



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ingeniería

SÍNTESIS Y MODIFICACIÓN ESTRUCTURAL DE FIBRAS DE HIDROXIAPATITA POR EFECTO TÉRMICO PARA SU POTENCIAL APLICACIÓN COMO ACARREADOR DE FÁRMACOS

Opción de titulación
TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Ingeniero en Nanotecnología

Presenta:
Juan Carlos Calderón de la Rosa

Dirigido por:
Dr. Rodrigo Rafael Velázquez Castillo

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
México
Septiembre, 2021



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ingeniería

Licenciatura en Ingeniería en Nanotecnología

SÍNTESIS Y MODIFICACIÓN ESTRUCTURAL DE FIBRAS DE HIDROXIAPATITA POR EFECTO TÉRMICO PARA SU POTENCIAL APLICACIÓN COMO ACARREADOR DE FÁRMACOS

Opción de titulación
TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Ingeniero en Nanotecnología

Presenta:
Juan Carlos Calderón de la Rosa

Dirigido por:
Dr. Rodrigo Rafael Velázquez Castillo

SINODALES

Dr. Rodrigo Rafael Velázquez Castillo
Presidente

Dr. Héctor Paul Reyes Pool
Secretario

Dr. Rufino Nava Mendoza
Vocal

Dr. Eric Mauricio Rivera Muñoz
Suplente

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
México
Septiembre, 2021

RESUMEN

En el presente trabajo se estudió y analizó el impacto de distintos tratamientos térmicos en el rango de los 550 a 850 °C aplicados sobre fibras de hidroxiapatita (HAp), un material nanoestructurado con potenciales aplicaciones en la nanomedicina, con la finalidad de obtener una estructura hueca que pueda servir como acarreador en un sistema de liberación controlada de sustancias químicas, en particular fármacos. Esto se llevó a cabo primero sintetizando HAp mediante el método hidrotermal asistido por microondas, el cual permitió la obtención de fibras de HAp con un perfil hexagonal. Posteriormente se realizaron seis diferentes tratamientos térmicos y se seleccionó la mejor muestra para ponerla en contacto con el fármaco modelo, siendo este la Quercetina, un flavonoide de gran interés en el área. Finalmente se analizaron los resultados de este procedimiento experimental, mediante distintas técnicas de caracterización como lo son la difracción de Rayos X, termogravimetría, microscopía electrónica de barrido y espectroscopia infrarroja, para así comprobar el estado final de las nanoestructuras y su interacción con el fármaco. Los resultados arrojaron información relevante en cuanto a la generación del hueco en el interior de las fibras, una elevada estabilidad térmica y gran calidad cristalina. Aunado a esto y como punto crucial en la investigación, se pudo corroborar mediante espectroscopía IR, la interacción de los componentes del sistema HAp-Quercetina.

Palabras clave: Biomaterial, Hidroxiapatita, Nanomedicina, Sistema acarreador de fármacos.

SUMMARY

In the present work, the impact of different thermal treatments in the range of 550 to 850 °C applied on hydroxyapatite fibers (HAp), a nanostructured material with potential applications in nanomedicine, in order to obtain a hollow structure was studied and analyzed. that can serve as a carrier in a controlled release system for chemicals, particularly drugs. This was carried out first by synthesizing HAp using the microwave-assisted hydrothermal method, which allowed obtaining HAp fibers with a hexagonal profile. Subsequently, six different thermal treatments were carried out and the best sample was selected to put it in contact with the model drug, this being Quercetin, a flavonoid of great interest in the area. Finally, the results of this experimental procedure were analyzed, using different characterization techniques such as X-ray diffraction, thermogravimetry, scanning electron microscopy and infrared spectroscopy, in order to verify the final state of the nanostructures and their interaction with the drug. The results yielded relevant information regarding the generation of the gap inside the fibers, high thermal stability and high crystalline quality. In addition to this and as a crucial point in the investigation, it was possible to corroborate by means of IR spectroscopy, the interaction of the components of the HAp-Quercetin system.

Key words: Biomaterial, Hydroxyapatite, Nanomedicine, Drug carrier system

Dedicación

Esta tesis está dedicada a mis padres, que son los pilares fundamentales de mi vida y por quienes soy como soy a día de hoy. A pesar de que ambos están lejos del mundo de la nanotecnología, ellos han sido quienes me han enseñado las lecciones más valiosas como ser humano, estudiante y ahora ingeniero en nanotecnología.

A mis hermanos, con quienes tengo la dicha de compartir mi vida y quienes me han apoyado en todo momento para perseguir mis sueños.

A mis familiares y amigos, es un gran tesoro el contar con ustedes, con su motivación y el recuerdo de todos los buenos momentos a su lado.

AGRADECIMIENTOS

A mi asesor el Dr. Rodrigo Velázquez Castillo, que me guío, aconsejó, instruyó y ayudó durante mi licenciatura. Gracias por la oportunidad de permitirme trabajar en un área tan interesante como lo es la de los biomateriales y a su vez incursionar en el área de la nanomedicina con este trabajo de investigación.

Al Dr. Hector Paul Reyes Pool, mi asesor de tesis, gracias por despertar en mi el interés por el área de la nanomedicina por medio de trasmisirme su pasión por la misma, sus consejos y puntos de vista que fortalecieron esta tesis.

A mi comité tutorial (Dr. Rodrigo, Dr. Héctor, Dr. Rufino y Dr. Eric) por todo su tiempo, sabiduría y comentarios.

Al Dr. Eric Rivera Muñoz y la Dra. Carmen L. Peza Ledesma por recibirmee abiertamente en el Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada (CFATA) – UNAM para hacer uso de sus instalaciones y equipos de caracterización, los cuales fueron esenciales para que se pudiera llevar a cabo este proyecto.

A la Dra. Carmen L. Peza por su tiempo y su experiencia en los análisis de Microscopía Electrónica de Barrido y Espectroscopía de Dispersión de Energía.

Al Dr. Fernando Morelos por su tiempo y apoyo con la caracterización de difracción de Rayos X.

Tabla de contenido

1.	INTRODUCCIÓN	12
1.1.	JUSTIFICACIÓN	12
1.2.	DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA	13
1.3.	HIPÓTESIS	13
1.4.	OBJETIVOS.....	14
1.4.1.	Objetivo General	14
1.4.2.	Objetivos Específicos	14
1.5.	ESTRUCTURA DE LA TESIS	15
2.	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	15
2.1.	Historia de los biomateriales	15
2.2.	Tipos de biomateriales	17
2.3.	Biomateriales cerámicos	18
2.4.	Hidroxiapatita	18
2.4.1.	Estructura HAp	20
2.5.	Hidroxiapatita como sistema de liberación controlada de fármacos....	24
2.6.	Quercetina	25
2.7.	Estado del arte	28
3.	METODOLOGÍA.....	29
3.1.	SÍNTESIS DE HAP	29
3.2.	CARACTERIZACIÓN DE LAS FIBRAS DE HAP.....	30
3.2.1.	Difracción de Rayos X	30
3.2.2.	Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)	30
3.2.3.	Análisis termogravimétrico (TGA)	30
3.3.	TRATAMIENTO TÉRMICO DE HAP	31
3.3.1.	Difracción de Rayos X	32
3.3.2.	Análisis termogravimétrico (TGA)	32
3.3.3.	Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)	32
3.4.	SÍNTESIS SISTEMA HAP-QUERCETINA	32

3.5.	CARACTERIZACIÓN DEL SISTEMA HAP-QUERCETINA.....	33
3.5.1.	IR.....	33
4.	RESULTADOS.....	34
4.1.	DIFRACCIÓN DE RAYOS X.....	34
4.2.	MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO.....	37
4.3.	TERMOGRAVIMETRÍA	42
4.4.	ESPECTROSCOPÍA INFRARROJA CON TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR).....	45
5.	CONCLUSIONES	48
	REFERENCIAS	49

Dirección General de Bibliotecas UACQ

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla

Tabla 2-1. Distintas aplicaciones de biomateriales reportadas en la literatura.....	17
Tabla 2-2. Distintos métodos de síntesis para la obtención de hidroxiapatita.....	19
Tabla 3-1. Tratamientos térmicos realizados durante la investigación.	31
Tabla 4-1. Ganancia de masa en las muestras tratadas térmicamente.	45

Dirección General de Bibliotecas UJAQ

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura

Figura 1.1 Representación gráfica de cómo se forma el perfil hexagonal en las fibras de HAp utilizando lápices que a su vez tienen sección transversal hexagonal.....	14
Figura 2.1 Representación geométrica de los dos tipos de calcio presentes en la hidroxiapatita.....	20
Figura 2.2 Representación geométrica de los grupos fosfato e hidroxilo.....	21
Figura 2.3 Representación geométrica superior y lateral de la estructura cristalina de la HAp. Modificado de Campa et al., 2007.....	22
Figura 2.4 Representación geométrica de la malla hexagonal y el acople de los grupos fosfato. Modificado de Campa et al., 2007.....	22
Figura 2.5 Apilamiento de los prismas trigonales triapuntados correspondientes a calcio tipo 1. Modificado de Campa et al., 2007.....	23
Figura 2.6 Representación del arreglo en conjunto de toda la estructura y su simetría hexagonal. Modificado de Campa et al., 2007.....	23
Figura 2.7 Clasificación de los distintos grupos de flavonoides presentes en la naturaleza.....	26
Figura 2.8 Estructura molecular de la quercetina.....	26
Figura 3.1 Gráfica de tratamiento térmico a las fibras de HAp (ejemplo).....	31
Figura 3.2 Muestra recolectada del sistema HAp-Qrc (color grisáceo ligeramente teñido de amarillo).....	33
Figura 4.1 Difractogramas correspondientes a las fibras de HAp obtenidas por el método hidrotermal asistido por microondas (arriba) y HAp comercial (Sigma-Aldrich) (abajo).....	34
Figura 4.2 Comparación de los difractogramas obtenidos para los distintos tratamientos térmicos de fibras de HAp.....	35
Figura 4.3 Micrografía de SEM en la que se muestran las fibras de HAp obtenidas por el método hidrotermal asistido por microondas (a) y HAp comercial (b).....	37

Figura 4.4 Micrografías de SEM correspondientes al tratamiento térmico de 550 °C durante 2 horas de las fibras de HAp.....	38
Figura 4.5 Micrografías de SEM correspondientes al tratamiento térmico de 550 °C durante 3 horas de las fibras de HAp.....	39
Figura 4.6 Micrografías de SEM correspondientes al tratamiento térmico de 600 °C durante 1 hora de las fibras de HAp.	39
Figura 4.7 Micrografías de SEM correspondientes al tratamiento térmico de 600 °C durante 2 horas de las fibras de HAp.....	40
Figura 4.8 Micrografías de SEM correspondientes al tratamiento térmico de 750 °C durante 1.5 horas de las fibras de HAp.....	41
Figura 4.9 Micrografías de SEM correspondientes al tratamiento térmico de 850 °C durante 2 horas de las fibras de HAp.....	41
Figura 4.10 Pérdida de masa (%) frente a la temperatura para HAp sintética..	42
Figura 4.11 Pérdida de masa (%) frente a la temperatura para Quercetina.....	43
Figura 4.12 Pérdida de masa (%) frente a la temperatura para HAp debido a los distintos tratamientos térmicos efectuados.....	44
Figura 4.13 Comparación de espectros de infrarrojo para HAp sintética, Quercetina, HAp tratada térmicamente y el sistema HApTT-Quercetina, de abajo hacia arriba respectivamente.....	46

1. INTRODUCCIÓN

1.1. JUSTIFICACIÓN

La medicina moderna requiere cada vez más de tratamientos y métodos de diagnóstico más eficientes, certeros y fáciles de hacer. Ante esta demanda por ofrecer tratamientos más a la vanguardia y que permitan mejorar la calidad de vida de los pacientes que reciben dosis regulares de fármacos, y que por tanto, estén expuestos a aflicciones derivadas de esto, principalmente la toxicidad sistemática (Pazhayattil & Shirali, 2014), surge la necesidad de proponer sistemas de liberación controlada de fármacos que sean sencillos de elaborar, selectivos, que puedan acarrear el mayor número posible de sustancias y que al final, el recipiente acarreador sea fácilmente procesable por el cuerpo humano y no genere efectos secundarios en él. De esta necesidad surge la idea de emplear nanofibras de hidroxiapatita (HAp) tratada térmicamente como un potencial bioacarreador. La afinidad de la HAp con varios productos farmacéuticos y su fácil metabolización por el cuerpo humano (Ye, Guo, Zhang & He, 2009), lo hacen un candidato ideal para esta aplicación.

Adicional a esto se menciona la implicación que puede significar, económicamente hablando, hacia el bolsillo de los pacientes o de las instituciones de salud encargadas de cubrir estos gastos necesarios, ya que cuando se habla de liberación controlada mediante sistemas nanométricos se consideran idealmente sistemas de bajo costo comparados con los que se cuenta actualmente y a su vez, el uso de estos sistemas también implica una mayor biodisponibilidad del fármaco, lo que tiene como consecuencia que no será necesario estar recibiendo grandes cantidades del mismo para satisfacer la dosis terapéutica necesaria (Vega-Vásquez, Mosier & Irudayaraj, 2020).

Se busca y desea lograr concebir el sistema acarreador propuesto de tal manera que sea posible explotar una serie de características clave que ayuden a cumplir con los objetivos planteados, entre las que destacan: el poseer una alta especificidad hacia ciertos tejidos o áreas dentro del organismo, un sistema que sea biológicamente activo, con capacidad de carga y una buena interacción entre el excipiente y el cargo; resumiendo esto en contar con un recipiente que permita transportar y liberar sustancias en el tejido blanco de la manera más eficiente posible.

1.2. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

Actualmente nos encontramos en la era de la medicina moderna, sin embargo, se cuenta con sistemas poco “desarrollados”, es decir, sistemas acarreadores de fármacos que no poseen una alta selectividad, y por otra parte, no todos son capaces de ser asimilados o metabolizados por el organismo humano y por supuesto, con efectos secundarios mínimos o nulos, y que cumplan de forma eficiente, su función como un vehículo de carga de fármacos.

Resulta indispensable satisfacer esta necesidad de sistemas novedosos y con ventajas únicas para el tratamiento de afecciones o enfermedades que atañen a la sociedad. Por ello, en el presente trabajo se propone el uso de las fibras de HAp nanoestructurada como acarreadores de fármacos. La HAp tiene mucha afinidad con un número considerable de productos farmacéuticos, es biocompatible y como posee una composición química similar a la fase inorgánica presente en el tejido óseo humano, es fácil de procesar y sus iones constituyentes pueden ser reaprovechados por el cuerpo humano. Aunado a esto, la cantidad de información reportada en la literatura haciendo uso de fibras huecas de HAp para acarrear fármacos en su interior es limitada, por lo que se esperaría generar una nueva posibilidad con este sistema, usando Quercetina como biomolécula modelo para identificar las condiciones de interacción con la HAp y analizar su liberación utilizando ensayos *in vitro*.

1.3. HIPÓTESIS

Como se ha reportado en trabajos previos del grupo de investigación (Rivera-Muñoz, 2018; Alanís-Gómez et al., 2016), las fibras de HAp están formadas por un conjunto de nanofibras, estas nanofibras tienen una sección transversal hexagonal, y al unirse, transfieren dicho perfil hexagonal a las fibras, como un conjunto de lápices [**Figura 1**]. A través de tratamientos térmicos, se buscará que las nanofibras del centro de la estructura salgan y se liberen dejando un hueco en el centro, el cual será utilizado como recipiente para los fármacos. La afinidad de la HAp con algunos productos farmacéuticos hará posible que sean contenidos y transportados por el recipiente hecho de la fibra hueca.



Figura 1.1 Representación gráfica de cómo se forma el perfil hexagonal en las fibras de HAp utilizando lápices que a su vez tienen sección transversal hexagonal.

Nota. Tomada de: DHgate. (<https://es.dhgate.com/product/eco-friendly-natural-wood-pencil-hb-black/477998289.html>)

Las condiciones más adecuadas de temperatura y del tiempo del tratamiento térmico, permitirán la obtención de la micro-estructura hueca de las fibras, sin deteriorar la estructura cristalina de la HAp conservando su calidad cristalina y orientación preferencial y evitando también, la aparición de otras fases cristalinas derivadas de la exposición al calor de la HAp.

1.4. OBJETIVOS

1.4.1.*Objetivo General*

Sintetizar y modificar mediante tratamientos térmicos, la micro-estructura de las fibras de hidroxiapatita nanoestructurada para adecuarlas como recipientes para su aplicación potencial como contenedores y para el transporte de sustancias farmacéuticas.

1.4.2.*Objetivos Específicos*

Encontrar las condiciones de temperatura y el tiempo idóneo del tratamiento que permitan desarrollar una metodología para la obtención de la micro-estructura hueca en las fibras de HAp nanoestructurada.

Evaluar que el tratamiento térmico de las fibras de HAp genere un espacio que posteriormente pueda ser aprovechado para acarrear sustancias de nuestro interés.

Evaluar la interacción entre el acarreador (HAp) y la sustancia activa (Quercetina).

Evaluar la velocidad de liberación del fármaco por parte del acarreador.

1.5. ESTRUCTURA DE LA TESIS

En el capítulo siguiente se aborda brevemente la historia en cuanto al surgimiento, desarrollo y uso de los biomateriales; se menciona también la clasificación de los mismos y sus propiedades generales, centrándose finalmente en los biomateriales cerámicos, específicamente, en la hidroxiapatita. Posteriormente se describe este biomaterial de manera detallada, haciendo mención de sus propiedades fisicoquímicas y los métodos para su obtención en el laboratorio. Adicional a esto, se describe también a la quercetina, el fármaco modelo a utilizar. Finalmente se abordan los estudios y aplicaciones existentes de la hidroxiapatita en el área de la nanomedicina como parte de un sistema acarreador de fármacos.

En el capítulo 3 se describe detalladamente el proceso de síntesis de las fibras nanoestructuradas de HAp, así como su posterior tratamiento térmico para generar el material hueco, y la introducción de la droga modelo para formar el sistema acarreador de fármacos. Por otra parte, en el capítulo 4 se detallan los métodos de caracterización utilizados para caracterizar el sistema propuesto.

En el capítulo 5 se lleva a cabo un análisis detallado de los resultados de las diferentes técnicas de caracterización utilizadas tanto en el sistema acarreador de fármacos como en sus componentes individuales, y se puntualizan las conclusiones.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Historia de los biomateriales

Durante los últimos años, el área de los biomateriales ha ido recibiendo una mayor atención por parte de la comunidad científica; sin embargo estos han acompañado a las civilizaciones incluso desde hace mucho tiempo atrás a pesar de que no se les identificara como tales. Sus primeros usos datan desde la civilización egipcia, donde sus antiguos médicos diseñaron prótesis de madera para ayudar a sus pacientes enfermos

(Dorozhkin, 2013). También dentro de las primeras aplicaciones de biomateriales se tiene una de ellas que se remonta a la antigua Fenicia, donde para solucionar el problema de dientes sueltos, estos se unían con alambres de oro para sujetar los artificiales a los dientes vecinos. Cada uno de los usos que se les daba siempre llevaba implícito, de acuerdo con el contexto histórico de la época, el anhelo por parte de los seres humanos de mantener en el mejor estado posible su cuerpo y su salud, lo que resultaría en una calidad de vida óptima.

En la década de los años de 1860 un acontecimiento histórico permitió que, lo que en un futuro se conocería como el área de biomateriales, se pudiera desarrollar aún más y de una manera mucho más segura y confiable. La razón fue que en esta década el cirujano británico Joseph Lister desarrolló la primer técnica para cirugía aséptica, permitiendo así que no se presentaran infecciones al trabajar con implantes, contrario a lo que ocurría previamente cuando por ejemplo se implantaban alambres y clavijas hechos principalmente de metales.

A través de la historia es posible percibirse fácilmente de como este tipo de materiales han estado en constante evolución, han generado un gran interés en el ámbito científico y han podido adaptarse a las necesidades humanas, pasando de ser simples sustitutos de algún miembro perdido a incluso tratar de ser lo más semejantes, fisicoquímicamente hablando, al tejido a reemplazar, como por ejemplo lo planteado en el año de 1920 por Albee y Morrison, quienes fueron pioneros en el estudio de compuestos de fosfato de calcio (CaP) y cuyo trabajo experimental consistió en inyectar fosfato tricálcico (TCP) en animales y evaluar su eficacia como sustituto óseo.

No cabe duda de que esta ha sido y es un área llena de ventanas de oportunidad con potenciales aplicaciones en distintas ramas de la ciencia y que a su vez ha despertado un creciente interés a nivel internacional por comprender y tener certeza del alcance de dicha área, para así tratar de establecer un lenguaje común que permita tener una idea colectiva clara en cuanto a la terminología y fundamentos del área de los biomateriales.

La Unión Internacional de Sociedades de Ciencia e Ingeniería de Biomateriales (IUSBSE, por sus siglas en inglés) llegó a un consenso en el año de 2018 para definir el término de biomaterial como “*un material diseñado para tomar una forma que pueda dirigir, a través de interacciones con sistemas vivos, el curso de cualquier procedimiento terapéutico o de diagnóstico*” (Williams & Zhang, 2019). Con anterioridad este término ha sido definido de distintas maneras (Williams, 2009; Ratner & Bryant, 2004), sin embargo,

las distintas definiciones tienen siempre en común el hecho de que este tipo de materiales están orientados hacia organismos vivos y como consecuencia su finalidad es **hacer el bien** y por tanto, no interferir con el correcto funcionamiento del organismo huésped sino que promover exclusivamente el mejoramiento del mismo.

Un concepto realmente interesante que abarca estas dos últimas características y que incluso es posible considerarlo como uno de los pilares dentro del estudio y desarrollo de los biomateriales es el de la biocompatibilidad. Este concepto nos habla sobre la capacidad de un material de generar una respuesta favorable del huésped en una aplicación específica (Williams, 1999), lo que a su vez implica que no genera toxicidad. Por lo tanto, es prudente mencionar que, si se desea incursionar en esta área, forzosamente se deberá de tener esta consideración en mente.

2.2. Tipos de biomateriales

Actualmente el área de los biomateriales es muy amplia y no se ve limitada solo a ciertas aplicaciones en específico, sino al contrario ya que existe un amplio catálogo de materiales para un gran número de aplicaciones, cada una con un enfoque distinto que las otras [Tabla 1].

Tabla 2-1. *Distintas aplicaciones de biomateriales reportadas en la literatura.*

Año	Aplicación	Referencia
2006	Magnesio y sus aleaciones como biomateriales ortopédicos.	(Staiger, Pietak, Huadmai & Dias, 2006)
2008	Andamio inyectable de hidrogel para ingeniería de tejido óseo.	(Kim et al., 2008)
2016	Microesferas porosas de HAp para entrega celular.	(Li et al., 2016)
2019	Películas de quitosano cargadas como material para el vendaje de heridas.	(Colobatiu et al., 2019)
2020	Nanopartículas de alginato-quitosano cargadas como sistemas biocompatible de liberación de fármacos contra cáncer.	(Sohail & Abbas, 2020)

De acuerdo con la fuente de obtención es posible clasificar a los biomateriales dentro de cinco grupos principales, los cuales son: (1) materiales naturales, (2) cerámicos, (3) metales, (4) polímeros y (5) compuestos. Cada una de estas categorías con características únicas que le brindan ventajas y desventajas al compararse unas con otras.

2.3. Biomateriales cerámicos

De manera general la categoría de los cerámicos destaca principalmente debido a que incluye materiales altamente inertes, rígidos, resistentes a la compresión, estables y resistentes contra el calor y la conductividad eléctrica (Hasirci & Hasirci, 2018). Sin embargo, es posible también definir, desde la perspectiva de los biomateriales implantables, el término de biocerámicos. Este grupo de materiales presenta características a destacar como lo es su reactividad superficial que, entre otras cosas, permite a los materiales tener la habilidad de unirse al hueso mediante enlaces químicos y mejorar la regeneración de tejido óseo (Dorozhkin, 2010). Entre los distintos tipos de biocerámicos es posible encontrar al grupo de los ortofosfatos de calcio, el cual está constituido de una amplia lista de materiales, entre los que destaca la hidroxiapatita, biomaterial en el que se centra el presente trabajo.

2.4. Hidroxiapatita

Es posible encontrar y obtener la hidroxiapatita de distintas fuentes, entre las que se encuentran las naturales. Este grupo a su vez se puede subdividir en tres clases: fuentes animales, como por ejemplo el tejido óseo bovino; fuentes acuáticas, como las estrellas de mar o conchas; y finalmente de plantas, encontrándose en la cáscara de las papas o de naranjas. Sin embargo, es necesario aclarar que el principal inconveniente que se presenta al tratar de recuperar la hidroxiapatita de alguna de estas fuentes, son los elementos traza presentes, es decir, se obtiene un producto con un grado de pureza menor. Es por eso que la contraparte de la hidroxiapatita natural, conocida como hidroxiapatita sintética, ha ido recibiendo cada vez más atención para distintas aplicaciones (Mohd Pu'ad, Koshy, Abdullah, Idris & Lee, 2019).

La hidroxiapatita sintética (HAp), con fórmula química $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, es un biomaterial cuya estructura y composición química es similar a la fase inorgánica que forma al tejido óseo natural, además de poseer una estructura cristalina hexagonal con una simetría $P6_3/m$. Entre sus características principales, posee una excelente biocompatibilidad y una alta bioactividad, motivos por los cuales se ha aplicado

ampliamente en campos relacionados con la salud, principalmente como material de reemplazo, en la reconstrucción ósea o implante en la restauración de huesos o dientes dañados (Chetty, Du Preez, MK, YE & RM, 2013).

Debido a las numerosas aplicaciones de la HAp y su gran importancia dentro del área de los biomateriales (Dorozhkin, 2009), se ha buscado la obtención de HAp haciendo uso de distintos métodos de síntesis para obtener el material que mejor se adapte a las necesidades del investigador [Tabla 2]. Resulta interesante destacar que trabajos recientes reportan la obtención de fibras hexagonales de HAp con un alto grado de cristalinidad y una marcada orientación preferencial, la cual tiene un impacto directo en las propiedades mecánicas del material (Alanís-Gómez et al., 2016).

Tabla 2-2. Distintos métodos de síntesis para la obtención de hidroxiapatita.

Nota. Adaptado de “HAp Nanofibers Grown with Crystalline Preferential Orientation and Its Influence in Mechanical Properties of Organic-Inorganic Composite Materials” por Rivera-Muñoz, 2018.

Tipo de reacción	Tiempo de reacción	Características de la reacción	Temperatura de reacción	Morfología obtenida
Sol-gel	24-120 h	Un poco de energía disponible dentro del reactor	25-45 °C	Nanopartículas Nanocables
Reacción de estado sólido	Varias horas	Dificultades de difusión, se requiere de un proceso de calcinación	25-1250 °C	Nanopartículas
Hidrotermal convencional	Varios minutos	Temperatura no homogénea dentro del reactor	170 °C	Nanopartículas Nanocables Nanofibras Nanoplacas

La síntesis mencionada previamente tiene como base el método hidrotermal asistido por microondas, el cual tiene de beneficio una temperatura más homogénea en todo el volumen de la mezcla de reacción, lo cual favorece el control del crecimiento cristalino. Además, es posible comprobar que se produce una alta orientación en las fibras de HAp, morfología de fibra con sección transversal hexagonal y un alto grado de pureza, cualidades que a su vez aportan considerablemente para tener una elevada resistencia

mecánica al compuesto. Todo esto en contraste con los otros métodos de síntesis presentados, los cuales ofrecen un crecimiento heterogéneo con propiedades distintas.

2.4.1. Estructura HAp

De acuerdo a lo previamente mencionado se sabe que la hidroxiapatita está constituida químicamente de calcio, grupos fosfato y grupos hidroxilo. Ahora bien, en esta sección se explica de manera detallada la estructura molecular de este material, exponiendo así la conformación espacial de cada uno de los grupos que lo constituyen y a su vez, se abordan de manera breve las propiedades superficiales que surgen como consecuencia de ello.

Para comenzar es indispensable mencionar que el grupo espacial al que pertenece la hidroxiapatita es al P₆3/m, el cual habla de una estructura cristalina hexagonal, y a su vez deja claro la manera general en que los constituyentes se distribuyen y forman arreglos en el espacio. Con respecto a la disposición de los átomos e iniciando con el calcio, en este material se distinguen dos tipos de átomos de calcio, los cuales para fines prácticos se nombran utilizando la notación Ca(1) y Ca(2), indicando así el calcio tipo 1 y tipo 2 respectivamente. Esta distinción es necesaria ya que, a pesar de ser átomos iguales, están rodeados por diferentes configuraciones de átomos y consecuentemente, sus poliedros de coordinación no son los mismos. Sin embargo, en ambos tipos de calcio, los átomos vecinos son oxígeno. En la **Figura 2.1** se muestra la estructura de los mismos y se observa que al Ca(1) le corresponde la figura geométrica de un prisma trigonal triapuntado, mientras que el Ca(2) está representado por una bipirámide pentagonal.

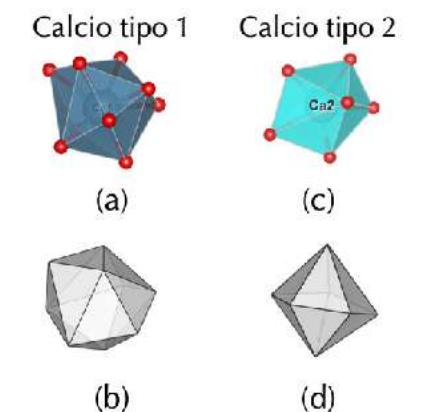


Figura 2.1 Representación geométrica de los dos tipos de calcio presentes en la hidroxiapatita.

Por otra parte, el fósforo se encuentra rodeado de 4 átomos de oxígeno, configuración característica que da lugar al grupo fosfato (PO_4^{-3}), formando un arreglo tetragonal. Finalmente, se encuentra el grupo hidroxilo (OH^-) el cual posee una densidad de carga con simetría casi esférica. En la **Figura 2.2** se muestran ambos arreglos de estos aniones.

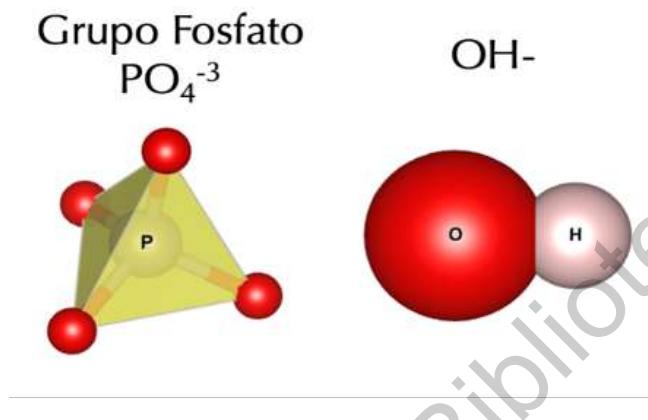


Figura 2.2 Representación geométrica de los grupos fosfato e hidroxilo.

Una vez presentados los distintos componentes de manera individual es necesario ensamblarlos, para así generar la estructura cristalina del sistema. Comenzando con los grupos OH-1, estos se disponen a lo largo de un eje localizado en el centro de la sección circular, y que se desplaza paralelamente a la altura de un cilindro, dichos grupos hidroxilo están orientados alternadamente hacia arriba o hacia abajo con cierta regularidad, tal y como se observa en la **Figura 2.3** (a). Tomando ahora los átomos de Ca(2), estos se disponen formando arreglos hexagonales, se puede observar que estos últimos consisten en la unión de átomos de oxígeno entre vértices de diferentes átomos de Ca(2) y también aristas de un mismo átomo de Ca(2), teniendo así un total de tres átomos de Ca(2) interviniendo en la formación de este arreglo, así como se logra observar en la **Figura 2.3** (b).

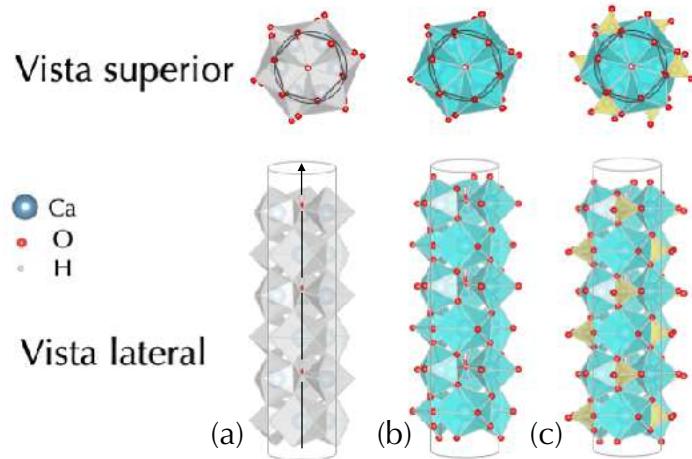


Figura 2.3 Representación geométrica superior y lateral de la estructura cristalina de la HA. Modificado de Campa et al., 2007.

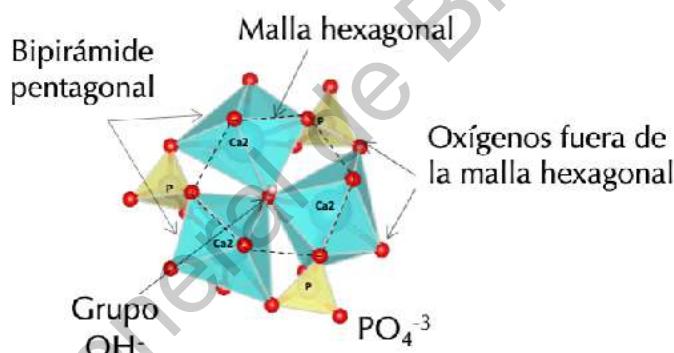


Figura 2.4 Representación geométrica de la malla hexagonal y el acople de los grupos fosfato. Modificado de Campa et al., 2007.

Posteriormente y ubicando ahora los grupos fosfato (PO_4^{3-}) en la estructura, estos se encuentran cumpliendo una función como “puente”, ya que unen dos bipirámides pentagonales de $\text{Ca}(2)$ compartiendo una arista con una y un vértice con la otra. Esta última estructura se muestra en las **Figuras 2.3 (c)** y **2.4**.

Con respecto a los átomos de $\text{Ca}(1)$, que forman prismas trigonales triapuntados, estos se apilan uno sobre otro compartiendo las bases de cada prisma, dicha configuración se observa en la **Figura 2.5**. Aunado a esto, es necesario también mencionar

que una de las aristas de los tetraedros correspondientes a los grupos fosfato, forma parte del borde de una cara que comparten dos primas trigonales triapuntados.

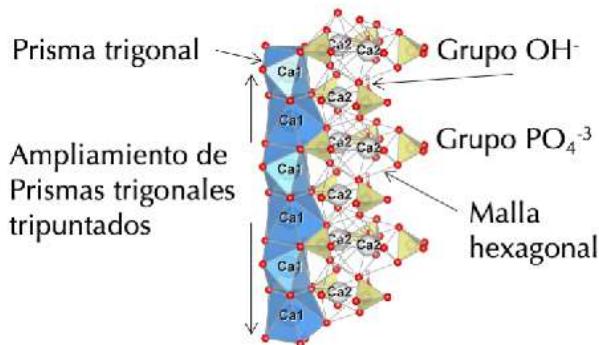


Figura 2.5 Apilamiento de los prismas trigonales triapuntados correspondientes a calcio tipo 1. Modificado de Campa et al., 2007.

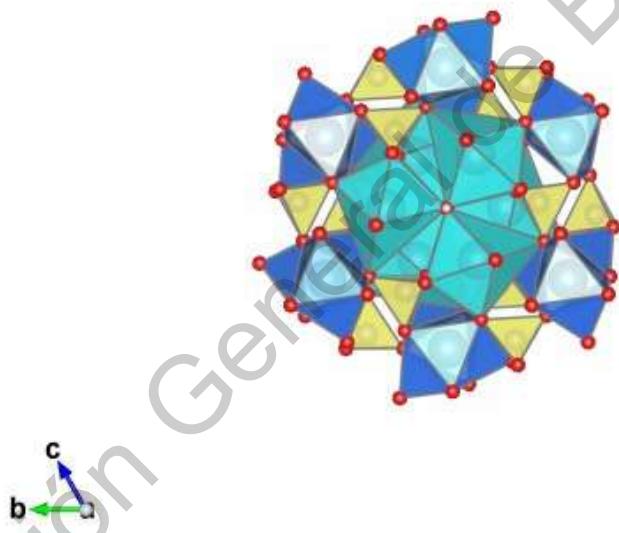


Figura 2.6 Representación del arreglo en conjunto de toda la estructura y su simetría hexagonal. Modificado de Campa et al., 2007.

Finalmente, habiendo ensamblado todos los componentes individuales, en la **Figura 2.6** se muestra la vista superior de la estructura cristalina de la HAp.

2.5. Hidroxiapatita como sistema de liberación controlada de fármacos

Todo el conjunto de características estructurales y químicas que posee la HAp producen las propiedades necesarias para su uso dentro del área de la medicina, y con la llegada de la nanotecnología también se ha ampliado su uso a lo que ahora se conoce como el área de la nanomedicina, que de acuerdo a lo establecido por la Fundación de Ciencia Europea, se entiende a la nanomedicina como *"la ciencia y tecnología para diagnosticar, tratar y prevenir enfermedades y lesiones traumáticas, para aliviar el dolor y para preservar y mejorar la salud humana, utilizando herramientas moleculares y conocimiento molecular del cuerpo humano"* (Kreyling, 2005). Dentro de este campo se encuentra la subdisciplina hacia la cual se orienta este trabajo, la de **sistemas de liberación controlada de fármacos**.

El desarrollo e implemento de sistemas de liberación de fármacos se debe principalmente a la búsqueda constante por contar con materiales aptos para más y mejores sistemas de este tipo, buscando de manera específica sistemas que permitan una liberación controlada. A diferencia de la liberación convencional, con la liberación controlada es posible entregar el componente activo con una tasa controlada con la que este será liberado. Adicional a esto, se han venido desarrollando numerosos sistemas de liberación controlada que además están funcionalizados superficialmente, logrando dirigir de manera específica nuestro sistema hacia el sitio de interés favoreciendo así el tener una alta concentración de lo que se desea entregar, exclusivamente en el tejido afectado. Esto último teniendo un impacto benéfico directo sobre lo que se conoce como biodisponibilidad, que no es más que el grado fraccionario del fármaco que finalmente llega al sitio de interés donde se desea que actúe (Brunton, Chabner, Goodman & Knollmann, 2005).

Como acarreador de fármacos, el uso de la HAp ha destacado principalmente de tres maneras: (1) medicamentos cargados con andamios de HAp implantados, (2) partículas granulares de HAp/nHAp porosa, y (3) partículas de HAp/nHAp con recubrimientos poliméricos. El empleo de la HAp como acarreador de fármacos presenta una serie de ventajas, entre las que destacan las siguientes:

- Tiempos de degradación largos.
- Facilidad para su funcionalización.
- Estabilidad en cuanto a las condiciones de pH y temperatura presentes en el medio.
- Similitud con el tejido blanco, tratándose este último del hueso.

- Versatilidad en cuanto a las posibles morfologías y tamaños que le dotan de propiedades específicas.

Por lo que, a partir del uso de la HAp dentro del área médica, se han ido desarrollando numerosas investigaciones que no están limitadas a un problema en particular, sino al contrario. Por mencionar algunos ejemplos, se encuentra el área de estudio relacionada con el cáncer, un problema que atañe a una gran parte de la población y cuyos tratamientos pueden llegar a ser, además de costosos, altamente agresivos hacia el organismo, y es por tales motivos que se ha buscado generar acarreadores de medicamentos que presenten una mayor eficacia y un menor riesgo. Verma y colaboradores formularon en el año 2020 un sistema basado en nanopartículas de HAp conjugadas con ácido fólico y DOX, un medicamento contra el cáncer, capaces de anclarse a ciertos receptores de las células de cáncer y sugiriendo finalmente que es posible ofrecer un tratamiento focalizado contra distintas líneas celulares de cáncer.

Por citar otro trabajo destacado, en 2010 Ye y colaboradores desarrollaron un sistema basado en nanopartículas de hidroxiapatita huecas en su interior para encapsular vancomicina, un antibiótico comúnmente utilizado contra bacterias como el estafilococo áureo o el neumococo. Para ello diseñaron un método de templado de micelas poliméricas que permitió obtener la estructura deseada y entre cuyos resultados se destaca una relación de carga de vancomicina del 16.01 % peso. Adicional a esto y mediante el uso de ácido cítrico, se formularon también nanotubos de hidroxiapatita huecos en su interior. En ambos casos, las muestras fueron sometidas a un proceso de calcinación que consistió en una temperatura de 300 °C durante 3 horas, lo que favoreció el incremento del hueco en la estructura, por ejemplo en los nanotubos este paso de ser de 13.3 a 15.6 nm, lo cual lógicamente habla de una posibilidad mayor de carga del fármaco utilizado.

Finalmente cabe destacar el gran campo de oportunidad que se tiene para abordar distintas problemáticas actuales desde distintas perspectivas empleando uno de los biomateriales por excelencia: la Hidroxiapatita.

2.6. Quercetina

La Quercetina, es un flavonoide derivado natural, y será el fármaco modelo utilizado para evaluar la potencial capacidad de las fibras de HAp, tratadas térmicamente, como acarreador de sustancias.

El término de flavonoide, designa de manera general a una serie de metabolitos secundarios producidos por plantas. Estos se clasifican comúnmente en seis categorías, de acuerdo a las isomerizaciones y los grupos funcionales que les son adicionados (Li, Yao et al., 2016), y las cuales se muestran en la **Figura 2.7**.



Figura 2.7 Clasificación de los distintos grupos de flavonoides presentes en la naturaleza

Dentro de la categoría de los flavonoles se encuentra la quercetina, la cual ha cobrado una gran relevancia en las últimas décadas debido a sus numerosas propiedades, entre las que destacan el ser antioxidante, antibacterial, antiinflamatorio y antineoplásico (Tang, 2020). Este flavonoide se encuentra en una gran variedad de frutas y verduras como lo son cerezas, mango, cebolla roja y brócoli, entre otras, y por tal motivo es fácilmente accesible para la dieta del ser humano.

El nombre asignado para la quercetina por parte de la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC, por sus siglas en inglés) es 3, 3', 4', 5, 7-pentahidroxiflavona, y esto nos habla de que la quercetina posee grupos OH unidos en las posiciones 3, 5, 7, 3' y 4'. La estructura química de la quercetina se muestra en la **Figura 2.8**.

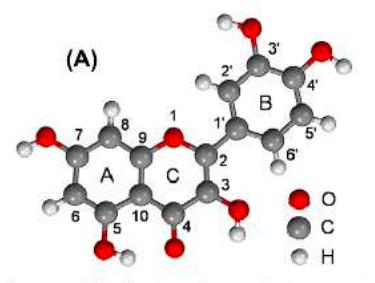


Figura 2.8 Estructura molecular de la quercetina.

Con respecto a sus características físicas y químicas, la quercetina se encuentra en forma de polvo amarillo, es soluble en alcohol y lípidos, mientras que presenta una muy baja solubilidad en agua. Como consecuencia de esto último, las terapias clínicas basadas en el uso de quercetina presentan una baja biodisponibilidad de la misma al ser ingerida de forma oral (Khursheed, Singh, Wadhwa, Gulati & Awasthi, 2020). Por lo que las investigaciones en torno a este compuesto, no se ven limitadas exclusivamente al aprovechamiento de sus propiedades especiales, sino que también a buscar la manera más eficiente, para que una vez dentro del organismo, este pueda ser absorbido y actúe de acuerdo a la aplicación específica que se le desee dar. Por tal motivo, se han reportado en la literatura numerosos trabajos, los cuales se abordarán a continuación, que tienen como finalidad hacer mas accesible este compuesto hacia el organismo.

Vergara-Castañeda y colaboradores formularon un sistema híbrido basado en nanopartículas de sílice conjugadas con quercetina, esto mediante el proceso sol-gel modificado, con la finalidad de aprovechar la actividad biológica del componente orgánico mientras se mantienen las propiedades del compuesto inorgánico. Por medio de observación visual diaria y la técnica de espectroscopia UV-Vis, pudieron corroborar que la solubilidad en agua es distinta para la quercetina libre y el sistema híbrido (SiNPs-QC). Para ello tomaron alícuotas de las dos soluciones de manera diaria durante 15 días, después de estos 15 días la quercetina libre exhibió una disminución en el valor de su absorbancia en un 69%, mientras que la quercetina conjugada a las partículas de silicio solo se redujo en un 33%, esto último indicando una mayor presencia del compuesto orgánico en la solución.

Por otra parte, en el año 2017 Abd-Rabou y colaboradores plantearon en su investigación el uso de nanopartículas poliméricas como vectores para el transporte de diversos compuestos, entre ellos la quercetina, con potencial aplicación en la prevención y tratamiento de cáncer. Partieron de la idea de desarrollar un sistema polimérico basado en ácido poliláctico-co-glicólico (PLGA) decorado con quitosano (CS) y polietilenglicol (PEG), el cual fuera biocompatible y biodegradable, que sirviera para encapsular compuestos orgánicos y dotara de estabilidad química a los mismos. La actividad del sistema formulado fue examinada *in vitro* contra dos líneas celulares de cáncer, siendo estas las de carcinoma hepatocelular (HepG2) y cáncer colorrectal (HCT 116). Los resultados obtenidos mostraron una considerable eficiencia de encapsulación, siendo esta del 70%. A su vez, la estabilidad del sistema fue evaluada mediante las técnicas de dispersión dinámica de luz y de potencial zeta. Finalmente, también fueron evaluados los perfiles de liberación de la quercetina encapsulada a un pH fisiológico de 7.4, donde observaron un claro contraste entre la quercetina libre, la cual fue liberada de manera

total en 1 hora, y la quercetina encapsulada, la cual mostró apenas una liberación del 57% pasadas las primeras 24 horas. Con respecto a la actividad de la quercetina encapsulada contra el crecimiento de las células de cáncer, se observó una actividad mucho mayor en contraste a su forma libre, donde el posible mecanismo de acción no solo indicó muerte celular por apoptosis, sino también por necrosis, dando lugar a futuros estudios mucho más detallados para la evaluación de estos mecanismos y la viabilidad de su aplicación.

Con respecto al uso de materiales basados en fosfatos de calcio (CaP), Patra y colaboradores formularon un sistema basado en nanopartículas de fosfato de calcio (CPNPs) cargadas con quercetina para evaluar sus propiedades antioxidantes y dependientes del pH, entre otras. Ellos partieron del método de precipitación para la generación del sistema e hicieron uso de técnicas fisicoquímicas para su posterior caracterización. Entre ellas, podemos destacar el estudio de su capacidad antioxidante, para lo cual se recurrió a medir su capacidad neutralizante de la toxicidad oxidativa inducida por H_2O_2 en células de neuroblastoma de ratón. Esto último consistió en exponer este tipo de células a distintas concentraciones de peróxido de hidrógeno, H_2O_2 , debido a su fuerte naturaleza oxidante y efectos nocivos para la célula, logrando así estandarizar las concentraciones medias inhibitorias (IC50), siendo esta de 40 μM H_2O_2 en 24 horas. Posteriormente, se dio un tratamiento previo a las células con varias concentraciones de las nanopartículas cargadas con quercetina (0-40 μM), y luego fueron expuestas nuevamente al peróxido de hidrógeno (40 μM). Sin embargo, ahora observaron una muy pequeña cantidad de células muertas, dependiente de la concentración de nanopartículas cargadas con quercetina. Al ser previamente tratadas con una concentración de 30 μM de nanopartículas cargadas con quercetina, se obtuvo la mayor disponibilidad celular pasadas las 24 horas, siendo esta del 85%, demostrando la gran capacidad antioxidante de la quercetina como parte de este sistema.

Destacando así la relevancia actual por la búsqueda de sistemas que permitan que las virtudes de este compuesto activo sean explotadas en su totalidad, es decir, mejorando su solubilidad en agua y tiempo de vida en el organismo, por consiguiente, una mayor biodisponibilidad.

2.7. Estado del arte

Debido a propiedades como la biocompatibilidad, reabsorción y una alta actividad biológica, el estudio y aplicación de la hidroxiapatita en la actualidad es muy amplio. Por tal motivo se ha buscado darle numerosos usos en diversas áreas, entre ellas

el de la nanomedicina, y específicamente se resalta su uso como un sistema acarreador de fármacos, mismo que se estudia en el presente trabajo.

Investigaciones como las realizadas por Mondal, Dorozhkin y Pal, se han encargado de recopilar distintas maneras en que la hidroxiapatita ha sido sintetizada y posteriormente utilizada. Entre ellas se destaca la hidroxiapatita con una morfología de partículas, las cuales posteriormente son funcionalizadas, dotando al sistema de afinidad hacia una molécula o grupo de moléculas en específico, y las cuales son obtenidas comúnmente por el método hidrotermal o el método sol-gel. Este amplio repertorio de rutas de obtención del material deja claro que, a pesar de ser el mismo compuesto el que se busca obtener, existen numerosos métodos de síntesis para hacerlo, y la elección de una opción en particular, solo dependerá de las propiedades fisicoquímicas que se requieran para cierta aplicación. Ahora bien, con respecto al uso de fibras de hidroxiapatita con morfología hexagonal y una marcada orientación preferencial, como las utilizadas en el presente trabajo, se han reportado pocas investigaciones en la literatura, y aún son más escasos los trabajos sobre la modificación de fibras hexagonales para producir una oquedad en su interior por medio de tratamientos térmicos, con el propósito de acarrear sustancias, por ejemplo, fármacos. Por estas razones resulta indispensable plantear nuevas metodologías que permitan explotar al máximo las virtudes de este material en áreas que están a la vanguardia de las necesidades y problemáticas actuales.

3. METODOLOGÍA

3.1. SÍNTESIS DE HAP

Las nanofibras de HAp se sintetizaron mediante el método hidrotermal asistido por microondas, para ello se partió de dos soluciones precursoras; siendo la primera una solución de 300 ml en la que se disolvió ácido glutámico ($C_5H_9NO_4$) y nitrato de calcio ($Ca(NO_3)_2$), y la segunda una solución de 100 ml en la que se disolvió hidróxido de potasio (KOH) y fosfato monoácido de potasio (K_2HPO_4). A continuación, ambas soluciones fueron calentadas a una temperatura de 38 °C y tuvieron agitación magnética constante y por separado durante 1 hora. Posteriormente las dos soluciones fueron mezcladas para formar así una solución final.

Esta última solución se vertió equitativamente sobre ocho tubos de Teflon, los cuales fueron llevados al horno de microondas (Synthos 3000 construido por Anton Paar).

Se ejecutó el programa necesario para la síntesis, el cual emplea una temperatura de 170°C, 8 bar de presión y 45 minutos de tiempo de reacción.

Finalmente, el producto en dispersión se filtró utilizando un papel marca Whatman con un tamaño de poro de 20 μ , y el residuo sólido obtenido se dejó secar a temperatura ambiente por 24 h.

3.2. CARACTERIZACIÓN DE LAS FIBRAS DE HAP

3.2.1. Difracción de Rayos X

Se preparó una muestra del producto obtenido previamente y se hizo uso de la técnica de caracterización de difracción de rayos X por polvos, utilizando un difractómetro de Rayos X D8 Advance construido por Bruker, para el análisis de su estructura cristalina, obteniendo un difractograma de la muestra. Se identificaron las fases cristalinas presentes en la muestra por comparación, utilizando el banco de PDF's (Powder Diffraction File por sus siglas en inglés) provisto por el Centro Internacional de Datos de Difracción (ICDD por sus siglas en inglés).

3.2.2. Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

Se llevaron a cabo observaciones de las muestras de Hap por medio del SEM para analizar su morfología, empleando un microscopio electrónico de barrido Jeol JSM-6060 LV ubicado en el CFATA-UNAM. Para la observación de las muestras en el microscopio electrónico fue necesario fijarlas en un portamuestras cilíndrico de latón, previamente pulido y limpio, utilizando cinta adhesiva de doble cara o pintura de carbón o aluminio. Las condiciones de observación utilizadas en el equipo fueron, un voltaje de aceleración de 15 kV y se emplearon electrones secundarios para la formando las imágenes.

3.2.3. Análisis termogravimétrico (TGA)

Para este estudio se utilizó un calorímetro de análisis Q500, construido por TA Instruments para obtener el perfil de comportamiento térmico, las temperaturas de degradación y las correspondientes pérdidas de masa. La muestra consistió en 3 mg de fibras de HAp y el análisis se llevó a cabo en el rango de temperaturas desde los 25 hasta los 900 °C, utilizando una velocidad de calentamiento de 10 °C / min. en atmósfera de nitrógeno (N_2).

3.3. TRATAMIENTO TÉRMICO DE HAP

Se realizaron una serie de ensayos por separado dentro de una mufla programable (LabTech 12L). El proceso consistió en tomar 0.1 g de fibras HAp y colocarlas dentro de un crisol. Posteriormente se programó la mufla con las rampas de calentamiento y enfriamiento propuestas a lo largo de la investigación, las cuales se muestran en la **Tabla 3**. De manera general, se estableció primero la temperatura que se deseaba alcanzar, para lo cual es conveniente aclarar que todas las temperaturas propuestas fueron alcanzadas mediante rampas de calentamiento de 10°/min. Una vez alcanzada la temperatura propuesta, se estableció el tiempo en que dicha temperatura permanecería constante y finalmente, transcurrido ese tiempo, se dejó enfriar la muestra hasta una temperatura ambiente. Al finalizar este procedimiento se recolectó la muestra para su posterior análisis. Dicho proceso se ejemplifica gráficamente en la **Figura 3.1**.

Tabla 3-1. Tratamientos térmicos realizados durante la investigación.

Ensayo	Temperatura (°C)	Tiempo (Hrs.)
1	850	3
2	750	1.5
3	600	2
4	600	1
5	550	3
6	550	2

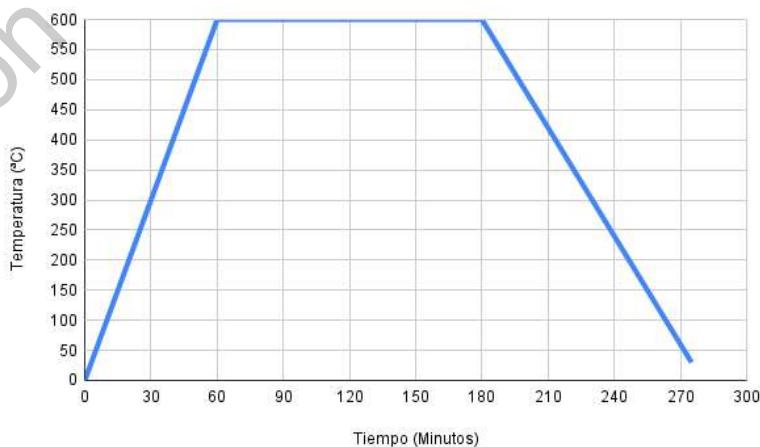


Figura 3.1 Gráfica de tratamiento térmico a las fibras de HAp (ejemplo).

3.3.1.Difracción de Rayos X

Se llevó a cabo un análisis cristalográfico por medio del difractómetro de Rayos X para comprobar que el tratamiento térmico no modificó la estructura cristalina de la HAp, su calidad cristalina y orientación preferencial, así como asegurar que no se transformó en otra u otras fases cristalinas.

Se prepararon las muestras de HAp tratadas térmicamente y se utilizó la técnica de caracterización de difracción de rayos X por polvos utilizando un difractómetro de Rayos X D8 Advance construido por Bruker. Una vez obtenidos los difractogramas de las muestras, se identificaron las fases cristalinas presentes, poniendo especial atención en cualquier posible alteración como consecuencia directa de las altas temperaturas a las que fue sometida la muestra. Esto último por medio de la comparación con un banco de PDF's (Powder Diffraction File por sus siglas en inglés), utilizando la base de datos del Centro Internacional de Datos de Difracción (ICDD por sus siglas en inglés).

3.3.2.Análisis termogravimétrico (TGA)

Para este estudio se utilizó nuevamente el calorímetro para el análisis termogravimétrico Q500 de TA Instruments para corroborar la estabilidad térmica de las fibras modificadas por acción de la temperatura, y a su vez los porcentajes de pérdida de peso. La muestra consistió en 3 mg de fibras de HAp y el análisis fue conducido en el rango de temperaturas desde los 25 hasta los 900 °C, utilizando una velocidad de calentamiento de 10 °C / min. en atmósfera de nitrógeno (N₂).

3.3.3.Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

Se realizaron nuevas observaciones al SEM para analizar una vez más la morfología de las fibras, y de manera específica, observar si se formaron los huecos en las fibras y determinar si no hubo daño estructural en las mismas causado por la exposición a la energía térmica, para ello se utilizó nuevamente un microscopio electrónico de barrido marca Jeol JSM-6060 LV ubicado en el CFATA-UNAM. Para la observación de las muestras tratadas térmicamente, se utilizó el mismo método para preparar las muestras y las mismas condiciones en el microscopio antes mencionadas.

3.4. SÍNTESIS SISTEMA HAP-QUERCETINA

Las fibras de HAp tratadas térmicamente y la quercetina fueron puestas en contacto dentro de una solución de alcohol etílico (C₂H₅OH) al 50%, en radios molares de 10:1 respectivamente. La solución se dejó sobre una plancha de calentamiento y con agitación constante durante 24 horas. Transcurrido este tiempo, la solución se vertió dentro de un tubo Falcon (15 ml) para centrifugadora. Posteriormente, se programó la

centrifugadora (Universal 320, Hettich Zentrifugen) estableciendo el número de revoluciones por minuto en 6,500 y un tiempo de 15 minutos. Terminado este primer ciclo, se retiró el sobrenadante empleando una micropipeta de 1000 uL (ScienceMED) y luego se añadieron 5 ml de agua desionizada al tubo Falcon. Añadidos los 5 ml, se llevó la solución al Vortex (Vortex-Genie 2), donde fue agitada durante 20 segundos y se suspendió nuevamente el precipitado en la solución. La solución se llevó después al segundo ciclo de centrifugado, empleando las mismas condiciones de operación que en el primer ciclo. Finalmente se retiró el sobrenadante de la solución y el precipitado obtenido se introdujo en una estufa de vacío (Thermo Fisher Scientific), donde permaneció 48 horas para su secado. Se recolectó la muestra para su posterior análisis (**Figura 3.2**).



Figura 3.2 Muestra recolectada del sistema HAp-Qrc (color grisáceo ligeramente teñido de amarillo).

3.5. CARACTERIZACIÓN DEL SISTEMA HAP-QUERCETINA

3.5.1. IR

El análisis de las muestras se llevó a cabo por espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) con un filtro de reflectancia atenuada (FTIR-ATR) en un espectrofotómetro Brucker, Vector 33 (EE.UU.). El análisis se llevó a cabo sacando el promedio de 16 escaneos y colocando las muestras previamente molidas directamente en el detector, presionando el polvo mediante un tornillo especial; la limpieza entre análisis se realizó con alcohol etílico.

Con esta técnica analítica se estudió la estructura molecular de la HAp sintetizada por el método hidrotermal asistido por microondas, la HAp tratada térmicamente, la Quercetina por separado y también, el compuesto formado por la unión de ambos y para éste último, se determinaron las posibles interacciones químicas entre las moléculas del potencial vehículo (HAp) y el posible transportado (Quercetina).

4. RESULTADOS

4.1. DIFRACCIÓN DE RAYOS X

Partiendo con uno de los análisis indispensables durante la investigación, los resultados de la caracterización por difracción de rayos X fueron de gran relevancia a la hora de asegurarse de que la materia prima, es decir las fibras de HAp, estuvieran siendo obtenidas de manera óptima y de acuerdo a lo reportado por el grupo de investigación en trabajos anteriores. En la **Figura 4.1** se muestran dos difractogramas, siendo el primero de ellos el correspondiente a la HAp sintetizada en el laboratorio mediante el método hidrotermal asistido por microondas, y el segundo de ellos correspondiente a la HAp de grado comercial (Sigma-Aldrich). Se disponen de tal manera a fin de comparar las principales diferencias estructurales que existen entre ambos. Es evidente que en ambos casos se trata de una estructura cristalina. Sin embargo, características como las reflexiones de Bragg más angostas y mejor definidas, y un menor ruido de fondo en el difractograma sirven como indicadores de la mayor calidad cristalina que presenta la HAp sintetizada en el laboratorio.

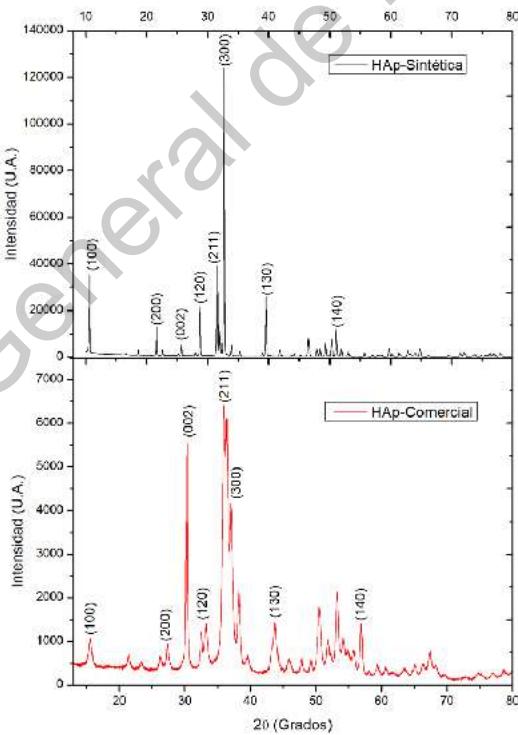


Figura 4.1 Difractogramas correspondientes a las fibras de HAp obtenidas por el método hidrotermal asistido por microondas (arriba) y HAp comercial (Sigma-Aldrich) (abajo).

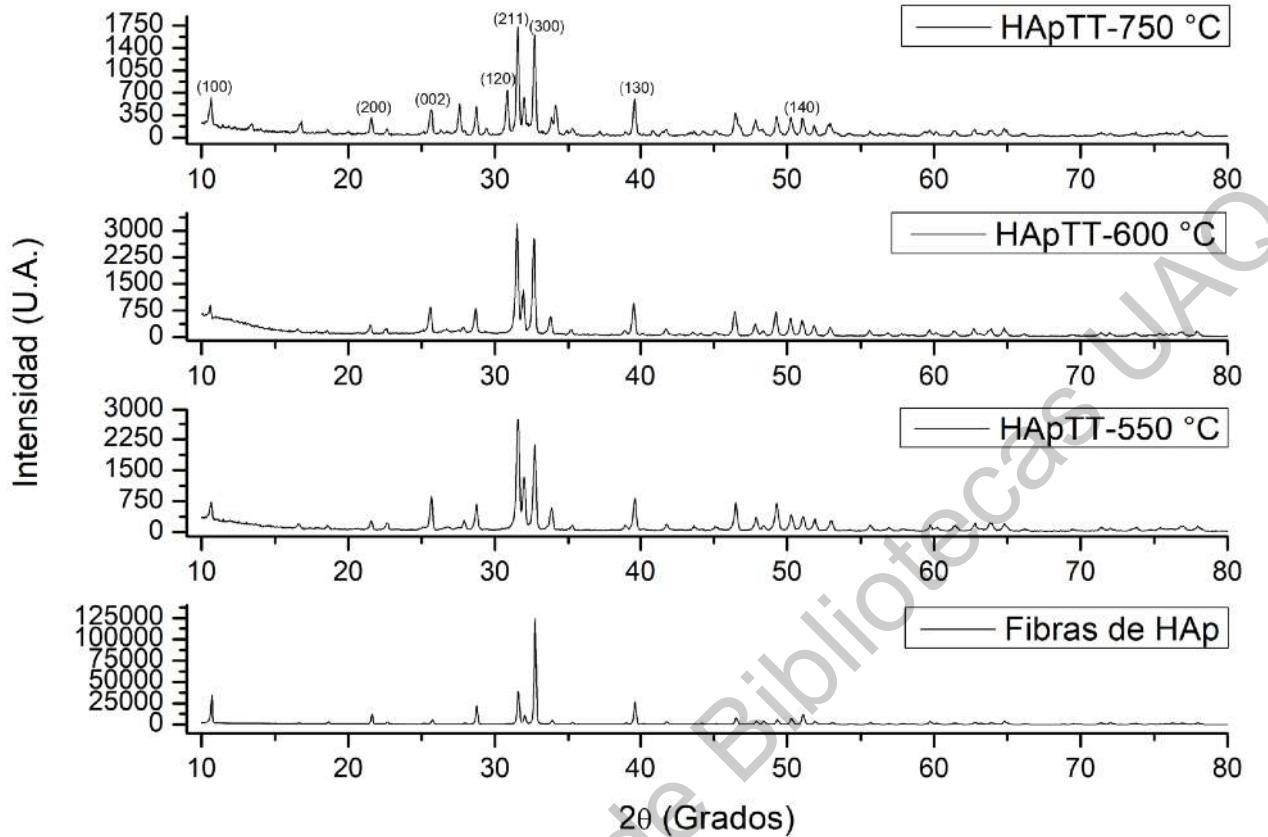


Figura 4.2 Comparación de los difractogramas obtenidos para los distintos tratamientos térmicos de fibras de HAp.

Aunado al apartado cristalográfico, es preciso mencionar que la identificación de las fases cristalinas presentes en las muestras fue efectuada tomando como referencia el **PDF # 01-086-1199** contenido en la base de datos del ICDD. Este análisis permitió comprobar que existe una marcada orientación cristalina preferencial en la HAp obtenida en nuestro laboratorio, ya que esta muestra presenta en su difractograma, la reflexión de Bragg más intensa a aquella correspondiente al plano (300), en vez de ser la más intensa aquella correspondiente al (211) como lo establece el mencionado PDF. Se puede observar en la **Figura 4.1**, que la reflexión de Bragg correspondiente al (300) tiene una intensidad tres veces mayor a la que se observa para el plano (211).

A fin de asegurar la integridad de las fibras de HAp después de los tratamientos térmicos, se realizaron nuevamente estudios de difracción de Rayos X para identificar posibles cambios estructurales en las muestras como consecuencia directa de su exposición al calor. En la **Figura 4.2** se disponen los distintos difractogramas obtenidos de tal forma que es posible observar fácilmente la aparición, ausencia, intensificación o

disminución de las distintas reflexiones de Bragg presentes en los mismos, tomando como punto de referencia la hidroxiapatita sintética sin ningún tratamiento térmico. De manera general se observa que las reflexiones de Bragg características para la HAp se conservan durante los distintos tratamientos térmicos. Sin embargo, existe una evidente pérdida de la orientación cristalina preferencial, siendo así nuevamente la reflexión de Bragg correspondiente al plano (211) la más intensa registrada en los difractogramas correspondientes a los tratamientos térmicos de 550, 600 y 750 °C. Ahora bien, esto no implica necesariamente un factor negativo para la investigación, ya que lo que se busca primeramente es conservar la fase cristalina de la HAp, sin transformarse en otras fases, y la orientación preferencial, aunque es un cambio estructural, no es tan significativo para nuestros propósitos de utilizar a la HAp como acarreador y poder seguir aprovechando sus destacables propiedades de biocompatibilidad y bioabsorción.

Aunado a la pérdida de la orientación cristalina preferencial en la dirección [300], en el tratamiento térmico de 750 °C durante 1.5 horas se observa la aparición de nuevas reflexiones de Bragg en el eje de 2θ , específicamente en los valores de 2θ de 13.43 , 20.03 , 27.58 y 52.94. mismas que fueron identificadas a partir del PDF # 01-076-8438, que corresponde a la whitlockita, un mineral que, al igual que la HAp, pertenece al grupo de minerales fosfatos. Esta aparición e intensificación de señales puntuales en el difractograma no resulta extraña, sino al contrario, ya que trabajos como el de Kittiauchawal y colaboradores, reportan y discuten tanto las consecuencias de tratar térmicamente un material cristalino como el fundamento detrás de dicho fenómeno, siendo una de las posibles causas para la variación de los parámetros cristalográficos el que las distancias de enlaces entre átomos sean más grandes por el suministro de calor e implícitamente también de energía.

4.2. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

A partir de las observaciones de las fibras de HAp, fue posible corroborar, tal y como se observa en la **Figura 4.3 (a)**, el éxito y grado de confianza de la metodología propuesta por el grupo de investigación. La micrografía muestra las características fibras de HAp con sección transversal hexagonal obtenidas por medio del método hidrotermal asistido por microondas. Ésta morfología, altamente definida, sirve como evidencia a la hora de hablar del alto grado de cristalinidad y pureza del producto obtenido. Finalmente, es preciso destacar la integridad sólida que poseen las fibras en su interior, lo que concuerda con la noción fundamental de que las microfibras están compuestas a su vez de nanofibras, siendo estas últimas las que permiten que se adopte una conformación hexagonal progresiva en el espacio. A manera de contraste, en la **Figura 4.3 (b)** se muestra una micrografía de HAp comercial (Sigma-Aldrich), donde se puede observar la clara ausencia de una morfología definida (placas irregulares).

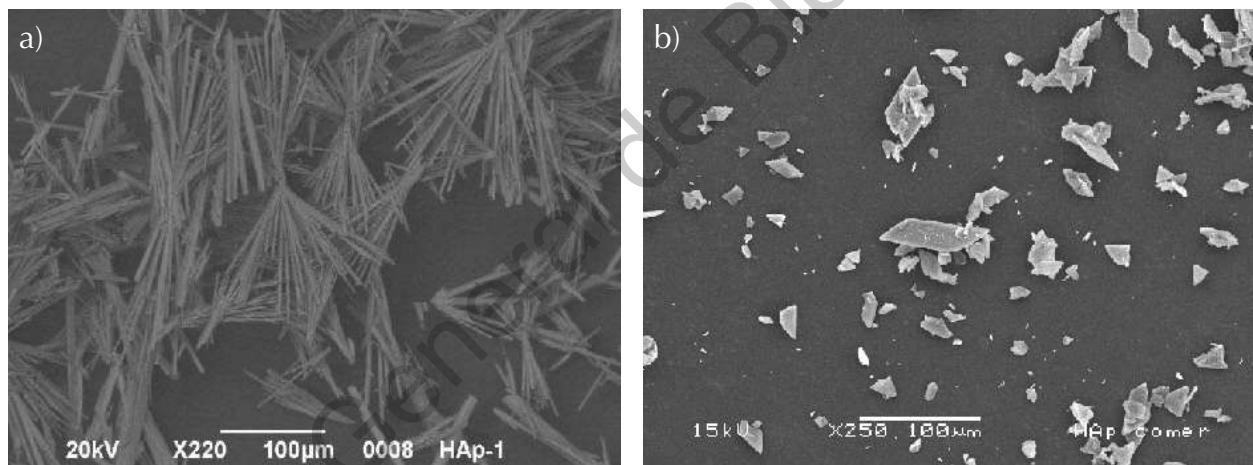


Figura 4.3 Micrografía de SEM en la que se muestran las fibras de HAp obtenidas por el método hidrotermal asistido por microondas (a) y HAp comercial (b).

Adicionalmente, los análisis conducidos por medio de la Microscopía Electrónica de Barrido arrojaron información sumamente relevante en cuanto al impacto de los tratamientos térmicos en las fibras de HAp.

La diferencia principal que muestran las micrografías de las fibras tratadas térmicamente, y que salta fácilmente al ojo del espectador, es la aparición de un hueco ubicado en el eje axial de las mismas. Y retomando la idea presentada párrafos atrás, se conoce que el contenido que previamente ocupaba este lugar también consistía de fibras

de HAp. En la **Figura 4.4** se muestran los resultados asociados al tratamiento térmico de 550 °C durante 2 horas, mismos en los que se destaca la integridad del perfil hexagonal original del producto, a excepción del hueco previamente mencionado. Aunado a esto, es importante también recalcar que las terminaciones de las fibras, es decir las “puntas”, permanecen inalteradas. Finalmente, se puede observar en la periferia de las microfibras, señalado con flechas rojas, lo que se sugiere son fragmentos de nanofibras que previamente llegaron a encontrarse en el interior de la estructura principal, pero que debido a la acción térmica a la que se vieron sometidas durante un tiempo prolongado fueron expulsadas hacia el exterior, consecuentemente generando la aparición del espacio libre en el interior o “hueco”. También, en las micrografías de la **Figura 4.4**, se puede ver como las nanofibras ubicadas en la cercanía de la superficie de la fibra, se fusionaron por la acción térmica produciendo una capa exterior que ya no está formada por varias nanofibras, sino aparenta ser de una sola pieza.

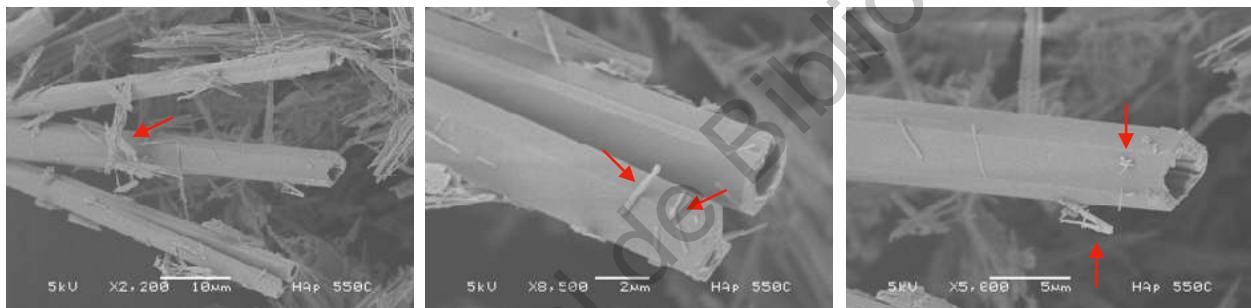


Figura 4.4 Micrografías de SEM correspondientes al tratamiento térmico de 550 °C durante 2 horas de las fibras de HAp.

Por otra parte, en la **Figura 4.5** se presentan las micrografías correspondientes al tratamiento térmico que de igual manera fue conducido a 550 °C, pero durante un periodo de tiempo de 3 horas. Si bien la presencia del hueco en las fibras sigue existiendo, también se observa una ligera degradación en la estructura de las mismas, particularmente en los extremos, donde incluso se logra observar que faltan partes de las paredes exteriores del material. A pesar de esto, la morfología hexagonal sigue presente y se distingue fácilmente.

Otra observación importante que permiten estas micrografías es el percibirse de la profundidad del hueco, es decir, debido a la falta de una pequeña porción del “cascaron” en el extremo superior de las fibras, se distingue claramente que el hueco no es superficial, sino que tiene al menos 3 μm de profundidad, asegurando así un posible espacio que el fármaco podría ocupar.

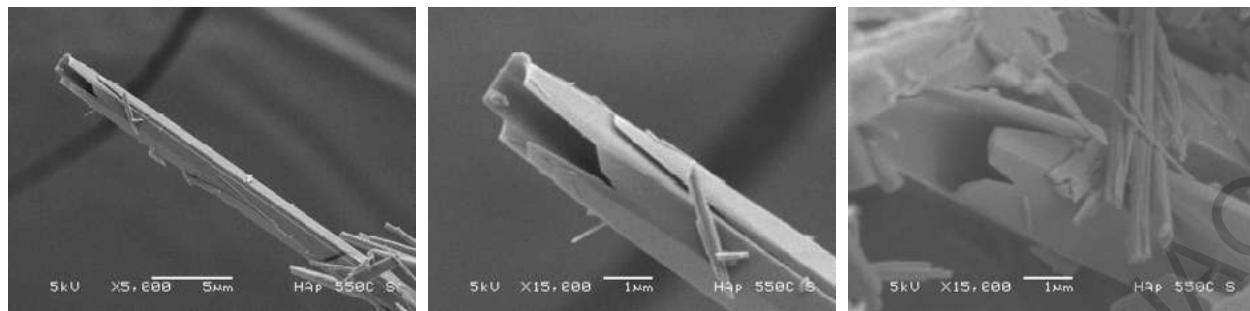


Figura 4.5 Micrografías de SEM correspondientes al tratamiento térmico de 550 °C durante 3 horas de las fibras de HAp.

Con respecto al siguiente tratamiento térmico, el cual fue conducido a una temperatura de 600 °C durante solo 1 hora, se destaca de manera particular lo encontrado en la **Figura 4.6**, donde se muestra uno de los extremos de las microfibras. Se observa de manera detallada la composición estructural de la misma, al mismo tiempo que se corrobora la aseveración inicial de como las nanofibras actúan como “bloques” o unidades básicas para la generación de la estructura final.

La razón principal por la cual se hace énfasis en la presencia de estos bloques básicos de construcción, es decir las nanofibras, es debido a que se sugiere que la noción fundamental detrás de la generación y presencia de un hueco a lo largo del eje axial, es consecuencia directa de la vibración que ocurre dentro de las fibras ocasionada por el suministro alto y constante de energía a través del tratamiento térmico, lo que lleva finalmente a que las nanofibras del interior sean expulsadas hacia afuera por esta “agitación” a escala micrométrica.



Figura 4.6 Micrografías de SEM correspondientes al tratamiento térmico de 600 °C durante 1 hora de las fibras de HAp.

Continuando ahora con el siguiente tratamiento térmico, que consistió en someter las fibras a una temperatura de 600 °C durante dos horas (**Figura 4.7**), los resultados observados son descritos de manera similar a aquellos presentados en la **Figura 4.5**, donde se puede apreciar el efecto deseado de la generación de un hueco o espacio libre en el interior de las microfibras. Sin embargo, se percibe un daño mayor a la estructura de las fibras como consecuencia de la exposición a una temperatura mayor durante un tiempo más prolongado. Los extremos de las mismas presentan daños más evidentes a comparación de los tratamientos conducidos a temperatura de 550 °C, y no solo eso, sino que incluso la integridad del cuerpo de las fibras comienza a verse afectada por la aparición de pequeñas grietas, las cuales se señalan con flechas rojas. Indicando así que las condiciones empleadas pueden ser establecidas como una posible cota superior, que no habrá de ser alcanzada, a la hora de experimentar con nuevos tratamientos térmicos, ya que durante el presente ensayo, la integridad del recipiente, es decir las fibras de HAp, comienza a ver comprometida su integridad estructural, que para fines de la investigación resulta clave de preservar en condiciones óptimas.



Figura 4.7 Micrografías de SEM correspondientes al tratamiento térmico de 600 °C durante 2 horas de las fibras de HAp.

Finalmente se observan las imágenes en las **Figuras 4.8** y **4.9**, que corresponden a los tratamientos térmicos de 750 °C durante 1.5 horas y de 850 °C durante 2 horas, respectivamente. En ambas figuras se observan los efectos perjudiciales que tiene la exposición de las fibras de HAp a estas temperaturas tan elevadas. Es posible distinguir la ruptura abrupta de las mismas tanto en los extremos como a lo largo del cuerpo, destacando a su vez la aparición de pequeñas grietas y un aspecto visual de las fibras como si estuvieran a punto de desmoronarse. Siendo esto último totalmente contrario a uno de los objetivos principales de la investigación, y lo cual permite descartar a estos dos ensayos como óptimos para el propósito que se busca.

Adicionalmente, las micrografías que se muestran en la **Figura 4.8** tienen un punto que juega en su contra, el cual es que no solo muestran la perdida de la integridad de los extremos de la fibra, sino que se observa la generación de formas puntiagudas, lo cual podría ser perjudicial a la hora de que se pone en contacto a las fibras tratadas térmicamente con el fármaco, ya que al estar expuestas podrían permitir que cierta cantidad de la droga se deposite en la superficie interna de ellas y consecuentemente quede desprotegido a la hora de ser acarreado.

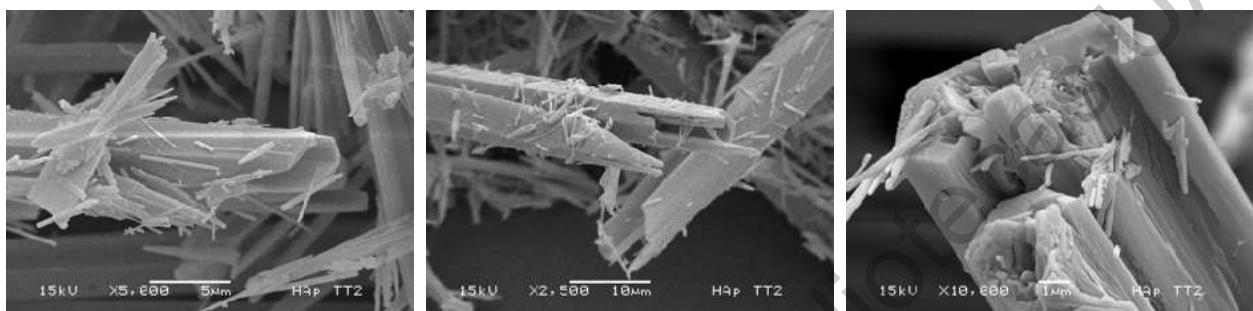


Figura 4.8 Micrografías de SEM correspondientes al tratamiento térmico de 750 °C durante 1.5 horas de las fibras de HAp.

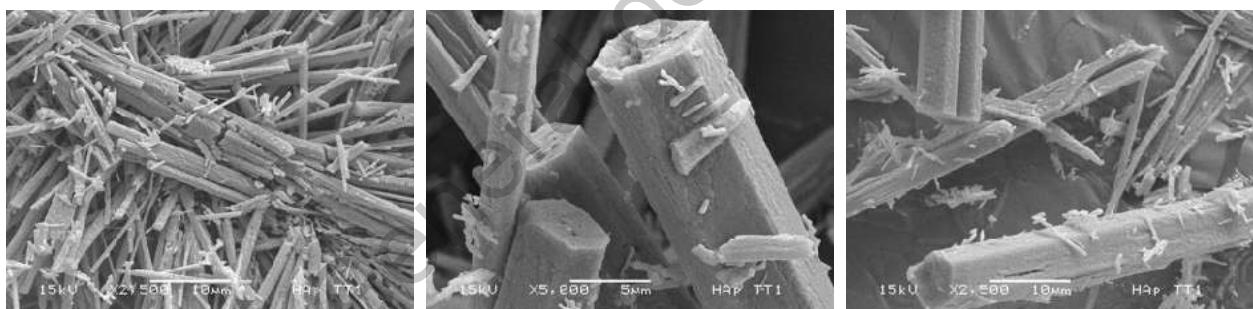


Figura 4.9 Micrografías de SEM correspondientes al tratamiento térmico de 850 °C durante 2 horas de las fibras de HAp.

La relevancia de esta serie de micrografías presentadas radica en que proporcionan bases sólidas para justificar la elección entre los distintos tratamientos térmicos conducidos, siendo el de 550 °C durante 2 horas el idóneo para la presente investigación (**Figura 4.4**).

4.3. TERMOGRAVIMETRÍA

Los resultados arrojados por este estudio fueron cruciales a la hora de marcar la pauta con respecto a los distintos rangos de temperatura con los que fue posible trabajar, esto mediante el análisis de la estabilidad térmica tanto del acarreador (fibras de HAp) como del fármaco (Quercetina).

Para comenzar, se observa en la **Figura 4.10** el termograma correspondiente a las fibras de HAp sintetizadas mediante el método hidrotermal asistido por microondas. Se aprecia una primer pérdida de masa que inicia alrededor de los 100 °C y que corresponde a la pérdida de agua (3%) y posteriormente, la siguiente pérdida de masa corresponde a la degradación de materia orgánica, principalmente el ácido glutámico remanente del proceso de síntesis. Adicional a esto, se destaca la poca pérdida de masa de la muestra conforme al aumento de la temperatura, teniendo un porcentaje de pérdida de masa menor al 6% una vez alcanzados los 900 °C. Estas observaciones concuerdan con una de las características de los materiales cerámicos mencionada secciones atrás (**Sección 2.3**), la cual es su gran estabilidad y resistencia al calor.

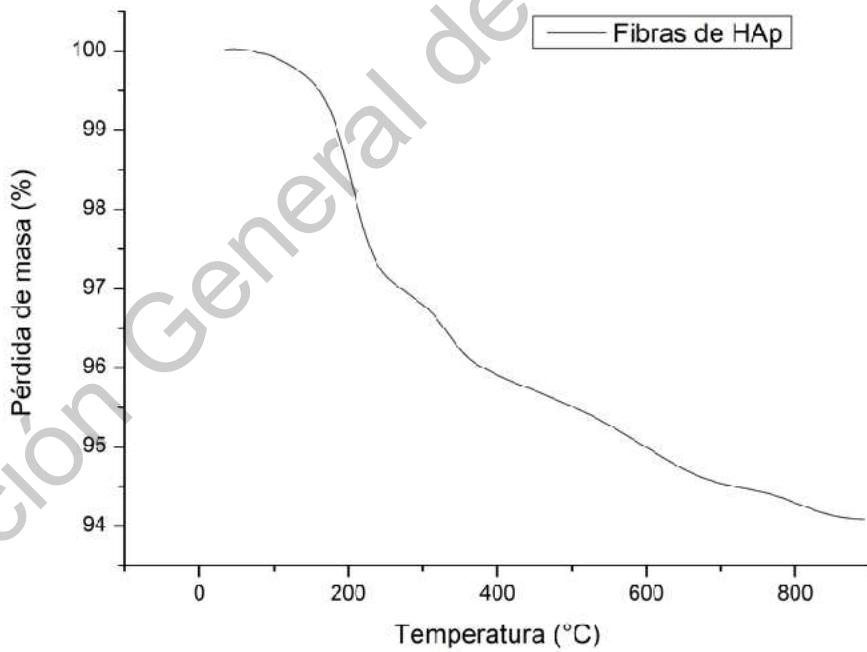


Figura 4.10 Pérdida de masa (%) frente a la temperatura para HAp sintética.

Este primer termograma brinda una mayor certeza en cuanto a descartar una posible descomposición o reacción abrupta del material a la hora de ser sometido a los distintos tratamientos térmicos propuestos.

Por otra parte, fue necesario también el estudiar la estabilidad de la quercetina con respecto al suministro de calor, ya que hay dos factores importantes a considerar. Siendo el primero de ellos que se trata de un compuesto orgánico y por regla general se sabe que tienen puntos de fusión y ebullición más bajos que los materiales inorgánicos; el segundo es que al ser un compuesto con efectos terapéuticos, su integridad química no deberá de verse alterada ya que esto podría provocar la pérdida total o parcial de los posibles beneficios al organismo. El termograma correspondiente a la Quercetina se muestra en la **Figura 4.11**.

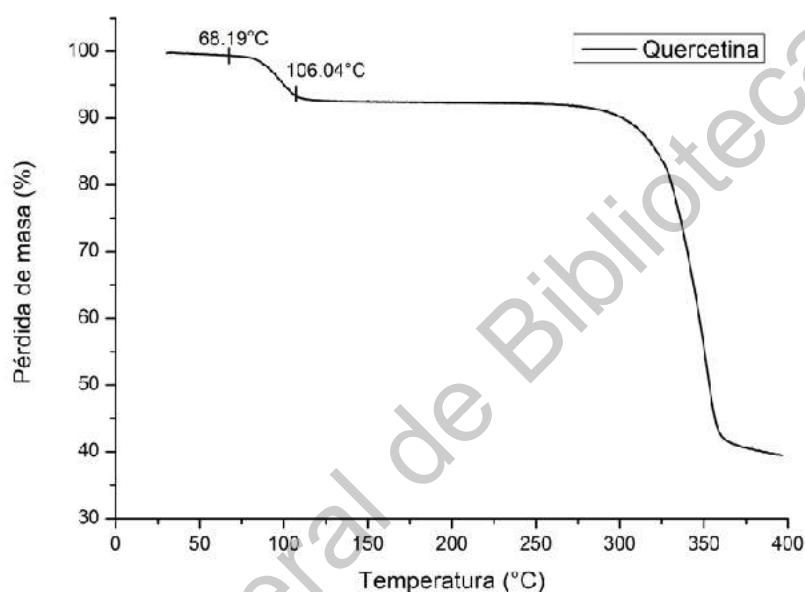


Figura 4.11 Pérdida de masa (%) frente a la temperatura para Quercetina.

La curva de TGA para la quercetina muestra una irrupción en la estabilidad térmica que comienza a partir de los 68.19 °C y consiste en la pérdida de un 7% de la masa total de la muestra al llegar a los 106.04 °C, lo que puede indicar la pérdida de grupos OH presentes en el compuesto, viéndose así comprometida la integridad química de la molécula. Por tal motivo se decidió establecer una metodología donde este flavonoide no estuviera expuesto a temperaturas mayores a los 40 °C, teniendo así un margen seguro para su uso durante la fase de experimentación.

Finalmente, en la **Figura 4.12** se muestran las curvas de TGA obtenidas para las fibras de HAp tratadas térmicamente. Estas muestran resultados interesantes, dentro de los cuales es posible destacar primeramente la elevada estabilidad térmica de las muestras

analizadas, siendo el porcentaje de pérdida de peso del 1.3%, 4.6% y 0.7% para los tratamientos térmicos de 550 °C (2Hrs.), 550 °C (3Hrs.) y 600 °C (2Hrs.) respectivamente.

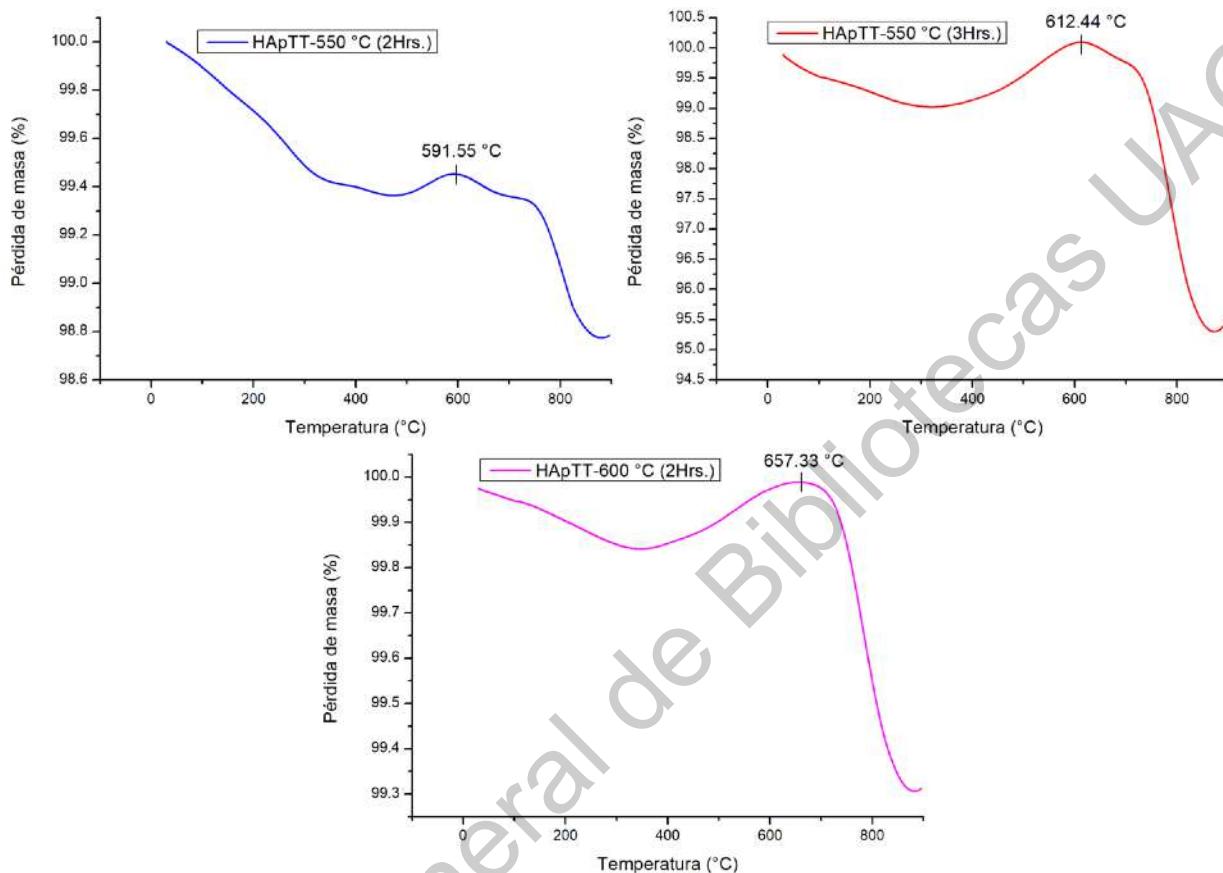


Figura 4.12 Pérdida de masa (%) frente a la temperatura para HAp debido a los distintos tratamientos térmicos efectuados.

Si bien es fundamental para la investigación el hecho de que se cuente con un material altamente estable ante los cambios de temperatura, es necesario profundizar también en el siguiente punto. Las tres curvas de TGA mostradas en la **Figura 4.12** presentan una ganancia máxima de porcentaje de masa en temperaturas específicas del barrido, siendo estas de 591.55 °C, 612.44 °C y 657.33 °C respectivamente. En la **Tabla 4-1** se registran las coordenadas exactas donde se dan estas ganancias máximas de porcentaje de masa y el valor de las mismas. Resulta imprescindible recordar en todo momento que se está trabajando con un material cerámico, esto debido a que la porosidad superficial e interna del mismo pudo verse modificada como consecuencia de los tratamientos térmicos a los que fue sometido, tal y como lo mencionan Ye y colaboradores en su investigación, donde después de haber sometido sus nanocables de

HAp hueca a un proceso de calcinación de 300 °C durante 3 horas, observaron un aumento en el tamaño del hueco y la superficie específica de 13.3 a 15.6 nm y de 97.76 a 116.8 m²g⁻¹, respectivamente. Lo que puede sugerir que la porosidad del material utilizado en esta investigación también está siendo modificada por la acción térmica. Por este último motivo existe esa ganancia de masa, que puede ser atribuida a la adsorción del nitrógeno (N₂) por el material, ya que este fue el gas de arrastre utilizado durante los análisis termogravimétricos, y conforme transcurrió el tiempo de análisis fue liberado nuevamente en la cámara.

Tabla 4-1. Ganancia de masa en las muestras tratadas térmicamente.

Tratamiento térmico	Coordenada X (Temperatura °C)	Coordenada Y (% Pérdida de masa)
550 °C - 2Hrs. (a)	591.55	99.45211
550 °C - 3Hrs. (b)	612.44	100.0931
600 °C - 2Hrs. (c)	657.33	99.9888

4.4. ESPECTROSCOPÍA INFRARROJA CON TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

Finalmente, los resultados obtenidos mediante el análisis de FTIR se muestran en la **Figura 4.13**. En el gráfico se observan, en orden ascendente, los espectros correspondientes a las fibras de HAp previas a ser tratadas térmicamente, quercetina, fibras de HAp tratadas térmicamente (550 °C - 2Hrs.) y el sistema HAp-Quercetina.

Comenzando con la HAp sintética, se observan las señales correspondientes a los grupos fosfato (PO₄)³⁻ en las bandas alrededor de 1034 y 563 cm⁻¹. Existe una clara distinción entre ambas bandas, ya que la primera en 1034 cm⁻¹ es muy intensa y corresponde a la vibración del grupo fosfato mientras que la segunda banda en 563 cm⁻¹ es originada por la deformación del mismo grupo funcional. En el espectro también se observa una banda muy pequeña alrededor de 3570 cm⁻¹ (región del espectro caracterizada por indicar la presencia de grupos OH⁻), y recordando la estructura y disposición espacial de los átomos en el material, esta señal se atribuye a los grupos OH⁻ aislados en el interior de las fibras. A excepción de un ligero aumento en esta última señal, el espectro correspondiente a las fibras de hidroxiapatita tratadas térmicamente

(550 °C - 2Hrs.) coincide con aquel obtenido para las fibras previo al tratamiento térmico, siendo un excelente indicio de la conservación de la integridad química del material original.

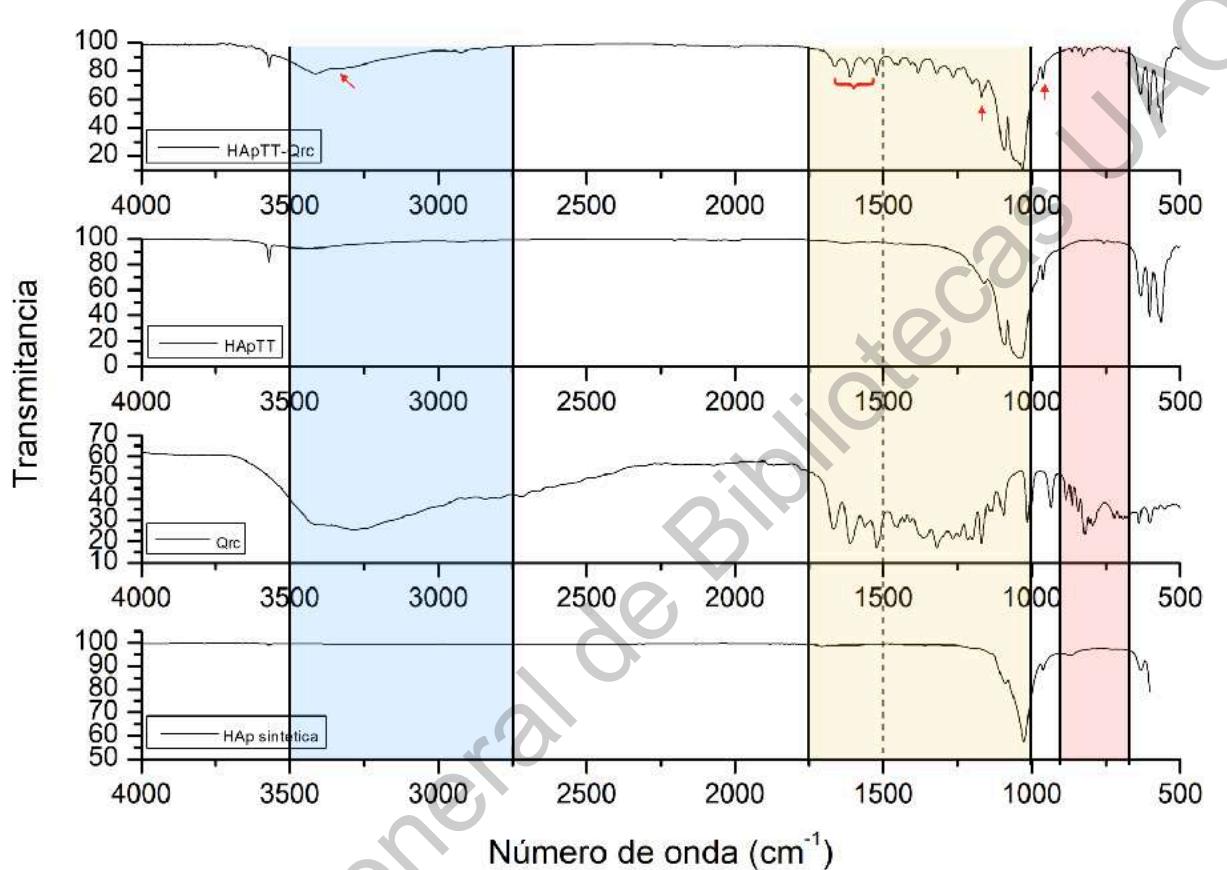


Figura 4.13 Comparación de espectros de infrarrojo para HAp sintética, Quercetina, HAp tratada térmicamente y el sistema HApTT-Quercetina, de abajo hacia arriba respectivamente.

Por otra parte, se destaca en el espectro de quercetina la presencia de las siguientes bandas características, que coinciden en su totalidad con lo previamente reportado en 2012 por Pool y colaboradores: estiramiento del grupo O-H (3700-3300 cm⁻¹); absorción del grupo C=O (1662 cm⁻¹); estiramiento del enlace C-C (1618 cm⁻¹); flexión C-H (1456, 1383 y 866 cm⁻¹); estiramiento de C-O en la estructura del anillo (1272 cm⁻¹); y estiramiento C-O (1070-1150 cm⁻¹). La presencia de una amplia variedad de bandas en el espectro encaja perfectamente con la clara distinción entre un material orgánico (quercetina) y uno inorgánico (hidroxiapatita).

Habiendo sido identificadas las bandas características de cada material individualmente, el último espectro muestra las bandas presentes en el sistema HApTT-Qrc. Iniciando el análisis de izquierda a derecha, se observa en la región señalada con azul la aparición de una banda alrededor de $3600\text{-}3250\text{ cm}^{-1}$, contribución que puede ser atribuida a la presencia de los grupos O-H pertenecientes a la quercetina en este sistema. A diferencia del espectro correspondiente a quercetina pura, en este último la señal posee valores de transmitancia más elevados y por tanto una menor absorbancia, pudiendo indicar así la restricción de su movimiento como consecuencia de otras interacciones a nivel molecular con los grupos presentes en la HAp, entre los que se considera principalmente a los grupos fosfato de esta última.

Una razón importante por la cual se considera que la interacción entre los grupos fosfato de la HAp y los grupos O-H de la quercetina puede ser la principal responsable de la “unión” de ambos compuestos es que se debe recordar que el grupo fosfato consiste en un átomo de fósforo unido covalentemente a 4 átomos de oxígeno y contiene un enlace $P = O$ y tres enlaces $P-O-$. Esto implica también que los átomos de oxígeno son más electronegativos que el átomo de fósforo, lo que da lugar a enlaces covalentes polares. Por lo tanto, estos átomos de oxígeno pueden formar puentes de hidrógeno con grupos funcionales que contengan hidrógeno cercano que también pueden tener una carga parcial positiva. Si bien las interacciones del tipo puente de hidrógeno no son consideradas las más fuertes, debido a su abundancia en el sistema aportan lo suficiente para que se dé una interacción sustancial entre ambos componentes.

Pasando ahora a la región en el espectro señalada con amarillo, se destaca con un corchete rojo la aparición de bandas características de la quercetina alrededor de $1700\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$, siendo estas la absorción del grupo $C=O$ (1662 cm^{-1}) y el estiramiento del enlace C-C (1618 cm^{-1}), teniendo así nuevamente la presencia de bandas características de ambos materiales en este mismo espectro. Esto último también sugiere una exitosa interacción de los componentes, ya que hasta este punto las señales características no desaparecen ni simplemente se empalman unas con otras, sino que se suman en el espectro tal y como si se tratase de un único material. Las flechas rojas dentro de la región amarilla y la ligera aparición de señales en la región rosada sustentan esta idea.

5. CONCLUSIONES

Los resultados de esta investigación establecen las bases para el uso de las fibras de hidroxiapatita en el área de la nanomedicina, y sugieren consecuentemente que la obtención de fibras con un espacio libre en su interior mediante la acción del efecto térmico es viable.

El impacto de los distintos tratamientos térmicos fue analizado basándose principalmente en cambios morfológicos y estructurales, cristalográficos y la estabilidad térmica final del material, y de acuerdo al análisis de los mismos, se destaca el tratamiento térmico de 550 °C durante 2 horas como el más adecuado para cumplir con los propósitos de la investigación. Siendo este último el que conserva en un mejor estado la estructura original de las fibras y a su vez un espacio hueco en el interior, como sí de un cascarón se tratase. Aunado a presentar la morfología y estructura deseada, el material cuenta con una elevada estabilidad térmica, gran calidad cristalina, a pesar de haber perdido la orientación cristalina preferencial en la dirección [300], y la posibilidad de interactuar con la droga modelo mediante lo que se sugiere serían interacciones del tipo enlaces de hidrógeno entre los grupos fosfato de la HAp y los grupos O-H presentes en la molécula de quercetina.

Con este primer adentramiento en el área se encontraron las condiciones termodinámicas ideales para el establecimiento de una metodología inicial, que sin duda podrá ser mejorada en trabajos futuros con la modificación y evaluación de los mismos. Al mismo tiempo que se podrá incursionar con nuevos fármacos o incluso con algunos similares a la molécula de quercetina para muchas otras potenciales aplicaciones.

REFERENCIAS

- Abd-Rabou, A. A., & Ahmed, H. H. (2017). CS-PEG decorated PLGA nano-prototype for delivery of bioactive compounds: A novel approach for induction of apoptosis in HepG2 cell line. *Advances in Medical Sciences*, 62(2), 357–367. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.advms.2017.01.003>
- Alanís-Gómez, J., Rivera-Muñoz, E., Cervantes-Medina, J., Almanza, H., Nava-Mendoza, R., Cortes-Romero, C., & Velázquez-Castillo, R. (2016). Synthesis of Micro and Nano-Sized Hydroxyapatite Fibers Through the Microwave Assisted Hydrothermal Method. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 16, 7557–7566. <https://doi.org/10.1166/jnn.2016.12829>
- Brunton, L., Chabner, B., Goodman, L., & Knollmann, B. (2005). Goodman & Gilman'S The Pharmacological Basis Of Therapeutics (Vol. 1).
- Campa, J., Ulloa, G., Bucio, L., A Belio, I., Velazquez, R., & Rivera Muñoz, E. M. (2007). *Biomateriales. Fundamentos, Técnicas y Aplicaciones.* (Primera). Guadalajara: Universidad de Guadalajara.
- Chetty, A., Du Preez, I., MK, M., YE, K., & RM, M. (2013). Synthesis, Properties and Applications of Hydroxyapatite. In *Hydroxyapatite: Synthesis, Properties and Applications* (pp. 91–132).
- Colobatiu, L., Gavan, A., Potarniche, A.-V., Rus, V., Diaconeasa, Z., Mocan, A., ... Mihaiu, M. (2019). Evaluation of bioactive compounds-loaded chitosan films as a novel and potential diabetic wound dressing material. *Reactive and Functional Polymers*, 145, 104369. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2019.104369>
- Dorozhkin, S. V. (2013). A detailed history of calcium orthophosphates from 1770s till 1950. *Materials Science & Engineering. C, Materials for Biological Applications*, 33(6), 3085–3110. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2013.04.002>

Dorozhkin, S. V. (2010). Bioceramics of calcium orthophosphates. *Biomaterials*, 31(7), 1465–1485. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.11.050>

Dorozhkin, S. V. (2009). Calcium Orthophosphates in Nature, Biology and Medicine. *Materials*, 2(2), 399–498. <https://doi.org/10.3390/ma2020399>

Hasirci V., Hasirci N. (2018) Introduction. In: Fundamentals of Biomaterials. Springer, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8856-3_1

Khursheed, R., Singh, S. K., Wadhwa, S., Gulati, M., & Awasthi, A. (2020). Enhancing the potential preclinical and clinical benefits of quercetin through novel drug delivery systems. *Drug discovery today*, 25(1), 209–222. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2019.11.001>

Kim, H. K., Shim, W. S., Kim, S. E., Lee, K.-H., Kang, E., Kim, J.-H., ... Lee, D. S. (2008). Injectable In Situ-Forming pH/Thermo-Sensitive Hydrogel for Bone Tissue Engineering. *Tissue Engineering Part A*, 15(4), 923–933. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2007.0407>

Kittiauchawal, T., Mungchamnankit, A., Sujinnapram, S., Kaewkhao, J., & Limsuwan, P. (2012). The Effect of Heat Treatment on Crystal Structure in Zircon Monitored by ESR and XRD. *Procedia Engineering*, 32, 706–713. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.proeng.2012.02.001>

Kreyling, W. (2005). Nanomedicine : An ESF-European Medical Councils (EMRC) forward look report 2005.

Li, R., Chen, K., Li, G., Han, G., Yu, S., Yao, J., & Cai, Y. (2016). Structure design and fabrication of porous hydroxyapatite microspheres for cell delivery. *Journal of Molecular Structure*, 1120, 34–41. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2016.05.017>

Li, Y., Yao, J., Han, C., Yang, J., Chaudhry, M. T., Wang, S., ... Yin, Y. (2016). Quercetin, Inflammation and Immunity. *Nutrients*, 8(3), 167. <https://doi.org/10.3390/nu8030167>

Mohd Pu'ad, N. A. S., Koshy, P., Abdullah, H. Z., Idris, M. I., & Lee, T. C. (2019). Syntheses of hydroxyapatite from natural sources. *Heliyon*, 5(5), e01588. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01588>

Mondal, S., Dorozhkin, S., & Pal, U. (2017). Recent progress on fabrication and drug delivery applications of nanostructured hydroxyapatite. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 10, e1504. <https://doi.org/10.1002/wnan.1504>

Patra, M., Mukherjee, R., Banik, M., Dutta, D., Begum, N. A., & Basu, T. (2017). Calcium phosphate-quercetin nanocomposite (CPQN): A multi-functional nanoparticle having pH indicating, highly fluorescent and anti-oxidant properties. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 154, 63–73. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2017.03.018>

Pazhayattil, G. S., & Shirali, A. C. (2014). Drug-induced impairment of renal function. *International Journal of Nephrology and Renovascular Disease*, 7, 457–468. <https://doi.org/10.2147/IJNRD.S39747>

Pool, H., Quintanar, D., Figueroa, J., Bechara, E., McClements, D., & Mendoza, S. (2012). Polymeric Nanoparticles as Oral Delivery Systems for Encapsulation and Release of Polyphenolic Compounds: Impact on Quercetin Antioxidant Activity & Bioaccessibility. *Food Biophysics*, 7. <https://doi.org/10.1007/s11483-012-9266-z>

Ratner, B. D., & Bryant, S. J. (2004). Biomaterials: Where We Have Been and Where We Are Going. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 6(1), 41–75. <https://doi.org/10.1146/annurev.bioeng.6.040803.140027>

Rivera-Muñoz, E. M. (2018). HA Nanofibers Grown with Crystalline Preferential Orientation and Its Influence in Mechanical Properties of Organic-Inorganic Composite Materials (R. Velázquez-Castillo, ed.). <https://doi.org/10.5772/intechopen.71850>

Sohail, R., & Abbas, S. R. (2020). Evaluation of amygdalin-loaded alginate-chitosan nanoparticles as biocompatible drug delivery carriers for anticancerous efficacy. International Journal of Biological Macromolecules. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.191>

Staiger, M. P., Pietak, A. M., Huadmai, J., & Dias, G. (2006). Magnesium and its alloys as orthopedic biomaterials: A review. *Biomaterials*, 27(9), 1728–1734. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.10.003>

Tang, S. M., Deng, X. T., Zhou, J., Li, Q. P., Ge, X. X., & Miao, L. (2020). Pharmacological basis and new insights of quercetin action in respect to its anti-cancer effects. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 121, 109604. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109604>

Vega-Vásquez, P., Mosier, N. S., & Irudayaraj, J. (2020). Nanoscale Drug Delivery Systems: From Medicine to Agriculture . *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* , Vol. 8, p. 79. Retrieved from <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fbioe.2020.00079>

Vergara-Castañeda, H., Hernandez-Martinez, A. R., Estevez, M., Mendoza, S., Luna-Barcenas, G., & Pool, H. (2016). Quercetin conjugated silica particles as novel biofunctional hybrid materials for biological applications. *Journal of Colloid and Interface Science*, 466, 44–55. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jcis.2015.12.011>

Verma, G., Shetake, N. G., Pandrekar, S., Pandey, B. N., Hassan, P. A., & Priyadarsini, K. I. (2020). Development of surface functionalized hydroxyapatite nanoparticles for enhanced specificity towards tumor cells. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 144, 105206. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ejps.2019.105206>

Williams, D. F. (1999). *The Williams Dictionary of Biomaterials*. Liverpool University Press. doi:10.5949/UPO9781846314438

Williams, D., & Zhang, X. B. T.-D. of B. for the T.-F. C. (Eds.). (2019). II - Biomaterials and biomedical materials. In Materials Today (pp. 15–23). <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818291-8.00002-X>

Williams, D. F. (2009). On the nature of biomaterials. *Biomaterials*, 30(30), 5897–5909. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.07.027>

Ye, F., Guo, H., Zhang, H., & He, X. (2010). Polymeric micelle-templated synthesis of hydroxyapatite hollow nanoparticles for a drug delivery system. *Acta Biomaterialia*, 6(6), 2212–2218. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.actbio.2009.12.014>