Nanotubos de Carbono (CNTs) son estudiados con interés ^[10].

Para 2006, se desarrollan mecanismos moleculares, nanobiosensores y biochips, transistores de un solo átomo, robots diminutos, células artificiales, y se elaboran para procesos industriales, como en la catálisis o los recubrimientos, lo que forma parte de la Nanotecnología y Nanobiotecnología. Se incrementa la Nanobiónica, que hace referencia a la preparación y aplicación técnica de moléculas biológicas funcionales y se desarrolla la Nanomedicina para uso en aplicaciones nanobiotecnológicas ^[10,11].

2.3. Conceptos.

Las nanotecnologías representan el diseño, la caracterización, la producción y la aplicación de estructuras, dispositivos y sistemas mediante el control de la forma y el tamaño a escala nanométrica ^[16, 20].

2.3.1. Dendrímeros: son moléculas poliméricas, versátiles y tridimensionales de síntesis química con forma bien definida, tamaño nanoscópico y con propiedades físico-químicas similares a las de las biomoléculas. Se utilizan en aplicaciones como catálisis a nanoescala, como sensores químicos, como micelas unimoleculares, en la simulación de la función de las enzimas, encapsulación de moléculas, reconocimiento molecular, agentes de diagnóstico y como vehículos para el transporte de genes y fármacos.

El término «dendrímero» procede del griego «dendron» que significa «árbol » o «rama», y el sufijo «mero», que significa «segmento» ^[21]. Otro nombre que reciben los dendrímeros es el de «arbores» ^[22], por su semejanza con las raíces de los árboles, con las dendritas de las neuronas, conocidos también como árboles moleculares ^[23, 24]. (Ver fig. 3)

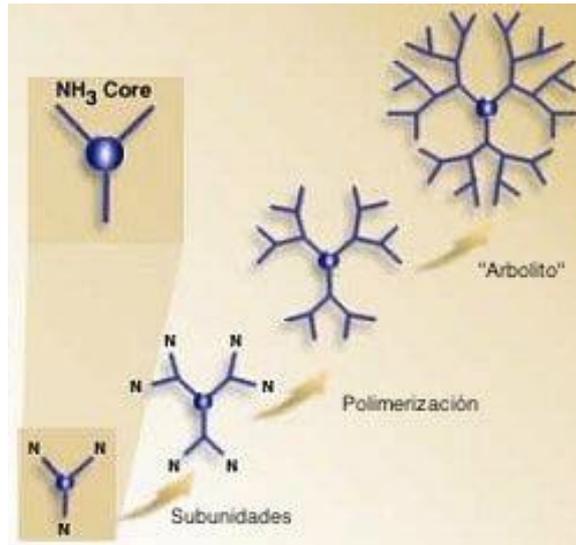


Figura 3. Proceso de Síntesis de un dendrímero [32].

Ejemplos de investigaciones en Nanomedicina es el dispositivo desarrollado por Tejai Desai, denominado micropancreas artificial que actúa como biorreactor en miniatura y permite el uso de las células Beta de cualquier donador, con liberación de insulina sin penetración de linfocitos y anticuerpos [25, 26], y la aplicación en la Odontología, al existir dentífricos con nanocristales de hidroxiapatita, que es el componente principal de la dentina [27].

2.3.2. Nanobiosensores: instrumentos para el diagnóstico prematuro de enfermedades de una forma selectiva y con un alto nivel de sensibilidad: PCs [28, 29], cristales fotónicos, micropalanca, resonadores fotónicos, CNTs y nanointerferómetro.

En aplicaciones *in vivo*, las NPs pueden emplearse para transportar moléculas de metal que se usan como agentes, obteniéndose mejores imágenes del interior del cuerpo humano mediante Resonancia Magnética, por ejemplo; imágenes de tumores de tamaño milimétrico.

Algunos de estos nanoagentes de contraste ya han sido aprobados para su utilización rutinaria en clínica como en imágenes ópticas, de rayos X y por ultrasonido.

La combinación de estos agentes de imagen con los dispositivos de diagnóstico es otra de las líneas de investigación en nanodiagnóstico. Las NPs se pueden emplear, para el diagnóstico precoz de la enfermedad de Alzheimer (EA), mediante la detección del ligando ADDL (ligandos difusibles derivados del péptido A β), biomarcador específico de dicha enfermedad que aparece en sus primeros estadios [28]. En la figura 4, se da un ejemplo de un biosensor.

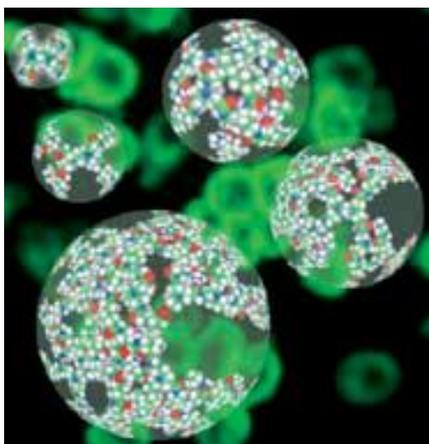


Figura 4. Imágenes generadas por ordenador de Nanopartículas. Imagen cortesía del Centro Nacional de Nanotecnología Biológica (Center for Biologic Nanotechnology), Universidad de Michigan-Ann Arbor [23].

2.3.3. Nanobiotecnología: es la aplicación de la Nanotecnología en las ciencias Biomédicas y Farmacéuticas, así como en el desarrollo de nuevos equipos para el estudio fundamental de estos materiales que interactúan con el cuerpo a una escala sub-celular con un alto grado de especificidad [30].

Hace referencia al desarrollo de nanoherramientas para manipular células, individuales o en grupos de fenotipo común, mediante la interacción específica con los propios nanoobjetos naturales de las células (receptores, partes del citoesqueleto, orgánulos específicos y compartimentos nucleares, entre otros). Por ejemplo el desarrollo de nanopinzas y herramientas quirúrgicas de pequeño tamaño que permitirían localizar, destruir o reparar células dañadas [25, 28, 31].

2.3.4. Nanocápsulas: son sistemas vesiculares en los que el fármaco es vehiculizado en la cavidad interior; el sistema consiste en un núcleo líquido rodeado por una membrana polimérica, en donde las sustancias activas se disuelven en el núcleo interno, también pueden ser adsorbidas a la superficie de la cápsula [32]. En la figura 5 se da una muestra de una nanocápsula.

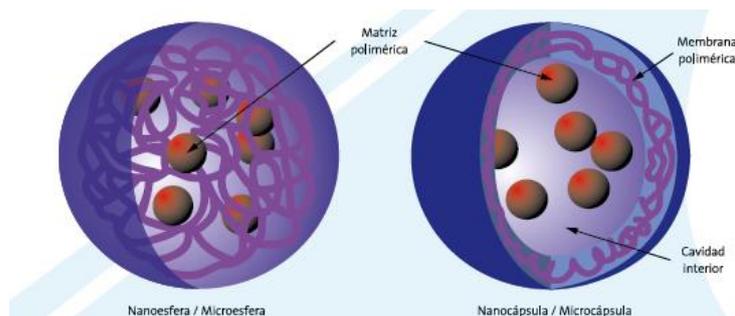


Figura 5. Esquema de nano/micro-esferas y nano/micro-cápsulas [33].

2.3.5. Nanociencia: es un área de la ciencia multidisciplinaria que involucra el conocimiento de los procesos biológicos, químicos y físicos a nivel nanomolecular [8, 17, 20, 25,34].

2.3.6. Nanodiagnóstico: es el desarrollo de sistemas de análisis y de imagen para detectar una enfermedad o un mal funcionamiento celular, los nanosistemas de liberación de fármacos transportan los medicamentos sólo a las células o zonas afectadas porque así el tratamiento será más efectivo y con menos efectos secundarios. Forma parte de la medicina regenerativa cuya función es reparar o reemplazar tejidos y órganos dañados aplicando herramientas nanobiotecnológicas.

Se consideran dos grandes ámbitos de aplicación de las nanotecnologías al diagnóstico, el diagnóstico *in vitro* y el diagnóstico *in vivo* [25].

2.3.7. Nanodispositivos: dispositivos a nanoescala, utilizados para la microelectrónica y la optoelectrónica, se encuentran en la interfaz con biotecnología, y pueden ser útiles en los sistemas biológicos como por ejemplo como motores celulares.

2.3.8. Nanoesferas: dispositivos de tipo matricial, formadas por macromoléculas naturales, lípidos o polímeros sintéticos, cuyo principio activo se encuentra disperso en la matriz, donde los fármacos pueden ser absorbidos en la superficie de la esfera o encapsulada dentro de la partícula [17].

2.3.9. Nanoherramientas: herramientas y técnicas para sintetizar nanomateriales, manipular átomos y fabricar estructuras de dispositivos, para medir y caracterizar materiales y dispositivos a nanoescala [25].

2.3.10. Nanomateriales: son materiales con uno o más componentes que poseen una dimensión en el intervalo de 1 a 100 nm e incluyen NPs, nanofibras y NTs, materiales compuestos y superficies nanoestructuradas. Incluye NPs como un subconjunto de nanomateriales actualmente definidos como partículas individuales con un diámetro < 100 nm.

Los aglomerados de NPs pueden tener un diámetro superior a 100 nm se que pueden descomponer ante fuerzas mecánicas débiles o por solventes. Las nanofibras son nanopartículas (nanotubos) que poseen dos dimensiones < 100 nm aunque la tercera dimensión (axial) puede ser mucho más grande [35, 36, 37].

La Agencia del Medio Ambiente (EPA) de EUA ha clasificado los nanomateriales actuales en cuatro tipos:

Basados en Carbono.

Están compuestos mayoritariamente por Carbono y suelen adoptar formas como esferas huecas, elipsoides o tubos. Los nanomateriales de Carbono con forma elipsoidal o esférica se conocen como fullerenos, mientras que los cilindricos reciben el nombre de nanotubos.

Basados en Metales.

Estos incluyen PCs, AuNPs y AgNPs y óxidos metálicos como el dióxido de titanio.

Dendrímeros.

Son polímeros de tamaño nanométrico contruidos a partir de unidades ramificadas. La superficie de un dendrímero tiene numerosos extremos de cadena, que se pueden adaptar para desempeñar funciones químicas específicas (descritos en páginas anteriores).

Compuestos.

Los compuestos combinan las NPs con otras NPs o con materiales de mayor tamaño.

2.3.11. Nanomedicina: rama de la Nanotecnología aplicada en el campo de la salud, dirigida al diseño de las partículas, materiales y dispositivos nanométricos para su ingreso en la mayoría de las células (10 y 20 micras) sin activar ninguna respuesta inmunitaria e interactuar con los materiales biológicos de manera más directa, eficiente e incluso más precisa que los sistemas y fármacos utilizados, siendo capaces de acceder a áreas del cuerpo a las que ha sido difícil penetrar con las tecnologías actuales [30, 28]. Se utiliza para el diagnóstico, tratamiento, monitoreo y control de sistemas biológicos [38], y para la aplicación de técnicas que permitan el diseño de fármacos a nivel molecular, como el diseño de modernos fármacos capaces de llegar a las células específicas (dianas terapéuticas) como en el caso de las células de cáncer sin causar daño a las células sanas.

2.3.12. Nanopartículas: unidades más grandes que los átomos y las moléculas. Clasificándose en orgánicas o inorgánicas, un ejemplo de las inorgánicas es el Dióxido de titanio, que se utiliza para proteger los alimentos, otras son las AgNPs, que son utilizadas como agentes antimicrobianos en materiales en contacto con los alimentos.

Las NPs orgánicas se pueden utilizar para mejorar el valor nutritivo de los alimentos [35] y no obedecen a la química cuántica, ni a las leyes de la física clásica, teniendo características propias. Otros ejemplos de estas estructuras son los biosensores y las NPs con base en hierro utilizados en la funcionalización contra tejidos cancerosos [39].

Las NPs pueden tener varias formas como: esferas, barras, cubos, entre otras. Un ejemplo de NPs se muestra en la Figura 6. Reciben el nombre de fulerenos (CNP); son muy ligeros, poseen alta dureza, elasticidad y conductividad eléctrica, son pequeños instrumentos que pueden ingresar al interior del cuerpo humano. Reconocidos como sensores moleculares capaces de detectar y destruir células cancerígenas en sitios específicos como el cerebro [17, 34, 39, 40].

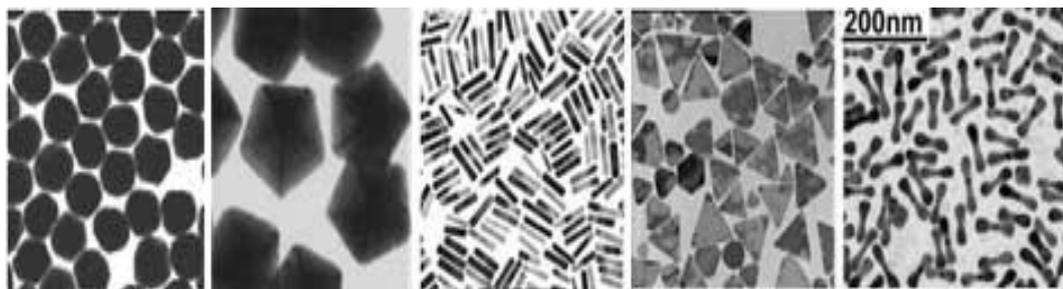


Figura 6. Diferentes formas de Nanopartículas [40].

Una de las propiedades que cambian con las diferentes formas geométricas es la distribución del campo eléctrico, como se puede observar en la Figura 7: en el caso de una NP triangular, las zonas en las que el campo eléctrico es más intenso (color rojo) son los vértices. El campo eléctrico se amplifica en distintas zonas para cada tipo de NP.

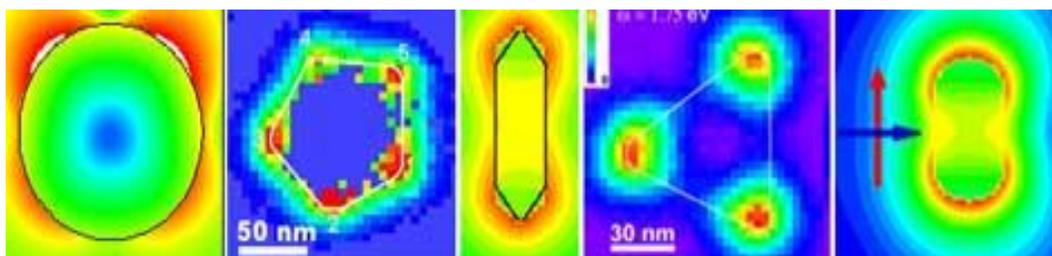


Figura 7. Nanopartículas triangulares en donde se visualiza la modificación del campo eléctrico [40].

Esta propiedad concentra el campo eléctrico de las distintas zonas de las NPs, se aprovecha para desarrollar sensores de alta sensibilidad, capaces de detectar incluso la presencia de una sola molécula. Considerando la concentración del campo eléctrico en zonas específicas de las NPs, se consigue amplificar las señales luminosas que proceden de las moléculas unidas a ellas y de esta forma aumentar la sensibilidad de su detección. Un tipo de NPs utilizada para detectar la presencia de una sola molécula son las nanoestrellas.

Se utilizan como métodos ópticos de detección de moléculas, es decir, métodos en los que cada tipo de molécula emite una luz particular (como si fuera una huella dactilar de la molécula), como en la utilización de nanoestrellas (conjunto de átomos en donde en el último nivel de energía se encuentran electrones apareados) como es el caso de las NPs fluorescentes donde la luz que se emite se amplifica. De esta forma, podemos detectar su presencia. Las nanoestrellas amplifican la señal óptica que es la 'huella dactilar' de las moléculas ^[40]. (Ver fig.8)

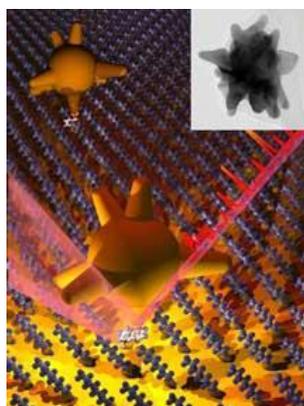


Figura 8. Representación de una nanoestrella [[]

2.3.13. Nanotecnología: hace referencia al estudio, diseño, creación, síntesis, manipulación, ubicación, precisión, medición, modelado o fabricación de materia inferior a 100 nm. Involucra sistemas funcionales basados en el uso de subunidades con propiedades específicas que dependen del tamaño de las subunidades individuales o de un sistema de ellas ^[25, 40, 41, 42, 43]. Se refiere también a la aplicación de materiales, aparatos y sistemas funcionales a través del control de la materia a escala nanométrica (átomos y moléculas), y a la explotación de fenómenos y propiedades de la materia en estas dimensiones

[19, 25]. Asimismo La National Nanotechnology Initiative Strategic, define **Nanotecnología** como: “La comprensión y control de la materia en dimensiones de 1 a 100 nm, donde fenómenos únicos conducen a nuevas aplicaciones. Un nanómetro es la billonésima parte del metro; una hoja de papel tiene aproximadamente 100,000 nm de espesor. Acompañando la ciencia de la nanoescala, ingeniería y tecnología, la Nanotecnología involucra la obtención de imágenes, medidas, modelado y manipulación de la materia a esta escala de longitud. A esta escala las propiedades físicas, químicas y biológicas de los materiales difieren de las correspondientes a átomos o moléculas y de la materia a granel. La I+D (Investigación y Desarrollo) en Nanotecnología está dirigida directamente al entendimiento y creación de materiales mejorados, aparatos y sistemas que explotan esas nuevas propiedades” [45].

2.3.14. Nanotubos de Carbono (CNTs): estructuras con precisión atómica, formados sólo de átomos de Carbono con un arreglo en panal (hexágonos y pentágonos).

III. TIPOS DE SISTEMAS NANOESTRUCTURADOS.

Los materiales nanoestructurados (NEMs, por siglas en inglés) representan los materiales cuyas dimensiones se encuentran en el intervalo de 1-100 nm. Incluyen NPs, nanocristales, nanoalambres, nanobarras, NTs, nanofibras, nanoespumas, entre otros.

Pueden ser semiconductores, dieléctricos, metales, orgánicos, inorgánicos, aleaciones, biomateriales, biomoléculas, oligómeros o polímeros. Otros sistemas nanoestructurados de dimensiones mayores son los cristales fotónicos [46].

3.1. Nanocristales Dieléctricos: son óxidos con una banda de energía muy ancha. Para su obtención es necesario utilizar altas energías de bombeo para producir emisiones débiles y la combinación de diversos componentes que permitan obtener emisores de luz de alta estabilidad [3].

3.2. Nanopartículas Semiconductoras: las partículas semiconductoras se fabrican a partir de la combinación de un precursor metálico con elementos pertenecientes a la familia del Oxígeno. Las NPs se forman de la mezcla de los elementos de la tabla periódica del grupo III con el grupo V, por ejemplo: Fosforo y Arsenuro de Indio; o de la composición de los grupos IV y VI, como son el Selenuro, Teluro y Sulfuro de plomo [15].

Las NPs semiconductoras presentan fotoluminiscencia, absorben luz (fotones) para después emitirla en una longitud de onda diferente. Esta propiedad se obtiene cuando las NPs son expuestas a la luz ultravioleta. La intensidad y el cambio en la longitud de onda de la luz irradiada sobre la partícula dan como resultado los espectros de absorción y emisión que constituyen una manifestación directa de los niveles de energía en los cuales los electrones se encuentran atrapados.

Entre más pequeñas sean las NPs, se necesitará una energía más alta para que una transición electrónica se lleve a cabo (absorción).

El regreso del electrón a su orbital producirá la emisión de un fotón con energía dentro del intervalo de luz visible, por lo que las soluciones irradiadas presentan diferentes colores muy intensos, lo que las hace útiles en el marcaje y detección biológica.

Por ejemplo, las NPs de Sulfuro de cadmio emiten en azul cuando es cercano a dos nanómetros, y en naranja cuando son mayores a 5 nm. Al poseer diferentes colores de emisión las NPs pueden ser utilizadas para obtener imágenes con distintas biomoléculas marcadas [15, 37, 47, 48].

Los semiconductores a escala nanométrica, en especial, los Sulfuros de los metales de transición, tienen aplicaciones como: sensores, filtros ópticos, celdas solares y sistemas foto catalíticos, entre otras [49] (Ver fig. 9).

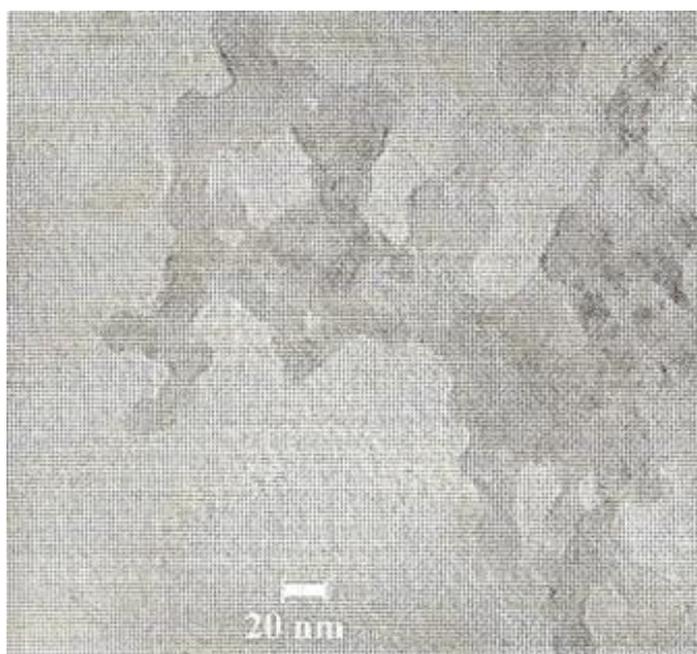


Figura 9. Nanopartículas de tamaño de 20 nm que se puede utilizar como sensor [50].

Los nanocristales semiconductores tienen propiedades electromagnéticas y dependen del tamaño de partícula y de la morfología de la misma. Entre los semiconductores se encuentran el CdS, CdSe, CdTe, ZnS y ZnSe [49]. El ZnS es uno de los más utilizados en dispositivos ópticos debido a su alto índice de refracción y alta transmisión en el intervalo del visible, además de que su uso representa un menor impacto ambiental [15, 50, 51].

3.3. Nanoestructuras Conjugadas: en la Nanotecnología aplicada a la biofotónica para el tratamiento de cáncer, se han desarrollado sistemas nanoestructurados como complejos unidos a biomoléculas por enlaces covalentes como péptidos, proteínas, ácidos nucleicos u otras moléculas pequeñas. En particular las AuNPs poseen propiedades químicas y físicas únicas que permiten una fácil conjugación con moléculas biológicas, lo cual les da actividad terapéutica como vector y marcador fluorescente. Estas propiedades hacen de ellas una herramienta potencialmente útil en la Terapia Fotodinámica (PDT), involucra la presencia simultánea de un fotosensibilizador, luz de una longitud de onda apropiada y la presencia de oxígeno para la eliminación del tejido tumoral ^[52].

3.4. Nanoestructuras Metálicas.

3.4.1 Plasmones: las nanopartículas metálicas (NPMs), tienen la habilidad de distribuir y absorber la luz incidente. Los efectos en las propiedades ópticas derivan de los efectos electrodinámicos y de la modificación del ambiente dieléctrico. Como resultado de la interacción entre las NPMs y la señal óptica se obtienen oscilaciones colectivas de electrones de superficie lo que genera bandas de resonancia conocidas como plasmones localizados o plasmones de superficie localizados. La longitud de onda o color a la que se obtiene dicha resonancia se le conoce como banda de absorción del plasmón que depende tanto del tamaño como de la forma de la NPs y es lo que da lugar a los diferentes cambios de color observados. Las nanoestructuras metálicas más conocidas son partículas esféricas, barras y películas con núcleo dieléctrico ^[53].

Existen otras estructuras como cubos, triángulos, estrellas y ovoides. En todos los casos, la banda de resonancia se observan en el infrarrojo cercano en comparación con las NPs esféricas cuya banda está centrada en la región verde del espectro electromagnético ^[15, 37].

Los plasmones producen en la interfase un campo eléctrico intensificado que a su vez intensifica varios procesos ópticos lineales y no lineales.

El campo eléctrico producido es utilizado como una interfase sensible a las interacciones ópticas y se convierte en una poderosa herramienta para el monitoreo óptico y para la formación de imágenes ópticas localizadas. Una de las aplicaciones bien establecidas es la Espectroscopía Raman de Superficie (SERS por sus siglas en inglés).

En este caso el Espectro Raman de un componente cercano a la superficie metálica se ve fuertemente amplificado. Se ha demostrado que es posible amplificar el campo hasta 11 000 veces más cuando las partículas presentan cierta aglomeración. Otros fenómenos que presentan amplificación son la Espectroscopía Infrarroja de Superficie, Espectroscopía de Fluorescencia y la Espectroscopía de Resonancia de Plasmones de Superficie. Todas estas técnicas son complementarias y son utilizadas en la detección de componentes químicos y bioquímicos a nivel de trazas [3].

Las NPMs como el Cu, Au, Ag y estructuras manométricas forman parte de la Nanotecnología [15, 54, 55]. Las NPs pueden ser usadas como bloques de construcción de NEMs [56, 57]. En este sentido es de vital importancia comprender los procesos que ocurren a nivel atómico durante la coalescencia de las NPs.

Los cálculos y simulación son importantes en el estudio de propiedades estructurales, pero son muy costosos. En el estudio de NPs los métodos semiempíricos como el Método de Incrustación de Átomos (EAM) [58] es muy eficiente en el estudio de los sistemas metálicos.

La simulación con el Método de Dinámica Molecular (DM) usando el potencial basado en el EAM es útil para estudiar los detalles a nivel atómico durante los procesos de coalescencia y para estudiar sus propiedades dinámicas del sistema bajo diferentes condiciones. El método de DM ha sido aplicado en la investigación de la coalescencia de AuNPs [59, 60], CuNPs [61] y AgNPs [62] y la deposición de las NPs sobre substratos [63].

La simulación realizada por Lewis y cols.^[59] en la investigación del proceso de coalescencia de dos clusters de Au formado por 249 átomos, mostró que la teoría macroscópica de la sinterización mediante difusión falla al tratar de describir la coalescencia de dos NPs debido a que no considera la naturaleza de las NPs a temperaturas bajas.

Para el caso de las cerámicas existen diferentes modelos desarrollados que describen la evolución de la sinterización de partículas de igual tamaño basados en en la velocidad de crecimiento ^[64], válido en las etapas iniciales de sinterización. Teniendo en cuenta la fuerte dependencia de las propiedades térmicas del tamaño de las NPs, suponemos que los procesos de coalescencia son sensibles al número de átomos en las NPs, a la estructura y a la energía de las mismas ^[65, 66].

3.4.2. Nanopartículas de Oro.

En el período de 1856 a 1857 Michael Faraday fue el primero en preparar Au coloidal mediante la reducción de Cloruro de oro con fósforo para obtener una solución color “rubí”. Faraday mostró mediante ensayos químicos que el Au ya no permanecía en forma iónica y que los reactantes que disolvían el metal eran capaces de eliminar el color.

Su conclusión fue que el Au era dispersado en el líquido de forma finamente dividida, y su presencia podía ser detectada mediante la opalescencia azulada cuando un intenso y estrecho haz de luz atravesaba el líquido ^[67].

El Au coloidal, conocido como “nanogold”, es una suspensión de partículas clasificadas de Oro en un líquido, generalmente agua. El líquido es de un color rojo intenso (para las partículas menos de 100 nm), o un color amarillento (para partículas más grandes). El color de las NPs hace referencia al tamaño de las mismas, el color rojo indica un tamaño de partícula menor.

NPs de tamaño mediano (90 nm) absorben luz de longitud de onda amplia (rojo) y cuando aglomeran, se agregan entre ellas para dar un color azul (Ver fig. 10). NPs muy pequeñas absorben luz de longitud de onda pequeña (azul), llegando a nuestros ojos el resto (rojo) y por eso se ven rojizas. Cuantas más pequeñas, más rojizas (siempre y cuando veamos la NP desde el lado opuesto al lado desde el que se ilumina) ^[40,65]. (Ver. Fig. 10)

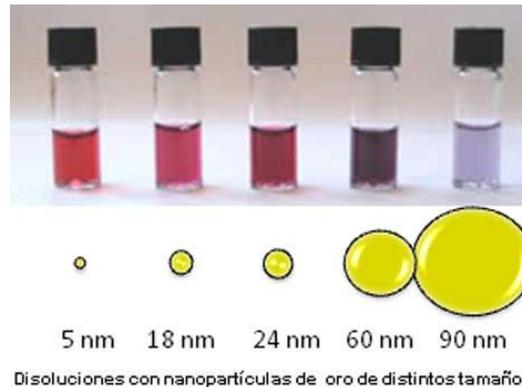


Figura 10. Nanopartículas de Oro de diferente tamaño ^[8,40].

En épocas antiguas, la síntesis del Au coloidal fue utilizada originalmente como método para pintar cristal. Desde 1850 se dio importancia científica al uso del Au con Michael Faraday. Debido a las características ópticas, electrónicas y moleculares de las AuNPs se pueden utilizar en las áreas de electrónica y nanotecnología ^[67]. En la figura 11 se puede ver las NPs unidas a anticuerpos monoclonales. Las NPs se pueden unir a anticuerpos monoclonales por enlace covalente, en forma de bisagra en posición opuesta al sitio de reconocimiento del antígeno ^[68].

Se pueden detectar de varias formas:

- Por microscopía electrónica
- Por microscopía óptica:
- Por tinción con Ag (autometalografía): WB, histoquímica
- Por SPR: resonancia plasmónica de superficie (NIR)

Por síntesis y conjugación a biomoléculas

Por detección de la cantidad mínima detectada respecto a la toxicidad hepática y renal (sitios de acumulación).

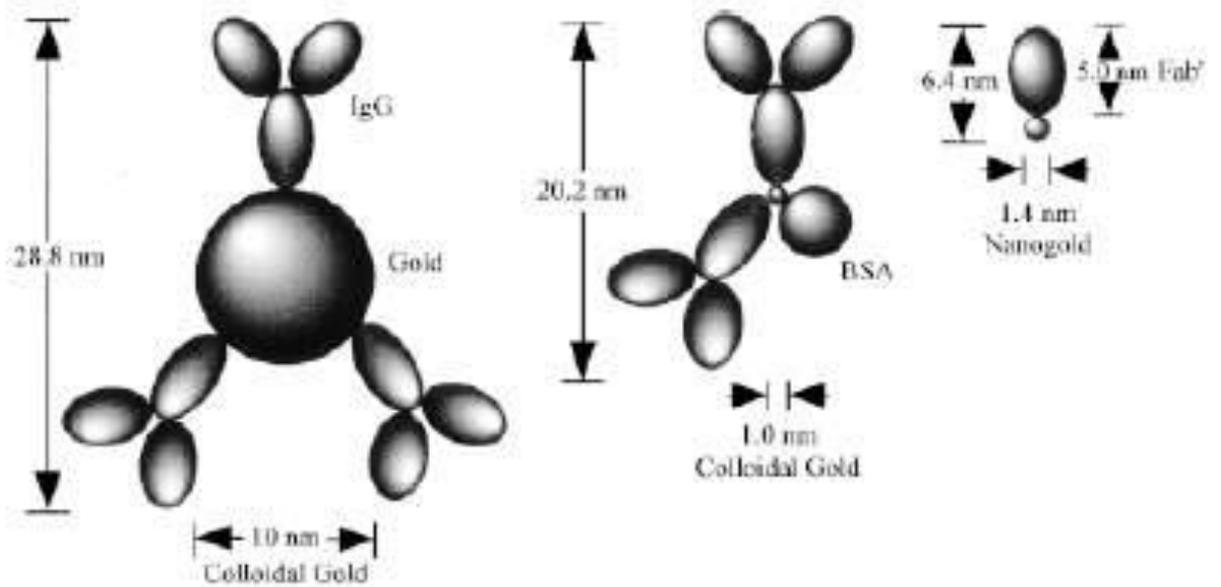


Figura 11. Au Coloidal y NanoGold Fab' [68].

Las AuNPs se pueden unir a proteínas, ADN, carbohidratos, ATP (Adenosin Trifosfato), y a lípidos. (Ver fig. 12 y 13).

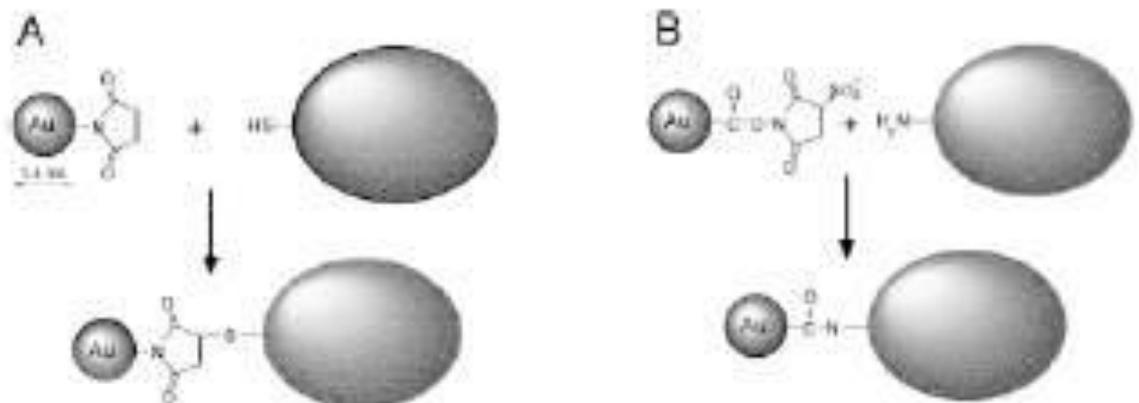


Figura 12. A) Oro unido a tioles, B) Oro unido a aminas [72].

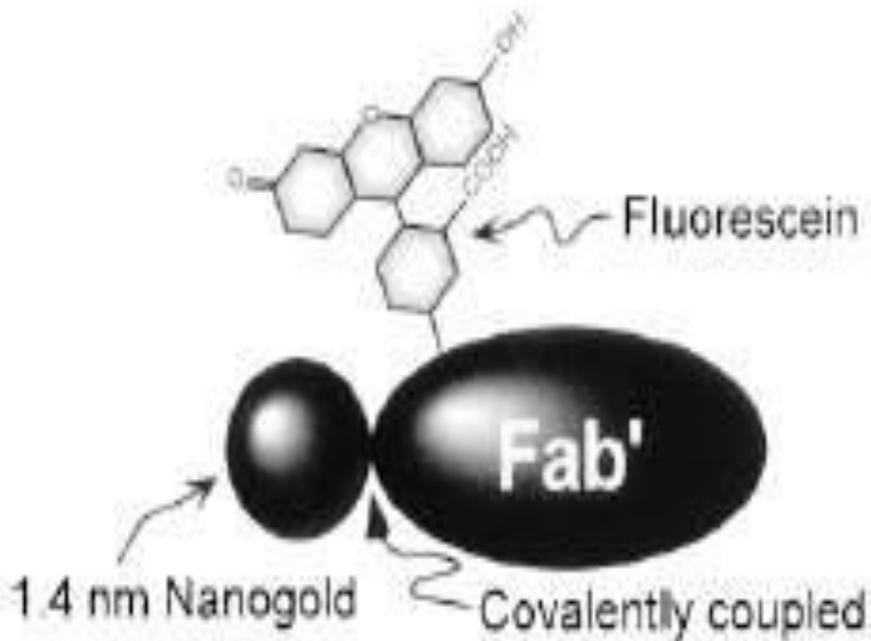


Figura 13. Enlace covalente de un anticuerpo monoclonal y una AuNPs ^[68].

Para uso terapéutico las AuNPs se utilizan como marcadores de anticuerpos. Una de las ventajas en su uso es que mejora la eficacia en la radioterapia dirigida (rayos X).

Además el Au coloidal es portador de fármacos anticancerosos (TNF factor de necrosis tumoral) ya que reduce la toxicidad de biomoléculas en el torrente sanguíneo al recubrirse de una capa acuosa y crear así un “efecto de enmascaramiento” de los fármacos.

Las AuNPs también se unen a antibióticos. Se utilizan en la terapia fotodinámica como nanoshell (Ac-Au absorbe energía de un láser o radiación infrarroja (IR) focalizada en el tejido blanco, aumentando la temperatura).

En el tratamiento de cáncer las AuNPs pueden detectar tumores de manera no invasiva y posteriormente destruirlo ^[68]. En la figura 14, se muestran AuNPs unidas a cadenas hidrocarbonadas.

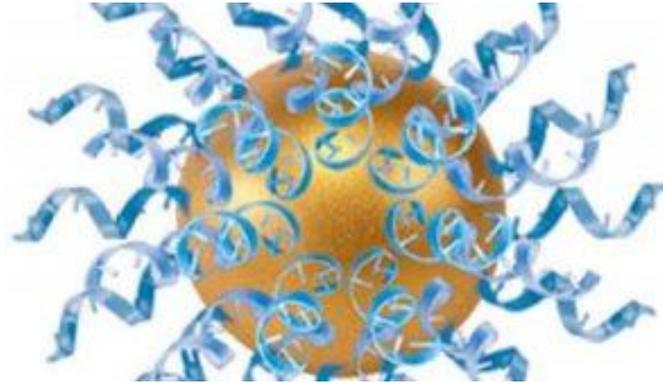


Figura 14. AuNPs unidas a cadenas hidrocarbonadas [69].

Según Shukla et. al., la biocompatibilidad de AuNPs y su destino dentro del compartimiento endocítico celular se da a nivel microscópico, para determinar la citotoxicidad e inmunogenicidad de las AuNPs frente a células macrófagas.

Se observó que las AuNPs no son tóxicas y no dan lugar a la secreción de citoquinas proinflamatorias TNF-alfa (factor de necrosis tumoral alfa) y IL1-beta (Interleukin 1 beta es liberada por los macrófagos, monocitos y células dendríticas en respuesta al factor de necrosis tumoral alfa), siendo, además, internalizadas por los cuerpos lisosomales dispuestos en forma perinuclear.

Estos resultados indican las propiedades no citotóxicas y no inmunogénicas de las AuNPs y su biocompatibilidad, comprobando de esta forma la importancia de su uso en Nanoimmunología, Nanobiotecnología y Nanomedicina.

La facilidad de síntesis y la multifuncionalidad del Au se mencionan por Grabar (1995) haciendo referencia a la preparación y caracterización de monocapas coloidales de Au.

Las AuNPs se pueden preparar fácilmente, obteniéndose sistemas coloidales monodispersos estables con un tamaño entre uno y ciento cincuenta nanómetros y una distribución de tamaño homogéneo.

Existen documentos en donde se mencionan diferentes preparaciones para la obtención de AuNPs utilizando diversas técnicas, donde hacen resaltar la diferencia en el tamaño, la forma y las propiedades físicas de las mismas. Algunos ejemplos de estas AuNPs son: nanoesferas, nanocilindros, nanocubiertas, nanojaulas, y NPs.

Las nanoesferas de Au de 2-100 nm de diámetro pueden ser obtenidas por reducción controlada de Cloruro de oro usando distintos agentes reductores. En 1857 Faraday fue el primero en preparar Au coloidal por reducción del Cloruro de oro con fósforo, atribuyendo el color rojo resultante a la obtención de partículas de tamaño muy pequeño.

Años después, Mie corroboró que el color del Au coloidal es dependiente del tamaño. Este fue el inicio en la preparación de las NPs por reducción de sales de Au, utilizando Citrato como agente reductor y agentes estabilizantes que previenen la aglomeración de AuNPs prácticamente monodispersas y de tamaño controlado.

Según Brust et al., en 1995 la síntesis de AuNPs derivadas con grupos tiol en un sistema líquido es estable, comprobó que la relación de citrato/oro y la velocidad de adición del agente reductor pueden influir en el tamaño de las AuNPs obtenidas.

Cuanto más rápida es la adición del agente reductor, más pequeñas y monodispersas son las AuNPs.

Por otra parte las propiedades fototérmicas, las propiedades electromagnéticas y ópticas de los metales nobles difieren de las de su correspondiente producto. Por ejemplo las AuNPs presentan una coloración “rojo vino” mientras que el correspondiente Au a granel es de color amarillo. Según Zharov et al., indican la función fototérmica aplicada a la nanoterapéutica y nanodiagnóstico para la eliminación selectiva de bacterias con AuNPs, donde explica que la peculiaridad de las propiedades ópticas y fototérmicas de las AuNPs proviene de las oscilaciones resonantes de sus electrones libres en presencia de luz, gracias a la cual las NPs pueden radiar luz o absorber luz que se transforma rápidamente en calor.

Las AuNPs emiten un intenso calor cuando son estimuladas con luz láser u otra fuente de calor; actuando como auténticos “calefactores nanoscópicos activados por la luz”. Esta característica es útil en el diagnóstico obtenido por imágenes, que es la aplicación más desarrollada actualmente. Cabe mencionar su uso en el tratamiento fototérmico láser selectivo de las células tumorales, pero también en la liberación de moléculas activas en lugares específicos del organismo, así como en la destrucción de virus y bacterias y en la desnaturalización de proteínas y/o ácidos nucleicos ^[70, 71].

3.4.3. Nanopartículas de Plata (AgNPs).

Las AgNPs pueden ser esféricas, tener forma de varas o también de placas triangulares truncadas, siendo estas últimas de mayor reactividad. El tamaño puede oscilar entre 1-100 nm, correspondiendo la mayor actividad biológica a aquellas AgNPs de menor tamaño. Estas poseen un gran potencial para su uso en la Industria Farmacéutica y en Medicina. Se destaca sus propiedades antibacterianas sobre diversas bacterias y su capacidad para secuestrar metales y su utilidad en el tratamiento de aguas.

Dentro de sus aplicaciones biomédicas se usa como agente bactericida, otras aplicaciones como agente fungicida, anti-retroviral, cicatrizante, y en aplicaciones cotidianas, en la industria textil, así como en electrodomésticos, pinturas y polímeros ^[72].

El madroño (*Arbutus unedo*), de la familia de las ericáceas, es un arbolillo o arbusto perenne que se utiliza para obtener AgNPs, al hacer reaccionar con nitrato de plata (AgNO_3). Las AgNPs son utilizadas para distribuir fármacos y como dispositivos electrónicos, catalizadores o disolventes de sustancias contaminantes ^[73]. (Ver fig. 15)



Figura 15. Madroño ^[73].

Las hojas del madroño facilitan la estabilidad al generar una capa orgánica de varios nanómetros alrededor de las partículas de Ag. El extracto actúa como un agente reductor y estabilizador de todo el producto. Las NPs obtenidas se han caracterizado con técnicas como la Microscopía Electrónica de Transmisión (MET), Espectroscopía Ultravioleta (UV/vis) y Espectrometría de Infrarrojos por Transformada de Fourier (FTIR) ^[73,74].

3.4.4. Nanopartículas de Cobre (CuNPs).

El empleo de CuNPs ha implementado su uso en la tecnología. Existen diferentes métodos de síntesis, tales como: microemulsión ^[75], descomposición térmica ^[76], condensación de vapor ^[77], método del poliol ^[78], y deformación mecánica, entre otros.

Las CuNPs, debido a su carácter semiconductor, tienen diferentes aplicaciones tecnológicas como en sensores de gas, transistores de fase magnética, catálisis, como agente antimicrobiano y superconductores.

Existen varias técnicas para la síntesis de CuNPs, el método conocido a la fecha es la obtención de NPs monodispersas mediante la síntesis de CuNPs a través de la descomposición a altas temperaturas de diferentes precursores orgánicos [79]. Una de las ventajas de este método es la obtención de NPs con una distribución de tamaño significativo.

Las NPs sintetizadas son caracterizadas mediante Microscopía Electrónica de Barrido (STEM) reportándose un tamaño de partícula < 30 nm y con una morfología esférica. Las CuNPs presentan una fase cristalina que es la propiedad que las caracteriza, demostrado por Difracción de Rayos X (DRX) [80].

3.5. NPs Poliméricas.

Las NPs poliméricas sólidas son partículas menores a 1 μm de diámetro que se preparan a partir de polímeros naturales o sintéticos. Con el desarrollo de NPs se desarrollaron técnicas en la administración de fármacos y se visualiza la capacidad de suministrar fármacos por diferentes vías de administración.

Los polímeros más utilizados son ácidos polilácticos (PLA), poliglicólico (PGA), y sus copolímeros poliláctico-co-glicólico (PLGA). Estos polímeros son conocidos por su biocompatibilidad y por la posibilidad de manipular la tasa de degradación y, en consecuencia, la velocidad de liberación de fármacos, por aumento de hidrofobicidad o un aumento de hidrofiliidad de las NPs.

Entre 1980 y 1990 varios sistemas de administración de fármacos fueron desarrollados para mejorar la eficacia de los medicamentos y reducir al mínimo los efectos secundarios. El efecto terapéutico de NPs cargadas con fármacos es relativamente bajo debido a la rápida remoción de las partículas por la fagocitosis (administración intravenosa) pero la adición de modificadores de superficie en las NPs modifica el efecto.

Las NPs han superado el uso de los liposomas. Estas vesículas preparadas a partir de los lípidos se han utilizado como posibles portadores de fármacos debido a la protección que pueden ofrecer a los principios activos que se encuentran en su núcleo pero los liposomas han mostrado una baja eficiencia de encapsulación, baja estabilidad durante el almacenamiento, y la rápida liberación de fármacos solubles en medios biológicos. Las NPs han mostrado grandes ventajas sobre los liposomas por su mayor estabilidad y una capacidad única para liberar al fármaco de manera controlada [32].

Las micropartículas son partículas poliméricas esféricas con tamaños que oscilan desde 1 a 250 μm (idealmente de diámetros $< 125 \mu\text{m}$). En este grupo se incluyen las microcápsulas, que son sistemas vesiculares en los que el fármaco está confinado en una cavidad rodeada de una única membrana polimérica; y las microesferas que son sistemas matriciales en los que el fármaco está disperso en la partícula. Las NPs son sistemas poliméricos submicrónicos ($< 1 \mu\text{m}$). Pueden obtenerse nanocápsulas o nanoesferas que son las equivalentes morfológicas de las microcápsulas y de las microesferas, respectivamente [81].

Existen diversos procesos en la preparación de micro- y NPs, entre los que se encuentran: la evaporación del disolvente, separación de la fase orgánica, polimerización interfacial, polimerización en emulsión y secado por spray [82].

Se han desarrollado NPs como vehículos de administración de fármacos por vía oral, cuyo mecanismo de acción se centra en la asimilación de la NPs por parte de las placas de Peyer hacia el sistema linfático en el tejido linfoide asociado al intestino.

Las placas de Peyer se caracterizan por disponer de células Madre que recubren el tejido linfoide y forman parte del proceso de endocitosis y el transporte entre los espacios intraepiteliales y el tejido linfoide adyacente.

El tamaño y la carga superficial de las NPs son cruciales para su absorción. Existen diferentes teorías en cuanto al tamaño óptimo para su captación por las placas de Peyer (1 μm a 5 μm). Se ha demostrado que las micropartículas permanecen en las placas de Peyer mientras que las NPs difunden sistémicamente. Esta es una de las ventajas de las NPs en el desarrollo de vacunas administradas de forma oral y en el tratamiento del cáncer.

Los pequeños capilares en el cuerpo tienen 5-6 μm de diámetro, por lo cual el tamaño de las partículas que se distribuyen en la circulación sanguínea debe ser significativamente menor a 5 μm , sin la formación de agregados, para garantizar que las partículas no produzcan una embolia. Por este motivo, las NPs tienen ventajas respecto a las micropartículas.

Las Nanoesferas son de tipo matricial y en este caso los fármacos pueden ser absorbidos en la superficie de la esfera o encapsulada dentro de la partícula. Las nanocápsulas son sistemas vesiculares en los que el fármaco es vehiculizado en la cavidad interior; el sistema consiste en un núcleo líquido rodeado por una membrana polimérica.

Las sustancias activas suelen ser disueltas en el núcleo interno, pero también pueden ser adsorbidas en la superficie de la cápsula.

Una gran variedad de fármacos pueden ser vehiculizados utilizando diversos sistemas (hidrofílicos, hidrofóbos, proteínas, macromoléculas biológicas, entre otros). Se pueden formular para la absorción selectiva por el sistema linfático, el cerebro, las paredes arteriales, los pulmones, el hígado, el bazo, o la circulación sistémica.

Las características más importantes de las NPs son su tamaño, la eficiencia de encapsulación, potencial zeta (carga superficial), y la liberación del fármaco [82].

3.6. Quantum Dots (puntos cuánticos).

Los Quantum Dots (QDs) son cristales esféricos de tamaño nanométrico (10^{-9} metros) caracterizados por su pequeño diámetro, entre 2 nm y 10 nm. Son un tipo especial de semiconductor (por ejemplo, CdSe y PbS) [3,83].

En la figura 16, se observa la fluorescencia obtenida de los Puntos Cuánticos después de ser excitados con luz UV y de óxidos nanocristalinos fabricados, la excitación se da con luz infrarroja.

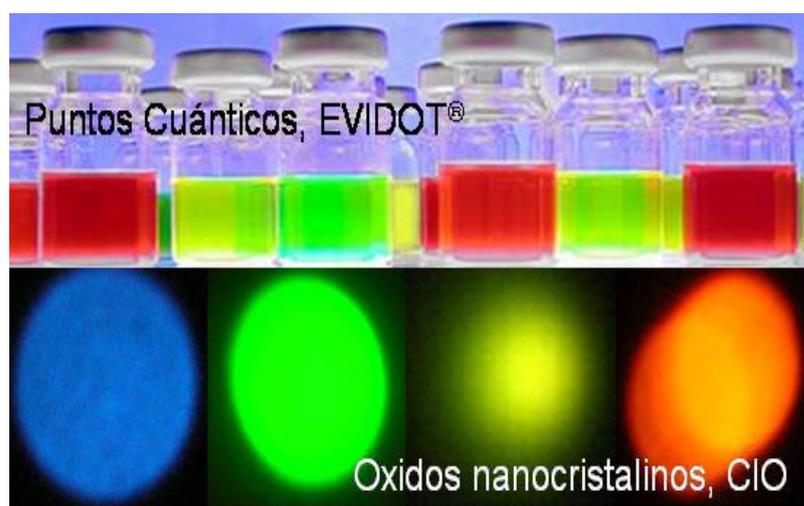


Figura 16. Representación de los Puntos Cuánticos [3, 83].

En los semiconductores de tamaño superior al radio de excitación de Bohr, la distancia entre la banda de conducción y la valencia determina la energía mínima que ha de tener un electrón para pasar a la banda de conducción. Esta energía es fija para cada componente, debido a la continuidad entre los niveles de energía y al mayor número de átomos. Debido a esto, cuando un electrón, después de haber pasado a la banda de conducción por la aportación de energía externa (luz, calor...) regresa a la banda de valencia y emite radiación en una longitud de onda característica y fija. Sin embargo, reduciendo las dimensiones del cristal semiconductor hasta tamaños del orden del radio de excitación de Bohr de dicho compuesto, los niveles de energía pasan a ser discretos y finitos.

Debido al menor número de átomos en los QDs, la distancia entre las bandas de conducción y valencia es mayor que la del componente no nanoestructurado, lo que provoca que la radiación emitida sea de un color más azulado (más energía). El tamaño del cristal es tan pequeño que la adición o sustracción de átomos modifica la distancia entre las bandas de conducción y de valencia y con ello la energía asociada a la transición de los electrones, pudiéndose de esta forma controlar el color de la luz emitida por el nanocristal.

Una de las aplicaciones de los QDs es la de marcadores de células cancerígenas. Su emisión de fluorescencia es intensa lo que hace posible detectar una célula que contenga tan solo una de estas NPs. Los QDs se utilizan en la localización de tumores en los primeros estadios, donde la detección permite su extirpación inmediata. Para lograr esta localización, hay que recubrir la superficie del QD con moléculas biológicas (biorreceptores) con afinidad hacia un compuesto específico. Las proteínas o moléculas que se encuentran en mayor proporción en la superficie de las células cancerosas como los receptores de ácido fólico o la hormona luteinizante, se pueden asociar con un tipo de cáncer específico y pueden ser detectadas. Cuando los QDs se acercan a una muestra que contiene proteínas, se unen permitiendo detectar la interacción mediante la iluminación de los nanocristales con luz ultravioleta y observando su emisión característica.

Debido a la cantidad de colores que se pueden emitir, los PCs se pueden combinar para detectar diversas sustancias, células tumorales o antígenas de manera simultánea.

3.7. Nanotubos de Carbono (CNTs).

En química, se denominan NTs a estructuras tubulares cuyo diámetro es del orden del nanómetro. Existen NTs de muchos materiales, tales como silicio o Nitruro de boro, el término se aplica a los CNTs.

Los CNTs son una forma alotrópica (es la propiedad de algunos elementos químicos de poseer estructuras químicas diferentes) ^[84], con características físicas distintas, como el Fósforo (fósforo rojo y fósforo blanco) o el Carbono (grafito y diamante).

Su estructura puede considerarse procedente de una lámina de grafito enrollado sobre sí misma. Dependiendo del grado de enrollamiento, y la manera como se conforma la lámina original, el resultado puede llevar a la formación de NTs de diferente diámetro y de geometría interna específica.

Estos tubos están conformados como si los extremos de un folio se uniesen por sus extremos formando un canuto, el cual se conoce como nanotubo monocapa.

Existen, NTs cuya estructura se asemeja a la de una serie de tubos concéntricos, incluidos unos dentro de otros y de grosores crecientes desde el centro a la periferia, conocidos como NTs multicapa. En la figura 17 se muestra la representación de un CNT ^[85].

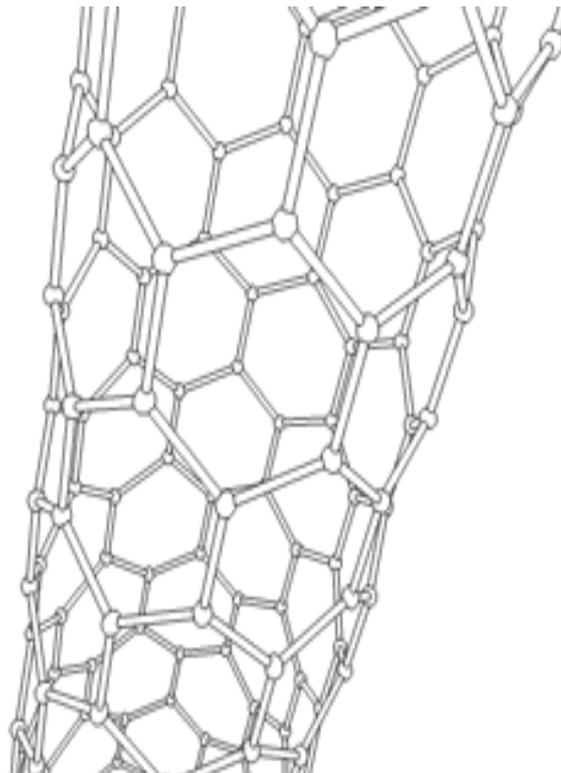


Figura 17. Representación de un Nanotubo ^[85].

Su funcionalización se basa en el uso químico y en aplicaciones tecnológicas. Por ejemplo, en la construcción de un ascensor espacial.

Los CNTs son otra clase de objetos nanométricos con propiedades específicas como son de diferente tamaño nanométrico, de formas diferentes, de bajos pesos específicos, con propiedades mecánicas (módulo elástico de 1 TPa, resistencia a tracción de 200 MPa), con características electrónicas (pueden ser aislantes, semiconductores o metales) y de comportamiento térmico, lo que permite su desarrollo tecnológico para su aplicación en diferentes áreas, como en la utilización de CNTs, en dispositivos nanoelectrónicos, en pantallas planas, en microscopia electrónica y en sistemas para el almacenamiento de energía como baterías y células de combustión.

Su funcionalidad radica en mejorar las características estructurales y funcionales para tener nuevas alternativas para formar plásticos reforzados y polímeros diseñados con propiedades eléctricas, opto-electrónicas y térmicas para el área de electrónica-plástica [85].

3.8. Nanomateriales.

Las NPs magnéticas de tamaño de un nanómetro presentan dos características relacionadas con las propiedades magnéticas.

a) El número de átomos de superficie que presentan una simetría local distinta y, por tanto, una anisotropía magnética diferente (es la resistencia que presenta un material respecto a la dirección de su momento magnético). Para que las partículas no pierdan la orientación del momento magnético que les hemos dado, necesitamos que tengan propiedades de anisotropía magnética específicas [86].

b) Una estructura del espectro de energía electrónica caracterizada por un mayor espacio entre niveles. Donde se presenta una densidad de Fermi. La estructura electrónica de las NPs es también regulada mediante el enlace con diferentes tipos de moléculas. El enlace fuerte con moléculas permite evitar la precipitación y aglomeración de las NPs para mantener unidades aisladas del resto de las NPs. Esta propiedad es considerada para la funcionalización en biomedicina.

La funcionalización con NPMs permite el transporte de moléculas como ácidos nucleicos, aminoácidos, azúcares o ADN enlazadas a los átomos de la superficie y que puedan viajar por el organismo hasta depositarse en dianas bien definidas ^[87], lo que permitiría el anclaje para liberar las moléculas transportadas dando lugar a una quimioterapia selectiva que reduciría al máximo los efectos colaterales.

Recientemente P. Crespo ha encontrado que partículas de Au de 1.4 nm de tamaño recubiertas con moléculas orgánicas a través de enlaces oro-azufre presentan magnetismo permanente incluso a temperatura ambiente ^[88].

3.9. Sistemas Nanoestructurados Funcionalizados.

La funcionalización de NPs consiste en el recubrimiento de la superficie de éstas con ligandos que le confieran determinadas funciones o capacidades específicas, que se sumen a las propiedades intrínsecas de las NPs ampliando exponencialmente su espectro de aplicación.

Los ligandos pueden ser biológicos o no, sintéticos o naturales aportando funciones tan diversas como la afinidad por células cancerosas, fluorescencia, actividad enzimática, mayor resistencia, solubilidad en determinados sustratos, etc.

La funcionalización de una NPs se puede llevar a cabo durante su proceso de síntesis, usando agentes que se unan a la superficie de la NPs en formación. Es preferible la funcionalización de la NPs ya sintetizadas (postfuncionalización), ya que es versátil, y porque muchas veces el ligando que aporta función no es compatible con el proceso de síntesis de la NPs ^[88].

Materiales funcionales y nanoestructuras: la síntesis de precursores moleculares inorgánicos es útil para el desarrollo de materiales con propiedades específicos, usando métodos químicos (método sol-gel y MOCVD convencional o por inyección líquida) de NEMs y/o nanofuncionalizados.

El objetivo es la obtención de precursores que presenten una esfera de coordinación específica. Se utilizan precursores definidos en el estado sólido (DRX sobre monocristal) y en solución (RMN, IR, UV-vis) o en fase vapor (Espectrometría de Masa, ATG-ATD), donde se consideran las distintas etapas de transformación del precursor como el precursor molecular y las propiedades del material para optimizar los parámetros que permitan obtener una microestructura y visualice las propiedades de interfaces.

Los compuestos heterolépticos (posean distintos ligandos) permiten elaborar nanomateriales híbridos $MO(n/2)-z(R' Z) z$ por hidrólisis diferencial seguida de policondensación.

Esta metodología se basa en la síntesis de las nanoestructuras a bajas temperaturas como por ejemplo las NPs cristalizadas de TiO_2 (rendimiento = 96 %) obtenidas en medio acuoso ($100^\circ C$), reaccionando $Ti(OiPr)_4$ en presencia de una sal de tipo amonio cuaternario (NR_4Br). Se observa la ventaja de la flexibilidad del método de hidrólisis para modular la superficie. Al hidrolizar simultáneamente distintos alcóxidos, variando el porcentaje orgánico superficial para obtener NPs híbridas con distintas funcionalidades de superficie. Estos nanoobjetos cristalizados y funcionalizados se usan en los campos de la biomedicina, en cosmética, en la separación selectiva o en catálisis de oxidación [Fe -phthalocyanine/ TiO_2 , (Ag, Au)/ TiO_2] ^[89].

3.9.1. Tipos de Funcionalización.

3.9.1.1. Funcionalización Polimérica.

Las primeras investigaciones en el campo de los polímeros fueron realizadas con la finalidad de obtener materiales sintéticos no reactivos o inertes, los cuales fueron obtenidos por polimerización de monómeros del tipo vinílico, con uno o más centros insaturados. Las características de los mismos están directamente relacionadas con las fuerzas que interactúan entre las cadenas lineales, ramificadas o entrecruzadas.

Estas estructuras inertes, por la ausencia de grupos funcionales reactivos, poseen propiedades que dependen de su grado de polimerización, tipo de monómero, existencia de ramificaciones o entrecruzamiento, y otras características del mismo polímero.

A partir de estos antecedentes y del continuo desarrollo de la industria de los polímeros, se dispuso de una serie de monómeros y se comenzó con la aplicación del concepto de funcionalización de polímeros referido al proceso químico mediante el cual se incorporan grupos funcionales reactivos a una cadena polimérica.

Estos grupos funcionales le otorgan a los polímeros, diferente reactividad frente a distintos agentes e introducen nuevas propiedades ó potencian propiedades ya presentes.

Un polímero funcionalizado se puede definir, como un compuesto con grupos funcionales específicos, que es capaz de participar en diferentes procesos químicos sin sufrir degradación.

Las ventajas ofrecidas por los materiales funcionalizados son múltiples, y sus aplicaciones se han hecho extensivas a diversas áreas. Esto hace que, materiales inertes ^[90, 91], puedan ser funcionalizados adecuadamente y ser utilizados como adhesivos, materiales biocompatibles, catalizadores y hasta incluso ser reciclados. La introducción de grupos funcionales puede servir como punto de anclaje de diferentes moléculas orgánicas, en una variedad de aplicaciones tanto de interés biológico como en otras áreas.

Ejemplo de ello es la unión covalente de azúcares para la captación de proteínas, síntesis de péptidos, sitios activos de acción catalítica, fluorescencia, etc. Otro beneficio adicional, es poder controlar la relación hidrofílica/hidrofóbica de estos materiales, lo cual trae como consecuencia una serie de propiedades de interés tecnológico.

Tipos de polímeros: previo al análisis de la síntesis del polímero se debe seleccionar la forma física del producto de inicial y el tipo de material polimérico deseado. Es importante conocer la estructura química presente en la cadena principal, seleccionando los monómeros; también se debe conocer el estado físico del polímero a modificar y las propiedades de solubilidad.

En forma general, a los polímeros se pueden clasificar como:

Polímeros lineales: los cuales son solubles en disolventes apropiados, o como geles ó resinas macro-reticuladas, los cuales, son insolubles en todos los disolventes, aunque se pueden hinchar.

Cada tipo de material posee ventajas y desventajas, por lo que, en cualquier aplicación en donde se use un polímero, se deben tener en cuenta las variables involucradas antes de la elección de la forma física del mismo. Esto ayudará a la obtención de un material que presente sus máximas ventajas, y minimizar problemas potenciales ^[92].

Polímeros lineales y ramificados: los homopolímeros, donde la unidad repetitiva es un mismo monómero, al ser solubles, poseen asociadas algunas ventajas como el hecho de que las reacciones pueden llevarse a cabo en medio homogéneo si son polímeros pocos reactivos o de macromoléculas de gran tamaño. La desventaja, radica en lo laborioso que resulta experimentalmente, separar las moléculas de bajo peso molecular que quedan como subproductos al final de la reacción. Otro problema se presenta cuando se producen reacciones laterales, como degradación o entrecruzamiento.

Los polímeros ramificados poseen características químicas similares a los polímeros lineales, pero van siempre acompañados de un cambio sustancial en sus propiedades reológicas, ya que son de menor viscosidad que los lineales de igual peso molecular. Otra ventaja de la presencia de ramificaciones es la multiplicación de sus grupos reactivos.

Dentro de este grupo, están también los copolímeros. La habilidad para preparar copolímeros variando la secuencia, longitud, tipo y porcentaje de comonómeros, es de particular relevancia para encontrar un comportamiento definido, ya que los mismos ofrecen propiedades únicas que no pueden ser encontradas en mezclas de homopolímeros.

Polímeros entrecruzados: conocidos como geles en función de materiales porosos, los polímeros entrecruzados exhiben considerables diferencias en sus propiedades, dependiendo del grado de entrecruzamiento y del método de preparación. Los geles son polímeros entrecruzados de un 0.5 al 2.0 % de agente entrecruzante, lo cual se considera de leve a bajo grado de entrecruzamiento. Esto, le permite tener altos porcentajes de hinchamiento, cuando se los coloca en un disolvente adecuado y en estado seco los poros colapsan. En este tipo de polímeros, las cadenas son muy móviles y los tamaños de poros no son bien definidos.

Comparado con los polímeros lineales, estos son menos reactivos, ya que el agente modificante llega a los sitios de reacción dependiendo de la velocidad de difusión dentro de los poros. Los rendimientos de la reacción pueden ser afectados por el grado de entrecruzamiento; cuanto mayor sea el grado de entrecruzamiento, menor será el rendimiento de modificación química, a medida que aumenta el índice de hinchamiento.

Una desventaja, es que cuando se trabaja con geles con muy bajo grado de entrecruzamiento, comienza a ser difícil su manejo y se pueden producir fragmentos solubles ^[92].

Las resinas macroporosas son preparadas por polimerización en suspensión usando una alta concentración de agente entrecruzante y un diluyente inerte (porógeno). Esto resulta en la formación de un producto altamente entrecruzado, rígido, con muy buena estabilidad mecánica. Cuando el disolvente es removido, los poros no colapsan.

La principal ventaja de estas resinas es la presencia de una gran área de superficie de los macroporos, lo cual permite el acceso de los reactivos [92, 93, 94, 95, 96, 97].

Como la reactividad de los materiales macroporosos no depende del hinchamiento ó expansión de la matriz, estos se pueden usar en contacto con una gran variedad de disolventes sin que sufran cambios en las velocidades de reacción. Esto no significa que no se puedan realizar reacciones con geles en un medio no hinchable, sino que las reacciones pueden llevarse a cabo a mayores tiempos y temperaturas, aumentando la velocidad de difusión. Otra ventaja adicional de estos polímeros, es su estabilidad dimensional, lo cual los convierte en materiales ideales como soportes de columnas cromatográficas. Una de las desventajas puede ser su menor reactividad, pero sólo en algunos casos.

Existen dos grandes diferencias entre las reacciones que se llevan a cabo con polímeros solubles e insolubles. En primer lugar, se necesitan condiciones más drásticas de reacción para alcanzar buenos rendimientos, debido a las dificultades en la accesibilidad y reactividad, observadas en geles y macroporosos. La segunda diferencia, es la purificación del producto después de la modificación, ya que los materiales solubles pueden ser purificados por precipitación o cromatografía de exclusión molecular (SEC o GPC), mientras que los materiales insolubles, sólo deben ser lavados para la remoción del resto de los reactivos.

3.9.1.2. Funcionalización Metálica.

Las AgNPs y AuNPs funcionalizadas *in situ* con el polímero conjugado fluorescente pPET3OC12-sqS son un ejemplo de funcionalización metálica. Estos productos son productos de la síntesis, cuyas propiedades morfológicas, ópticas y eléctricas permiten su funcionalización.

La síntesis de AuNPs y AgNPs funcionalizadas *in situ* con un polí (fenilenetilenilo) fluorescente y portador de la secuencia flexible $-C(O)S-(CH_2)_2S-(CH_2)_2S-C(O)-$ se obtiene por métodos de química coloidal y para el caso de la plata por ablación láser.

Todas las partículas se caracterizaron por MET, RMN de ^1H , UV-Vis y fluorescencia. Las partículas de Au son más pequeñas y aisladas, las de Ag presentan aglomeración y de forma más marcada para las que se obtuvieron por ablación láser. Debido a la aglomeración, las partículas de Ag no permiten formar películas homogéneas por lo que estas se utilizan solamente para las AuNPs.

La funcionalización de AuNPs mejora las propiedades morfológicas y eléctricas obteniendo películas con menor rugosidad y mayor conductividad eléctrica con respecto a las de los polímeros utilizados en la tecnología intermediaria entre la electrónica y la fotónica en donde se produce corriente eléctrica a partir de luz (celdas solares) o bien luz a partir de corriente (diodos electroluminiscentes).

Los polímeros y oligómeros conjugados son materiales ideales para aplicaciones en esta área debido a que combinan las propiedades optoelectrónicas de los semiconductores inorgánicos con la ventaja que tienen los plásticos de poder ser procesados. Entre los materiales orgánicos conjugados de mayor interés se encuentran los polifenilinetilenos (PFE) en los cuales la combinación de anillos aromáticos con triples enlaces conjugados da lugar a una elevada deslocalización electrónica y por consiguiente a peculiares propiedades ópticas de emisión ^[98].

Las NPMs por su parte presentan propiedades ópticas especiales debidas a la formación de ondas electromagnéticas superficiales llamadas plasmones ^[99]. Esta característica ha permitido desarrollar biosensores ópticos de absorción ^[100].

La Ag presenta propiedades bactericidas y el Au propiedades catalíticas, así que también han sido propuestas para aplicaciones médicas ^[101] y de catálisis ^[102]. En cuanto a la optoelectrónica molecular, son pocos los estudios debido a las dificultades de sintetizar sistemas híbridos de NPMs con polímeros conjugados.

En la literatura se encuentran dos posibles alternativas de preparación:

- 1) Sintetizar las partículas y el polímero conjugado y mezclarlos obteniendo un nanocomposito ^[103]. En este caso queda un exceso de material conjugado por lo cual es difícil concluir sobre el efecto de la NPs en las propiedades optoelectrónicas del polímero conjugado y viceversa.

- 2) Sintetizar NPs funcionalizadas con el monómero y sucesivamente llevar a cabo la polimerización ^[104], lo cual normalmente involucra rutas de síntesis muy complejas. A partir del interés de estudiar el efecto de la funcionalización con NPMs en las propiedades ópticas y optoelectrónicas de PFE. Se reporta por primera vez la síntesis de AuNPs y AgNPs funcionalizadas *in situ* con un polímero conjugado del tipo PFE portador de una secuencia polar flexible (pPET3OC12-sqS). La funcionalización de las NPs se lleva a cabo por métodos de química coloidal, para la plata se emplean también métodos físicos de ablación láser. Se estudió el efecto del tipo de metal (Ag y Au) y de la metodología de síntesis (para Ag) en las propiedades ópticas intrínsecas en solución de las NPs con respecto a las del PFE.

Las películas obtenidas a partir de las suspensiones de las AgNPs no son homogéneas y se caracterizan en base a las propiedades ópticas, morfológicas y eléctricas en películas delgadas para las AuNPs.

Las AgNPs obtenidas por ablación láser, a pesar de presentar aglomeración y por lo tanto no dar películas homogéneas, presentan un incremento notable en el rendimiento cuántico lo cual podría permitir su aplicación como marcadores fluorescentes. Para aplicaciones en estado sólido como biosensores o diodos electroluminiscentes, actualmente se está considerando la posibilidad de cambiar la metodología de purificación buscando una técnica que permita no solamente eliminar el exceso de polímero que no ha reaccionado sino también reducir la distribución de tamaños ^[105].

Las NPs funcionalizadas, su producción y su uso hace referencia a la capacidad que tienen algunas moléculas orgánicas para absorberse sobre las superficies de materiales sólidos inorgánicos y esta propiedad se ha utilizado ampliamente hasta el punto de haber formado compuestos tecnológicamente importantes, tales como los dispersantes y los "agentes humectantes".

Algunas de estas moléculas no sólo se absorben por la superficie involucrada sino que también contribuyen a la formación de estructuras compactas que pueden alterar profundamente sus propiedades.

Ejemplos típicos de moléculas orgánicas del tipo anterior (aglutinantes) son compuestos alifáticos simples monofuncionalizados tales como tioles, dodecilsulfato sódico, bromuro de cetil trimetil amonio, diversos fosfatos alifáticos y los ácidos fosfónicos y carboxílicos.

Normalmente la interacción ocurre entre el grupo funcional individual y la superficie inorgánica metálica dejando libre de esta manera una cadena alifática sencilla que no es capaz de interactuar de ninguna manera con otras moléculas funcionales.

La afinidad entre las moléculas orgánicas y las superficies depende de la naturaleza química de cada una. Se han estudiado estas interacciones en casos específicos pero la comprensión completa de la afinidad de los diversos aglutinantes con las superficies de las NPs aún se encuentra en estudio.

Las NPs pueden formar una dispersión estable en líquidos si existe un potencial de repulsión entre las unidades individuales. En una dispersión no se observa la precipitación porque el movimiento intrínseco debido a la temperatura evita la deposición por efecto de la gravedad. El potencial de interacción entre dos partículas depende sobre todo del estado de la superficie de la NP; este se puede modificar mediante la absorción o mediante la unión química con otras especies moleculares o iónicas presentes en la solución [106, 107].

Además de la escasez de los materiales y aglutinantes estudiados, los productos mencionados anteriormente no son solubles en condiciones hidroalcohólicas, una condición que es muy importante para las aplicaciones biomédicas y farmacológicas.

La cadena alifática sencilla que queda libre no es capaz de interactuar en absoluto con las funcionalidades normalmente presentes en las moléculas bioactivas.

Los complejos estables se pueden obtener mediante la unión de NPs de diversos tipos de óxidos de metales de transición a compuestos mono y difuncionales.

En la actualidad se ha descubierto que los compuestos difuncionales son capaces de unirse a NPs compuestas de diversos tipos de óxidos de metales de transición o de metales que forman complejos estables.

En dichos aglutinantes difuncionales, el grupo funcional añadido (que no interactúa con la superficie metálica inorgánica) modifica la solubilidad de la NP en el medio líquido, haciendo que la NP se pueda utilizar en procesos de producción de diversos tipos de materiales nuevos (algunos tipos de plásticos y fibras hidrófilas); también permite la interacción química con otras unidades complejas tales como biopolímeros, ciclodextrinas, anticuerpos y fármacos para su uso en el campo farmacéutico y de diagnóstico.

El uso de compuestos difuncionales permite obtener complejos de NPs y aglutinantes en los que se consigue cubrir de forma total y compacta la NP sin alteraciones significativas de las propiedades que dependen de esta (por ejemplo, propiedades magnéticas u ópticas).

Entre otras ventajas se debe considerar que, gracias a la cobertura total de la superficie obtenida utilizando los aglutinantes anteriores, las NPs no son tóxicas.

El término compuestos difuncionales se refiere a tioles, ácidos carboxílicos, ésteres de ácidos fosfóricos o las sales de los mismos que poseen una cadena alifática que tiene un segundo grupo funcional en la posición final (llamada i), con la condición de que el segundo grupo funcional no sea un grupo trialcoxisililo.

Preferentemente, dicho segundo grupo funcional se selecciona del grupo compuesto de: OH, NH₂, COOH, y COOR₃

Los compuestos difuncionales reportados son compuestos con la fórmula general:

R₁- (CH₂)ⁿ-R₂ en la que: n es un número entero entre 2 y 20;

R₁ se selecciona del grupo compuesto de: OH, NH₂, COOH, y COOR₃;

R₂ se selecciona entre: CONHOH, CONHOR₃, PO (OH)₂, PO (OH) (OR₃), COOH, COOR₃, SH, y SR₃;

R₃ es un metal alcalino, preferentemente K, Na o Li, o un agente orgánico protector.

El proceso de preparación normalmente contempla el inicio de la síntesis a partir de un compuesto difuncional sencillo disponible en el mercado (por ejemplo ácidos carboxílicos o alcoholes i-funcionalizados), la protección del grupo funcional en posición i, y finalmente la activación de la función carboxílica (o alcohólica) para la inserción posterior de la funcionalidad con compuestos fosforados.

Las NPs compuestas de: metales y óxidos metálicos que pertenecen a la serie de los metales de transición, en particular los compuestos con la fórmula general MII MIII₂O₄ siendo MII = Co, Ni, Fe, Zn, Mn y MIII = FeIII, Co, y Al. Óxidos de tipo maghemita Fe₂O₃. De forma específica: ferrita de cobalto CoFe₂O₄, magnetita FeFe₂O₄, y maghemita y Fe₂O₃ son partículas metálicas compuestas de FeO y CoO metálicos y sus aleaciones, también con metales nobles.

Los complejos de NPs y aglutinantes se obtienen haciendo reaccionar los derivados difuncionales con las NPs como se han definido anteriormente de modo que cubran completamente su superficie libre.

La preparación se lleva a cabo haciendo reaccionar una dispersión de NPs en un disolvente orgánico (por ejemplo, etilenglicol) con el aglutinante preferido manteniéndolo en agitación a temperatura reducida durante unas pocas horas. Se precipita, se separa y si es necesario se purifica mediante una nueva dispersión en un disolvente adecuado y una nueva precipitación.

El cubrimiento y el grado de reacción conseguidos se evalúan mediante diferentes técnicas experimentales que incluyen termogravimetría DSC-TG, FTIR, análisis elemental y Dispersión de Luz Dinámica (DLS).

Las NPs funcionalizadas producidas de esta manera se pueden utilizar en procesos que requieren un comportamiento hidrofóbico/hidrofílico específico tales como la producción de plásticos (por ejemplo plásticos de polietileno o poliéster) o fibras sintéticas (ejemplo: nailon) y fibras naturales (ejemplo: algodón).

Las NPs tratadas con aglutinantes difuncionales se pueden modificar de forma adicional mediante el ataque de determinadas moléculas al grupo funcional (por ejemplo ciclodextrinas, ácido fólico, anticuerpos y fármacos), proteínas o polímeros (por ejemplo poliamidoamina) de modo que combinen las propiedades de la partícula (magnetismo) con las propiedades de la molécula o del polímero (biocompatibilidad, invisibilidad al sistema inmune) o de las proteínas.

Las propiedades magnéticas se pueden utilizar para constituir agentes generales y selectivos de contraste, para análisis por resonancia magnética, o combinarse con fármacos para constituir sistemas de propagación cuya liberación se regula por el calentamiento de las partículas mediante un efecto hipertérmico.

En general se puede decir que para el ensamblaje del complejo nanopartícula/aglutinante difuncional, al que se hará referencia en lo sucesivo en el presente documento como NP funcionalizada, con la molécula, polímero o proteína, se puede seguir el siguiente criterio:

a) Las NPs funcionalizadas que presentan aminas como funcionalidad externa se pueden unir a moléculas, polímeros o proteínas como se han definido anteriormente que pueden presentar una de las siguientes funcionalidades: ácidos carboxílicos, aldehídos y acrilamidas.

b) Las NPs funcionalizadas que presentan ácidos carboxílicos como funcionalidad externa se pueden unir a biopolímeros, proteínas o moléculas (ciclodextrinas, ácido fólico, anticuerpos, fármacos) que a su vez pueden presentar una de las siguientes funcionalidades: alcoholes, aminas y tioles.

Las NPs funcionalizadas que presentan grupos oxhidrilo como funcionalidad externa se pueden unir a biopolímeros, proteínas o moléculas (ciclodextrinas, ácido fólico, anticuerpos, fármacos) que a su vez pueden presentar una de las siguientes funcionalidades con ácidos carboxílicos.

Procesos de Preparación:

Proceso A: funcionalización de la NP con aglutinantes difuncionales sencillos tales como, por ejemplo, ácidos i-hidroxi-, i-carboxi- y i-amino-carboxílicos; ácidos i-hidroxi-, i-carboxi- y i-amino-hidroxámicos; ácidos i-hidroxi, i-carboxi- y i-amino-fosfóricos; y i-hidroxi-, i-carboxi- y i-amino-tioles. Unión posterior de las partículas bifuncionalizadas con moléculas, proteínas o polímeros con aglutinantes difuncionales.

Proceso B: anclaje de las moléculas, polímeros o proteínas modificadas con aglutinantes a las NPs funcionalizadas por medio del intercambio de aglutinantes.

Proceso C: idéntico al proceso A excepto por la funcionalización de la NP con mezclas de aglutinantes difuncionalizados.

Proceso D: idéntico al proceso B excepto por la funcionalización de la NP con mezclas de aglutinantes difuncionalizados.

Proceso E: funcionalización directa de la NP con moléculas, polímeros o proteínas unidas previamente a un aglutinante difuncional adecuado.

Proceso F: funcionalización de la NP con mezclas que contienen moléculas, polímeros o proteínas ya unidas a un aglutinante difuncional adecuado y a un aglutinante difuncional diferente. Para ilustrar mejor la presente invención, a continuación se ofrecen algunos ejemplos específicos de la preparación de los aglutinantes, de los complejos, y de su posterior funcionalización.

Ejemplos:

1. Síntesis de 12-amino-N-hidroxidodecanamida.
2. Síntesis de ácido 12-amino- (terc-butoxicarbonil).
3. Síntesis de la sal de dicitohexilamonio del ácido 12-amino- (terc-butoxicarbonil) dodecanoico.
4. Síntesis de 12-amino-N- (benciloxi) dodecanamida ^[108].

IV.MÉTODOS DE PREPARACIÓN DE SISTEMAS NANOESTRUCTURADOS.

Existen diferentes métodos para la preparación de NPs y diversas formas de incorporar los fármacos en las partículas. Por ejemplo, los fármacos pueden ser encapsulados en la matriz polimérica, (en el núcleo de las NPs), conjugados químicamente con el polímero, o adsorbidos en la superficie de la partícula.

El método más comúnmente utilizado para la preparación de las NPs, es la emulsificación- evaporación. Esta técnica ha dado buenos resultados para encapsular fármacos hidrofóbicos, pero los resultados en la incorporación de agentes bioactivos de carácter hidrofílico no son confiables.

La emulsificación- evaporación consiste en la disolución del polímero y del compuesto en un solvente orgánico (diclorometano o cloruro de metileno). La emulsión se prepara mediante la adición de agua y un surfactante a la solución de polímeros. La formación de “nano-gotas” por parte del polímero es inducida por sonicación (ultrasonido) u homogenización. El disolvente orgánico es evaporado y las NPs son obtenidas por centrifugación y liofilización.

El método de doble o múltiple emulsión ha hecho posible encapsular compuestos hidrofílicos.

En primer lugar, un fármaco hidrofílico y un surfactante se disuelven en agua. La emulsión primaria es preparada por la dispersión de la fase acuosa en un disolvente orgánico que contiene un polímero disuelto. Se trata entonces de una re-emulsificación con una nueva fase acuosa que contiene también surfactante. El procedimiento de eliminación de disolvente y recolección de las NPs es similar a la técnica de emulsión simple.

Las técnicas mencionadas poseen el inconveniente de utilizar solventes tóxicos los que pueden degradar por ejemplo a las proteínas si entran en contacto durante el proceso. Para disminuir la contaminación por solventes se utilizan otras técnicas alternativas por ejemplo el método de difusión de emulsificación donde hace uso de un solvente parcialmente soluble en agua como acetona o carbonato de propileno. Los polímeros y compuestos bioactivos se disuelven en el disolvente y luego se emulsionan en la fase acuosa que contiene el estabilizador. Este último evita la agregación de las gotas de la emulsión por adsorción en la superficie de las mismas. El agua se agrega a la emulsión, para permitir la difusión del solvente en el agua. La solución se agita y se produce la precipitación de las partículas. Posteriormente se recogen por centrifugación, o el disolvente puede eliminarse por diálisis.

Las NPs pueden ser obtenidas por el método de nanoprecipitación. Con esta técnica, los fármacos y el polímero se disuelven en acetona y se añaden a una solución acuosa que contiene tensoactivos. La acetona es evaporada y las NPs permanecen en la suspensión acuosa dando lugar a partículas de 110 a 208 nm.

Otro método utilizado es el de salting-out que no utiliza disolventes clorados. Mediante esta técnica, se forma una emulsión agua/aceite que contiene polímeros, agua, acetona, acetato de magnesio, estabilizador (tensoactivo) y el componente activo. Posteriormente, se añade agua para permitir la difusión de la acetona en el medio acuoso, lo que resulta en la formación de NPs. Esta suspensión se purifica por filtración de flujo transversal y liofilización. Una desventaja de este procedimiento es que usa sales que son incompatibles con muchos compuestos bioactivos.

El método de polimerización interfacial utiliza polímeros con rápida velocidad de polimerización. Utilizando ciertos monómeros (ej. Cianoacrilato) que se disuelven junto con el fármaco en éter de petróleo y etanol absoluto, se forma una mezcla que luego lentamente es extruida a través de una aguja sobre una solución acuosa del surfactante. En este caso las nanocápsulas se forman espontáneamente por polimerización del monómero después de iniciar el contacto con los iones presentes en el agua.

La suspensión coloidal resultante puede concentrarse por evaporación a presión reducida. Algunos de los polímeros utilizados en la obtención de NPs por este método son, poli-isobutilcianoacrilato (PECA), y poli - isohexilcianoacrilato. Ejemplos de fármacos encapsulados son la insulina, calcitonina, indometacina, y compuestos citotóxicos utilizados en la terapia fotodinámica de tumores.

Una ventaja de esta técnica es la alta eficiencia de encapsulación de fármacos (por ejemplo, insulina con un 95%). Otra ventaja es la obtención de nanocápsulas ya que por este método el polímero se forma *in situ*, lo que permite la constitución de una membrana de polímero que puede rodear el contorno de la fase interior de una emulsión aceite/agua o agua/aceite. En este caso, la principal desventaja es el uso de disolventes orgánicos necesarios para la fase externa. El lavado de disolventes y la sustitución por el agua es un difícil procedimiento, esta es una de sus desventajas.

La producción de NPs tiene muchas variables independientes. Un parámetro clave es el tipo de surfactante/estabilizador a usar.

Un ejemplo son los emulsionantes naturales como el dipalmitoil-fosfatidilcolina y bromuro de didodecil dimetil amonio, y como tensoactivos, Pluronic F68 y Pluronic F108 [32].

Síntesis de AuNPs de 5 y 10 nm: las dispersiones coloidales (coloides) corresponden a sistemas compuestos por partículas de materia (fase dispersa) con tamaños comprendidos entre 1.0 nm y 500 nm distribuidas en un medio continuo (fase dispersante), en los que el tamaño se relaciona con el color de la dispersión coloidal si se trata de coloides metálicos [109,110].

Las AuNPs son dispersiones coloidales de carácter liofóbico, es decir, no presentan afinidad por la fase dispersante, y sólo pueden obtenerse a través de metodologías de síntesis como los:

(a) Métodos de dispersión: en los cuales partículas de tamaños superiores a los coloidales son reducidas de tamaño.

(b) Métodos de condensación: en los que partículas de tamaños subcoloidales son inducidas a la agregación hasta alcanzar tamaños coloidales.

Las AuNPs se producen en un líquido (“métodos químicos líquidos”) mediante la reducción de ácido cloroáurico ($\text{H}[\text{AuCl}_4]$). Después de que se disuelve el $\text{H}[\text{AuCl}_4]$, la solución se mantiene homogénea mientras se adiciona el agente reductor. Esto permite que los iones de Au^{3+} se reduzcan a Au^0 . Si la solución se sobresatura se tiende a aglomerar, hasta que se estabiliza la solución y las partículas tendrán un tamaño homogéneo.

Pueden ser funcionalizados con varios ligandos orgánicos para crear híbridos orgánico-inorgánicos ^[111].

Las aplicaciones biomédicas de las AuNPs dependen del tamaño de éstas, ya que si se considera que la rapidez de penetración de una sustancia a través de la BHE u otras barreras biológicas está relacionada de forma inversa con el tamaño molecular ^[112], y que el diámetro promedio de las fibras amiloides es de alrededor de 10 nm ^[113], y que la eliminación final de los conjugados podría darse a nivel renal, el tamaño de éstas se convierte en un factor crítico.

4.1. El método descrito por Turkevich et al. ^[114].

Este método permite obtener tamaños de AuNPs de diámetros del orden de los 10 nm o superiores usando citrato de sodio dihidratado (agente reductor suave) y temperatura, además de permitir el control de tamaños de partícula variando la relación $[\text{Citrato}/\text{HAuCl}_4]$ ^[115]. Teóricamente se formaría un centro de nucleación constituido por átomos de Au en torno al cual se adsorberían capas sucesivas de átomos de Au hasta alcanzar el tamaño permitido por el método. Las AuNPs sintetizadas a través de este método serán llamadas AuNPt de aquí en adelante.

Iniciado por J. Turkevich et al. en 1951 y modificado por el G. Frens en los años 70, este método es el más simple y disponible. Generalmente, se utiliza para producir moléculas monodispersas o NPs esféricas del Au suspendidas en agua de alrededor 10-20 nm de diámetro.

Recientemente, la evolución de las NPs esféricas del Au en la reacción de Turkevich se ha modificado y da lugar a nanoalambres del Au que se forman durante la síntesis. Los nanoalambres del Au son responsables del aspecto oscuro de la solución antes de formar las NPs de tamaño nanométrico donde se observa una solución de color rojo-rubí ^[116].

Para producir partículas más grandes, la cantidad de citrato de sodio debe ser menor (por debajo de 0.05%). La disminución en la cantidad de Citrato de sodio reducirá la cantidad de los iones del citrato disponibles para estabilizar las partículas, dando como resultado partículas pequeñas y manifestando la agregación de partículas más grandes (hasta que el área superficial total de todas las partículas llega a ser bastante pequeña para ser cubierta por los iones existentes del citrato).

4.2. Método de Brust et al.

Este método fue desarrollado por Brust y Schiffrin en los años 90, se puede utilizar para producir AuNPs dentro de líquidos orgánicos no miscibles en agua (como tolueno). Las AuNPs obtenidas son de aproximadamente 5-6 nm. El NaBH₄ es el agente reductor y el TOAB (Bromuro de Tetraoctilamonio) es un catalizador.

4.3. Sonólisis.

Otro método para la generación experimental de las partículas del Au es la Sonólisis.

Es un proceso basado en ultrasonido, donde se hace reaccionar una solución acuosa de HAuCl_4 con glucosa; los agentes de reducción son los radicales y el azúcar del hidroxilo y la morfología obtenida es la de nanolistones con un diámetro de 30-50 nm. La formación de listones con buenas características de flexibilidad da la facilidad para que puedan doblarse con ángulos mayores de 90° . Cuando la glucosa se substituye por la ciclodextrina (un oligómero de la glucosa) se obtienen partículas esféricas del Au.

Estabilidad de AuNPs: Al ser coloides liofóbicos las AuNPs son termodinámicamente inestables por lo que la capacidad para conservar sus propiedades fisicoquímicas a lo largo del tiempo depende estrictamente de la distancia entre las partículas dispersas en el medio acuoso, siendo factores clave para la estabilidad de estos sistemas, así como la magnitud de la carga y del movimiento Browniano, lográndose por tanto un incremento en la estabilidad al proporcionar carga a la partícula o mediante el uso de un solvente protector que impida la colisión entre ellas, producto del movimiento Browniano.

Debido al reducido tamaño de las AuNPs, algunos de los electrones de sus átomos de superficie pasan al medio confiriéndole una carga superficial de partícula levemente positiva (potencial de Nernst) que provoca la adsorción de aniones provenientes del medio en una monocapa inmediatamente contigua a la superficie de la partícula que terminan por conferirle una carga final levemente negativa (potencial zeta negativo) ^[109,117].

En consecuencia, las AuNPs presentan un potencial zeta negativo y muy cercano a cero lo que sugiere que las AuNPs requieren de una carga muy pequeña para estabilizarse. Estas observaciones llevaron a Derjaguin, Landau, Verwey y Overbeek a explicar la estabilidad de los sistemas coloidales liofóbicos a través de lo que hoy se conoce como la teoría DLVO (llamada así por Derjaguin, Landau, Verwey y Overbeek) ^[103].

De acuerdo a esta teoría, las fuerzas entre las partículas de una dispersión liofóbica estarían dadas por repulsiones electrostáticas y atracciones de Van Der Waals que resultarían en energías potenciales de repulsión y atracción, existiendo un gran potencial de atracción entre partículas y una barrera de repulsión a distancia dando lugar a la agregación de las partículas. El pequeño potencial negativo (potencial zeta) en las AuNPt y AuNPc es producido por la adsorción del citrato presente en el medio a la superficie de las partículas, permitiendo la estabilización de las AuNPs a través del equilibrio producido entre las fuerzas de repulsión y atracción en estos sistemas ^[109].

Por otra parte, cuando las AuNPs alcanzan un tamaño del orden de la longitud de onda de “de Broglie” correspondiente a los electrones de valencia de los átomos de su superficie, se produce una oscilación colectiva de estos electrones (plasmón de resonancia) que da lugar a un máximo de absorción al UV-visible de aproximadamente 530 nm, si los diámetros de partícula se encuentran entre 5 y 20 nm ^[115], y de aproximadamente 520 nm, si las partículas miden alrededor de 10 nm. Las AuNPs son de un color rojizo que se torna violeta cuando se aglomeran, lo que además se traduce en el desplazamiento de la longitud de onda hacia la derecha en la escala nanométrica, fenómeno que se ha atribuido al acoplamiento del plasmón entre las partículas. Este fenómeno permite evaluar la estabilidad relativa del coloide a través de UV-visible ^[117].

4.4. Evaporación Térmica, Solvotermal y Microondas.

Existen distintas rutas para la síntesis de estas NPs semiconductoras, siendo las más utilizadas: la evaporación térmica, solvotermal, y microondas.

4.4.1. La Evaporación Térmica.

Consiste en el calentamiento hasta la evaporación del material que se pretende depositar. Se realiza en una cámara de vacío en la que se condensa el vapor sobre una lámina fría requiriendo en todo momento un control preciso de las condiciones de crecimiento para no producir una modificación de la morfología de la capa depositada.

4.4.2. Síntesis Solvotermal.

La Síntesis Solvotermal es una técnica en la cual la reacción ocurre en un recipiente a presión, en la que los solventes se calientan a temperaturas altas, donde los tiempos de reacción son prolongados.

4.4.3. Irradiación por Microondas.

La técnica de irradiación con microondas produce NPs con una muy baja dispersión de tamaño, aunque se requiere un control preciso en el tamaño y morfología como en las otras técnicas ^[31,118].

4.5. Preparación por Polimerización.

4.5.1. Polimerización en Emulsión.

El término fue creado debido a que el monómero es emulsificado en un disolvente por medio de un emulsificador. De la polimerización, se obtienen pequeñas partículas en suspensión. Inicialmente se asume que estas partículas son producidas por polimerización de las gotas de monómero en emulsión. Las cuales se producen como resultado de las partículas del polímero que son tan pequeñas como las gotas de la emulsión inicial. Las micelas que se forman coexisten con una simple molécula de emulsificante que está presente en la solución y con las moléculas de emulsificante que son adsorbidas en la interface emulsión /gotas, esto estabiliza las gotas de la emulsión. Las moléculas de monómero se suelen difundir por las gotitas de la emulsión dentro de las micelas de emulsificante y las moléculas de monómero se solubilizan cuando la polimerización forma un polímero de látex.

La concentración del emulsificante no afecta el grado de polimerización, la formación de partículas observadas por efecto Tyndall son independientes del grado de polimerización. El número de micelas de emulsificante presentes no afectan el número de partículas formadas. A menor concentración de monómero la polimerización por emulsión puede llevarse a cabo sin ninguna molécula de emulsificante presente. El lugar de la iniciación de la polimerización se da en la fase del solvente. En esta fase cuando las moléculas de monómero son alcanzadas por una molécula inicial o por una alta energía de radiación. La polimerización y la cadena de crecimiento son mantenidas por nuevas moléculas de monómeros las cuales difunden con el crecimiento del polímero. La difusión de estas moléculas de monómero a través del crecimiento de las partículas del polímero es mucho más rápida que el proceso de polimerización, esto provee suficiente monómero alrededor de donde se lleva a cabo la polimerización. Las gotas de monómero y las micelas del emulsificante principalmente actúan como reservorios para futuros monómeros y en posteriores etapas como reservorios para las moléculas de emulsificante que estabilizan las partículas del polímero después de la separación de fases y para prevenir la coagulación. Se menciona que algunos sistemas pueden ser polimerizados sin ningún emulsificante ^[119].

En la figura 18 se muestra el proceso de polimerización en emulsión donde el crecimiento de las moléculas de polímero permanecen disueltas alrededor de la fase continua. Al alcanzar cierto peso molecular, las moléculas formadas llegan a ser insolubles de manera que la separación de fases y la formación de partículas indican que ocurre una dispersión de Tyndall. Después de la separación de fases, el monómero adicional y las moléculas de polímero, incluyendo los micro y macro radicales que difunden aumentando las partículas de polímero, manteniendo el tamaño de las partículas. La terminación de la polimerización por la reacción de dos radicales puede tomar lugar antes o después de la formación de las partículas. Los tamaños de las partículas tienen un intervalo entre 10^3 daltons (Da) en el caso de las NPs de poli alquil cianoacrilato y 4×10^5 Da para NPs de poli metacrilato metilo ^[120].

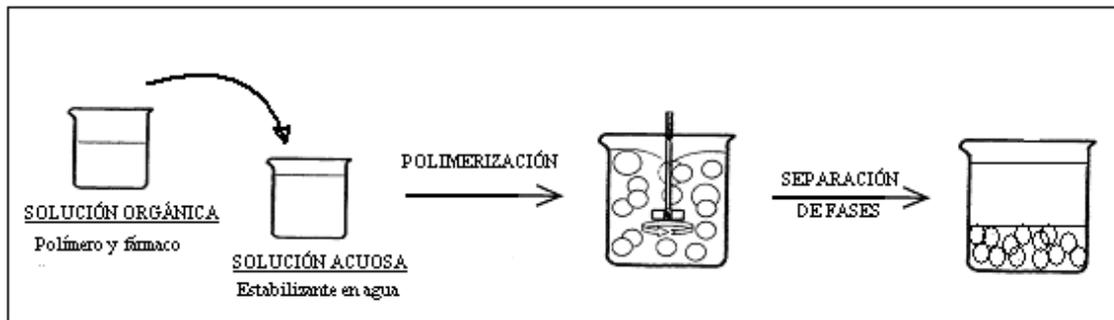


Figura 18. Representación esquemática de la preparación de nanopartículas por el método de Polimerización en Emulsión ^[120].

4.5.2. Polimerización en una fase acuosa continúa.

4.5.2.1. NPs de poli metacrilato de metilo.

Las NPs de poli metacrilato metilo se degradan muy lentamente. Por lo cual son utilizados como adyuvantes para vacunas cuando se desea lograr una respuesta inmune muy prolongada.

Los monómeros de metacrilato de metilo son solubles en agua en concentraciones superiores al 1.5%, después de la disolución del monómero, la polimerización inicia con alta energía de radiación (500 Krad de rayos γ y por una fuente de ^{60}Co) o por la adición química de un iniciador de polimerización como el peroxodisulfato de amonio o potasio y calentando a altas temperaturas. La polimerización puede llevarse a cabo fuera del sistema agua-metacrilato metilo. En lugar de agua pura, una solución buffer de la solución del fármaco o de otro material relacionado con las NPs que pueda ser usado en el medio de polimerización ^[121].

Otro método de la polimerización del metacrilato de metilo es la iniciación química. En este caso, el sistema es calentado a temperaturas por encima de 65°C, el iniciador (peroxodisulfato de potasio o amonio) es adicionado durante el calentamiento a aproximadamente 40 o 50°C. El peso molecular además del tamaño de partícula de las NPs resultantes aumenta con el incremento de la concentración del monómero, y disminuye muy ligeramente con el aumento de la temperatura y con el incremento de la concentración del iniciador.

Un incremento en la concentración del iniciador a una temperatura constante incrementa el número de radicales generados. A una concentración constante de monómero, estas disminuyen el peso molecular de las moléculas de polímero resultante. Un incremento en la temperatura tiene un efecto similar, debido al incremento de la desintegración de las moléculas del iniciador y por lo tanto del número de radicales de nucleación, manteniéndose constante la concentración de las moléculas del iniciador.

En este proceso, el peso molecular, así como el tamaño de partícula aumentan con un incremento en la concentración del monómero, disminución de la concentración del iniciador, y disminución de la temperatura [122].

Las NPs de poli metacrilato de metilo son generalmente producidas sin la adición de algún emulsificante. Las macromoléculas hidrofílicas se presentan en el medio de polimerización llevando a una distribución homogénea del tamaño de partícula, debido al agente dispersante. En la Figura 19 se representa un esquema de la preparación de NPs utilizando el método de Polimerización en fase acuosa continua (NPs de metacrilato de metilo) [120].

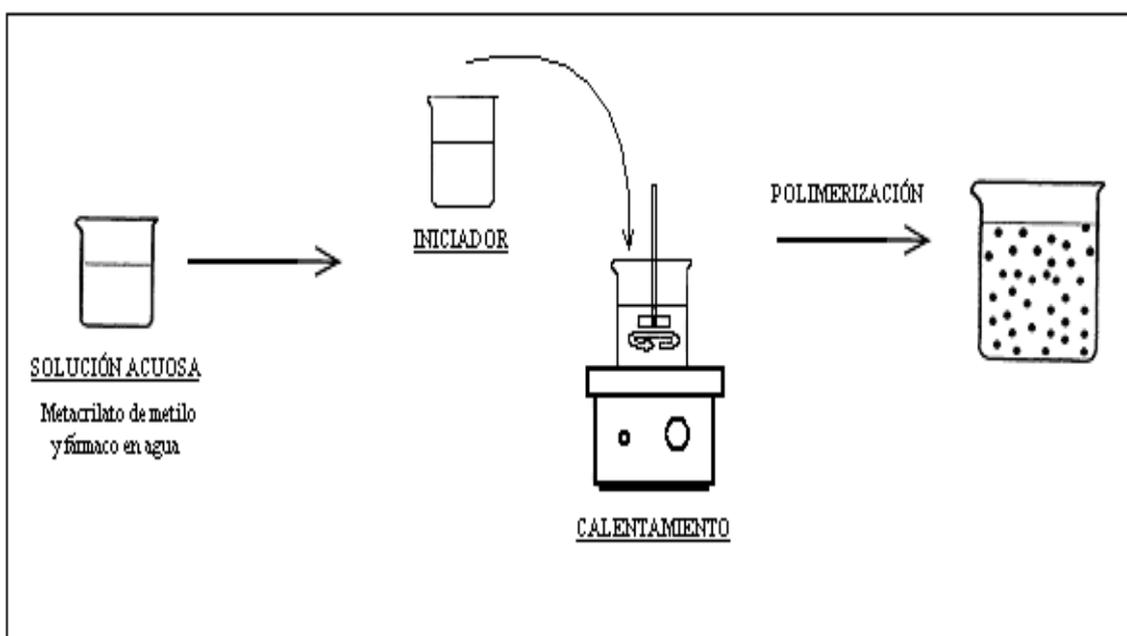


Figura 19. La sustancia biológica activa, por ejemplo el fármaco o un antígeno, puede estar presente durante la polimerización o puede ser adicionado antes de producir las NPs vacías

[120].

4.5.2.2. NPs de poli alquil cianoacrilato.

Las NPs de poli alquil cianoacrilato son rápidamente biodegradables. Por esta razón son eliminadas del cuerpo en algunos días.

Los monómeros de cianoacrilato son adicionados al medio de polimerización acuosa en concentraciones de 0.05% y 7%. El mecanismo de polimerización es un proceso aniónico iniciado por las bases presentes en el medio de polimerización. El cianoacrilato es el principal iniciador de los iones OH^- resultado de la disociación del agua, por algunos fármacos que solo actúan como iniciadores.

Estos OH^- inducen la polimerización de forma rápida. Por esta razón el pH debe mantenerse por debajo de 3.5, con algunos fármacos por debajo de $\text{pH}=1.0$ se favorece la formación de NPs. La influencia de la temperatura, pH, tipo de monómero y concentración de electrolito, agente acidificante y emulsificante, usados en el proceso de polimerización es muy compleja. La razón por la que el medio de polimerización genera la iniciación con iones OH^- es porque también son simultáneos los iones H^+ los cuales terminan la reacción de polimerización (Figura 20 y Figura 21). Como resultado de la terminación por iones H^+ el peso molecular después de la polimerización es muy bajo y disminuye con la disminución del pH.

Como resultado del bajo peso molecular, el crecimiento de las partículas es muy lento, así como el proceso de aglomeración. Por esta razón los estabilizantes tienen una influencia significativa en el tamaño de partícula y en el peso molecular. Esta influencia de los estabilizantes es también bastante compleja. La concentración de estabilizante limita el tamaño de partículas.

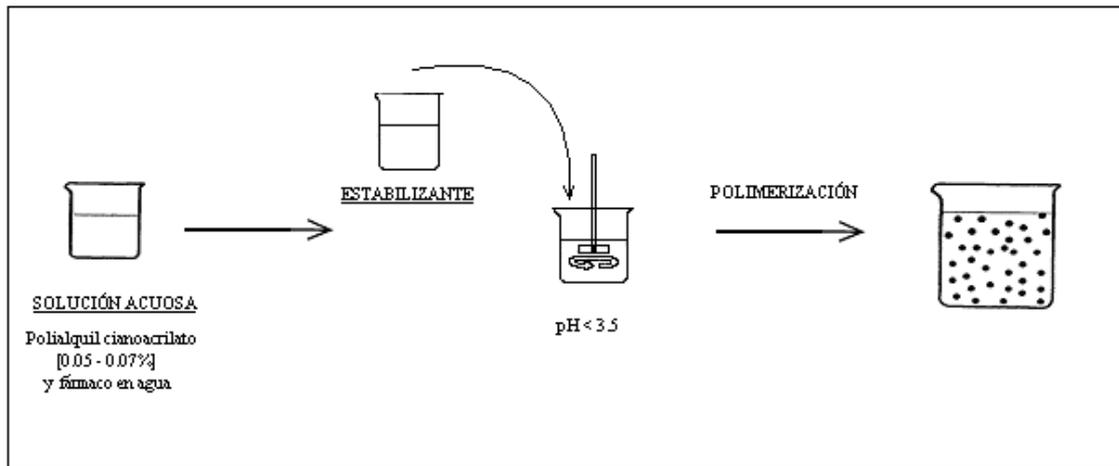


Figura 20. Representación esquemática de la preparación de nanopartículas por el método de Polimerización en fase acuosa continua (NPs de poli alquil cianoacrilato) [122].

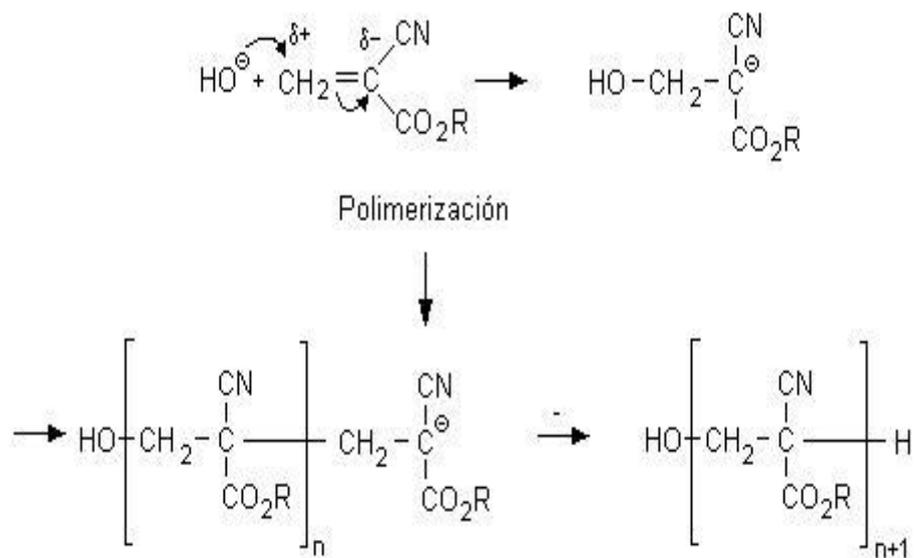


Figura 21. Mecanismo de polimerización de poli alquil cianoacrilato [120].

Las NPs producidas sin estabilizante o por uso de polisorbatos como tensoactivos presentan una distribución monomodal de peso molecular con una media de peso molecular de 1000-4000 Da, mientras que algunos estabilizantes como el dextrano o poloxameros llevan a una distribución diferente de peso molecular con máximos de 1000-4000 Da y 20 000-40 000 Da. Esta distribución bimodal es indicativa de dos reacciones de polimerización separadas. Una reacción ocurre en la fase acuosa donde la terminación de la polimerización por iones H^+ es rápida utilizando pesos moleculares pequeños. Después de la formación de las partículas primarias, la polimerización captura el crecimiento indeterminado de estas partículas. Debido a la reducción de la concentración de H^+ en el medio se reduce el proceso.

Consecuentemente, los pesos moleculares resultantes son grandes. Es posible que el incremento del peso molecular sea causado por la incorporación de dextranos o poloxameros dentro de las cadenas de polímero. Otros factores que contribuyen al tamaño de partícula de las NPs incluyen la concentración del monómero y la velocidad de agitación es determinante. La finalización de la polimerización de los cianoacrilatos en agua es gobernada por los H^+ inductores en el término de la reacción.

El ligero incremento en el tamaño de las partículas ocasionado por el aumento de la velocidad de agitación es debido a la alta energía cinética en el sistema. Este incremento en el nivel de energía cinética posibilita algunos oligómeros, pequeñas partículas semisólidas, y grandes partículas regulares que supera la barrera de energía interfacial alrededor de las partículas. Este incremento del tamaño de las partículas se acopla con el incremento en la polidispersividad.

Debido a la iniciación de la polimerización de cianoacrilatos por bases, los fármacos básicos solo pueden actuar como iniciadores de la polimerización. En este caso estos fármacos pueden ser incorporados en la cadena del polímero. Estos fármacos incorporados pueden prevenir en muchos casos una reducción del pH o un cambio en la composición del medio de polimerización. Los fármacos altamente básicos pueden interactuar con el monómero. Esta interacción se puede evitar por la adición del fármaco en las NPs después de la polimerización. Debido a la complejidad del proceso de polimerización de los cianoacrilatos el tamaño de partícula resultante en estos sistemas es difícil de predecir [120].

4.5.2.3. NPs de copolímero acrílico.

Se emplea la irradiación gama como iniciador de la polimerización. Algunos de los monómeros empleados son: metacrilato de metilo, 2-hidroxiethyl metacrilato, ácido metacrílico, dimetil acrilato etilen glicol, acrilamida, *N, N'*-dimetilacrilamida, y 2-dimetilamina [120].

Un aumento en el contenido de ácido acrílico de NPs de copolímero de poli metacrilato de metilo no incrementa el potencial Z, ni se correlaciona con las variaciones observadas en el tamaño de partícula. El ácido acrílico influye en el crecimiento de partícula disminuyendo su tamaño.

Los anticuerpos, aminoácidos y moléculas fluorescentes pueden unirse covalentemente a las NPs usando el método de bromuro cianógeno, carbodiamida, y glutaraldehído [122].

4.5.2.4. NPs de poliestireno.

Las NPs de poliestireno pueden ser producidas por métodos similares a las NPs poliacrílicas. La solubilidad en agua del estireno, es baja con respecto a los demás acrilatos. Por lo cual, se requiere el uso de tensoactivos ^[120].

4.5.2.5. NPs de poli (vinil piridina).

La polimerización se lleva a cabo fuera de la solución acuosa de metanol o acetona que contiene N, N-di-metilen acrilamida como agente ligante. El tamaño de las partículas de poli (4-vinil piridina) puede ser monitoreadas por la concentración de monómero y por la cantidad de metanol o acetona presentes en el agua.

En lugar de la 4-vinilpiridina, otras vinilpiridinas como la 2-vinilpiridina o 2-metil-5-vinilpiridina pueden ser usadas para la producción de este tipo de NPs. El uso de estabilizantes como el oxido de polietileno, polisorbato 20, o polisorbato 85 posibilitan la polimerización en sistemas orgánicos acuosos libres de solvente. Tanto las NPs de poliestireno, como las de poli vinil piridina no son biodegradables, por lo que no son usados para la administración parenteral, pero se pueden usar como inmunosorbentes ^[122].

4.5.2.6. NPs de poli acroleína.

Las NPs de poli acroleína pueden ser producidas por polimerización acuosa de acroleína usando irradiación gama, o por polimerización bajo condiciones alcalinas usando NaOH. El tamaño de partícula puede ser controlado por el tensoactivo. Entre los tensoactivos se incluyen el lauril sulfato de sodio, oxido de polietileno, alcohol polivinílico, y el polisorbato 20.

Los ligandos como los fármacos proteínicos, enzimas y antibióticos pueden ser unidos covalentemente por los grupos amino vía formación de bases de Schiff a las NPs de poli acroleína^[120].

4.5.2.7. NPs de poli glutaraldehído.

Las NPs de poli glutaraldehído con un intervalo de tamaño de 50 nm a 1500 nm pueden ser obtenidas por poli condensación aldólica con un monómero de glutaraldehído a un pH alcalino. El grado de reacción incrementa significativamente a pH>7. El mecanismo se muestra a continuación en la fig. 22.

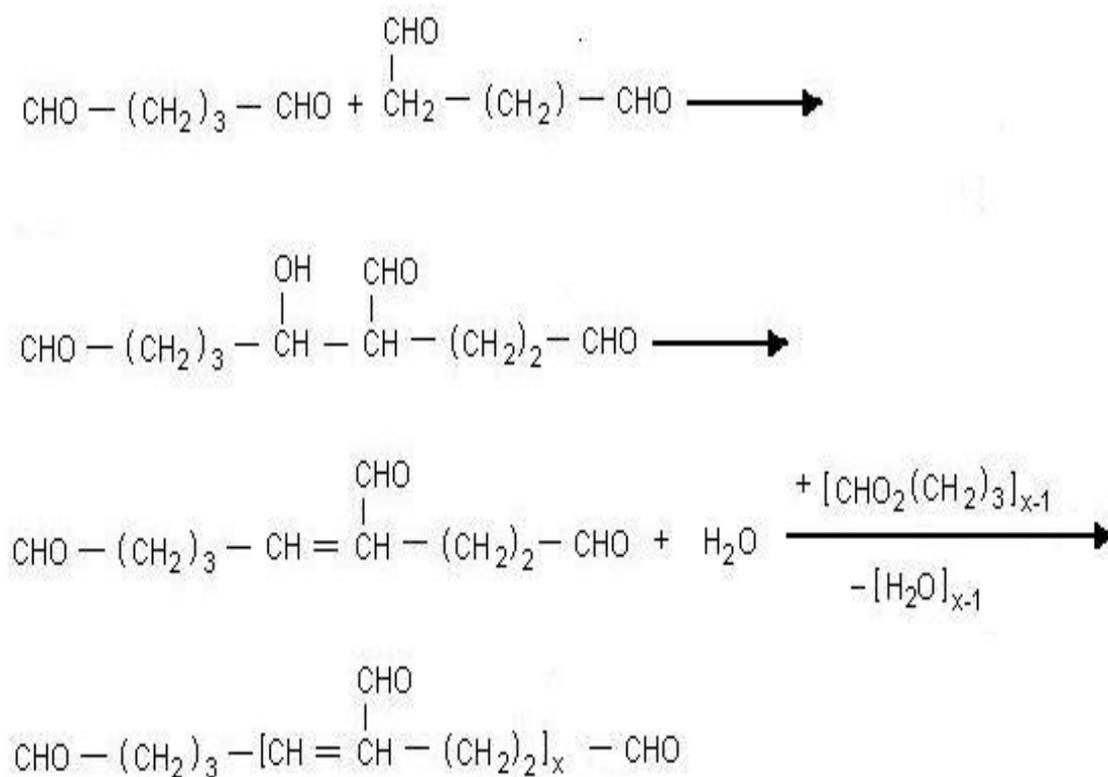


Figura 22 Mecanismo de polimerización del poli glutaraldehído ^[120].

En presencia de tensoactivos como el Aerosil® 604 o una mezcla de 1% de Guar C-13 y 5% de óxido de polietileno con un peso molecular de 10 000 y en una solución acuosa básica, el glutaraldehído precipita fuera formando partículas esféricas coloidales. El diámetro de las partículas incrementa con el incremento de la cantidad de monómero o con la disminución de la concentración del tensoactivo. El incremento en el pH solo causa una disminución del tamaño de partícula, que es más probable durante la reacción de Cannizzaro^[120].

4.5.2.8. NPs de Poli alquil metilidenemalonato.

Los ésteres de ácido dialquíil metilidenemalonato pueden ser polimerizados por OH^- induciendo polimerización cationica similar a los poli alquil cianoacrilatos. La ventaja de los ésteres de ácido metilidenemalonato es que la polimerización puede ocurrir a pH neutro. En contraste con los policianoacrilatos, estas NPs no se degradan rápidamente, ya que el 90% de la dosis administrada persiste en el cuerpo por 90 días después de una inyección intravenosa en ratones^[120].

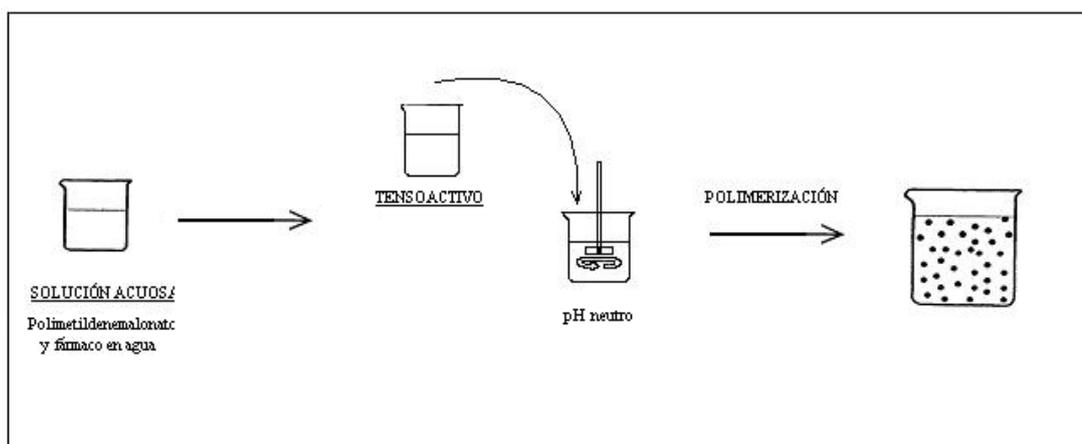


Figura 23. Representación esquemática de la preparación de nanopartículas por el método de Polimerización en fase acuosa continua (NPs de polimetilidenemalonato) ^[120].

Es uno de los primeros procesos para la producción de NPs. En este proceso la fase es reversa y se emplean monómeros muy solubles en agua. Inicialmente la acrilamida y el N, N'-diacrilamida son usados como monómeros. El monómero es solubilizado por tensoactivos. La iniciación de la polimerización puede llevarse a cabo químicamente usando N, N, N', N'-tetrametil endiamina y peroxodisulfato de potasio como iniciadores o por radiaciones gama o UV. (Ver fig. 23)

Los monómeros de cianoacrilato son mucho menos tóxicos que la acrilamida y estos polímeros son degradados rápidamente. Por esta razón, el proceso de polimerización en emulsión en una fase orgánica continua es adaptado para la producción de NPs de poli alquil cianoacrilatos. En este caso el monómero es adicionado a la fase continua debido a la alta solubilidad en solventes orgánicos.

Estas partículas sólidas son observadas más frecuentemente que las nanocápsulas. La razón por la que es posible la producción de NPs por este proceso es la siguiente: El fármaco disuelto en una pequeña cantidad de agua es solubilizado por tensoactivos dentro de la fase orgánica. Dando la formación de una microemulsión con micelas hinchadas de agua conteniendo el fármaco. Adicionalmente los monómeros de alquil cianoacrilato difunden en estas micelas y los iones OH^- y/o fármacos básicos inician la polimerización. Este proceso de polimerización en algunos casos es tan rápido que solo un polímero bastante impermeable forme una interface aceite/agua, previniendo la difusión de moléculas de monómero dentro del interior las partículas. Sin embargo se menciona que en muchos casos en el interior de las partículas además de la polimerización se forman partículas monolíticas sólidas. (Ver fig. 24)

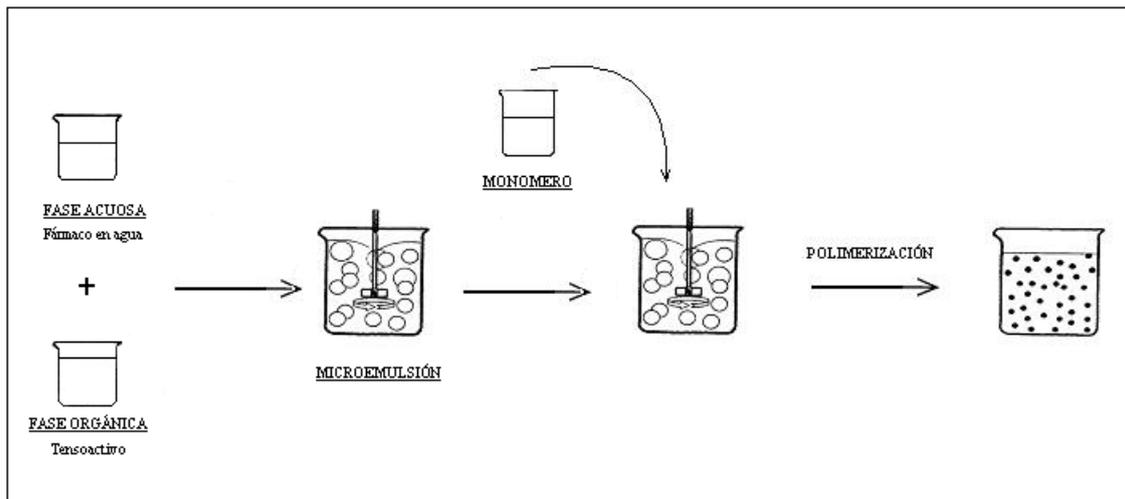


Figura 24. Representación esquemática de la preparación de nanopartículas por el método de Polimerización en una fase orgánica continua [122].

Para este proceso se usan como fase orgánica: isooctano, ciclohexano-cloroformo (4:1), isopropil miristato-butanol (10:1), ciclohexano, diclorometano, n-pentano, n-hexano, butanol, toluol, aceite de ricino, y/o miristato de isopropílico. Como tensoactivos se emplean el troleato de sorbitan, Arlacel® A, dioctil sulfosuccinato, Polisorbato 20 y 81, poli hidroxietilen-4-lauril éter, monolaureato de sorbitan, monopalmitato de sorbitan, monoestearato de sorbitan, y Cremophor RH 40®. Los fármacos que han sido encapsulados incluyen el triamcinolol, doxorubicina, fluoresceína y azul de metileno [122].

4.6. Polimerización Interfacial.

La polimerización de alquil cianoacrilatos en un solvente orgánico contiene micelas hinchadas de agua que pueden llevar a la formación de una pared polimérica en la interface solvente micelar - agua. La mayoría de las partículas formadas por este proceso son partículas monolíticas continuas. Por lo tanto se requieren métodos alternativos para la formación adecuada de NPs. Dos de estos procesos son los siguientes:

a) NPs de Poli (N^α, N^ε-L-Lisindiltereftaloil)

Arakawa y Kondo prepararon NPs de poli (N^α, N^ε-L-Lisindiltereftaloil) conteniendo hemolisato por desolvatación de hemolisina, L-lisina y carbonato de sodio en agua.

La mezcla es adicionada muy lentamente (0.042ml/min) a una solución de cloruro de ditereftaloil en una mezcla de ciclohexano, cloroformo y cloruro de tetrametil amonio manteniéndose en agitación. Un potencial de 850 v (voltios) es aplicado entre la aguja de agitación que sirve como ánodo y un alambre de platino que sirve como cátodo. El cátodo se localiza inmerso en la fase orgánica y a una distancia de 5 mm de la aguja de agitación. El tamaño de las NPs es de 380 nm cuando se forman por este proceso (Ver fig. 25) [122].

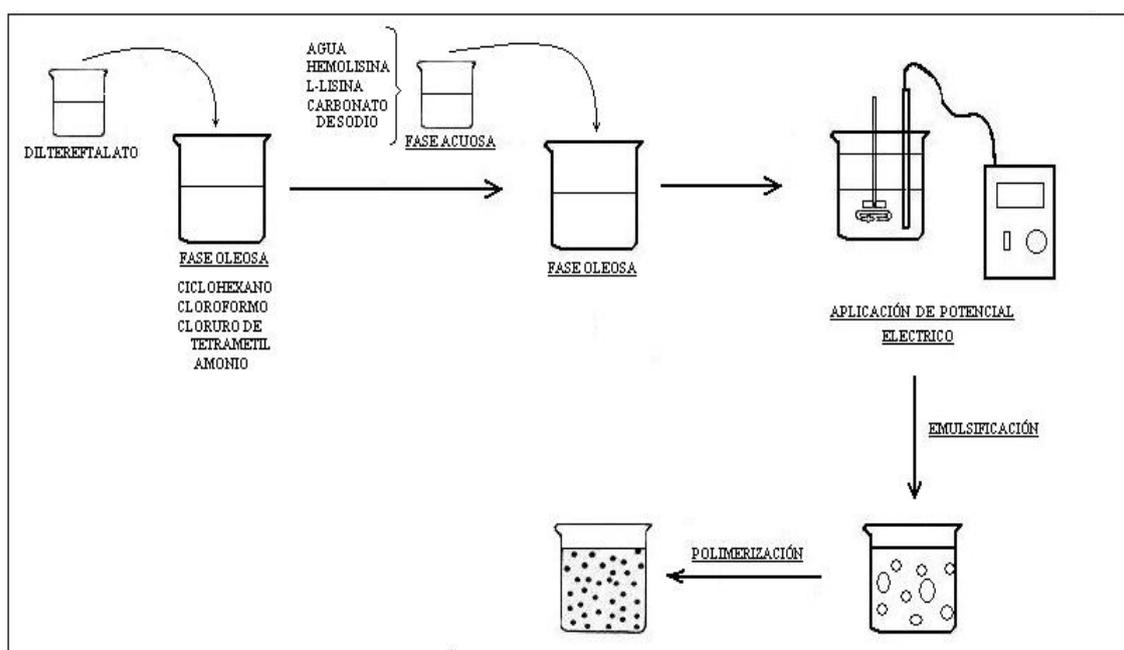


Figura 25. Representación esquemática de la preparación de nanopartículas por el método de Polimerización interfacial (NPs de Poli ($N\gamma$ - $N\epsilon$ -L-Lisin ditereftaloato) [122].

En este proceso es aplicado un potencial eléctrico entre una fase oleosa y una acuosa, cuando este potencial excede cierto valor, la tensión interfacial es reducida a aproximadamente cero y ocurre una emulsificación espontanea [120].

b) NPs de poli alquil cianoacrilato

Las NPs pueden ser formadas por polimerización interfacial alrededor de una fase acuosa. En este proceso además del monómero de cianoacrilato el fármaco liposoluble es disuelto en una mezcla de etanol/aceite.

La cantidad de fase oleosa etanol es de aproximadamente 1:10 hasta 1:200. Los aceites usados pueden ser Miglyol®, ácido bencílico, u otro aceite. La solución orgánica contiene al fármaco y el monómero es adicionado lentamente (aproximadamente 0.5 ml/min) a través de un tubo o de un capilar a una solución acuosa, agua o una solución buffer (pH 3-9) la cual contiene un tensoactivo como el poloxamero 188 o 407, o fosfolípidos. Las nanocápsulas consisten de una gota de aceite rodeada de una pared polimérica la cual es formada espontáneamente por una polimerización aniónica del cianoacrilato en aceite después del contacto con los iones iniciadores OH^- del agua. (Ver fig. 26)

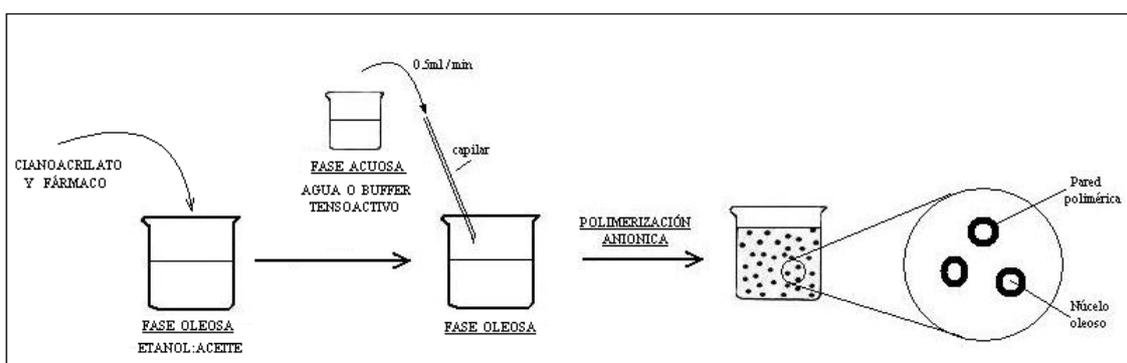


Figura 26. Representación esquemática de la preparación de NPs por el método de Polimerización interfacial (NPs de Poli alquil cianoacrilato) [120].

El diámetro de las cápsulas es controlada por la concentración de Miglyol®. El pH de la fase acuosa además de la saturación del monómero con dióxido de sulfuro, desaceleran la polimerización, y no tiene efecto significativo en el tamaño de partícula. El incremento de la concentración de monómero incrementa la densidad pero no el tamaño de las nanocápsulas [120].

4.7. Deposición de Solvente.

Las nanocápsulas de Poli (D-L-lactato) pueden ser producidas por un proceso llamado deposición de solvente. En este proceso el polímero Poli (D-L-lactato) además de los fosfolípidos son disueltos en acetona.

Una solución del fármaco en benzoato de bencilo es adicionada a la fase orgánica, y esta mezcla posteriormente se vierte en agua la cual contiene 0.5% de poloxamero 188 bajo agitación moderada. Las nanocápsulas con una pared de poli (D-L-lactato) con un núcleo oleoso se forman instantáneamente. Esta suspensión es concentrada por evaporación de la acetona y por remoción parcial del agua por presión reducida. (Ver fig. 27)

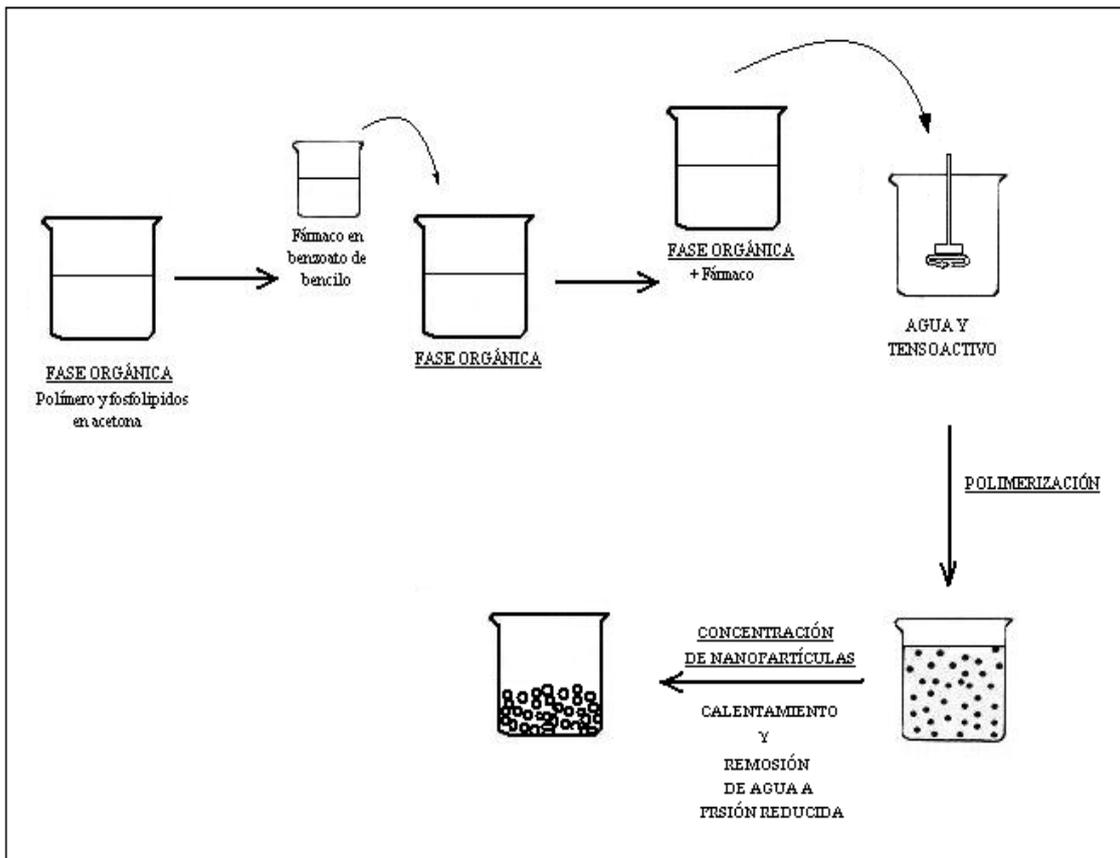


Figura 27. Representación esquemática de la preparación de NPs por el método de Deposición de solvente [120].

Las nanocápsulas de Poli-ε-caprolactona así como de ácido poli-láctico-glicólico pueden ser producidas por un método similar [123].

4.8. Emulsificación- Evaporación de solvente.

Descrito para la preparación de microesferas con tamaños de aproximadamente 1 μm . Sin embargo, con este proceso se pueden obtener partículas menores a 1000 nm ^[120].

La evaporación de solvente es un método bien establecido para la preparación de microesferas con un tamaño de 1 μm . El polímero es disuelto junto con el fármaco en un solvente orgánico, el cual es emulsificado en agua y posteriormente se evapora por calentamiento y/o presión reducida. Por esta razón el tamaño de partícula de las partículas poliméricas depende del tamaño de las gotas en la emulsión antes de la evaporación del solvente. El tamaño puede ser controlado por un número de factores incluyendo grado de agitación, el tipo y la cantidad de agente dispersante, la viscosidad de la fase orgánica y acuosa, la configuración del vaso y del agitador, la cantidad de la fase acuosa y orgánica, y la temperatura.

Los emulsificantes empleados para este proceso pueden ser: acetato de polivinilo, polisorbatos, bromuro de cetil trimetil amonio, y lauril sulfato de sodio ^[124]. Algunos de los polímeros empleados son: Eudragit® RS, Eudragit® RL, y etil celulosa, que no requieren ningún tensoactivo o estabilizador polimérico. En otros casos se pueden emplear el polisorbato 80, poloxamero 188, lauril sulfato de sodio, Brij® 35, Myrj® 52, o acetato polivinílico ^[125]. (Ver fig.28)

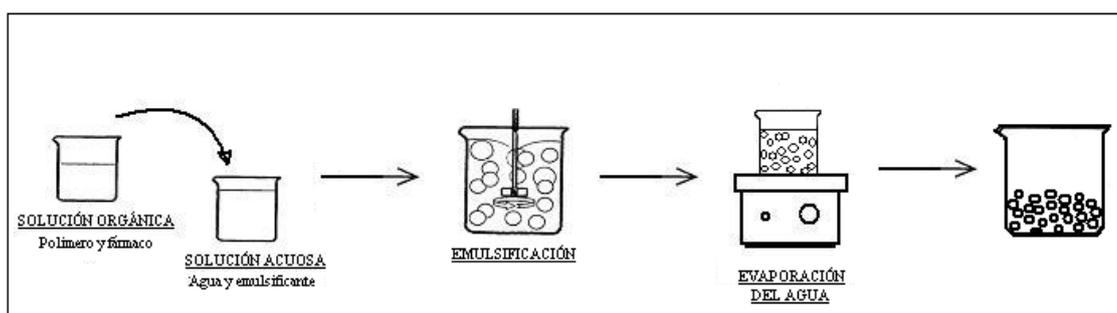


Figura 28. Representación esquemática de la preparación de nanopartículas por el método de Evaporación de Solvente ^[120].

El tamaño de las NPs después de la evaporación de cloroformo depende del tensoactivo y del método de emulsificación. La emulsificación a presiones elevadas reduce el tamaño de partícula de 170 a 220 nm ^[126].

4.9 Salting-Out

Se basa en la separación de un disolvente miscible con agua de una disolución acuosa mediante efecto de Salting-Out. En esta técnica no pueden ser utilizados los disolventes clorados, ya que puede existir alguna competencia entre los iones. Mediante esta técnica se obtiene una emulsión agua en aceite. La fase oleosa de la emulsión está compuesta por el polímero y el activo, los cuales están disueltos en acetona (ya que se conoce muy bien su comportamiento) y la fase acuosa contiene acetato de magnesio tetrahidratado (electrolito) y un estabilizante coloidal. Posteriormente se agrega agua hasta tener un volumen suficiente en el cual se permita la difusión de la acetona en la fase acuosa y se formen las NPs. Esta suspensión puede ser separada por filtración o liofilización [127,128]. (Ver fig. 29)

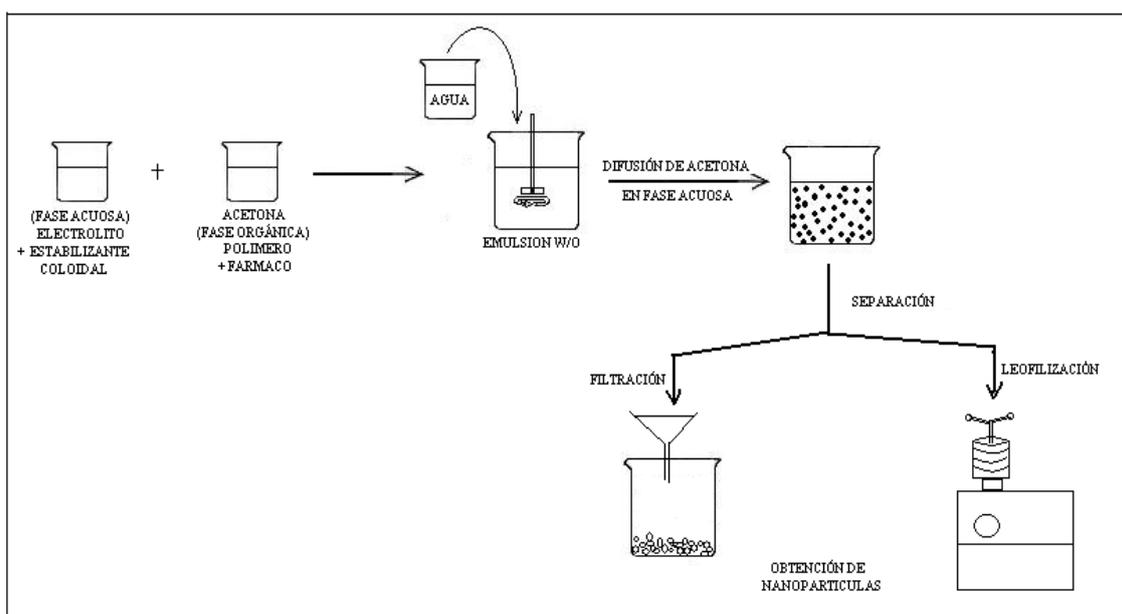


Figura 29. Representación esquemática de la preparación de nanopartículas por el método Salting-Out [128].

4.10. Emulsificación-Difusión.

Para este método se utiliza un disolvente miscible en agua, por ejemplo la acetona o el carbonato de propileno. El polímero y el activo se disuelven en el disolvente y posteriormente se emulsifica en una fase acuosa, la cual contiene un estabilizador. El estabilizador previene la agregación de las gotas ya que éste se adsorbe a la superficie de las gotas.

Se agrega un poco más de agua para permitir la difusión del disolvente o la fase acuosa y se formen las NPs. La solución se agita para precipitar a las NPs, y pueden recolectarse por centrifugación o se puede eliminar el disolvente por diálisis [129, 130,131]. (Ver fig. 30)

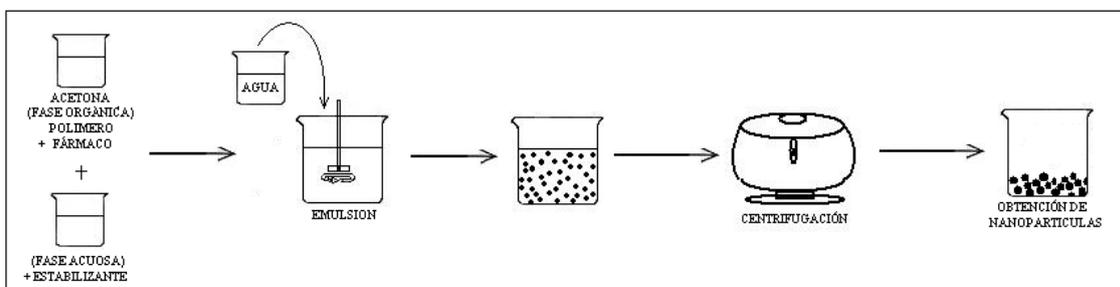


Figura 30. Representación esquemática de la preparación de nanopartículas por el método Emulsificación [129].

4.11 Microemulsión por Fusión.

Un sistema de dos fases, compuesto por una fase interna y una fase externa donde el tamaño es menor a $1\mu\text{m}$, lo cual le confiere la característica de ser transparentes (por ejemplo, las microemulsiones aceite/agua). Estas se obtienen por agitación constante a $60\text{--}70\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta obtener una mezcla ópticamente transparente, que normalmente está compuesta por un ácido graso de punto de fusión bajo, un tensoactivo, un co-tensoactivo y agua. La microemulsión caliente se dispersa en agua fría ($2\text{--}3\text{ }^{\circ}\text{C}$) bajo agitación.

El volumen de agua fría que debe agregarse a la microemulsión caliente debe ser de 25 a 50 veces mayor. Esta técnica es recomendada para obtener SLN, ya que el punto de fusión de los ácidos grasos es menor que el de los polímeros sintéticos, pero en algunos casos resulta ser una buena opción aplicarla para polímeros con bajo punto de fusión y que tengan la capacidad de disolver al fármaco en cuestión [121,132]. (Ver fig. 31)

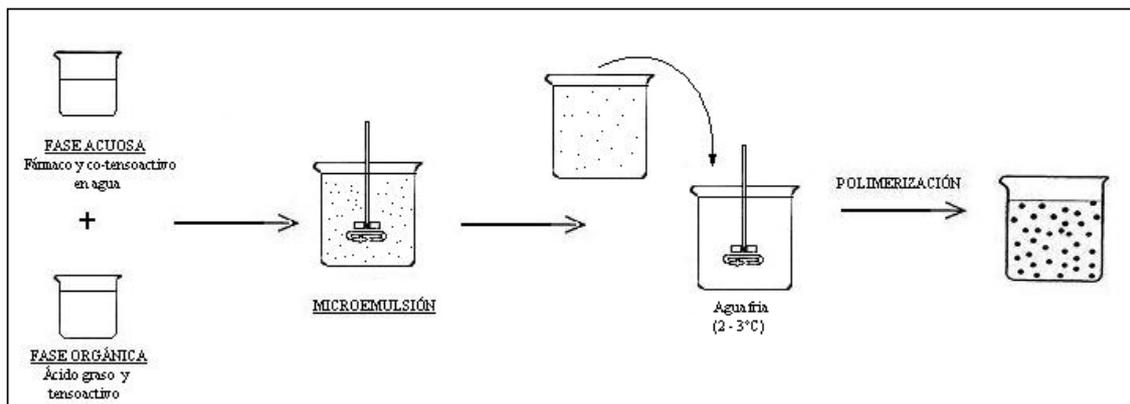


Figura 31. Representación esquemática de la preparación de nanopartículas por el método de Microemulsión por Fusión ^[121].

4.12. Producción de SLN.

Las SLN resultaron una adecuada opción para ser empleadas como acarreadores de fármacos. La matriz del lípido está formada de lípidos fisiológicos o de lípidos biodegradables/biocompatibles, con los que se disminuye el riesgo de que se presente una toxicidad crónica ^[133, 134].

Las SLN, incrementan la estabilidad del fármaco, la posibilidad de controlar la liberación del fármaco, la incorporación de fármacos lipídicos e hidrofílicos, la vectorización del fármaco y la nula biotoxicidad de los acarreadores ^[135].

Al preparar NPs lipídicas se deben considerar tres pasos:

El primer paso es la preparación de la fase oleosa mediante la fusión o disolución de los lípidos, los lípidos que formaran la matriz de la NP deberán seleccionarse considerando su capacidad para disolver el fármaco que constituye la carga. Dado que el fármaco queda disperso o disuelto en la fase oleosa, su concentración en la matriz pudiera tener un efecto significativo en el tamaño y en la estructura de la partícula.

El segundo paso consiste en la preparación de la fase acuosa, la cual generalmente es una solución de alta concentración de tensoactivos combinados con co-tensoactivos o con polímeros estabilizantes. Los co-tensoactivos tienen un gran impacto en la calidad de las NPs puesto que son adsorbidos en la superficie de la gota de lípido formando una barrera estérica que le imparte estabilidad.

El tercer paso consiste en la formación de una pre-emulsión, mezclando ambas fases en frío o en caliente, mediante agitación vigorosa. La última etapa consiste en la dispersión acuosa de las NPs lipídicas mediante procesos de Evaporación, Centrifugación, Secado o liofilizado.

Se pueden obtener por medio de algunos de los métodos mencionados anteriormente, como Emulsificación-Evaporación, o Emulsificación-Difusión [136].

4.12.1. Homogenización a Alta Presión.

La homogenización a alta presión es una buena técnica para la producción de SLN. Los homogeneizadores empleados empujan un líquido a altas presiones (100-2000 bar) a través de un espacio estrecho (un intervalo de pocos micrones). El fluido es acelerado a altas velocidades (1000 Km/h) a cortas distancias lo que provoca la división de las partículas a un intervalo submicrónico. La producción de SLN por homogenización puede llevarse a cabo por homogenización en caliente y homogenización en frío. En ambos casos, un primer paso es la incorporación del fármaco en el lípido por disolución o dispersión del fármaco en el lípido fundido [137].

a) Homogenización a Alta Presión en Caliente.

La homogenización en caliente se lleva a cabo a temperaturas por arriba del punto de fusión del lípido (aproximadamente 5°C por arriba del punto de fusión). Primero se realiza una pre-emulsión del lípido fundido que contiene el fármaco con la fase acuosa conteniendo un estabilizador a la misma temperatura.

Esta pre-emulsión es sometida a una homogenización a alta presión de la cual resulta una nanoemulsión ya que el lípido se encuentra en estado líquido. Las partículas sólidas son formadas por un enfriamiento de la muestra a temperatura ambiente.

b) Homogenización a Alta Presión en Frio.

La homogenización en frío ha sido desarrollada debido a los siguientes problemas de la homogenización en caliente:

La alta temperatura produce la degradación del fármaco (fármacos termolábiles).

La distribución del fármaco en la fase acuosa durante la homogenización (fármacos hidrofílicos).

La complejidad del paso de cristalización de la nanoemulsión provoca modificaciones en el lípido.

El primer paso es igual que el de la homogenización en caliente en donde se solubiliza o se dispersa el fármaco en el lípido fundido seguido de un rápido enfriamiento, altos intervalos de enfriamiento favorecen una distribución homogénea del fármaco en la matriz lipídica e incrementa la fragilidad del lípido. El sólido es molido para generar micropartículas, las cuales son dispersadas en la fase acuosa con estabilizante para formar una pre-emulsión la cual se someterá a una homogenización a alta presión a temperatura ambiente^[137]. (Ver fig. 32).

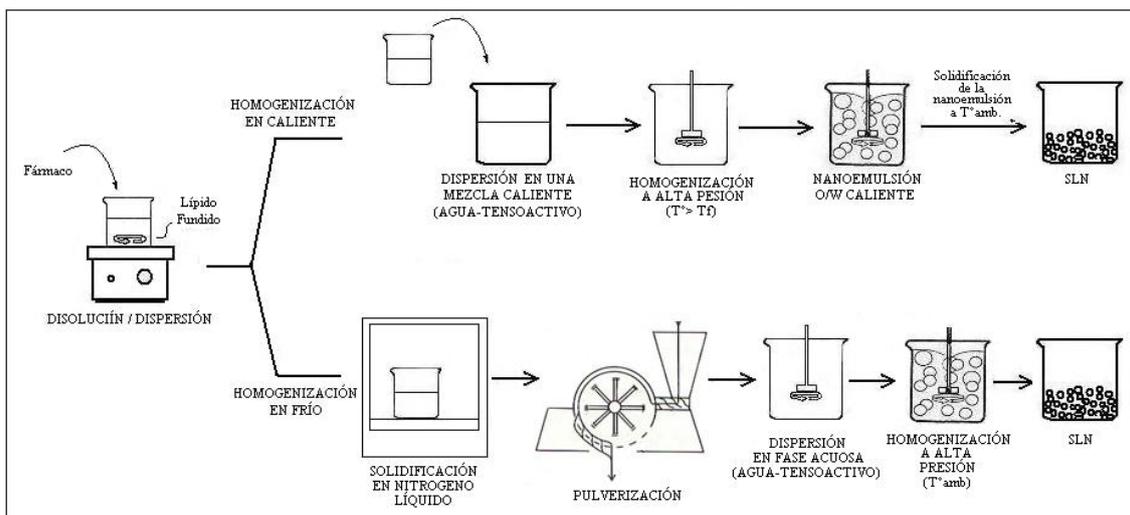


Figura 32. Representación esquemática de la preparación de SLN ^[137].

4.13. Producción de NPs por Proteínas.

4.13.1. Producción de NPs de Albúmina en una Emulsión Oleosa.

Las NPs producidas por albúmina o alguna otra macromolécula, pueden ser producidas por emulsificación de una solución acuosa de estas macromoléculas y el fármaco que es incorporado dentro de las partículas en la fase oleosa. Las gotitas resultantes pueden endurecerse por entrecruzamiento con aldehídos u otro tipo de entrecruzamiento, o por la desnaturalización de las moléculas a altas temperaturas. Este procedimiento se usó anteriormente para la elaboración de microesferas.

El proceso de elaboración de NPs por este medio es el siguiente, la albúmina u otra macromolécula similar en concentración aproximadamente de 100 – 500 mg/ml es disuelta en agua. El fármaco hidrosoluble y las partículas magnéticas son adicionados en la fase acuosa. Esta fase es emulsificada en fase oleosa u otro medio lipofílico usando un emulsificador mecánico o por ultrasonificación. Después del endurecimiento las NPs se desarrollan por adición de glutaraldehído u otro agente de entrecruzamiento. Alternativamente el endurecimiento puede ocurrir cuando se vierte la emulsión en un volumen igual de aceite caliente (fase oleosa), y la mezcla se mantiene a temperaturas elevadas (100 a 180° C) durante 10 a 15 min. El aumento de la temperatura en el aceite caliente lleva a una desnaturalización irreversible de la proteína y a la formación de las partículas. Posteriormente la mezcla es enfriada a temperatura ambiente. En algunos casos las partículas resultantes pueden ser separadas y lavadas con solventes orgánicos volátiles (éter).

La adición de tensoactivos como el polisorbato 20, 80 u otro tensoactivo no solo estabilizan la emulsión, sino también ayudan a resuspender las partículas al final del secado en agua. La concentración de albúmina, la temperatura de la emulsión antes de la adición del aceite caliente, la proporción del volumen de la fase acuosa a la no acuosa, la velocidad de agitación durante la desnaturalización, y la temperatura en el tiempo de estabilización influyen poco en el tamaño medio de las partículas ^[120, 122]. (Ver fig. 33).

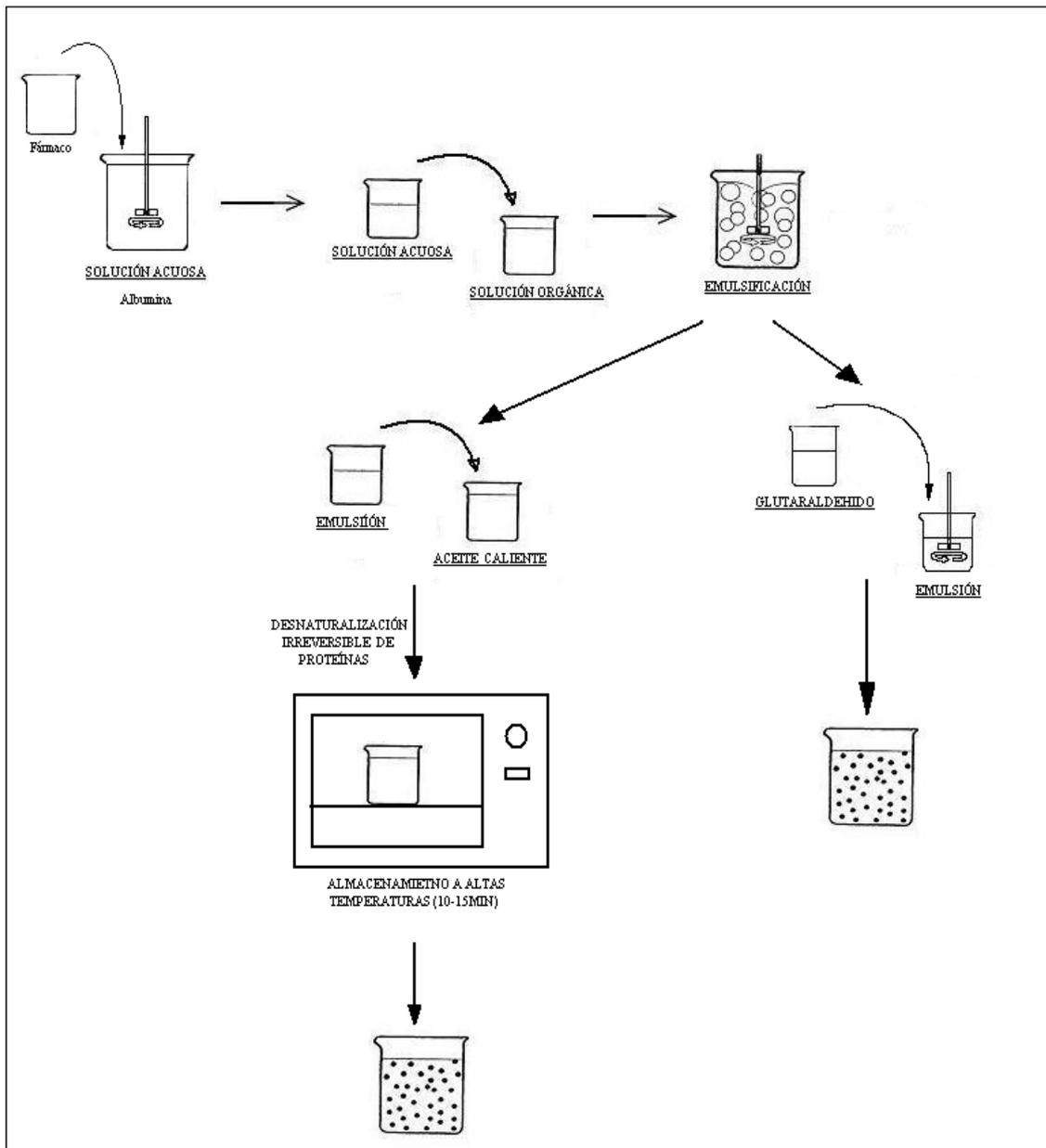


Figura 33. Representación esquemática de la preparación de NPs por Proteínas (Producción de NPs de albúmina en una emulsión oleosa) [120, 122].

4.13.2. Producción de NPs de Gelatina en Emulsión Oleosa.

El método de reproducción de estas NPs es similar al anterior. En este método se emplea una solución de gelatina que contiene al fármaco en un aceite (ej. aceite de ajonjolí), y emulsificantes (sesquioleato de sorbitan y polioxietileno derivado de aceite de ricino hidrogenado). En lugar de calentar, la emulsión resultante es enfriada en baño de hielo, resultando una gelación completa de gotitas de gelatina.

Después de la dilución con acetona, la emulsión es filtrada a través de un filtro de membrana con un poro de 50 nm. Al remover la fase oleosa, las partículas resultantes son lavadas con acetona y endurecidas por 10 min con 30 ml de una solución de formaldehído en acetona, seguido de un lavado con acetona y aire seco [120, 122]. (Ver fig. 34).

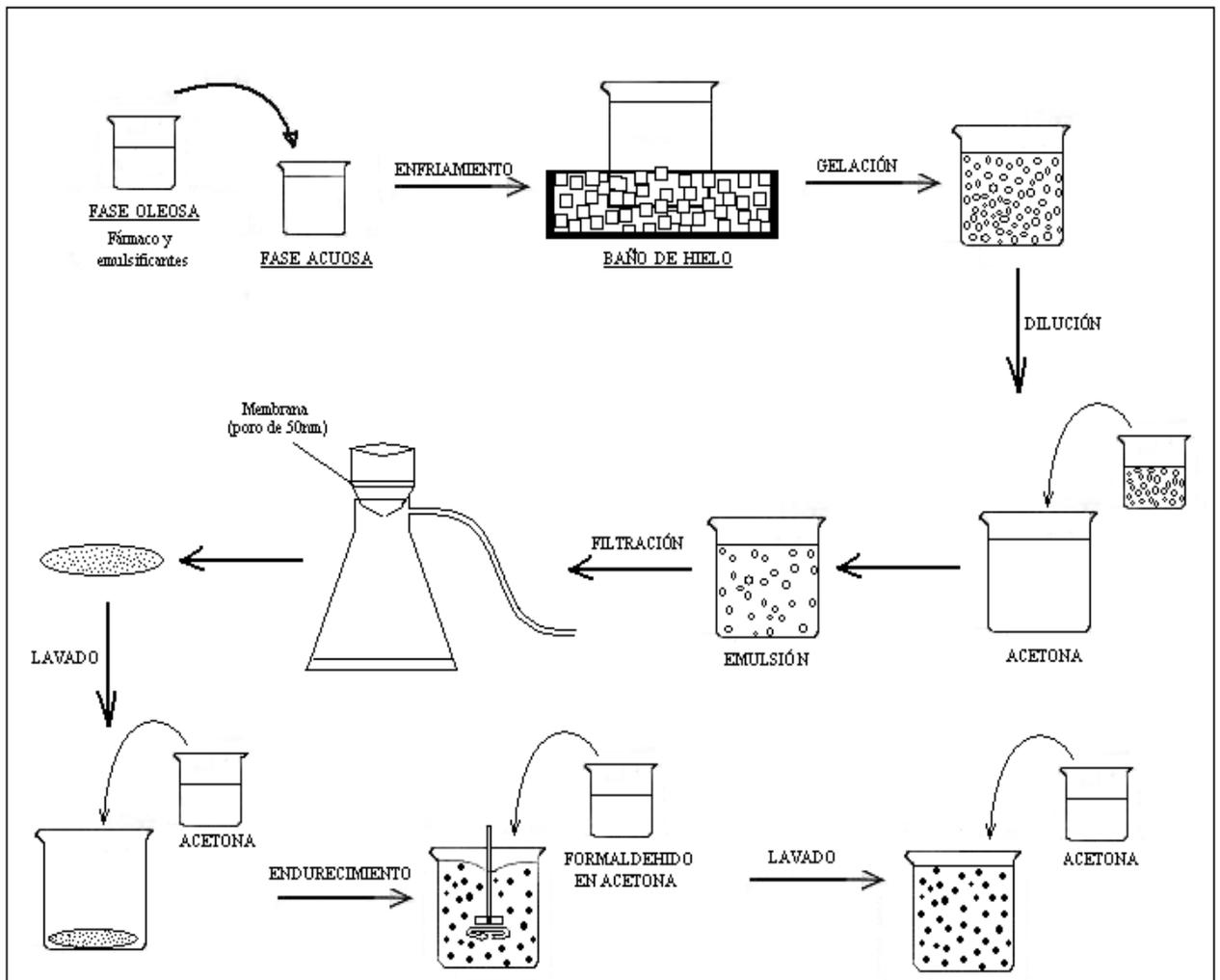


Figura 34. Representación esquemática de la producción de nanopartículas por Proteínas (NPs de gelatina en emulsión oleosa) [120, 122].

En este procedimiento, la estabilización del entrecruzamiento de partículas de gelatina se lleva a cabo por enfriamiento por debajo del punto de gelación. El endurecimiento y la fijación se llevan a cabo con formaldehído. Después de la gelación, aun con el entrecruzamiento las partículas pasan a través de un filtro de 50 nm, aunque las partículas obtenidas después del endurecimiento tienen un gran diámetro (100-600 nm). Ya que las partículas resultantes están en estado esférico sin ningún signo de aglomeración o partículas pequeñas, las partículas obviamente cambian de forma y posiblemente comience la coalescencia sobre la remoción de la fase oleosa y posiblemente al emulsificar durante el procedimiento de lavado. De cualquier forma la velocidad del proceso de coalescencia parece que se reduce en cuanto las partículas se endurecen y su tamaño final no excede 1 μm [120, 122].

4.13.3. Producción de NPs por Desolvatación de Macromoléculas.

Las macromoléculas se pueden desolvatar por cambios de carga, cambios de pH, o por la adición de un agente de desolvatación ocasionando el llamado fenómeno de salting-out. Esta desolvatación da lugar a la precipitación de las macromoléculas o en la formación de un coacervado. Como consecuencia, la desolvatación da lugar a una nueva fase. Ambos efectos, precipitación y coacervación, pueden ser considerados parte del área general de solubilidad y equilibrio de fases. Después de la separación de fases ocurre un cambio de conformación de las moléculas dando lugar a una solución diluida, donde las macromoléculas están sujetas a una acción osmótica del solvente que las rodea, las cuales tienden a hincharse. El mejor solvente es el que aumenta el hinchamiento de las moléculas. La adición de agentes de desolvatación invierten este proceso, y el diámetro de las macromoléculas se vuelve más pequeño. Después de que se obtiene cierto grado de desolvatación, las moléculas comienzan a agregarse. Cuando ha ocurrido suficiente desolvatación, toma lugar la separación de fases.

Las soluciones de macromoléculas siempre inducen una ligera turbidez conocida como efecto Tyndall. La adición de un agente de desolvatación primero disminuye la turbidez y después disminuye el tamaño de las macromoléculas. La separación de fases ocurre después de la adición de una cantidad suficiente de agente de desolvatación, los cuales se acoplan de una manera muy significativa, incrementando rápidamente la turbidez.

Algunos autores han estudiado extensamente las condiciones óptimas para la formación de NPs. Se utilizan gelatina, suero de albúmina humana, suero de albúmina de bovino, caseína, y etilcelulosa como macromoléculas [120, 122]. (Ver fig. 35).

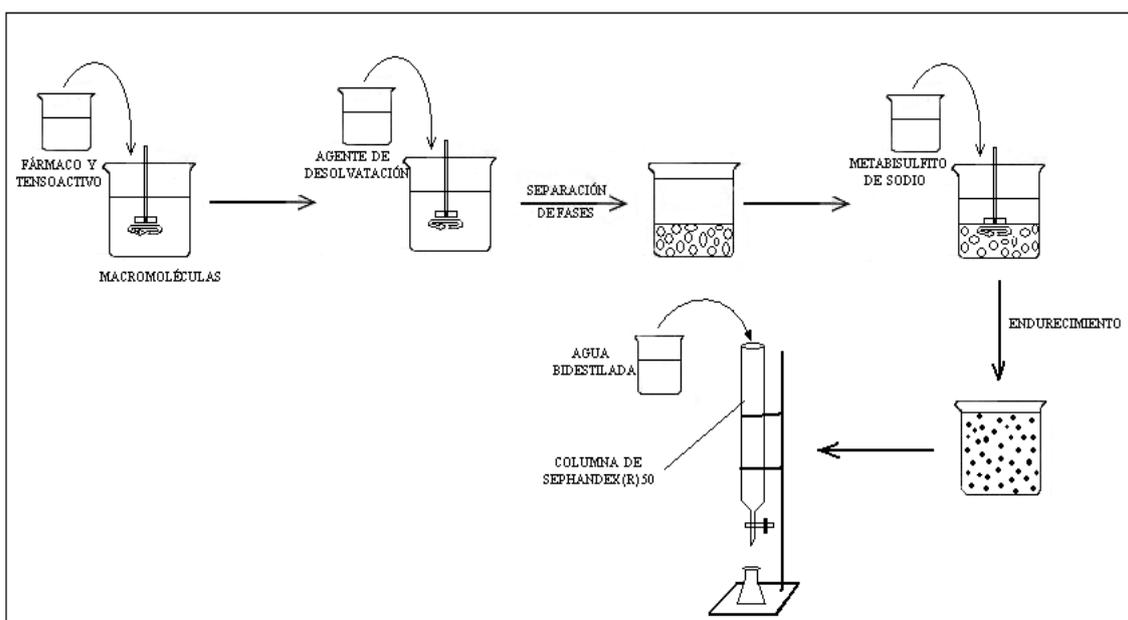


Figura 35. Representación esquemática de la preparación de nanopartículas por Desolvatación de Macromoléculas [120, 122].

La desolvatación de la gelatina puede llevarse a cabo con etanol o sulfato de sodio. La elección del agente de desolvatación depende principalmente del fármaco que se va a adherir a la NP. El etanol es más provechoso por que se remueve más fácilmente durante la liofilización.

En algunos casos un tensoactivo, como polisorbato 20 o polisorbato 80, deben estar presentes a fin de solubilizar ciertos fármacos. El tensoactivo también facilita la redispersión del producto al final del enfriado. El endurecimiento del sistema puede ocasionar agregación y floculación de las partículas debido al entrecruzamiento ocasionado por los aldehídos. Este problema puede evitarse adicionando pequeñas cantidades de agente de desolvatación antes del endurecimiento (el glutaraldehído puede ser el agente de endurecimiento por elección ya que es un aldehído bifuncional). El exceso de aldehído es removido con sulfito de sodio o metabisulfito de sodio ya que promueve el endurecimiento evitando la agregación de las NPs de gelatina.

La purificación de los materiales de bajo peso molecular puede llevarse a cabo por el paso a través de una columna de Sephandex® 50 usando una solución de clorbutanol éter al 0.04% w/v (porcentaje peso/volumen), o agua bidestilada como diluyente. Una columna empacada con BioGel® A-5 provee una separación suficientemente moderada de micelas de polisorbato y extraños aglomerados de gelatina de las NPs.

La producción de NPs de albúmina requiere una ligera modificación del procedimiento descrito anteriormente para las NPs de gelatina. La desolvatación puede llevarse a cabo con sulfato de amonio. La desolvatación con etanol parece ser menos favorable, debido al endurecimiento de estos sistemas obtenidos causando la formación de grandes agregados. El sulfato de sodio no es lo suficientemente soluble lo que ocasiona una desolvatación conveniente de suero de albúmina humana. De cualquier forma el sulfato de sodio puede ser usado para desolvatación de suero de albúmina humana si se encuentra presente 2% de polisorbato 20, ya que el polisorbato 20 previene o disminuye la precipitación de macromoléculas de suero de albúmina humana. El endurecimiento, la remoción del exceso de agente endurecedor y la purificación pueden llevarse a cabo usando agentes y métodos similares a los de NPs de gelatina.

Las NPs de suero de albúmina de bovino también pueden ser producidas usando técnicas similares. Se ha encontrado que es necesaria una ligera acidificación de la solución de suero de albúmina de bovino, en orden de desolvatación. La desolvatación de una solución de caseína alcalina puede llevarse a cabo con ácido clorhídrico o con sulfato de sodio, obteniéndose NPs de entre 500 y 120 nm después de la liofilización y desolvatación del sistema y con la adición de un agente endurecedor.

Las NPs de etílcélulosa pueden ser obtenidas de una solución al 1% de éstas macromoléculas de tetracloruro de carbono con ciclohexano [120, 122].

4.14. Producción de NPs de Carbohidratos.

Las NPs de carbohidratos consisten de dextran acrilatado, maltodextran u otro derivado de almidón los cuales se producen por polimerización del grupo acrílico de la cadena después de la emulsificación de una solución acuosa de derivado de almidón en una solución de tolueno: cloroformo (4:1) [120]. (Ver fig. 36)

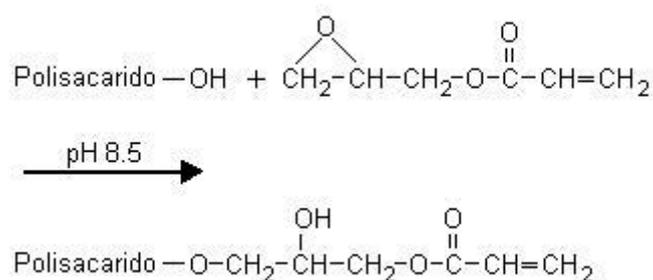


Figura 36. Derivatización del polisacárido [120].

La derivatización del polisacárido puede ser caracterizada por la expresión D-T-C. En esta expresión el valor de D denota la concentración de la macromolécula derivatizada (g/100 ml de solvente), el valor de T denota el valor total de la concentración del monómero acrílico (g/100ml de solvente) y C la concentración del agente de entrecruzamiento expresada como porcentaje (agua/agua) de la cantidad total de monómero acrílico.

El fármaco y en algunos casos la bis acrilamida, son disueltos en la solución de derivado de almidón acrililato a pH de 8.5. Después de la adición de una sustancia auxiliar como el EDTA, peroxodisulfato de amonio, y poloxamero 188, esta fase acuosa es desoxigenada y emulsificada en la mezcla de tolueno: cloroformo (4:1) antes mencionada, resultando una emulsión agua/aceite. La polimerización es iniciada por la adición de N, N, N', N'- tetrametil etilendiamina, resultando NPs de aproximadamente 500 a 200 nm.

Estas NPs pueden ser colectadas por centrifugación. Son purificadas de los solventes orgánicos por repetidos lavados con buffer de fosfatos [120]. (Ver fig. 37)

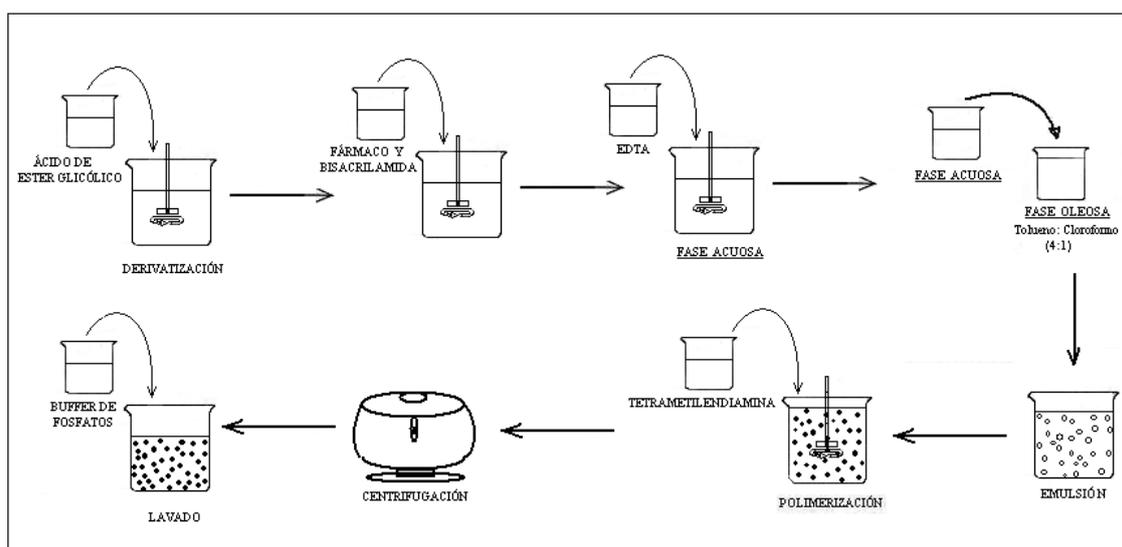


Figura 37. Representación esquemática de la producción de nanopartículas de Carbohidratos [120].

Un método alternativo para la obtención de estas nanopartículas, es usando aceite de maíz o aceite de algodón en lugar de la mezcla de tolueno/cloroformo. La solución acuosa de carbohidratos es emulsificada en estos aceites por agitación, y el tamaño de estas gotitas (partículas) es reducido por sonicación por 40 s en un baño de hielo.

Las micro gotitas resultantes de la emulsión se vacían lentamente en acetona la cual contiene 0.1% de polisorbato 80 con agitación a 1000 rpm. Esto lleva a la cristalización y formación de partículas de carbohidratos. Las partículas precipitan y estas se lavan con una solución acuosa al 0.1% de polisorbato 80. Finalmente estas son suspendidas en una solución al 1% de polisorbato 80 en acetona y son secadas a temperatura ambiente. Una repetición continua del proceso descrito anteriormente lleva a la formación de NPs [120].

4.15. Preparación de Biovectores Supramoleculares.

Los biovectores supramoleculares (SMBVs) consisten de una nanoesfera de polisacáridos rodeada de una bicapa de fosfolípidos. En un principio, estos sistemas fueron desarrollados para simular la baja densidad de las lipoproteínas que son estructuras coloidales naturales que se encuentran en circulación y son designadas para el transporte *in vivo* de colesterol y esteres de colesterol. (Ver fig. 38)

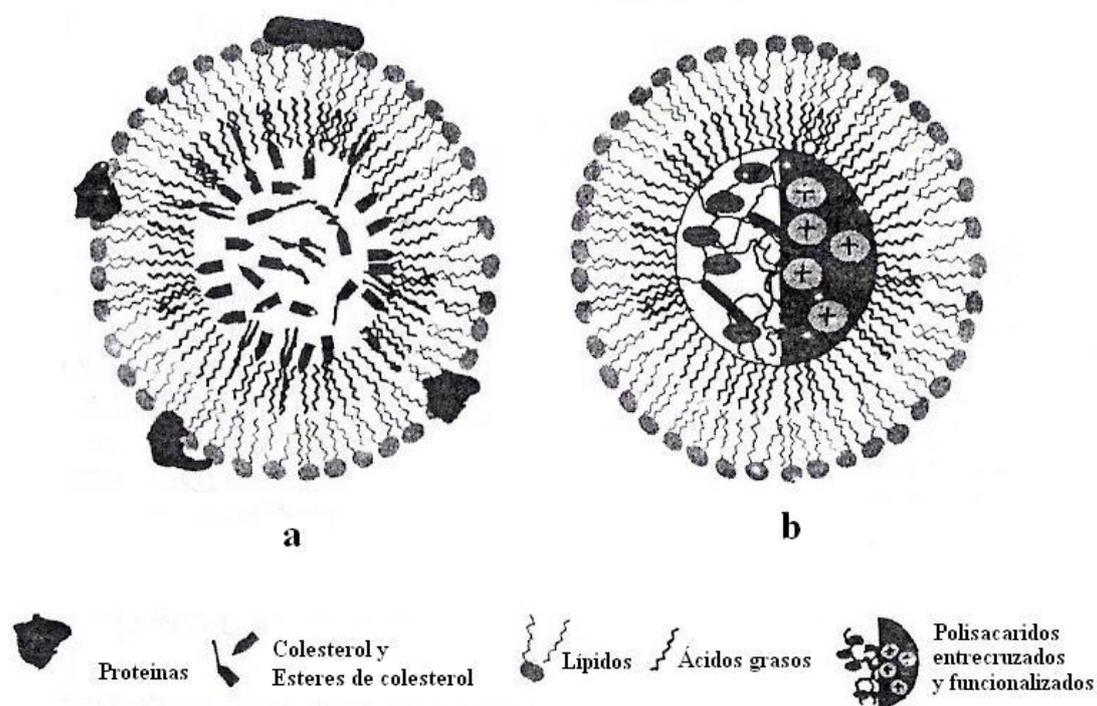


Figura 38. Estructura esquemática de (a) una lipoproteína de baja densidad y de (b) un Bio-Vector Supramolecular [121].

Los Bio-Vectores Supramoleculares son preparados en varios pasos incluyendo la funcionalización y el entrecruzamiento químico de un polisacárido, la purificación y el lavado de los polisacáridos modificados, seguido de la fragmentación de los polvos resultantes bajo presiones elevadas para producir pequeñas NPs de polisacáridos. Finalmente, la bicapa lipídica es adsorbida en la superficie de las NPs. (Ver fig. 39)

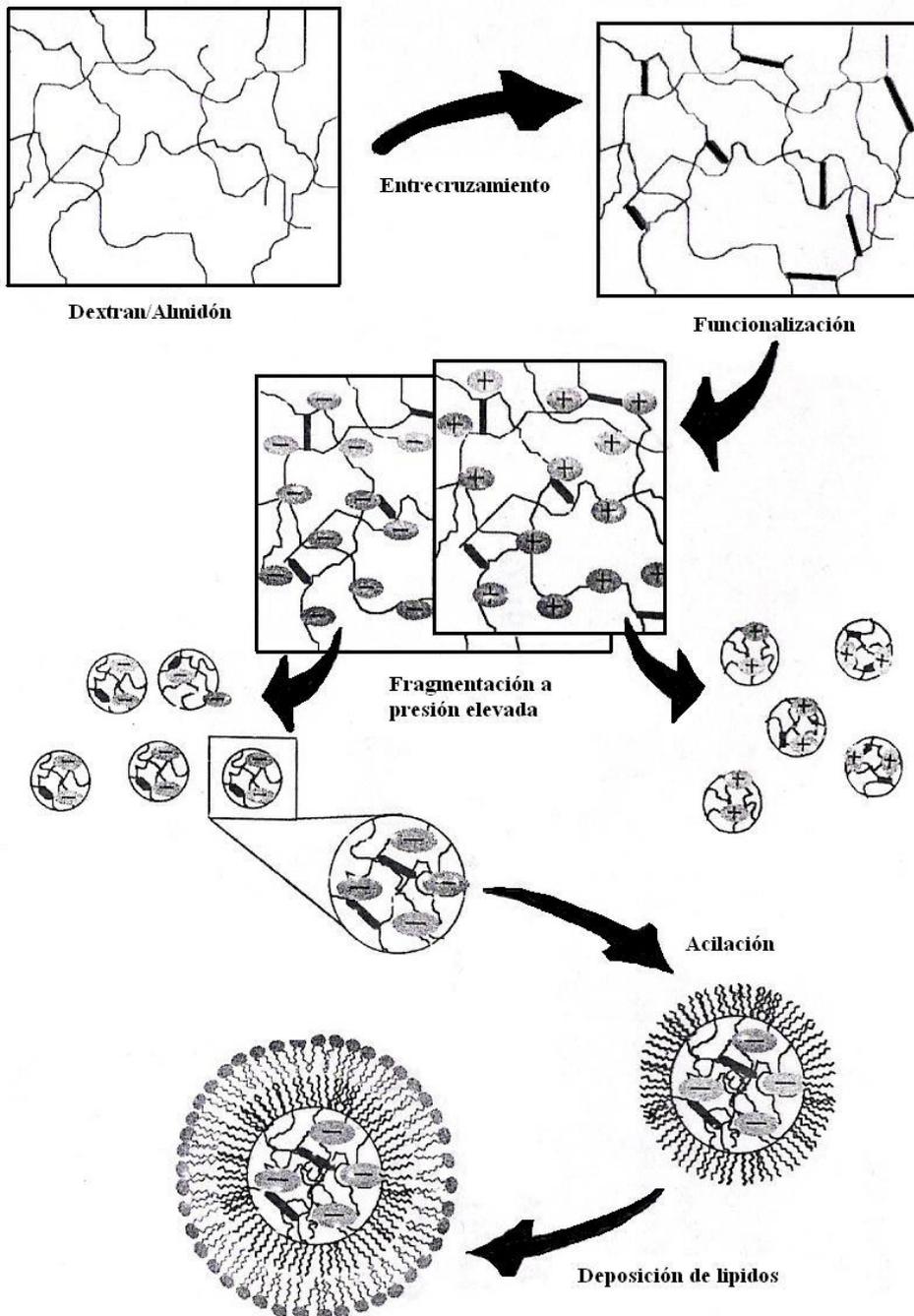


Figura 39. Principio de la preparación de un Bio-Vector Supramolecular ^[121].

Los polisacáridos metabolizables como el dextran y el almidón son usados para crear el núcleo de los SMBV. Para lograr esto el polisacárido se entrecruza con reactivos bifuncionales para producir un gel. El gel es entonces funcionalizado con ligandos que confieren cierta carga negativa o positiva como una resina de intercambio iónico.

La carga de fármaco de las partículas de polisacárido se puede lograr por medio de la interacción electrostática. El gel funcionalizado se divide en pequeños fragmentos bajo presión elevada. De esta manera, se pueden producir pequeñas partículas de 30 nm de diámetro. Las partículas se secan bajo condiciones suaves y se dispersan en un solvente orgánico para lograr la unión de ácidos grasos en su superficie.

La reacción de acilación se limita a la superficie de la partícula cuando el disolvente orgánico no se hincha o penetra en las partículas del polisacárido. Para partículas muy pequeñas, puede ser necesario repetir la acilación varias veces antes de que la superficie de la partícula sea cubierta por los ácidos grasos. Por último, los lípidos son depositados en la superficie de las NPs de polisacárido recubriéndolas de ácidos grasos unidos.

Esto se consigue utilizando técnicas desarrolladas para la preparación de liposomas. La esterilización de las SMBVs puede llevarse a cabo por filtración estéril. Los SMBVs con recubrimiento catiónico son específicamente diseñados para la incorporación de ácidos nucleicos ^[121]. (Ver fig. 40)

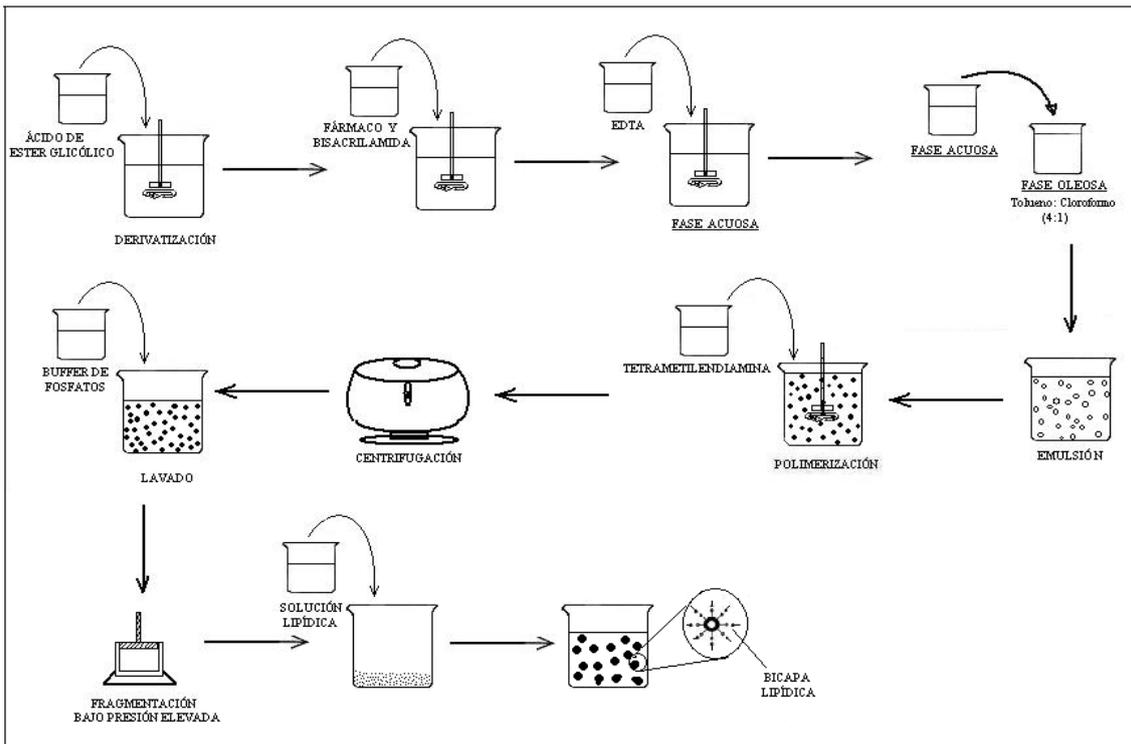


Figura 40. Representación esquemática de la preparación de Vio-Vectores Supramoleculares [121].

4.16. Preparación de NPs de Superficie Modificada.

En una administración intravenosa, la distribución en el cuerpo de las NPs es controlada por las propiedades del tenso activo. En efecto, a pesar del tamaño tan pequeño, las NPs muestran una enorme área superficial específica con la que se lleva a cabo la interacción con el medio que lo rodea el cual es especialmente importante para su destino *in vivo*. De este modo la preparación de la superficie de las NPs modificadas recibe mucha atención durante la última década para producir NPs que son capaces de circular por un largo periodo de tiempo en el torrente sanguíneo como el primero, y más reciente, que logra una meta efectiva de un recurso o mejora la bioadhesividad a la mucosa.

Las NPs que son capaces de circular por un largo tiempo en el torrente sanguíneo no deben ser reconocidas por los macrófagos del sistema fagocitario mononuclear. Para lograr esta meta, el menor de uno de los dos mejores mecanismos conocidos involucrados en el reconocimiento exterior de partículas por macrófagos debe ser evitado. Estos dos mecanismos incluyen la opsonización de las partículas y la activación del complemento, el cual consiste de la adsorción de proteínas y el reconocimiento subsecuente por macrófagos. Una barrera de adsorción de proteínas puede lograrse por la creación de una barrera eficiente de impedimento estérico, por lo tanto, se tiene una capa de polímeros hidrofílicos adsorbidos en la superficie de las NPs ^[138].

La capa de las nanoesferas con poli etilenglicol puede obtenerse primero por una adsorción simple de un tribloque de copolímeros de polietilenglicol-polipropilenglicol-polietilenglicol en la superficie de las nanoesferas ya preparadas. Para mejorar la estabilidad de la capa de poli etilenglicol, las nanoesferas son preparadas por nanoprecipitación de evaporación del solvente de emulsificación usando copolímeros de ácido poli láctico-co-poli etilenglicol o por poli alquil cianoacrilato-co-poli etilenglicol. Finalmente el poli etilenglicol puede iniciar la polimerización del alquilocianoacrilato para producir NPs de poli alquil cianoacrilato con capa de poli etilenglicol, por polimerización en emulsión. Para que las NPs sean capaces de escapar a la activación del complemento, algunos investigadores propusieron el recubrimiento de nanoesferas con heparina. Este compuesto, que es un polisacárido, es un inhibidor fisiológico de la activación del complemento *in vivo*.

Las NPs de poli (metacrilato de metilo) recubiertas con heparina son preparadas por el método de polimerización en emulsión ^[121].

4.17. NPs de Hidrogel.

Las NPs de hidrogel han ganado considerable atención en años recientes como uno de los más prometedores sistemas de liberación de fármacos debido a que únicamente potencializa la vía combinando las características del sistema hidrogel con una NP.

Estos sistemas ofrecen muchas ventajas en la liberación de fármacos, principalmente enfocados en incrementar la seguridad y la eficiencia del fármaco, por ejemplo previendo un blanco en la liberación del fármaco, mejorando la biodisponibilidad, extendiendo el efecto en el órgano blanco, mejorando la estabilidad del agente terapéutico contra la degradación química y enzimática.

Por definición los hidrogeles son redes poliméricas con una configuración tridimensional capaz de absorber grandes cantidades de agua o fluidos biológicos. Esta afinidad de absorber agua es atribuida a la presencia de grupos hidrofílicos como los grupos OH^- , CONH^- , CONH_2^- , y SO_3H^- en polímeros que forman estructuras de hidrogel. Debido a la contribución de estos grupos y al dominio en las redes, de esta manera el polímero es hidratado a diferentes grados (algunas veces más del 90% del peso total), dependiendo de la naturaleza de medio acuoso y de la composición del polímero.

A pesar de esta gran afinidad de absorber agua, los hidrogeles muestran un comportamiento de hinchamiento en lugar de comenzar a disolverse en el medio que lo rodea como consecuencia del entrecruzamiento crítico presente en la estructura de los hidrogeles. Este entrecruzamiento se forma por dos principales categorías que incluyen: i) las físicas (enredándose o cristalizándose) y ii) las químicas (punto de ligue y conexión).

El entrecruzamiento en la red polimérica es provista de enlaces covalentes, puentes de hidrógeno, fuerzas de Van Der Waals, o entrecruzamiento físico.

Las NPs de hidrogel (recientemente referidos como nanogeles) pueden ser clasificadas en base al tipo de material polimérico usado en la preparación de estas NPs ^[139].

4.17.1 NPs de Hidrogel a Base de Quitosan.

El quitosan, α (1-4)-2-amino-2-deoxy β -D-glucano, es una forma diacetilada de la quitina, un polisacárido abundante presente en el caparazón de los crustáceos. Desde el punto de vista técnico es extremadamente importante que el quitosan sea hidrosoluble y con carga positiva. Estas propiedades posibilitan a este polímero a interactuar con polímeros de carga negativa, macromoléculas y con ciertos polianiones en contacto con el medio acuoso. Estas fuerzas interactivas y la solución-gel resultante del estado de transición han sido explorados con propósito de la nano-encapsulación. El potencial del quitosan para esta aplicación específica ha sido impuesto anteriormente por la capacidad demostrada del quitosan para abrir una estrecha conexión entre las células epiteliales a través de la pared epitelial ^[129].

a) NPs a base de quitosan con entrecruzamiento covalente

Ohya y sus colaboradores fueron los primeros en presentar datos que involucran a las nanoesferas de quitosan con aplicación en la liberación de fármacos. Usando una emulsión agua en aceite observaron un entrecruzamiento del glutaraldehído en los grupos amino del quitosan, produjeron nanoesferas cargadas de 5-fluoroacil (5-FU), un fármaco anticancerígeno. Los derivados del 5-FU contienen un amino terminal, y la adición indiscriminada del glutaraldehído permite al agente activo a la polimerización entre las cadenas de quitosan, causando una inmovilización del fármaco mayor que en la encapsulación.

b) NPs a base de quitosan con entrecruzamiento iónico.

A no ser por la complejación con polímeros de carga negativa, una propiedad interesante del quitosan es su habilidad de gelificar en contacto con polianiones especiales, un proceso referido como “gelación ionotrópica”. Este proceso de gelación se debe a la formación de inter e intra entrecruzamientos entre y con cadenas de polímero, mediado por los polianiones. Más recientemente las NPs de quitosan han sido desarrolladas basadas en la gelación ionotrópica de quitosan con tripolifosfato (TPP), para la encapsulación de fármacos.

Este ejemplo y la técnica directa involucra la adición de una fase alcalina (pH = 7-9) conteniendo tripolifosfato en una fase ácida (pH = 4-6) que contiene al quitosan. Las NPs son formadas inmediatamente sobre la mezcla de las dos a través de la unión inter e intra molecular creado entre el TPP, fosfatos y grupos amino del quitosan.

1. NPs a base de Quitosan preparadas por el método de desolvatación.

El uso de agentes de desolvatación para la síntesis de partículas de quitosan surgió por los estudios de microencapsulación. Berthold y sus colaboradores fueron los primeros en proponer el uso de sulfato de sodio como un agente precipitante para la formación de partículas de quitosan, utilizando sulfato de sodio dentro de una solución de quitosan y polisorbato 80 (usado como estabilizante para la suspensión) en condiciones de agitación y por ultrasonificación. Estos compuestos se conocen como microesferas donde el tamaño de las partículas resultantes está en una interface entre micro y nano (900 + 200 nm).

La encapsulación de fármacos no se ha demostrado, pero por la carga positiva en la superficie de la partícula, son capaces de absorber cantidades significativas (superior al 30% del peso) del corticoesteroide hidrofílico aniónico en la superficie de la partícula.

2. NPs a base de quitosan preparadas por el método de emulsión-coalescencia.

El método de coalescencia por emulsión, introducido por Tokumitsu y sus colaboradores se basa en el principio de emulsión por entrecruzamiento y por precipitación. En este método, en lugar del entrecruzamiento de las partículas estables, la precipitación es inducida por la coalescencia que se da entre las partículas de quitosan con las partículas de NaOH. La emulsión es estable.

3. NPs a base de quitosan preparadas por el método micelar inverso.

Las micelas inversas son mezclas líquidas de agua, aceite y tensoactivo termodinámicamente estables. Microscópicamente son homogéneos y consisten de estructuras isotrópicas de gotas acuosas en aceite separadas por una película rica en tensoactivo. Las NPs preparadas por el método convencional de emulsión por polimerización, no solo son grandes (> 200 nm), sino también tienen un amplio intervalo de tamaño.

En este método, el tensoactivo es disuelto en un solvente orgánico para preparar micelas inversas, donde se le adiciona una solución acuosa de quitosan adicionando el fármaco gradualmente con agitación constante para evitar cualquier turbidez. La fase acuosa es regulada con un método semejante al que sigue una mezcla de una fase transparente de una microemulsión. (Ver fig. 41)

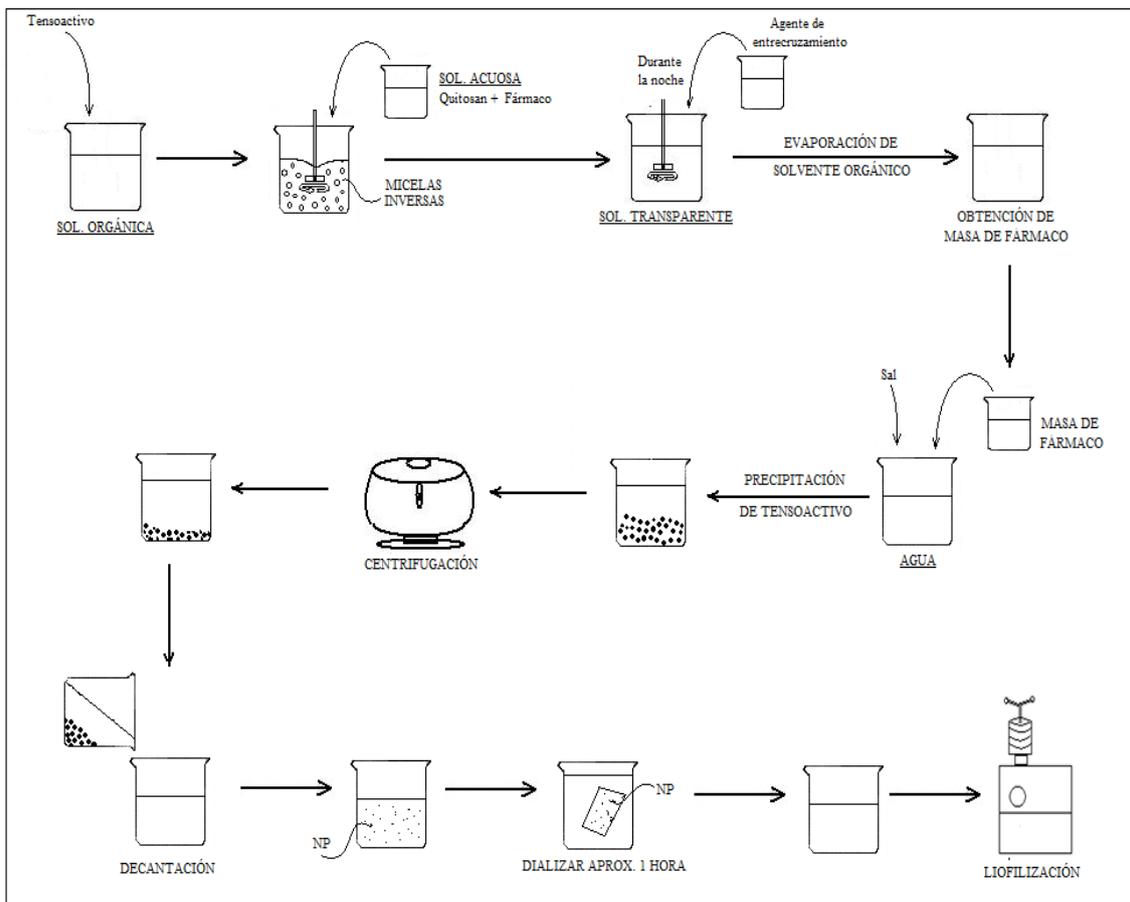


Figura 41. Nanopartículas de hidrogel a base de quitosan preparadas por el método Micelar Inverso [139].

En este método la cantidad de agua es adicional para obtener NPs de gran tamaño. En esta solución transparente el agente de entrecruzamiento es adicionado con agitación constante. La máxima cantidad de fármaco que puede ser disuelto en una micela inversa varía de fármaco a fármaco y tiene que ser determinada por el incremento gradual de la cantidad de fármaco hasta que la solución transparente es transformada en una solución traslucida. El solvente orgánico es evaporado para obtener una masa de fármaco micelar transparente. El material remanente se dispersa en agua y por adición de una sal conveniente, el tensoactivo precipita. La mezcla es entonces sometida a centrifugación. La solución sobrenadante se decanta, la cual contiene a las NPs cargadas de fármaco. La dispersión acuosa es inmediatamente dializada a través de una membrana de diálisis por aproximadamente 1 h y el líquido es liofilizado con el fármaco en polvo.

4. NPs a base de quitosan preparados por ensamblamiento vía modificación química.

El ensamblamiento de quitosan modificado químicamente dentro de las NPs ha sido investigado para la liberación de macromoléculas. Se lleva a cabo por la conjugación fraccional de poli etilen glicol (PEG) vía unión de una amida para solubilizar al quitosan por la producción o agregación a pH básico. Estos agregados pueden atrapar insulina seguidos incubados en un buffer salino de fosfatos (PBS), probablemente durante las interacciones electrostáticas entre el monómero de quitosan sin conjugar y los residuos aniónicos de proteínas.

4.17.2. NPs de Hidrogel a Base de Alginato.

Hace referencia al entrecruzamiento secuencial, y formación de redes poliméricas, resultantes en acarreadores de hidrogel estructurado para la liberación de fármaco, como micro y NPs sobre la adición de contraiones de alginato.

Cualquier posible especie catiónica puede iniciar la reacción secuencial, pero el cloruro de calcio es el más usado para estos fines. Los métodos de preparación son usualmente determinados para el control del fenómeno de gelación que depende de varios factores incluyendo la concentración y viscosidad del alginato y la concentración de contraiones.

4.17.3. NPs de Hidrogel a Base de Alcohol Polivinílico (PVA).

A finales de los 90's, fueron preparadas NPs de PVA con el objetivo de liberar fármaco proteína/péptido usando una emulsión cíclica de aceite en agua seguido del congelamiento-descongelamiento. En este estudio, la emulsión se pone a congelar a -20 °C, seguido de una fase de descongelamiento a temperatura ambiente.

Los compuestos heterogéneos estructurados involucran al PVA y tienen interés en el campo de las NPs de hidrogel. Los poliésteres biodegradables consisten de una cadena corta de poli lactona incrustados en el PVA o de carga modificada de sulfobutílica PVA (SB-PVA) que son preparados y usados como una nueva clase soluble en agua registrados como poliésteres. Estos polímeros experimentan un auto ensamblamiento espontáneo que produce NPs para formar complejos estables con un cierto número de proteínas como la albúmina de suero humano, toxoide tetánico y citocromo C. El desarrollo de NPs con polímeros semejantes no requieren del uso de solventes o tensoactivos.

4.17.4. NPs de Hidrogel a Base de Óxido de Polietileno (PEO) y Polietileno Amina (PEI).

Las NPs que se producen dan lugar a una solución acuosa homogénea. La reacción que se lleva a cabo se da entre los grupos amino de la polietileno amina (PEI) y el grupo funcional imidazolilcarbonil del óxido de polietileno (PEO) dando lugar a la producción de hidrogeles transparentes.

Esta gran cantidad de hidrogeles retiene grandes cantidades de agua alcanzando aproximadamente 50 % del peso. Para obtener un sistema disperso fino, la reacción de entrecruzamiento se desarrolla por un método modificado de evaporación-emulsificación de solvente. De acuerdo a este método, la solución de PEO activada con diclorometano es emulsificada en una solución acuosa de PEI por sonicación. El solvente orgánico es removido de la mezcla al vacío, resultando en la formación de una solución clara. La mayoría de las partículas de nano gel tienen una densidad muy alta y pueden no ser fraccionados por ultracentrifugación. La suspensión de partículas de nano gel es fraccionada con Cromatografía de Permeación en Gel ^[139].

4.17.5. NPs de Hidrogel a Base de Poli Vinil Pirrolidona (PVP).

Baharalli y colaboradores han descrito un procedimiento para la preparación de NPs de hidrogel a base de PVP con un diámetro final menor a 100 nm usando un núcleo acuoso de gotas de micela inversa como nano reactores. Ya que las gotas de micela inversa son altamente monodispersadas y el tamaño de las gotas puede ser controlado. Las NPs obtenidas tienen un tamaño pequeño distribuidas en un medio micelar.

V. CARACTERIZACIÓN.

La investigación científica de los NEMs para las diversas aplicaciones en beneficio de la humanidad forma parte del trabajo cotidiano en los centros de investigación de todo el mundo. La Medicina, y la Biología, por ejemplo, estudian los materiales a escala nanométrica. Este estudio involucra las características químicas, morfológicas y estructurales, además de las propiedades superficiales, electrónicas y energéticas para aplicaciones específicas. Su investigación requiere cada vez más de instrumentos de medición de mayor poder de resolución. Por tal razón las técnicas para caracterizar analitos de tamaños nanométricos son específicas y selectivas.

En la siguiente tabla 1^[120], se muestran los principales parametros así como los métodos empleados para dicho fin:

Tabla 1 Métodos de caracterización de nanopartículas.

Parámetro	Método
Tamaño de nanopartícula	Espectroscopia de correlación de fotón (PCS)
	Microscopía electrónica de barrido (SEM)
	Microscopía electrónica de transmisión (ITEM)
	Espectrometría de rayos X
Peso Molecular	Cromatografía en gel
Densidad	Picnometría de compresión de Helo
Cristalinidad	Difracción de rayos X
	Calorimetria diferencial de barrido
Carga superficial	Electroforesis
Hidrofobicidad	Cromatografía de interacción hidrofóbica
	Medición del ángulo de contacto

Los sistemas de monitorización de NPs se basan en técnicas ópticas y permiten obtener *in situ* la distribución de los tamaños de NPs en un intervalo de 10 y 1000 nm en disoluciones a partir de concentraciones en partes por millón (ppm). Por otra parte, la producción de NPs en reactores de depósito puede ser monitoreadas en tiempo real a partir de la medida de la luz dispersada directamente por las partículas y, mediante la Técnica del Elipsometría de Dispersión de Mié. La mayor parte de las técnicas ópticas se basan en la medida de la intensidad de la luz dispersada por las partículas que depende de la sexta potencia del tamaño de las NPs. Este hecho provoca que las partículas más pequeñas se conviertan en invisibles y que la detección de NPs individuales sólo haya sido llevada cabo con medios indirectos. Por ejemplo, con la inmovilización en una superficie y el subsecuente análisis con Microscopía de Campo Oscuro.

A continuación se indican algunas técnicas útiles para la caracterización de Sistemas Nanoestructurados.

5.1. Espectroscopia de Correlación de Fotones.

Con lo que respecta a la Espectroscopía de Correlación de Fotones (PCS) existe la documentación que reglamenta el uso de las técnicas de caracterización basadas en las guías de uso de acuerdo a la norma E2490. En este documento se indica la utilización de la medición de NPs.

La PCS es también conocida como Dispersión de Luz Dinámica, es un método que permite medir el tamaño de partículas dispersas en medios líquidos a nivel de nanómetros, como por ejemplo soluciones amortiguadoras que se usan con frecuencia en los ensayos *in vitro*. Una de las ventajas que implica utilizar este sistema es que su manipulación es sencilla y fácil, tiene costos iniciales bajos y las exigencias de preparación para su uso son mínimas.

La técnica funciona utilizando NPs suspendidas en medios acuosos, según el Dr. Anil Patri. El principio se basa en enfocar un rayo láser a través de la muestra donde se mide la luz que se desvía o "se dispersa" en diferentes direcciones según el tamaño y el movimiento de las partículas suspendidas.

Las NPs tienen un movimiento aleatorio en el líquido y como su movimiento en solución guarda relación con su tamaño, con los instrumentos adecuados podremos observar su movimiento y la dispersión de la luz y calcular el tamaño de las NPs. Para utilizar la técnica se deben considerar diferentes factores que influyen en la medición de las muestras como la temperatura del medio, la viscosidad del líquido entre otras ^[34].

5.2. Espectrofotometría UV-Visible

Es una técnica Espectroscópica cuyo fundamento hace referencia a la radiación luminosa absorbida o transmitida por una solución respecto de un blanco, y permite obtener información respecto a la concentración (absorbancia en el pico de máxima absorción), tamaño (posición del pico) y homogeneidad de tamaños (ancho del pico) de la muestra si se analiza la información obtenida en conjunto con otras técnicas. Con esta técnica se pueden detectar los plasmones de resonancia característicos de NPs.

5.3. Microscopía Electrónica

El Microscopio Electrónico de Transmisión juega un papel muy importante en la caracterización de sistemas nanométricos, puesto que proporciona evidencia directa respecto a las características químicas, morfológicas y estructurales de los materiales de tamaño nanométrico con alto grado de precisión.

En comparación con los microscopios ópticos se deduce que el empleo de éstos radica en la observación de materiales de tamaño micrométrico, donde la resolución no es muy precisa, debido a las aberraciones y al límite en la longitud de onda de la luz blanca (400-700 nm) con la que se ilumina el objeto.

Los microscopios electrónicos usan un haz de electrones (e^-) fuertemente acelerados, cuya longitud de onda (0.004 nm a 100 kV) es mucho menor que la de la luz visible e incluso que la de la luz ultravioleta ($300\text{-}400 \text{ nm}$), de tal forma que los microscopios electrónicos pueden observar objetos en la escala nanométrica. Dentro de los más conocidos se encuentran:

- a) El Microscopio Electrónico de Transmisión (MET) y
- b) El Microscopio Electrónico de Barrido (MEB).

En ambos equipos, la fuente de iluminación es un cañón de electrones que produce electrones primarios (e^-), los cuales son acelerados y bombardeados hacia la muestra, a través de una columna al alto vacío (0.0000027 Pa) que al interactuar con la muestra generan una serie de señales que dan información del material en observación ^[140]. (Ver fig. 42)

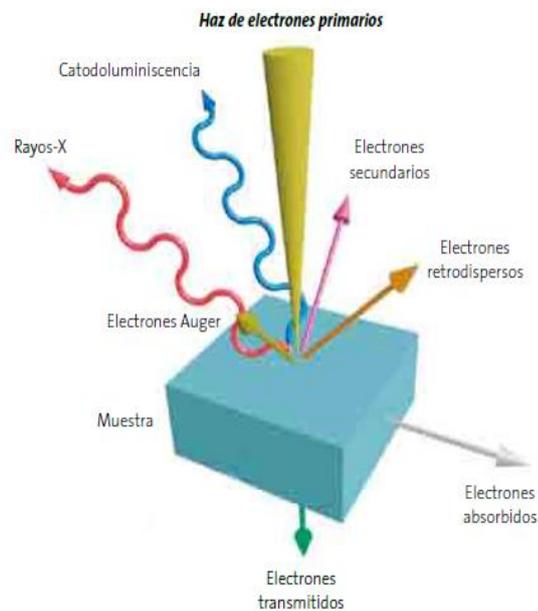


Figura 42. En la siguiente figura se muestra la interacción de electrones primarios bombardeados a la muestra como los electrones secundarios: topografía de la superficie de la muestra (MEB), electrones transmitidos: estructura interna, orientación e identificación de cristales y el análisis elemental (TEM, STEM), Rayos X Microanálisis y distribución de elementos, electrones retrodispersados: número atómico (MEB) e información cristalográfica, electrones Auger: Información química de capas superficiales y electrones absorbidos: estructura interna de semiconductores ^[135].

5.4. Microscopía Electrónica de Transmisión (MET)

Esta técnica se fundamenta en la irradiación de un haz de electrones sobre la muestra que permite obtener una imagen producto del contraste entre los electrones absorbidos, retenidos o dispersados por la muestra, y los que no interaccionan con la muestra y se impactan sobre una pantalla fluorescente,

Esta es una técnica en la que un haz de electrones es transmitido a través de un espécimen ultra delgado (nm de grosor). La información que se usa es la de los electrones transmitidos; la imagen se magnifica y se enfoca por lentes magnéticas, y posteriormente se forma la imagen en una pantalla fluorescente. La resolución de los Microscopios Electrónicos también está determinada por el Diámetro del Haz de Electrones. De esta manera se han desarrollado Microscopios de Alta Resolución, cuya distancia de punto a punto puede ser de 0.19 nm, logrando magnificaciones de 8 000 000 X ^[141].

El contraste en una imagen de MET no es igual al de una de un microscopio de luz. En la MET, la muestra cristalina interactúa con el haz de electrones, en su mayoría por difracción más que por absorción. La intensidad de la difracción depende de la orientación de los planos de los átomos en un cristal en relación con el haz de electrones. A ciertos ángulos, el haz de electrones es difractado fuertemente desde el eje del haz entrante, mientras que a otros ángulos el haz es en gran parte transmitido. Los MET modernos están equipados con porta muestras que permiten inclinar el espécimen en un intervalo de ángulos que permiten obtener condiciones de difracción específicas. Por ello, se puede formar una imagen de alto contraste, bloqueando los electrones desviados fuera del eje óptico del microscopio mediante la colocación de la apertura, para permitir solamente los electrones no dispersados. Esto produce una variación en la intensidad electrónica que revela información sobre la estructura del cristal. Esta técnica, sensible a defectos en la red cristalina ampliada, es conocida como campo claro o campo luz. También es posible producir una imagen de electrones desviados por un plano cristalino particular, lo cual se conoce como Imagen de Campo Oscuro ^[141]. (Ver fig.43)

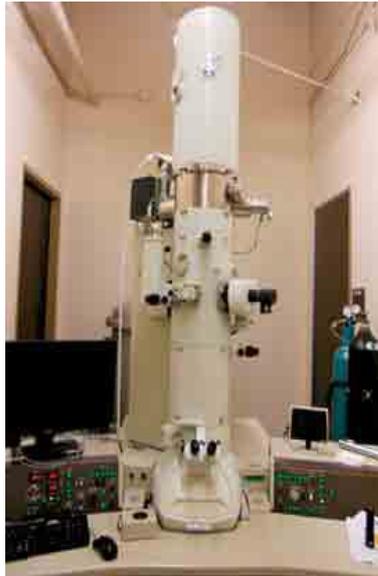


Figura 43. A: Microscopio Electrónico de Transmisión de alta resolución Jeol 2010-F [145].

5.5. Microscopía Electrónica de Barrido (MEB).

El Microscopio Electrónico de Barrido (MEB) utiliza un haz de electrones que “escanea” en forma de zig-zag la superficie de la muestra, produciendo un gran número de señales. La señal más usada para la formación de imágenes en el MEB son los electrones secundarios, que son de baja energía (3-5 eV); debido a esta el detector, cuya señal se convierte después en una imagen visible [140]. Un MEB convencional puede alcanzar hasta una resolución de 3 nm, dependiendo de la conductividad de la muestra. El MEB tiene una gran profundidad de campo, la cual permite que se enfoque a la vez una gran parte de la muestra, dando la apariencia de 3D. (Ver fig.44).



Figura 44. Unidad de Microscopía Electrónica [140].

Por ejemplo este equipo se utiliza para caracterizar nanomateriales conductores como las NPMs y los CNTs donde la muestra se visualiza tal y como se presenta. Otros nanomateriales no conductivos, como las microcápsulas o NPs orgánicas, requieren ser recubiertas con un material conductor (oro-paladio), o bien, ser observadas en modo de bajo vacío.

Otra modalidad del MEB es el Microscopio de Alta Resolución o de Emisión de Campo (HRSEM). Este equipo puede alcanzar 150 mil aumentos y el poder de resolución es de 30 Amstrong (Å)^[17]. (Ver fig. 45).



Figura 45. A: Microscopio Electrónico de Barrido de Emisión de Campo^[17].

5.6. Microscopía de Barrido de Fuerza Atómica.

Cuando se habla de Microscopía de Prueba de Barrido (SPM, del inglés: Scanning Probe Microscopy), se refiere a la Microscopía de Barrido por Tunelaje (STM, del inglés: Scanning Tunneling Microscopy) o a la Microscopía de Fuerza Atómica (AFM, del inglés Atomic Force Microscopy).

5.7. Microscopía de Barrido por Tunelaje (STM).

El Microscopio de Barrido por Tunelaje (STM) fue desarrollado en 1981 por Gerd Benning y Heinrich Rohrer en los laboratorios de IBM de Zurich, Suiza. Ello les valió el Premio Nobel de Física, en 1986. Esta técnica permite observar átomos individuales en superficies metálicas, además de proporcionar un perfil tridimensional de la superficie de la muestra. Esta técnica es muy útil en la caracterización de agregados, textura y defectos superficiales de los metales, pero sólo es útil en materiales conductores^[142].

En un STM, se aproximan una punta piezoeléctrica detectora (platino-Iridio-oro) y el metal a analizar y solo son separados por vacío. Los electrones no tienen la suficiente energía para escapar a través del vacío, pero puede darse un intercambio de electrones entre ambos metales por un efecto túnel si se encuentran suficientemente próximos. La imagen se forma al barrer la punta detectora del STM a la superficie del metal.

5.8. Microscopía de Fuerza Atómica (AFM).

En 1985, Benning y Rohrer construyeron el Microscopio de Fuerza Atómica (AFM); instrumento mecano-óptico capaz de detectar fuerzas del orden de los nano newtons. Al analizar una muestra se registran las diferencias de altura entre el objeto de estudio y una punta cristalina de forma piramidal acoplada a un listón microscópico (“cantiliver”), muy sensible al efecto de las fuerzas y de sólo unos 200 μm de longitud ^[142].

La fuerza atómica es detectada cuando la punta está muy próxima a la superficie de la muestra para registrar la pequeña flexión del listón mediante un haz de luz láser reflejado en su parte posterior. Un sistema auxiliar piezoeléctrico desplaza la muestra tridimensionalmente, mientras que la punta recorre la superficie de forma ordenada. La resolución del instrumento es de aproximadamente 0.2 nm ^[17].

Con el uso de esta técnica se obtienen imágenes topográficas detalladas de la superficie analizada mediante el barrido ^[115].

5.9. Espectroscopía de Absorción de Rayos-X.

La Espectroscopía de Absorción de Rayos-X (XAS por sus siglas en inglés) es una técnica ampliamente usada para la determinación del tamaño de partícula y del ambiente químico que la rodea ^[143,144]. Un ejemplo de este equipo se muestra en la figura 46.



Figura. 46. Esquema de un sincrotrón. Espectroscopía de absorción de rayos-X [150,151]

La detección se lleva a cabo con radiación proveniente de un sincrotrón, la cual provee un haz intenso y sintonizable de rayos-X.

Existen dos modalidades de esta técnica:

a). XANES, que es una técnica sensible al estado de oxidación, simetría puntual, configuración electrónica y el ambiente de coordinación de la especie absorbente, y

b). EXAFS, que es una técnica más sensitiva a las distancias interatómicas, al número de coordinación, al desorden térmico y a la estructura, así como a las especies vecinas del absorbente [145]. (Ver fig. 46)

5.10. Nanosizer: mediciones de tamaño de partícula.

El principio de esta técnica se basa en la medición de la dispersión o movimiento de las NPs, lo cual se mide comúnmente con una técnica no invasiva denominada Dispersión de Luz Dinámica “Dynamic Light Scattering (DLS)”, también referida como Espectroscopía de Correlación Fotónica (Photon Correlation Spectroscopy) PCS o Quasi-Elastic Light Scattering (QELS). En términos más sencillos, la técnica usa el Movimiento Browniano que tienen las NPs al moverse o difundirse como consecuencia de las colisiones con el solvente. Este movimiento también está en función de la temperatura y la viscosidad del solvente. La Innovación tecnológica para medir tamaño de partícula se conoce como Nanosizer (ZEN 3600) que mide tamaño de partícula y el potencial Z se determina con un Zetasizer [18, 146]. Ver fig 47.



Figura 47. Equipo Nanosizer que mide tamaño de partícula [17,146].

5.11. Micropolarímetro-Interferómetro

Para la detección de las NPs se utiliza un polarizador encargado de polarizar el haz de luz generado por la fuente de luz y a continuación un modulador fotoelástico adaptado para modular la fase periódica en estado de polarización de la luz generada por la fuente. Las NPs circulan secuencialmente hacia una región donde la luz ha sido focalizada por una lente por un portamuestras que se encuentra alineado.

5.12. Método de Detección y Caracterización de NPs en línea.

El sistema de detección y caracterización de NPs. Se basa en la detección y caracterización en línea, *in vivo* de NPs y entes biológicos nanométricos.

Los métodos de detección se basan en:

- a). La medición de la sublongitud de onda óptica,
- b). La Microscopía Óptica Próximal de Campo (SNOM),
- c). El marcado de biomoléculas y
- d). La ablación fototérmica de tumores y terapias contra el cáncer.

Esta técnica se basa en el uso de un dispositivo que permite llevar a cabo la detección polarimétrica e interferométrica que hace pasar luz láser verde, generada con un Diodo Láser de Alta Potencia (DLAP) , a través de un objetivo de Microscopio de Inmersión enfocando la muestra de NPs que se encuentra en un portamuestras.

Mediante dicha incidencia, la interferencia del haz dispersado por las NPs con la reflexión producida en la interfaz entre la superficie de la muestra y el aceite, un aceite con un índice de refracción muy similar al de la fibra hueca (o microcanal por donde circulan las NPs), en el que se encuentra sumergida la lente del objetivo del Microscopio, donde la intensidad detectada es proporcional a la tercera potencia del tamaño de la NP. Como resultado se pueden caracterizar NPs de 5 nm de diámetro nominal con una apertura numérica del objetivo de Microscopio establecida en $N = 1.4$.

Este dispositivo permite trabajar con láseres de longitud de onda diferente y "en línea", es decir, con un monitoreo continuo y en tiempo real, con dos modos de funcionamiento: con 1 brazo (del interferómetro) y con dependencia proporcional a la sexta potencia del tamaño, o bien con los dos brazos, con una dependencia proporcional a la tercera potencia del tamaño. En ambos casos se realiza la detección de la luz dispersada por las NPs a estudiar, donde dicha radiación está modulada a alta frecuencia (50 kHz).

La detección con el segundo brazo permite trabajar con interferencia destructiva (o casi destructiva) y por lo tanto también permite aumentar considerablemente la sensibilidad del sistema (detección con fondo negro) y la Señal de Ruido (SNR).

La configuración del micropolarímetro de fase modulada acoplado a un interferómetro permite que la luz dispersada detecte un ángulo donde se refleja el haz de luz en forma de cono con un semiángulo en el vértice próximo a los 63° , haciendo que el sistema registre la señal modulada para después realizar un cálculo de FFT (Fast Fourier Transform o Transformadas de Fourier) obteniendo la intensidad continua.

Una variación de la señal continua indica el paso o la detección del paso de la NP, mientras que una variación de la relación de las intensidades (normalizadas con la señal continua) del primero y segundo armónicos están relacionadas con el tamaño y las características ópticas de la NP (índice de refracción complejo: partes real e imaginaria).

Con una sola longitud de onda se pueden determinar únicamente dos de los tres parámetros (tamaño, y partes real e imaginaria del índice de refracción).

La modulación realizada permite trabajar siempre con todas las polarizaciones, de los Sistemas Lineales y Elípticos; donde se utiliza un Modulador Fotoelástico propio de los Sistemas Elipsométricos PME (phase-modulated-ellipsometry).

El frente de onda de luz, donde se ilumina la NP, no es plano sino quasi-esférico debido a la fuerte focalización del objetivo del microscopio en el medio citado anteriormente formado por aceite con un índice de refracción muy similar al de la fibra de cuarzo que se utiliza para detectar las NPs.

Este sistema permite detectar la luz dispersada de una forma global para todos los ángulos de dispersión (cono de dispersión), ya que, el estado de polarización y la intensidad de la luz dispersada depende del ángulo de dispersión, que permite deconvolucionar la señal detectada para determinar los parámetros ópticos de la NP.

Además utiliza un sistema fotomultiplicador para registrar la señal, a diferencia de otros sistemas conocidos que utilizan dos o cuatro cuadrantes y fotodiodos^[147].

5.13. Caracterización química y estructural de NPs por Microscopía Electrónica de Alta Resolución (HRTEM) y Microscopía Electrónica de Ángulo (HAADFSTEM).

Por otro lado, el TiO_2 es empleado en una gran variedad de aplicaciones. En la catálisis heterogénea se utiliza como soporte en diversas reacciones químicas. El rutilo también se utiliza como soporte catalítico de diversos metales nobles tales como el Pd, Pt, Ag, Ir y el Au.

Debido a sus propiedades superficiales y electrónicas puede ser utilizado como soporte de NPs de Au, Au-Ir e Ir enfocado a reacciones de oxidación de monóxido de carbono. Las muestras de este tipo pueden ser caracterizadas utilizando Difracción de Rayos X (DRX) y técnicas de Microscopía Electrónica como la Microscopía de Imagen de Campo Oscuro de Gran Ángulo (HAADF-STEM) mejor conocido como “Contraste Z” y la Microscopía de Alta Resolución (HRTEM) así como el análisis químico puntual por Espectroscopía de Dispersión de Energía de Rayos X (EDXS-STEM) [148].

Las técnicas actuales de caracterización de NPs permiten visualizar sus propiedades físicas dirigidos al estudio de la materia condensada. El tamaño de las NPs y su capacidad para enlazar moléculas orgánicas permite su utilización como transportador de fármacos a dianas concretas dentro del organismo. Cuando las NPs son ferromagnéticas se abre la posibilidad de ser conducidas a través del torrente circulatorio hasta su objetivo mediante gradientes de campos magnéticos [149].

VI. TIPOS DE MUESTRAS A CARACTERIZAR.

6.1. Características superficiales de las NPs.

Para poder caracterizar las NPs es importante considerar las características de las NPs como su tamaño, la eficiencia de encapsulación, el potencial zeta (carga superficial), y la liberación del fármaco [32] o de otro sistema, así como la estabilidad de las mismas ya que su estabilidad depende de la modificación en la superficie de las NPs.

Por ejemplo el PEG es un polímero hidrofílico, no-iónico y es biocompatible. Las moléculas de PEG se pueden unir a las NPs a través de enlaces covalentes o incluyéndolas durante la preparación de las NPs para permitir la adsorción en la superficie de las mismas.

Otro polímero utilizado para la modificación de superficie es el quitosano. La adición del mismo a la superficie permite la penetración de las macromoléculas en las mucosas. Esto es debido a la capacidad del quitosano de modificar las uniones en el epitelio intestinal. Por otra parte, la adición de quitosano en la superficie de las NPs da lugar a la obtención de un potencial zeta positivo permitiendo la eficiencia de encapsulación de moléculas hidrofílicas como las proteínas. Ver tabla 2.

Varios tipos de modificación de superficie descritos recientemente en la literatura se resumen en la siguiente tabla 2. El polímero más comúnmente utilizado para este fin es el polietilenglicol (PEG).

Polímero	Modificador de superficie	Tamaño (nm)
PLGA	Poloxamina 98	~ 160
PLGA	Poloxamer 407	~ 160
PLGA	Chitosan	500
PLGA-mPEG	PEG	133 - 163
PLGA-mPEG	PEG	113
PLGA-PEG	PEG	198
PLA	PEG6000	164 - 270
PLA	PEG	>200
PLA-PEG	PEG	~130
PLA-PEG	PEG	~150
PECA	Polisorbato 80	220 - 280

Tabla 2. Polímeros más comúnmente utilizados para la modificación de superficie [32].

6.2. Tipos de materiales: los materiales porosos son útiles para unirse con sistemas nanoparticulizados porque muchas reacciones se llevan a cabo sobre estas superficies y se pueden rellenar los poros con: metales, polímeros y moléculas.

Por ejemplo los sistemas nanoporosos de óxido de titanio son capaces de purificar agua usando la luz del sol como fuente de energía. Se incluyen grupos orgánicos en la superficie de los poros para hacer coladores moleculares, que seleccionan y detectan determinadas moléculas. O también pueden ‘pescar’ otras moléculas o iones de una solución, como los contaminantes.

Si ponemos enzimas dentro de recubrimientos nanoporosos, podemos usar estos sistemas para tareas tan diversas como cortar un polímero o amplificar ADN. Si en lugar de una enzima, ponemos un polímero conductor dentro del poro, entonces podemos fabricar una celda solar de nueva generación. O si agregamos NPs a los nanoporos, podemos usarlos como recubrimientos antibacteriales, o como sistemas ópticos de detección de moléculas que estén incluso muy diluidas.

Se han imitado las alas de mariposas, fabricando dispositivos ópticos que cambian de color cuando detectan un vapor con determinada composición química. Se destaca sus aplicaciones en el cuidado del medio ambiente, la generación de nuevas energías o el desarrollo de la biotecnología.

El Doctor Soler Illia asegura que combinando NPs de óxido de silicio (arena) y un polímero, podemos obtener un vidrio flexible a baja temperatura (80-100°), o un plástico muy brillante. Podemos incluir una enzima (una biomolécula que es una fábrica molecular) dentro de una matriz que sirva como un catalizador reciclable. O bien, se pueden reforzar las propiedades mecánicas de un plástico para hacerlo más resistente, o ‘colgar’ anticuerpos sobre una NP, para que pueda detectar un cierto tipo de célula, y se adhiera a ella ^[143].

Algunos de estos NEMs ya están patentados, y otros se están investigando y produciendo con empresas nacionales o extranjeras, o con otras instituciones como el INIFTA (Instituto de Investigaciones Fisicoquímicas Teóricas y Aplicadas) o el INTI (Instituto Nacional de Tecnología Industrial).

Los materiales moleculares funcionales, ya sean ópticos, electrónicos, magnéticos, químicos o bioactivos, presentan como ventajas más destacadas con respecto a muchos de los materiales tradicionales su transparencia, elevada flexibilidad, bajo peso, facilidad de procesamiento y bajo costo.

Para poder desarrollar este tipo de materiales dispositivos funcionales de utilidad práctica se necesita tener una buena estructura, ya sea en forma de partículas o sobre superficies, de tal forma que la respuesta del material a un determinado estímulo externo, mediante el cambio de alguna de sus propiedades, sea más efectiva y fácil de monitorear.

En los últimos años, el interés por los dispositivos basados en materiales moleculares funcionales nanoestructurados ha aumentado dadas las ventajas respecto al tamaño de partícula y al tipo de estructura.

Existen procedimientos basados en la utilización de interacciones débiles (fisiosorción, interacciones δ - δ , puentes de hidrógeno) y fenómenos de precipitación controlados que permiten la nanoestructuración de diversos tipos de materiales moleculares funcionales obteniéndose desde sensores de presión y de metales tóxicos, como el Hg^{2+} , hasta dispositivos que permiten almacenar la información. También existen procedimientos que permiten la obtención de micro- y NPs sólidas y de dispersiones de nanovesículas para la liberación controlada de fármacos ^[151] .

Se han diseñado NPs funcionalizadas muy específicas para romper enlaces C-C y C-N tanto de la membrana celular, así como cadenas de ADN y ARN de células malignas ^[31].

VII. NANOPARTÍCULAS SÓLIDAS LIPÍDICAS Y SU VÍA DE ADMINISTRACIÓN.

Existen un gran número de sistemas de suministro de sustancias activas, dentro de los que se encuentran las nanopartículas sólidas lipídicas (SLN), desarrolladas a principios de 1990, como una alternativa a otros sistemas de fármacos como las emulsiones, liposomas y a las NPs poliméricas. En su fabricación se conjuntan las ventajas de las partículas sólidas, con las de las emulsiones y las de los liposomas.

Las SLN se han generado simplemente intercambiando el lípido líquido de las emulsiones, por un lípido sólido, las cuales son sólidas temperatura ambiente y también a temperatura corporal. Son de forma esférica, con un diámetro entre 50 nm y 500 nm dispersas en un medio acuoso, consideradas como parte de un sistema coloidal (con una proporción de agua del 70-95%) que ha permitido el suministro de medicamentos de manera controlada y localizada.

Las ventajas de la utilización de las NPs lipídicas como transportadores incluyen: la utilización de lípidos fisiológicos en su formulación, no utilizan solventes orgánicos en su preparación y tienen un amplio uso respecto a la vía de administración en piel, por vía oral y por vía intravenosa, mediante los medicamentos tradicionales como son las pomadas, tabletas, cápsulas, suspensiones o soluciones inyectables. Las NPs lipídicas protegen las moléculas de fármacos susceptibles a la degradación bajo la influencia de agentes externos como la luz y el agua, presentan una mejor biodisponibilidad y podrían ser diseñadas para dar perfiles de liberación prolongada de sustancias activas poco solubles en agua, al incorporarlas en la matriz lipídica sólida.

Entre sus desventajas estarían el posible crecimiento de las partículas durante su almacenamiento, la tendencia hacia una gelificación impredecible, la existencia de cambios inesperados en sus transiciones polimórficas y su inherente baja capacidad de incorporación de fármacos limitada por la estructura cristalina del lípido sólido ^[50].

7.1. Estructura de las SLN.

Las SLN poseen un núcleo sólido lipídico que puede solubilizar fármacos lipofílicos. El núcleo se estabiliza con tensoactivos y co-tensoactivos que se adhieren a la superficie del lípido, creando una barrera física. Para su utilización con fines farmacéuticos todos los ingredientes utilizados en su preparación deben ser reconocidos como materiales seguros (GRAS-Generally Recognized as Safe).

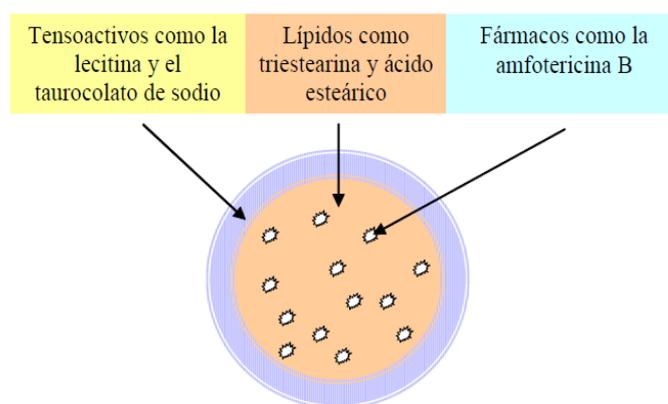


Figura 48. Representación esquemática de una nanopartícula lipídica sólida – SLN ^[152] .

7.2. Propiedades de las SLN.

Las propiedades y la estabilidad de las SLN se han mejorado mediante la adición de lípidos líquidos en los que el fármaco generalmente es más soluble, dando lugar a nuevos sistemas nanoparticulizados conocidos como acarreadores lipídicos nanoestructurados (NLC), que consisten en matrices formadas por un lípido solidificado con patrones cristalinos específicos, que incluyen nanocompartimentos de lípido líquido, en el cual va disuelto el fármaco. El propósito original de los NLC es evitar la recristalización tanto de la fase lipídica así como de sustancias activas cargadas en ellos, para prevenir la separación de los fármacos. Sin embargo, a estos transportadores también se les ha encontrado utilidad para lograr la estabilización química de fármacos, para aumentar la solubilización de sustancias activas poco solubles y para facilitar la protección contra los rayos solares (Ver fig.48).

En las SNL pueden incorporarse a diferentes tipos de fármacos de carácter lipofílico e hidrofílico, inclusive se han incorporado aceites volátiles, con el propósito de protegerlos de la degradación y orientarlos hacia un objetivo específico mediante este sistema acarreador.

La capacidad de incorporación o capacidad de carga de las SLN se expresa como un porcentaje relativo a la fase lipídica. La capacidad de carga es variable y depende de algunos factores, un porcentaje típico se encuentra entre 1 y 5%, aunque se han reportado cargas de hasta 50%, dependiendo del sistema utilizado. Una propiedad para mantener la capacidad de carga elevada en las SLN es solubilidad del lípido fundido.

Otras variables que influyen sobre su incorporación son la miscibilidad del fármaco fundido con el lípido fundido, la estructura física y química de la matriz lipídica sólida y el polimorfismo del material lipídico.

El estudio de las SLN está dirigido a conocer su capacidad de carga y otras características en relación con su interacción con los fármacos, y su vía de administración, el tipo de asociación del fármaco con las partículas transportadoras y los posibles efectos del fármaco sobre las propiedades fisicoquímicas de las nanopartículas, como el potencial zeta, que será determinante en la probabilidad de crecimiento y la coalescencia.

7.3. Consideraciones generales para la elaboración de las SLN y NLC

Muchos investigadores han desarrollado y optimizado los procesos de obtención y escalamiento de las SLN y de los NLC, combinando elementos de diferentes técnicas de ruptura y dispersión de la fase lipídica, tales como:

- a) La homogeneización a alta presión (en frío o en caliente),
- b) La microemulsificación con agitación a alta velocidad o por medio de ultrasonido,
- c) La emulsificación mediante evaporación o difusión del disolvente en el cual se encuentre disuelta la fase oleosa,
- d) La doble emulsificación (agua/aceite/agua) y

e) La nanoesferonización a alta velocidad.

La liberación de un compuesto lipofílico a partir de estos mecanismos acarreadores lipídicos, es el resultado de la combinación de varios mecanismos de partición entre las fases lipídicas que los constituyen, el tensoactivo y el medio acuoso que los rodea.

Los procesos de elaboración de las nanopartículas lipídicas (NL) incluyen en primer término la preparación de la fase oleosa mediante la fusión o disolución de las grasas, de tal manera que pierdan su estructura cristalina original. Los lípidos que formarán la matriz de las NL deberán seleccionarse considerando su capacidad para disolver el fármaco que constituye la carga, eligiendo aquellos en los que se presente el coeficiente de partición (aceite/agua) más alto. La concentración del fármaco disperso o disuelto en la fase oleosa en la matriz, juega un papel importante para mantener el tamaño y la estructura de las partículas.

Los lípidos líquidos tienen mayor capacidad para solubilizar fármacos que los lípidos sólidos, lo que hace que los NLC presenten una mayor capacidad de incorporación y mejor control de la liberación que las SLN. Sin embargo, se considera que las dispersiones de NLC no presentan ninguna ventaja sobre las nanoemulsiones convencionales, por la probabilidad de que una porción de aceite y del fármaco incorporados a la matriz lipídica sólida, sean expulsados de la masa del lípido fundido durante el enfriamiento y la cristalización.

Las características principales de las SLN y los NLC tales como: tamaño de partícula, grado de dispersión del tamaño, potencial zeta, eficiencia de carga y cinética de liberación, están determinadas por la naturaleza de la matriz de lípido, por la mezcla de tensoactivos, la viscosidad de la fase lipídica, la viscosidad de la fase acuosa en el momento de la emulsificación, y también por los parámetros de producción, principalmente por las condiciones de homogeneización y la temperatura.

El diseño de las NPs lipídicas se podría realizar a la medida, de acuerdo a sus propiedades de liberación. Se ha observado que los triglicéridos de cadenas medianas, tienen la capacidad de remplazar de forma aleatoria hasta un 16% de una estructura sólida formada por otros lípidos, formando gotas en el interior de los NLC. Los ácidos grasos naturales constituidos por cadenas de C₁₄ a C₂₄, se pueden utilizar con este fin, y aunque podrían incrementar los niveles de colesterol sérico, se prefieren por su mejor tolerancia. Los triglicéridos (Tricaprina, Trilaurina, Trimiristina, Tripalmitina, triestearina), los monoglicéridos (monoestearato de glicerol, behenato de glicerol, palmitoestearato de glicerol) y ácidos grasos (esteárico, palmítico, decanóico y behénico), ceras (palmitato de cetilo) y aceites (alfa tocoferol y ésteres cáprico-caprílicos), son los materiales más utilizados. También se encuentran algunos complejos cíclicos como las ciclodextrinas y los para-acilcalix - arenos.

La segunda etapa del proceso consiste en la preparación de la fase acuosa, la cual generalmente es una disolución de alta concentración de tensoactivos. La naturaleza y concentración de los tensoactivos o emulsificantes, tienen gran impacto en las propiedades físicas de las NPs lipídicas, puesto que son adsorbidos en la superficie de las gotas de grasa, formando una barrera estérica que les imparte estabilidad física e impacta en el tamaño de partícula, potencial zeta, su estabilidad química y sus propiedades biofarmacéuticas. Su naturaleza y concentración debe ser determinada en cada caso. Sin embargo, muchos de ellos son poco tolerados por el cuerpo humano.

Las mezclas de tensoactivos generalmente tienen un efecto sinergista, produciendo una película interfacial con alta capacidad de recubrimiento y con viscosidad suficiente para disminuir la agregación de las partículas durante la producción y el almacenamiento. La adición de co-emulsificantes mejora la estabilidad física de las partículas al incrementar los efectos estéricos y la rigidez de la película externa, y también al modificar la carga superficial de las partículas. Los estabilizadores también pueden tener un efecto pronunciado en el tiempo de aparición de las transiciones polimórficas de los triglicéridos que conforman las NPs.

Entre los tensoactivos y co-tensoactivos más utilizados se encuentran: fosfolípidos como la lecitina de soya, lecitina de huevo y fosfatidilcolina; copolímeros de óxido de etileno-óxido de propileno como el Poloxámero 188, Poloxámero 182, Poloxámero 407, Poloxamina 908; copolímeros de óxido de etileno y sorbitan/óxido de propileno como el Polisorbato 20, Polisorbato 60, Polisorbato 80; polímeros poliéteres de alcohol alquil-arílico como el Tyloxapol; sales biliares como el colato de sodio, glicolato de sodio, taurocolato de sodio y taurodeoxicolato de sodio; alcoholes como el etanol y butanol; polímeros estabilizadores tales como alcohol polivinílico (PVA) y polivinilpirrolidona (PVP).

La tercera etapa en la elaboración de las NL consiste en la formación de una pre-emulsión, mezclando la fase oleosa y la acuosa en frío o en caliente, mediante agitación mecánica vigorosa o ultrasonido. La disgregación de las gotas del lípido (fundido o disuelto) en partículas nanométricas requiere de suficiente energía, por lo que el uso de homogeneización a alta velocidad o a presión, debe llevarse a cabo durante varios ciclos.

Los parámetros involucrados en el proceso de preparación de las SLN así como la relación lípido: lípido, lípido: tensoactivo, deben optimizarse con el fin de obtener el tamaño de partícula, eficiencia de encapsulamiento, disponibilidad biológica y estabilidad deseadas.

Por ejemplo, recientemente se han desarrollado SLN con carga superficial positiva, como transportadores alternos para el suministro del ADN utilizado en terapia génica no viral dirigida a receptores específicos, debido a las ventajas tecnológicas que tienen estos vectores sobre otros utilizados con esa finalidad. Las SLN catiónicas forman 9 complejos con ADN y le protegen contra otras moléculas del medio y contra la digestión provocada por las ADNasas.

La última etapa consiste en la concentración y purificación de la dispersión acuosa de NL mediante procesos de evaporación, ultracentrifugación, ultrafiltración, secado o liofilización (mediante la adición de crioprotectores como trehalosa, manosa, maltosa, fructuosa, PVP o PVA), lo que permitirá facilitar su manejo y administración.

7.4. Administración por vía oral y parenteral.

Como ya se mencionó, las dispersiones de SLN o de NLC, pueden ser incorporadas a diferentes formas farmacéuticas que facilitan su administración y permiten alcanzar el sitio del organismo en donde van a liberar su activo o producir su efecto. Las dispersiones de NL con viscosidad alta, pueden ser utilizadas como agentes granulantes en la elaboración de sólidos orales. Si su uso va a ser por vía parenteral, deben someterse a un proceso de purificación que permita la eliminación del alto contenido de tensoactivos presentes, ajustar la isotonicidad, esterilizarse y, si se requiere liofilizarse, lo cual incrementa su estabilidad física.

Del mismo modo, tras una administración intravenosa, las NPs hidrofóbicas son rápidamente retiradas de la circulación sistémica por el SFM y terminan en el hígado o el bazo.

7.5. Administración Tópica.

El uso tópico de productos nanoestructurados en dermatología, ha representado un avance considerable en la absorción de los activos y su penetración hasta las capas más profundas de la piel; las estructuras biocompatibles de las SLN y los NLC que se utilizan para revestir y/o cargar activos permiten modular su liberación, y proporcionan mayor estabilidad a los componentes de la fórmula, mejorando los resultados. Un ejemplo es el transportador lípido nanoestructurado formado por ácido esteárico conteniendo diferentes proporciones de ácido oleico. El fenómeno de gelificación en las dispersiones de NL para la preparación de formulaciones dermatológicas conteniendo fármacos lipofílicos, se realiza mediante la adición de carbopol, goma de xantana o carragenina, resultando geles con perfiles de liberación del fármaco más prolongados, más seguros y menos irritantes. También se emplean mezclas de poliacrilamida: glicerol o de dextran con glicidil metacrilato. Debido a la capacidad hidratante de los componentes, el gel disminuye la evaporación y el grado de transiciones polimórficas de los lípidos que constituyen la matriz de las NL.

La incorporación de NL en formulaciones dérmicas tiene dos objetivos principales: el primero consiste en restaurar la acción normal de la piel en caso de sufrir alguna enfermedad debida a infecciones, inflamaciones o algún otro padecimiento (ámbito farmacéutico); el segundo tiene como objetivo mantener la piel en buenas condiciones para retardar el envejecimiento debido a factores externos como oxidación, deshidratación, efecto de los rayos UV, entre otros factores (aspecto cosmético).

Los productos dérmicos para retardar el envejecimiento, son en la actualidad el mejor ejemplo de aplicación de nanocosméticos. Diversos estudios han demostrado que las SLN en sí mismas tienen una acción humectante sobre la piel, debido a que ejercen un efecto oclusivo que retarda la pérdida normal del agua contenida en la epidermis, manteniéndola hidratada.

Presentan también la ventaja de tener un efecto reflejante de la luz ultravioleta del sol, actuando como protectores solares.

El aspecto cosmético de los productos, así como la sensación que dejan al aplicarlos sobre la piel es muy importante. El uso de protectores solares nanoparticulados, como es el caso del dióxido de titanio y el óxido de zinc ha permitido la transparencia de los productos, aumentando la aceptación de los usuarios y en consecuencia una mejor protección contra la aparición de cáncer en piel ^[153].

VIII. APLICACIONES MÉDICAS O BIOMÉDICAS.

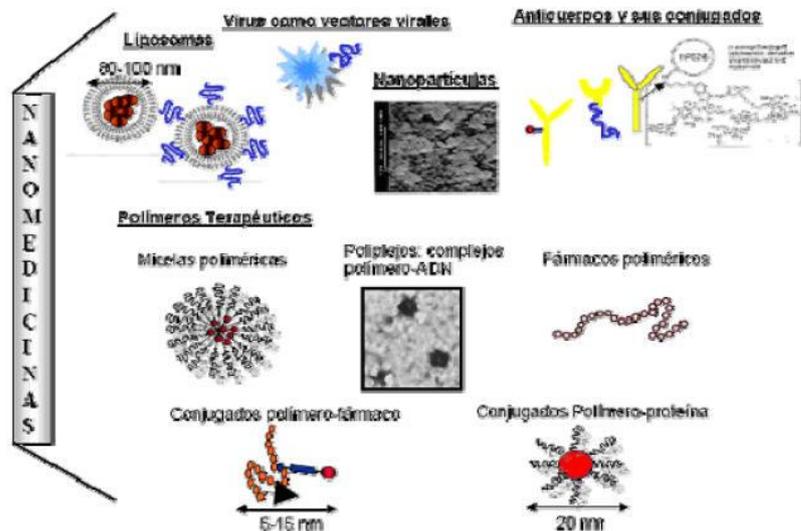


Figura 49. Representación de los tipos de Nanomedicinas desarrollados, entre ellas los polímeros terapéuticos [154].

8.1. Ventajas del Uso de Nanoestructuras.

Como la Nanotecnología implica la habilidad de manipular materia a su nivel atómico, es una tecnología de fabricación, en la que materiales artificiales son conformadas a un átomo utilizando mecanismos de ensamble con el potencial de autorreplicación. Un ejemplo de esto serían las proteínas que operan como máquinas moleculares programadas para la manipulación de átomos individuales (Ver fig. 49).

El Au coloidal se ha utilizado en la terapia para artritis reumatoide. En un estudio relacionado, la implantación de los granos del Au cerca de empalmes artríticos de la cadera en perros ha sido útil para disminuir el dolor. El experimento *in vitro* ha demostrado que la combinación de la radiación de la microonda y del Au coloidal puede destruir las fibrillas y la placa del beta-amiloide las cuales se asocian a la EA. Las posibilidades de usos radiactivos están en estudio [67, 109].

Las AuNPs se están investigando como portadores para los fármacos por ejemplo Paclitaxel. La administración de fármacos hidrofóbicos requiere encapsulación y se encuentra que las NPs son eficientes en la evasión del Sistema Reticuloendotelial.

En particular, el organismo reconoce como extrañas a partículas hidrofóbicas, por lo que son rápidamente adoptadas por el sistema fagocítico mononuclear (SFM). Es por esto que si se desea que la formulación se mantenga en la circulación sistémica se requiere una modificación en la superficie de las NPs hidrofóbicas para evitar la fagocitosis.

Si el objetivo es tratar una enfermedad en estos órganos, entonces la elección adecuada para la aplicación serían NPs hidrofóbicas.

En la investigación de cáncer, el Au coloidal se puede utilizar para detectar tumores por Espectroscopía de Raman (SERS) *in vivo*. Se pueden detectar tumores con AuNPs recubiertos con PEG y conjugando las AuNPs con anticuerpos monoclonales (o un fragmento del anticuerpo como el scFv). Que representa un receptor epidérmico del factor del crecimiento, que es sobre expresado en las células de ciertos tipos del cáncer [67,110].

Conjugados como los complejos de Au unidos a péptidos AuNP-péptido pueden ser funcionalizados para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer (EA).

La EA es un desorden cerebral de carácter degenerativo para el cual aún no hay cura o tratamiento efectivo. Análisis histopatológicos de tejido cerebral se caracterizan por alteraciones que involucran a A β y a la proteína Tau [149], siendo un factor clave, en la pérdida de la integridad sináptica y de las células neuronales [157], la presencia de placas amiloides [115], compuestas por depósitos de A β y componentes de la matriz extracelular [157].

Aún cuando A se encuentra fisiológicamente en el cerebro ^[158], en condiciones patológicas se autoagrega formando diferentes especies anómalas que incluyen desde pequeños oligómeros hasta fibras^[159,160], que finalmente derivan en los depósitos tóxicos ya mencionados.

Péptidos que se han diseñado para estos fines es el péptido LPFFDNH₂, ya que este compuesto tiene la capacidad de atravesar la BHE. En estudios llevados a cabo *in vivo*, además de poseer un reducido tamaño y una elevada afinidad y selectividad por los agregados de A al conservar los aminoácidos claves para el reconocimiento y anclaje de este péptido a esta diana (L y F) e incorporar prolina, que debido a su particular estructura química le confiere la capacidad de actuar como un potente agente disruptor de láminas ^[161], evitando no sólo la agregación de A, sino también la posible autoagregación del péptido. Es importante considerar los estudios de toxicidad ^[110].

Actualmente se estudia el diseño racional de nanomateriales complejos: desde NPs metálicas, materiales nanoporosos, hasta materiales híbridos orgánico-inorgánicos, con una infinidad de aplicaciones en biomedicina.

Se está investigando en fármacos dirigidos específicamente a la zona dañada del organismo o en el de tejidos artificiales que funcionen como los orgánicos, como por ejemplo el trasplante de células madre, Figura 50, el cual es una estrategia terapéutica que podría ser utilizado para curar muchas enfermedades neurodegenerativas que hasta el día de hoy son incurables.

Otro ejemplo es la enfermedad de Alzheimer o la de Parkinson, las cuales surgen como consecuencia de la muerte paulatina de neuronas y cuando esto pasa, quedan alterados los circuitos neuronales que nos permiten llevar a cabo con normalidad actividades tan básicas como controlar nuestros movimientos o recordar lo que hemos hecho durante el día ^[154].



Figura 50. Posibles usos de las células madres^[162].

Otra aplicación es el desarrollo de una nanoplataforma multifuncional inyectable por vía parenteral que pueda ser empleada simultáneamente en el diagnóstico y la terapia anticancerígena combinando la capacidad de diagnóstico a través de imágenes de resonancia magnética y/u óptica y la capacidad terapéutica mediante la combinación de las terapias químicas, fototérmica y magnetotérmica.

Esta nanoplataforma está construida con elementos biocompatibles y biodegradables (polímeros, NPs inorgánicas, u otros compuestos). Es un nanovector polimérico que permite asegurar tiempos de circulación prolongados y una liberación controlada de la sustancia activa.

Este vector se podría utilizar en tumores malignos, donde estas moléculas serían dirigidas moléculas guía que se unirían específicamente a receptores de membrana sobre expresados en las células malignas.

Los usos de las NPs y sus ventajas se resumen en los siguientes puntos:

- a) Diagnóstico y terapia para el tratamiento de tumores sólidos.
- b) Sustitución de los distintos sistemas multifuncionales estudiados actualmente en la práctica clínica.

- c) Son sistemas selectivos que permiten la especificidad de acción reduciendo los niveles de afectación en células sanas y, por lo tanto, disminuyen los efectos secundarios, en el tratamiento de cáncer.
- d) Permiten reducir las dosis necesarias para alcanzar la acción terapéutica necesaria.
- e) Se pueden utilizar en combinación con la terapia fototérmica y/o magnética y con la terapia farmacológica que implicaría una acción combinada para incrementar la mortalidad de las células malignas en el tratamiento de cáncer.
- f) Pueden incrementar el tiempo de circulación en el torrente sanguíneo mediante la protección con la nanomatriz polimérica, minimizando la cantidad de dosis del fármaco.
- g) En la disminución del tiempo necesario para el diagnóstico y el tratamiento eficaz de cáncer.
- h) En la disminución de los costos económicos, al mantener todas las funciones anteriormente mencionadas en un solo sistema ^[163].

Las aplicaciones de la Nanotecnología a mediano y largo plazo son infinitas. Ya hoy día existe un gran número de nuevos productos y técnicas, que tienen su origen en los resultados de investigación de las nanociencias.

8.2. Nanooncología.

Uno de los campos más promisorios es el uso de nanosistemas en el diagnóstico y tratamiento del cáncer.

El objetivo primordial es la identificación temprana de cambios celulares que permitan la intervención con agentes que actúen específicamente en las células afectadas, evitando así los efectos tóxicos sistémicos o sobre células vecinas sanas.

Los dendrímeros, gracias a la capacidad de ligar moléculas en las ramificaciones libres, se convierten en nanodispositivos con funciones "todo en uno": reconocimiento de células cancerosas en etapas tempranas (utilizando PCs y ferrofluidos como medios de contraste o señales fluorescentes), identificación de cambios celulares como la sobreexpresión de ácido fólico o de receptores específicos (gracias a nanosensores que detectan cambios genéticos, o añadiendo al dendrímero anticuerpos contra moléculas blanco), identificación en medios convencionales de diagnóstico clínico (por ejemplo, asociando Gd que se utiliza en contraste para RNM), acarreadores y liberadores de fármacos específicos en las células blanco y sensores de la eficacia del medicamento administrado mediante la detección de moléculas producidas durante la muerte celular.

Los ensayos con dendrímeros del tipo complejos PAMAMdoxorubicina, a los que se les ha incorporado un sistema liposomal para la liberación controlada del medicamento, han sido exitosos *in vitro* en las líneas celulares de cáncer pulmonar, de colón, mama, sistema nervioso central y de próstata.

Aunque estos sistemas de dendrímeros están aún en investigación, se consideran como alternativas futuras para el tratamiento del cáncer. En algunos cánceres de mama se han conjugado gotas cuánticas y NPs con anticuerpos específicos contra biomarcadores (como los receptores de estrógenos y progesterona, y el receptor ERBB2 para los miembros de la familia de factores de crecimiento epitelial) para la detección y cuantificación en muestras muy pequeñas del tumor; además, *in vivo*, permiten obtener imágenes tempranas de la ubicación exacta de la lesión primaria y de las metástasis.

Se han usado varios nanodispositivos con la idea de administrar el agente quimioterapéutico minimizando sus efectos sistémicos. Se ha utilizado la doxorubicina en nanoliposomas que mantienen su eficacia, con una disminución notable en los efectos de cardiotoxicidad, razón por la cual en Estados Unidos ha sido aprobado su uso para el tratamiento de cáncer de ovario, sarcoma de Kaposi y cáncer de mama metastático.

8.3. Soluciones Nanohemostáticas.

La Nanotecnología parece abrir una posibilidad interesante frente a los métodos tradicionales de hemostasia (aplicación de presión, cauterización, ligadura y vasoconstricción terapéuticamente inducida), teniendo en cuenta sus limitaciones como tamaño, necesidad de un ambiente seco para actuar (por ejemplo: cianoacrilatos), tiempo de vida media corta y, especialmente, la respuesta inmune generada y la incapacidad de controlar los efectos vasoconstrictores de algunos de ellos, que provocan lesión o la muerte de las células adyacentes. En investigaciones en los que se han utilizado hámsters sometidos a diferentes procedimientos quirúrgicos cerebrales, hepáticos y de las extremidades, se demostró que el uso de una solución hemostática hecha de aminoácidos que se autoensambla en una nanosolución peptídica, inducía a la formación de una barrera de nanofibras que no sólo detenía el sangrado sino que, posteriormente, favorecía el proceso de reparación de las áreas adyacentes, cuando el material se fragmentaba en sus unidades básicas (L-aminoácidos naturales) que eran incorporados al tejido y a la matriz extracelular. Después de una lesión cerebral, por ejemplo, la nanosolución logró la hemostasia en menos de 10 segundos y facilitó la regeneración neuronal y la migración celular al sitio del trauma.

8.4. Nanotecnología para Permeabilizar Barreras Biológicas.

Referido a los nanosistemas y nanodispositivos multifuncionales, que puedan atravesar diferentes barreras hematoencefálicas con fines terapéuticos; diseñados para superar los obstáculos que tienen los medicamentos para alcanzar ciertos compartimentos biológicos especialmente por la baja estabilidad y el transporte limitado a través de los epitelios, como por ejemplo, el paso de fármacos a través de membranas biológicas como aquellos que atraviesan la barrera hematoencefálica, para facilitar el tratamiento de las neoplasias del sistema nervioso central, cuyas tasas de morbilidad y mortalidad son altas.

Los ensayos con nanoesferas de hexadecil-cianoacrilato muestran la capacidad selectiva de unirse a células de gliosarcoma en modelos de rata y se ha utilizado doxorubicina unida a NPs en modelos de glioblastoma multiforme en roedores, en los que se ha obtenido una remisión significativa con mínima toxicidad.

Con relación al tratamiento del dolor, la dalargina, un hexapéptido análogo a la leucina-encefalina (leu-encefalina), que produce analgesia cuando se administra intraventricularmente pero que carece de este efecto por vía sanguínea, se ha incorporado en NPs cubiertas que le permiten atravesar la BH.

También se ha evaluado la administración transnasal de medicamentos asociados a nanotransportadores, debido a su gran permeabilidad y baja actividad enzimática.

Ensayos *in vivo*, utilizando el modelo del toxoide tetánico incorporado en NPs, muestran una adecuada absorción a través de la mucosa así como una liberación exitosa del antígeno al sistema inmune, generando una respuesta humoral elevada y prolongada, razón por la cual se ha pensado en la utilización de estos nanosistemas en la administración nasal de vacunas.

Se han utilizado por esta vía NPs con insulina. Los ensayos iniciales de la administración ocular de medicamentos mostraron daño de las células epiteliales corneales, pero actualmente se trabaja en la administración por esta vía de indometacina y CsA (polipéptido cíclico compuesto por 11 aminoácidos), con resultados que varían en cuanto a la penetración transcelular o paracelular de las partículas, la absorción y la tolerancia ocular, según el revestimiento utilizado en los nanosistemas.

8.5. Nanotecnología en el Tratamiento de Enfermedades Ventilatorio-Respiratorias.

Se estima que el asma y la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) constituirán la tercera causa de muerte en Estados Unidos, para el año 2020. En el asma, la inflamación de la vía aérea se caracteriza por un incremento del número de linfocitos T activados, especialmente de los ayudadores de tipo 2 (CD4+/Th2) [44]. La Pselectina media la adherencia de los leucocitos y el endotelio contribuyendo así al reclutamiento celular durante la inflamación y al desarrollo de la broncoconstricción por hiperreactividad de la vía aérea. En este sentido, los antagonistas de la Pselectina jugarían un papel clave, por sus efectos antiinflamatorios. Se han utilizado, en un modelo murino, NPs con antagonistas de la Pselectina que se ligan de manera preferencial a selectinas expresadas en células endoteliales activadas, reduciendo la inflamación peribronquial inducida por alérgenos, aunque cabe mencionar que las investigaciones con algunos ligandos selectivos se han suspendido por sus efectos secundarios. Otro punto de interés en el tratamiento del asma es el uso del interferón- γ (IFN γ) debido a su capacidad de promover la respuesta de linfocitos Th1, regular negativamente la de los Th2 y reducir la eosinofilia, la actividad de los factores de crecimiento transformantes beta (TGF- β) y la fibrosis y remodelación de la vía aérea.

En modelos murinos, la administración de IFN γ recombinante (rIFN γ) hace disminuir la inflamación y estabiliza las vías aéreas, pero su uso en el tratamiento del asma se ha visto limitado por su corta vida media y por el desarrollo potencial de efectos adversos graves asociados a un incremento de la dosis.

Para obviar estos inconvenientes, se está investigando el uso intranasal de NPs recubiertas con quitosán, un polisacárido catiónico biocompatible extraído del caparazón de algunos crustáceos, tanto para la acción directa del IFN γ , como de vehículo para la terapia génica; se han obtenido resultados satisfactorios en la profilaxis de la hiperreactividad y la inflamación, atenuación de la sensibilización inducida por alérgenos, disminución de los fenómenos de apoptosis y remodelación de la vía aérea.

Otra área en donde la Nanotecnología es prometedora es el tratamiento de la tuberculosis cuyos esquemas actuales, por su duración, no son bien aceptados por los pacientes.

El uso, en un modelo murino, de NPs que contenían simultáneamente rifampicina, isoniazida y pirazinamida mostró que la administración oral de una dosis era suficiente para mantener concentraciones terapéuticas durante nueve a once días y que después de la quinta dosis no se detectaba la presencia del *Mycobacterium*. También se ha investigado el uso de estas NPs mediante nebulización, incrementando su biodisponibilidad con relación a la administración oral ^[164].

8.6. Materiales Nanoestructurados para Mejores Implantes.

Algunos desarrollos a nivel nanoscópico tiene el potencial de crear nuevas generaciones de implantes médicos que estén diseñadas para interactuar con el cuerpo. Los materiales usados en el cuerpo humano deben poder adaptarse continuamente a los cambios dinámicos que ocurren dentro de él. Por ejemplo, los huesos no son materiales estáticos: a cada momento se están reparando y reconstruyendo.

Para minimizar la interferencia con el crecimiento normal y el funcionamiento de las células que lo rodea, los implantes generalmente son hechos de un material inerte que no reaccione con el cuerpo. Los materiales bioactivos tienen la habilidad de interactuar con el tejido vivo y son los más promisorios para formar una interfase muy fuerte y duradera entre un implante y el tejido vivo que lo rodea. Algunos de ellos han logrado simular tan bien el tejido óseo, que el cuerpo no considera al implante como un cuerpo extraño. Por ejemplo, se han desarrollado cementos artificiales nanoestructurados que reaccionan con los fluidos del cuerpo para formar apatita, la cerámica natural producida por el cuerpo humano. Nuevos materiales nanoestructurados podrían ser usados para fabricar huesos, cartílagos y pieles artificiales que además de no ser rechazados por nuestro organismo ^[165]. También se están usando en otras aplicaciones para sellar cavidades de los dientes.

8.7. Nanotecnología para Combatir Bacterias.

Desde tiempos antiguos la Ag y sus compuestos derivados los cuales tienen propiedades tóxicas contra una gran variedad de microorganismos como bacterias, virus y hongos, han sido aprovechados en la medicina, principalmente porque funcionan sin provocar efectos adversos en las personas. Como las NPs tienen una mayor actividad química debido a su mayor cociente superficie/volumen, no es de sorprender que la Ag, ahora en forma de NPs pueda ser usada como bactericida ^[166].

El desarrollo de nuevos y más eficientes bactericidas es muy importante, debido al reciente aumento de cepas de bacterias resistentes a los antibióticos. En la actualidad NPs de plata son usadas como agentes bactericidas en la instrumentación médica, por ejemplo catéteres, implantes, etc. También como agente cicatrizante y bactericida en vendajes, cremas y geles, o en la fabricación de textiles con propiedades antimicrobianas que reducen la proliferación de hongos y bacterias en la ropa, con lo cual se eliminan olores desagradables ^[6,163].

8.8. Aplicaciones Biofarmacéuticas de los Dendrimeros.

El desarrollo de nuevos nanopolímeros biocompatibles se ha convertido en un importante objetivo de las compañías dedicadas a la Biotecnología.

Las posibles aplicaciones biofarmacéuticas de estos nanopolímeros han demostrado ser múltiples y se citan a continuación:

- Transporte de fármacos, con el fin de aumentar la biodisponibilidad y la fracción activa de los mismos; liberación controlada de fármacos, con el fin de prolongar y/o distribuir mejor su efecto a lo largo del tiempo.
- En terapia génica: una de las facetas más estudiadas de estos nanopolímeros ha sido la relacionada con su potencial para el transporte de ADN, ARN, plásmidos al interior de las células.
- En vectorización de fármacos: como glico-transportadores.
- En administración transdérmica de fármacos (iontoforesis).
- Como antivirales, interfiriendo con el ciclo replicativo de virus y bacterias, postulándose su posible aplicación en dispositivos barrera para la prevención de enfermedades de transmisión sexual, como los microbicidas.
- Como antibacterianos.
- Como antitumorales.
- Como desnaturizantes de proteínas.
- Como vacunas actuando como soporte estructural de péptidos antigénicos en el diseño de estrategias de vacunación.

Dendrimeros como transportadores de fármacos. Los dendrimeros de tipo PAMAM y PPI de peso molecular grande y superficies multivalentes, son macromoléculas con potencial aplicación en transporte de fármacos. La interacción con el fármaco se da en las cavidades del núcleo dendrimérico (endo-receptor) y en la superficie multivalente del armazón externo del dendrimer (exo-receptor). Un ejemplo de dendrimer endo-receptor es la «caja dendrítica», donde un PPI G5 es modificado en superficie con grupos fenil-alanina, que protegen el armazón externo haciéndole más denso. Durante el proceso de crecimiento del dendrimer, se encapsulan en su interior moléculas de diferente tamaño.

El dendrimer puede portar 4 moléculas grandes (Rosa de Bengala) y 8-10 pequeñas (ácido p-nitrobenzoico). Cuando este dendrimer se trata con ácido fórmico, el armazón exterior se abre permitiendo la liberación de las moléculas hospedadas en su interior.

Guadarrama et al., elaboraron unos modelos dendriméricos para poder observar la localización de las moléculas de ibuprofeno y avermectina para poder evaluar las interacciones entre el dendrimer y los fármacos por medio de cálculos de dinámica molecular.

Frechet propuso una micela unimolecular basada en una red dendrimerica de poliarieter con grupos carboxilato en superficie que era capaz de disolver moléculas apolares. Este tipo de dendrimeros serían buenos candidatos para el transporte de compuestos hidrofóbicos bioactivos, como los esteroides.

Mitchell y col. modificaron las aminas de superficie de los dendrímeros PAMAM con un derivado del glicerol [tris (hidroximetil)aminometano], creando dendrímeros hidrosolubles capaces de unir compuestos aromáticos acídicos antibacterianos, los cuales pueden ser liberados cuando baja el pH.

Los dendrímeros de estructura carbosilano (CBS), hidrosolubles y biocompatibles desarrollados por Ortega y colaboradores propiciaron nuevas investigaciones con estos dendrímeros en el transporte de fármacos polianiónicos, tales como la heparina, algunos antiinflamatorios no esteroideos como la indometacina y ácido acetilsalicílico, entre otros, evitando los efectos indeseados de la unión de estos fármacos a proteínas del plasma o a RNAsas (*ribonucleasas*). Debido a su labilidad a pH ácido, podrían ser útiles para la administración de fármacos aniónicos de forma pH dependiente.

Dendrímeros en administración transdérmica de fármacos. En el caso de algunos fármacos como los antiinflamatorios no esteroideos, la administración transdérmica se está estudiando para evitar la administración de fármacos por vía: oral, parenteral, con el fin de evitar efectos secundarios tales como los gastrointestinales o la nefrotoxicidad. La presencia del dendrímero, en unión con los fármacos a administrar, induce alteraciones en la piel que aumenta su permeabilidad.

Existe la posibilidad de evaluar dendrímeros, también los carbosilano, para facilitar la administración por iontoforesis de fármacos aniónicos, dotándolos de una carga total positiva que facilite su paso a través de la piel al aplicarse una diferencia de potencial entre la parte externa e interna de la misma como la administración de insulina a través de la piel ^[23].

La Ag, también es útil en medicina y en cosmética: Hipócrates, el padre de la medicina ya describía la Ag como elemento útil en la cicatrización.

Hacia los años 1930, no se había descubierto todavía la penicilina, la Ag en forma coloidal estaba considerada como uno de los antibióticos de uso.

Antes no se disponían de lavaplatos por lo que el uso de los cubiertos de plata era lo más higiénico que existía, cepillos de pelo y utillaje de afeitado, la plata por sus características, tiene la capacidad de evitar el crecimiento de las bacterias.

Actualmente la acción bacteriostática de la plata es útil en productos de uso personal como maquinillas de afeitado, cepillos de pelo y planchas de pelo que contienen plata, reduciendo el efecto de la energía estática, debido a su capacidad de ionización.

En cosmética se utiliza como conservador, por sus efectos antimicrobianos, aunque interfiere con algunas sales de los cosméticos y está en estudio esto, la acción antimicrobiana puede ayudar a disminuir la cantidad de conservadores en los cosméticos. Las AgNPs son eficaces para prevenir infecciones por numerosas bacterias y hongos. La plata coloidal se considera como nanopartículas (AgNPs) suspendidas en agua desionizada ya que los iones y los electrólitos la pueden afectar.

Cuando las concentraciones de AgNPs son bajas del orden de 0,002 a 0,02 partes por millón (ppm), no es citotóxica debido a que las NPs son muy estables ^[167]. La Ag está autorizada como colorante alimentario (E174).

Se está usando en muchos de los productos como en juguetes, biberones, cosméticos, textiles, productos de limpieza, tablas para cortar en la cocina, neveras y lavaplatos.

Los liposomas son la forma que desde hace años se está usando para vehicular y mejorar la solubilidad de los principios activos en productos cosméticos. Como puede ser la vitamina E u otras vitaminas.

Las nanoemulsiones, son diferentes, es la manera de solubilizar los productos insolubles en forma de micro-suspensión, una dispersión de partículas de tamaño nano en un líquido, en este caso la Ag en agua desionizada o como está el Au en los cosméticos.

Como conservante en la forma de Citrato de plata, se trata igualmente de una nanoemulsión de las AgNPs en ácido cítrico. La Ag actúa como bactericida incidiendo directamente en la vida de los microorganismos. La mayoría de las bacterias, hongos y virus tienen enzimas específicas necesarias para su vida, la Ag actúa frente los procesos metabólicos en los que están implicados estos enzimas destruyéndolos, deteniendo y eliminando así estos microorganismos.

La acción de Ag se debe a su capacidad de ionización, esta libera pequeñas cantidades de iones de plata que atacan la membrana celular de los microorganismos, deteniendo la mitosis celular y combatiendo la proliferación de los microorganismos.

En Medicina: la Ag coloidal es imperceptible tanto por su sabor como olor, lo que puede ser útil también en forma oral para evitar enfermedades tipo infeccioso como gripes, parásitos u otras infecciones digestivas.

Tanto en homeopatía como en alopátia se usa la plata de forma oral en muy baja dosificación.

La acción más demostrada en dermatología es la de acelerar la reconstrucción de la piel y los tejidos dañados, por lesiones o quemaduras a muy poca concentración y aplicándola en la piel en forma de capas.

La plata se empezó a usar en medicina durante los años 70, el Dr. Carl Moyer, responsable del departamento de cirugía de Washington, empezó a presentar sus estudios sobre la capacidad antiséptica y segura de utilizar Ag en quemados. Los productos que podemos encontrar más habitualmente en la farmacia son tiritas, parches o productos hidro-coloides ^[167].

Estas partículas de Ag se mezclan con el exudado de una herida o una quemadura gelificando formando a su vez una matriz lípido-coloidal mejorando así el proceso de la cicatrización. También es efectivo en prevención de olor tanto en pies como en zapatos al inhibir la producción de bacterias ^[167].

8.9. Transporte de Fármacos.

Las nanoestructuras podrían ser usadas para almacenar y transportar fármacos al lugar exacto donde se necesiten, de esta manera se pretende que mitiguen los efectos secundarios de los actuales medicamentos. Por ejemplo, podemos encapsular las moléculas en nanoestructuras que sean biocompatibles, de tal manera que, cuando lleguen al lugar indicado, se abran y puedan salir las moléculas del medicamento. Una posibilidad es la de usar dendrímeros, los cuales son moléculas esféricas poliméricas que pueden diseñarse a escala nanométrica con mucha precisión. Los dendrímeros cuentan con varias ramas o extremos libres en los que se pueden acoplar una variedad de moléculas [6].

Esta versatilidad los hace muy convenientes como módulos multifuncionales para monitorear y atacar enfermedades como el cáncer [168].

El Profesor James Baker de la Universidad de Michigan colocó metotrexato, una poderosa medicina contra el cáncer a algunas ramas del dendrímero.

En otras incorporó sustancias fluorescentes, mientras que en otra rama colocó ácido fólico, una molécula con mucha afinidad a un receptor en células cancerosas.

De acuerdo con el Prof. Baker “Las moléculas del ácido fólico del dendrímero se aferran a los receptores de las membranas celulares y éstas piensan que están recibiendo la vitamina. Al permitir que el folato traspase la membrana, la célula también recibe el fármaco que la envenena”.

Experimentos de *in vitro* e *in vivo* mostraron que este “nanodispositivo” entregaba su carga terapéutica exclusivamente en las células con los receptores de ácido fólico, mientras que las marcaban para su detección con luz fluorescente [6].

8.10. Quemando tumores.

La Nanotecnología puede ayudar en la lucha contra el cáncer de otras maneras. Una forma de destruir un tumor es quemándolo. Esto es difícil de lograr sin dañar también el tejido sano de los alrededores, especialmente si el tumor está muy dentro del cuerpo. Investigadores de la Universidad de Rice en Estados Unidos de Norteamérica realizan estudios usando nanoesferas térmicas, las cuales son esferas de sílica (plástico) recubiertas con Au ^[168].

Se usa el Au por varias razones: es un metal inerte, puede absorber la luz, además de que es biocompatible con el cuerpo humano. Se usan unas esferas de aproximadamente 130 nm de diámetro, debido a que con este tamaño absorben radiación en el infrarrojo cercano. Una radiación de esta frecuencia puede penetrar dentro del cuerpo sin dañarlo.

Estas nanoesferas son recubiertas con anticuerpos, los cuales se pueden producir en grandes cantidades en el laboratorio, y son usados por el cuerpo humano para detectar la presencia de sustancias foráneas.

Cuando se introdujeron las nanoesferas con anticuerpos dentro del flujo sanguíneo de los ratones con cáncer, viajaron por el Sistema Circulatorio y se concentraron en los tumores de los ratones.

Al exponer los animales a la luz infrarroja, las nanoesferas absorbieron energía y se calentaron, quemando los tumores y dejando el tejido de alrededor intacto. En estos experimentos los ratones vivieron por el tiempo total del experimento (60 días) ^[6]. También se muestra el efecto del procedimiento en células cancerígenas *in vitro*.

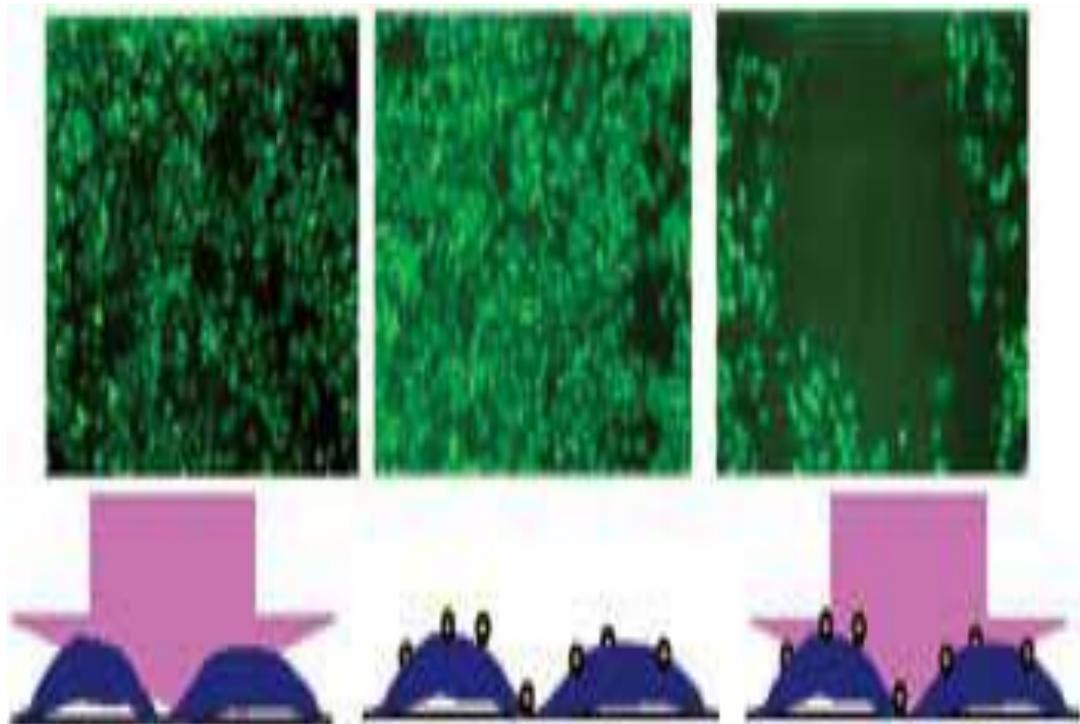


Figura 51. Estudio sobre el efecto de nanoesferas para quemar tumores de cáncer [6].

En la izquierda se muestra las células sin las nanoesferas después de iluminarlas. En la parte media se muestra células con las nanoesferas sin iluminarlas, mientras que a la derecha se muestran las células con las nanoesferas después de iluminarlas con radiación infrarroja. Nótese que solamente en el último caso se destruyeron las células cancerígenas [6]. (Ver fig.51)

IX. NANOSISTEMAS.

El número de Nanosistemas que se utilizan en Medicina está aumentando en la actualidad y son los siguientes:

9.1. Liposomas: son vesículas en las que un volumen acuoso, que generalmente contiene el compuesto activo, es rodeado por una membrana fosfolipídica cuya estructura, composición y proporciones son prácticamente iguales a las de la membrana celular.

Desde 1990 se han usado para la entrega de medicamentos. Estas vesículas pueden ser más pequeñas que los poros vasculares de los tumores sólidos, por lo que son excelentes transportadores de agentes quimioterapéuticos a los sitios blanco, en contraposición con los tejidos sanos en los que el tamaño de los poros vasculares impide el paso de sustancias unidas a un transportador cuyo tamaño sea superior a 2-4 nm. Generalmente se diseñan los liposomas con un diámetro inferior a 100 nm, pues los más grandes requieren técnicas especiales para evitar la opsonización y fagocitosis por parte del sistema fagocítico mononuclear.

Se utilizan con agentes anticancerosos ^[169,170], y acoplados con algunos antibióticos ^[169,171], se está utilizando para transportar agentes de contrastes y radiofármacos.

Hay gran interés en la investigación de los liposomas acarreadores de Tc^{99m} unidos a un ligando para el péptido intestinal vasoactivo (VIP), los cuales se utilizan en Tomografía computarizada con emisión de fotones. El VIP se sobreexpresa en las células neoplásicas, donde los liposomas se concentran de manera preferencial en dichas células cancerosas y no en las normales ^[172,173].

También se han utilizado liposomas con gadolinio (Gd) para obtener imágenes por Resonancia Nuclear Magnética (RNM) de células tumorales.

La ventaja de estos sistemas es que permiten un diagnóstico más temprano de este tipo de lesiones.

9.2. Gotas Cuánticas: son agregados de cientos de átomos de los grupos II de la tabla periódica (por ejemplo: cadmio, tecnecio, zinc o tantalio), del grupo III (por ejemplo: indio) o del grupo VI (por ejemplo: selenio), cubiertos externamente por solventes no polares o solubles en medios acuosos a los que se les pueden añadir ligandos u otros componentes.

Debido a su tamaño (2-8 nm), tienen propiedades ópticas y electrónicas que les permiten emitir fluorescencia. El interés de las investigaciones con gotas cuánticas radica en su inyección intravenosa (i.v.) para diagnóstico imaginológico ^[173,174], y en su utilización para el estudio de procesos celulares, tales como la dinámica de la membrana neuronal en células vivas ^[175,176].

9.3. NPs: son sistemas en gel y soluciones coloidales, degradables. Hechos de polímeros naturales, sintéticos o semisintéticos, que contienen una sustancia activa. Se han utilizado en el transporte de medicamentos como:

- a) Nanoesferas, con una estructura tipo matriz, donde la sustancia activa es adsorbida en la superficie o disuelta en el interior de la partícula, y
- b) Nanocápsulas, que son sistemas vesiculares en donde la sustancia activa está confinada en un núcleo lipídico o acuoso, rodeada por una membrana polimérica ^[177].

Las NPs son transportadores superiores a los liposomas debido a su mayor estabilidad y a las propiedades relacionadas con el control en la liberación de los compuestos activos.

Por esta razón se han utilizado para la administración de una gran variedad de medicamentos como antibióticos, antivirales, antiparasitarios, citostáticos, vitaminas, proteínas y péptidos, incluyendo hormonas y enzimas.

Las NPs pueden atravesar la BH y tienen un gran potencial en dermatología. También se han utilizado con agentes de contraste para imagen, como es el caso del óxido de hierro coloidal con dextrán en RNM.

9.4. Nanoemulsiones: son dispersiones de aceite y agua en las cuales la fase dispersa está formada por gotas de la sustancia activa en nanoescala (20- 200 nm), estabilizadas en la superficie con una cubierta de surfactante y co-surfactante. Se usan en formulaciones farmacológicas por su fácil preparación, estabilidad termodinámica y transparencia [178]. Se han realizado investigaciones sobre la farmacocinética de nanoemulsiones inyectables que contienen agentes antineoplásicos, cuya citotoxicidad disminuyen por el incremento de su concentración en las células tumorales, comparadas con las sanas [179]. (Ver fig.52)

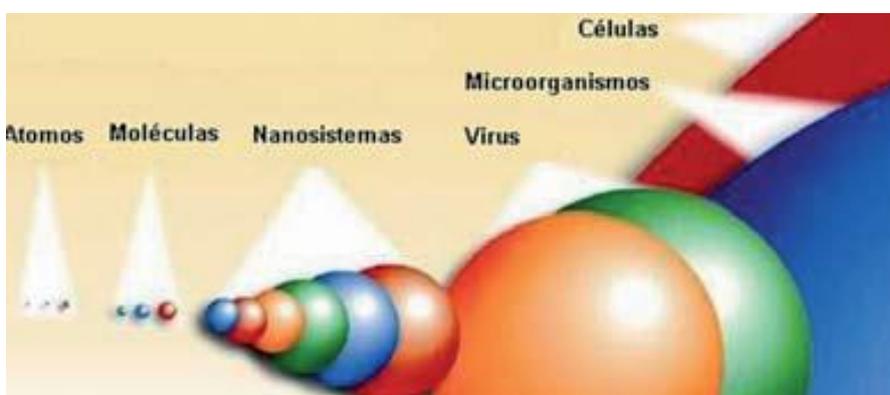


Figura 52. Niveles atómicos, molecular y nanoscópicos en comparación con tamaños virales, microbiológicos y celulares [23].

9.5. Dendrimeros: son moléculas esféricas poliméricas, compuestas por un núcleo central, por ejemplo el amoníaco (NH_3), y capas alternantes de monómeros, generalmente ácido acrílico y etilendiamina, cuya alternancia continúa hasta que se construye la última generación deseada. Son estables a pesar de su peso molecular (1.000 a 800.000 Kd) que es un factor determinante para atravesar los poros (o fenestras) vasculares y llegar a los tejidos diana; por ejemplo, en los dendrimeros de poliamidas y aminas (PAMAM dendrimers), el incremento de la generación cero (G0: núcleo central) a la G4, con un cambio en el tamaño de 1,5 a 4,5 nm, incrementa exponencialmente la extravasación a través de la microcirculación [178]. Los extremos libres de las ramificaciones obtenidas en cada generación se constituyen en puntos de unión donde pueden añadirse más moléculas para formar nanodispositivos multifuncionales [164, 180, 181].

El uso de los dendrímeros en Biomedicina incluye las siguientes ventajas:

- No son tóxicos.
- No son inmunogénicos (excepto para vacunas).
- Pueden atravesar Barreras biológicas: BH, membranas celulares, intestino y pared vascular.
- Son estables y permanecen en circulación el tiempo necesario para tener el efecto clínico buscado (Biodisponibles).
- Son capaces de dirigirse a dianas específicas ^[23].

X. BIOMATERIALES

Se han conseguido grandes avances en la liberación controlada de agentes bioactivos mediante el empleo de sistemas poliméricos biodegradables. Muchos de estos sistemas emplean compuestos de homo y copolímeros biodegradables.

El término biomaterial engloba todos los materiales introducidos en los tejidos corporales con propósitos terapéuticos específicos, de diagnóstico, o con propósitos preventivos. Estos materiales deben ser biocompatibles, lo que significa que no deben causar ninguna respuesta adversa significativa del medio fisiológico que dañe el biomaterial; tras la interacción con los tejidos y fluidos corporales, deben biodegradarse en componentes no tóxicos, tanto química como físicamente, o por una combinación de ambas. Otros términos intercambiables para la biodegradación son la bioerosión y la bioabsorción.

En algunos casos, la liberación del agente incorporado depende de la velocidad de degradación del material polimérico. La degradación heterogénea ocurre en la superficie del material que está en contacto con el medio fisiológico. La velocidad de degradación es constante y el material no degradado mantiene su integridad química durante el proceso. Los materiales que poseen alta relación superficie/volumen se degradarán más rápido que sus equivalentes con una relación menor. La degradación homogénea supone un deterioro aleatorio en toda la masa de la matriz polimérica. Mientras el peso molecular del polímero decrece de forma continua, el material puede mantener su forma original y retener masa hasta que el polímero ha experimentado una considerable degradación (más del 90%), y alcanza un peso molecular crítico, que permite aumentar la solubilidad y la pérdida de masa.

10.1. Microesferas.

Fueron introducidas a mediados de 1970. Son partículas esféricas sin una distinción entre cubierta y núcleo y con un tamaño de partícula entre una y varias decenas de micras.

Tienen una estructura monolítica, el fármaco queda incorporado dentro de una matriz polimérica, preparada a partir de materiales biocompatibles [175].

Las características de la microesfera ideal son: selectividad por el tejido diana, acoplamiento entre una liberación controlada y sostenida, así como evitar el daño en el tejido huésped.

En cuanto a la liberación *in vitro* pasiva de fármacos desde microesferas monolíticas es que son característicamente bifásicas, con una liberación inicial grande y rápida (efecto “Burst”), seguida de una liberación mucho más lenta. Se ha comprobado, cómo la liberación del fármaco desde microesferas de menor tamaño, resulta mayor y más rápida durante la fase de liberación lenta. Probablemente, porque exhiben una mayor área superficial para la liberación. El uso de tamaños pequeños está indicado para la quimioembolización en la terapia del cáncer, y tamaños mayores son más recomendables, por ejemplo, en la utilización intraarticular.

El estado físico del fármaco en una microesfera, el tipo de matriz, las proporciones de fármaco y matriz, el grado y la naturaleza del entrecruzamiento, la interacción entre fármaco y matriz, y el medio de liberación influyen en la disposición del fármaco desde las microesferas.

La liberación del fármaco tiene lugar a través de varias rutas, entre las cuales se pueden citar: la erosión de la superficie, la total desintegración, la difusión, y una combinación de difusión y erosión o degradación [183].

10.1.1. Preparación de Microesferas para Liberación de Fármacos.

Existen muchos métodos para microencapsular fármacos en biomateriales para su administración. La Figura 53 ilustra la técnica de dispersión/emulsión seguida de eliminación de disolvente [184]. Los tres procesos más frecuentemente utilizados son la separación de fases, la evaporación del disolvente y el secado en spray.

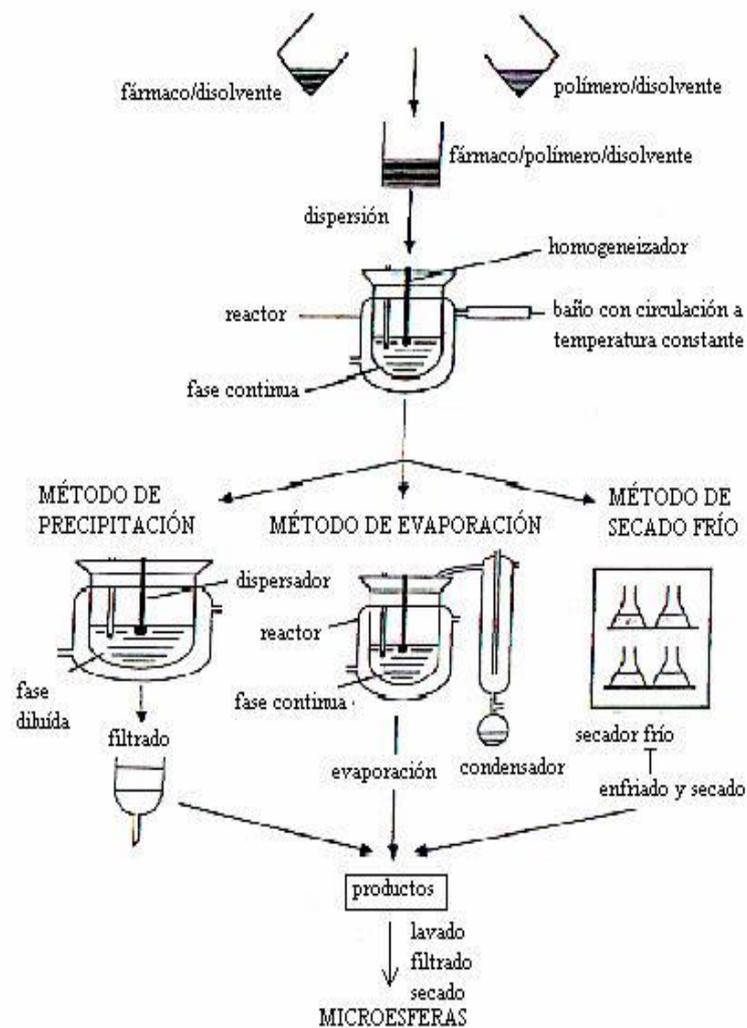


Figura 53. Esquema del proceso de preparación de microesferas ^[184].

El proceso de separación de fases requiere la emulsificación de la disolución de fármaco, o la suspensión de las partículas de fármaco en una disolución de polímero biodegradable. La adición de un segundo polímero causa la precipitación del primero en forma de gotas líquidas o partículas sólidas. La compactación de las microesferas se consigue por la adición de un precipitante, del que después se aíslan. Existen muchas variables de proceso en este método que deben ser caracterizadas y controladas para obtener un producto final satisfactorio. El tamaño de la microesfera estará determinado por las densidades de las fases disolventes, las velocidades de mezclado, el tipo de surfactante, la concentración y la temperatura. La porosidad estará influenciada por la composición de la fase dispersa y por la velocidad de eliminación del disolvente.

En los procesos de evaporación del disolvente se forma una triple emulsión (agua/aceite/agua) con el fármaco contenido en la fase acuosa interna, el polímero en un disolvente orgánico en la fase oleosa, y una fase acuosa externa. El disolvente es eliminado a baja presión (y normalmente a baja temperatura) para aumentar la viscosidad de la fase interna, seguida del aislamiento de las microesferas. Las variables del proceso, deben controlarse como la presión durante la evaporación. Este proceso suele dar lugar a matrices relativamente no porosas. En el proceso de secado en spray el fármaco en disolución acuosa o en forma de partículas sólidas es dispersado en una disolución de polímero disuelto en un disolvente. Esta mezcla se bombea hacia el atomizador de aire caliente del secador en spray donde las partículas se secan y se llevan a un separador para su recogida.

10.1.2. Propiedades Fisicoquímicas de las Microesferas.

Las propiedades fisicoquímicas requeridas para las microesferas están gobernadas por el tipo de fármaco y la aplicación *in vivo* para la que se van a emplear.

Tamaño de partícula. Es un factor importante, ya que la ruta de administración determinará el tamaño requerido para las microesferas.

Área superficial/porosidad. Las matrices de porosidad variable facilitan la modulación de la liberación del fármaco. Las microesferas porosas son esenciales para la liberación de sustancias de elevado peso molecular que no pueden difundir desde una matriz no-porosa; también son útiles para liberar sustancias que presentan elevada afinidad hacia el polímero y que no se liberan a menos que la matriz se degrade. La degradación del polímero puede ser controlada alterando la porosidad de la matriz, y de este modo también se controla la liberación del fármaco.

La relación de fármaco y la liberación del fármaco son variables que dependen de la dosis que se trate de alcanzar y la velocidad de dosificación del fármaco en cada tratamiento particular.

Los medicamentos de baja potencia deben proporcionarse en dosis elevadas de modo que las microesferas deben estar muy cargadas de fármaco. El contenido de fármaco también depende de la cantidad del mismo que es capaz de aceptar la ruta de administración para la que ha sido diseñado.

Tiempos de biodegradación. El tiempo requerido para degradar las microesferas completamente viene gobernado por la ruta de administración y la frecuencia de las dosis. Por ejemplo, en las rutas por inhalación generalmente empleadas para terapias crónicas se requiere una rápida biodegradación para evitar la acumulación en el sistema, así como en la liberación intravenosa, mientras que en la liberación subcutánea o intramuscular se puede tolerar la acumulación de partículas degradándose lentamente.

10.1.3. Aplicaciones de las Microesferas.

Una de las aplicaciones farmacéuticas más importantes de las microesferas es la liberación de medicamentos. La investigación actual en farmacología está enfocada en dos áreas diferentes pero complementarias: sistemas de liberación controlada y vectorización.

La liberación del fármaco depende de parámetros como tamaño, distribución, porosidad, degradabilidad, y permeabilidad del polímero, entre otros.

La vía de administración parenteral es la ideal para sistemas microencapsulados poliméricos de liberación controlada (intravenosa, subcutánea, intraperitoneal o intramuscular). Una vez suministradas, las microesferas pueden actuar como pequeños sistemas de reserva liberando lentamente el fármaco.

Los materiales más adecuados para esta vía de administración son los biodegradables ya que van a ser eliminados por el organismo a través de productos de degradación biocompatibles que se transforman en CO₂ y H₂O por las vías metabólicas usuales.

La gran ventaja de estos sistemas microparticulados frente a soluciones alternativas como implantes es que, debido a su pequeño tamaño, pueden ser inyectados con una jeringa convencional, no necesitando por tanto intervención quirúrgica. Por otro lado, y aunque resulte paradójico, puede ser más fácil para una microesfera introducirse en una célula que para el fármaco libre, ya que una nano o micropartícula de tamaño adecuado es incorporada fácilmente como vacuola por fagocitosis.

Son sistemas útiles como transportadores de fármacos y de biomoléculas como proteínas, péptidos, hormonas o enzimas, los cuales son degradados fácilmente por las enzimas del tracto gastrointestinal. Se han descrito y ensayado clínicamente sistemas microparticulados poliméricos que incorporan sistemas anticancerígenos [185, 186, 187, 188,189, 190].

El uso de la Nanotecnología Molecular (MNT) en los procesos de producción y fabricación podría resolver muchos de los problemas actuales. Por ejemplo:

La escasez de agua es un problema serio y creciente. La mayor parte del consumo del agua se utiliza en los sistemas de producción y agricultura, algo que la fabricación de productos mediante la fabricación molecular podría transformar.

Las enfermedades infecciosas causan problemas en muchas partes del mundo. Productos sencillos como tubos, filtros y redes de mosquitos podrían reducir este problema.

La información y la comunicación son herramientas útiles, pero en muchos casos ni siquiera existen. Con la Nanotecnología, los ordenadores serían extremadamente baratos.

Muchos sitios todavía carecen de energía eléctrica. Pero la construcción eficiente y barata de estructuras ligeras y fuertes, equipos eléctricos y aparatos para almacenar la energía permitirá el uso de energía termal solar como fuente primaria y abundante de energía.

El desgaste medioambiental es un serio problema en todo el mundo. Nuevos productos tecnológicos permitirían que las personas vivan con un impacto medioambiental mucho menor.

La fabricación molecular puede ser auto-contenida y limpia: una sola caja o una sola maleta podría contener todo lo necesario para llevar a cabo la revolución industrial a nivel de pueblo.

La nanotecnología molecular podría fabricar equipos baratos y avanzados para la investigación médica y la sanidad, haciendo mucho mayor la disponibilidad de medicinas más avanzadas.

Muchos problemas sociales se derivan de la pobreza material, los problemas sanitarios y de la ignorancia. La Nanotecnología Molecular podría contribuir a reducir en grandes medidas a todos estos problemas y al sufrimiento humano asociado con ellos.

XI. NANODIAGNÓSTICO

El Nanodiagnóstico posibilita la identificación de enfermedades o de la predisposición a las mismas a nivel celular o molecular mediante la utilización de nanodispositivos.

Bajo este concepto se unifica la necesidad social y clínica junto con la capacidad tecnológica para detectar enfermedades en el estadio más temprano posible, así como la necesidad de detectar potenciales efectos indeseables de los fármacos antes de su prescripción.

Se consideran dos grandes ámbitos de aplicación de las nanotecnologías al diagnóstico, el diagnóstico *in vitro* y el diagnóstico *in vivo*.

Las principales ventajas que se pretende conseguir con el diseño de Nanosistemas Terapéuticos se centran en la obtención de:

Fármacos más selectivos y eficaces y, por tanto, menos tóxicos, mediante estrategias de orientación selectiva, tanto activa (ej. sistemas de liberación que se dirige de forma selectiva a una célula gracias a anticuerpos) o pasiva (ej. sistemas de liberación que se acumulan en un órgano o tejido debido a cambios fisiológicos del mismo como un aumento de la vascularización tisular local).

Fármacos más fáciles de administrar, es decir, que puedan ser administrados por una vía cómoda (oral, nasal y pulmonar), evitando las formas inyectables u otras rutas invasivas. Ello se consigue mediante el desarrollo de nanosistemas capaces de promover la absorción de fármacos por vías mucosas. Aquí se incluye la posibilidad de desarrollar nuevas vacunas no inyectables.

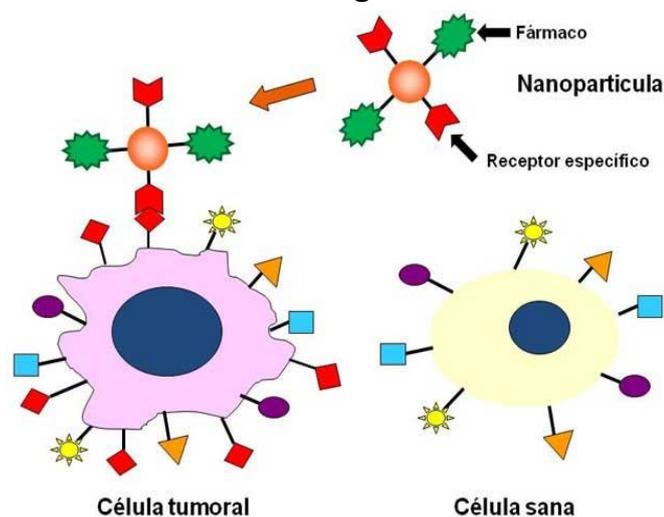
Nuevos fármacos o terapias que no serían viables de no disponer de un nanosistema que los solubilice o los proteja. Este último caso es el de los denominados biofármacos, o fármacos de origen biotecnológico, entre los que se incluyen péptidos, proteínas, anticuerpos y nuevas terapias basadas en ácidos nucleicos (DNA, siRNA y oligonucleótidos).

La vía oral, con una importante presencia de conjugados proteína, péptido / molécula activa y distintas variedades de NPs.

La v.i. en donde destacan los sistemas tipo liposomas o nanosistemas modificados en superficie con anticuerpos, proteínas y péptidos para una vectorización activa.

La vía pulmonar en donde se concentra la mayor variedad de sistemas y supone aproximadamente un 30% del mercado de los sistemas de liberación de fármacos [29].

11.1. Hacia los 'Nanomedicamentos Inteligentes'



Esquema del funcionamiento de la terapia de administración de fármacos dirigida específicamente hacia las células tumorales. J.M. de la Fuente (INA).

Figura 54. Nanomedicamentos inteligentes [191].

La Nanomedicina aprovecha las propiedades físicas, químicas y biológicas de los materiales de tamaño nanométrico para conseguir mejoras en el campo de la salud [184]. (Ver fig.54)

Busca desarrollar mejores métodos de diagnóstico de enfermedades, que permitan la detección más temprana y fiable de ciertas patologías [140].

Su esfuerzo va hacia el desarrollo de sistemas que nos permitan detectar la enfermedad en los inicio de la misma, con el fin de ser más fácil de erradicarla, y de detectarla, para poder tratarla. Un fármaco de este tipo, es eficaz.

La utilización de NPs tanto para el diagnóstico como para el tratamiento del cáncer. La materia, en esos tamaños nanométricos, adquiere propiedades diferentes, y surgen así nuevas utilidades para estos materiales. Las biomoléculas relevantes en biomedicina tales como ADN, proteínas, carbohidratos, u otros sistemas pueden ser identificados con sistemas de tamaño nanométrico al conjugarse selectivamente.

11.2. Fármacos Inteligentes.

Las NPs constan de un núcleo de metal u otro material inorgánico y un recubrimiento de material orgánico.

La principal función de este material orgánico es hacer que las NPs sean solubles y estables en medios acuosos, como la sangre. Estas nanopartículas se unen a moléculas que les permiten unirse a las células cancerígenas y otras moléculas como los fármacos. Por ello debemos tener en cuenta que aunque comúnmente hablemos de NPs sería más adecuado hablar de 'nanosistemas multifuncionales', ya que las NPs se pueden unir a diversas biomoléculas. (Ver fig. 55)

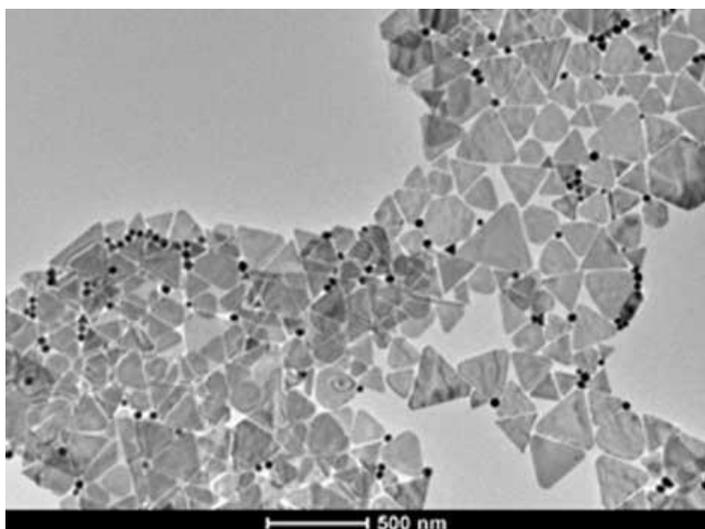


Figura 55. AuNPs empleadas en la investigación del transporte de fármacos a la célula [191].

El fármaco puede ser dirigido específicamente al tejido u órgano a tratar. Si lográramos este objetivo, los efectos secundarios actuales del fármaco prácticamente se eliminarían.

Se puede desarrollar una metodología general y eficaz para la obtención de marcadores tumorales y fármacos antitumorales, que además permitan liberar el fármaco antitumoral exactamente donde nosotros queramos con un doble sistema de seguridad. En primer lugar, la nanopartícula puede ser un 'cebo' específico para las células cancerígenas.

Esto hará que las NPs (unidas a fármacos) se acumulen en el tumor. El bajo porcentaje de fármaco que no se localice en el cáncer, no será activo. Solo el fármaco que se encuentre en el tumor actuará debido a que en este sitio selectivamente se liberará. De esta forma se pretende mejorar la actividad de los fármacos antitumorales existentes y minimizar los efectos secundarios de los mismos, mejorando así la calidad de vida de los enfermos de cáncer.

Por otra parte la limitación en la aplicación de los sistemas nanoestructurados es en parte la legislación farmacéutica, ya que, nos indica que los descubrimientos realizados en los laboratorios con fines médicos tienen que someterse a exigentes evaluaciones por agencias nacionales e internacionales, siendo más estrictas cuando se trata de un 'nanomedicamento'. Pueden pasar de 15 a 20 años desde que se descubre un 'nanofármaco' hasta que sale al mercado.

Las NPs son suficientemente pequeñas, se eliminan a través de los riñones y la orina, con muy baja acumulación en otros órganos. Estudios exhaustivos de biocompatibilidad y eliminación se realizarán para confirmar estos resultados ^[191].

A continuación se indican los aspectos en los que se debe focalizar el diseño y desarrollo futuro de los Nanosistemas Terapéuticos:

1. Nanosistemas que transporten y liberen del fármaco de forma selectiva en el órgano, tejido y célula diana.
2. Diseño de nanosistemas seguros y eficaces.

3. Sistemas de liberación que agilicen el desarrollo de fármacos seguros.
4. La promoción en la colaboración de los centros públicos y empresas trabajando en:

Tecnología Farmacéutica y Biofarmacia, Ciencia y Tecnología de Materiales, Química Orgánica, Física Aplicada, Nanociencia, Biología Celular, Fisiología, Inmunología, Farmacología Bioquímica, Biología Molecular e Investigación Clínica para encontrar acuerdos y establecer proyectos con objetivos en el diseño y desarrollo de Nanofármacos.

5. Promover el diseño de nuevos materiales, polímeros sintéticos o semisintéticos, metales, lípidos y otros que sean biocompatibles, biodegradables y permitan la formación de sistemas nanométricos fácilmente modificables, modulables, funcionalizables para conseguir sustratos para vectorización, materiales inteligentes, con respuesta a distintos cambios o estímulos (pH, temperatura, campos magnéticos) y biosensores.
6. Avanzar en técnicas de nanorrecubrimiento, funcionalización y modificación de superficies.
7. Avanzar en las tecnologías de fabricación de sistemas nanoparticulares, (NPs, micelas, liposomas, NTs, nanofibras) fácilmente escalables e industrializables.
8. Desarrollo de técnicas analíticas que permitan la caracterización, evolución y seguimiento de los nuevos materiales.
9. Desarrollo de las técnicas de conjugación de biomoléculas en condiciones efectivas de estabilidad y funcionalidad.
10. Avances en modelos *in vitro* e *in vivo* para un mejor conocimiento de la función celular: identificación de receptores y marcadores de patologías para estrategias de vectorización.
11. Mejores correlaciones farmacocinética y farmacodinámicas para predicciones del comportamiento de los sistemas de liberación *in vivo*.
12. Avances en las técnicas de imagen para la visualización de la interacción de los sistemas nanométricos y de las funciones celulares.

13. Implicación de las Agencias Regulatorias del Medicamento en la definición de estándares operativos, de calidad y seguridad, y guías para la industria para la evaluación clínica de los Nanofármacos.
14. Implicación de la investigación clínica para la identificación de oportunidades y ámbitos de aplicación ^[30].

XII. IDENTIFICACIÓN

El Au siempre tiene un color dorado, a no ser que disminuya sus dimensiones a tamaños nanométricos. Entonces el Au empieza a tener un color azul que se torna rojizo a medida que disminuye. Su color también varía modificando levemente la forma de la NP.

La luz visible está formada por ondas electromagnéticas de longitudes muy diversas. Si a nuestros ojos llegan ondas de longitud larga entonces percibimos el color rojo. Por el contrario, vemos tonos azulados cuando a nuestros ojos llegan ondas de longitud corta. Cuando nos llegan todas, vemos la luz blanca.

Los metales no absorben la luz visible, son capaces de devolver casi toda la luz que les llega, es debido a que algunos de sus electrones no están unidos a átomos individuales, sino que están 'libres' para moverse.

Estos electrones móviles que son los que transmiten la corriente eléctrica, hacen una especie de 'coraza' para la luz visible que llega, impidiendo que penetre.

La luz es capaz de penetrar en el metal unos pocos nanómetros, pero, toda la luz se refleja en el metal llegando a nuestros ojos y por eso los vemos brillantes. Este fenómeno es el responsable del color metálico, que es el color plata.

Al reducir el tamaño de los metales el color va a cambiar. Cuando las dimensiones del metal se reducen mucho, llegando a tamaños nanométricos, la luz les inunda y es capaz de penetrarlos.

La pequeña penetración de la luz en los metales es suficiente para que llegue a toda la NPs y todos se desplazan juntos de un lado a otro de la NP de forma oscilatoria de tal forma que se detecte la onda de luz.

En muchos metales esta oscilación es muy débil, sin embargo, en metales como Au y Ag, puede ser muy intensa. Y de hecho para cada tamaño de NP hay un determinado tamaño de la longitud de la onda de luz que hace que este movimiento se potencie y aumente enormemente. Cuando esto ocurre, la luz correspondiente se absorbe y vemos la partícula del color de la longitud de onda que queda ^[1].

Una de las ventajas de poder disponer de detectores moleculares tan sensibles es que se podrían detectar enfermedades cuando no se presentan síntomas.

Aunque la enfermedad esté en sus inicios y haya muy baja concentración de las moléculas indicadoras en la sangre, con métodos más sensibles se podría diagnosticar las enfermedades en etapas tempranas.

Por ejemplo, el principal obstáculo con el que los científicos se encuentran a la hora de diagnosticar la enfermedad de las vacas locas es la imposibilidad de distinguir entre el prión funcional que tienen todas las personas y animales y el foco de infección que causa la patología.

Estas proteínas apenas emiten señales ópticas, con lo que también resulta imposible detectarlas. Se ha introducido AuNPs en forma de sensores que amplifican en miles de millones de veces la señal de la molécula defectuosa utilizando concentraciones bajas. El sensor es capaz de detectar la presencia de hasta diez priones por cada litro de sangre, que luego, a través de un análisis por Espectrofotometría, permite identificar si son focos infecciosos o normales.

En humanos, enfermedades como el Alzheimer y el Parkinson podrían detectarse de forma temprana por compartir origen priónico. La detección consiste en utilizar las NPs como sistemas de transporte fármacos. Cuando la NP se hidrata, aumenta de tamaño y el fármaco se infiltra en su interior, se comprime, el fármaco queda atrapado y puede ser liberado por señales térmicas o por cambios de acidez.

XIII. COMPARACIÓN CON MEDICAMENTOS TRADICIONALES

Los principios activos son en general inadecuados para ser trasladados al organismo sin un vector por lo que la Farmacia ha desarrollado las llamadas formas galénicas, en un claro homenaje a Galeno, adaptadas a las diferentes vías de administración.

Toda la galénica tradicional ha sido durante siglos un arte pero la revolución farmacéutica moderna conmocionó la medicina y cambió la vida de los hombres al permitir la elaboración de medicamentos a escala industrial y que éstos pudiesen llegar a importantes poblaciones de pacientes. Sin embargo, algunos científicos de reconocido prestigio en el campo de la Tecnología Farmacéutica como el Prof. Higuchi, consideran que en la primera mitad del siglo XX la formulación de medicamentos era simplemente un *modus operandi* y no una verdadera ciencia.

En la década de los años sesenta se introducen los conocimientos de la Biofarmacia y Farmacocinética que probablemente provocaron la mayor transformación de la Farmacia Galénica al considerar imprescindible el conocimiento de los eventos del medicamento en el organismo humano (medio biológico) con lo que pasan a ser los criterios biofarmacéuticos los que representan un papel fundamental en la formulación y desarrollo de las formas de dosificación.

La aplicación de los principios fisicoquímicos y los conocimientos aportados por la Biofarmacia y Farmacocinética han supuesto la consideración de la Farmacia Galénica como una ciencia y, como consecuencia de ello, es en ésta época cuando se dio paso a planteamientos racionales apoyados en bases científicas que han supuesto, como expresaba el Prof. Cadorniga en 1980, el abandono de la indicación “hágase según arte” y su substitución por el “hágase según ciencia”.

El desarrollo de nuevas estrategias y sistemas se iniciaron en la década de los años ochenta, con la finalidad conseguir una mejor optimización en la liberación del principio activo por medio de lo que actualmente se conoce como liberación controlada; posteriormente se desarrolló la administración de fármacos a través de nuevas vías como: la nasal, colónica, transdérmica.

El desarrollo de nuevos fármacos se basa a la necesidad de crear nuevas formas de dosificación adaptadas a la administración de moléculas activas macromoleculares, de naturaleza peptídica o proteica, con requerimientos muy específicos para su administración, de baja estabilidad en medios biológicos, que con frecuencia precisan de una vectorización u orientación selectiva para conseguir una adecuada acción terapéutica. En los últimos años se ha hecho énfasis al uso y funcionalización de nanotecnologías así como en la medicina para el diagnóstico y terapia. Ello ha dado lugar a que organismos como el U.S. National Institute of Health, U.K. Royal Society and Royal Academy of Engineering y la European Science Foundation, hayan acuñado el término de: Nanomedicina, cuyo objetivo sería “el control, la reparación y la mejora integral de todos los sistemas biológicos humanos, trabajando desde el nivel molecular con dispositivos de ingeniería y nanoestructuras para lograr beneficios médicos”.

Estos aspectos implican la identificación precisa de dianas (células y receptores) relacionada con situaciones clínicas específicas y la elección de adecuados nanovehículos precisos para obtener las respuestas adecuadas y minimizar los efectos secundarios. Los fagocitos mononucleares, células dendríticas, células tumorales y la neovascularización tumoral constituyen en el momento actual las dianas claves.

En el campo de producción de nuevos fármacos y productos terapéuticos los científicos europeos han promovido el diseño y desarrollo de nanomedicinas de primera generación.

Para hacer frente a éste reto de la Medicina, la Tecnología Farmacéutica ha desarrollado los sistemas nanométricos que contienen el principio activo (moléculas o fragmentos de moléculas) incluido en un vehículo que lo transporta.

Como sistemas nanométricos que permiten que el fármaco que lleva asociado pueda atravesar las diferentes barreras biológicas del organismo lo cual no se podría realizar con los convencionales sistemas de liberación ya que en éstos son fundamentalmente las propiedades fisicoquímicas las que condicionan su absorción y biodistribución.

Los sistemas nanoscópicos son mayores que las moléculas típicas y algunos más pequeños que los virus. En su tamaño son similares a muchas proteínas lo que constituye una de las razones por las que pueden interactuar en el interior de las células.

Estos vehículos pueden ser diseñados para que contengan no solo un fármaco sino un agente de diagnóstico o de imagen, un vector que oriente el sistema hacia determinadas áreas del organismo e incluso un sensor indicativo para que el fármaco produzca el efecto deseado.

Un esquema de lo que podría ser un sistema multifuncional es el que se muestra en la Figura 53 donde se transporta un dendrímero al que se le ha incorporado un agente de contraste (RX o RMN), folato como vector que orienta el sistema hacia el receptor folato de la superficie de algunas células tumorales, donde usa un indicador como la fluoresceína que permite la localización a nivel de las células diana y un citostático como metotrexato o paclitaxel.

El objetivo de la Farmacia Galénica es la resolución de un problema terapéutico aplicando los conocimientos de la Biofarmacia, la Farmacocinética y la Tecnología Farmacéutica es indudable que la Nanomedicina plantea una nueva orientación de aquella ya que los sistemas que se diseñan van a interactuar en nuevos medios biológicos y en algunos casos a escala molecular lo cual requiere una amplia colaboración interdisciplinar que, como se ha señalado anteriormente, constituye su característica más sobresaliente. Es importante una estrecha colaboración entre biólogos moleculares, bioquímicos, matemáticos, químicos de polímeros e ingenieros, debiendo ser, bajo el punto de vista, el tecnólogo farmacéutico el que sirva de interlocutor entre el clínico y el equipo multidisciplinar.

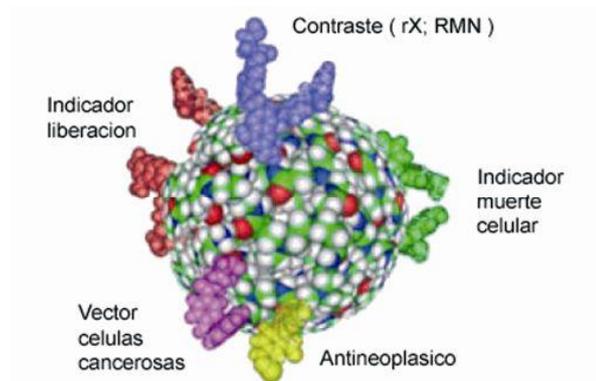


Figura 56. Esquema de un nanosistema multifuncional capaz de identificar células cancerosas y liberar el citostático que contiene.

La Tecnología Farmacéutica clásica poco tiene que ver con los retos que plantea la Nanomedicina es por lo que se ha contrastado el término de Nanotecnología Farmacéutica como ciencia y tecnología de los sistemas nanoparticulares farmacéuticos teniendo una base científica, cada vez más biológica, que se apoya en los nuevos aspectos biofarmacéuticos como son la fusión con la membrana celular, proteínas transportadoras de membrana, transporte de los sistemas y moléculas a través del citosol, paso a través de la membrana nuclear, y que, de forma esquemática se muestra en la Figura 57.

En los años 80 se incorporaron a la terapéutica la insulina y la hormona de crecimiento recombinantes y más de 90 medicamentos se han introducido en el arsenal terapéutico, así como aproximadamente 400 biomoléculas se encuentran en diferentes fases de investigación para el diagnóstico y tratamiento de diversos procesos patológicos. Ver Figura 58.

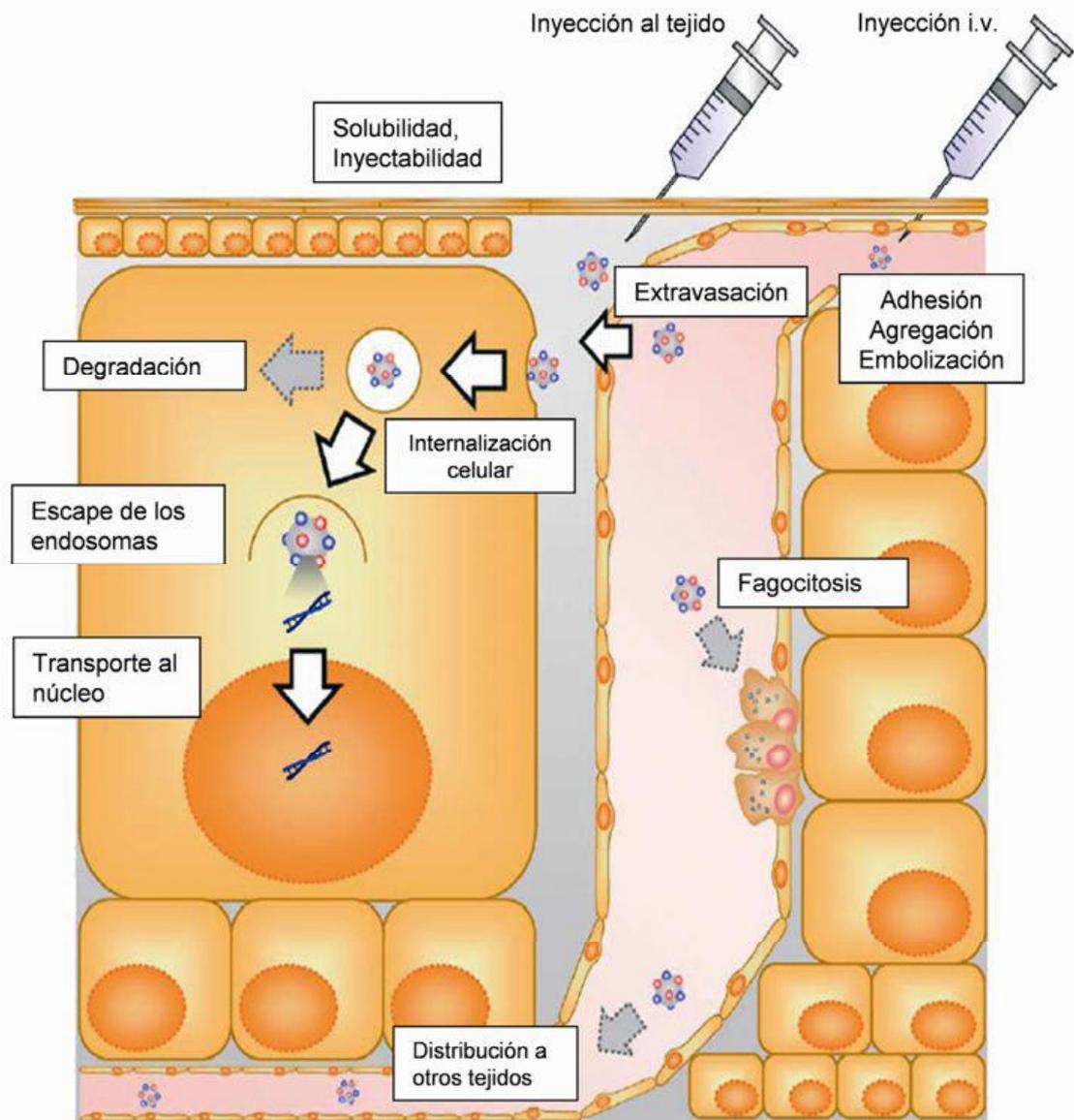


Figura 57. Problemas farmacocinéticos asociados a la administración de fármacos incluidos en nanosistemas ^[192].

13.1. Nanotecnología Farmacéutica.

Los sistemas nanométricos que pueden ser usados en Nanotecnología Farmacéutica son los liposomas, micelas poliméricas, NPs y dendrímeros.

La Tecnología Farmacéutica forma parte del desarrollo de nuevas formulaciones que permitan la liberación controlada de fármacos en el espacio (vectorización) para mejorar o solucionar problemas terapéuticos de fármacos útiles en la farmacoterapia y en biodisponibilidad de los mismos como es el caso de la Tecnología de Nanocristales.

La Nanotecnología Farmacéutica se encuadra actualmente en lo que, en la taxonomía de la Nanomedicina, específicamente en la liberación de fármacos a través de la nanoencapsulación y de una nueva área que podríamos denominar portadores funcionales de fármacos como son los dendrímeros o los fulerenos.

También forma parte de la Nanomedicina incluyendo otros aspectos como el diagnóstico por imagen, los implantes de válvulas cardíacas y los recubrimientos con alcohol polivinílico para controlar la liberación de antiagregantes en las cuales el tecnólogo farmacéutico, por su formación biofarmacéutica, farmacocinética y terapéutica puede intervenir en proyectos de investigación.

Los avances de la Nanotecnología son aprovechados por numerosas áreas científicas y especialmente por las Ciencias de la Salud y entre ellas las Ciencias Farmacéuticas.

El National Science Foundation prevee que para el año 2015 se haya invertido un billón de dólares en el campo de la Nanotecnología y un importante porcentaje vaya destinado a los sectores de sanidad y particularmente a la terapia anticancerosa por el uso de como liposomas, NPs, NTs y otros nanosistemas.

Cada vez se conocen con mayor precisión mecanismos acerca de los cuales no se sabe todo y con frecuencia éste crecimiento constante de nuestros conocimientos puede compararse con esas muñecas rusas que se encajan unas en otras pero con la diferencia de que, en ocasiones cada vez que se abre una muñeca, la que está dentro es más grande aun que la anterior.

Además de lo que se pueda obtener de las nuevas tecnologías, el futuro de los medicamentos se basará en un conocimiento cada vez más sutil de los procesos naturales, de una detección más precisa y precoz de sus alteraciones y sus causas pero también teniendo en cuenta, como ya advertía Platón en uno de sus Diálogos, que el bello discurso y el medicamento deben ser usados conjuntamente porque, de otro modo, se comete el error de pensar que el cuerpo y el alma pueden ser tratados por separado ^[193].

Los medicamentos 'tradicionales', es decir, la mayoría de los que consumimos habitualmente, se distribuyen por todo el organismo y por su acción presentan más efectos secundarios. En cambio, los nanofármacos, al trabajar al mismo nivel que las células, "se dirigen a órganos, tejidos o células determinados, lo que permite reducir las dosis". En definitiva, se logra mayor actividad con menor toxicidad.

Estas estructuras nanométricas están formadas por, al menos, dos componentes. Uno de ellos es el principio activo y el otro, el soporte o vehículo que permite que esa molécula llegue a su destino de forma específica.

Existen diversos medicamentos de este tipo comercializados y, probablemente, la mayoría de los pacientes que los han consumido no han sido conscientes de que 'introducían' nanotecnología en su organismo. De hecho, su aspecto no suele diferir de las cápsulas o preparados a los que estamos acostumbrados. Su vía de administración puede ser oral, parenteral y nasal.

En la partícula nanométrica se introduce el fármaco y se pueden añadir otras "moléculas exteriores para que direccionen el producto al lugar en el que se requiere", por ejemplo, se suelen utilizar anticuerpos que son reconocidos por las células en las que se quiere actuar.

Las estructuras que se emplean son muy variadas. Con frecuencia se utilizan NPs poliméricas (formadas por los compuestos químicos conocidos como polímeros) que albergan el principio activo.

13.2. Distintas Formas de Encapsular los Fármacos.

Los sistemas de liberación en forma de liposomas como se mencionó anteriormente permiten una buena comunicación con la membrana celular porque su composición es muy similar. En el interior de estas vesículas constituidas por una o más capas de lípidos (grasas) se encapsula la molécula activa [194].

Actualmente ya existen en el mercado productos nanoparticulados (Ver Tabla 3) [195 - 222].

Tabla 3. Productos Nanoparticulados existentes en el mercado, para la vía de

FÁRMACO	APLICACIÓN	REFERENCIA
aceite esencial de <i>Artemisia arborescens</i>	Sistémica	Lai y col. 2006
ADN (terapia génica)	Sistémica	Asasutjarit y col. 2007
Anfotericina B	Sistémica	Jores y col. 2003
avidina-biotina	Sistémica	Béduneau y col. 2007
camptotecina.	Sistémica	Yang y Zhu. 2002
citrato de tamoxifen	Sistémica	Reddy y col. 2006
clorhidrato de pilocarpina	Sistémica	Yoncheva y col. 2003
clotrimazol	Tópica	Souto y col. 2004
clozapina	Sistémica	Venkateswarlu Manjunath. 2004 y
Coenzima Q 10	Tópica	Hsu y col. 2003
contra el cancer como el etoposide, el docetaxel y el paclitaxel	Sistémica	Béduneau y col. 2007
Dióxido de titanio	Tópica	Cengiz y col. 2006
5-Fluorouracilo	Sistémica	Hitzman y col. 2006
ibuprofén	Tópica	Casadei y col. 2006
insulina	Sistémica	Liu y col. 2007(b)
isotretinoína.	Sistémica	Liu y col 2007 (a)
ketoconazol	Tópica	Souto y Müller. 2005
mifepristona	Sistémica	Hou y col. 2003
N,N-Diethyltoluamida (DEET)	Tópica	Iscan y col. 2005
n-dodecyl-ferulato	Sistémica	Souto y col. 2005
oxybenzone	Tópica	Wissing y Müller. 2002
Peptide	Sistémica	Müller y Keck. 2004
péptidos	Sistémica	Hu y col. 2004
Perfumes	Tópica	Wissing y col. 2000
Propionato de clobetazol	Sistémica	Hu y col. 2006
Retinoides	Tópica	Hu y col. 2005, Jee y col. 2006
Tetracaina y el etomidato	Sistémica	Mehnert y Mäder. 2001
tripolide	Sistémica	Mei y col. 2005
Vitamina A	Tópica	Pople, y Singh. 2006

XIV. TERAPIA DIRIGIDA Y VIAS DE ADMINISTRACIÓN

14.1. Liberación de Fármacos.

Para aumentar el efecto de los fármacos hay que procurar mejorar todos los parámetros farmacocinéticos, farmacodinámicos y terapéuticos del principio activo en cuestión. Por ello, la nanotecnología, desde la reducción del tamaño de partícula a la escala nanométrica, consigue mejorar el uso del medicamento desde numerosas vertientes, por ejemplo, aumentando la estabilidad, absorción, biodisponibilidad, distribución específica, evitando degradación metabólica y secuestro enzimático, evitando efectos tóxicos e indeseables del principio activo y buscando la selectividad con el órgano diana. (Ver fig.58)

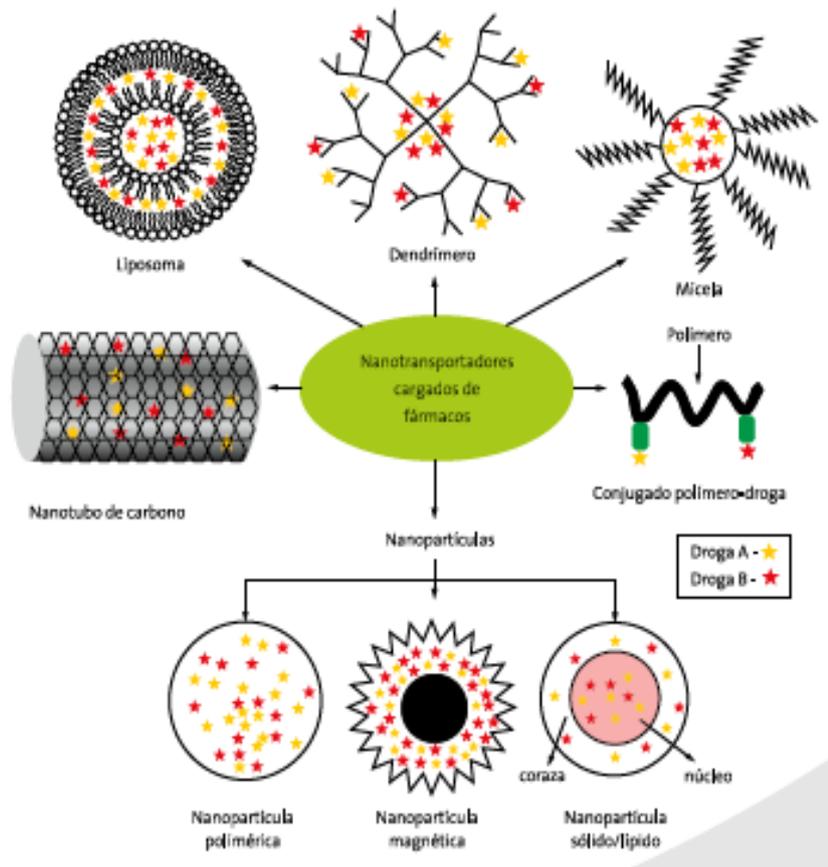


Figura 58. Distintos tipos de agentes de transporte y liberación de moléculas, empleando nanoestructuras [223].

Los sistemas de liberación de fármacos surgen como consecuencia de la imposibilidad de trasladar de forma directa al organismo los principios activos que constituyen los medicamentos. Estos sistemas de liberación de fármacos están formados por un principio activo y un sistema transportador que puede dirigir la liberación del fármaco al sitio adecuado y la cantidad apropiada. Las características que deben cumplir estos vehículos son baja toxicidad, propiedades óptimas para el transporte y liberación del fármaco y vida media larga [224].

Mediante el uso de la Nanomedicina se ha conseguido hacer frente a alguno de los problemas que muestran los fármacos tradicionales. Algunos ejemplos de este tipo de problemas son:

(a) la necesidad de añadir al principio bioactivo del medicamento ciertos excipientes que aumenten la solubilidad del fármaco,

(b) la naturaleza hidrofóbica de ciertos medicamentos hace que éstos puedan precipitar en un medio acuoso,

(c) la extravasación involuntaria de medicamentos citotóxicos produce daño en los tejidos,

(d) algunos medicamentos pueden ser eliminados muy rápidamente por órganos como el hígado, requiriéndose altas dosis del fármaco,

(e) otros medicamentos tienen distribuciones generalizadas por el organismo y pueden afectar a tejidos sanos,

(f) la distribución del medicamento por tejidos sanos produce efectos colaterales que limitan la cantidad de medicamento que puede ser liberada y

(g) concentraciones bajas de medicamentos en los tejidos producen una disminución de los efectos terapéuticos del fármaco.

Frente a todos estos problemas comunes que muestran los fármacos tradicionales, los nanofármacos plantean una serie de soluciones [223].

Los más conocidos son los liposomas que se clasifican según su tamaño: pequeños y grandes, y por el número de bicapas: uní, oligo, o multilamelar. Cada tipo tiene su propia aplicación potencial. Ver figura 59.

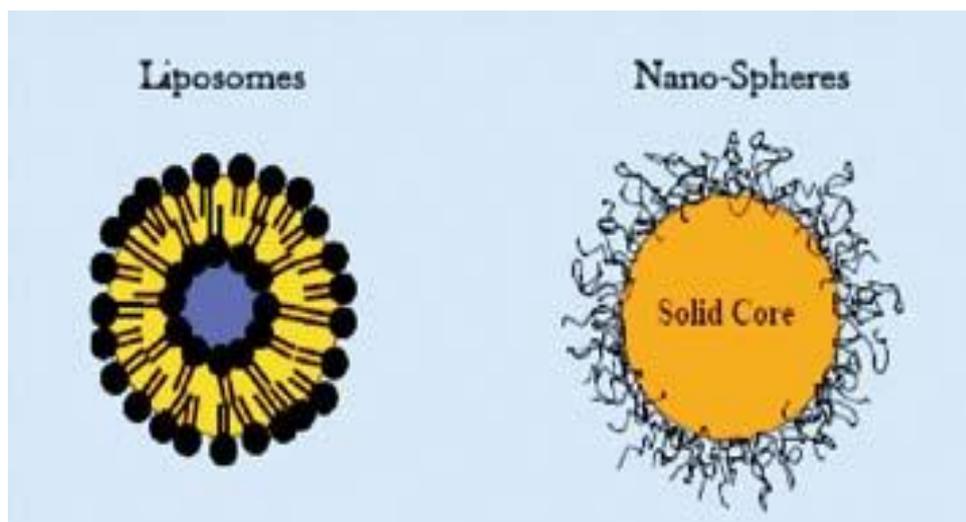


Figura 59. Liposomas [223].

En preparaciones farmacéuticas los más utilizados son los liposomas unilamelares (40-250 nm). Para obtener los diferentes tipos de liposoma se utilizan distintas técnicas de preparación y de composición lipídica.

Debido a su estructura y composición, los liposomas pueden incorporar, por separado o conjuntamente, principios activos liposolubles e hidrosolubles. Los liposolubles se incorporan en la cubierta lipídica externa mientras que los hidrosolubles se incorporan básicamente en la fase acuosa interior [223]. (Ver fig. 60).

Bhatia et al. crearon NPs multifuncionales inyectables diseñadas para fluir por la corriente sanguínea para dirigirlas hacia los tumores y aglomerarse en ellos con el fin de visualizar los tumores en imágenes obtenidas por resonancia magnética.

Las NPs pueden ser superparamagnéticas, es decir, emiten calor cuando son expuestas a un campo magnético. Se pueden adherir a medicamentos donde las ondas de este campo magnético tendrían frecuencias de entre 350 y 400 kiloergs, incluidos en el intervalo de las ondas de radio.

Estas ondas débiles atravesarían el cuerpo sin dañarlo y provocarían que las NPs se calentasen. El calor rompería los enlaces de Hidrógeno de DNA. Una de las ventajas del DNA es que su punto de fusión es variable (depende de la longitud o de su código), lo que permitiría además que una misma NP llevase simultáneamente diversos tipos de medicamento, que se liberarían en momentos diferentes según la frecuencia de onda o la duración de las pulsaciones electromagnéticas aplicadas [225].

La aplicación de los sistemas nanoestructurados se ejemplifica por el estudio que realizaron científicos nipo-norteamericanos quienes desarrollaron en 2005 nanotubos de platino que pueden introducirse en las venas y permitir a los médicos intervenir en el cerebro de una persona, publicó The Journal of Nanoparticle Research.

Estos nanocaptadores permitirían asimismo un mayor conocimiento de las interacciones entre neuronas, así como abrirían el camino a nuevas terapias para el tratamiento de enfermedades neurológicas y tumores cerebrales, la revista Molecular BioSystems, publica los resultados de las investigaciones de un equipo de científicos de la Universidad de Tokyo, que habían desarrollado una nanoestructura autoensamblable que se dirige a células humanas cancerígenas y emite moléculas de medicamentos, en este caso en respuesta a los cambios biológicos que provocan muchos tipos de cáncer y la revista Technology Review ha publicado que la Nanotecnología permitirá dentro de muy poco pronosticar el cáncer gracias a nanocables de silicona diseñados para detectar una proteína específica relacionada con esta enfermedad [226].
(Ver fig. 60)

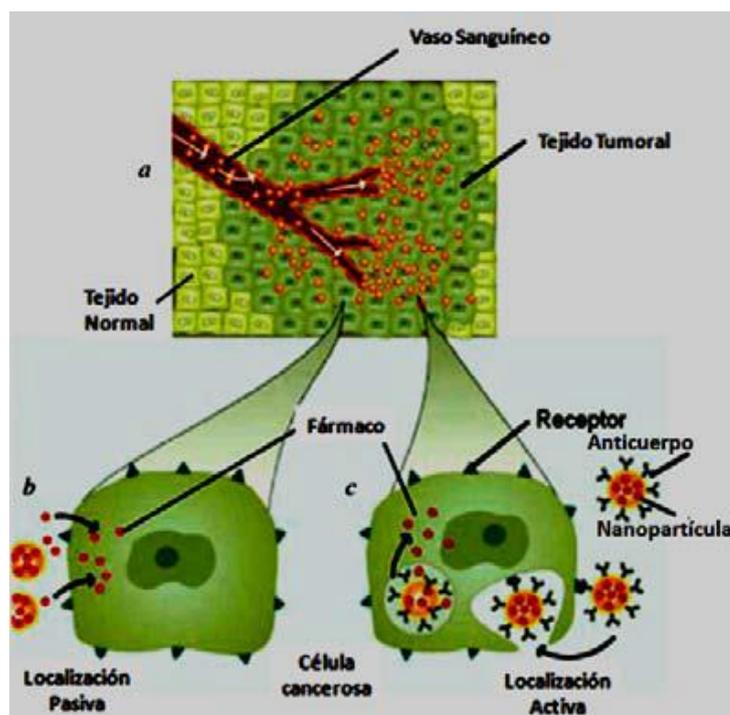


Figura 60. Esquematación de la localización Activa y Pasiva de nanopartículas. (a) Efecto de Permeabilidad y Retención, (b) Localización Pasiva. El fármaco se libera de las nanopartículas en las proximidades de la célula tumoral y es captado por ellas, c) Localización Activa. Las nanopartículas con ligando específico localizan a la célula cancerosa, se unen al receptor y son endocitadas; posteriormente liberan el medicamento contra el cáncer o terapias génicas, como el ADN plasmídico u oligonucleótidos antisentido [226].

14.1.1. Administración Oral.

Las NPs se pueden utilizar para proteger fármacos lábiles en el TGI (terapia génica invasiva), sensibles a los sistemas enzimáticos propios del organismo como lo son los antígenos utilizados para la inmunización oral. Algunas ventajas son las siguientes:

Mejora de la biodisponibilidad de los fármacos con características de absorción pobres, prolongación del tiempo de residencia en el intestino, alta dispersión a nivel molecular y, en consecuencia, aumento de la absorción, liberación sostenida, focalización de los agentes terapéuticos a un órgano en particular y reduce la toxicidad reduciendo la irritación de la mucosa GI causados por diversos fármacos [227].

Los dendrímeros (mencionados anteriormente) en estos sistemas forma parte de las nuevas tecnologías en el desarrollo de fármacos como menciona Baker quien considera a un dendrímero como la capacidad transportadora de un medicamento que funciona como NPs y que está diseñada para introducir el fármaco anticáncerígeno en las células del tumor, donde su efecto aumenta y la toxicidad disminuye [25, 28, 70, 227].

14.1.2. Administración Parenteral.

Las potenciales aplicaciones de estos sistemas coloidales de vehiculización de fármacos por v.i. pueden resumirse en términos de la concentración de fármacos en lugares accesibles y el aumento de la vida media de activos lábiles (péptidos y proteínas).

El uso de péptidos y polipéptidos para el tratamiento en humanos y animales es problemático, debido a la tendencia de algunos de estos medicamentos a ser rápidamente degradados por las enzimas proteolíticas en el TGI, por lo que no pueden ser absorbidos por la pared intestinal traduciéndose en una pobre biodisponibilidad por esta vía. Por estos motivos, en general, son administrados por vías parenterales.

La vectorización de fármacos puede modular su distribución en el organismo, y estos sistemas coloidales (NPs) han mostrado capacidad de aumentar la eficacia de la quimioterapia y reducir los efectos adversos. Una de las aplicaciones más prometedoras de las NPs es su utilización como soportes para agentes anticancerígenos.

14.1.3. Administración Oftálmica.

Las NPs aplicadas en oftalmología están representadas por la protección de los fármacos de la degradación enzimática, aumento de la tolerancia por parte del paciente y aumento de la permeación transcorneal.

14.1.4. Administración Pulmonar.

En contraste con la aplicación intravenosa u oral, la administración de un fármaco a nivel pulmonar se realizará por atomización de la formulación en una formulación adecuada para la inhalación. En general se acepta que las partículas de aerosol posean un tamaño de 1 a 5 μm para la deposición en la región alveolar de los pulmones, lo que puede ser clasificada como la región de más alta absorción sistémica.

Entre los diversos sistemas de administración de fármacos considerados para su aplicación pulmonar, las NPs biodegradables demuestran ventajas potenciales para la administración de fármacos peptídicos y proteínas como la insulina. En comparación con las formulaciones liposomales, las NPs poliméricas muestran una mayor estabilidad durante el proceso de nebulización, con lo que se elimina la posibilidad de pérdida de fármacos.

14.1.5. Otras Rutas.

En la actualidad se está estudiando el uso de NPs para administrar interferon- γ en la piel para el tratamiento del herpes cutáneo. Otros fármacos como el minoxidil se han encapsulado y administrado por la vía transdérmica.

Con respecto a la mucosa nasal, la alta permeabilidad puede permitir una buena absorción. Las NPs cargadas con fármacos como la insulina, ADN y toxoide tetánico se han administrado por esta ruta.

La evolución de los métodos de preparación de NPs se ha caracterizado por tres aspectos:

- a) La necesidad de menos reactivos tóxicos,
- b) La simplificación del procedimiento para permitir el escalamiento del laboratorio a la industria y
- c) La optimización para mejorar el rendimiento y la eficiencia de encapsulamiento.

Se tienen técnicas simples, seguras y reproducibles para encapsular fármacos en nanocápsulas y nanoesferas. En base a las características físico-químicas de los principios activos, es posible elegir el mejor método de preparación y el polímero que más se adapte para lograr una eficiente encapsulación. El método seleccionado debe minimizar la pérdida del activo o de su actividad farmacológica.

En este sentido, el desarrollo de una técnica que permite la incorporación de biomoléculas sin que ello afecte a su actividad, constituye un objetivo fundamental de la Nanotecnología. Existen algunos problemas que aún quedan por resolver. Los procesos no son adecuados para todos los fármacos. Los pasos post-preparativos, como la purificación, conservación y el análisis del disolvente residual deben ser considerados. Así como la falta de estabilidad de algunos componentes activos, la liberación no reproducible de ciertos fármacos y algunos procedimientos menos costosos.

Una de las grandes promesas de la nanotecnología es que los fármacos del futuro se puedan administrar de forma controlada sobre la zona deseada. Para lo cual los investigadores deben desarrollar materiales fluorescentes para poder hacer un seguimiento de su localización capaces de transportar una carga de medicamento, de liberarla en el lugar adecuado y, además, que no deje residuos peligrosos o tóxicos en el cuerpo del paciente. Investigadores de la Universidad de California en San Diego (UCSD) inyectaron en ratones partículas porosas y fluorescentes de silicio, ocho veces más pequeñas que un milímetro, que permiten la localización de tumores y el transporte de medicamentos contra el cáncer sin causar daños de ningún tipo. "Esta es la primera NP fluorescente diseñada especialmente para minimizar sus efectos secundarios tóxicos", afirma el profesor de química Michael Sailor responsable del estudio, publicado en la revista 'Nature Materials'.

El descubrimiento realizado por el equipo de Sailor permite localizar e identificar la zona afectada por el cáncer, transportar el medicamento hasta allí y, además, se degrada y no deja rastro de su presencia después de un tiempo. "La principal aportación de este estudio es que permite encontrar zonas tumorales por pequeñas que sean y las localiza con mucha exactitud", asegura Javier Tamayo, investigador en el Instituto de Microelectrónica de Madrid. En este caso es una molécula capaz de identificar las células tumorales y de unirse a ellas y otra que se activa antes de ser inyectada y fluoresce al ser observada con luz infrarroja. De esta forma, se puede saber dónde se encuentra el área afectada por el cáncer y el tamaño exacto que tiene el tumor. Además, se puede realizar un seguimiento del nanomaterial introducido desde el primer momento hasta su completa degradación. Ensayaron este aspecto al inyectar el nuevo material con un antitumoral llamado Doxorubicina en ratones a los que se les había inducido algún tipo de cáncer. El experimento en organismos vivos tuvo éxito y el nanomaterial cumplió con lo esperado por los investigadores. El medicamento se liberó lentamente alcanzando niveles de medicamento aceptables a las ocho horas y los productos que generó el nuevo material al degradarse, tras liberar el fármaco, pudieron ser eliminados sin problemas por el Sistema Renal [228-233].

XV. USOS

15.1. En la tabla 4 podemos ver algunos usos de sistemas nanoestructurados.

Tabla 4. Usos y aplicaciones de la Nanotecnología [161, 234-236].

<p>ELECTRÓNICA- NANOTRÓNICA</p>	<p>Cables cuánticos (cables fabricados a partir de nanotubos de carbón), para revolucionar los actuales sistemas de transmisión de electricidad. Mejorando los teléfonos móviles a través de la fabricación de tubos al vacío de nanotubos de carbono, micrófonos microscópicos, lentes líquidas, brújulas conectadas con satélites de sistemas de posicionamiento global (GPS); Displays orgánicos; Memorias moleculares; Nanoemisores de electrones; SETs.</p>
<p>TÉCNICAS DE INFORMACIÓN:</p>	<p>Nuevo diseño de un microchip que tiene nodos informáticos conectados por nano-cables con una estructura parecida a la de neuronas y axonas del cerebro humano; Nuevo chip del tamaño de un grano de arroz (2-4mm²) capaz de almacenar hasta 512 kBITS y de intercambiar datos vía wireless; Cintas magnéticas; Memorias ferromagnéticas; Pantallas planas; Tecnologías visuales que permiten pantallas mejores, más ligeras, finas y flexibles; Aplicación masiva de puntas STM/AFM para inscribir/leer datos sobre superficies</p>
<p>OPTOELECTRÓNICA- NANOFOTÓNICA;</p>	<p>Nanoláseres; Funciones multimedia y realización de un entorno virtual; Manejo de enormes cantidades de datos (sencilla comunicación entre hombre y máquina, la casa segura); Tecnología basada en el uso de nanotubos para revolucionar el sector de pantallas planas y crear toda una nueva generación de Televisión de Alta Definición (HDTV). Nanohierba para sistemas avanzados electrónicos y fotónicos (nano-texturas para resolver problemas relacionados con gestión termal de sistemas avanzados fotónicos y electrónicos); OLED's, el periódico electrónico; Técnicas de iluminación novedosa; Reflectores BRAGG; Fuentes luminosas moleculares.</p>
<p>SENSORICA – ANALÍTICA:</p>	<p>Nanotecnología genética, utilizando sensores moleculares, para medir cambios en los niveles químicos del cerebro en tiempo real y a nivel de una sola célula, sensores para aplicaciones en la medicina, en el control medioambiental y en la fabricación de productos químicos y farmacéuticos; Biolabeling; Dedo espectroscópico; Nanobombas; Seguridad; Industria militar. Sensores de tacto flexibles podrían mejorar el funcionamiento de robots; Control permanente y discreto de funciones corporales; Biochips con marcadores-fluorescentes.</p>
<p>MATERIALES NUEVOS Y AVANZADOS:</p>	<p>Materiales más ligeros y más fuertes; Metales orgánicos; Pegamentos inteligentes (bond-dibond on command); NPs sintéticas, Compuestos micronizados (vitaminas solubles en agua); Lacas autorreparables; Nanocables de polímero que miden tan solo 100 nm; Partículas orgánicas</p>

	con forma precisa y uniforme más pequeñas (100 nm). La función potencial de estas NPs orgánicas es la administración de medicamentos y la introducción de otros materiales orgánicos en el cuerpo humano.
FABRICACIÓN MOLECULAR:	Nanoestructura autoensamblable que se dirige a células humanas cancerígenas y emite moléculas de medicamentos en respuesta al cambio en pH característico de muchos tipos de cáncer. Biónica; ensamble y autoensamble, autoorganización; nanoagujas unidas a un microscopio de fuerza atómica para penetrar el núcleo de células vivas; nanoagujas para repartir moléculas tales como ácidos nucleicos, proteínas u otras sustancias químicas al núcleo, o incluso para realizar cirugía celular; se ha desarrollado un polímero electro-óptico revolucionario – un material logrado a través de la ingeniería molecular – que logra un grado de eficacia sin precedentes dentro de materiales avanzados de alto rendimiento.
SUPERFICIES ÓPTICAS:	Cristales de ventanas, parabrisas y gafas que no se empañen debido a un cubrimiento de NPs (Efecto LOTUS); Capas transparentes electroconductoras; Capas superhidrofóbicas.
MEDICINA:	Para ayudar a combatir y tratar enfermedades cardiovasculares, diabetes, cáncer, SIDA, Alzheimer y Parkinson. Administración de medicamentos nanoencapsulados; Tratamiento de ciertos cánceres - tratar células cancerígenas a través de la aplicación de calor mediante NPs; Biomedicina; Biomarcadores; Vendas para quemaduras y heridas; Nanocables para tratar a Parkinson; Detector de infarto y Alzheimer con nanotecnología; Reingeniería de córnea; Riñones artificiales, etc.
CÓMPUTO:	Memorias ferro magnéticas; aparato nanomecánico derivado de DNA para la creación de polímeros "de diseño" con la encriptación de datos, o como un componente de variable input para la computación basada en DNA; biocomputadoras; computación cuántica; nanocomputadoras.
ENERGÍA:	Mejores técnicas fotovoltaicas para fuentes de energía renovable; Paneles de energía solar; Pilas de combustible; Almacenes de Hidrógeno; Dispositivos de ahorro de energía; Metales orgánicos para pilas; Dispositivos cuantomecánicos; La nanotecnología ayudará a resolver problemas relacionados con el almacenamiento, la generación y la transmisión de energía.
TECNOLOGÍA MEDIOAMBIENTA:	Limpieza y recuperación de petróleo derramado en agua (SAM's - self assembled monolayers); fotocatalizadores para tratamiento de agua; protección de radiación UV para alimentos y materiales de construcción (madera, papel, plásticos); plásticos basados en vegetales (biopolímeros).
AUTOMATIZACIÓN:	Microrrobótica; nanorrobótica; sensores de tacto flexibles podrían mejorar el funcionamiento de robots; piezoreactores; sistemas de dosificación con precisión de picolitros; nanobombas y nanoválvulas; propulsión a chorro de iones; herramientas superduras para corte de metal.

INDUSTRIA ALIMENTICIA:	Cápsulas comestibles que miden tan solo unos pocos nanómetros para "mejorar" ciertos alimentos y crear productos como por ejemplo bebidas inteligentes; envolturas "inteligentes" para el mercado de alimentos; capas superhidrofóbicas; nanopartículas para mejorar la calidad nutricional de alimentos; biomarcadores (contaminación y descomposición de alimentos);
INDUSTRIA AUTOMOTRIZ:	Convertidores catalíticos; lacas de brillo; pinturas y capas anticorrosivos; pinturas antirasguños; líquidos magnéticos; sensores.
INDUSTRIA DEPORTIVA:	Pelotas y raquetas de tenis; bicicletas de carrera en base a nanotubitos de carbono. El marco de la máquina pesa menos de un kilo y tiene propiedades de rigidez y fuerza; nanocompuestos; aplicación de nanometales a patines, para reducir la fricción sobre hielo, y bicicletas, cascos, etc.; hotbeds (calientapies)-un producto fabricado con nanotecnología y utilizado para calentar pies.
INDUSTRIA MICROELECTRÓNICA:	Nanolitografía; materiales CMP (planarización o pulido químico-mecánico) en base a nanopartículas para el proceso tecnológico de la nanoelectrónica sobre silicio; circuitos híbridos con nanotubitos.
INDUSTRIA QUÍMICA:	Catálisis con materiales nanoporosos; nanomembranas; nanofiltros; dispersiones de polímeros; pigmentos; pegamentos diseñados.
INDUSTRIA TEXTIL:	Telas que combaten el frío, resisten a las manchas, gracias a los nanopelos, y combaten los olores al atrapar los microbios mediante el uso de NPs. Colchones antimanchas (Efecto LOTUS); Tela anti-alérgica con la aplicación de la nanotecnología (repelentes de polen).
SALUD:	Instalación de electrodos en el cerebro para restaurar sentidos como la vista o el oído, frenar los temblores de la enfermedad de Parkinson; Nanoestructura autoensamblable que se dirige a células humanas cancerígenas y emite moléculas de medicamentos en respuesta al cambio en pH característico de muchos tipos de cáncer. Sensores biológicos de nanotubos de carbono que podrían permitir que en el futuro los diabéticos midan el nivel de glucosa en su sangre sin tener que recurrir a una muestra de sangre; Cremas de protección solar con nanopartículas; Desodorantes; Adhesivo dental desarrollado con nanopartículas para reposición de esmalte; Técnicas de diagnóstica "Lab-on-a-chip"; Nanocables para detectar las proteínas que revelan la presencia de un cáncer.
MICROMECAÁNICA:	Motor molecular que funciona con energía química; NEMs; Aparato nanomecánico derivado de ADN para la creación de polímeros "de diseño".

15.2 Algunas aplicaciones futuras se pueden ver en la siguiente tabla.

Tabla 5. Futuras Aplicaciones de la Nanotecnología ^[162].

Futuras aplicaciones de Nanotecnología en el mercado.
Almacenamiento, producción y conversión de energía.
Armamento y sistemas de defensa.
Producción agrícola.
Tratamiento y remediación de aguas.
Diagnóstico y cribaje de enfermedades.
Sistemas de administración de fármacos.
Procesamiento de alimentos.
Remediación de la contaminación atmosférica.
Construcción.
Monitorización de la salud.
Detección y control de plagas.
Control de desnutrición en lugares pobres.
Informática.
Alimentos transgénicos.
Cambios térmicos moleculares
Uso de matrices nanoestructuradas de TiO₂ como fotocatalizador para la descontaminación de aguas.

XVI. CONCLUSIONES.

Haciendo referencia a la investigación documental relacionada a la investigación Bibliográfica y Hemerográfica de los Sistemas Nanoestructurados (nanofármacos) funcionalizados para uso en Biomedicina, tema principal en la realización de este proyecto de investigación fue necesario realizar una recopilación de información alusiva a estos conceptos con sistemas de tecnología avanzada como libros electrónicos, hojas Web, así como libros de texto y artículos (journals, papers y de difusión) concluyendo qué:

1. En base a la justificación para la realización de la búsqueda de información relacionada con los Sistemas Nanoestructurados fue necesario incluir en este documento conceptos teóricos alusivos con la nanotecnología, específicamente nanofármacos.
2. En este trabajo se describe y se da a conocer la información actualizada de la función de los nanofármacos en el organismo.
3. En este documento se describen los métodos de obtención de nanopartículas y su funcionalización en diferentes áreas, así como la aplicación en las diferentes disciplinas, incluyendo las de salud o específicamente en la nanofarmacia y en biomedicina. Pues la importancia de investigar en este campo radica en los avances que a nivel mundial se han reportado respecto a las nuevas tecnologías para su uso y avance en el tratamiento de enfermedades crónico degenerativas y en el diagnóstico de otras patologías como el cáncer.

4. Por otra parte, conociendo que la salud es importante en la vida humana, las disciplinas involucradas juegan un papel esencial en el desarrollo y aplicación de nuevos proyectos que involucren la parte teórica y práctica de los avances tecnológicos aplicados en la farmacia clínica, pues como profesionistas de la salud (QFBs) tenemos que mantenernos actualizados para recibir y aplicar éstos conocimientos en pro de la salud y atención a los pacientes en la clínica y en el desarrollo de nuevos sistemas que nos permitan mejorar la calidad de vida de pacientes realizando nuevos fármacos que al ser administrados cumplan su función sin alterar funciones básicas y fisiológicas en el organismo.
5. Por lo anterior, en este proyecto se hace énfasis en mencionar las ventajas y desventajas del uso de los nanofármacos en sistemas biológicos ejemplificando sus usos en diferentes sistemas funcionalizados reportados actualmente a nivel mundial.
6. Sabiendo que el conocimiento de la Nanotecnología es un proceso que obliga a realizar investigación con la integración de actividades que involucran a varios investigadores de diferentes disciplinas (Biología, Electrónica, Computación, Químicas, Física y otras) para la Nanotecnología, Nanoelectrónica y Nanobiotecnología, las perspectivas que se vislumbran en nuestro país pueden ser importantes.
7. En base a la investigación realizada se debe de tener presente una serie de consideraciones farmacéuticas en el desarrollo de nuevos sistemas de liberación controlada (tipo de material, ruta de preparación, tamaño de las partículas, cantidad de fármaco incorporado, carga, fármaco liberado (*in vivo e in vitro*), estabilidad del fármaco, estabilidad del sistema de liberación, efecto del almacenamiento, propiedades de la superficie, presentación, antigenicidad, biofase y toxicidad del sistema de liberación y tipo de fármaco y biocinética del sistema de liberación).
8. Finalmente en este trabajo se hace referencia a los conceptos relativos al desarrollo de nuevos fármacos como sistemas de liberación útiles en la aplicación biomédica.

XVII. RECOMENDACIONES

Dado que este trabajo es el fruto de una investigación documentada con temas vigentes actualmente es necesario saber que existe el Laboratorio Nacional de Nanotecnología ubicado en México. Este laboratorio representa una plataforma tecnológica para el impulso de la Nanociencia y la Nanotecnología en el país cuya finalidad es apoyar a los sectores académico, productivo y social. Dentro de sus principales actividades se encuentra la de servir como nodo de la Red Nacional de Nanotecnología.

Su objetivo general es la creación de un Laboratorio Nacional de Nanotecnología, cuyas características de excelencia, competitividad y complementariedad, propicien la formación de recursos humanos, la investigación científica y el desarrollo de aplicaciones específicas en actividades de síntesis, caracterización y aplicación de sistemas nanotecnológicos, brindando un espacio de colaboración y apoyo a las instituciones y empresas nacionales, mediante la infraestructura humana, de equipamiento y espacio adecuados, en complemento a las existentes en el país . (Ver figura 61).



61. Laboratorio Nacional de Nanotecnología ^[237].

El Laboratorio fue creado en 2006, como resultado de una convocatoria de CONACYT para la creación de Laboratorios Nacionales de Infraestructura Científica o desarrollo Tecnológico.

XVIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

[1] Luna M., Los mayas y la nanotecnología (El universo de lo pequeño), NANOMUNDO,

El universo de lo pequeño, Disponible en:

<http://www.elmundo.es/elmundo/2011/06/16/nanotecnologia/1308212180.html>

Acceso 1 de Diciembre del 2013.

[2] Berry C. C. y Curtis A.S., “Functionalisation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine” J. Phys. D: Appl. Phys.; 2003; 36 (13): 198.

[3] De la Rosa E. Nanofotónica: luz + Nanopartículas. Ide@s CONCYTEG 2007; 2(24): 412-420.

[4] Liz-Marzan L. M., “Nanometals: Formation and Color” Materials Today, 2004; 7 (2): 26.

[5] Brewer M.; Tierui Z., Wenjun D., Rutherford M., Ryan Z., Tian,”Futuros abordajes de la nanomedicina en la ciencia clínica”, Medical Clinical North American, 2007; 91: 963-1015.

[6] Takeuchi N, Algunas Aplicaciones de la Nanociencia y la Nanotecnología en la Medicina. Anestesia en México 2009; 21(3): 231-233.

[7] Salomone MG. ¿Es segura la nanotecnología? Disponible en:

<http://www.madrimasd.org> Acceso el 20 de Noviembre del 2013

[8] Nanotecnología. Nanociencia Disponible en:

<http://www.portalciencia.net> Acceso 7 de Octubre del 2013

[9] Euroresidentes. ¿Qué es la Nanotecnología? Disponible en:

http://www.euroresidentes.com/futuro/nanotecnologia/nanotecnologia_que_es.htm. Acceso 15 de Octubre del 2013.

- [10] Zehe A. F. K. Internet Electron. J. Nanoc. Moletrón. 2006; 4(3): 873-888.
- [11] Ramos D. C., - Promesas y peligros de la Nanotecnología, Revista Crítica de Ciencias Sociales y Jurídicas, ISSN 1578-6730 Disponible en: <http://www.ucm.es/info/nomadas/9/giandelgado.htm> Acceso 1 de Diciembre del 2013.
- [12] García J., García E., Merino M, Cien años de la bala mágica del Dr. Ehrlich (1909–2009), Enferm Infecc Microbiol Clin. 2010; 28 (8): 521–533.
- [13] Garzón L., García B., Las nanopartículas sólidas lipídicas y los acarreadores lipídicos nanoestructurados en usos terapéuticos, Primera revista digital en América Latina especializada en tópicos de Comunicación,ISSN 1605-4806: 1-14.
- [14] Euroresidentes. Nanotecnología. Disponible en: http://www.euroresidentes.com/futuro/nanotecnologia/historia_nanotecnologia.htm Acceso 15 de Octubre del 2013.
- [15] Quintana R. M., Nanopartículas: principios y aplicaciones, Rev. Ciencia y Desarrollo, 2008; 34(221): 62-67.
- [16] The Royal Society and the Royal Academy of Engineering: Nanoscience and nanotechnologies: opportunities and uncertainties (Real Sociedad y Real Academia de Ingeniería: Nanociencia y nanotecnologías: oportunidades y dudas); 2004. s/p
- [17] Zavaleta A., Vilchis R., López M., Arenas J., Hanako G., Crosby M., La nanociencia y la nanotegnología: Herramientas para medir lo diminuto, AP Agro-productividad ISSN-0188-7394, 2013; 6(4):15-23.
- [18] Cintas L., Nanotecnología: la revolución industrial del Siglo XXI. Madrid (UCM), 2006; 2: 11.

[19] El Viaje de los Nano-Cirujanos, Científicos financiados por la NASA desarrollan naves microscópicas, capaces de internarse en el cuerpo humano y reparar problemas célula por célula. Disponible en: http://ciencia1.nasa.gov/science-at-nasa/2002/15jan_nano/ Acceso el 4 de Diciembre del 2013.

[20] Euroresidentes. Nanotecnología. Disponible en: http://www.euroresidentes.com/futuro/nanotecnologia/nanotecnologia_que_es.htm Acceso 1 de Octubre del 2013.

[21] Dykes G. M., Brierley L. J., Smith D. K., McGrail P. T. Seeley G. J., Supramolecular solubilisation of hydrophilic dyes by using individual dendritic branches. *Chemistry*, 2001; 7: 4730-9.

[22] Boas U., Heegaard P.M., Dendrimers in drug research. *Chem. Soc. Rev.*, 2004; 33: 43-63.

[23] Gonzalo T., Muñoz M., Dendrímeros y sus aplicaciones biomédicas, Laboratorio de Inmuno-Biología Molecular, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid; 5:1-32.

[24] Rios de la Rosa J., Llegando al foco del problema dendrímeros, *MoleQla Nanotecnológica*, ISSN 2173-0903, 2011; 3: 70.

[25] Mejias Y., Cabrera N., Toledo A., Duany O., La nanotecnología y sus posibilidades de aplicación en el campo científico-tecnológico, *Revista Cubana de Salud Pública*, 2009; 35(3): 1-9.

[26] Corbell J. B., A comparison of biological and calorimetric analyses of multivalent glycodendrimer ligands for concanavalin A., 2000; 11: 95-111.

[27] Kim R. R., Amphiphilic p-tert-Butylcalix [4] arene Scaffolds Containing Exposed Carbohydrate Dendrons. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 1999; 38: 369-372.

[28] Lechuga LM., Martínez C., Nanobiología: Avances Diagnósticos y Terapéuticos. Revista de investigación en Gestión de la Innovación y Tecnología. Nanociencia y Nanotecnología II, 2006; (35): Marzo-Abril.

[29] Zhang H, Douglas Y, Wang C. Quantum dots for cancer diagnosis and therapy: biological and clinical perspectives. Nanomedicine serie en Internet, 2008; 3(1):83-91.

[30] Samitier J., Nanobiología y nanomedicina, Universidad de Barcelona Fundación Phantoms, 2005: 63-77.

[31] Tessy M. Laboratorio de Nanotecnología UAM-INNN. Disponible en: <http://tessymarialopezgoerne.blogspot.mx/2008/02/laboratorio-de-nanotecnologia-uam-innn.html> Acceso 10 de Septiembre del 2013.

[32] Llabot M., Palma D., Allemandi A., Nanopartículas poliméricas sólidas, NUESTRA Farmacia, 2008; 53: 40-41.

[33] Bei D., Meng, J., Youan, B.C. Engineering nanomedicines for improved melanoma therapy: progress and promises. Nanomedicine, 2010; 5:1385-1399.

[34] Amalvy J; Nanociencia y Nanotecnología. Nociones y Aplicaciones, Grupo de (Nano) Materiales Poliméricos (LIMF) - Facultad de Ingeniería (UNLP).

[35] Nanomateriales Disponible en: <http://nanomaterialesntics.wikispaces.com/Nanomateriales> Acceso el 7 de Diciembre 2013.

[36] Marín A. M. Sistemas nanoestructurados: los nuevos materiales del futuro, Contacto Nuclear, El ININ hoy: 22-24.

[37] Juárez H. B., Nanopartículas semiconductoras coloidales y aplicaciones, An. Quím., 2011; 107(3): 229-236.

[38] Figueira L., Tavares J., Furtado V., Santos C., Nereide S., Nanotecnología farmacéutica aplicada al tratamiento de malária. Rev Brasileira Cienc Farm. 2007; 43(4): 50.

[39] Euroresidentes. Nanotecnología. Disponible en: <http://www.euroresidentes.com/futuro/nanotecnologia/diccionario/nanoparticulas.htm> Acceso 22 de Octubre del 2013.

[40] Marzán L. L., Nanopartículas para la medicina del futuro, El Mundo es, Unidad Editorial Información General S. L. U., 2012: 1.

[41] Esteban R., Nanociencia y Nanotecnología. Disponible en: http://www.xing.com/net/ne_nanocienciaynanotecnologi/general-133962/que-es-nanociencia-8747796/ Acceso 28 de Noviembre del 2013.

[42] Meyer M, Kuusi O: Nanotechnology: Generalizations in an Interdisciplinary Field of Science and Technology (Nanotecnología: generalizaciones en un campo interdisciplinario de la ciencia y la tecnología); 2002 (2). s/p

[43] International Journal for Philosophy of Chemistry (Publicación internacional sobre la filosofía de la química); 2002 (10):153-168.

[44] Schmidt G, Decker M, Ernst H, Fuchs H, Grunwald W, Grunwald A et al. Small dimensions and material properties. (Dimensiones pequeñas y propiedades de los materiales); Europäische Akademie Graue Reihe. A definition of nanotechnology (Una definición de nanotecnología), 2003: 134.

[45] NNI Strategic Plan, Diciembre 2007, página 5. Disponible en: http://www.nano.gov/NNI_Strategic_Plan_2007.pdf. Acceso 12 de Diciembre del 2013.

[46] Ruz B., Nanociencia, ante el umbral de una revolución tecnológica, MoleQla Nanotecnológica: ISSN 2173-0903, 2011; 3: 64-66.

[47] Juárez I., Torres L., Cruz A., Garza L., Meza M. Nanopartículas semiconductoras: una alternativa para la degradación de contaminantes orgánicos presentes en el agua residual y la generación de energía de manera sustentable. CIENCIA-UANL, 2800; 11(4): ISSN-e 1405-9177.

[48] Murray B. C., Norris J. D., Bawendi G. M., Synthesis and characterization of nearly monodisperse CdE (E = sulfur, selenium, tellurium) semiconductor nanocrystallites, J. Am. Chem. Soc., 1993; 115: 8706-8715.

[49] Monge M., Kahn M., Maisonnat A., Chaudret B., Angew Chem. Int., 2003; 42: 5321-5324.

[50] Saiz E., Síntesis de nanopartículas semiconductoras vía microondas. Disponible en: <http://blogs.creamoselfuturo.com> Acceso 1 de Diciembre del 2013.

[51] Weller H., Koch U., Gutierrez M., Henglein A., Berichte Der Bunsen-Gesellschaft-Physical Chemistry Chemical Physics, 1984; 88: 649-659.

[52] Cabrera H., Eficiencia de la Terapia Foto dinámica combinada con Nanopartículas de oro (Np-Au) en la eliminación de Células de Carcinoma Cervicouterino, "Aplicaciones Biomédicas del Láser", 2010.

[53] Ramachandra C., Kulkarni G., Thomasa J., Edwards P., Metal nanoparticles and their assemblies, Quím. Soc. Inversor de corriente, 2000; 29: 27-35.

[54] Combe N., Jensen P., Pimpinelli A., Changing shapes in nanoworld, Phys. Rev. Lett., 2000; 85 (1): 110.

[55] Wen, Yu-Hua, Zhu, Zi-Zhong, Zhu, Ruzeng, Shao, Gui-Fang, Size effects on the melting of nickel nanowires: a molecular dynamics study, Physica E, 2004; 25: 47-54.

[56] Bilalbegovic G., Assemblies of gold icosahedra, Computational Materials Science, 2004; 31: 181-186.

- [57] Jena P., Khanna S. N., Rao B.K., Kluwer Academic, Estructural forms and energie, Dordrecht, 1992;(I, II): 411- 416.
- [58] Daw M. S., Baskes M. I., Embedded-atom method: Derivation and application to impurities, surfaces, and other defects in metals, *Phys. Rev.B*, 1984; 29 (12): s/p.
- [59] Lewis L. J., Jensen P., Barrat J., "Melting, freezing and coalescence of gold nanoclusters", *Phys. Rev.*, 1997; 56: 2248.
- [60] Arcidiano S., Bieri N., *International Journal of Multiphase Flow*, 2004; 30: 979-994.
- [61] Zhu H., Averback R., Sintering processes of two nanoparticles: A study of molecular-dynamics simulations, *Philosophical Magazine Letters*, 1996; 73 (27): s/p
- [62] Zhao S., Wang S., Yang Z., Ye H., Coalescence of three silver nanoclusters: a molecular dynamics study. *J. Phys.: Condens. Matter*, 2001; 13: 8061-8069.
- [63] Dong H., Molecular dynamics study on the coalescence of Cu nanoparticles and their deposition on the Cu substrate. *Journal of Electronic Materials*, 2004; 33 (11):1326-1330.
- [64] Coblenz W., Dynys J., Initial stage solid state sintering models. A critical analysis and assessment. *Materials Science Research*, 1980; 13: 141-157.
- [65] Rojas J., Rojas Ch., *Internet Electron. J. Nanoc. Moletrón*. 2006; 4 (3): 805-814.
- [66] Marzán L. L., Tailoring surface plasmons through the morphology and assembly of metal nanoparticles, *Langmuir*, 2006; 22(1): 32-41.

[67] Prieto P., Introducción a Nanociencia, Universidad del Valle, Centro de Excelencia en Nuevos Materiales, CENM, 2010: 10.

[68] Nanotecnología, “Ciencia de lo Pequeño”. Disponible en: <http://www.jmordoh.com.ar/clases/nanotec.pdf>. Acceso 2 de Diciembre del 2013.

[69] Nanopartícula de Oro. Disponible en: <http://www.diariomedico.com/archivo?archiveDate=2010/06/11>. Acceso 2 de Diciembre del 2013.

[70] Barranco O., *Innovación en Medicina: la Nanomedicina (Parte I)*, *RevistaeSalud.com*, 2007; 3(11). s/p

[71] Nanopartículas de Oro. Disponible en: <http://noticiasdeultima.blogspot.mx/search/label/Nanotecnologia>. Acceso 3 de Diciembre del 2013.

[72] Monge M., Nanomateriales de plata: propiedades bactericidas, Departamento de Química, Universidad de la Rioja: 5.

[73] Árbol de Madroño. Disponible en: www.chihuahuamexico.com/index.php?option=com_content. Acceso 3 de Diciembre del 2013.

[74] Científicos producen nanopartículas de plata a partir de hojas de Madroño, TENDENCIAS 21, Revista Electrónica de Ciencia, Tecnología, Sociedad y Cultura. ISSN: 2174-6850, Tendencias Tecnológicas.

[75] Pileni MP., Ninham BW. *Adv. Mater*, 1999, 11; 1358-1362.

[76] Salavati-Niasari M. y F. Davar. *Notas de Materiales*, 2009, 63; 441-443.

[77] H. Palza, M. Pilleux, J. Pennaroli. Producción de Nanopartículas de Cobre, Universidad de Chile.

[78] Park BK., Jeong S. et. Al. Coloide e Interfaz de Ciencia, 2007, 311; 24-417.

[79] Park J, An KJ, Hwang YS et. al. Ultra-large-scale syntheses of monodisperse nanocrystals. Nat Mater, 2004, 3; 95-891.

[80] Guevara Y., Galindo B. et. Al. Síntesis y Caracterización de Nanopartículas de Cobre, 25 de Noviembre 2011 Disponible en: es.scribd.com/doc/73762052/REPORTE. Acceso el 1 de Enero del 2014.

[81] Rollet, J. M., Couvreur, P. et. Al. , J. Pharm. Sci, 1986; 75: 361-364.

[82] Sáez V., Hernández E. et. Al., Liberación Controlada de Fármacos. Micropartículas, Revista Iberoamericana de Polímeros, 2005(2):87.

[83] Ghasemi Y., Peymani P, Afifi S; Quantum dots: magic nanoparticle for imaging, detection and targeting. Acta Biomed. 2009; 80: 156-165.

[84] Formas alotrópicas. Disponible en: física.usac.edu.gt/public/tesis_lic/waleska_a-node35.html. Acceso el 2 de Enero del 2014.

[85] Maser W; Benito A; Martínez T; Nanotubos de Carbono: Objetos nanométricos fundamentales para el desarrollo de materiales de altas prestaciones. Departamento de Nanotecnología, Instituto de Carboquímica, C/Miguel, España.

[86] Superando las limitaciones actuales de las Memorias Magnéticas, Concepto de Anisotropía Magnética. Disponible en: www.geociencias.unam.mx/~molina/Diplomado/.../magnetismo.html. Acceso el 2 de Enero del 2014.

[87] Ray SG., Et. Al. Chirality-Induced spin-selective properties of self-assembled monolayers of DNA on gold. Phys Rev Lett: 96; 036101.

[88] Gómez C., Funcionalización de nanopartículas, MoleQla Nanotecnológica, ISSN 2173-0903, 2011; 3: 80.

[89] Materiales Funcionales y Nanoestructuras, Nanopartículas, Ejes de Investigación-IRCELYON. Disponible en: http://www.ircelyon.univ-lyon1.fr/es/la_recherche/equipes_de.../axis. Acceso el 2 de Enero del 2014.

[90] Akelah A. y Sherrington D. "Application of Functionalized Polymers in Organic Synthesis". Chem. Rev, 1981; 81: 557.

[91] Wegner G. "Functinal Polymers" Acta Materialia, 2000; 48: 253.

[92] Martinelli et al., Materiales polímeros funcionalizados. Revista Iberoamericana de Polímeros, 2003; 4(4): 32.

[93] Horak D., Lendnickly F., Bleha M. "Effect of inert components on the porous structure of 2-hydroxyethyl methacrylate-ethylene dimethacrylate copolymers", Polymer, 1996; 37 (19): 4243.

[94] Iwata M., Terauchi A., Izuka S., Sasage D., JP Pat. 1976; 76 (85): 435.

[95] Kucuk Y., Kuyulu A., Okay O., "Effect of diluents on the porous structure of crosslinked poly(methylmethacrylate) beads", Polym. Bull., 1995; 35: 511.

[96] Kuroda H., Osawa Z. "Síntesis and characterization of macroporous polymer beads", Eur. Polym. J., 1995; 31 (1): 57.

[97] Svec F., Frechet J. "Temperature, a Simple and Efficient Tool for the Control of Pore size Distribution in macroporous Polymers", Macromolecules, 1995; 28: 7580.

[98] Arias E., Arnault J., Guillon D., Maillou T., Moigne J. Le, Geffroy B., Nunzi J., Amphiphilic phenyl-ethynylene oligomers in Langmuir, 2000; 16: 4139.

[99] Frederix F., Friedt J., Choi K., Laureyn W., Campitelli A., Mondelaers D., Maes G., Borghs G., A localized surface Plasmon resonance, Anal. Chem., 2003; 75: 6894.

[100] Nath N., Chilkot A., Fluorescencia J., Etiquetar Biosensores colorimétrico con nanopartículas, 2004; 14: 377-389.

[101] Morones J., Elechiguerra J., Camacho A., Holt K., Kouri J., Ramírez J., Yacaman M., The bactericidal effect of silver nanoparticles, 2005;16: 2346-2353.

[102] Smolentseva E., Bogdanchikova N., Simakov A., Pestryakov A., Avalos M., Farias M., Tompos A., Gurin V., Catalytic activity of gold nanoparticles incorporated into modified zeolitesm, J. Nanoscience and Nanotechnology, 2007; 7 (6): 1882.

[103] Fan C., Wang S., Hong J., Bazan G., Plaxco K., Heeger A., Beyond superquenching: Hyper-efficient energy transfer from conjugated polymers to gold nanoparticles, PNAS, 2003; 100 (11): 6297.

[104] Skaff H., Sill K., Emrick T., Controlled Dispersion and Assembly of Quantum Dots Using Polymers: Poly(Para-Phenylene)-Quantum Dot Composites, Polym. Preprints, 2004; 45: 615-616.

[105] Avila H., Moreno K., Moggio I., Arias E., Castruita G., Vazquez R., Medellin D., Ziolo R, Nanopartículas de plata y oro funcionalizadas in situ con el polímero conjugado fluorescente pPET3OC12-sqS. Síntesis, propiedades morfológicas, ópticas y eléctricas, Sociedad Mexicana de Ciencia y Tecnología de Superficies y Materiales, 2008; 21(1): 20-25.

[106] Aronoff Y., Chen B., Lu G., Seto C., Schwartz J., Bernasek S., Stabilization of Self-Assembled Monolayers of Carboxylic Acids on Native Oxides of Metals, JACS, 1997; 119: 259–262.

[107] T. A.; D'Arcangelis et al. Langmuir, 2002, 18, 5205-5212; Yee, C. et al. Langmuir, 1999, 15, 7111-7115; Folkers, J. et al. Langmuir, 1995, 11, 813-824] pero presentan diversas desventajas. El documento de Patente WO 2006/080895.

[108] Baldi, Giovanni, Bitossi, Marco, Ricci, Alfredo, Comes Franchini, Mauro, Bonacchi, Daniele, inventores: Colorobbia Italia S.P.A., titular. (...Acidos fosfónicos (R--P(: O)OH₂); Acidos tiosfosfónicos). Us patent C07F9/38, (..que tienen átomos de carbono de grupos hidroxámicos unidos a átomos de hidrógeno o a átomos de carbono acíclicos. Us patent C07C259/06. 2012 Julio 11.

[109] Martin A. Colloids. En su: Physical Pharmacy. 4th edition. U.S.A., Lippincott Williams & Wilkins, 1993: 393-422.

[110] Medina D.; Obtención de conjugados péptidos-nanopartículas metálicas para el desarrollo de una nueva estrategia terapéutica para la enfermedad de Alzheimer, Memoria para optar el título de Químico Farmacéutico, Universidad de Chile, 2006: 4.

[111] Reddy V. Las Nanopartículas de Oro: Sintesis y Aplicaciones, 2006; 11: 1791-1792.

[112] Gannong W. Circulación a través de regiones especiales. En su: Fisiología Médica.. 14^a edición. México, Editorial El manual moderno, 1994: 647-669.

[113] Arimon M. "et al". Fine structure study of A β 1-42 fibrils with atomic force microscopy. FASEB J., doi: 10.1096/fj.04-3137fje, 2005; 19 (7)

[114] Turkevich J; Stevenson P.C.; Hillier J., Nucleation and growth process in synthesis of colloidal gold. Discuss Faraday Soc., 1951; 11: 55-75.

[115] Daniel MC., Astruc D. Gold Nanoparticles: Assembly, supramolecular chemistry, quantum size-related properties, and applications toward biology, catalysis, and nanotechnology. Chem. Rev., 2004; 104 (1): 293-346.

[116] Pong BK; J. Phys. Quím. C, Nuevas penetraciones en el mecanismo del crecimiento de nanopartículas en la reducción del citrato de la sal del oro III, 2007; 111 (17): 6281-6287.

[117] Shipway A.N. "et al". Investigations into the electrostatically induced aggregation of Au nanoparticles. Langmuir, 2000; 16 (23): 8789-8795.

[118] Bohinsky R. Aminoácidos y péptidos. En su: Bioquímica. 5 a edición. U.S.A. Addison-Wesley Iberoamericana, 1991: 63-111.

[119] L. Tsaur y R.M. Fitch., J Colloid Interface Sci., 1987:115-450.

[120] Kreuter, Jörg, Colloidal Drug Delivery Systems. New York: Marcel Dekker Inc., 2002.

[121] Boylan James, C., Encyclopedia of pharmaceutical technology. Segunda edición. New York: Marcel Dekker Inc., 2002.

[122] Donbrow, Max, Microcapsules and Nanoparticles in Medicine and Pharmacy. Boca Raton: CRC Press, 1991.

[123] Chawla, Jugminder S. MMA, Biodegradable poly(e-caprolactone) nanoparticles for tumor targeted delivery tamoxifen. Inter Journal of Pharm, 2002; 249: 127-138.

[124] Hans AML, M.L., Biodegradable nanoparticles for drug delivery and targeting. Current Options in Solid State and Mat Sci., 2002; 6: 319-327.

[125] Jung, Chul Ha SKY., y Moo Lee Yung, Poly (ethylene oxide), poly (propylene oxide)-poly (ethylene oxide) (Pluronic)/poly (2-caprolactone) (PCL) amphiphilic block copolymeric nanospheres. Preparation and characterization. *Journal of Controlled Release*, 199; 62: 318-392.

[126] Wise, Donald L., *Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology*. New York: Marcel Dekker Inc., 2000.

[127] Leroux, Jean-Christophe, Biodegradable nanoparticles from sustainer release formulations to improved site specific drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 1996; 39: 339-350.

[128] Leroueil-Le, Martine Verger, Preparation and characterization of nanoparticles containing and antihypertensive agent. *European Journal Pharm. Biopharm*, 1998; 46: 137-145.

[129] Hye-Young, K., L. Jun-Young, C. Sung-Wook, J. Yangsoo, y K. Jung-Hyun, Preparation of PLGA nanoparticles containing estrogen by emulsification-diffusion method. *Colloids and Surfaces a Physicochem Engin Aspects*, 2001; 182: 123-130.

[130] Quintanar-G, D., y A. Ganem-Q., Adaptation and optimization of the emulsification-diffusion technique to prepare lipidic nanospheres. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2005; 26: 211-218.

[131] Takeuchi, H. YH., Mucoadhesive nanoparticles systems for peptide drug delivery. *Adv. Drug Del. Rev.*, 2001; 47: 39-54.

[132] Wolfgang, Metchnert KM., Solid Lipid Nanoparticles Production, characterization and applications. *Adv. Drug Del. Rev.*, 2001; 47: 165-196.

[133] Date, Abhijit A., Medha D. Joshi, y V. B. Patravale, Parasitic diseases: Liposomes and polymeric nanoparticles versus lipid nanoparticles. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2007; 59.

[134] Trotta, M., F. Debernardi, y O.Caputo., Preparation of solid lipid nanoparticles by a solvent emulsification-diffusion technique. *International Journal of Pharmaceutics*, 2003; 257: 153-160.

[135] Wissing, S.A., O. Kayser, y R. H. Müller, Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2004; 56: 1257-1272.

[136] Garzon, Ma. Lourdes, Alejandra Hernandez, y Ma. Luisa Vásquez, Preparación de nanopartículas sólidas lípidicas (SLN) y de acarreadores lipídicos nanoestructurados (NLC). *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 2008; 4: 50-66.

[137] Mehnert, W., y K Mäder, Solid lipid nanoparticles. Production, characterization and applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2001; 47: 165-196.

[138] Dunn, Susan E. AGAC, Martin C. Garnett, y Stanley S. Davis, In vitro cell interaction and in vivo biodistribution of poly(lactide-co-glycolide) nanospheres surface modified by poloxamer and poloxamine copolymers. *Journal of Contr Rel*, 1997; 44: 65-76.

[139] Hamidi, M., A. Azadi, y p. Rafiei, Hidrogel nanoparticles in drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2008; 60: 1638-1649.

[140] Bozzola J.J. and Russell L.D., *Electron Microscopy: Principles and Techniques for Biologists*. Ed. Jones and Bartlett. Boston, 1992: 542.

[141] Joshi M., A. Bhattacharyya and S. Wazed Ali., Characterization Techniques for nanotechnology Applications in Textiles. *Indian Journal of Fibre and Textile Research*, 2008; 33: 304-317.

[142] Goodhew P.J., Humphreys F.J., *Electron Microscopy and Analysis*, Edit. Taylor & Francis, London, 1988.

[143] Gardea-Torresdey J.L, Peralta-Videa J.R., Rosa G., Parsons J.G. Phytoremediation of heavy metals and study of the metal coordination by X-ray absorption spectroscopy. *Coordination Chemistry Reviews*, 2005; 249: 1797–1810.

[144] López M.L., Parsons J.G., Peralta Videa J.R, Gardea-Torresdey J.L., An XAS study of the binding and reduction of Au (III) by hop biomass. *Microchemical Journal*, 2005; 81: 50–56.

[145] Jentys, L. Simon, J.A. Lercher., On the Determination of the Location of Metal Clusters Supported on Molecular Sieves by X-ray Absorption Spectroscopy. *Journal of Physics and Chemistry*, 2000; 104: 9411.

[146] Estudio del transporte a través de piel in vivo de triclosán incluido en una dispersión de nanopartículas. Disponible en www.cuautitlan.unam.mx/sitios/lab_tec_farmacia/pd4.swf. Acceso el 2 de Abril del 2014.

[147] Jover Comas, Eric, Bertran Serra, Enric, Canillas Biosca, Adolf, Arteaga Barriel, Oriol, Barroso Boixader, Ferran, inventores; Universidad de Barcelona, titular. Sistema y método de detección y caracterización de nanopartículas. Us patente G01N15/02. Investigación de la dimensión o de la distribución de dimensiones de partículas; G01N15/04, G01N15/10, tienen prioridad por medida de la presión osmótica G01N7/10; por filtración B01D; por tamizado, G01B9/02; Interferómetros B82Y35/00., 2012 Mayo 23.

[148] Angeles-Chavez C., Bokhimi X., Morales A. inventores; Instituto de Física, Universidad Nacional Autónoma de México, titular. Caracterización Química y Estructural de Nanopartículas de Au-Ir: un estudio por HRTEM y HAADFSTEM. Patente 201000017. 2013 Agosto 20.

[149] Hernando A. Nanotecnología y Nanopartículas magnéticas: la Física actual en lucha contra la enfermedad, Rev. R. Acad. Cienc. Exact. Fís. Nat., 2007; 101 (2): 321-327.

[150] Galo I., Investigación en Química de Nanomateriales de la Gerencia Química de la CNEA, UNIVERSIDAD DE CHILE.

[151] Veciana J., Nanomateriales y Nanoquímica, Nanomedicina, 2005: 155.

[152] Jores K., Mehnert W., Bunjes H., Drechsler M., Mäder K., From solid lipid nanoparticles (SLN) to nanospoons. Visions and reality of colloidal lipid dispersions. Controlled release Society, 30th Annual Meeting proceedings, 2003.

[153] Garzón M.L., Hernández A., Vázquez M.L., Villafuerte L., García B. Preparación de nanopartículas sólidas lipídicas (SLN), y de Acarreadores lipídicos nanoestructurados (NLC). Revista mexicana de Ciencias Farmacéuticas, 2008; 39(4):50-71.

[154] Infante R., Cáncer, Los Polímeros en Medicina, 2004.

[155] Hyslop G, P.H. Piecing together Alzheimer's. Sci. Am., 2000; 283 (6): 76-83.

[156] Kisilevsky R., Fraser P.E. A β amyloidogenesis: unique, or variation on a systemic theme? Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol., 1997; 32 (5): 361-404.

[157] Small G. W., The pathogenesis of Alzheimer's disease. J. Clin. Psychiatry., 1998; 59 (9): 7-14.

[158] Findeis M. A., Peptide inhibitors of beta amyloid aggregation. Curr. Top. Med. Chem., 2002; 2: 417-423.

[159] Caughey B., Lansbury P.T. Protofibrils, pores, fibrils, and neurodegeneration: separating the responsible protein aggregates from the innocent bystanders. *J. Annu. Rev. Neurosci.*, 2003; 26: 267.

[160] Arimon M. "et al"., Fine structure study of A β 1-42 fibrils with atomic force microscopy. *FASEB J.*, doi: 10.1096/fj.04-3137fje, 2005; 19 (7).

[161] Bieler S., Soto C., Beta-Sheet breakers for Alzheimer's disease therapy. *Curr. Drug Targets*, 2004; 5 (6): 553-558.

[162] Ramírez M., Ramírez B. A., Posibles usos de las células madres, *Electron. J. Nanoc. Moletrón*, 2006; 4 (3): 868.

[163] Taboada T., Nuevos materiales nanoestructurados multifuncionales para aplicaciones biomédicas, *Fundación Ramón Areces*, 2007; Oct. 13.

[164] Clavijo D., Grégory A., Mejía O., Ruiz A., García A., Torrado D., Mejía M., La frontera entre la Biología molecular y la Nanotecnología: impacto en la Medicina, *Iatreia*, 2007; 20 (3): 297-298.

[165] Kumar A, Kumar VP, Ajayan PM, John G., *Nature Materials*, 2008: 236.

[166] Thomas TP, Ye JY, Chang YC, Kotlyar A, Cao Z, Majoros IJ, Norris TB, Baker JR., Investigation of tumor cell targeting of a dendrimer nanoparticle using a double-clad optical fiber probe. *J Biomed Opt*, 2008; 13:14-24.

[167] Usos de la Plata, Disponible en: <http://blog-static.hola.com/farmaciameritxell/2012/11/la-plata-tambien-es-util-en-medicina-y-en-cosmetica.html>. Acceso el 2 de Enero del 2014.

[168] Loo Ch, Lin A, Hirsch L, et al., *Technology in Cancer Research and Treatment*. Adenine Press, Inc., 2004; 3: 33.

[169] Bogunia-Kubik K, Sugisaka M., From molecular biology to nanotechnology and nanomedicine. *Biosystems*, 2002; 65: 123-138.

[170] Zamboni WC, Gervais AC, Egorin MJ, Schellens JH, Zuhowski EG, Pluim D, et al. Systemic and tumor disposition of platinum after administration of cisplatin or STEALTH liposomal-cisplatin formulations (SPI-077 and SPI-077 B103) in a preclinical tumor model of melanoma. *Cancer Chemother Pharmacol* 2004; 53:329-336.

[171] Donald PR, Sirgel FA, Venter A, Smit E, Parkin DP, Van de Wal BW, et al. The early bactericidal activity of a lowclearance liposomal amikacin in pulmonary tuberculosis. *J Antimicrob Chemother* 2001; 48: 877-880.

[172] Reubi JC. In vitro identification of vasoactive intestinal peptide receptors in human tumors: implications for tumor imaging. *J Nucl Med* 1995; 36: 1846-1853.

[173] Sahoo SK, Labhasetwar V., Nanotech approaches to drug delivery and imaging. *Drug Discov Today* 2003; 8: 1112-1120.

[174] Voura EB, Jaiswal JK, Mattoussi H, Simon SM., Tracking metastatic tumor cell extravasation with quantum dot nanocrystals and fluorescence emissionscanning microscopy. *Nat Med*, 2004; 10: 993-998.

[175] Ozkan M. Quantum dots and other nanoparticles: what can they offer to drug discovery? *Drug Discov Today*, 2005; 9: 1065-1071.

[176] Sako Y., Imaging single molecules in living cells for systems biology. *Mol Syst Biol*, 2006; 2: 56.

[177] Pinto Reis C, Neufeld RJ, Ribeiro AJ, Veiga F., Nanoencapsulation II. Biomedical applications and current status of peptide and protein nanoparticulate delivery systems. *Nanomedicine*, 2006; 2: 53-65.

- [178] Koo OM, Rubinstein I, Onyuksel H., Role of nanotechnology in targeted drug delivery and imaging: a concise review. *Nanomedicine*, 2005; 1: 193-212.
- [179] Junping W, Takayama K, Nagai T, Maitani Y., Pharmacokinetics and antitumor effects of vincristine carried by microemulsions composed of PEG-lipid, oleic acid, vitamin E and cholesterol. *Int J Pharm*, 2003; 251: 13-21.
- [180] Baker JR., The synthesis and testing of anticancer therapeutic nanodevices. *Biomed Microdevices*, 2001; 3: 59-67.
- [181] Cloninger MJ., Biological applications of dendrimers. *Curr Opin Chem Biol*, 2002; 6: 742-748.
- [182] Torrado, J. J., Cadórniga, R., *Vectorización, CIF*, 1989; 8: 242.
- [183] Torrado, J. J., Cadórniga, R., *Farm. Clin.*, 1989; 6: 724.
- [184] Sato, T., Kanke, M., Schroeder, H. G., DeLuca, P. P., *Pharm. Res.*, 1988; 5: 21-30.
- [185] Wood, R. W., Li, V. H. K., Kreuter, J., Robinson, J. R., *Int. J. Pharm.*, 1985; 23: 175.
- [186] Yoshikawa, H., Nakao, Y., Takada, K., Muranishi, S., Wada, R. T., Tabata, Y., Hyon, S. H., Ikada, Y., *Chem. Pharm. Bull.*, 1989; 37: 802.
- [187] Sánchez, A., Vila-Jato, J. L., Alonso, M. J., *Int. J. Pharm.*, 1993; 99: 263.
- [188] Pavanetto, F., Conti, B., Genta, I., Giunchedi, P., *Int. J. Pharm.*, 1992; 84: 151.
- [189] Dubemet, C., Benoit, J. P., Couarraze, G., Duchène, D., *Int. J. Pharm.*, 1987; 365: 145.

[190] Eldrige, J. H., Staas, J. K., Meulbrock, J. A., McGhee, J. R., Tice, T. R., Gilley, R. M., *Mol. Immunol.*, 1991; 28: 287.

[191] Hacia los Nanomedicamentos Inteligentes. Disponible en: <http://www.elmundo.es-elmundo-2011-08-05-nanotecnologia-1312543351.html>. Acceso el 3 de Enero del 2014.

[192] Nishikawa y col. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2005; 4, 581-593.

[193] Vila J., *Nanotecnología Farmacéutica: Una Galénica Emergente*, 9 de marzo de 2006.

[194] Fármacos que hablan de tú a tú con las células. Disponible en: www.elmundo.es-elmundo-2010-05-17-portada-1274079724.html. Acceso el 3 de Enero del 2014.

[195] Lai F., Wissing, S. A., Müller R. H., Fadda A. M., *Artemisia arborescens L Essential Oil–Loaded Solid Lipid Nanoparticles for Potential Agricultural Application: Preparation and Characterization. AAPS PharmSciTech.*, 2006; 7 (1): Artículo 2. DOI: 10.1208/pt070102.

[196] Asasutjarit R., Lorenzen S.I., Sirivichayakul S., Ruxrungtham K., Ruktanonchai U., Ritthidej G.C., Effect of solid lipid nanoparticles formulation compositions on their size, zeta potential and potential for in vitro pHIS-HIV_Hugag transfection. *Pharmaceutical Research*, 2007; 24(6):1098-1107.

[197] Jores K., Mehnert W., Bunjes H., Drechsler M., Mäder K., From solid lipid nanoparticles (SLN) to nanospoons. Visions and reality of colloidal lipid dispersions. *Controlled release Society, 30th Annual Meeting proceedings*, 2003.

[198] Béduneau A., Saulnier P., Benoit J.P., Active targeting of brain tumors using nanocarriers. *Biomaterials*, 2007; 28: 4947–4967.

[199] Yang S.C., Zhu J.B., Preparation and characterization of camptothecin solid lipid nanoparticles. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 2002; 28(3):265-274.

[200] Reddy L.H, Vivek K., Bakshi N., Murthy R.S.R., Tamoxifen citrate loaded solid lipid nanoparticles (SLN): preparation, characterization, in vitro drug release and pharmacokinetic evaluation. *Pharmaceutical Development Technology*, 2006; 11:167-177.

[201] Yoncheva K., Vandervoort J., Ludwig A., Influence of process parameters of highpressure emulsification method on the properties of pilocarpine-loaded nanoparticles. *Journal of Microencapsulation*, 2003; 20(4):449-458.

[202] Souto E.B., Wissing S.A., Barbosa C.M., Müller R.H., Development of a controlled release formulation based on SLN and NLC for topical clotrimazole delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 2004; 278:71-77.

[203] Venkateswarlu V., Manjunath K., Preparation, characterization and in vitro release kinetics of clozapina solid lipid nanoparticles. *Journal of Controlled Release*, 2004; 95:627-638.

[204] Hsu C-H, Cui Z, Mumper R.J., Jay M., Preparation and Characterization of Novel Coenzyme Q10 Nanoparticles Engineered from Microemulsion Precursors. *AAPS PharmSciTech*, 2003; 4(3): 32.

[205] Cengiz E., Wissing S. A., Müller R. H., Yazan Y., Sunblocking efficiency of various TiO₂-loaded solid lipid nanoparticle formulations. *International Journal of Cosmetic Science*, 2006; 28: 371–378.

[206] Hitzman C. J., Elmquist W. F., Wiedmann T. S., Development of a Respirable, Sustained Release Microcarrier for 5-Fluorouracil II: In Vitro and In Vivo Optimization of Lipid Coated Nanoparticles. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2006; 95 (5), 1127-1143.

[207] Casadei M-A., Cerreto F., Cesa S., Giannuzzo M., Feeney M., Marianecchi C., Paolicelli P., Solid lipid nanoparticles incorporated in dextran hydrogeles: a new drug delivery system for oral formulations. *International Journal of Pharmaceutics*, 2006; 325:140-146.

[208] Liu J., Gong, T., Wang Ch., Zhong Z., Zhang Z., Solid lipid nanoparticles loaded with insulin by sodium cholate-phosphatidylcholine-based mixed micelles: Preparation and characterization. *International Journal of Pharmaceutics*, 2007 (b); 340:153–162.

[209] Liu J., Hu W., Chen H., Ni Q., Xu H., Yang X., Isotretinoin-loaded solid lipid nanoparticles with skin targeting for topical delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 2007 (a); 328:191-195.

[210] Souto E.B., Müller R.H., SLN and NLC for topical delivery of ketoconazole. *Journal of Microencapsulation*, 2005; 22(5): 501-510.

[211] Hou D. Z., Xie Ch. S., Huang K. J., Zhu Ch. H., The production and characteristics of solid lipid nanoparticles (SLNs). *Biomaterials*, 2003; 24:1781–1785.

[212] Iscan Y., Wissing S.A., Hekimoglu S., Muller, R.H., Solid lipid nanoparticles (SLN) for topical drugdelivery: incorporation of the lipophilic drugs N, Ndiethyl-m-toluamide and vitamin K. *Pharmazie*, 2005; 60:905–909.

[213] Souto E.B., Anselmi C., Centini M., Müller R.H., Preparation and characterization of ndodecyl-ferulate-loaded solid lipid nanoparticles (SLN). *International Journal of Pharmaceutics*, 2005; 295:261-268.

[214] Wissing S.A., Müller R.H., Solid lipid nanoparticles as carrier for sunscreens: in vitro release and in vivo skin penetration. *Journal of Controlled Release*, 2002; 81:225–233.

[215] Müller R.H., Keck C.M., Challenges and solutions for the delivery of biotech drugs: a review of drug nanocrystal technology and lipid nanoparticles. *Journal of biotechnology*, 2004; 113:151-170.

[216] Hu F.Q., Hong Y., Yuan H., Preparation and characterization of solid lipid nanoparticles containing peptide. *International Journal of Pharmaceutics*, 2004; 273:29-35.

[217] Wissing SA., Mäder K., Müller, R.H., Solid lipidnanopartices (SLN) as a novel carrier system offering prolonged release of the perfume Allure (Chanel). In *Proc. Int. Symp. Control Rel Bioact Mater*, 2000; 27:311–312.

[218] Hu LD., Tang X., Cui F.D., Preparation of solid lipid nanoparticles loaded with all-trans retinoic acid and their evaluation in vitro and in vivo. *Yao Xue Xue Bao*, 2005; 40:71–75.

[219] Jee J.P., Lim S.J., Park J.S., Kim C.K. Stabilization of all-trans retinol by loading lipophilic antioxidants in solid lipid nanoparticles. *Eur.Pharm.Biopharm*, 2006; 63:134–139.

[220] Mehnert W., Mäder K., Solid lipid nanoparticles. Production, characterization and applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2001; 47(23):165-196.

[221] Mei Z., Wu Q., Hu S., Li X., Triptolide Loaded Solid Lipid Nanoparticle Hydrogel for Topical Application. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 2005; 31:161–168.

[222] Pople P. V., Singh K. K., Development and evaluation of topical formulation containing solid lipid nanoparticles of vitamin A. *AAPS PharmSciTech*, 2006; 7(4).

[223] Parhi P., Mohanty, C., Sahoo, S. K., Nanotechnology-based combinational drug delivery: an emerging approach for cancer therapy. *Drug Discov.*, 2012; 17: 1044-1052.

[224] Sánchez A., Nanotecnología para aumentar el efecto de los fármacos, *MoleQla Nanotecnológica*, 2011; 3: 73.

[225] Bhatia et. Al. Desarrollan Nanopartículas Dirigidas por Control Remoto para Curar Tumores, 2007. Disponible en: [Tendencias Tecnológicas](#).

[226] Castro O., Desarrollan Nanopartículas Dirigidas por Control Remoto para Curar Tumores, *Revista electrónica de Ciencia, Tecnología, Sociedad y Cultura*. ISSN 2174-6850, *Tendencias tecnológicas* 21.

[227] Llabot M., Palma D., Allemandi A., Péptidos y proteínas, *NUESTRA Farmacia*, 2008; 53: 40-41.

[228] Lee B. D. A., Wetzel A. W., Meixner W., Baker J. R., Structural MolecularDynamic Studies on Therapeutically-Applied Polyamidoamine Dendrimers:The Effects of pH and Surface Derivatization Group. *Macromolecules*, 2002; 35.

[229] Rollot, J. M., Couvreur, P., Roblot-Treupel, L., Puisieux, F., *J. Pharm. Sci*, 1986; 75: 361-364.

[230] Davis, S. S., Illum, L., *Colloidal Delivery Systems-Opportunities and challenges. Site-Specific Drug Delivery*, E. Tomlinson, S. S. Davis (Eds), 1986: 93-110.

[231] Duncan, R., Kopekov Rejmanova, P., Strohalm, J., Hume, I., Cable, H. C., Pohl, J., Lloyd, B., Kopecek, J., *Br. J.Cancer*, 1987; 55: 165-174.

[232] Endo, N., Umemoto, N., Kato, Y., Takeda, Y., Hara, T., *J. Immunol. Methods*, 1987; 104: 253-258.

[233] Zunino, F., Pratesi, G., Micheloni, A., *J. Control. Rel.*, 1989; 10: 65-73.

[234] Chu, B., Langmuir, 1995; 11: 414-421.

[235] Aplicaciones industriales de la nanotecnología, Proyecto NANO-SME, ESTIIC, Fundación Itma: 30.

[236] Aplicaciones de la Nanotecnología. Disponible en: http://www.euroresidentes.com/Blogs/avances_tecnologicos/2004/08/ejemplos-de-aplicaciones-de-la.htm. Acceso el 2 de Enero del 2014.

[236] Orozco A., Nanotecnología, Innovación Tecnológica y Transformación Social en i-Europ, 2003.

[237] **Laboratorio Nacional de Nanotecnología** Contacto: nanotech@cimav.edu.mx
Centro de Investigación en Materiales Avanzados, S.C.
Miguel de Cervantes 120, Comp. Ind. Chihuahua.
Chihuahua, Chihuahua, México, C.P. 31109
Coordinador: Dr. Francisco Espinosa
Tel. (614) 439 1100.