



Universidad
Zaragoza



Escuela de
Ingeniería y Arquitectura
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de Grado

Evaluación de nanofibras poliméricas como forma
farmacéutica termosensible

Evaluation of polymeric nanofibers as a
thermosensitive pharmaceutical form

Autor

Sara Huerta Cebollada

Directores

Gerardo F. Goya Rossetti
Jesús A. Fuentes García

Ingeniería Química

ESCUELA DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA
2023

*A quien está y a quien ha marchado antes.
Por acompañarme a lo largo de este camino y de toda la vida,
siempre seréis parte de mí.*



DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

(Este documento debe entregarse en la Secretaría de la EINA, dentro del plazo de depósito del TFG/TFM para su evaluación).

D./D^a. Sara Huerta Cebollada (77218280 N) ,en
aplicación de lo dispuesto en el art. 14 (Derechos de autor) del Acuerdo de 11 de
septiembre de 2014, del Consejo de Gobierno, por el que se aprueba el
Reglamento de los TFG y TFM de la Universidad de Zaragoza,
Declaro que el presente Trabajo de Fin de (Grado/Máster)
Grado, con título: (Título del Trabajo)
Evaluación de nanofibras poliméricas como forma farmacéutica termosensible.

es de mi autoría y es original, no habiéndose utilizado fuente sin ser
citada debidamente.

Zaragoza, 26 de agosto de 2023

Firmado por HUERTA CEBOLLADA
SARA - ***1828** el día 26/08/2023 con
un certificado emitido por AC FNMT
Usuarios

Fdo:

Evaluación de nanofibras poliméricas como forma farmacéutica termosensible

RESUMEN

La liberación controlada de fármacos es un campo muy estudiado actualmente y donde los nanomateriales tienen gran importancia. Existen diversos mecanismos de liberación y este Trabajo de Fin de Grado (TFG) se ha centrado concretamente en uno de ellos: la liberación de fármacos activada mediante estímulo externo, específicamente mediante la aplicación de campos magnéticos de radiofrecuencia. Para ello se ha fabricado una serie de membranas nanoestructuradas compuestas por nanofibras poliméricas electrohiladas de poliacrilonitrilo (PAN) y nanopartículas magnéticas (NPMs) de MnFe_2O_4 optimizadas para la producción de calor bajo campos magnéticos de radiofrecuencia, elevando la temperatura y así controlar la liberación del fármaco. Se han caracterizado dichas membranas por diversas técnicas incluyendo Microscopía electrónica de barrido (SEM) y espectroscopia infrarroja (FTIR). Para estudiar los perfiles de liberación se eligió un fármaco de prueba (B12) almacenado en la membrana como paso previo a estudios de fármacos citotóxicos usados en el tratamiento contra el cáncer.

El estudio de la cinética de liberación de B12 se realizó a partir de la medida continua de la concentración en un sistema de flujo. Para ello, este trabajo experimental requirió la adaptación de un dispositivo aplicador de campos magnéticos mediante la integración con un espectrofotómetro UV-vis modular.

El estudio comparativo de los perfiles de liberación de las membranas a diferentes temperaturas se realizó con calentamiento exógeno (mediante la termalización con un sistema de camisa de agua circulante) y en membranas con NPMs mediante calentamiento inductivo. Las curvas de concentración frente a tiempo obtenidas se ajustaron con la función de Gompertz, como parte de un modelo matemático de tipo exponencial que proporciona tres parámetros relacionados con el perfil de liberación en cada caso. Los resultados obtenidos mostraron la mayor eficiencia del calentamiento magnético para el control de la liberación, lo que proporciona a estos materiales un potencial interés para futuras aplicaciones en terapias clínicas de liberación controladas remotamente por campos magnéticos.

SUMMARY

Controlled drug release is a field of current intensive research, where nanomaterials play a significant role. There are various drug release mechanisms, and this Degree Project has been specifically focused on one of them: drug release activated by external stimulus, specifically by application of radiofrequency magnetic fields. For this purpose, a series of nanostructured membranes composed of electrospun polyacrylonitrile (PAN) polymeric nanofibers and MnFe_2O_4 magnetic nanoparticles (MNPs) were synthesized, optimized for heat production under radiofrequency magnetic fields, providing the control of the drug release. The membranes were characterized using various techniques including Scanning Electron Microscopy (SEM) and infrared spectroscopy (FTIR). To study the release profiles, a test drug (B12) stored in the membrane was chosen, as a preliminary step to future studies on cytotoxic drugs used in cancer treatment.

The kinetics of B12 release were determined by continuously measuring the concentration in a flow system. For this, my experimental work required the adaptation of a magnetic field applicator device, through the integration with a modular UV-vis spectrophotometer.

A comparative study of the release profiles of the membranes at different temperatures was performed with exogenous heating (through thermalization with a circulating water jacket system) and in membranes with MNPs through inductive heating. The concentration versus time curves obtained were fitted with the Gompertz function, as part of an exponential mathematical model that provides three parameters related to the release profile in each situation. The results showed that magnetic heating is more efficient for controlling the release, giving these materials potential interest for future applications in clinical therapies remotely controlled by magnetic fields.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	2
1.1. Nanofibras como sistemas de entrega de fármacos.....	3
1.2. Nanofibras inteligentes para liberación de fármacos	5
1.3. Calentamiento por inducción magnética.....	6
2. OBJETIVOS Y PLANTEAMIENTOS	7
2.1. Objetivos.....	7
2.2. Fabricación de nanofibras poliméricas como forma farmacéutica termosensible.....	7
2.3. Evaluación de nanofibras poliméricas como forma farmacéutica termosensible	9
3. DESARROLLO EXPERIMENTAL	10
3.1. DRM (Drug Release Monitor).....	10
3.2. Configuración del flujo.....	11
3.3. Calibración del detector.....	12
3.4. Control de temperatura	12
3.5. Equipo 2: Controlador Serie D5.....	13
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	14
4.1. Caracterización de las membranas de nanofibras poliméricas	14
4.1.1. Microscopía Electrónica de barrido (SEM).....	14
4.1.2. Espectroscopía Infrarroja (FTIR).....	15
4.1.3. Ángulo de contacto	17
4.2. Perfiles de liberación.....	18
4.2.1. Calentamiento sin campo magnético	18
4.2.2. Calentamiento con campo magnético.....	20
5. CONCLUSIONES	23
6. BIBLIOGRAFÍA.....	24

1. INTRODUCCIÓN

La forma en la que se libera un fármaco puede afectar de forma importante a su eficacia y seguridad. Además, se requiere una velocidad y una duración de tratamiento determinadas para lograr el efecto deseado. Se ha progresado en el campo de los sistemas de administración de fármacos para controlar su liberación, teniendo en cuenta factores como las propiedades químicas del fármaco, el lugar a tratar o las necesidades del paciente. Lo que se busca con el estudio de la liberación de fármacos es una forma menos invasiva y tóxica, y más eficaz de tratar una enfermedad. Para un tipo de fármaco dado, existen dos límites clínicamente relevantes: por encima de una dada concentración el fármaco presenta una toxicidad nociva para el organismo, y por debajo de una cierta concentración el fármaco pierde su acción terapéutica (concentración subóptima). Un perfil ideal de concentración debe permanecer estable entre ambos límites por el tiempo de acción terapéutica necesario, lo que puede lograrse mediante el control de la liberación por estímulos externos.

La idea de **liberación controlada de medicamentos**, en contraposición a la liberación espontánea, se refiere al control espacial y temporal de liberación de una molécula terapéutica en el cuerpo. Las dosificaciones de liberación sostenida buscan mantener la disponibilidad del medicamento dentro de ventanas terapéuticas específicas de concentración y tiempo como ilustra la Figura 1 [1].

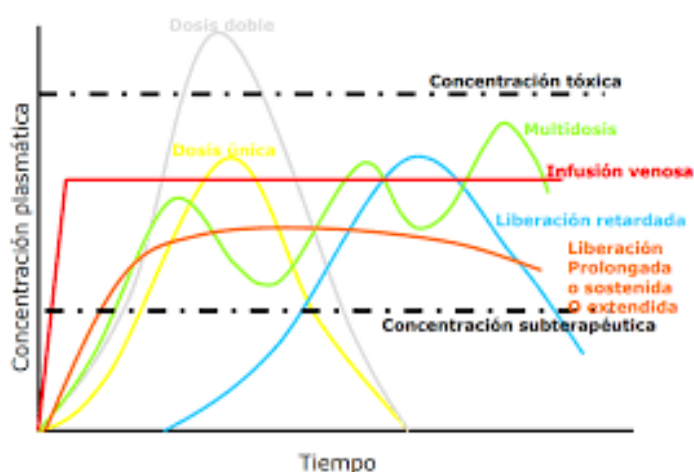


Figura 1. Curvas comparativas de los distintos tipos de liberación de fármacos existentes

El uso de micro y nanomateriales como portadores de medicamentos para mejorar la liberación del medicamento es un concepto bastante antiguo, reportado ya en los años 80 cuando se desarrollaron soluciones micelares para formulaciones de liberación controlada [2]. Cada sistema de liberación controlada debe ser diseñado no solo con

atención específica en la química del medicamento a administrar, sino también considerando las especificidades del órgano objetivo (por ejemplo, cruzar barreras fisiológicas, proteger de una rápida eliminación, etc.). La llegada de la nanotecnología al campo de la medicina hizo posible nuevos materiales para el direccionamiento de medicamentos y/o su liberación controlada.

Existen diversas formas de control de la liberación de un fármaco. Entre los más comúnmente utilizados se encuentran los siguientes [3][4]:

- Liberación prolongada: este tipo de mecanismo está diseñado para liberar el fármaco gradualmente durante un periodo continuo, permitiendo una dosificación menos frecuente. Para controlar la liberación se utilizan diferentes tecnologías como sistemas matriz, sistemas de depósito o bombas osmóticas.
- Liberación controlada: tiene como objetivo liberar el fármaco a un ritmo controlado, manteniendo las concentraciones del fármaco dentro de un rango terapéutico deseado. Estos sistemas suelen utilizar formulaciones o tecnologías especializadas para regular la liberación de fármacos, como sistemas controlados por difusión, resinas de intercambio iónico o microencapsulación.
- Liberación dirigida: implica dirigir el fármaco a un sitio específico del cuerpo para su liberación localizada, reduciendo los efectos secundarios y mejorando los resultados terapéuticos. Son, por ejemplo, las formulaciones liposomales utilizadas en el tratamiento del cáncer.
- Liberación desencadenada o entrega de fármaco activada mediante estímulo: responden a estímulos específicos, como cambios en el pH, la temperatura o la actividad enzimática. Estos sistemas pueden diseñarse para liberar el fármaco en el sitio objetivo, con una respuesta condicionada o según el estado de una enfermedad.

Los avances en el entorno farmacéutico se deben en parte al desarrollo de sistemas innovadores de administración de fármacos, como por ejemplo enfoques basados en nanotecnología, dispositivos implantables y polímeros biodegradables. Este progreso permite un control preciso sobre la cinética de liberación del fármaco y una mayor eficacia terapéutica.

1.1. Nanofibras como sistemas de entrega de fármacos

Actualmente, las **nanofibras poliméricas** son un material atractivo en el área de sistemas de administración de fármacos. Esto es debido a que el diámetro de las fibras es muy pequeño (órdenes de micrómetros o nanómetros) y, por lo tanto, la relación

superficie-volumen es alta para posibilitar una liberación eficaz, y además pueden contener gran concentración de fármaco, mejorando algunos procesos como la transferencia de materia o el rendimiento mecánico [5]. Debido a la versatilidad química de estos nanosistemas farmacéuticos, es posible modificar la superficie de las moléculas haciendo que reconozcan selectivamente a la célula que se debe tratar. También existe la posibilidad de incluir en estas fibras nanopartículas multifuncionales capaces de diagnosticar y tratar procesos tumorales simultáneamente.

Las nanofibras se utilizan formando una membrana, la cual se fabrica mediante electrohilado (también conocido por el término en inglés: electrospinning), un método en el que se utiliza campo eléctrico. En una jeringuilla se introduce la solución a hilar; en este caso, la solución contiene la mezcla de polímeros y el fármaco. El funcionamiento de esta técnica consiste en aplicar un campo eléctrico a la mezcla mediante un electrodo negativo que está conectado a la punta de la jeringa que es de un metal conductor, mientras que el positivo se encuentra en un colector cilíndrico giratorio que atrae las fibras [6][7]. En la Figura 2 se aprecia un esquema de este proceso de fabricación.

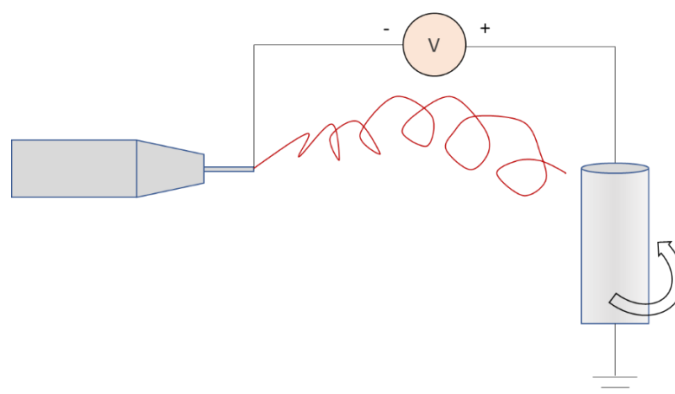


Figura 2. Ilustración esquemática de las principales partes de un sistema de electrohilado

Las formas de dosificación convencionales (pastillas, cápsulas o inyecciones) están limitadas cuando se trata de perfiles de liberación controlados en el espacio o el tiempo. Para superar estas limitaciones, las nanofibras proporcionan un perfil prolongado de liberación de fármaco y frecuencia de dosificación reducida. Las nanofibras también pueden proteger al fármaco de la descomposición precoz dentro del cuerpo antes de llegar al lugar esperado [8].

En el caso del presente trabajo de fin de grado, la aplicación de estas nanofibras constituye los pasos iniciales de una línea de investigación más amplia, orientada hacia la administración de fármacos controlada remotamente por campos magnéticos alternos, con potenciales aplicaciones en tratamientos clínicos que incluyen alternativas terapéuticas a quemaduras, dolor crónico, y cáncer.

1.2. Nanofibras inteligentes para liberación de fármacos

Los sistemas de administración de fármacos sensibles a estímulos han ido adquiriendo una mayor importancia en el ámbito científico durante las últimas décadas. La combinación de fármacos basados en nanopartículas representa una **tecnología significativa** para lograr la liberación controlada (tanto temporalmente, espacialmente y de dosis) del principio activo. La administración dirigida mejora la biodistribución, reduce los efectos secundarios y aumenta la eficacia del tratamiento.

Para el uso de estos sistemas es necesario el uso de materiales biocompatibles susceptibles a un estímulo específico. Estos estímulos, que activan la liberación de los fármacos, están divididos en dos grupos: estímulos externos y estímulos internos. Los estímulos externos están relacionados con interacciones del material con radiación óptica, electromagnética o de ultrasonido, mientras que los estímulos internos se basan en cambios de la región a tratar: diferencia de pH, activación de enzimas, gradiente redox o temperatura [9].

En este tipo de liberación los materiales utilizados normalmente son los denominados “sistemas híbridos”. Los **sistemas híbridos** son combinaciones de distintos materiales para obtener propiedades mejoradas, pueden consistir en uniones de dos o más materiales nanoestructurados (nanofibras y nanopartículas) o combinaciones de nanopartículas y moléculas pequeñas, siendo estas últimas: radioisótopos, péptidos o el propio fármaco.

La entrega de fármacos ante el cambio térmico es una de las estrategias más investigadas, y es la que se estudia en este proyecto de fin de grado. Los portadores con respuesta térmica retienen la concentración de fármaco a una temperatura concreta, por ejemplo, la corporal, y liberan esta carga cuando se produce un cambio en dicha propiedad [10]. Como se ha comentado, el cambio de temperatura puede ser producido tanto interna como externamente, siendo importante para este trabajo el estímulo externo, puesto que es el que se ha aplicado. En este caso, las moléculas de fármaco se han combinado con una mezcla de polímeros que responden al calentamiento, siendo el calentamiento enfocado lo que desencadenaría la liberación transitoria del fármaco en un tratamiento *in vivo* y por ello, se tendría una alta concentración del fármaco en la zona afectada.

Para el desarrollo de este trabajo también ha sido importante la inducción magnética. Con este estímulo externo se consigue aumentar la temperatura de nanopartículas magnéticas, y por ende de las nanofibras, como se desarrolla a continuación.

1.3. Calentamiento por inducción magnética

Cuando un sistema de nanopartículas magnéticas se somete a un campo magnético oscilante, existe una interacción entre el momento magnético de las partículas y el campo AC por el cual se absorbe energía del campo que luego transforman en calor disipado en las partículas. Hay dos mecanismos principales que explican esta generación de calor: mediante relajación magnética de Néel o relajación de Brown. (Figura 3)

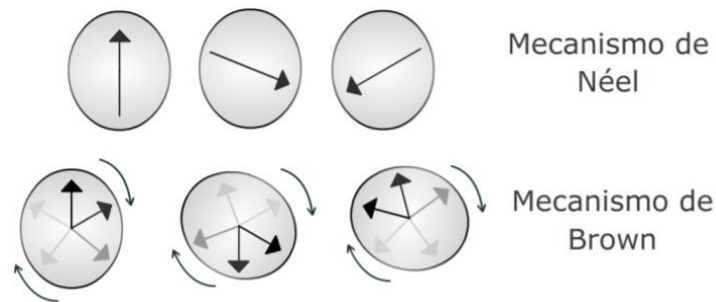


Figura 3. Esquema de los mecanismos de relajación de Néel y de Brown.

En la relajación de Néel se presenta una rotación del vector de momento magnético sin que haya una rotación mecánica de la misma, mientras que en la relajación de Brown se debe a la rotación mecánica de la partícula, manteniendo su momento magnético en la misma dirección con respecto a ella. Para partículas pequeñas el mecanismo dominante se debe a la relajación de Néel mientras que para partículas grandes la relajación de Brown se explica por rotación de la partícula dentro del líquido transportador [11].

En cualquier caso, la capacidad de calentamiento de un coloide magnético se mide mediante el parámetro llamado potencia específica de pérdidas (SLP, por sus siglas en inglés "Specific Loss Power"), que depende de las propiedades magnéticas de las partículas usadas, y también de la amplitud y frecuencias del campo magnético aplicado. Puesto que el análisis de las propiedades magnéticas que determinan el SLP es un estudio que excede los objetivos de este trabajo, se han utilizado las propiedades del material magnético como fuente de calor para el estudio de la liberación de fármacos, que es el foco de este TFG. Evidentemente, podrían esperarse diferencias entre los efectos de la liberación por calentamiento externo (es decir, termalización con agua) y la liberación resultante del calentamiento 'intrínseco' de las nanopartículas embebidas en las nanofibras. Este tipo de estudio diferencial de los mecanismos microscópicos de liberación requeriría del análisis del SLP para las nanopartículas y las nanofibras magnéticas y la modelización de los mecanismos de relajación, lo que supera los objetivos del presente trabajo, descritos en el siguiente apartado.

2. OBJETIVOS Y PLANTEAMIENTOS

2.1. Objetivos

Con este trabajo de fin de grado, desarrollado en el grupo Hipertermia Magnética del Instituto de Nanociencia y Materiales de Aragón, se ha querido estudiar el **efecto de la temperatura sobre la liberación de un fármaco**. El fármaco se incorporó a un nuevo tipo de material basado en nanofibras poliméricas electrohiladas, desarrollado para liberar moléculas terapéuticas de manera tópica controladamente dependiendo de la temperatura. Los datos experimentales obtenidos se ajustaron mediante un modelo matemático que sigue las curvas de concentración (fármaco disuelto) frente a tiempo.

Para realizar estos experimentos **fue necesaria la adaptación y puesta a punto de un dispositivo de liberación inducida por campos magnéticos alternos**, capaz de medición de concentraciones en tiempo real mediante espectrofotometría UV-vis. El desarrollo de este sistema y los protocolos de medidas ha sido una parte relevante del presente TFG. Se realizaron diferentes experimentos a membranas poliméricas formadas por nanofibras que contienen dicho fármaco. Estos ensayos consistieron en aplicar diferentes temperaturas a las membranas, existiendo diferentes comportamientos según el tratamiento térmico que hayan sufrido las membranas y a la temperatura a la que se sometieron.

Los perfiles de liberación obtenidos se analizaron para determinar la cinética de liberación y conocer la influencia de la temperatura, lo que permitió predecir parámetros de utilidad para su futura implementación como formulación farmacéutica controlada por calor.

2.2. Fabricación de nanofibras poliméricas como forma farmacéutica termosensible

El diseño de este material tiene como objetivo lograr la administración controlada de fármacos a partir de la temperatura como estímulo externo. Concretamente, se pretende una vía de administración tópica, de esta forma se puede cubrir la zona a tratar con la membrana creada, siendo la piel la única barrera a superar y dependiendo de dónde esté localizado el daño se deberán atravesar unas capas u otras de la dermis. La aplicación de calor a la piel puede mejorar la permeación del fármaco a través de la barrera de la piel y aumentar la velocidad de difusión de los fármacos en los tejidos subyacentes. Esto permite una mejor penetración de los fármacos a través de la barrera cutánea. La vasodilatación inducida por la aplicación de calor local también aumenta el flujo sanguíneo a la piel, facilitando la absorción del fármaco.

Como se ha comentado a lo largo de la memoria, se ha querido estudiar y analizar el comportamiento de estos materiales en relación con al perfil de liberación de un fármaco, tanto espontánea como activada magnéticamente. Sin embargo, **debido a la toxicidad que presentan la mayoría de las moléculas usadas en tratamientos oncológicos, para realizar estos análisis iniciales en condiciones de mayor seguridad se ha elegido una molécula equivalente como prueba de concepto.** De este modo, en lugar de utilizar Cisplatino, un fármaco que trata el cáncer, se realizó el estudio con **vitamina B12**, molécula orgánica que también posee grupos funcionales amino, como se puede observar en la Figura 4. En este caso, lo que se busca en la elaboración de la membrana es el atrapamiento de los grupos amino de la vitamina B12 (o del fármaco anticancerígeno) a través de la afinidad con los grupos funcionales carboxilos presentes en el polímero.

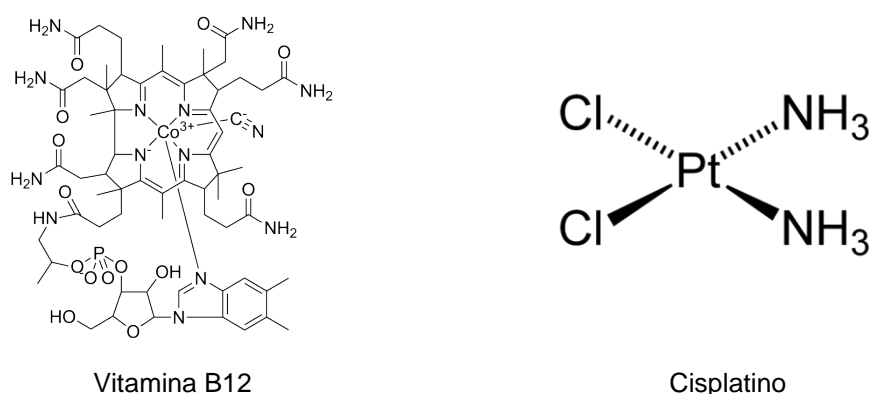


Figura 4. Estructura química de ambos compuestos orgánicos

Teniendo esto en cuenta, el material utilizado se trata de una mezcla de varios compuestos (sistema híbrido) posteriormente hilados, entre los que se encuentran:

- Dimetilformamida (también conocido por las siglas DMF): líquido orgánico que actúa como solvente en la reacción.
- Poliacrilonitrilo (abreviado como PAN): polímero insoluble en agua, es estable debido a la formación de una estructura de escalera a través de la polimerización de nitrilo. Resistente al hinchamiento en disolventes orgánicos y soluble en solventes polares como el DMF [12]. Debido a su comportamiento hidrofóbico, la membrana no se podría disolver y/o pegar en el cuerpo humano, facilitando su retirada. Su estructura química puede ser modificada a través de tratamientos térmicos y es un conocido precursor de fibra de carbono.
- Poli(metil vinil éter-alt-ácido maleico) (PMVEMA-Ac): polímero soluble en agua. Capaz de formar películas y utilizado en adhesión para vendajes. Los grupos carboxilo en su estructura se activan a pH alcalino.
- Vitamina B12: fármaco utilizado en los ensayos del trabajo fin de grado.

La mezcla se agitó a 80 °C durante 2 horas, en una placa calefactora con agitación. Posteriormente, se mantuvo la agitación por 12 horas para tener una mezcla homogénea y lista para el proceso de electrohilado.

La membrana fabricada se sometió a diversos tratamientos térmicos, desde 90 hasta 180 °C durante 12 horas, con la intención de modificar sus propiedades, incluyendo estabilidad, capacidad de disolución y solubilidad en buffer de sulfato salino (PBS) según el grado medio de entrecruzamiento de los polímeros, simulando la interacción que tendría el material al encontrarse en contacto con fluidos biológicos. La temperatura máxima de los tratamientos fue 180 °C, a partir de la cual el PAN se empieza a reciclar formando una estructura reticulada y, por lo tanto, ya no es soluble en PBS.

Al pasar un flujo (PBS) a través de la membrana se disolvió primero la B12 y posteriormente el PMVEMA-Ac, compuestos que se observarían en la señal espectroscópica, pero para que solo se detectara la vitamina B12 (fármaco) se utilizó una membrana de nylon, de esta forma también se evitaron posibles obstrucciones del camino óptico debidas al polímero (macromolécula) (explicación del equipo utilizado en 3.1).

Además de las membranas poliméricas 'simples' con el fármaco incluido, se utilizó una segunda serie de muestras compuestas de las mismas fibras poliméricas, pero con la inclusión de nanopartículas magnéticas (de ferrita de manganeso, $MnFe_2O_4$) de tamaño medio 35-40 nm, optimizadas para el calentamiento mediante inducción magnética [13]. Estas nanopartículas magnéticas pueden generar calor bajo un campo magnético oscilante (100 kHz a 800 kHz), lo que permite la elevación de la temperatura [14]. **Con el uso de estas membranas se quiso demostrar que el calentamiento localizado y activado por campo magnético permite un control remoto de la cinética de liberación.**

2.3. Evaluación de nanofibras poliméricas como forma farmacéutica termosensible

La caracterización de los materiales utilizados en este trabajo consistió en el estudio de sus **propiedades morfológicas y funcionales**, a través de la determinación de las propiedades físicas y químicas de las muestras producidas. Esto resulta imprescindible para prever las prestaciones de las muestras resultantes. Las técnicas utilizadas para llevar a cabo esta caracterización fueron las siguientes:

- SEM (Scanning Electron Microscope): utilizada para determinar la morfología y el tamaño (diámetro) de la fibra.

- FT-IR (espectroscopía infrarroja): se usa para conocer los grupos funcionales que aparecen en la muestra, tratándose de una técnica cualitativa.
- Medida ángulo de contacto: ángulo que forma la superficie de un líquido al entrar en contacto con una superficie, en este caso la de las fibras. El valor del ángulo de contacto depende principalmente de la relación que existe entre las fuerzas adhesivas entre el líquido y el sólido y las fuerzas cohesivas del líquido. Permite posicionar a un material como hidrofílico, hidrófobo o super-hidrófobo (>150°).
- UV-VIS (espectroscopía ultravioleta visible): se utilizó en un sistema continuo para monitorear la concentración.

Así mismo, la evaluación de la respuesta del material elaborado en liberación de vitamina B12 se evaluó en dos fases. Durante la primera, se llevaron a cabo experimentos para conocer si el material cuenta con respuesta modificada por efecto de la temperatura en el medio líquido. Para ello, se obtuvieron los diferentes perfiles de liberación espontánea (sin estímulo) usando PBS a temperatura ambiente (20 °C) y a 30 °C, usando las membranas con los diferentes tratamientos térmicos. Con ello se pretendía conocer el efecto del calentamiento en la respuesta de liberación.

Una vez conocidas las respuestas de las membranas, la segunda fase consistió en experiencias orientadas a determinar la influencia del estímulo magnético en la respuesta. Para ello se apilaron membranas, dejando las fibras cargadas con fármaco en el medio de la pila y las magnéticas en los extremos para garantizar calentamiento uniforme dentro del portamuestras. Después de la liberación espontánea, se activó el campo magnético para permitir el calentamiento inductivo y observar cambios en la velocidad de liberación debido al campo magnético externo.

3. DESARROLLO EXPERIMENTAL

3.1. DRM (Drug Release Monitor)

Los experimentos de liberación del fármaco de prueba en las nanofibras se realizaron en un dispositivo denominado *Drug Release Monitor*. Este dispositivo permite la medición en continuo mediante un circuito cerrado de líquido que atraviesa el portamuestras y pasa por el detector UV-vis. Las partes principales de las que se compone (identificadas en la Figura 5) son la 'rama óptica', formada por una lámpara halógena y un espectrofotómetro con el cual se mide la absorbancia; la bomba peristáltica que impulsa el flujo desde el reservorio al sistema, el portamuestras donde se colocan las diferentes membranas (la de nylon y las que se estudian) y una trampa para burbujas colocada antes del camino óptico para que estas no causen interferencias. Además, fue necesario un agitador

magnético para homogeneizar el contenido del reservorio y un equipo para aumentar la temperatura del agua que calentó el portamuestras.

Existen dos configuraciones en el sistema, en la primera de ellas el flujo no pasa por el portamuestras y se utiliza para estabilizar la circulación y elaborar las calibraciones pertinentes, posteriormente explicadas. En la segunda conformación se incorpora el paso por el portamuestras para elaborar los diferentes experimentos estudiados.

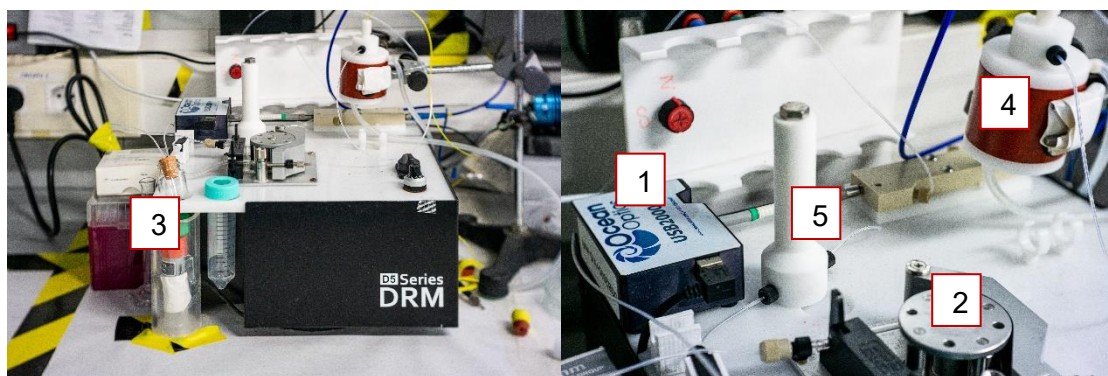


Figura 5. Drug Release Monitor indicando los componentes principales y adaptaciones realizadas: 1) Espectrofotómetro UV-vis, 2) bomba peristáltica, 3) agitador magnético y reservorio, 4) portamuestras con sensor de temperatura y camisa térmica, 5) trampa de burbujas.

3.2. Configuración del flujo

El líquido (en este caso PBS -solución buffer de fosfato-) se impulsa mediante una bomba peristáltica, normalmente el equipo funciona con un sistema de flujo cerrado, pero para determinar el caudal no se cerró. La determinación precisa del caudal circulante durante los experimentos de liberación es un paso importante debido a que el agua (o PBS) circulante actúa como refrigerante de la muestra al cruzar por el espacio del portamuestras, por lo que afecta directamente el proceso de calentamiento y, por tanto, la temperatura a la que se encontrará la muestra para unas condiciones dadas de calentamiento inductivo (amplitud H_0 y frecuencia f del campo magnético aplicado). Por tanto, se hizo un barrido de diferentes condiciones de caudal para ver la magnitud del enfriamiento producido. El caudal se determinó abriendo el circuito y recogiendo el líquido en un tubo Falcon de 15 mL para un intervalo de tiempo (20 segundos) y calculando el volumen se determinó mediante pesada. Se tomó el valor de la masa de PBS en un determinado tiempo, repitiendo el proceso tres veces para minimizar errores experimentales. El caudal seleccionado para no refrigerar excesivamente las muestras fue de $0,20 \text{ m}^3/\text{s}$, que corresponde a una posición concreta del potenciómetro de la bomba (valor: 2, 50). Se ha trabajado con este valor a lo largo de todos los ensayos del Trabajo Fin de Grado.

3.3. Calibración del detector

Calibrar el espectrofotómetro antes de trabajar con él es importante para mantener estandarización y precisión en las mediciones, así como establecer el valor cero, que será la absorbancia del disolvente (en este caso, PBS). Realizando el calibrado se conoce la relación entre la absorbancia y la concentración, que es el parámetro realmente significativo para cuantificar el perfil de concentración o bien la masa de fármaco liberada.

Al tomar los valores de absorbancia se tuvo en cuenta para qué longitud de onda se tiene el mayor valor, en el caso de la B12, la absorbancia máxima se obtiene a una longitud de onda de aproximadamente 360 nm [15] como se muestra en la Figura 6, sin embargo, en el equipo utilizado para estos valores aparece mucho ruido y no es posible obtener datos. Por ello se escogió otro valor máximo que es 509,85 nm.

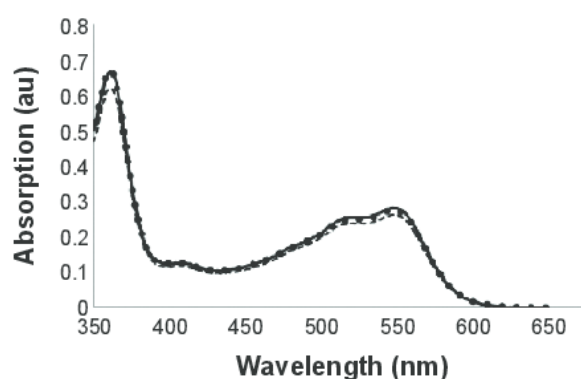


Figura 6. Absorción en función de la longitud de onda de la vitamina B12

En el ANEXO I: Recta de calibrado del UV-Vis, se desarrolla cómo se obtuvieron las disoluciones patrón y con ello, la recta de calibrado.

3.4. Control de temperatura

Como se ha expuesto a lo largo de la memoria, el objetivo principal de este trabajo ha sido estudiar la influencia de la temperatura en la velocidad de liberación de un fármaco. Por lo que fue muy importante controlar y conocer este factor.

En la primera parte del trabajo se llevaron a cabo los experimentos a temperatura ambiente y posteriormente a 30 °C, en cada temperatura se ensayaron las membranas de todos los tratamientos térmicos (90 °C, 120 °C, 160 °C y 180 °C) y de cada tratamiento tres membranas para así poder comparar entre sus resultados y minimizar errores.

Para trabajar con la muestra (membrana) a 30 °C se utilizó el circuito de agua nombrado en el apartado 3.1, este consiste en un depósito de agua, en el que hay una resistencia que funciona a partir de un control “on-off” para calentar el agua a una temperatura

definida (*setpoint*). Debido a la distancia entre el depósito termalizado y las pérdidas resultantes de calor en las tuberías que conectan el depósito con el portamuestras, se realizó un estudio previo de la temperatura de *setpoint* (medida en el depósito) que resultará en la temperatura deseada (30 °C por ej) en el portamuestras. Típicamente, la temperatura de *setpoint* debía ser unos 20 °C mayor que en el portamuestras.

Después de evaluar el comportamiento a la temperatura de forma independiente, se montó el sistema para realizar el estudio de la liberación de las membranas a diferentes temperaturas. El protocolo para la liberación del fármaco consistió en dejar las membranas un intervalo de tiempo variable (típicamente 10-15 min) con flujo circulante a temperatura ambiente.

En el caso de los experimentos con calentamiento producidos por campos EM, se utilizó un aplicador de campos magnéticos AC con control de temperatura mediante el control del campo aplicado, como se explicará en el siguiente apartado (Equipo 2: Controlador Serie D5). Lo que se buscaba con este desarrollo es saber si la membrana se sigue disolviendo al aumentar la temperatura.

3.5. Equipo 2: Controlador Serie D5

El controlador de la Serie D5 (Figura 7) consiste en un equipo que aplica un campo magnético alterno (de radiofrecuencia) permitiendo calentar la muestra que se encuentre dentro de su bobina. El calentamiento procede de las nanopartículas magnéticas incorporadas a las nanofibras, como se ha descrito en la Introducción. Esta forma de calentamiento sustituyó al circuito de agua, haciendo el control de la temperatura más estable y permitiendo la variación de esta característica creando un ciclo desde el propio software de la Serie D5. A parte de este equipo, siguió siendo necesaria la utilización del DRM para medir la absorbancia y circular el PBS.



Figura 7. Controlador para aplicación de campos EM, Serie D5 y bobina utilizada.

En esta parte del trabajo se estableció que cada experimento constaba de un intervalo de 10 minutos en el que el flujo circulaba por el circuito a temperatura ambiente, y tras este tiempo, se aplicaba un campo magnético también durante 10 minutos que calentaba la muestra hasta 30 °C debido a las nanofibras magnéticas colocadas encima y debajo de

la membrana con la vitamina creando un calentamiento homogéneo. Estudiando así el comportamiento de la membrana ante el cambio y si se seguía disolviendo ante él.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Caracterización de las membranas de nanofibras poliméricas

4.1.1. Microscopía Electrónica de barrido (SEM)

Esta prueba de caracterización sirve para conocer la estructura morfológica del material con el que se trabaja. Para poder llevar a cabo el ensayo fue necesario recubrir el material con carbono, haciéndolo conductor y a la vez proporcionando protección a la estructura. Las imágenes obtenidas se muestran en la Figura 8.

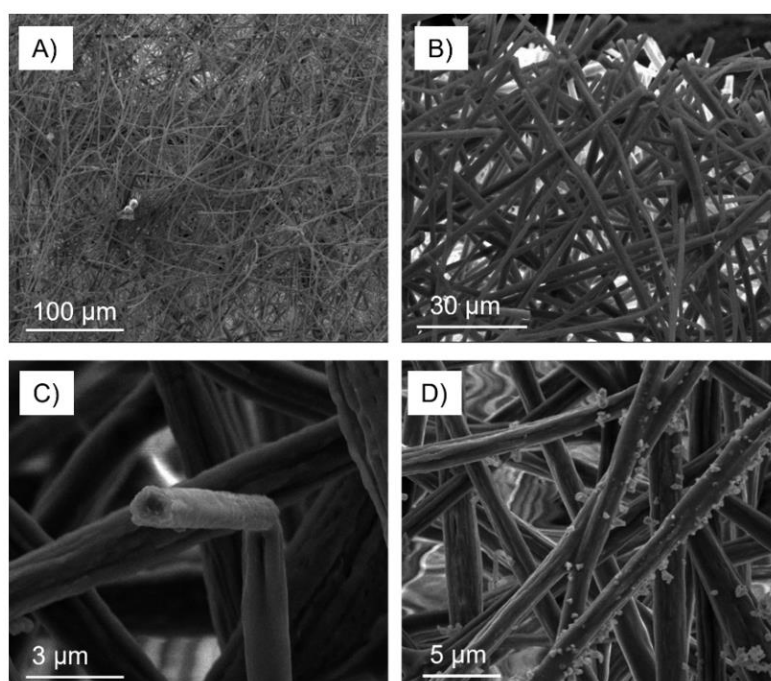


Figura 8. Imágenes obtenidas en la microscopía de barrido.

Tanto en la imagen A) como en la imagen B), se puede observar la distribución de las nanofibras. Se trata de una estructura desordenada y poco homogénea. Haciendo distinción entre estas capturas, en la primera aparecen aglomeraciones de material que no constituyen una fibra, considerándose imperfecciones. Por otro lado, en la imagen B) se muestra el corte de la membrana, el cual se ve limpio.

La figura C) trata de un extremo de fibra, a partir del cual se determina el diámetro promedio de las nanofibras, siendo de $1,3 \mu\text{m}$. Para calcularlo se utilizó el software *ImageJ*. Por último, en la imagen D) también se pueden observar aglomeraciones, las cuales pueden ser de vitamina B12, puesto que en este caso se ha examinado una membrana con gran concentración de este compuesto.

4.1.2. Espectroscopía Infrarroja (FTIR)

La espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR, por sus siglas en inglés) es una herramienta poderosa en el análisis de fibras poliméricas cargadas con fármacos. La técnica posibilita no solo la identificación del polímero mediante sus modos normales de vibración, sino también observar los correspondientes a la molécula terapéutica y elucidar si existen cambios conformacionales en ambas moléculas durante el procesamiento. Cambios en su intensidad o corrimientos en frecuencia corresponden a modificaciones en los grados de libertad de los grupos funcionales, asociados a cambios conformacionales. La estructura del polímero y los grupos funcionales presentes (por ejemplo, grupos amino, carbonilo, metilo y metileno) pueden ser conocidos a partir de las bandas de vibración presentes en el espectro Mostrado en la Figura 9.

Para el análisis de las medidas FTIR, se fijó un rango de 4000 a 500 cm^{-1} y posteriormente, se representaron los datos de transmitancia obtenidos en función del número de onda de la radiación incidente, como se muestra en Figura 9. En este intervalo, es posible identificar los principales grupos funcionales que componen la muestra (Tabla 1), donde se destacan las interacciones con grupos O-H, principalmente provenientes de humedad en las muestras. Los característicos modos normales de vibración de la cadena polimérica compuesta principalmente por metileno y nitrilo (CH_2 y CN) provenientes de las cadenas poliméricas y las aminas presentes en la estructura de la vitamina B12 fueron identificados en todas las muestras, sugiriendo que de existir cambios conformacionales en las moléculas que componen la muestra, su estructura principal fue preservada.

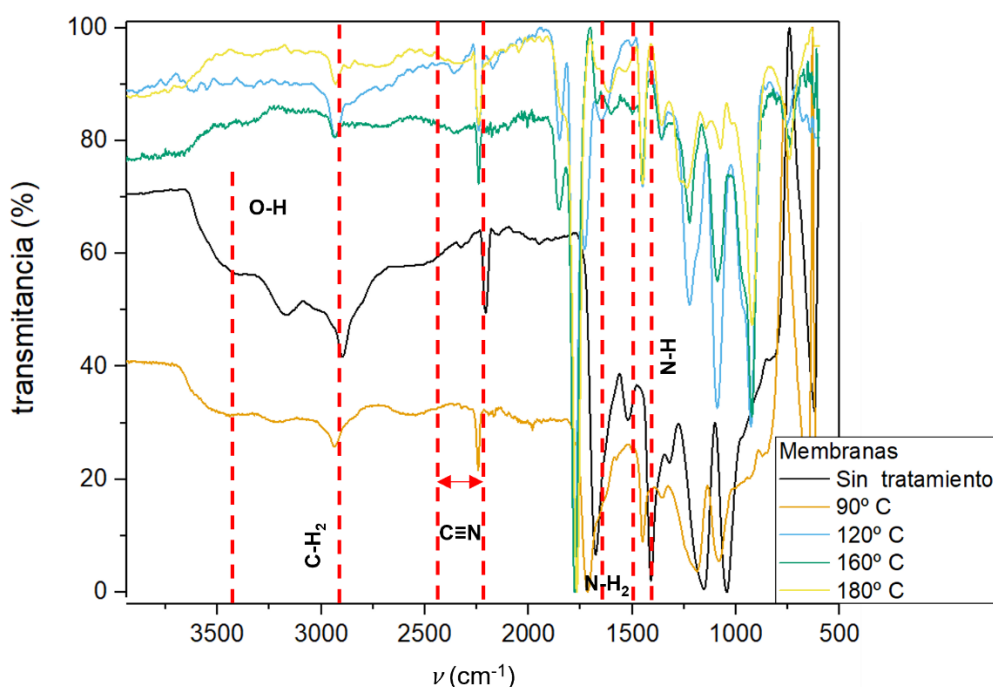


Figura 9. Gráfica espectrofotometría infrarroja para todas las membranas ensayadas

Se observa que las vibraciones correspondientes a los grupos -OH solo aparece en las membranas con un tratamiento de temperatura inferior a la temperatura de ebullición del agua. Los modos normales de vibración de los grupos funcionales en la Tabla 1 representan las interacciones principales de la cadena polimérica. En el pico más abrupto centrado en 2250 cm^{-1} correspondiente al grupo nitrilo ($\text{C}\equiv\text{N}$) no hay cambios significativos, sin embargo, el resto de la banda pierde intensidad al aumentar la temperatura de tratamiento. Conforme la temperatura aumenta en el tratamiento térmico, los grupos nitrilo comienzan a disociarse, lo que inicia el proceso de reticulación.

Tabla 1. Grupos funcionales según el número de onda al que corresponden a la Figura 9.

$\bar{\nu}$ (cm^{-1})	Grupo funcional
3400	O-H
2900	CH_2
2400-2200	$\text{C}\equiv\text{N}$
1700 y 1550	NH_2
1550	NH

Para determinar los grupos que aparecen entre 1800 y 600 cm^{-1} , se trató una gráfica centrada en este intervalo (Figura 10). En este intervalo aparece bastante discrepancia entre la curva de la membrana sin tratamiento y la tratada a 90°C con respecto el resto.

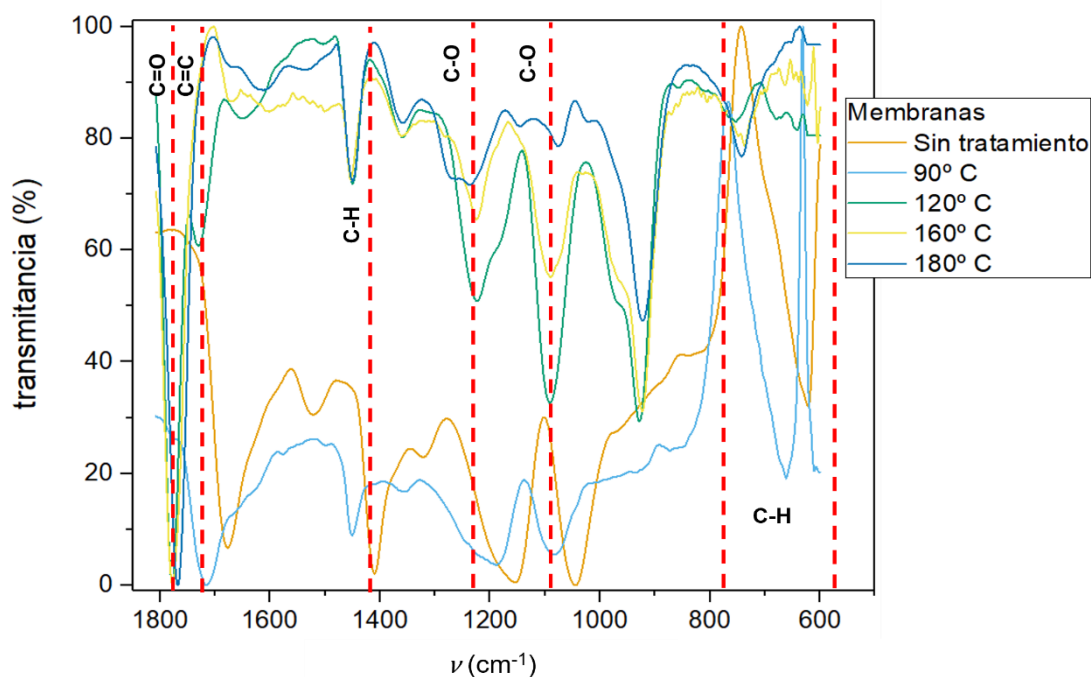


Figura 10 Gráfica de espectroscopía infrarroja en el intervalo $1800 - 600\text{ cm}^{-1}$

Gran parte de las bandas que aparecen se deben a los grupos funcionales que aporta la vitamina B12, pudiendo identificar las aminas tanto primarias como secundarias [16] (Tabla 1). Sin embargo, es importante destacar las interacciones C=C que se observan a 1750 y 1725 cm^{-1} (Tabla 2), lo cual es una prueba de que las cadenas poliméricas sufren cambios conformacionales a partir del tratamiento a 120 °C. Dichos cambios conformacionales impactan directamente en las propiedades fisicoquímicas del material. Con esta caracterización es posible predecir cambios más evidentes en el comportamiento del material a partir de 120 °C de tratamiento térmico.

Tabla 2. Grupos funcionales según el número de onda al que corresponden a la Figura 10

$\bar{\nu}$ (cm^{-1})	Grupo funcional
1750	C=O
1725	C=C
1425	C-H
1240 y 1100	C-O
780 - 580	C-H

4.1.3. Ángulo de contacto

Mediante esta prueba se conoce la afinidad del material a un disolvente, en este caso al agua, puesto que es el principal disolvente del cuerpo. Dependiendo del ángulo de contacto se conoce esta relación. Si se observa una gota sin deformación, se está ante un material hidrofóbico, sin embargo, conforme este ángulo disminuye, la membrana es más hidrofílica. Esta prueba se realizó colocando una gota de agua de 10 μL en la membrana a ensayar, se llevó a cabo en el material tratado a las diferentes temperaturas. En la siguiente imagen (Figura 11) se muestran los resultados obtenidos, teniendo en cuenta el ángulo complementario al de contacto.

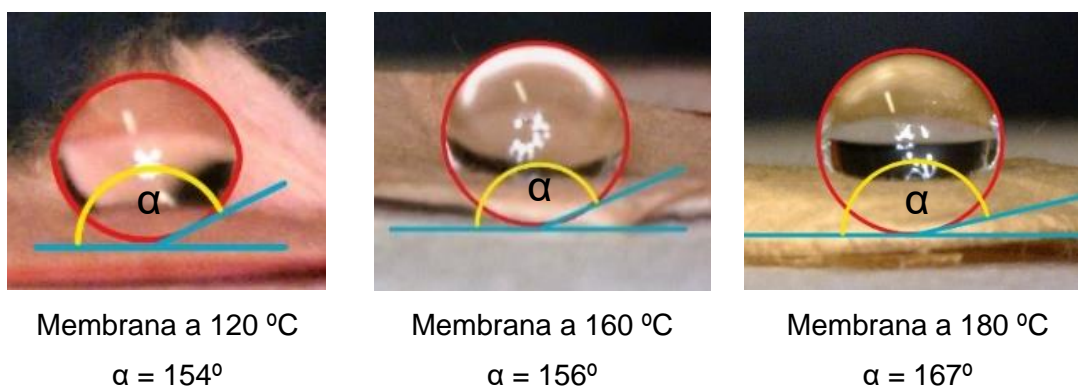


Figura 11. Diferentes membranas en ensayo de ángulo de contacto

Con estos resultados, se obtiene que la membrana sometida a mayor temperatura es la más hidrofóbica, tanto esta y la membrana a 160 °C se pueden considerar **superhidrofóbicas** debido al valor del ángulo. No se tiene constancia fotográfica de la membrana tratada a 90 °C puesto que el agua quedó expandida instantáneamente. En la membrana sometida a 120 °C, la gota se esparció a los pocos segundos.

4.2. Perfiles de liberación

Tras analizar el sistema de nanopartículas utilizado y las curvas concentración frente a tiempo y además comparar todo ello con diferentes referencias y estudios, se ha concluido que la liberación de B12 de la membrana polimérica sigue el modelo de Gompertz. Este modelo es útil para comparar los perfiles de liberación de fármacos que tienen buena solubilidad obtenidos a partir de experimentos *in vitro*. Se trata de una curva exponencial con un fuerte aumento al principio y que converge hacia la disolución máxima [17], dada por:

$$y = Ae^{e^{-k(t-t_c)}} \quad \text{ecuación 1}$$

Donde los parámetros se identifican como:

- $y \equiv$ concentración alcanzada en un determinado tiempo [mg / mL].
- $A \equiv$ concentración máxima que alcanza el sistema [mg / mL].
- $k \equiv$ tasa de disolución [en unidades de s^{-1} o min^{-1}].
- $t \equiv$ tiempo [segundos o minutos].
- $t_c \equiv$ tiempo en el que se ha liberado el 63% de la muestra [segundos o minutos].

4.2.1. Calentamiento sin campo magnético

Dentro de este apartado se encuentran los experimentos realizados mediante calentamiento externo (mediante la recirculación de flujo de agua en un baño termalizado) a temperatura ambiente y a $T_{\text{experimental}}=30$ °C, ambos utilizando el DRM conectado a dicho circuito de agua recirculada con temperaturas controladas. Para la toma de datos de absorbancias se utilizó el mismo espectrofotómetro UV-vis acoplado al DRM.

Los perfiles de liberación para las muestras tratadas a 90 °C, realizados a temperatura ambiente (Figura 12) mostraron un incremento en la concentración liberada durante los primeros 30 s después de puestos en el circuito del líquido circulante, alcanzando un valor constante de 25 $\mu\text{g/mL}$ después de la subida inicial. Esto indicó que la temperatura de tratamiento térmico para un mayor entrelazamiento de las fibras y consiguiente retención de la molécula de B12 podía ser mejorado.

Para las muestras tratadas a 120 °C los perfiles de liberación mostraron una mayor retención del fármaco, con una liberación más lenta durante los primeros 10 min desde el inicio del experimento, sin afectar a la amplitud (máxima concentración liberada) que fue de $A = 28.6 \mu\text{g/mL}$ (véase la Figura 12). Un tratamiento a 160 °C mostró que la liberación del fármaco no se ralentizaba hacia tiempos mayores, y que la concentración máxima liberada decrecía hasta unos $10 \mu\text{g/mL}$, indicando que presumiblemente el fármaco estaba parcialmente ligado a las fibras mediante interacciones químicas más fuertes. Esto fue confirmado mediante muestras tratadas a 180 °C, en las que la liberación del fármaco fue casi indetectable por el espectrofotómetro. La variación en el tiempo de liberación total con la temperatura de tratamiento puede también observarse en los valores de t_c de los ajustes, que indican el tiempo para el cual un 63% del fármaco se ha liberado.

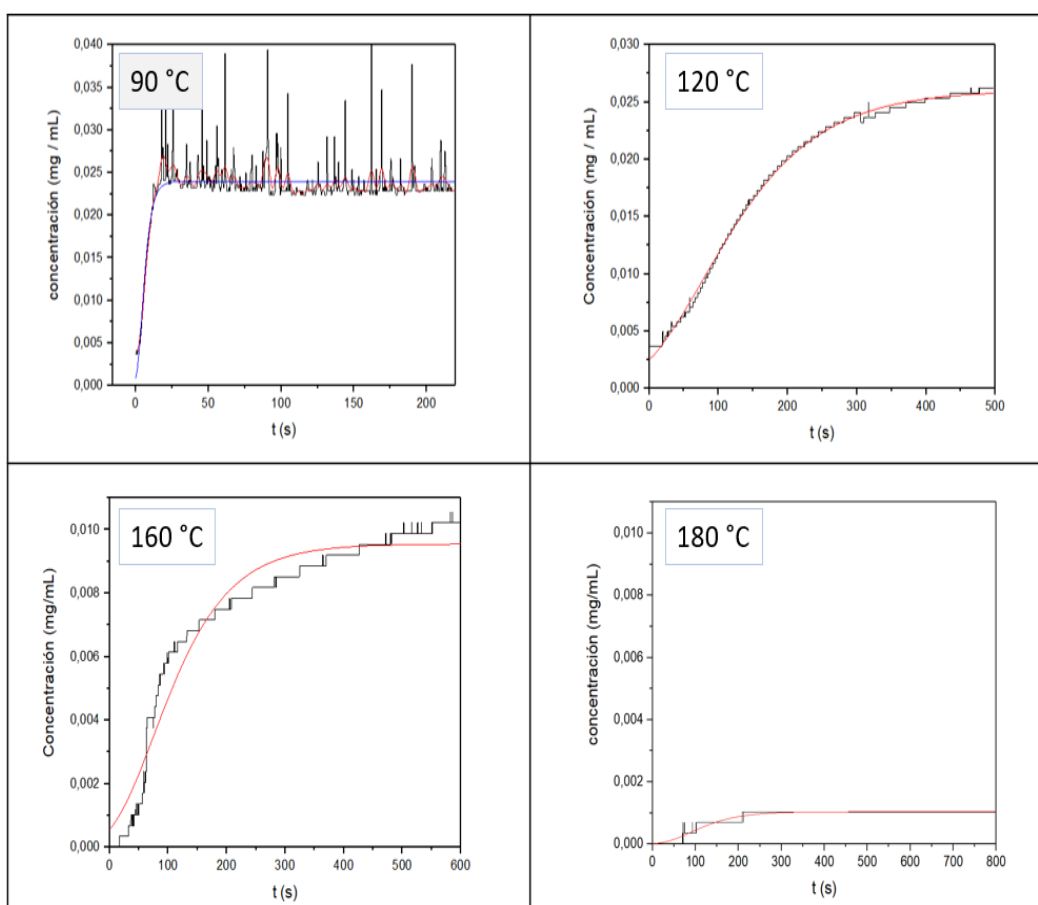


Figura 12. Perfiles de liberación de los experimentos realizados a temperatura ambiente. La temperatura de los distintos tratamientos se indica en la parte superior izquierda de cada panel

La concentración máxima que libera cada membrana también está relacionada con el peso de cada una de ellas, tomado antes de cada experimento. Los valores de masa y el resto de los parámetros para cada repetición se muestran en el ANEXO II.

Los experimentos de liberación realizados a 30 °C (Figura 13) mostraron la misma tendencia general, con una ralentización de la cinética de liberación en función de las

temperaturas de tratamiento, así como una disminución de la cantidad total liberada (amplitud A en los ajustes) para tratamientos térmicos iguales o mayores que 160 °C. Una diferencia observada en todas las muestras fue que hubo una mayor liberación de fármaco, posiblemente inducida por el aumento de la temperatura ($T_{\text{experimental}} = 30 \text{ °C}$) de esta segunda serie de experimentos.

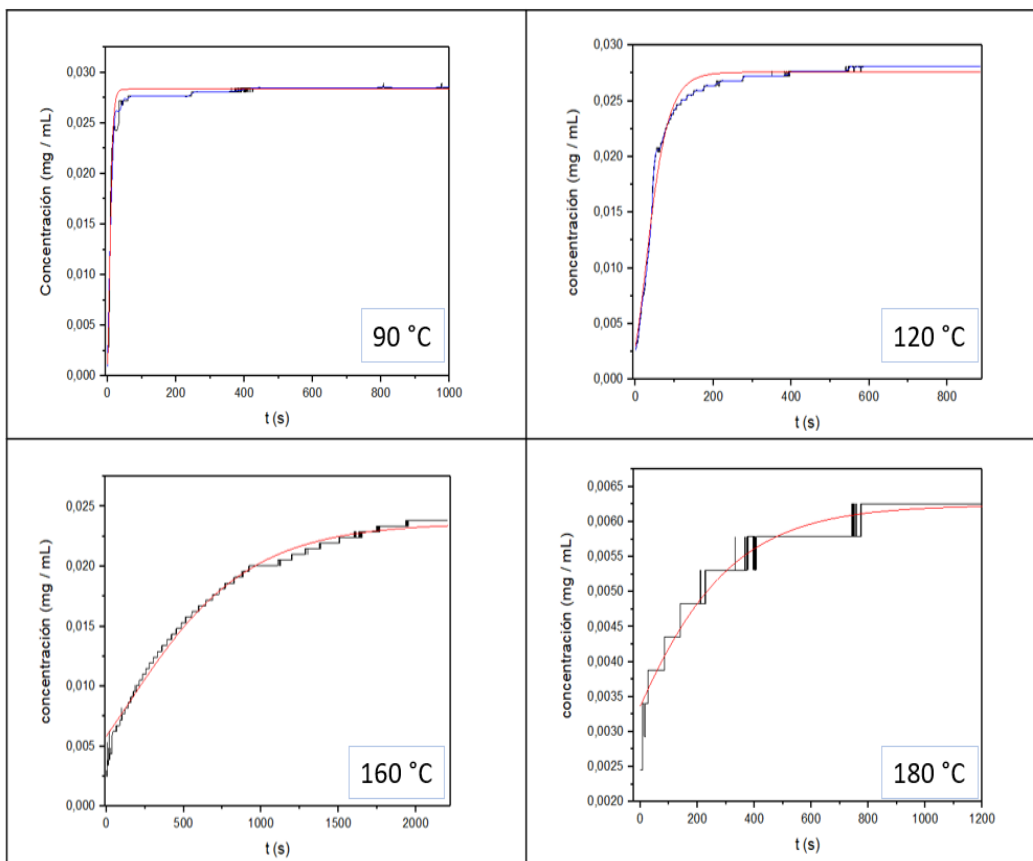


Figura 13. Perfiles de liberación de los experimentos realizados a 30 °C. La temperatura de los distintos tratamientos se indica en la parte inferior derecha de cada panel

4.2.2. Calentamiento con campo magnético

Una vez que se conoció el comportamiento de los perfiles de liberación del material elaborado. Se construyó el sistema de entrega de fármacos estimulado por campo magnético. El sistema consta de fibras cargadas con fármaco (Figura 14 A)), encapsuladas por membranas magnéticas (Figura 14 B)), apiladas una sobre otra. Se puede identificar que la capa magnética mide aproximadamente 25 μm , mientras que la capa cargada con fármaco se extiende hasta los 400 μm . Por lo que fue necesario apilar 8 membranas magnéticas para alcanzar una temperatura de 30 °C en la membrana de estudio. En la Figura 14 C) se observa una imagen con la distribución elemental de la muestra, donde se puede observar hierro en una cara, mientras que en la otra no se observa, mostrando la distribución y separación de las capas.

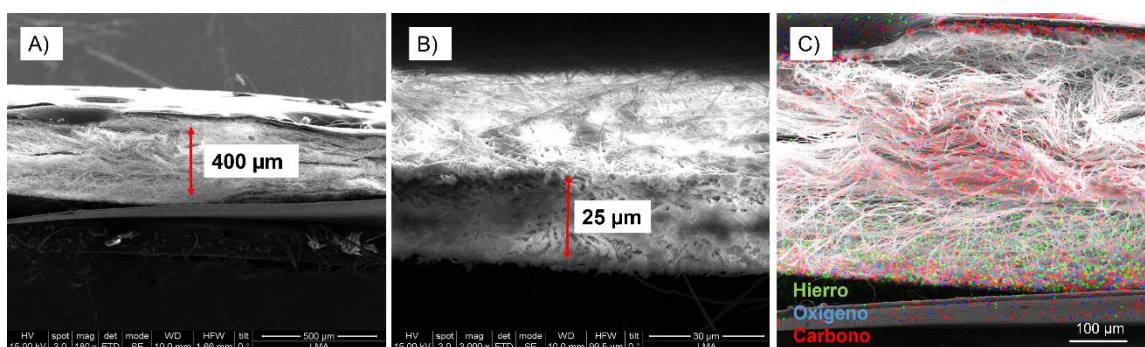


Figura 14. Microscopía electrónica de barrido de la sección transversal de una típica muestra utilizada para los experimentos de liberación usando campo magnético alternante como estímulo

En cada experimento se utilizó una muestra de membrana nueva, y en cada caso se determinó para dicha membrana su masa total, incluyendo la masa de B12 incorporada. Valores típicos se muestran en cada uno de los paneles de la Figura 16. Todos los perfiles de liberación obtenidos estimulando con campo magnético siguen la forma mostrada en la Figura 15. Después de alcanzar el estado estacionario de la liberación espontánea, lo cual sucede habitualmente en los primeros minutos, se observa un incremento en la concentración como respuesta a la acción del campo magnético.

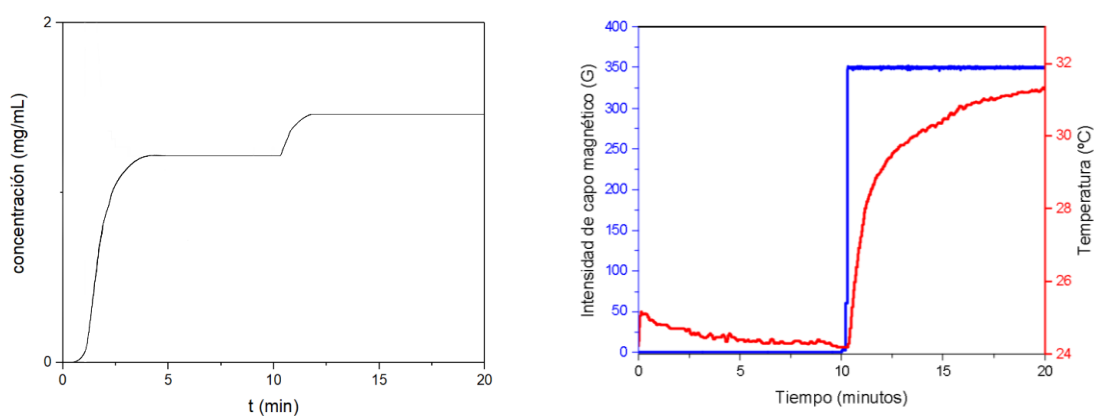


Figura 15. Curvas típicas en los experimentos con campo magnético. Izquierda: evolución de la concentración, derecha: aumento de la temperatura con el campo

En términos generales se observó una concentración liberada de B12 más de 5 veces mayor que en la liberación espontánea (sin campo) para la correspondiente temperatura de tratamiento (T_t). Una vez encendido el campo se observó un incremento en la concentración de B12 en los siguientes 2-3 minutos, hasta alcanzar la máxima concentración. En la Figura 16 se muestra el intervalo de tiempo en el que actúa el campo magnético, mostrando el nuevo incremento de concentración.

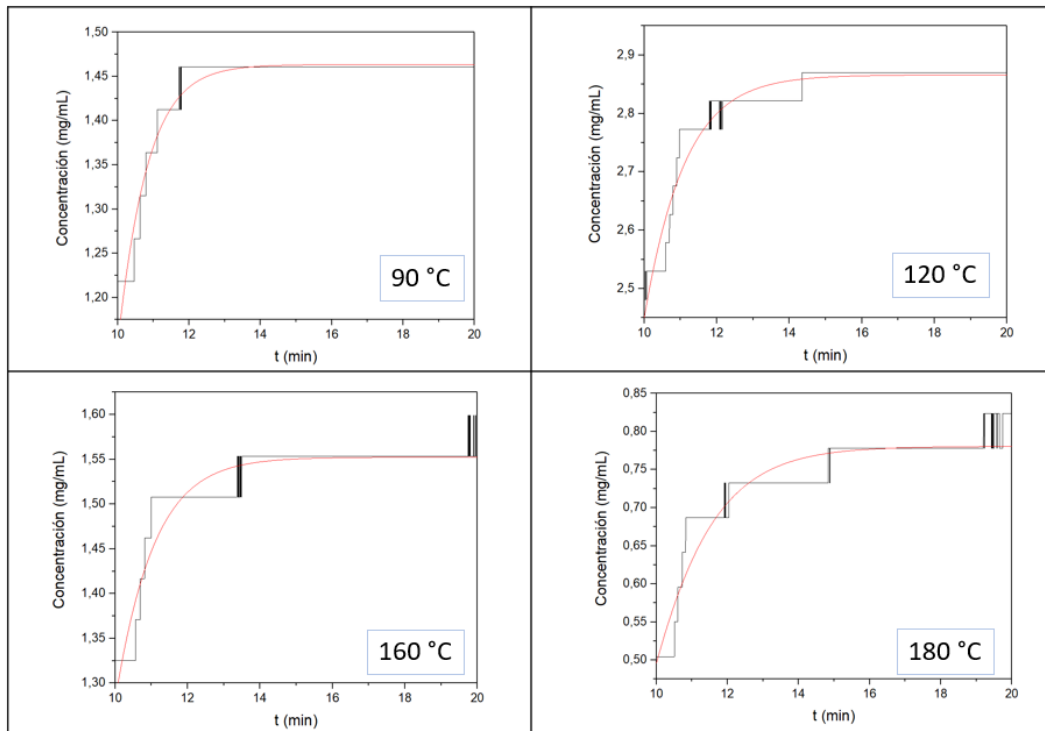


Figura 16. Perfiles de liberación de los experimentos realizados con campo magnético. La temperatura de los distintos tratamientos se indica en la parte inferior derecha de cada panel

Se observó que la cinética fue similar en cuanto a la velocidad de liberación, como se refleja en los parámetros t_c y k de los ajustes. Sin embargo, como se ha mencionado, la diferencia fue fundamentalmente observada en la amplitud A , es decir la cantidad total de B12 liberada con la aplicación del campo. Ya que las cantidades de fármaco incorporadas a las membranas fue del mismo orden de masa, esto indica que el calentamiento inducido por las nanopartículas magnéticas es más eficiente para liberar las moléculas incorporadas a las fibras poliméricas. Una posible explicación a esta mayor eficiencia podría deberse a gradientes de temperatura interna ya que las fuentes de calor (nanopartículas) están incorporadas al material. Asimismo, se han reportado efectos mecánicos de las nanopartículas magnéticas en campos de radiofrecuencia [18], lo que podría contribuir a la ruptura de los enlaces débiles entre el fármaco y las fibras, facilitando su liberación. Estas hipótesis requerirían, para su confirmación, una serie de experimentos adicionales que exceden la propuesta de este TFG.

Otro resultado a destacar es que en todos los experimentos de este apartado se alcanzó el 63% de fármaco liberado (t_c) antes de aplicar el campo, entorno a los 8 o 9 minutos.

Los parámetros de todas las repeticiones del calentamiento con campo magnético se muestran en el ANEXO III.

5. CONCLUSIONES

Tras adentrarme en el estudio de la liberación de fármacos, considero que la entrega de fármacos mediante estímulos es muy importante y que, junto a la liberación dirigida, se puede conseguir un tratamiento médico muy eficaz, sobre todo de cara a la calidad de vida del paciente debido a que se reduce en gran medida la invasión del metabolismo con agentes químicos tóxicos.

Este trabajo me permitió adquirir herramientas tanto en el montaje experimental para este tipo de medidas, que incluyeron la discusión de diferentes estrategias de medición utilizando espectrofotometría UV-vis, así como termalización de muestras y mediciones de temperaturas bajo campos magnéticos. Para el estudio del mecanismo de liberación bajo campos magnéticos utilizando nanopartículas magnéticas he necesitado estudiar diversos aspectos del magnetismo y de la química de adsorción de las moléculas en sistemas poliméricos. Asimismo, la caracterización de los materiales realizada me ha aportado una visión multidisciplinaria de las técnicas de laboratorio que se utilizan en investigaciones de este tipo.

En cuanto al sistema de medición que hemos implementado, capaz de realizar el disparo remoto del calentamiento por campos magnéticos, y simultánea medición de la liberación por UV-vis, los datos producidos muestran que el dispositivo permite la medición rápida de los primeros segundos del proceso de liberación (importante para modelizar los mecanismos) y que tiene buena sensibilidad (al menos hasta concentraciones de 10 ng/mL del fármaco). Es cierto que este dispositivo puede aún ser optimizado en cuanto a su integración y miniaturización, y creo que este trabajo ha contribuido a los primeros pasos en esa dirección.

Los resultados de liberación reportados en este TFG muestran que las nanofibras poliméricas y magnéticas son un material eficaz, ya que el disparo con campo magnético ha resultado ser un control de la liberación más eficiente y estable que el equivalente mediante calentamiento exógeno. Por supuesto, esto implica el control del instante en que se desea la liberación, mediante el disparo con un estímulo remoto (campos magnéticos), lo que añade una nueva dimensión al control de la dosis aplicada en terapias futuras. Por ello, creo que el material es interesante con relación a su potencialidad, ya que puede incorporar agentes que responden a estímulos externos (en este caso calentamiento magnético, pero también puede pensarse en pH, luz o ultrasonido), además de acumular cantidades significativas de fármacos, lo que proporcionaría nuevas posibilidades terapéuticas.

6. BIBLIOGRAFÍA

- [1] **Morcillo, José Sánchez.** *Administración de medicamentos por vía oral.* Granada : s.n., 2012. [en línea]. [Consultado en Julio de 2017]. Disponible en: <https://es.slideshare.net/ugcfarmacigranada/administracion-de-medicamentos-por-via-oral>
- [2] **Juni, Kazuhiko; Nakano, Masahiro; Arita, Takaichi.** Controlled Release of Butamben (Buryl p-aminobenzoate) through Silicone Membrane by Means of Complexation and Micellar Solubilization. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 1977, vol. 25, no 11, p. 2807-2811.
https://www.jstage.jst.go.jp/article/cpb1958/25/11/25_11_2807/article/-char/ja/
- [3] *Nuevas formas farmacéuticas de liberación modificada: revisión y relevancia.* **JM, Paredero Domínguez.** Guadalajara, España : s.n., 2007.
- [4] *Manipulación de especialidades farmacéuticas.* **Ayala, Adela-Emilia Gómez.** 4, s.l. : Farmacia Profesional, 2007, Vol. 21. 02139324.
- [5] *A Summary of Electrospun Nanofibers as Drug Delivery System: Drugs Loaded and Biopolymers Used as Matrices.* **Torres-Martinez, E. J., Cornejo Bravo, J. M., Serrano Medina, A., Pérez González, G. L., & Villarreal Gómez, L. J.** 10, 2018, Current drug delivery, Vol. 15.
- [6] *Porous Biomaterials and Scaffolds for Tissue Engineering.* **Liliana Liverani, Vincenzo Guarino, Vincenzo La Carrubba, Aldo R. Boccaccini.** [ed.] Roger Narayan. s.l. : Elsevier, 2019, Encyclopedia of Biomedical Engineering. 9780128051443.
- [7] *Chapter 3 - Introduction to nanomaterials: synthesis and applications.* **R. Jose Varghese, El hadji Mamour Sakho, Sundararajan Parani, Sabu Thomas, Oluwatobi S. Oluwafemi, Jihuai Wu.** 2019, Nanomaterials for Solar Cell Applications. 9780128133378.
- [8] *Nanofibres in Drug Delivery Applications.* **Samia Farhaj, Barbara R. Conway and Muhammad Usman Ghor.** 21, 2023, MDPI, Vol. 11.
- [9] *Stimuli-responsive nanocarriers for drug delivery.* **Mura S, Nicolas J, Couvreur P.** 11, Noviembre de 2013, Nature Materials, Vol. 12.
- [10] *Charge-reversal nanoparticles: novel targeted drug delivery carriers.* **Xinli Chen, Lisha Liu, Chen Jiang.** 4, 2016, Acta Pharmaceutica Sinica B, Vol. 6.
- [11] *An integrated device for magnetically-driven drug release and in situ quantitative measurements: Design, fabrication and testing.* **Bruvera, I. J., Hernández, R., Mijangos, C., & Goya, G. F.** 2015. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 377, 446-451.
- [12] *Polyacrylonitrile-based nanofibers—A state-of-the-art review.* **S.K. Nataraj, K.S. Yang, T.M. Aminabhavi.** s.l. : Elsevier, julio de 2011, Progress in Polymer Science, Vol. 37.

- [13] *Magnetic nanofibers for remotely triggered catalytic activity applied to the degradation of organic pollutants.* **J.A. Fuentes-García, B. Sanz, R. Mallada, M.R. Ibarra, G.F. Goya.** 111615, Zaragoza : s.n., 2023, *Materials & Design*, Vol. 226. 0264-1275.
- [14] *Multifunctional Nanoparticles for Drug Delivery and Molecular.* **Gang Bao, Samir Mitragotri and Sheng Tong.** s.l. : *Annu Rev Biomed Eng*, 2013, Vol. 15.
- [15] *Enhanced pharmacological activity of Vitamin B12 and Penicillin as nanoparticles.* **Inbar Yariv, Anat Lipovsky, Aharon Gedanken, Rachel Lubart and Dror Fixler.** Israel : s.n., 2015, *International Journal of Nanomedicine*, Vol. 10.
- [16] **Fernández, Germán.** *Química Orgánica Universitatis Chemia.* [En línea] 2023. <https://www.quimicaorganica.org/espectroscopia-infrarroja/791-espectros-infrarrojo-de-aminas.html>..
- [17] *Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems.* **Suvakanta Dash, Padala Narasimha Muerthy, Lilakanta Nath and Prasanta Chowdhury.** 3, 2010, *Polish Pharmaceutical Society*, Vol. 67. 0001-6837.
- [18] *Ultrasound generation and high-frequency motion of magnetic nanoparticles in an alternating magnetic field: Toward intracellular ultrasound therapy?* **J. Carrey; V. Connord; and M. Respaud.** 2013. *Appl. Phys. Lett.* 102, 232404.