



Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.

Posgrado en Materiales Poliméricos

**Síntesis, caracterización y estudios de liberación de clorhexidina
a partir de organoarcillas de montmorillonita o paligorskita, y
sus nanocompuestos, para aplicaciones antibacteriales**

Tesis que presenta

Héctor Ariel Lobato Aguilar

En opción al título de

MAESTRO EN CIENCIAS

MATERIALES POLIMÉRICOS

Asesores

Dr. José Manuel Cervantes Uc

Dr. Jorge Alonso Uribe Calderón

Mérida Yucatán, México

Septiembre de 2017

DECLARACIÓN DE PROPIEDAD

Declaro que la información contenida en la sección de materiales y métodos experimentales, los resultados y discusión de este documento proviene de las actividades de experimentación realizadas durante el período que se me asignó, para desarrollar mi trabajo de tesis, en las Unidades y Laboratorios del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., y que dicha información le pertenece en términos de la Ley de la Propiedad Industrial, por lo que no me reservo ningún derecho sobre ello.

Mérida, Yucatán, Septiembre de 2017

Héctor Ariel Lobato Aguilar

AGRADECIMIENTOS

A mis padres Nancy y Héctor, a mis abuelos Ariel y Mercedes, a mi hermana Valeria y a mis amigos por brindarme su apoyo incondicional, su tiempo y su confianza; siempre pendientes de mis avances.

Al Centro de Investigación Científica de Yucatán A.C. (CICY) por permitirme realizar este proyecto dentro de sus instalaciones y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para poder realizar mis estudios de maestría.

Al Dr. José Manuel Cervantes Uc y al Dr. Jorge Alonso Uribe Calderón por el excelente asesoramiento recibido durante todo el proceso del proyecto de investigación y el especial agradecimiento por haber creído en mí.

A mis revisores, Dr. Fernando Hernández Sánchez y Dr. Luis Jesús Villareal Gómez, por haber revisado todo el documento y por sus valiosas observaciones.

A mis compañeros de la Unidad de Materiales, por su ayuda y paciencia.

Al Dr. Juan Valerio Cauich Rodríguez por haberme permitido el uso del laboratorio de química macromolecular.

Al Dr. Wilberth Herrera Kao y a la Q.I. Rossana Faride Vargas Coronado por brindarme su ayuda técnica y por haber sido tan accesibles en el momento que más necesitaba.

Al Q.I. Santiago Duarte Aranda por haber analizado las muestras en SEM/EDS.

Al M.C. José Martín Baas López y Dra. Beatriz Escobar Morales por el análisis elemental orgánico CHNS-O (Unidad de Energía Renovable).

Al M.C. Daniel Aguilar Treviño y Dra. Patricia Quintana por haber analizado las muestras en DRX en el Laboratorio Nacional de Nano y Biomateriales (LANBIO), Cinvestav-IPN, Unidad Mérida, Proyectos FOMIX-Yucatán 2008-108160 y CONACYT LAB-2009-01 No. 123913.

A todas aquellas personas que he conocido a lo largo de mi formación que dejaron su huella impresa en mi ser.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
MARCO TEÓRICO	3
<i>1.1. Sistemas de liberación de fármacos</i>	3
<i>1.2. Modelado matemático de la cinética de liberación.</i>	5
<i>1.3. Materiales utilizados como acarreadores (vectores)</i>	5
<i>1.4. Arcillas</i>	7
<i>1.4.1. Montmorillonita</i>	8
<i>1.4.2. Paligorskita</i>	10
<i>1.5. Modificación orgánica de las arcillas.</i>	12
<i>1.6. Diacetato de clorhexidina (CA)</i>	13
<i>1.6.1. Estructura y propiedades antibacteriales</i>	13
<i>1.6.2. El diacetato de clorhexidina como modificador orgánico</i>	14
<i>1.7. Técnicas de caracterización para el seguimiento de la modificación orgánica de las arcillas</i>	15
<i>1.8. Materiales compuestos</i>	16
<i>1.8.1. Materiales nanocompuestos</i>	17
<i>1.9. Poli(ácido láctico)</i>	19
<i>1.10. Antecedentes</i>	21
<i>1.11. Justificación</i>	23

Objetivos	24
<i>General</i>	24
<i>Específicos</i>	24
Hipótesis	26
PARTE EXPERIMENTAL	27
<i>2.1. Materiales</i>	27
<i>2.2. Síntesis de las organoarcillas</i>	27
<i>2.3. Caracterización de las organoarcillas</i>	29
<i>2.3.1. Análisis Elemental</i>	29
<i>2.3.2. Microscopía Electrónica de Barrido</i>	29
<i>2.3.3. Espectroscopia Infrarroja con transformada de Fourier</i>	29
<i>2.3.4. Difracción de Rayos X</i>	30
<i>2.3.5. Análisis Termogravimétrico</i>	30
<i>2.4. Preparación del Material Compuesto</i>	30
<i>2.5. Estudios de liberación del CA</i>	31
<i>2.5.1. Liberación a partir de las organoarcillas</i>	33
<i>2.5.2. Liberación a partir del material compuesto</i>	33
<i>2.6 Modelamiento de la cinética de liberación del CA</i>	34
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
<i>3.1. Apariencia física</i>	35

<i>3.2. Caracterización de las organoarcillas</i>	36
<i>3.2.1. Análisis Elemental</i>	36
<i>3.2.2. Microscopía Electrónica de Barrido</i>	39
<i>3.2.3. Espectroscopia Infrarroja con Transformada de Fourier</i>	43
<i>3.2.4. Difracción de Rayos X</i>	46
<i>3.2.5. Análisis Termogravimétrico</i>	49
<i>3.3. Estudios de liberación del CA</i>	51
<i>3.3.1. Liberación a partir de las organoarcillas</i>	51
<i>3.3.2. Liberación a partir del material compuesto</i>	52
<i>3.4. Modelamiento de la cinética de liberación del CA</i>	54
<i>3.4.1. Liberación a partir de las organoarcillas</i>	54
<i>3.4.2. Liberación a partir del nanocompuesto</i>	57
Conclusiones	61
Recomendaciones	63
Anexo	64
Referencias	66

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Tipos de liberación de fármacos. Inmediata (a), prolongada (b), sostenida (c) y retardada (d).	4
Figura 1.2. Ejemplos de acarreadores.	6
Figura 1.3. Estructura de la montmorillonita (MMT).	9
Figura 1.4. Unidades tetraédricas (a) y octaédricas (b) de la montmorillonita (MMT).	10
Figura 1.5. Estructura de la paligorskita (PLG). Estructura tipo cinta (a); Arreglo de las cintas (b); Fibras de la paligorskita (c).	11
Figura 1.6. Estructura química del diacetato de clorhexidina (CA).	13
Figura 1.7. Mecanismo de acción de la clorhexidina como agente antiséptico	14
Figura 1.8. Modificación orgánica de las arcillas	15
Figura 1.9. Tipos de nanocompuestos usando arcillas y polímeros.	18
Figura 1.10. Efecto barrera.	18
Figura 1.11 Estructura química del poli(ácido láctico)	19
Figura 1.12. Esquemas de la producción de PLA. Policondensación (a) y por apertura de anillo (b).	20
Figura 2.1. Procedimiento para preparar organoarcillas.	28
Figura 2.2. Procedimiento para preparar nanocompuestos.	31
Figura 2.3. Espectro UV-Vis de una solución de CA/PBS en la región de 240 nm a 300 nm.	32
Figura 2.4. Curva de calibración del diacetato de clorhexidina.	33
Figura 3.1. Arcillas modificadas orgánicamente con el diacetato de clorhexidina.	35
Figura 3.2. Nanocompuestos elaborados mediante la técnica de mezclado en solución	36
Figura 3.3. Micrografías SEM de MMT.	40

Figura 3.4. Micrografías SEM de PLG.	41
Figura 3.5. Distribución de los diámetros de las nanofibras de PLG.	42
Figura 3.6 Mapeo de nitrógeno por EDX (verde) en organoarcillas; CA-MMT 2.0 CEC (arriba); CA-PLG 2.0 CEC (abajo).	43
Figura 3.7. Espectro FTIR de las arcillas MMT (a); región del número de onda 1800-1200 cm^{-1} (b); región del número de onda 4000-3000 cm^{-1} (c).	44
Figura 3.8. Espectro FTIR de las arcillas PLG (a); región del número de onda 1800-1200 cm^{-1} (b); región del número de onda 4000-3000 cm^{-1} (c).	46
Figura 3.9. Patrones DRX para arcillas modificadas y sin modificar (a) MMT y (b) PLG.	48
Figura 3.10. Curvas TGA para arcillas modificadas y sin modificar (a) MMT y (b) PLG .	50
Figura 3.11. Liberación acumulada de CA de las organoarcillas.	52
Figura 3.12. Liberación acumulada de CA de los nanocompuestos	54
Figura 3.13. Fracción de CA liberada, en función del tiempo, por las arcillas modificadas.	55
Figura 3.14. Fracción (f) de CA liberada, en función del tiempo, por los nanocompuestos de PLA/arcillas modificadas.	58

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1. Tabla comparativa de las arcillas montmorillonita y paligorskita	12
Tabla 2.1. Nomenclatura para las diferentes muestras de organoarcillas	28
Tabla 2.2. Modelos utilizados para el estudio de la cinética de liberación del CA	34
Tabla 3.1. Composición elemental de las organoarcillas obtenida por EDX	37
Tabla 3.2. Análisis elemental de las organoarcillas obtenido de un analizador CHNS-O	38
Tabla 3.3. Contenido de CA y eficiencia de incorporación del fármaco en las nanoarcillas	39
Tabla 3.4. Comparación entre el incremento del espacio basal en la MMT obtenido en este trabajo y la reportada por otros autores.	48
Tabla 3.5. Liberación de clorhexidina a partir de CA-MMT 2.0 y, CA-PLG 2.0 CEC evaluado por UV-Vis ($\lambda = 264$ nm).	51
Tabla 3.6. Liberación de clorhexidina de CA-MMT/PLA 2.0 CEC y CA-PLG/PLA 2.0 CEC evaluado por UV-Vis ($\lambda = 264$ nm)	53
Tabla 3.7. Modelamiento de la cinética de liberación del CA a partir de las nanoarcillas utilizando diferentes modelos.	56
Tabla 3.8. Coeficientes de correlación (r^2) y constante de los modelos de rapidez (k) para las arcillas modificadas.	57
Tabla 3.9. Modelamiento de la cinética de liberación del CA a partir de los nanocompuestos utilizando diferentes modelos.	59
Tabla 3.10. Coeficientes de correlación (r^2) y constante de rapidez de los modelos (k) para los nanocompuestos.	60

RESUMEN

El agente antimicrobiano diacetato de clorhexidina (CA) fue usado como modificador orgánico en dos tipos diferentes de nanoarcillas: montmorillonita de sodio (MMT) y paligorskita (PLG). El CA fue incorporado a varias concentraciones (50, 100 y 200% de la Capacidad de Intercambio Catiónico, CEC) y las organoarcillas resultantes fueron caracterizadas por Espectroscopía por Energía Dispersiva de Rayos X (EDS), Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR), Difracción de Rayos X (XRD) y Análisis Termogravimétrico (TGA). Además, se llevaron a cabo estudios de liberación *in vitro* de CA de las organoarcillas en un medio de buffer salino de fosfatos (PBS). Los resultados de EDS, FTIR y TGA confirmaron que la CA fue exitosamente incorporada a estas nanoarcillas. Los patrones de XRD de MMT/CA muestran un incremento del espacio basal de la MMT cuando la concentración de CA aumenta, sugiriendo la intercalación del fármaco dentro de las galerías de la MMT; en contraste, el pico de difracción de PLG/CA permaneció sin cambios después de la modificación con CA. Los estudios de liberación del fármaco desde las organoarcillas mostraron una liberación inicial tipo ráfaga dentro de las primeras 5 h y luego una liberación sostenida del CA hasta las 24 h. La proporción del CA contenida en la PLG fue mayor que en la MMT. La cinética de liberación obtenida en los nanocompuestos de PLA/organoarcillas presentan un comportamiento diferente al exhibido por las organoarcillas; de hecho, la presencia de una matriz polimérica reduce la concentración del fármaco liberado en el medio. Los estudios del modelamiento de la cinética de liberación señalan que la velocidad de liberación en el sistema que contiene PLG es más rápida que la exhibida por la MMT.

ABSTRACT

Antimicrobial agent chlorhexidine diacetate (CA) was used as an organic modifier for two different types of nanoclays: sodium montmorillonite (MMT) and palygorskite (PLG). CA was incorporated at various concentrations (50, 100 and 200% of Cation Exchange Capacity, CEC) and the resulting organoclays were characterized through Energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), X-Ray Diffraction (XRD), Thermogravimetric Analysis (TGA); in addition, *in vitro* release studies of CA from organoclays were carried out in phosphate buffered saline (PBS) media. EDS FTIR and TGA results confirmed that CA was successful incorporated into these nanoclays. XRD patterns of MMT/CA show an increase in d-spacing of MMT as CA concentration was increased suggesting CA intercalation within the MMT galleries; in contrast, the diffraction peak of CA/PLG remained unchanged upon the CA modification. The drug release studies of the organoclays showed an initial burst release within the first 5 hours and then a sustained release of CA up 24 h. The released fraction of CA contained in the PLG organoclay was higher that observed for MMT ones. The release profiles obtained for PLA/organoclay nanocomposites were different to those exhibited for the organoclays; in fact, the presence of the polymeric matrix reduced the amount of CA released in the media. The mathematical models describing the drug release kinetics showed that PLG systems exhibit higher drug release rates than those obtained for MMT.

INTRODUCCIÓN

La síntesis, caracterización y aplicación de materiales antibacteriales preparados a base de arcillas ha despertado un gran interés en los últimos años debido a su potencial uso en el cuidado de la salud pública. La montmorillonita (MMT) es la arcilla más utilizada en la preparación de materiales antibacteriales a base de diacetato de clorhexidina por lo que existen numerosos reportes al respecto. En contraste, la paligorskita (PLG), una arcilla existente en el sur de la península de Yucatán, no ha sido utilizada para aplicaciones antibacteriales a pesar de su interesante capacidad de absorción. Si bien es cierto que se espera que este tipo de arcilla (la PLG) presente un comportamiento diferente al exhibido por la MMT y sus compuestos, en virtud de que la PLG es una arcilla de tipo fibrilar y la MMT del tipo laminar, sería interesante conocer qué tan diferente podrían ser los materiales elaborados a partir de este mineral arcilloso presente en nuestro Estado. Debido a lo anterior, surgió la idea de preparar y caracterizar organoarcillas a partir de montmorillonita y paligorskita, utilizando diacetato de clorhexidina como modificador orgánico y agente antibacterial. Además de lo anterior, se realizaron estudios comparativos del perfil de liberación de estas organoarcillas, así como de sus nanocompuestos preparados con una matriz polimérica de poli(ácido láctico).

La presente tesis está dividida en tres capítulos; en el primero de ellos se presenta el marco teórico, donde se exponen los diferentes sistemas de liberación de fármacos que existen; luego se introduce el tema de los acarreadores que realizan un papel importante en la liberación controlada de fármacos y, finalmente, se profundiza acerca de la modificación orgánica de arcillas, la elaboración de nanocompuestos y la actividad antibacterial del diacetato de clorhexidina. En el mismo capítulo se desarrollan los antecedentes y se formula la justificación del proyecto, la hipótesis y los objetivos. En el capítulo 2 se presenta la parte experimental donde se documenta todo el proceso de elaboración de las organoarcillas y nanocompuestos así como los procedimientos de caracterización y los estudios de liberación del diacetato de clorhexidina. En el capítulo 3 se presentan los resultados obtenidos de la caracterización y los resultados de los estudios de liberación, así como la discusión correspondiente; de este modo, se comparan los resultados obtenidos

para las diferentes organoarcillas y nanocompuestos obtenidos. Finalmente, se presentan las conclusiones a las que se llegaron con los resultados obtenidos, las recomendaciones para trabajos futuros y, las referencias bibliográficas utilizadas durante el desarrollo del presente documento.

CAPÍTULO 1

MARCO TEÓRICO

1.1. Sistemas de liberación de fármacos.

La liberación de fármacos es el método o proceso por medio del cual se suministra un compuesto farmacéutico de forma programada, para lograr un efecto terapéutico en humanos o animales [1]. Así, hoy en día, la ingesta de medicamentos (fármacos) para el tratamiento de un sinnúmero de padecimientos, deficiencias o enfermedades, es un hecho común y cotidiano. Los compuestos suministrados generalmente se encuentran contenidos (o encapsulados) en diferentes tipos de materiales que tienen como finalidad proteger al medicamento para que éste llegue al sitio en el que actuará. Cuando el fármaco entra al plasma sanguíneo debe mantener idealmente su integridad química y una concentración que se ubique por encima de la concentración mínima efectiva (MEC, por sus siglas en inglés) para lograr su efecto terapéutico, pero por debajo de la concentración tóxica mínima (MTC, por sus siglas en inglés) para evitar sobredosis; es decir, el intervalo o rango terapéutico de un medicamento es cuando su concentración, en el plasma sanguíneo, se encuentra entre la MEC y la MTC (ver Figura 1.1).

En la literatura existen diferentes formas de clasificar el tipo de liberación del principio activo, siendo unas más completas y estrictas que otras. En general, la liberación de fármacos se dividen en dos tipos: liberación inmediata y liberación modificada del medicamento (droga). En el primero de ellos (también llamado liberación convencional o rápida) existe un control nulo en la tasa de liberación y ésta depende de las propiedades intrínsecas del fármaco (ver Figura 1.1a), mientras que en el segundo se modifica la rapidez o el lugar de liberación de la sustancia activa a través de formulaciones particulares y/o métodos de fabricación especiales.

La liberación modificada se sub-divide en liberación retardada y liberación controlada. En los sistemas de liberación retardada (ver Figura 1.1d), el medicamento no es liberado inmediatamente después de haber sido suministrado (por ejemplo algunas formulaciones gastro-resistentes). En contraste, en los sistemas de liberación controlada, el principio activo es liberado de manera continua, prolongándose el efecto terapéutico.

La liberación controlada de fármacos puede llevarse a cabo de dos maneras: de forma sostenida (ver Figura 1.1c), en donde el principio activo se libera a una velocidad constante con el objeto de conseguir una velocidad de absorción también constante y así disminuir las fluctuaciones de los niveles plasmáticos; o bien, de forma prolongada (ver Figura 1.1b), en donde el fármaco es liberado de forma más lenta que la de una forma farmacéutica de liberación convencional administrada por la misma vía, de manera que la concentración del principio activo en el plasma dure una mayor cantidad de tiempo [2-3].

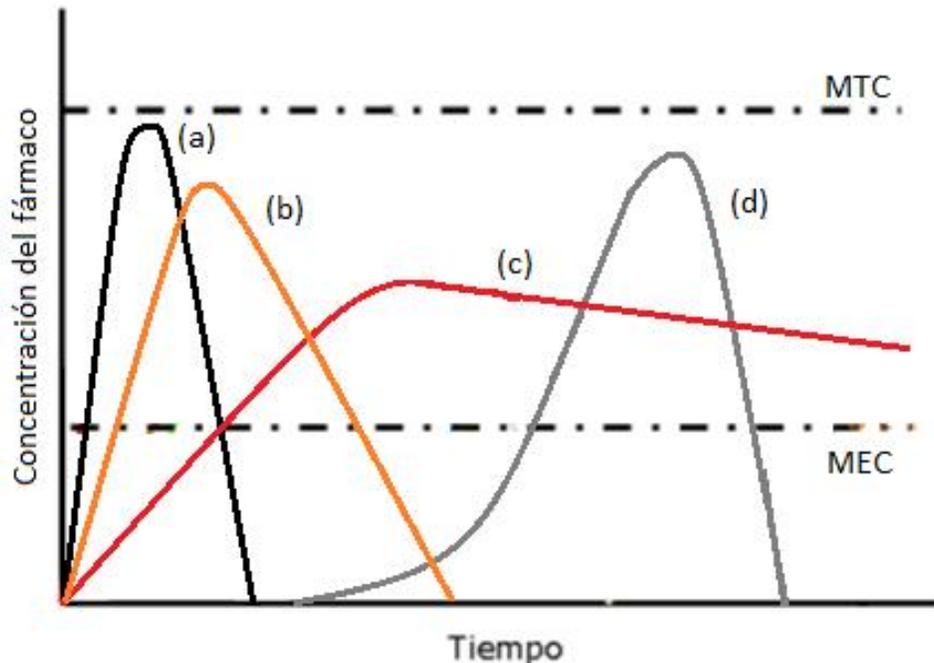


Figura 1.1. Tipos de liberación de fármacos. Inmediata (a), prolongada (b), sostenida (c) y retardada (d).

1.2. Modelado matemático de la cinética de liberación.

El modelado matemático describe la rapidez de liberación del fármaco y el comportamiento de difusión de estos sistemas mediante la solución de un modelo apropiado, reduciendo así el número de experimentos necesarios para establecer los requerimientos posológicos del medicamento. El modelado matemático en la liberación controlada de fármacos puede proporcionar conocimientos científicos sobre los mecanismos de transporte masivo implicados en el control de la liberación del fármaco. El modelamiento matemático puede facilitar significativamente la optimización de los productos existentes, como el desarrollo de nuevos productos farmacéuticos [4].

1.3. Materiales utilizados como acarreadores (vectores).

Los acarreadores (algunas veces también llamados vectores) son estructuras formadas a partir de materiales de tamaño micrométrico o nanométrico que ofrecen la capacidad de proteger a los fármacos de su degradación hidrolítica y/o enzimática en el tracto gastrointestinal; lo anterior se logra mediante el confinamiento del medicamento o principio activo dentro de su estructura.

Con el desarrollo de la nanotecnología, el uso de diversas sustancias de escala nanométrica que actúan como nanoacarreadores ha cobrado un auge considerable; algunos ejemplos de estos materiales se muestran en la Figura 1.2. Los nanoacarreadores pueden controlar la liberación, suministrar fármacos a través de otras rutas diferentes a la oral, son capaces de disminuir su metabolismo (asimilación) de forma indirecta y, liberar una mayor cantidad de fármaco en el sitio deseado. Todo lo anterior minimiza las variaciones de la concentración del fármaco en el plasma sanguíneo, dentro del rango terapéutico, reduciendo los efectos secundarios. [5-6].

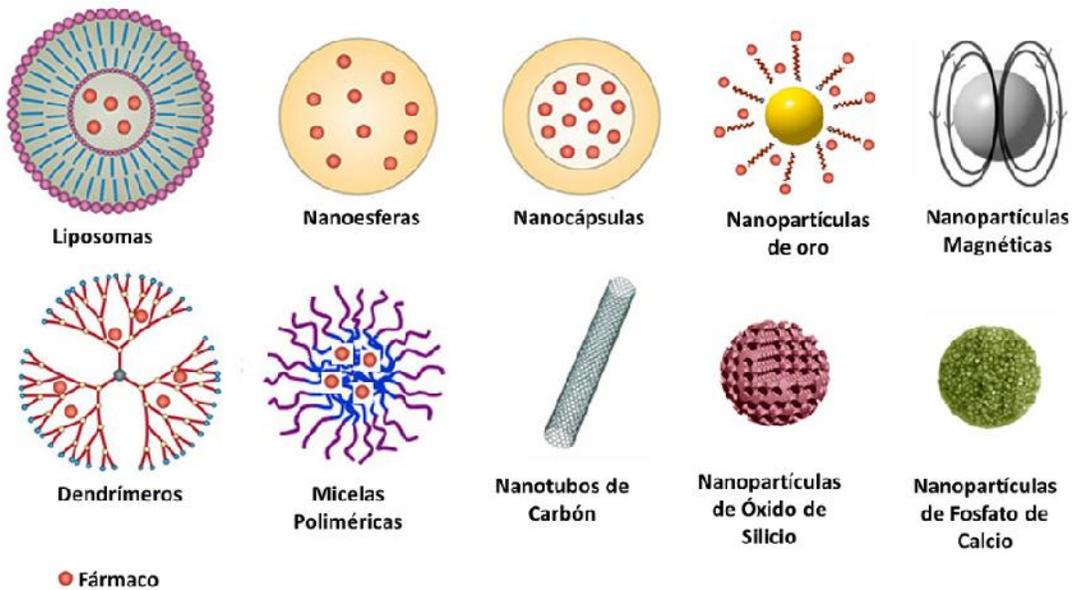


Figura 1.2. Ejemplos de acarreadores [5].

Los primeros nanoacarreadores que se utilizaron para el tratamiento de enfermedades fueron los liposomas. Estas estructuras están compuestas de fosfolípidos y tienen un tamaño entre 50 y 100 nm. Normalmente se emplean en la administración de fármacos a través de la piel, aunque también se han propuesto para la administración pulmonar u ocular. Su principal desventaja es que pueden ser eliminados por el cuerpo antes de cumplir su objetivo, aunque eso puede evitarse modificándolos químicamente agregándoles un tensoactivo [5].

Las nanopartículas poliméricas son estructuras sólidas, con un tamaño entre 10 a 1000 nm, en donde el fármaco se encuentra distribuido a través de toda la matriz y pueden ofrecer una liberación sostenida de hasta meses. Su tamaño les permite ingresar a los capilares y ser absorbidos por las células [5-6]. Por su parte, las nanopartículas sólidas lipídicas resultan ser menos tóxicas que las poliméricas por su biodegradabilidad. Al igual que las poliméricas, éstas son esféricas, con un tamaño entre 50 y 1000 nm. Tienen la propiedad de atravesar la barrera hematoencefálica y alcanzar el tejido cerebral, por lo que se emplean para la liberación de medicamentos del sistema nervioso. Su principal desventaja es que se

necesitan altas temperaturas para poder obtenerse y eso puede degradar el fármaco que se desea incorporar [5].

Las nanocápsulas, aunque también son partículas poliméricas, éstas no son totalmente sólidas; poseen un núcleo líquido el cual está rodeado por una pared polimérica. Su tamaño se encuentra entre 100 y 500 nm. Entre los métodos de obtención de nanocápsulas se encuentran la polimerización interfacial, la precipitación interfacial y los métodos de nanodeposición. Estas nanoestructuras resultan de gran interés porque la capa polimérica protectora es la que permite al nanoacarreador el control en la liberación de los fármacos [5-6].

Los dendrímeros son estructuras ramificadas con un núcleo interno; poseen ventajas como su bajo índice de polidispersidad, múltiples sitios de unión, tamaño controlable y una estructura fácil de modificar. El tamaño de estas estructuras va desde 10 nm hasta 100 nm. [5-6].

Además de los casos anteriores, se han utilizados como nanoacarreadores para la liberación de fármacos, nanopartículas inorgánicas de oro, plata, níquel, óxido de silicio y hierro, además de sulfato de calcio, fullerenos, nanotubos de carbono y arcillas, entre otros. Las dimensiones de estas nanopartículas van de 0.8 a 200 nm, por lo que tienen una gran área superficial que les permite cargar sustancias terapéuticas, aunque en algunos casos las superficies de éstas se deben funcionalizar para promover su actividad terapéutica [5].

1.4. Arcillas

Las arcillas son aluminosilicatos hidrofílicos que poseen una gran área superficial, gran capacidad de absorción, propiedades reológicas óptimas, son inertes y poseen una baja toxicidad. Debido a lo anterior, éstas pueden ser usadas en aplicaciones farmacéuticas diversas, de entre las que destaca actuar como portadores de fármacos. Además, las arcillas son fáciles de obtener y a bajo costo [7-8].

Otra propiedad interesante que poseen las arcillas es la denominada “capacidad de intercambio catiónico” (CEC, por sus siglas en inglés), que se define como la cantidad de iones cargados positivamente que pueden ser atraídos por la superficie de la arcilla (la cual se encuentra cargada negativamente) y es expresada en miliequivalentes (*meq*)/100 g de arcilla [9].

Las arcillas se pueden clasificar de diferentes maneras; por ejemplo, de acuerdo al proceso geológico que las originó, a la ubicación del yacimiento en el que se encuentran, a su estructura, por sus propiedades, etc. Un grupo de arcillas que se ha utilizado en la medicina tradicional y que es conocida como “tierras de fuller o de batán” (categoría proveniente de la clasificación de las arcillas según sus propiedades de absorción y blanqueamiento), han sido estudiadas actualmente como sistemas de liberación de fármacos, siendo la más utilizada la montmorillonita. Estas arcillas se han estudiado solas o en combinación con otros materiales (como los polímeros) para formar nanocompuestos; ejemplos de estos son el poli(alcohol vinílico)/montmorillonita (PVA/MMT) y poliuretanos/montmorillonita (PU/MMT) [10].

1.4.1. Montmorillonita

La principal característica de este tipo de arcilla es su geometría laminar; tiene una capacidad de intercambio de cationes que va de 80 a 100 *meq*/100 g y su fórmula molecular es $(\text{Na}, \text{Ca})_{0.33}(\text{Al}, \text{Mg})_2(\text{Si}_4\text{O}_{10})(\text{OH})_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$. La estructura de la montmorillonita (MMT) es del tipo 2:1, la cual se puede describir como arreglos de dos hojas o láminas, con unidades tetraédricas, cubriendo una octaédrica de tamaño nanométrico (1 nm), tal y como se observa en la Figura 1.3 [11-12].

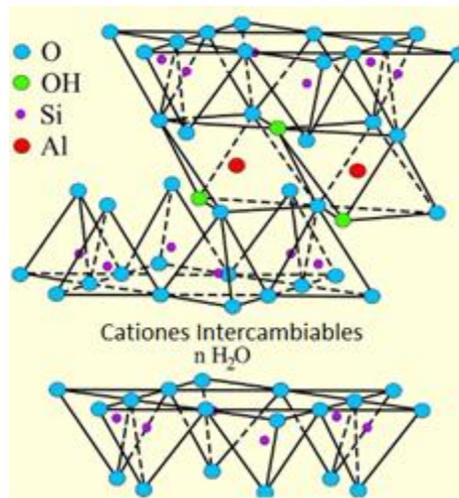


Figura 1.3. Estructura de la montmorillonita (MMT) [11].

Las unidades tetraédricas están formadas por un átomo central de silicio rodeado de cuatro iones de oxígeno, en una coordinación tetraédrica (ver Figura 1.4a). Por su parte, las unidades octaédricas se encuentran formadas por un átomo central polivalente de aluminio, rodeado por seis iones de oxígeno o hidroxilo, en una coordinación octaédrica (ver Figura 1.4b) [13]. Las láminas de la arcilla se encuentran unidas solamente por fuerzas de Van der Waals, enlaces débiles de O-O y enlaces catión-O, lo que hace que la red cristalina sea inestable; además existe una carga negativa debido a la sustitución isomórfica del silicio (fenómeno que ocurre cuando un elemento perteneciente al mineral es sustituido por otro elemento que tiene la misma forma pero diferente carga). Las sustituciones isomórficas típicas cambian el magnesio por el aluminio y, en menor medida, el aluminio por el silicio. Lo anterior permite una fácil expansión del cristal y la entrada de moléculas de agua y cationes como Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} en el espacio interlamina, los cuales pueden ser intercambiables [13-16].

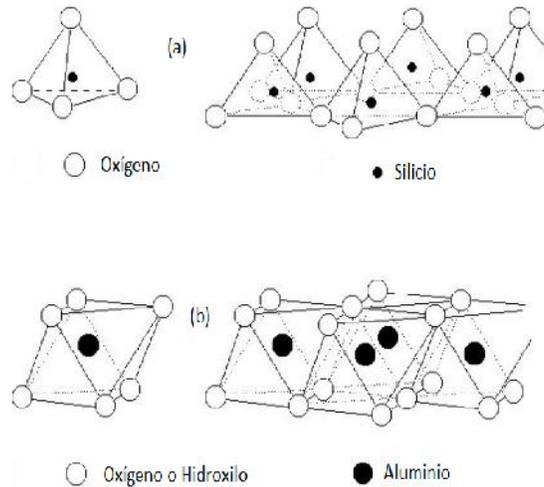


Figura 1.4. Unidades tetraédricas (a) y octaédricas (b) de la montmorillonita (MMT) [13].

1.4.2. Paligorskita

La paligorskita, también llamada atapulgita, es un mineral fibroso, de aluminio y magnesio, hidratado, cuya fórmula química es $(Mg, Al)_2Si_4O_{10}(OH) \cdot 4(H_2O)$; es considerada como una tierra de batán o de fuller porque tiene capacidades de absorción y blanqueamiento, como la montmorillonita, aunque ésta última tiene mayor CEC [10]. Su estructura también es del tipo 2:1, con hojas octaédricas de óxido/hidróxido de magnesio o aluminio dentro de hojas tetraédricas de sílice, aunque éstas se encuentran a manera de cinta, a diferencia de la montmorillonita (ver Figura 1.5a). Además, la paligorskita presenta espacios vacíos llamados micro-túneles donde se encuentran cationes intercambiables, así como agua zeolítica. Los micro-túneles son formados por una discontinuidad de la hoja octaédrica debido a una inversión periódica de la hoja tetraédrica [11, 17]. Cada cinta se une a la siguiente mediante enlaces Si-O y, de esta forma, los ápices tetraédricos apuntan en direcciones opuestas en las cintas adyacentes (ver Figura 1.5b). Las cintas se encuentran paralelamente al eje X y tienen una anchura promedio en el eje Y de 1.79 nm. Existen átomos de oxígeno que se encuentran en el borde de la hoja octaédrica, los cuales se encuentran coordinados a los cationes ubicados solo del lado de la cinta, mientras que en el lado de los canales ocurre coordinación y balance de cargas debido al agua coordinada y

una pequeña cantidad de cationes intercambiables presentes en los micro-túneles. Las cintas forman fibras que pueden medir varios micrómetros de longitud y, de 10 a 30 nm de espesor (ver Figura 1.5c), con canales internos paralelos a la longitud de la fibra [18].

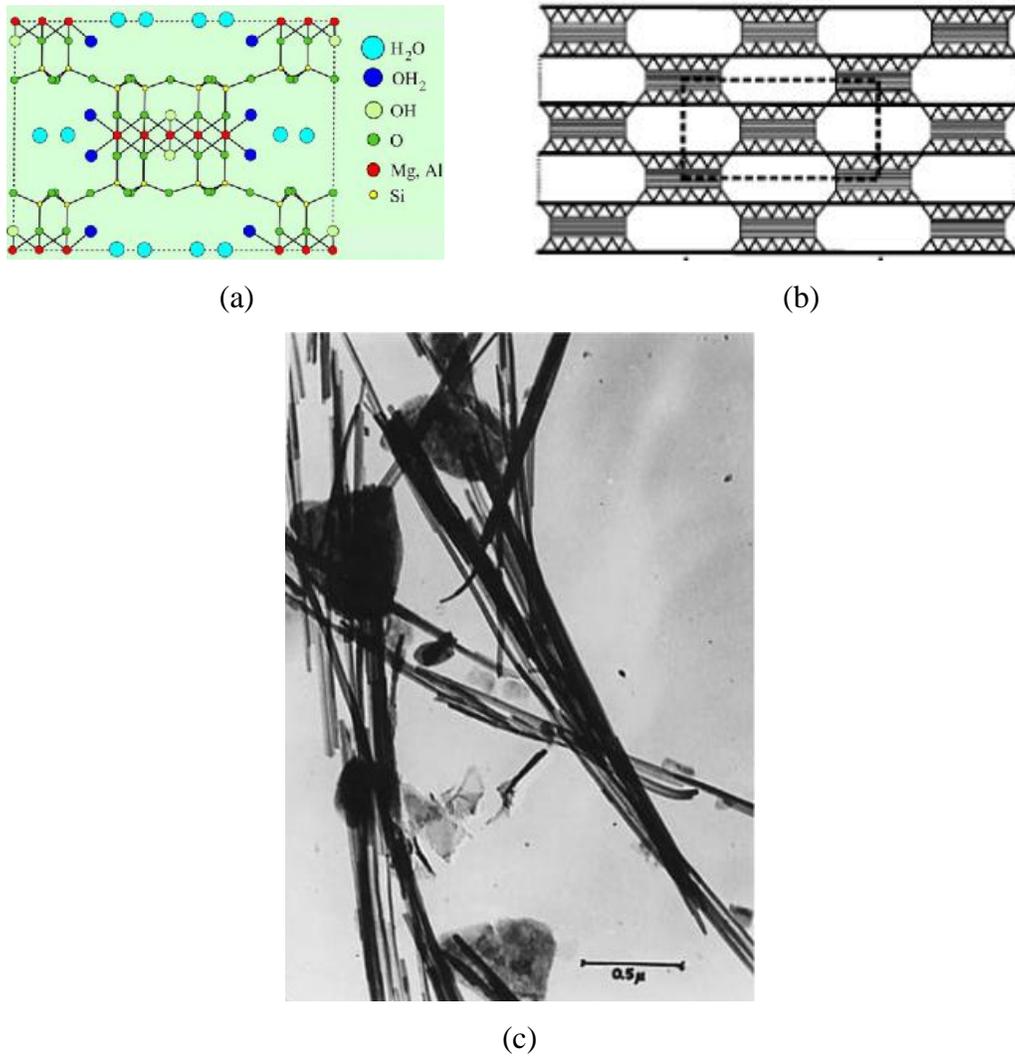


Figura 1.5. Estructura de la paligorskita (PLG). Estructura tipo cinta (a); Arreglo de las cintas (b); Fibras de la paligorskita (c). [11,18].

La Tabla 1.1 muestra las principales características de la montmorillonita y la paligorskita.

Tabla 1.1. *Tabla comparativa de las arcillas montmorillonita y paligorskita*

Propiedad	Montmorillonita	Paligorskita
CEC	80 - 100 meq/ 100 g	10 - 50 meq/ 100 g
Estructura	2:1; hojas octaédricas dentro de tetraédricas formando láminas.	2:1; hojas octaédricas dentro de tetraédricas a manera de cinta.
Morfología	laminar	fibrilar

1.5. Modificación orgánica de las arcillas.

Las arcillas modificadas orgánicamente son comúnmente llamadas organoarcillas. El proceso de modificación orgánica de las arcillas normalmente involucra un intercambio de cationes, de los iones calcio o sodio originales, por otros; este intercambio de iones se realiza normalmente en soluciones acuosas. Sin embargo, las arcillas pueden ser modificadas mediante el injerto de sustancias específicas (por ejemplo, agentes de acoplamiento tipo silano, polímeros, etc.). El objetivo de llevar a cabo esta modificación es reducir la energía superficial de las arcillas para hacerlas más afines con materiales de interés; en el caso de compuestos poliméricos, el proceso trata de igualar la polaridad de éstas con la del polímero; es decir, mejorar la compatibilidad entre ambos. [8]

La inserción de sustancias a las arcillas no solo modifica la superficie de las arcillas incrementando su carácter hidrófobo, sino que también incrementa el espacio basal de las arcillas laminares, lo que facilita la intercalación de sustancias químicas o bien, cadenas poliméricas durante la preparación de nanocompuestos a partir de éstas. La estructura de la organoarcilla y el espacio entre sus láminas también dependerá no solo del tamaño molecular de las sustancias insertadas durante la reacción de modificación, sino también de la concentración de estas últimas. [8, 14, 19-20]

La afinidad a la hidratación de los cationes de sodio monovalentes facilita el proceso de intercambio iónico e incrementa la eficiencia de la modificación orgánica en las láminas de la arcilla; en contraste, las arcillas que contienen cationes divalentes, como el calcio, no son fácilmente hidratables por lo que su proceso es menos eficiente [8].

1.6. Diacetato de clorhexidina (AC)

1.6.1. Estructura y propiedades antibacteriales

La clorhexidina es una sustancia antiséptica, con acción bactericida de amplio espectro y, fungicida; es hidrófoba, lipofílica y resulta ser dicatiónica a un pH > 3.5 [21-22]. Debido a las características descritas anteriormente, resulta ser el antiséptico y biocida más utilizado en la actualidad para evitar la transmisión de enfermedades causadas por bacterias en los hospitales y, en aplicaciones tópicas como antisépticos y agentes antiplaca en productos dentales [16,23]. La clorhexidina es una molécula simétrica y está conformada por dos anillos de clorofenilo y por dos grupos biguanida que se conectan por medio de un puente central de hexametileno. Dos de las presentaciones más comunes de la clorhexidina, comercialmente disponibles, son el gluconato y el acetato, siendo este último el más utilizado cuando se quiere usar esta sustancia como modificador orgánico de arcillas; su estructura se presenta en la Figura 1.6. [22,24].

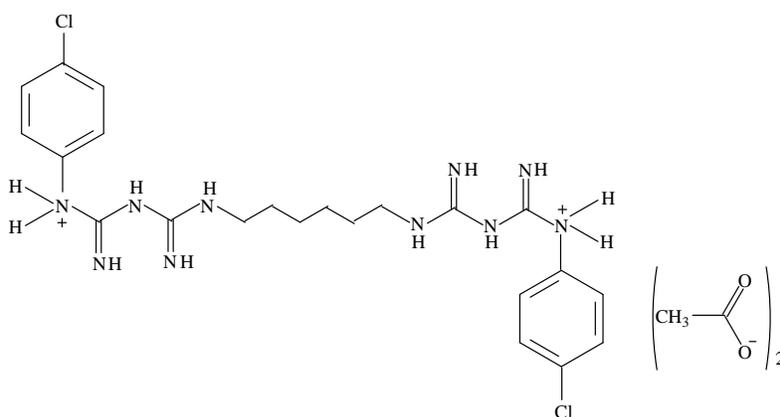


Figura 1.6. Estructura química del diacetato de clorhexidina (CA) [25].

La clorhexidina (ver Figura 1.7a), por ser dicatiónica, resulta atraída por la carga negativa presente en los fosfolípidos y lipopolisacáridos de la pared celular de la bacteria afectando la integridad de ésta (Figura 1.7b). Al ser dañada la pared bacteriana, la clorhexidina destruye la membrana interior causando fuga de los componentes de la bacteria (Figura 1.7c), lo cual provoca su muerte (Figura 1.7d) [21-22,27].

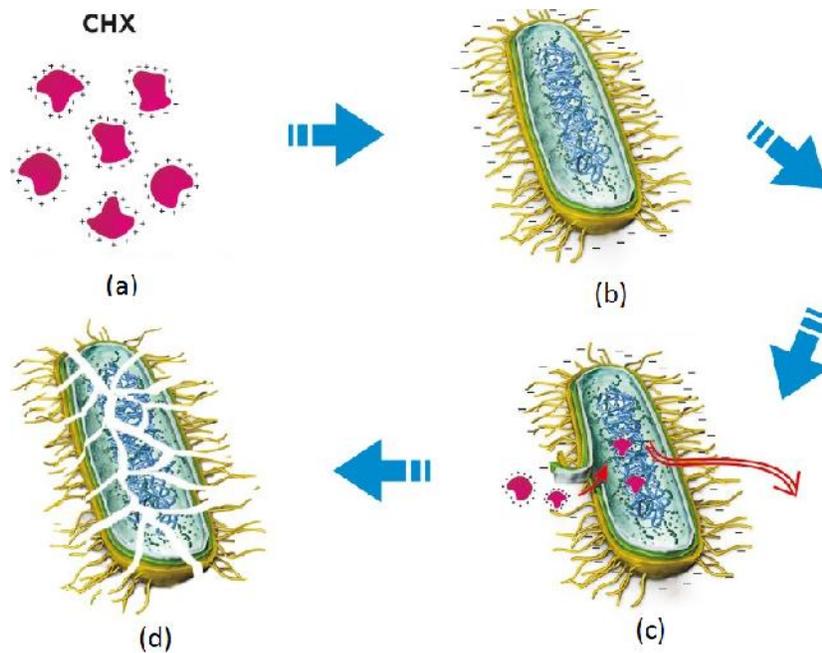


Figura 1.7. Mecanismo de acción de la clorhexidina como agente antiséptico [26].

Es importante mencionar que es poco común encontrar efectos secundarios negativos por la aplicación de este fármaco y, hasta el momento, no se conoce que alguna bacteria haya desarrollado resistencia *in vivo* hacia la clorhexidina [28].

1.6.2. El diacetato de clorhexidina como modificador orgánico

Por su naturaleza dicatiónica, el diacetato de clorhexidina (CA) ha sido utilizado de la misma manera que las sales de alquilamonio y de alquifosfonio para modificar orgánicamente a las arcillas. El CA contiene grupos cargados positivamente (cabeza) que pueden interactuar con la estructura de la arcilla, mientras que sus colas hidrofóbicas

(cargadas negativamente) facilitan el hinchamiento (aumento del espacio interlaminar) de las arcillas y la intercalación polimérica (ver Figura 1.8) [29].

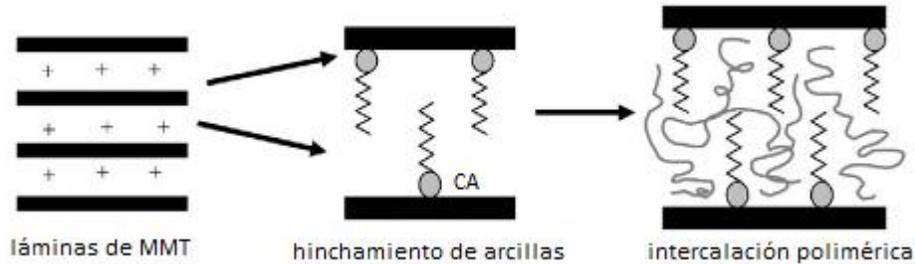


Figura 1.8. Modificación orgánica de las arcillas [20].

1.7. Técnicas de caracterización para el seguimiento de la modificación orgánica de las arcillas.

El incremento de la distancia interlaminar es una característica muy importante en una organoarcilla con estructura laminar. Una técnica ampliamente utilizada para conocer el incremento de este parámetro es la difracción de rayos-X (XRD, por sus siglas en inglés). Las arcillas muestran picos característicos en los difractogramas de XRD debido a su estructura laminar y, de estas señales se puede estimar el aumento en la separación de las láminas utilizando la ley de Bragg, la cual se representa mediante la siguiente ecuación:

$$n = 2 \cdot d \cdot \sin \theta$$

Donde:

n : es un número entero

λ : longitud de onda de los rayos X

d : distancia entre planos basales

θ : ángulo entre los rayos incidentes y los planos de dispersión

Se debe mencionar que la difracción de rayos-X es dependiente de las capas cristalinas basales (001) porque las intensidades de esos planos son las más altas [30]. Para calcular el incremento en la separación de las láminas de las organoarcillas se debe notar un desplazamiento en 2θ a valores más bajos; eso nos indicaría que el modificador orgánico está alojándose entre las láminas que forman la estructura del mineral [14,31].

Técnicas analíticas como la Espectroscopia de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR, por sus siglas en inglés) y el Análisis Termogravimétrico (TGA, por sus siglas en inglés) también han sido utilizadas para monitorear la modificación de las organoarcillas. Por ejemplo, la FTIR puede identificar no sólo las bandas de absorción pertenecientes a la arcilla (como los grupos hidroxilo que están unidos al silicio y aluminio, y agua localizada en los canales interlaminares o zeolíticos), sino que también es capaz de identificar los grupos funcionales pertenecientes a las especies orgánicas contenidas en las organoarcillas [14,16, 32]. Por su parte, los estudios de Termogravimetría proporcionan no sólo datos sobre la estabilidad térmica de las arcillas, sino también información respecto de los diferentes tipos de agua presentes en estos minerales. Cuando las arcillas son modificadas orgánicamente se observa un incremento en el número de eventos obtenidos durante las pruebas de TGA, lo que demuestra que estos minerales han sido modificados [14,16, 33].

1.8. Materiales compuestos

Un material compuesto es aquel formado por la unión de dos o más materiales y cuyo fin último es obtener propiedades que no poseen ninguno de sus constituyentes. Entre estas propiedades se pueden mencionar la densidad, resistencia, dureza, permeabilidad, propiedades eléctricas, biodegradabilidad, propiedades ópticas, entre otras. En un material compuesto existe una fase continua llamada matriz y una fase dispersa denominada relleno (carga) o refuerzo y, si el tamaño de los agregados son de escala nanométrica, entonces lo que se producirá es un nanocompuesto.

1.8.1 Nanocompuestos

Los nanocompuestos son materiales compuestos en los cuales al menos una de sus fases posee dimensiones nanométricas y emergen para solucionar las limitaciones presentadas por los materiales microcompuestos y monolíticos (de un solo elemento) [34]. A diferencia de otros materiales compuestos, los nanocompuestos presentan una mayor relación superficie/volumen de la fase de refuerzo o carga (partículas, fibras, láminas exfoliadas, etc.) además de una relación de aspecto extremadamente alta [35].

Los nanocompuestos pueden clasificarse según la matriz que albergue al agregado (refuerzo o carga); así, existen nanocompuestos con matriz cerámica, con matriz metálica y con matriz polimérica. Estos últimos ofrecen ventajas sobre los otros materiales ya que son fáciles de producir, tienen bajo peso y una ductilidad adecuada [8, 36]; a pesar de lo anterior, su desempeño mecánico no es del todo satisfactorio. Uno de los materiales de tamaño nanométrico más utilizados en la elaboración de nanocompuestos son las arcillas debido a que éstas ofrecen propiedades de barrera y mejoran las propiedades mecánicas [27].

Los nanocompuestos de matriz polimérica reforzados con arcillas son clasificados según el grado de dispersión de estos minerales en la matriz en: nanocompuestos aglomerados, intercalados y exfoliados (Figura 1.9). En los nanocompuestos aglomerados, las cadenas poliméricas de la matriz no pueden intercalarse entre las láminas de la arcilla, así que se puede notar la presencia de cada fase (matriz y agregado). Los nanocompuestos intercalados se forman cuando una o varias cadenas poliméricas se insertan entre las láminas, pero el arreglo de éstas aún persiste y, por último, se pueden obtener nanocompuestos exfoliados cuando las láminas están completamente dispersas en la matriz polimérica; en este último caso, se obtienen propiedades mejoradas [8, 37].

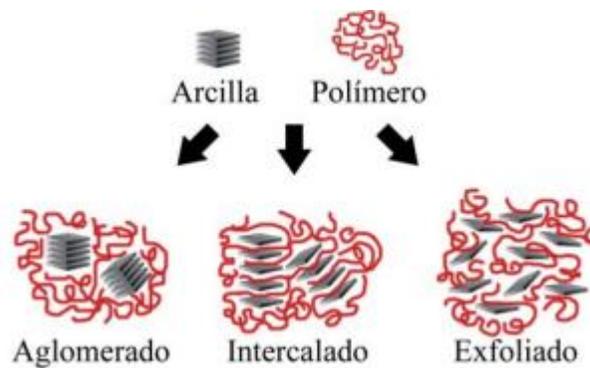


Figura 1.9. Tipos de nanocompuestos usando arcillas y polímeros [37].

Las arcillas laminares exfoliadas le otorgan a los nanocompuestos propiedades de barrera que incrementan la liberación prolongada de fármacos. El *efecto barrera* (Figura 1.10) es creado por que la dispersión de nanopartículas en la matriz polimérica forma un camino tortuoso que permite una liberación más prolongada del medicamento.

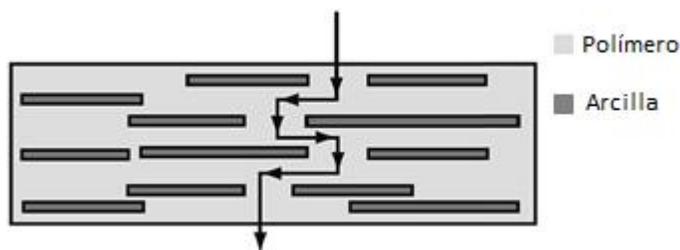


Figura 1.10. Efecto barrera [34].

Es complicado preparar nanocompuestos a base de polímeros y arcillas con una buena dispersión debido a que las arcillas son hidrófilas y los polímeros son principalmente hidrófobos. Por lo tanto, es necesario modificar las láminas de las arcillas con agentes hidrofóbicos para hacerlas compatibles con los polímeros [14, 19-20].

Aunque existen varias técnicas para incorporar las arcillas a las matrices poliméricas con la finalidad de obtener nanocompuestos, los métodos de mezclado en fundido y evaporación del disolvente son, por mucho, los dos más utilizados. La técnica de mezclado en fundido incorpora las nanopartículas a una matriz polimérica que se encuentra en estado fundido (líquido de alta viscosidad). Para lograr obtener un material homogéneo, la mezcla es

sometida a altas temperaturas y altas tasas de corte, por lo que la mayoría de los fármacos podrían experimentar degradación con este procedimiento y disminuir su efectividad. Este proceso puede llevarse a cabo en un mezclador intensivo, un extrusor, una inyectora, entre otras. En el mezclado en fundido, el polímero puede penetrar en el espacio interlaminar de la arcilla debido a la temperatura elevada y altas tasas de corte, obteniéndose de esta manera nanocompuestos con partículas exfoliadas o intercaladas. Para que esto ocurra es necesario que exista una compatibilidad adecuada entre el polímero y la superficie laminar de la arcilla, ya que de lo contrario se obtendrán nanocompuestos agregados.

Por otra parte, la técnica de evaporación del disolvente consiste en dispersar las arcillas en un líquido que sea capaz de disolver al polímero. Para esto, se preparan de manera independiente una solución polimérica y una dispersión de partículas; éstas se mezclan y el producto se vierte en un recipiente adecuado que permita la evaporación del disolvente utilizado. Este procedimiento no requiere altas temperaturas y permite que el polímero pueda penetrar en la estructura laminar de las arcillas para formar estructuras intercaladas o exfoliadas. [38-39]. En este trabajo se utilizó la técnica de evaporación del disolvente para no someter el material obtenido a altas temperaturas, lo cual podría afectar la estabilidad del fármaco utilizado en este trabajo.

1.9. Poli(ácido láctico)

El poli(ácido láctico), PLA, es un polímero formado por unidades de ácido láctico el cual es producido por la fermentación microbiana de recursos agrícolas renovables como el almidón del maíz, raíces de tapioca o caña de azúcar; es biocompatible y, biodegradable a través de vías hidrolíticas y enzimáticas; su estructura química se muestra en la Figura 1.11 [40-41].

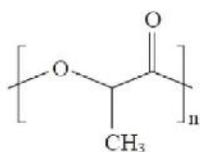


Figura 1.11 Estructura química del poli(ácido láctico) [40].

El PLA fue descubierto en 1932 por Carothers cuando produjo PLA de bajo peso molecular calentando al vacío ácido láctico mientras removía el agua condensada [42]. A partir de ese momento, se desarrollaron diferentes métodos de obtención buscando polímeros de mayor peso molecular. Actualmente, el PLA es obtenido mediante policondensación, o bien, a través de la polimerización por apertura de anillo de un intermediario denominado lactida (Figura 1.12). La polimerización por apertura de anillo produce PLA de alto peso molecular, a diferencia del proceso de policondensación que generalmente produce PLA de bajo peso molecular, porque en este último resulta complicado eliminar el agua generada en las últimas etapas de la polimerización [41].

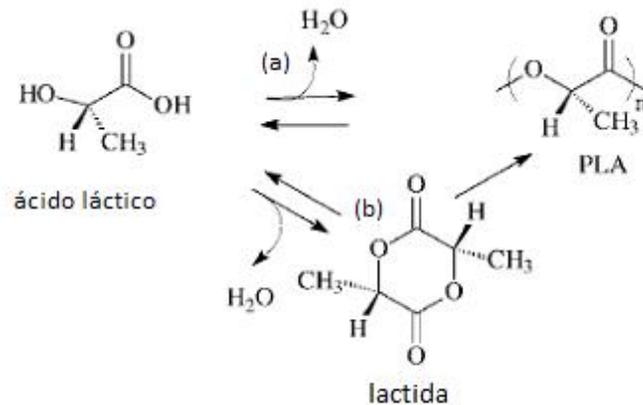


Figura 1.12. Esquemas de la producción de PLA. Policondensación (a) y por apertura de anillo (b) [41].

Las propiedades del PLA dependen principalmente de su peso molecular y de su grado de cristalinidad. Un mayor peso molecular genera un aumento en la temperatura de transición vítrea (T_g) que es de $55\text{ }^\circ\text{C}$; en la temperatura de fusión (T_m), la cual es aproximadamente de $130\text{-}160\text{ }^\circ\text{C}$ y en el módulo elástico; en contraste, disminuye tanto el esfuerzo a tensión como su biodegradación. Esto último es debido a que la parte cristalina del PLA es más resistente a la degradación que la parte amorfa. Por último, el PLA es soluble en diferentes disolventes orgánicos como el cloroformo y el diclorometano (DCM) [40,42-43].

Conviene señalar que aunque el PLA es un material hidrofóbico, debido a la presencia del grupo lateral $-\text{CH}_3$, éste es susceptible a degradaciones hidrolíticas debido al rompimiento

de sus enlaces ésteres; lo anterior permite que el PLA sea una material biodegradable [42-43].

Este polímero, por ser biodegradable y biocompatible, está aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA, por sus siglas en inglés) para poder tener contacto directo con fluidos biológicos y, por lo tanto, es muy usado en el área de la salud en suturas, apósitos y sistemas de liberación de fármacos [41].

1.10. Antecedentes

La modificación de las arcillas para incorporar a éstas compuestos antibacteriales es un hecho que se ha reportado en los últimos años. Este proceso tiene como finalidad el desarrollo de materiales que liberen el principio activo incorporado a la arcilla, evitando de esta manera la proliferación de bacterias, hongos u otros microorganismos. Las arcillas que se han utilizado para este fin son fundamentalmente las montmorillonitas de sodio y calcio mientras que los agentes antibacteriales incorporados han sido diversos. Algunos autores han reportado el uso de cationes metálicos antibacteriales como Ag^+ , Cu^{2+} , Zn^{2+} , etc., en la modificación de montmorillonitas; sin embargo, la acumulación de estos metales en los diferentes órganos y tejidos, su pobre estabilidad en soluciones acuosas y, el costo de la preparación en materiales bactericidas que contengan Ag^+ son desventajas que hacen poco atractivo su uso [44-45]. En contraste, los cationes orgánicos antibacteriales no exhiben las desventajas antes mencionadas [31,46]. Por esto, varios autores reportan haber modificado arcillas laminares con el agente antibacterial denominado diacetato de clorhexidina. Yang *et al.* [31] modificaron con este compuesto dos tipos de montmorillonita: una de sodio y la otra de calcio, para aplicaciones antibacteriales. La monmorillonita de sodio presentó un aumento del 36% en la distancia interlaminares de la arcilla, mientras que en la de calcio solamente se logró un 9%. A pesar de lo anterior, la segunda exhibió propiedades antibacteriales más potentes; el trabajo de Yang *et al.*, no contempló la realización de estudios de cinética de liberación.

Meng *et al.* [14] también modificaron orgánicamente la montmorillonita de sodio con el diacetato de clorhexidina para eliminar bacterias como la *Pseudomonas aeruginosa* y el

Staphylococcus aureus. Estos autores determinaron que la arcilla modificada orgánicamente puede liberar clorhexidina a manera de ráfaga en las primeras 24 horas y de manera continua por 3 días; además, las organoarcillas exhibieron buenas propiedades antibacteriales. De la misma forma, se determinó que la distancia interlaminar aumentó un 28%.

Por su parte, Fong *et al.* [20] incorporaron el diacetato de clorhexidina como modificador orgánico de la montmorillonita y evaluaron la actividad antibacterial del nanocompuesto generado a partir de la arcilla modificada y una matriz polimérica de poliuretano. Los resultados mostraron que el acetato de clorhexidina puede funcionar como modificador orgánico y como agente antibacterial en nanocompuestos que usen poliuretanos como matriz. De igual forma, se demostró que el poliuretano puede separar aún más las láminas de la arcilla modificada incrementando el espacio hasta en un 87%. En una investigación posterior, Fong *et al.* [29], trabajaron en el desarrollo de nanomateriales que fueran capaces de eliminar las bacterias presentes en el sistema urinario tales como la *Proteus mirabilis*, la *Pseudomonas aeruginosa* y la *Klebsiella pneumonia*. Confirmaron que el nanocompuesto libera clorhexidina a manera de ráfaga en las primeras 24 horas y de manera continua por 3 días, similar a lo reportado por Meng *et al.* [14]. Ellos mencionaron que el efecto ráfaga se debe a la ruptura de enlaces débiles formados entre la clorhexidina y la superficie de la arcilla. El efecto barrera causado por la exfoliación de las láminas de las arcillas permite una liberación más controlada y sostenida del agente antibacterial.

Campos *et al.* [47] realizaron estudios de liberación de clorhexidina en el campo de la odontología. Ellos dispersaron una montmorillonita modificada comercial denominada Cloisite 30B, en una matriz orgánica polimérica elaborada con Bisfenol Glicidil Metacrilato y Trietilenglicol Dimetacrilato (BisGMA /TEGDMA). El estudio comprobó que cuando la clorhexidina es incorporada en una arcilla como el Cloisite 30B, se observa una liberación inicial de ráfaga en las primeras 24 h y de forma continua hasta 72 h. Aunado a lo anterior, el compuesto desarrollado también exhibe una característica interesante: libera clorhexidina hasta las 366 horas.

Finalmente, también se debe señalar que existen reportes de modificación de otras arcillas como la kaolinita [46] y la vermiculita [48] con el diacetato de clorhexidina, aunque después de una revisión exhaustiva de la literatura, no se encontraron reportes de modificación de la paligorskita con el agente antibacterial mencionado anteriormente. Por lo tanto sería interesante llevar a cabo este proceso y comparar lo que se obtenga con sistemas reportados en la literatura previamente.

1.11. Justificación

Aunque el uso de arcillas en sistemas de liberación controlada de fármacos no es nuevo, con el desarrollo de la nanotecnología ha cobrado un auge considerable en los últimos años. En la literatura existen varios reportes que han incorporado compuestos de clorhexidina a nanoarcillas con la finalidad de poder liberar este fármaco a partir de las organoarcillas generadas, o bien de nanocompuestos preparados a partir de éstas. Esto obedece a que la clorhexidina es un agente antifúngico y antibacterial, con pocos o nulos efectos secundarios, y no se conoce hasta el momento la existencia de alguna bacteria que haya desarrollado resistencia *in vivo* hacia este compuesto.

En la mayoría de los trabajos reportados, la nanoarcilla utilizada para la incorporación de este agente antibacterial ha sido la montmorillonita de sodio o de calcio, aunque también existen reportes de la incorporación de la clorhexidina en minerales como la kaolinita y la vermiculita.

Por otro lado, el subsuelo del estado de Yucatán está constituido principalmente por sedimentos calcáreos (caliza), aunque en el sur del estado existen minas de materiales arcillosos, de entre las que destaca la paligorskita [49-50]. Hasta donde se sabe, no existe en la literatura trabajos que utilicen este tipo de arcillas para encapsular fármacos como el acetato de clorhexidina, ni tampoco nanomateriales a partir de estas arcillas modificadas orgánicamente, que funcionen como matrices para la liberación controlada de fármacos. Esto podría representar un interesante nicho de estudio que no solo se podría generar nuevo conocimiento, sino que también podría proporcionar un valor agregado a estos minerales

localizados en el sur del estado de Yucatán, detonando así la economía de esta zona que posee un bajo desarrollo.

Objetivos

General

Estudiar la liberación de clorhexidina a partir de organoarcillas preparadas a base de montmorillonita o paligorskita, y de sus nanocompuestos preparados con poli(ácido láctico).

Específicos

- a) Modificar orgánicamente las arcillas con diacetato de clorhexidina (CA).
- b) Caracterizar las arcillas modificadas orgánicamente mediante Espectroscopia infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR), difracción de rayos-X (XRD), Análisis Termogravimétrico (TGA), entre otros.
- c) Preparar nanocompuestos a partir de poli(ácido láctico) y las arcillas modificadas orgánicamente.
- d) Estudiar la cinética de liberación de la clorhexidina a partir de las organoarcillas, y sus nanocompuestos, mediante espectroscopía UV-Vis.
- e) Modelar la cinética de liberación del CA a partir de las organoarcillas y sus nanocompuestos.

Hipótesis

El perfil de liberación de clorhexidina obtenido a partir de la paligorskita modificada orgánicamente, y sus nanocompuestos, será similar o mejor (mayor rapidez de liberación) al obtenido utilizando montmorillonita.

CAPÍTULO 2

PARTE EXPERIMENTAL

2.1. Materiales

En este estudio se utilizaron dos tipos diferentes de arcillas: montmorillonita (MMT) y paligorskita (PLG). Se obtuvo Na⁺-MMT (Cloisite™ Na⁺) de *Southern Clay Products, Inc.* (Estados Unidos) la cual no recibió tratamiento antes de usarse; mientras que la paligorskita cruda fue colectada de una cantera localizada en Chapab, Yucatán, México. 100g de arcilla cruda fue purificada antes de someterse a modificaciones de la siguiente forma: la muestra fue molida y tamizada a través de una malla 70, se dispersó en 2L agua destilada y fue tamizada nuevamente con una malla 100 para eliminar los residuos pétreos. Luego, fue sujeta a una activación ácida empleando 1L de una solución 1N HCl (J.T. Baker, 37% de pureza) durante 1 h a 80 °C. Se centrifugó (2500 rpm por 20 min.) y se lavó retirando el sobrenadante; el precipitado fue re-dispersado en 1L de agua destilada y agitado mecánicamente por 1h. Este proceso se llevó a cabo varias veces hasta que el pH del sobrenadante estuvo cercano a 7. Finalmente, la paligorskita fue secada a 100°C por 24 h.

De acuerdo con el distribuidor, la montmorillonita de sodio (Cloisite™ Na⁺) tiene una Capacidad de Intercambio de Cationes (CEC, por sus siglas en inglés) de 92.6 meq/100 g, mientras que la paligorskita purificada tiene un valor de CEC de 26.2 meq/100 g [51]. El Diacetato de Clorhexidina (CA) fue adquirido de Sigma Aldrich Co, USA, con una pureza de 99%. Como matriz polimérica se utilizó poliácido láctico (PLA), Ingeo 2002D, grado extrusión/termoformado, de Natureworks, Estados Unidos.

2.2. Síntesis de las organoarcillas

En la preparación de organoarcillas (CA-MMT o CA-PLG), 0.5 g de organoarcillas (MMT o PLG) fueron dispersadas en 25 ml de agua destilada usando un baño de ultrasonido por 40 min a temperatura ambiente. Por otra parte, varias cantidades de acetato de clorhexidina

(correspondiendo a 0.5, 1.0 y 2.0 veces el valor de la CEC de las organoarcillas) fueron disueltas en 15 mL de agua destilada. Estas dos disoluciones fueron mezcladas usando un agitador magnético, el valor de pH se ajustó a 4.1 con H₃PO₄ [14,16] y la solución resultante se mantuvo a 70°C, durante 3 h, con agitación magnética. Después de la centrifugación (3500 rpm), los sedimentos se lavaron con agua desionizada y se secaron en una estufa a vacío a 80 °C por 24 h. El procedimiento se esquematiza en la figura 2.1. La nomenclatura para las diferentes muestras de organoarcilla preparadas en este trabajo se resume en la tabla 2.1.

Tabla 2.1. Nomenclatura para las diferentes muestras de organoarcillas

Contenido de CA	Montmorillonita	Paligorskita
0 % CEC	MMT	PLG
50% CEC	CA-MMT 0.5	CA-PLG 0.5
100 % CEC	CA-MMT 1.0	CA-PLG 1.0
200% CEC	CA-MMT 2.0	CA-PLG 2.0

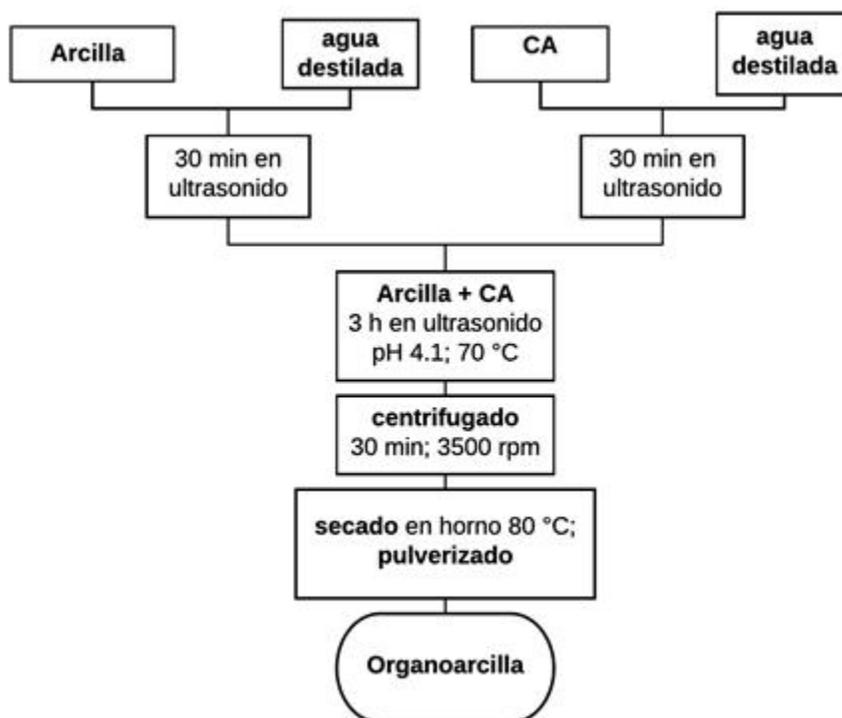


Figura 2.1. Procedimiento para preparar organoarcillas.

El procedimiento utilizado para calcular la cantidad en gramos del CA necesarios para tratar las arcillas (MMT y PLG) con las relaciones de CEC (0.5, 1.0 and 2.0 veces) descritas en la Tabla 1 se presenta en el Anexo 1.

2.3. Caracterización de las organoarcillas

2.3.1. Análisis Elemental

Se estudió la composición elemental de las nanoarcillas por medio del microanálisis por Energía Dispersiva de Rayos X (EDX) usando un Espectrómetro de Energía Dispersiva (EDS) Oxford Inca Energy 200 acoplado a un SEM JEOL JSM 6360 LV. Se hicieron tres mediciones en diferentes áreas de la muestra para determinar la composición promedio de los materiales. De igual forma, se realizó un análisis elemental empleando un analizador elemental orgánico CHNS-O de la serie Thermo Scientific Flash 2000.

2.3.2. Microscopía Electrónica de Barrido

Se usó un SEM JEOL JSM 6360 LV con un voltaje de aceleración de 20 kV para determinar la morfología de las arcillas. Las muestras fueron recubiertas con oro para una mayor penetración de electrones y se usó cinta conductora adhesiva de carbono para cubrir el portamuestras. Para obtener el diámetro promedio de las fibras de silicato y su distribución, se midieron 100 fibras usando el software *Visio*®.

2.3.3. Espectroscopia Infrarroja con transformada de Fourier

Los espectros de infrarrojo de las nanoarcillas se obtuvieron usando un equipo Thermo Scientific Nicolet 8700 mediante la técnica de reflectancia total atenuada (ATR, por sus siglas en inglés) usando un cristal de Ge. Los datos de las muestras fueron obtenidos en el intervalo de $4000-650\text{ cm}^{-1}$, con una resolución de 4 cm^{-1} . Se hizo con un promedio de 50 barridos. El análisis se empleó para determinar los grupos funcionales presentes en las arcillas prístina y en las modificadas (CA-MMT y CA-PLG) [14, 16, 20].

2.3.4. Difracción de Rayos X

El incremento del espacio basal (d_{001}) de la montmorillonita (MMT), debido a la intercalación del dicetato de clorhexidina, se determinó usando la ley de Bragg utilizando el ángulo 2θ al cual se obtuvo la reflexión máxima en los difractogramas de rayos X. Los patrones de XRD se obtuvieron con un difractómetro Siemens D-5000, con una longitud de onda $\text{Cu K} = 1.5418 \text{ \AA}$ generada a un voltaje de 35 kV y a una corriente de 24 mA. Los datos fueron recolectados en el intervalo 2θ de $2-60^\circ$, con un tiempo de paso de 3s y un tamaño de paso de 0.02° .

2.3.5. Análisis Termogravimétrico

El ensayo sirvió para determinar los eventos de degradación térmica del diacetato de clorhexidina (CA) y de las arcillas prístinas y modificadas. Los experimentos se llevaron a cabo en un equipo Perkin Elmer TGA-7 en un intervalo de temperatura de 50 a 650°C , con una tasa de calentamiento de $10^\circ\text{C}/\text{min.}$, bajo una atmósfera de nitrógeno. Se utilizaron muestras de 10 mg.

2.4. Preparación del Material Compuesto

Para preparar el nanocompuesto se eligió el proceso en solución, en donde se dispersaron las organoarcillas en una matriz polimérica de PLA (PLA/CA-MMT y PLA/CA-PLG) a una concentración de 20 % en peso de la arcilla modificada. Se empleó la técnica de elaboración de películas por evaporación de disolvente usando diclorometano (DCM) siguiendo el procedimiento reportado por Shameli *et al.*[52]. En síntesis, se dispersó 90 mg de arcilla modificada (CA-MMT y CA-PLG) en DCM durante 40 min a temperatura ambiente utilizando un baño de ultrasonido. Posteriormente, se añadieron 375 mg de PLA y se mantuvo la agitación durante 1 h; por último, se vertió la mezcla (*casting*) en cajas de Petri y se secó a temperatura ambiente. El diagrama del proceso se muestra en la figura 2.2.

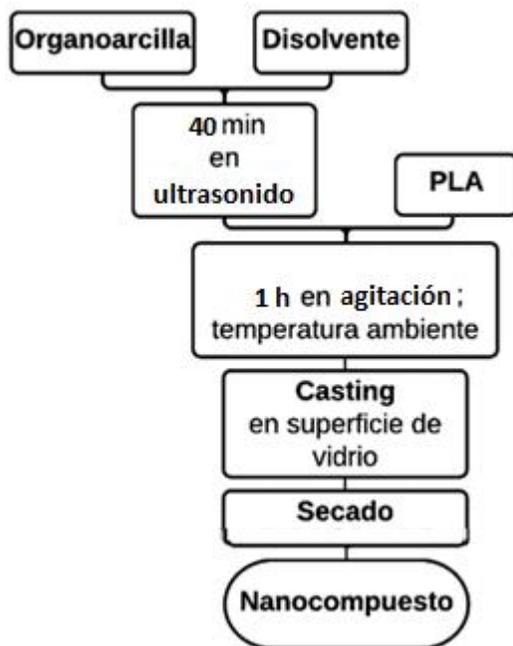


Figura 2.2. Procedimiento para preparar nanocompuestos.

2.5. Estudios de liberación del CA

Se preparó una solución madre con 10 mg del diacetato de clorhexidina (CA) diluidos en 10 ml de buffer fosfato salino (PBS, Sigma aldrich), es decir 1000 $\mu\text{g/ml}$. Con la finalidad de obtener la longitud de onda máxima (λ_{max}) de absorción del CA en PBS, se llevó a cabo un barrido de λ de 240 a 300 nm, utilizando una solución con una concentración de 50 $\mu\text{g/ml}$, preparada a partir de la solución madre, tal y como lo reportó Lohar *et al.* [23]. La Figura 2.3 presenta el espectro UV-Vis de la solución CA/PBS y, se puede observar que la máxima absorción se obtuvo a 264 nm.

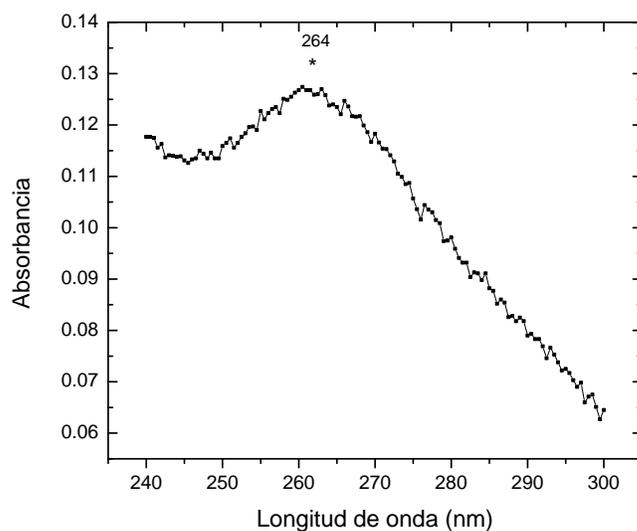


Figura 2.3. Espectro UV-Vis de una solución de CA/PBS en la región de 240 nm a 300 nm.

De la solución madre también se prepararon diluciones que contenían 10, 20, 30, 40, 50, 60 y 70 $\mu\text{g/ml}$ de CA/PBS y se determinaron sus respectivas absorbancias. Una solución de PBS sin CA fue utilizada como blanco (referencia). Los valores obtenidos en las pruebas anteriores fueron graficadas para construir una curva de calibración (Figura 2.4.). El coeficiente de correlación (r^2) fue calculado por el equipo de espectroscopía UV-Vis utilizando la técnica de mínimos cuadrados.

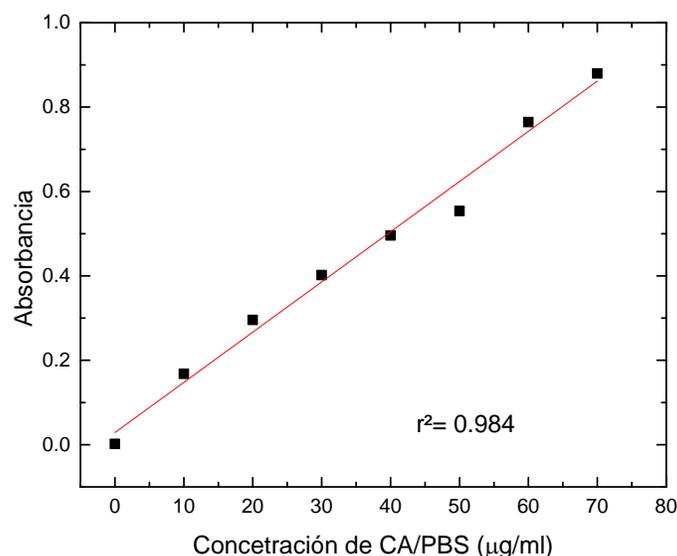


Figura 2.4. Curva de calibración del diacetato de clorhexidina.

2.5.1. Liberación a partir de las organoarcillas

Los estudios de liberación de CA de las nanoarcillas en un medio de buffer fosfato salino (PBS) (pH= 7.3) se llevaron a cabo colocando 40 mg de cada organoarcilla en 40 ml de PBS y la disolución se mantuvo en agitación magnética a 37°C. Se retiraron 5 ml de la muestra a intervalos regulares de tiempo durante 24 h y el mismo volumen se reemplazó con un medio de disolución fresco [14,31]. Las muestras retiradas se centrifugaron y el sobrenadante se analizó para determinar el contenido de CA mediante espectroscopía UV-Vis a 264 nm. Estos estudios se duplicaron para cada muestra y los valores promedio se utilizaron en el análisis de datos.

2.5.2. Liberación a partir del material compuesto

Se llevaron a cabo estudios de liberación de CA a partir de los nanocompuestos, en un medio de buffer fosfato salino (PBS) (pH= 7.3). Se colocaron 315 mg de cada nanocompuesto en 40 ml de PBS y la disolución se mantuvo en agitación magnética a 37°C. Se retiraron 5 ml de la muestra a intervalos regulares de tiempo durante 48 h y el mismo

volumen se reemplazó con un medio de disolución fresco [14,31]. Se analizaron las muestras para determinar el contenido de CA mediante espectroscopía UV-Vis a 264 nm.

2.6 Modelamiento de la cinética de liberación del CA

En este trabajo se utilizaron cinco modelos para estudiar la cinética de liberación del CA, a partir de las arcillas modificadas y de sus nanocompuestos (ver Tabla 2.2). Estos modelos han sido reportados para sistemas similares a los estudiados en este trabajo (nanoarcillas con PLA) [29,53].

Tabla 2.2. Modelos utilizados para el estudio de la cinética de liberación del CA

Modelo	Ecuación
Orden cero	$f = k_0 t$
Primer Orden	$\ln(1 - f) = k_1 t$
Higuchi	$f = k_H t^{1/2}$
Hixon-Crowell	$1 - (1 - f)^{1/3} = k_{1/3} t$
Korsmeyer-Peppas	$f = k_{K-P} t^n$

Donde f es la fracción del medicamento liberado, t el tiempo, y k representa la constante de rapidez para cada modelo.

CAPÍTULO 3

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Apariencia física

En la Figura 3.1 se muestra la apariencia que tienen las arcillas modificadas orgánicamente con diacetato de clorhexidina. Se puede apreciar que el color de las arcillas (tanto la MMT como la PLA) se vuelve ligeramente más intenso cuando se incrementa la concentración del CA.

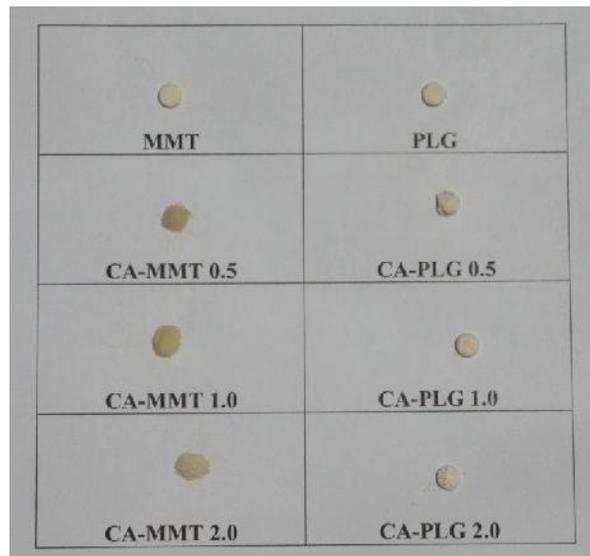


Figura 3.1. Arcillas modificadas orgánicamente con el diacetato de clorhexidina.

Por otra parte, en la Figura 3.2 se muestra la apariencia de los nanocompuestos preparados con poliácido láctico (PLA) y las organoarcillas: CA-MMT 2.0 y CA-PLG 2.0 preparados mediante la técnica mezclado en solución. Se puede notar que el nanocompuesto preparado con montmorillonita exhibe una pobre distribución de la organoarcilla en la matriz polimérica (ver Figura 3.2a); es decir presenta un aspecto heterogéneo, con zonas ricas en el mineral (aglomerados de arcilla). En contraste, el nanocompuesto preparado con paligorskita presenta una apariencia homogénea (ver Figura 3.2b). Esta diferencia se puede

deber a que la PLG modificada es más afín al disolvente utilizando durante la preparación del nanocompuesto (diclorometano), que la montmorillonita modificada orgánicamente. Esta afinidad podría estar relacionada con la polaridad de las organoarcillas y la del disolvente. Por otro lado, se ha reportado que la morfología laminar de la MMT dificulta su dispersión en comparación de las arcillas fibrilares como la PLG debido a que existen mayor fuerzas de cohesión en sistemas laminares [54].

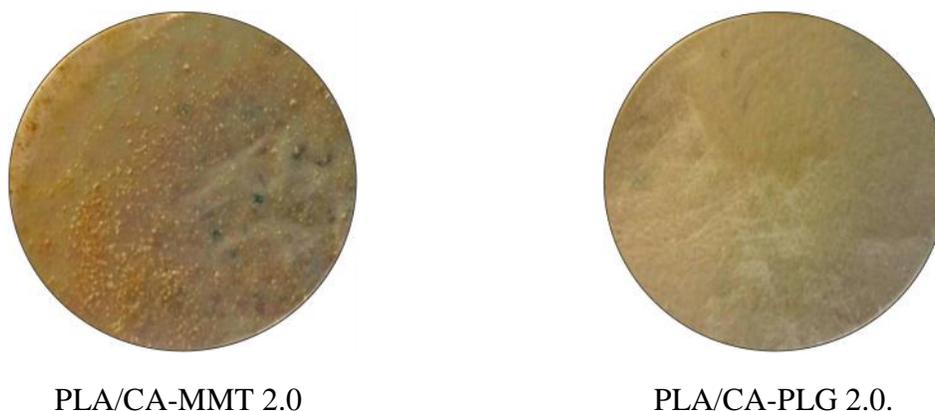


Figura 3.2. Nanocompuestos elaborados mediante la técnica de mezclado en solución.

3.2. Caracterización de las organoarcillas

3.2.1. Análisis Elemental

El análisis elemental por EDX (ver Tabla 3.1) reveló la presencia de silicio, aluminio y oxígeno en las muestras de MMT y PLG debido a que ambas arcillas son aluminosilicatos; otros elementos metálicos como el magnesio y el hierro también fueron observados. Se detectó sodio al 2.4 % p/p en la montmorillonita natural (CA-MMT 0.0) mientras que el nitrógeno estuvo ausente en la muestra. Interesantemente, el contenido del primer elemento (sodio) disminuye del 2.4 a sólo 0.5 % p/p al aumentar el contenido de CA, mientras que el nitrógeno exhibe el comportamiento opuesto, es decir, aumenta cuando se incrementa el contenido de CA, de 0.0 a 10.5 % p/p. Esto sugiere que la mayoría de los iones de sodio presentes en el espacio interlaminar han sido remplazados por los cationes de CA. Este

hecho también es evidenciado por el aumento del contenido de cloro en las organoarcillas (se debe recordar que el CA contiene átomos de cloro en su estructura, ver Figura 1.6). Aunque en las organoarcillas obtenidas de la paligorskita purificada (PLG) también se observa un incremento en la cantidad de nitrógeno de 0 a 7.8 % p/p, cuando el contenido del CA incrementa (implicando la funcionalización de esta arcilla), el contenido de sodio permanece prácticamente constante. Esto podría indicar que el CA presente en las organoarcillas permanece en éstas pero no llegó ahí mediante intercambio catiónico con el sodio. A diferencia de las arcillas laminares, los sitios para el intercambio catiónico de la PLG están también en el interior de los canales zeolíticos.

Al comparar el contenido de nitrógeno en ambos minerales se puede observar que la cantidad presente en la montmorillonita es mayor que en la paligorskita, lo que sugiere que se puede retener mayor cantidad del fármaco en los materiales basados en MMT que en PLG. Esto se puede explicar comparando los valores del CEC para estas arcillas (92.6 vs 26.2 meq/100 g, respectivamente) así como a la intercalación del CA en las galerías de la MMT (lo cual se demostrará con los resultados de difracción de rayos-X de las arcillas).

Tabla 3.1. Composición elemental de las organoarcillas obtenida por EDX

Elemento (% p/p)	Montmorillonita				Paligorskita			
	MMT	CA-MMT 0.5	CA-MMT 1.0	CA-MMT 2.0	PLG	CA-PLG 0.5	CA-PLG 1.0	CA-PLG 2.0
C	18.4 ± 4.0	9.8 ± 0.6	12.5 ± 0.5	20.0 ± 0.9	17.2 ± 5.3	12.1 ± 2.1	19.3 ± 7.4	19.0 ± 3.7
N	0	6.7 ± 0.2	7.3 ± 0.2	10.5 ± 1.2	0	5.5 ± 0.2	6.8 ± 0.7	7.8 ± 0.6
O	52.4 ± 4.3	52.1 ± 1.4	50.1 ± 2.3	40.3 ± 1.7	40.0 ± 9.3	51.3 ± 4.7	48.0 ± 4.4	45.6 ± 0.9
Na	2.4 ± 0.1	1.4 ± 0.6	0.8 ± 0.5	0.6 ± 0.4	0.7 ± 0.3	0.7 ± 0.1	0.6 ± 0.2	0.7 ± 0.2
Si	17.3 ± 1.9	18.9 ± 1.1	17.9 ± 1.9	16.0 ± 1.6	11.7 ± 4.2	19.2 ± 3.4	15.7 ± 2.8	15.4 ± 2.9
Cl	0.2 ± 0.1	1.00 ± 0.1	1.5 ± 0.2	2.8 ± 0.3	8.8 ± 1.5	2.0 ± 0.9	2.2 ± 0.3	4.2 ± 1.1
Al	6.5 ± 0.6	6.8 ± 0.5	7.0 ± 0.7	6.0 ± 0.5	2.3 ± 0.8	3.8 ± 0.5	3.1 ± 0.6	3.0 ± 0.5
Mg	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.6 ± 0.1	3.1 ± 1.0	3.5 ± 0.3	3.1 ± 0.6	2.9 ± 0.4
Fe	1.7 ± 0.5	1.6 ± 0.2	1.6 ± 0.4	2.1 ± 0.8	1.0 ± 0.4	1.3 ± 0.4	1.0 ± 0.1	1.0 ± 0.2
Otros	0.2 ± 0.2	0.9 ± 0.5	0.5 ± 0.6	1.1 ± 0.2	2.5 ± 0.6	0.6 ± 0.3	0.3 ± 0.3	0.4 ± 0.1

El análisis elemental orgánico para C, H, O y N (ver tabla 3.2) mostró que el contenido de carbono aumenta con el incremento de los valores de la CEC que se utilizaron en la

modificación de las arcillas, para ambos tipos de minerales (MTT y PLG); un comportamiento similar se observó para el nitrógeno. En este sentido, y debido a que las arcillas sin modificar no presentaron en su composición este último elemento, el contenido de nitrógeno en esta prueba fue utilizado para cuantificar la cantidad de fármaco cargado en las nanoarcillas, asumiendo que un 27.73% de nitrógeno en la muestra sería el equivalente a tener CA puro. La cantidad de CA cargada en las nanoarcillas se resume en la Tabla 3.3 y, los valores obtenidos se encuentran en el intervalo reportado por Saha *et al.* [16] quienes determinaron este parámetro usando termogramas de TGA. Esta aproximación permite determinar el contenido del fármaco en la arcilla, sin utilizar termogramas de TGA, en muestras donde la liberación de agua adsorbida, zeolítica y estructural ocurre en el mismo intervalo de las temperaturas en que se produce la degradación de la droga. Por lo tanto, es posible sugerir al analizador elemental orgánico CHNS-O como una propuesta alternativa para determinar la cantidad de fármaco cargado en las nanoarcillas. La Tabla 3.3 muestra que el contenido de CA aumenta con el incremento de la concentración del fármaco (de 0.5 a 2.0 CEC), siendo más alta en MMT que en PLG. Esto se debe al hecho de que las arcillas MMT son capaces de retener CA mediante dos mecanismos (adsorción superficial y dentro de la galería interlaminar), mientras que la PLG solo retiene el fármaco mediante el primer mecanismo (como se verá más adelante).

Tabla 3.2. Análisis elemental de las organoarcillas obtenido de un analizador CHNS-O.

Muestra	Elemento (p/p %)			
	C	H	O	N
MMT	0.78 ± 0.01	1.53 ± 0.31	10.08 ± 0.11	0
CA-MMT 0.5	5.58 ± 0.08	1.44 ± 0.01	7.63 ± 0.08	2.68 ± 0.04
CA-MMT 1.0	7.30 ± 0.11	1.63 ± 0.03	6.76 ± 0.43	3.57 ± 0.02
CA-MMT 2.0	12.79 ± 0.02	2.11 ± 0.01	5.59 ± 0.09	6.24 ± 0.06
PLG	0.27 ± 0.02	2.25 ± 0.18	13.56 ± 0.54	0
CA-PLG 0.5	3.18 ± 0.01	2.07 ± 0.02	12.77 ± 0.21	1.10 ± 0.01
CA-PLG 1.0	5.41 ± 0.08	2.24 ± 0.06	12.12 ± 0.29	2.32 ± 0.02
CA-PLG 2.0	9.17 ± 0.03	2.47 ± 0.08	11.42 ± 0.16	4.22 ± 0.17

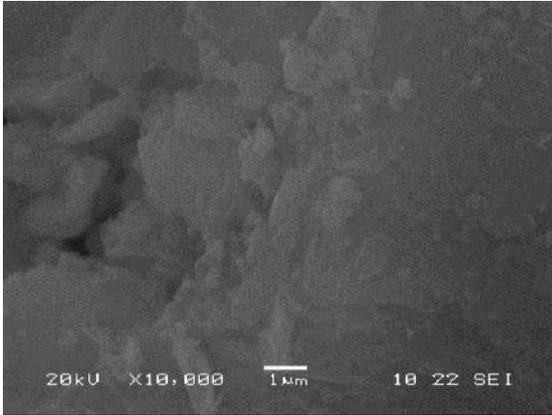
Tabla 3.3. Contenido de CA y eficiencia de incorporación del fármaco en las nanoarcillas

Muestra	CA (p/p %)	Eficiencia de incorporación (%)
MMT	0	
CA-MMT 0.5	9.66	92.26
CA-MMT 1.0	12.87	67.88
CA-MMT 2.0	22.51	70.60
PLG	0	
CA-PLG 0.5	3.96	80.8
CA-PLG 1.0	8.37	74.07
CA-PLG 2.0	15.22	76.8

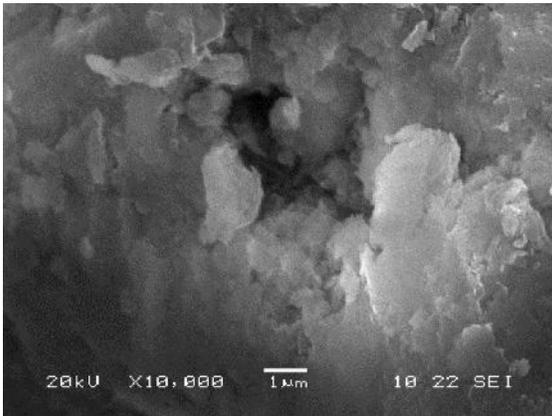
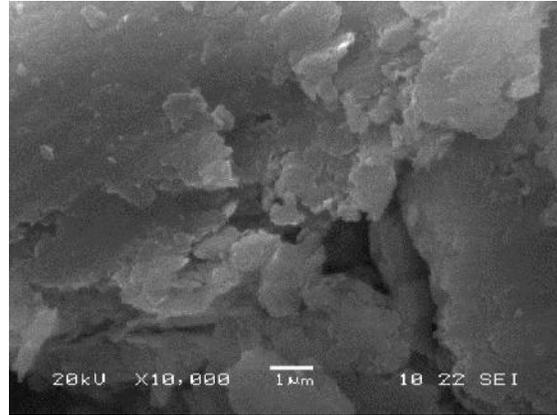
3.2.2. Microscopía Electrónica de Barrido

La figura 3.3 presenta las micrografías SEM de las muestras de MMT mientras que la figura 3.4 las correspondientes a las de PLG. La MMT se muestra como partículas compuestas de láminas individuales, aglomeradas, de tamaño micrométrico; en contraste, la PLG tiene una morfología fibrilar. En ambos sistemas no se observan grandes cambios morfológicos cuando las arcillas fueron modificadas con diferentes porcentajes de CA; sin embargo, el tratamiento con el CA sí modificó el grado de aglomeración de las fibras de paligorskita, ya que al parecer, el diámetro de las fibras de PLG disminuía al aumentar el contenido del CA. Debido a lo anterior, se midió el diámetro de 100 fibras en cada una de las micrografía usando el software Visio® y, con los valores obtenidos se construyeron histogramas para analizar la distribución de los diámetros en todos los casos.

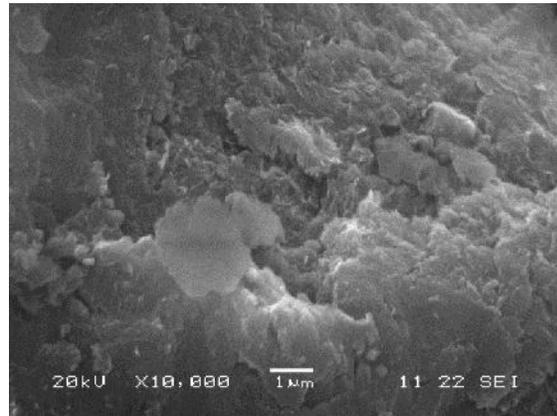
MMT



CA-MMT 0.5

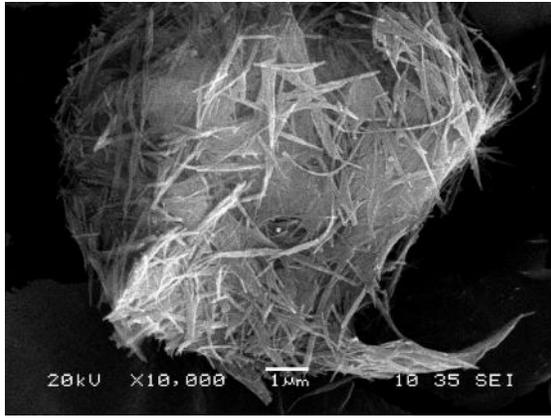


CA-MMT 1.0

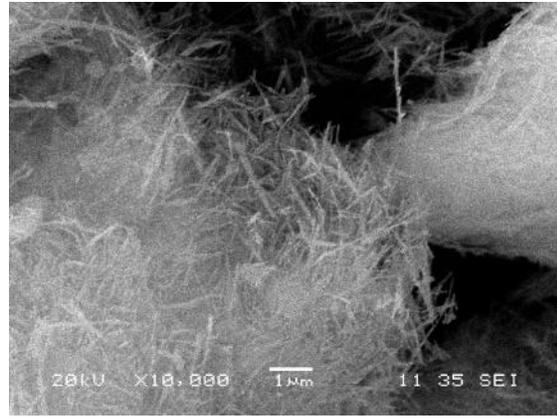


CA-MMT 2.0

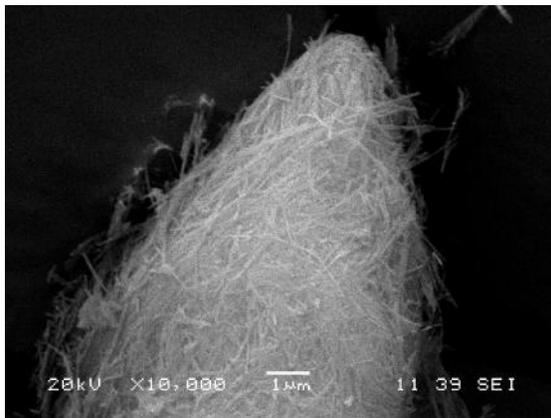
Figura 3.3. Micrografías SEM de MMT.



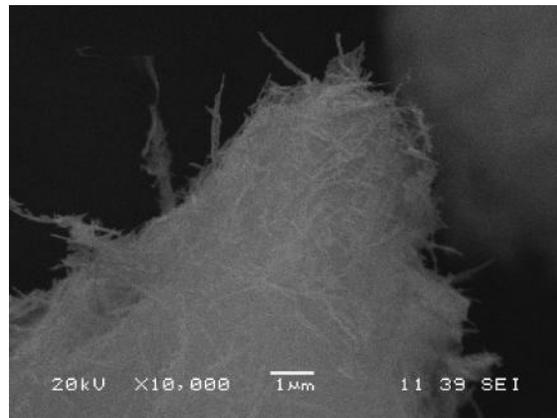
PLG



CA-PLG 0.5



CA-PLG 1.0



CA-PLG 2.0

Figura 3.4. Micrografías SEM de PLG.

El análisis de la distribución de los diámetros de las nanofibras de PLG mostró que el centro de la distribución fue desplazado a valores más bajos cuando la concentración del fármaco fue incrementada (ver figura 3.5). Esto puede explicarse debido a que la CA puede depositarse en la superficie de las nanofibras de PLG, impidiendo la re-aglomeración de las fibras de silicato durante el proceso de secado de la arcilla modificada.

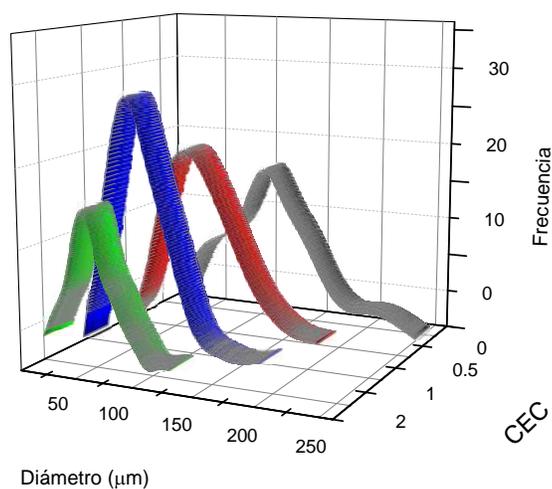


Figura 3.5. Distribución de los diámetros de las nanofibras de PLG.

Además de lo anterior, se realizó un mapeo de nitrógeno mediante EDX para verificar la distribución del fármaco en las organoarcillas, debido a que los minerales puros no contienen este elemento en su composición; los resultados para las concentraciones más altas se muestran en la figura 3.6. Como se puede notar, el nitrógeno está uniformemente distribuido en la superficie de ambas organoarcillas, por lo que se puede decir que el tratamiento es homogéneo.

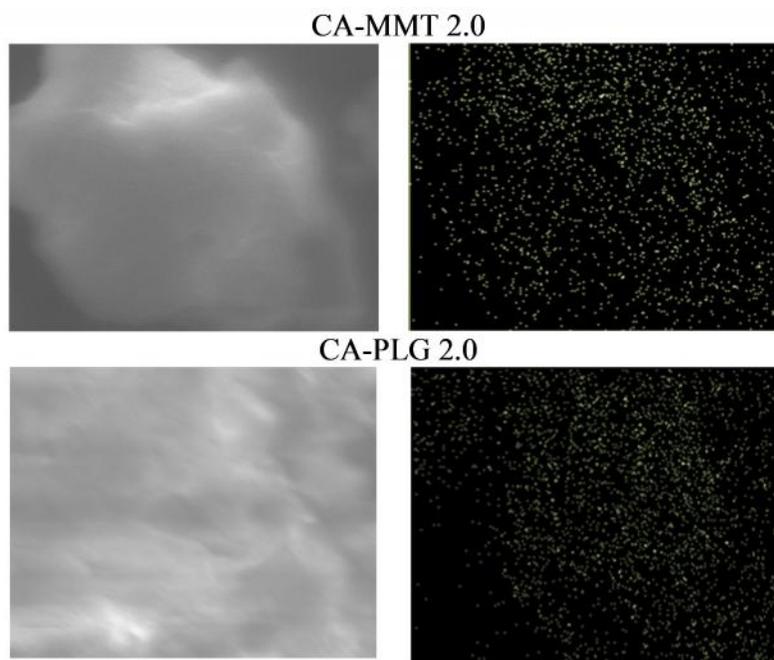


Figura 3.6 Mapeo de nitrógeno por EDX (verde) en organoarcillas;

CA-MMT 2.0 CEC (arriba); CA-PLG 2.0 CEC (abajo).

3.2.3. Espectroscopia Infrarroja con Transformada de Fourier

La figura 3.7 muestra el espectro FTIR de las distintas muestras de MMT (MMT de sodio y las modificadas orgánicamente a diferentes concentraciones de CEC), mientras que la figura 3.8 exhibe las que corresponden a la PLG (PLG purificada y las modificadas orgánicamente a diferentes concentraciones de CEC). En el primer caso (ver figura 3.7a), el espectro FTIR de la montmorillonita de sodio (Na^+ -MMT) muestra bandas a: 3690 cm^{-1} (asociada al estiramiento de $-\text{OH}$ de Al-OH y Si-OH), 3430 cm^{-1} (atribuida a la vibración de estiramiento O-H del agua), 1639 cm^{-1} (relacionada con la vibración en flexión del enlace O-H), 1118 y 1004 cm^{-1} (debidas a la vibración del estiramiento Si-O-Si del silicato, fuera del plano y en el plano, respectivamente) y una banda de baja intensidad en 911 cm^{-1} (perteneciente al enlace $\text{Al}_2\text{-OH}$).

En el intervalo de $1800\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$ (figura 3.7b), se detectaron diferentes bandas de absorción en los espectros de las muestras de organoarcillas a base de MMT y éstas fueron

relacionadas a vibraciones de estiramiento de C=C y C=N que forman parte de la estructura química del CA (la banda a 1642 cm^{-1} pertenece al enlace C=N mientras que aquellas observadas a 1612 , 1580 y 1520 cm^{-1} están relacionadas con el estiramiento del enlace C=C del anillo aromático [46]; estos picos se vuelven más notorios a medida que se incrementa el contenido del CA. Interesantemente, la vibración del estiramiento de N-H del CA puro, el cual absorbe a 3334 cm^{-1} , fue desplazada a 3390 cm^{-1} en las organoarcillas correspondientes, indicando que las moléculas del fármaco están interactuando con la arcilla, probablemente en el espacio interlamilar. Se detectó un comportamiento similar en la vibración de estiramiento de O-H cuya señal fue desplazada de 3430 a 3480 cm^{-1} para la Na^+ -MMT y sus organoarcillas, respectivamente (ver figura 3.7c) [14, 16, 32].

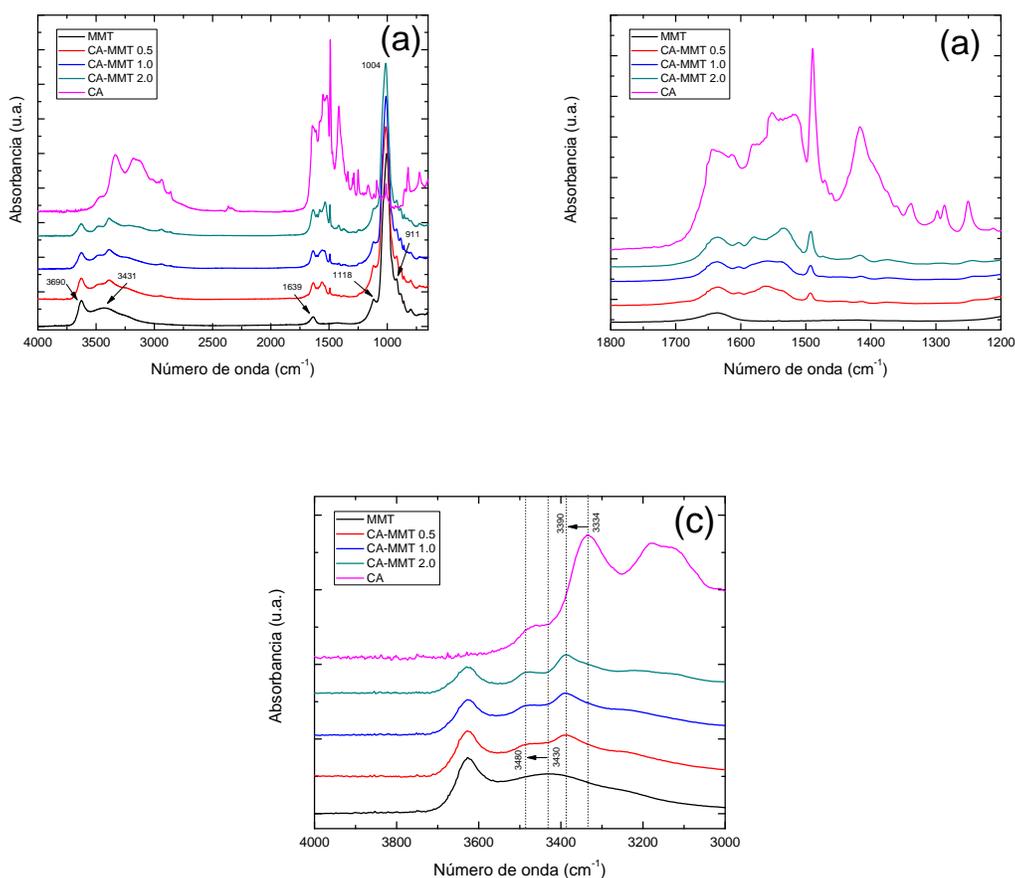
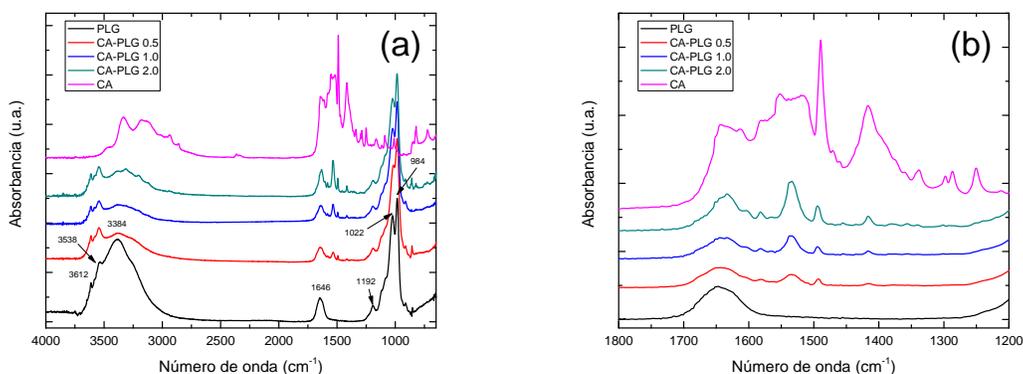


Figura 3.7. Espectro FTIR de las arcillas MMT (a); región del número de onda $1800\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$ (b); región del número de onda $4000\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ (c).

El espectro FTIR de la PLG fue similar al de la MMT (ver figura 3.8a); éste muestra bandas a 3612 cm^{-1} (asociadas al estiramiento del OH en $\text{Al}_2\text{-OH}$), 3540 y 3384 cm^{-1} (relacionadas al agua zeolítica y coordinada, aunque según Ausburger *et al.* [55] la banda a 3540 cm^{-1} también se asocia al estiramiento OH de los grupos Al-Mg-OH , Fe-Mg-OH y Fe-O), 1646 cm^{-1} (debido a la flexión del enlace O-H) y, bandas a 1192 , 1022 y 984 cm^{-1} relacionadas con las vibraciones de estiramiento y flexión de los enlaces de Si-O. Finalmente, existe una banda a 911 cm^{-1} que está asociada al enlace Al-OH-Al [56]. En las muestras de paligorskita modificada, el espectro muestra nuevamente bandas asociadas al CA que fueron también presentadas por los espectros de las organoarcillas a base de MMT; estas bandas se encuentran en el intervalo de número de onda que va de 1800 a 1200 cm^{-1} y están relacionadas, como se mencionó anteriormente, con las vibraciones de estiramiento de los enlaces C=C y C=N de la estructura del CA (ver figura 3.8b). También, se puede notar que las bandas asociadas a la vibración de estiramiento O-H y N-H en las organoarcillas de PLG no exhibieron desplazamiento alguno con respecto al de la PLG pura (ver figura 3.8c). Esto se puede explicar si uno considera que en las organoarcillas de PLG, el CA no se alojó en las galerías de la arcilla interactuando de esta manera con la estructura cristalina de la misma, sino que quedó depositado entre la superficie externa de las fibras de este mineral.



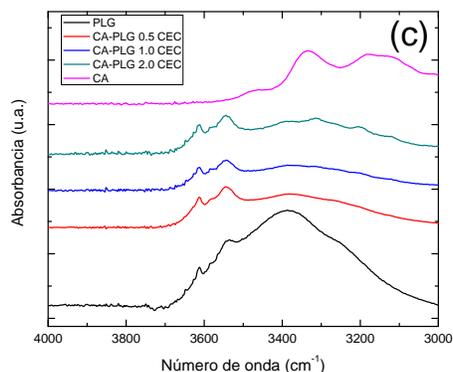


Figura 3.8. Espectro FTIR de las arcillas PLG (a); región del número de onda 1800-1200 cm^{-1} (b); región del número de onda 4000-3000 cm^{-1} (c).

3.2.4. Difracción de Rayos X

Los patrones de DRX de la Na^+MMT y sus organoarcillas se presentan en la figura 3.9a mientras que los correspondientes a la PLG y sus organoarcillas se muestran en la figura 3.9b. El difractograma de la montmorillonita sódica tiene un pico de difracción en $2\theta = 7.4^\circ$, lo cual indica que la distancia interlamina de esta arcilla es de 1.22 nm (se utilizó la ley de Bragg para hacer este cálculo). Este valor es similar a lo reportado por Yang *et al.* [31], Fong *et al.* [20] y Saha *et al.* [16] quienes reportaron 1.22, 1.25 and 1.26 nm, respectivamente para la $\text{Na}^+\text{-MMT}$ y, ligeramente menor al indicado por Meng *et al.* [14] quien encontró un valor de 1.53 nm para este tipo de arcilla. También, se puede observar que el pico de reflexión (001) de la MMT se desplazó a ángulos menores (lo que indica un incremento en espacio basal) en las organoarcillas, siendo mayor el desplazamiento al aumentar la concentración del CA. Esta conducta está asociada a la intercalación del fármaco dentro del espacio interlamina de la arcilla. Así, el espacio basal de la MMT aumentó de 1.22 nm hasta 1.49 nm, lo que significa que hubo un incremento del 22% del espacio basal al agregar CA al 200% del CEC. Meng *et al.* [14] y Fong *et al.* [20], reportaron porcentajes similares de incremento (ver Tabla 3.4) mientras que Yang *et al.* [31] obtuvo 35.24% de incremento, aunque la concentración del CA utilizada por estos autores fue de 4 veces la CEC de la MMT. En este sentido, se debe tener en cuenta que el incremento del espacio basal de los silicatos laminados depende no solo del tipo del

modificador orgánico sino también de la concentración de éste en el medio de reacción. Una mayor concentración del modificador orgánico en las galerías de la arcilla, generalmente produce un aumento en el espacio interlaminar [57], hasta alcanzar un límite, a partir del cual, este parámetro ya no cambia.

En contraste, los difractogramas de rayos-X de las organoarcillas a base de paligorskita no exhibieron cambios en la posición del pico de difracción correspondiente a la reflexión (110) de la PLG; es decir, el pico de difracción exhibido por la PLG sin modificar (señal a $2\theta = 8.5^\circ$, que corresponde a un espacio basal de 1.06 nm) fue también presentado, al mismo valor de 2θ , por las arcillas de PLG modificadas a diferentes concentraciones de CA. Este valor es similar al reportado por Gionis *et al.* [58] y Yan *et al.* [59], para muestras de paligorskita, e implica que la estructura cristalina de este mineral no se ve afectada por el tratamiento químico proporcionado a la arcilla para incorporar el fármaco CA. Este comportamiento era parcialmente esperado debido a que la PLG es una arcilla fibrosa y no laminar.

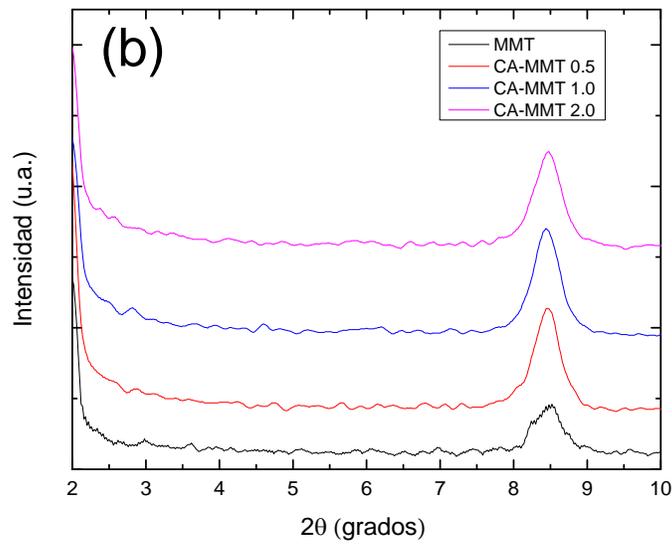
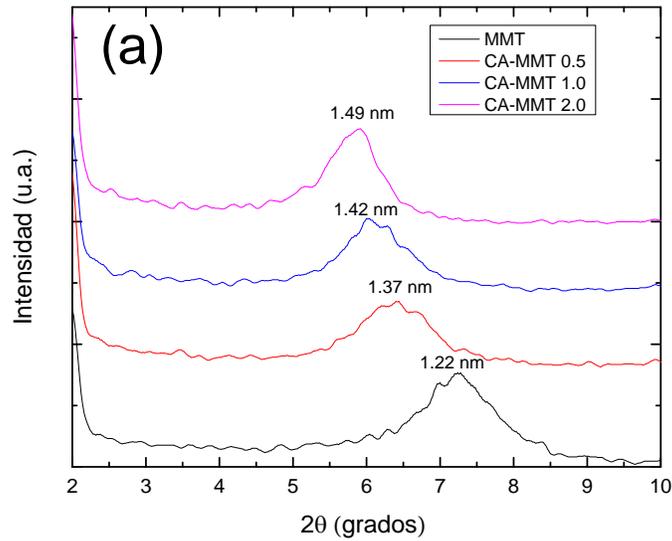


Figura 3.9. Patrones DRX para arcillas modificadas y sin modificar (a) MMT y (b) PLG.

Tabla 3.4. Comparación entre el incremento del espacio basal en la MMT obtenido en este trabajo y la reportada por otros autores.

Incremento del espacio basal	Referencia
24.80 %	Fong <i>et al.</i> [20]
26.14 %	Meng <i>et al.</i> [14]
17.10 %	Saha <i>et al.</i> [16]
22.00%	Trabajo actual

3.2.5. Análisis Termogravimétrico

La figura 3.10 muestra curvas representativas de TGA y DTGA, para las muestras de arcillas (MMT y PLG) modificadas y sin modificar. Se puede observar que el proceso de modificación reduce tanto la humedad como la estabilidad térmica de las organoarcillas. La montmorillonita de sodio exhibe un solo pico (ver el recuadro de la Figura 3.10a) a 80°C, que es debido a la evaporación del agua libre; la pérdida de masa a esta temperatura fue cercana al 5% p/p. Después de este evento, la MMT sódica es prácticamente estable en el intervalo de temperaturas utilizado en este análisis (de 125-550°C). Por otra parte, el CA presenta, además de la pérdida de humedad correspondiente, tres picos principales de descomposición en 230, 367 y 468°C (aunque el primero está compuesto por la superposición de dos eventos). Interesantemente, las curvas de DTGA de las organoarcillas basadas en MMT muestran dos nuevas transiciones en comparación a la conducta exhibida por la MMT sódica (ver regiones sombreadas de la figura 3.10a). La primera se localiza cerca de 250°C (en el intervalo de temperatura de 175-300°C) y corresponde a la descomposición del CA adsorbido físicamente, mientras que la observada cerca de 430°C (en el intervalo de temperatura de 375-500°C) puede relacionarse con la descomposición de CA intercalado dentro de la estructura basal de la arcilla.

Los resultados para las muestras de paligorskita se presentan en la Figura 3.10b. La muestra sin tratamiento presenta una pérdida de masa gradual del casi el 30 % p/p, aunque en la curva de DTGA (ver recuadro de la Figura 3.10b) solo se aprecian, de manera significativa, dos picos: uno a 75°C y el otro a 160°C; a pesar de esto, un análisis más exhaustivo detectó señales muy pequeñas a temperaturas más altas (218 y 408°C). Cheng *et al.* [33] estudiaron la degradación térmica de paligorskita y concluyeron que la deshidratación de PLG ocurre en cuatro pasos: (a) eliminación de agua interparticular y parte del agua zeolítica debajo de 110°C, (b) liberación del resto del agua zeolítica de la capa estructural de la paligorskita a aproximadamente 160°C, (c) deshidratación de una parte del agua enlazada a aproximadamente 340°C y, (d) el resto del agua enlazada a aproximadamente 450°C. Así, los resultados obtenidos en este trabajo coinciden con lo reportado por estos autores.

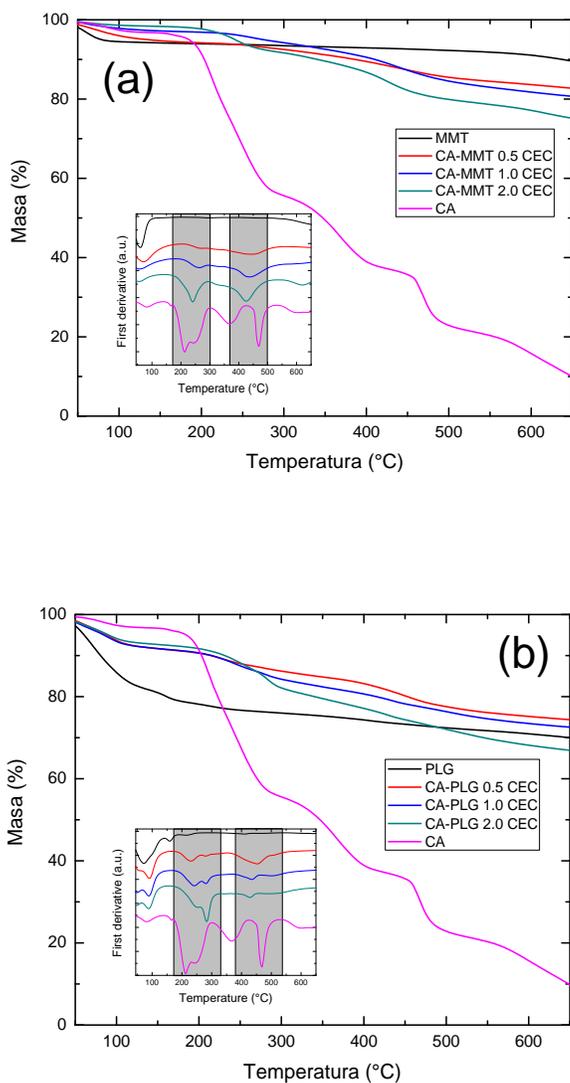


Figura 3.10. Curvas TGA para arcillas modificadas y sin modificar (a) MMT y (b) PLG.

Las curvas de DTGA para las organoarcillas de PLG mostraron la aparición de nuevas transiciones. Por ejemplo, en la región de temperaturas de 175 a 323°C, fueron observados dos picos en la organoarcillas, muy similares a los exhibidos durante la descomposición del CA. Además, también se pudo notar un pico pequeño y amplio en la región de temperaturas de 375 a 540°C. Todos estos picos están relacionados con la presencia del CA en la estructura de este mineral fibroso.

3.3. Estudios de liberación del CA

3.3.1. Liberación a partir de las organoarcillas

La cinética de liberación del fármaco (CA) contenido en las organoarcillas CA-MMT 2.0 y CA-PLG 2.0, en solución búfer de fosfatos (PBS), se muestra en la Figura 3.11. Es claro que el CA se libera continuamente durante toda la prueba, tanto en la MMT como en la PLG, existiendo una liberación tipo “ráfaga” en las primeras 5 horas. Este comportamiento ha sido asociado a la liberación de CA presente en la superficie de las nanoarcillas. Después de la liberación inicial tipo “ráfaga”, el fármaco se libera más lentamente, de manera sostenida, durante las siguientes 20 h. Esto último ha sido asociado con la liberación de los cationes hidrofóbicos del fármaco localizados en el espacio interlamilar, los cuales no pueden des-intercalarse fácilmente. Interesantemente en este periodo (en las últimas horas), la muestra de paligorskita parece llegar al equilibrio, mientras que la MMT permanece liberando CA. También se puede notar que la liberación del CA a partir de la MMT fue casi el doble que lo observado para el sistema PLG durante las primeras 5 horas (liberación tipo ráfaga), aunque esta proporción alcanzó hasta tres veces en el último periodo de tiempo. Estos resultados están de acuerdo a la cantidad de fármaco cargado en las estructuras de las nanoarcillas (ver tabla 3.3). Los datos del CA liberado en cada tiempo de análisis, así como el acumulado son presentados en la Tabla 3.5.

Tabla 3.5. Liberación de clorhexidina a partir de CA-MMT 2.0 y, CA-PLG 2.0 CEC evaluado por UV-Vis ($\lambda = 264$ nm).

Tiempo (h)	CA-MMT 2.0		CA-PLG 2.0	
	Liberación en ese tiempo ($\mu\text{g/ml}$)	Liberación acumulada ($\mu\text{g/ml}$)	Liberación en ese tiempo ($\mu\text{g/ml}$)	Liberación acumulada ($\mu\text{g/ml}$)
0	0	0	0	0
1	43.83 ± 2.88	43.83 ± 2.88	22.01 ± 1.46	22.01 ± 1.46
2	52.10 ± 7.68	95.93 ± 4.80	18.54 ± 0.36	40.55 ± 1.82
3	59.33 ± 1.72	155.26 ± 6.52	16.43 ± 2.15	56.98 ± 3.975
4	61.37 ± 0.85	216.63 ± 5.67	16.55 ± 0.86	73.53 ± 4.83
5	58.72 ± 0.49	275.36 ± 6.17	15.83 ± 1.05	89.36 ± 5.88
8	58.80 ± 0.01	334.16 ± 6.15	18.25 ± 1.83	107.61 ± 7.71
24	53.59 ± 2.53	387.76 ± 3.62	18.00 ± 1.18	125.61 ± 8.89

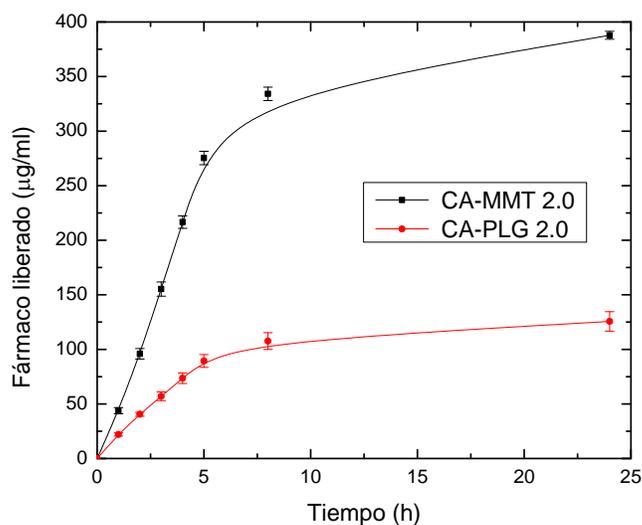


Figura 3.11. Liberación acumulada de CA de las organoarcillas.

3.3.2. Liberación a partir del material compuesto

La cinética de liberación del fármaco (CA) contenido en los nanocompuestos preparados con PLA y las organoarcillas: CA-MMT 2.0 y CA-PLG 2.0, en solución búfer de fosfatos (PBS), se muestra en la Figura 3.12. De nuevo, se puede apreciar que el CA se libera continuamente durante toda la prueba, tanto en los nanocompuestos preparados con MMT como en los que contienen PLG, existiendo una liberación tipo “ráfaga” en las primeras 5 horas. Este comportamiento es similar al exhibido por las nanoarcillas solas y ha sido asociado a la liberación del CA perteneciente a la superficie de las nanoarcillas. Interesantemente, la cantidad de fármaco liberado en los nanocompuestos durante las primeras 5 horas es de alrededor de 25 µg/ml, mientras que, en las organoarcillas solas, esta cantidad alcanzaba casi los 100 µg/ml, y hasta 200 µg/ml, en la MMT y PLG respectivamente; es decir, la presencia de una matriz polimérica reduce la cantidad del fármaco liberado, aunque mantiene su cinética. Otro aspecto que debe ser señalado es que, aunque el nanocompuesto de MMT sigue liberando una mayor cantidad de fármaco, la diferencia con lo liberado por el sistema de PLG no es tan grande como en las cinéticas de la organoarcillas solas. Después de la liberación inicial tipo “ráfaga”, el fármaco se sigue

liberando en concentraciones considerables hasta las 48 horas (dos días), aunque de una manera más lenta en comparación con las primeras 5 horas.

También es interesante señalar que la cantidad de CA liberada en dos días (48 horas) por los nanocompuestos alcanza 55 $\mu\text{g/ml}$ y 110 $\mu\text{g/ml}$ para la PLG y la MMT, respectivamente. Estos valores son pequeños en comparación a los 125 $\mu\text{g/ml}$ y 387 $\mu\text{g/ml}$ liberados por las organoarcillas solas, en la mitad del tiempo (24 horas). Lo anterior sugiere que el uso de nanocompuestos permite controlar la liberación de fármacos de una mejor manera. En la Tabla 3.6 se pueden ver los datos de la liberación de CA a tiempos específicos y el acumulado para cada medición.

Tabla 3.6. Liberación de clorhexidina a partir de los nanocompuestos PLA/CA-MMT 2.0 y PLA/CA-PLG 2.0 evaluado por UV-Vis ($\lambda = 264 \text{ nm}$).

tiempo (h)	PLA/CA-MMT 2.0		PLA/CA-PLG 2.0	
	Liberación en ese tiempo ($\mu\text{g/ml}$)	liberación acumulada ($\mu\text{g/ml}$)	Liberación en ese tiempo ($\mu\text{g/ml}$)	liberación acumulada ($\mu\text{g/ml}$)
0	0	0	0	0
0.5	3.81	3.81	2.27	2.27
1	3.85	7.66	3.10	5.37
2	3.73	11.39	3.85	9.22
3	4.52	15.91	4.58	13.8
4	6.25	22.16	4.13	17.93
5	6.09	28.25	4.67	22.60
8	7.53	35.78	5.36	27.96
24	19.86	55.64	10.77	38.73
32	21.84	77.48	9.37	48.10
48	28.88	106.36	9.75	57.85

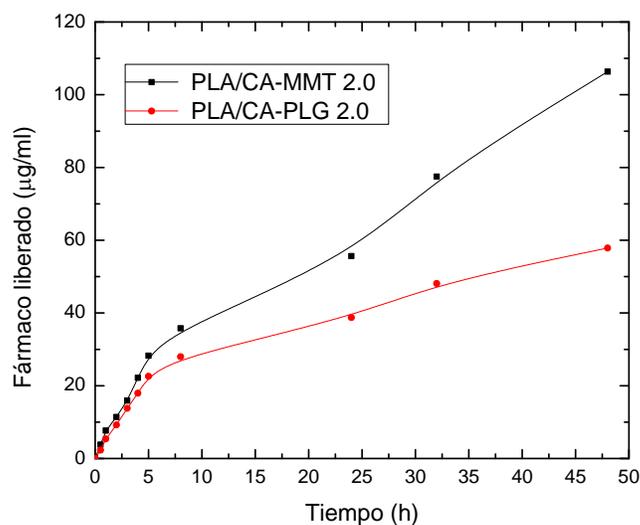


Figura 3.12. Liberación acumulada de CA de los nanocompuestos

3.4. Modelamiento de la cinética de liberación del CA

3.4.1. Liberación a partir de las organoarcillas

El modelamiento de la cinética de liberación del diacetato de clorhexidina es de gran importancia para predecir la funcionalidad de las arcillas preparadas en este estudio. La importancia de modelar la cinética de liberación de los medicamentos radica en el hecho de poder establecer una relación entre los parámetros de los modelos, con los requerimientos posológicos (determinación de las dosis en que deben administrarse los medicamentos) de un tratamiento médico específico.

La liberación del medicamento está en función de la adsorción de éste dentro de las nanoarcillas, la erosión del aglomerado, y la difusión del medicamento. La aplicación de un modelo correcto para describir la cinética de liberación permite analizar la rapidez de entrega, cambios en la disolución y, los mecanismos de la liberación [60].

La Figura 3.13 muestra la fracción (f) de CA liberada por las arcillas modificadas (CA-MMT 2.0 y CA-PLG 2.0) en función del tiempo, y representa el cociente entre el CA liberado a un tiempo determinado y el valor de CA liberado a las 24 h; en ambos casos los datos utilizados para el cálculo de f fueron tomados de la Figura 3.11. Este tipo de gráfica

permite conocer la cinética de liberación del fármaco sin tomar en cuenta la capacidad de almacenaje del fármaco en la arcilla.

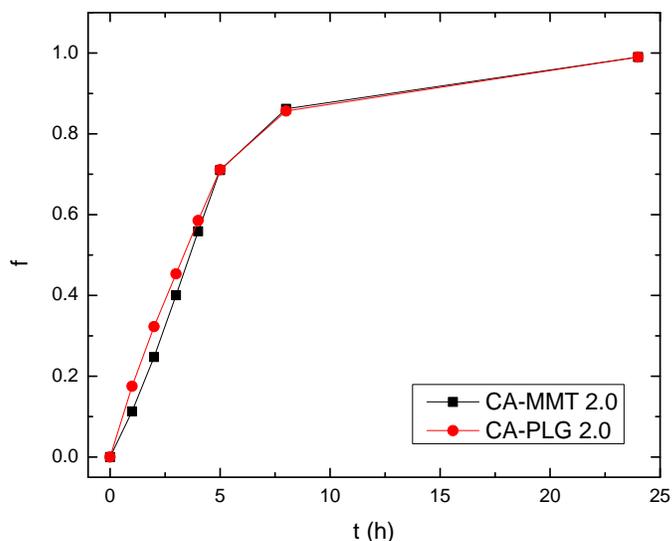
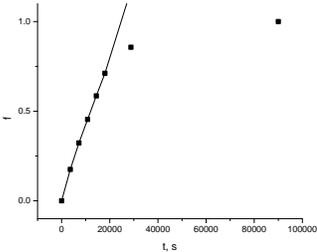
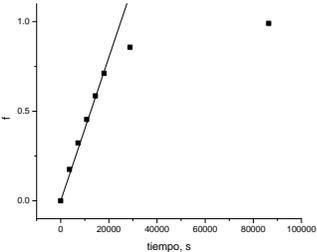
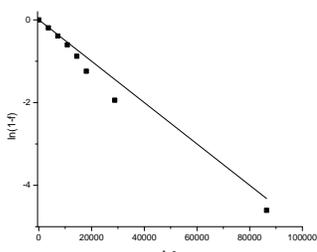
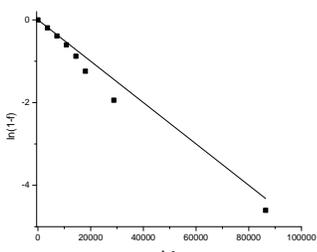
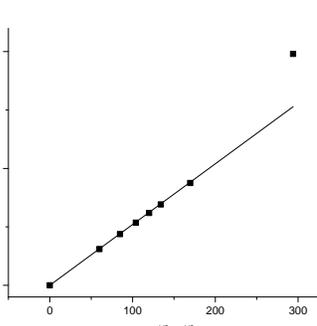
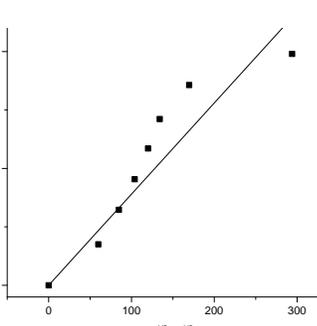
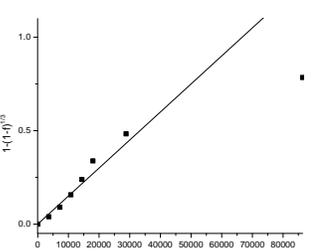
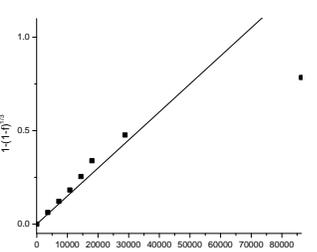


Figura 3.13. Fracción de CA liberada, en función del tiempo, por las arcillas modificadas.

Se puede notar que la rapidez de liberación del CA es similar para ambas arcillas, siendo la PLG la que presenta una cinética de liberación ligeramente más rápida en las primeras horas del experimento. Es posible que la difusión del CA desde las galerías de la montmorillonita sea la razón para este fenómeno.

Como se mencionó en la parte experimental de este trabajo, se utilizaron cinco modelos para describir la liberación del CA a partir de las arcillas modificadas. Los modelos utilizados fueron: el de orden cero, el de primer orden, el modelo de Higuchi, el de Hixon-Crowell y, el de Korsmeyer-Peppas. En la Tabla 3.7 se muestran los ajustes del modelo a los datos experimentales; debido a la particularidad de las curvas se modeló principalmente, la parte inicial del experimento. Los parámetros que caracterizan los modelos (coeficiente de correlación y las constantes de rapidez respectivas) se muestran en la Tabla 3.8.

Tabla 3.7. Modelamiento de la cinética de liberación del CA a partir de las nanoarcillas utilizando diferentes modelos.

Modelo	CA-MMT 2.0	CA-PLG 2.0
Orden cero		
Primer Orden		
Higuchi		
Hixon-Crowell		

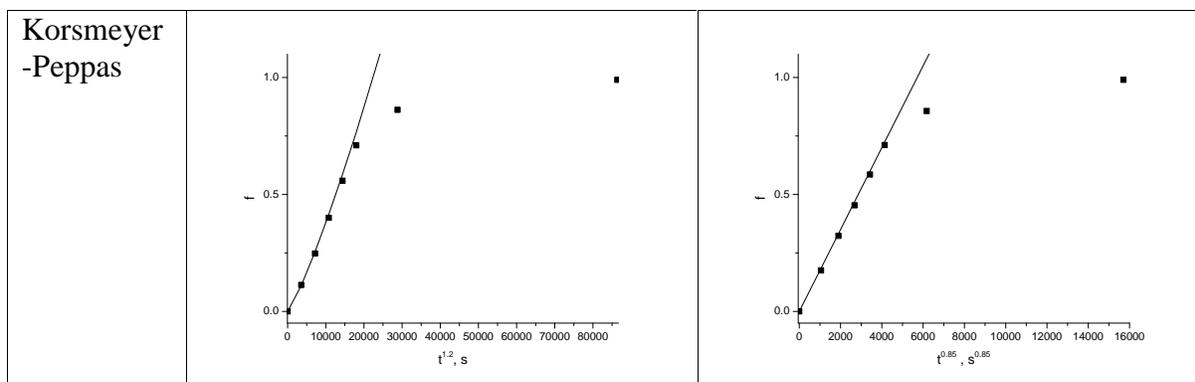


Tabla 3.8. Coeficientes de correlación (r^2) y constante de rapidez de los modelos (k) para las arcillas modificadas.

Modelo matemático	CA- MMT 2.0		CA-PLG 2.0	
	r^2	k	r^2	k
Orden cero	0.9943	$4e-5 (s^{-1})$	0.9935	$4e-5 (s^{-1})$
Primer Orden	0.9542	$-5e-5 (s^{-1})$	0.9420	$-5e-5 (s^{-1})$
Higuchi	0.9998	$2.6e-3 (s^{-1/2})$	0.9490	$3.9e-3 (s^{-1/2})$
Hixson-Crowell	0.9709	$2e-5 (s^{-1/3})$	0.9709	$2e-2 (s^{-1/3})$
Korsmeyer-Peppas	0.9997	$6e-6 (s^{-n})$	0.9998	$2e-4 (s^{-n})$

Los modelos de Higuchi y Korsmeyer-Peppas describen bien la parte inicial de la liberación del CA desde la MMT. Por otro lado, el modelo de orden cero y Korsmeyer-Peppas describen bien los datos para el sistema de PGL. Los valores de la constante de rapidez (k) tienden ser mayores para el sistema de PLG, sugiriendo que la liberación es más rápida para este último sistema.

3.4.2. Liberación a partir del nanocompuesto

En la Figura 3.14 se muestran los perfiles de liberación del CA desde los compuestos de PLA conteniendo las arcillas modificadas. Es claro que los materiales liberan el agente activo en diferente manera, siendo al parecer el sistema PLA/CA-PLG 2.0 el que presenta mayor rapidez de entrega. En la Tabla 3.9 se muestran las gráficas del modelamiento del

proceso de liberación del CA desde los materiales compuestos de PLA. Se puede notar que la mayoría de los modelos describen razonablemente las primeras etapas de la cinética de la liberación. Los coeficientes de correlación y los constantes de los modelos se muestran en la Tabla 3.10; se puede observar que k es mayor para los sistema que contienen PLG, en comparación con lo que poseen MMT. Esto indica que la liberación del CA es más rápida en el primero de ellos.

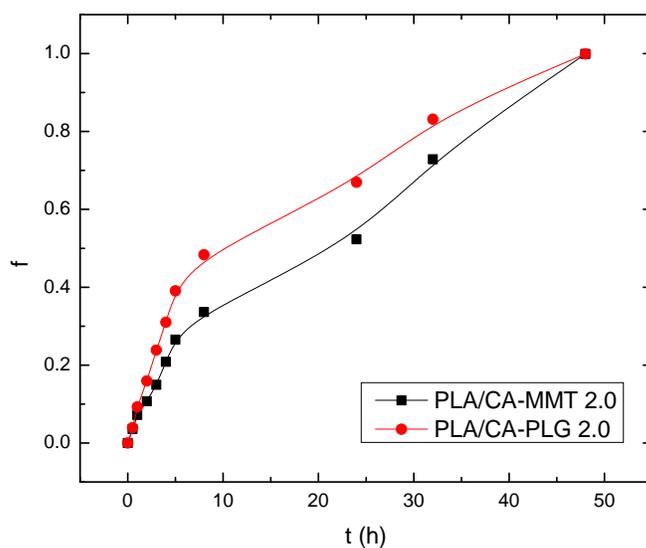
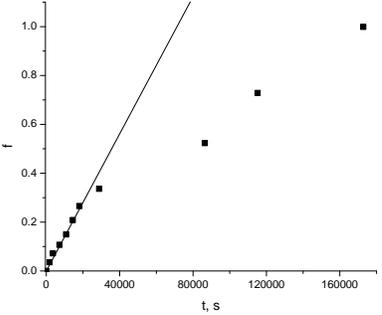
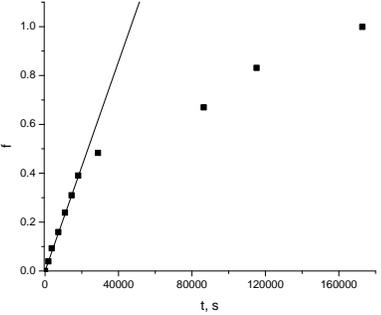
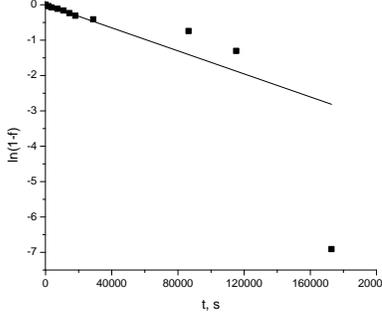
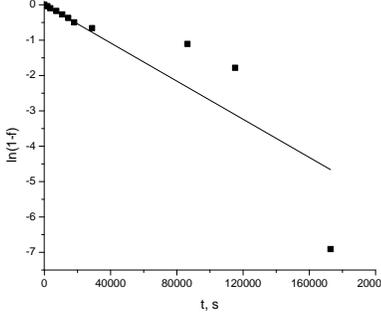
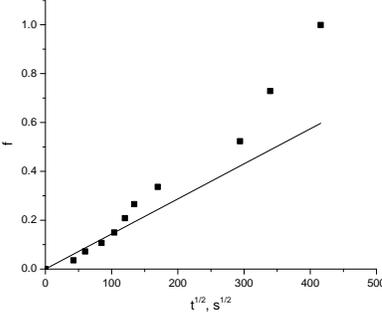
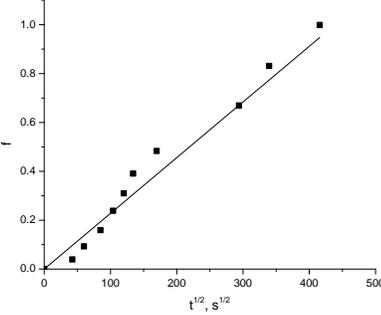
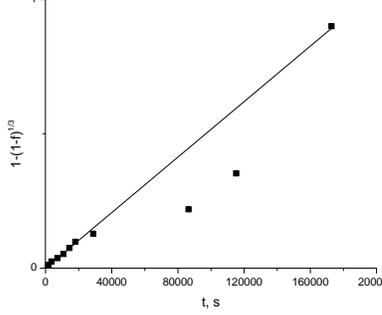
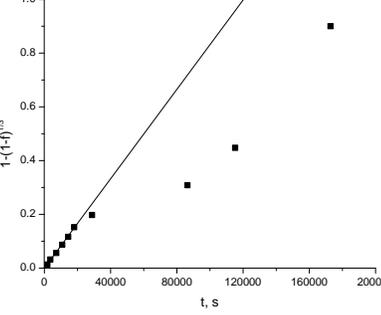


Figura 3.14. Fracción (f) de CA liberada, en función del tiempo, por los nanocompuestos de PLA/arcillas modificadas.

Tabla 3.9. Modelamiento de la cinética de liberación del CA a partir de las nanocompuestos utilizando diferentes modelos.

Modelo	PLA/CA-MMT 2.0	PLA/CA-PLG 2.0
Orden cero		
Primer Orden		
Higuchi		
Hixon-Crowell		

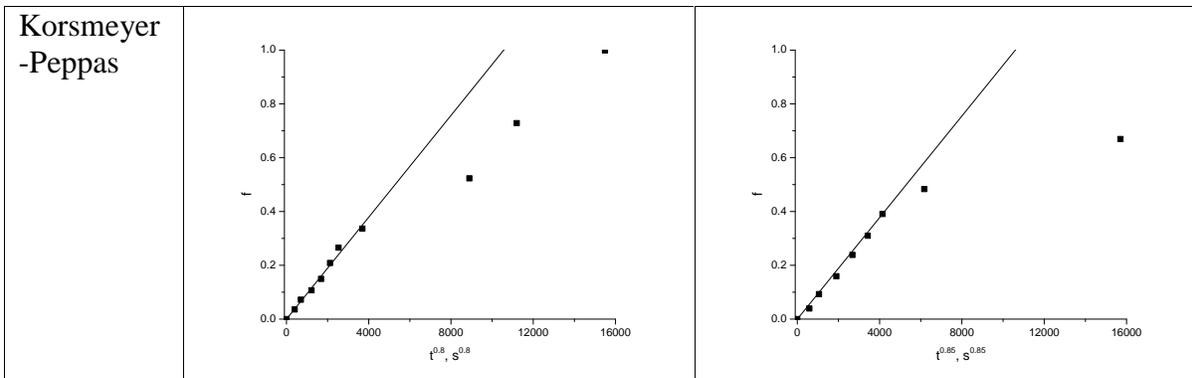


Tabla 3.10. Coeficientes de correlación (r^2) y constante de rapidez de los modelos (k) para los nanocompuestos.

Modelo matemático	PLA/CA-MMT 2.0		PLA/CA-PLG 2.0	
	r^2	k	r^2	k
Orden cero	0.9898	$1.4e-5 (s^{-1})$	0.9981	$2.14e-5 (s^{-1})$
Primer Orden	0.9900	$-1.62e-5 (s^{-1})$	0.9950	$-2.69e-5 (s^{-1})$
Higuchi	0.9542	0.0014	0.8952	0.0022
Hixson-Crowell	0.9970	$5.1E-06$	0.9977	$8.31E-06$
Korsmeyer-Peppas	0.9885	$9.4E-05$	0.9951	$9.43E-05$

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este trabajo permitieron llegar a las siguientes conclusiones:

- ✓ Se sintetizaron organoarcillas a partir de diacetato de clorhexidina (CA) y dos tipos diferentes de arcillas: una de tipo laminar (montmorillonita, MMT) y la otra del tipo fibrilar (paligorskita, PLG). El fármaco fue incorporado a varias concentraciones de la Capacidad de Intercambio Catiónico de cada arcilla.
- ✓ Los resultados de EDS, FTIR y TGA confirmaron que la modificación orgánica de las nanoarcillas fue exitosa y se logró incorporar 22.5 % p/p del CA en la MMT y 15.2 % p/p en la PLG.
- ✓ Los patrones de XRD del sistema CA/MMT muestran un incremento del espacio interlaminar de la MMT cuando la concentración de CA aumenta, sugiriendo la intercalación del fármaco dentro de las galerías de la MMT; en contraste, el pico de difracción de CA/PLG permaneció sin cambios a pesar de su modificación con CA.
- ✓ Los estudios de liberación del fármaco a partir de las arcillas mostraron una liberación inicial tipo “ráfaga” dentro de las primeras 5 horas y luego una liberación sostenida del CA hasta las 24 h. A pesar de lo anterior y conforme a lo esperado, el CA liberado de la MMT fue mayor al observado en la PLG.
- ✓ Se prepararon nanocompuestos utilizando poli(ácido láctico) y organoarcillas de MMT y PLG.
- ✓ La cinética de liberación del fármaco contenido en los nanocompuestos presenta un comportamiento diferente al exhibido por las arcillas. Aunque en las primeras horas también existe una liberación tipo ráfaga, los nanocompuestos siguen liberando el agente antibacterial hasta el final de la prueba (2 días).
- ✓ La presencia de una matriz polimérica reduce la concentración del fármaco liberado en el medio, aunque mantiene su perfil de liberación.
- ✓ Los estudios del modelamiento de la cinética de liberación del fármaco señalan que la rapidez (k) de liberación en el sistema que contiene PLG es mayor que la exhibida por la MMT usando el modelo de Korsmeyer-Peppas; lo anterior aplica tanto a las organoarcillas, como al nanocompuesto.

- ✓ Los modelos utilizados en este trabajo describen razonablemente las primeras etapas de la cinética de la liberación del CA en el medio, siendo el modelo de Korsmeyer-Peppas, el que proporciona las mejores correlaciones debido a que el exponente n puede variar libremente.

RECOMENDACIONES

A pesar de que los resultados obtenidos en este trabajo fueron satisfactorios se recomienda lo siguiente:

- a) Estudiar la cinética de liberación del CA por mayores períodos de tiempo.
- b) Realizar ensayos de actividad antibacterial, como por ejemplo pruebas de difusión de discos en agar, que permitan medir el halo inhibitorio del crecimiento bacteriano.

Anexo

Procedimiento utilizado para calcular la cantidad de CA para tratar las arcillas

El procedimiento utilizado para calcular la cantidad en gramos del CA necesarios para tratar las arcillas (MMT y PLG) con las relaciones de CEC (0.5, 1.0 and 2.0 veces) descritas en la Tabla 2.1 se detalla a continuación:

Para calcular la cantidad de la clorhexidina (CHX) en gramos con respecto a la fracción equivalente de CEC de la MMT (92.6 meq/ 100 g) (Cloisite Na+, 2008), se utilizó la siguiente ecuación:

$$\frac{g_C}{m} = \frac{P_c}{1000(V)}$$

El peso molecular de la clorhexidina (CHX) (sin el ión acetato) es de 505.45 g/mol y además es dicatiónica:

$$\frac{g_C}{m} = \frac{505.45}{1000(2)} = 0.2527 \text{ g/m}$$

Se sustituye en la siguiente ecuación:

$$\frac{g_C}{g_M} = \left[\frac{g_C}{m} \right] \left[\frac{92.6 \text{ m}}{100 \text{ g}_M} \right]$$
$$\frac{g_C}{g_M} = \left[\frac{0.2527 \text{ g}_C}{m} \right] \left[\frac{92.6 \text{ m}}{100 \text{ g}_M} \right]$$
$$\frac{g_C}{g_M} = \left[\frac{(92.6)(g_C)}{92.6 \text{ m}} \right] \left[\frac{92.6 \text{ m}}{100 \text{ g}_M} \right]$$

El resultado nos indica cuántos gramos de CHX se necesitan por cada gramo de MMT para ocupar el 100% de su CEC:

$$\frac{g_C}{g_M} \Big|_{1.0 C} = \frac{(92.6)(g_C)}{100 g_M} = \frac{(92.6)(0.2527 g_C)}{100 g_M} = \frac{0.234 g_C}{1 g_M} = \frac{0.117 g_C}{0.5 g_M}$$

Se trabajaron con tres porcentajes del CEC (50%, 100% y 200%):

$$\frac{g_C}{g_M} \Big|_{0.5 C} = \left[\frac{g_C}{g_M} \right] \left[\frac{50}{100} \right] = \left[\frac{0.234 g_C}{1 g_M} \right] \left[\frac{50}{100} \right] = \frac{0.117 g_C}{1 g_M} = \frac{0.0585 g_C}{0.5 g_M}$$

$$\frac{g_C}{g_M} \Big|_{2.0 C} = \left[\frac{g_C}{g_M} \right] \left[\frac{200}{100} \right] = \left[\frac{0.234 g_C}{1 g_M} \right] \left[\frac{200}{100} \right] = \frac{0.468 g_C}{1 g_M} = \frac{0.234 g_{CH}}{0.5 g_M}$$

De la misma forma; se calculó la cantidad del fármaco necesaria para la paligorskita (PLG) la cual tiene una CEC de 26.2 meq/ 100 g). También se trabajó con los mismos niveles diferentes de saturación.

$$\frac{g_C}{g_P} \Big|_{1.0 C} = \frac{(26.2)(g_C)}{100 g_P} = \frac{(26.2)(0.2527 g_C)}{100 g_P} = \frac{.0662 g_C}{1 g_P} = \frac{.0331 g_C}{.5 g_P}$$

$$\frac{g_C}{g_P} \Big|_{0.5 C} = \left[\frac{g_C}{g_P} \right] \left[\frac{50}{100} \right] = \left[\frac{0.0662 g_C}{1 g_P} \right] \left[\frac{50}{100} \right] = \frac{.0331 g_C}{1 g_P} = \frac{.01655 g_C}{.5 g_P}$$

$$\frac{g_C}{g_{PLG}} \Big|_{2.0 C} = \left[\frac{g_C}{g_P} \right] \left[\frac{200}{100} \right] = \left[\frac{0.0662 g_C}{1 g_P} \right] \left[\frac{200}{100} \right] = \frac{0.1324 g_C}{1 g_P} = \frac{.0662 g_C}{.5 g_P}$$

REFERENCIAS

- [1] G. Tiwari; R. Tiwari; B. Sriwastawa; L. Bhati; S. Pandey; P. Pandey, P.; S.K. Bannerjee. Drug delivery systems: An updated review. *International Journal of Pharmaceutical Investigation* (2012) 2-11.
- [2] Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas. (2014, Mayo). *Diccionario del catalogo sectorial de productos farmacéuticos*. Obtenido de Digemid: <http://www.digemid.minsa.gob.pe>.
- [3] A. Garg; I. Singh. Concepts of sustained release dosage forms. *Journal of Applied Pharmaceutical and Biological Research* (2016).
- [4] H. K. Shaikh; R. V. Kshirsagar; S. G. Patil. Mathematical models for drug release characterization: a review. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* (2015) 324-338.
- [5] S. Alcalá-Alcalá; D. Quintanar-Guerrero. La terapia a nanoescala: ensamblaje de estructuras liberadoras de fármacos. *Mundo Nano* (2014) 32-48.
- [6] M. Goldberg; R. Langer; X. Jia. Nanostructured materials for applications in drug delivery and tissue engineering. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition* (2007) 241–268.
- [7] M. Ghadiri; W. Chrzanowski; R. Rohanizadeh. Biomedical applications of cationic clay minerals. *RSC Advances* (2015) 29467-29481.
- [8] A. Olad. Polymer/Clay Nanocomposites. *Advances in Diverse Industrial Applications of Nanocomposites* (2011) 113-138.
- [9] F. Uddin. Clays, Nanoclays, and Montmorillonite Minerals. *Metallurgical and materials transactions* (2008).
- [10] A. Gürses. *Introduction to Polymer-Clay Nanocomposites*. Boca Ratón: Pan Stanford Publishing (2015).

- [11] L. Poppe; V. Paskevich; J. Hathaway; D. Blackwood. A Laboratory Manual for X-Ray Powder Diffraction . *U. S. Geological Survey Open-File Report 01-041* (2001) 1-41.
- [12] G. Sela (2016). *Cation exchange capacity of soils*. Obtenido de Smart Fertilizer Management: <http://www.smart-fertilizer.com/articles/Cation-Exchange-Capacity>
- [13] B. K. Galton-Fenzi, (2004, Febrero 21). *The Clay Minerals - Structure*. Obtenido de Groundwater Research: <http://www.groundwaterresearch.com.au>
- [14] N. Meng; N.L. Zhou; S.Q. Zhang; J. Shen. Controlled release and antibacterial activity chlorhexidine acetate (CA) intercalated in montmorillonite. *International Journal of Pharmaceutics* (2009) 45-49.
- [15] A. Jordán, (2014, septiembre 7). *Lightening the clay (II)*. Obtenido de Soil System Sciences: <http://blogs.egu.eu>
- [16] K. Saha; B. Butola; M. Joshi. Synthesis and characterization of chlorhexidine acetate drug–montmorillonite intercalates for antibacterial applications. *Applied Clay Science* (2014) 477-483.
- [17] E. A. Ruiz-Hitzky; M. Dardera; G. Rytwo. Hybrid materials based on clays for environmental and biomedical applications. *Journal of Materials Chemistry* (2010) 9306-9321.
- [18] M. F. Brigatti; E. Galán, E.; B.K. Theng. Structures and Mineralogy of Clay Minerals. *Developments in Clay Science* (2006) 19-69.
- [19] P. Singla; R. Mehta; S. N. Upadhyay. Clay Modification by the Use of Organic Cations. *Green and Sustainable Chemistry* (2012) 21-25.
- [20] N. Fong; A. Simmons; L. Poole-Warren. Antibacterial polyurethane nanocomposites using chlorhexidine diacetate as an organic modifier. *Acta Biomaterialia*, (2010) 2554–2561.
- [21] Z. Mohammadi; P. V. Abbott. The properties and applications of chlorhexidine in endodontics. *International Endodontic Journal* (2009) 288–302.

- [22] S. Balagopal; R. Arjunker. Chlorhexidine: The Gold Standard Antiplatelet Agent . *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, (2013) 270-274.
- [23] R. J. Lohar; V. M. Patil; R. G. Gaikwad; S.S Patil. Development and validation of uv-visible spectrophotometric method for estimation of selected antiseptic drug in bulk and pharmaceutical dosage form. *World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences* (2016) 1197-1205.
- [24] P. Dutt; P. Rathore, P; D. D. Khurana. Chlorhexidine - An antiseptic in periodontics. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences (IOSR-JDMS)* (2014) 85-88.
- [25] E. Guimaraes; M. Cortes; K. Teixeira; M. Franco; D. D. S. Mohallem; R. Sinisterra. A new controlled release system of chlorhexidine and chlorhexidine: cd inclusion compounds based on porous silica. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* (2010) 159-168.
- [26] Medical Labs. (2014). *Chlorhexidine Antiseptic Action*. Obtenido de Medical Labs : <http://www.medical-labs.net>
- [27] Chlorhexidine Partners Network. (14 de noviembre de 2012). *About Chlorhexidine: Mechanism of Action*. Obtenido de chlorhexidinfacts.com: <http://chlorhexidinfacts.com>
- [28] Chlorhexidine Partners Network. (14 de Noviembre de 2012). *About Chlorhexidine: Resistance*. Obtenido de chlorhexidinfacts.com: <http://chlorhexidinfacts.com>
- [29] N. Fong; L.A. Poole-Warren; A. Simmons. Development of sustained-release antibacterial urinary biomaterials through using an antimicrobial as an organic modifier in polyurethane nanocomposites. *Journal of Biomedical Materials Research B: Applied Biomaterials*, (2013) 310-319.
- [30] A. Justo; E. Morillo. técnicas de Difracción de rayos X para la identificación cualitativa y cuantitativa de minerales de la arcilla. In *Ciencia y Tecnología de Materiales II* (pp. 77-86). Castellón de la Plana: Castellón de la Plana. Ayuntamiento (1999).

- [31] D. Yang; P. Yuan; J. X. Zhu, J. X.; H. P. He. Synthesis and characterization of antibacterial compounds using montmorillonite and chlorhexidine acetate. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* (2007) 847-852.
- [32] J.M. Cervantes-Uc; J.V. Cauich-Rodríguez; H. Vázquez-Torres; L. Garfias-Mesías; D. Paul. Thermal degradation of commercially available organoclays studied by TGA–FTIR. *Thermochimica Acta* (2007) 92-102.
- [33] H. Cheng; J. Yang; R. Frost. Thermogravimetric analysis-mass spectrometry (TG-MS) of selected Chinese palygorskites—Implications for structural water. *Thermochimica Acta*, (2011) 202–207.
- [34] P. H. Cury-Camargo; K.G. Satyanarayana; F. Wypych. Nanocomposites: Synthesis, Structure, Properties and New Application Opportunities. *Materials Research* (2009) 1-39.
- [35] C. C. Okpala. The benefits and applications of nanocomposites . *International Journal of Advanced Engineering Technology* (2014) 12-18.
- [36] S. Mallakpour; M. Madani. Use of L-tyrosine amino acid as biomodifier of Cloisite Na⁺ for preparation of novel poly(vinyl alcohol)/organoclay bionanocomposites film. *Journal of Material Science* (2011) 4071–4078.
- [37] E. A. Franco-Urquiza; M. L. Maspocho-Ruldua. Estructura general de las arcillas utilizadas en la preparación de nanocompuestos poliméricos. *Ingenierías* (2009) 35-41.
- [38] L. N. Ludueña; V.A. Alvarez; A. Vazquez. Processing and microstructure of PCL/clay nanocomposites. *Materials Science & Engineering A*, (2007) 121-129.
- [39] S. Choudhary; R. J. Sengwa. Intercalated Clay Structures and Amorphous Behavior of Solution Cast and Melt Pressed Poly(ethylene oxide)–Clay Nanocomposites . *Applied Polymer Science* (2013)
- [40] S. Mohan; O. S. Oluwafemi; N. Kalarikkal; S. Thomas; S. P. Songca (2016). Biopolymers – Application in Nanoscience and Nanotechnology, Recent Advances

- in Biopolymers. En F. Khan, *Recent Advances in Biopolymers* (págs. 60-61). InTech.
- [41] L. Xiao; B. Wang; G. Yang; M. Gauthier (2012). Poly(Lactic Acid)-Based Biomaterials: Synthesis, Modification and Applications. En D. N. Ghista, *Biomedical Science, Engineering and Technology* (págs. 247-270). Intech.
- [42] M. Jamshidian; E. A. Tehrany; M. Imran; M. Jacquot; S. Desobry. Poly-Lactic Acid: Production, Applications, Nanocomposites, and Release Studies . *Comprehensive reviews in food science and food safety* (2010) 552-571.
- [43] L. Espejo. *Modificación estructural de Poli(Acido Láctico) (PLA) mediante extrusión reactiva: estudio preliminar en mezclador interno escala laboratorio*. Barcelona: Escola Tècnica Superior d'Enginyeria Industrial de Barcelona - Enginyeria de Materials (2011).
- [44] Y. Onodera; T. Iwasaki, A. Chatterjee; T. Ebina; T. Satoh; T. Suzuki, T; H. Mimura. Bactericidal allophanic materials prepared from allophane soil: I. Preparation and characterization of silver/phosphorus–silver loaded allophanic specimens. *Applied Clay Science* (2001) 123-134.
- [45] C.H. Hu; M. S. Xia. Adsorption and antibacterial effect of copper-exchanged montmorillonite on Escherichia coli K88. *Applied Clay Science* (2006) 180-184.
- [46] S. Holesová; M. Valásková; D. Hlavác; J. Madejovác; M. Samlíková; J. Tokarsky, J.; E. Pazdziora. Antibacterial kaolinite/urea/chlorhexidine nanocomposites: Experiment and molecular modelling. *Applied Surface Science*, (2014) 783-791.
- [47] L. Campos; L. Boaro; T. Santos; V. Santos; G. Varca; D. Parra. Chlorhexidine loaded MMT as dental composite filler: release evaluation. *Revista Matéria* (2013).
- [48] J. Gajdziok; S. Holešová; J. Štembírek; E. Pazdziora; H. Landová; P. Doledel; D. Vetchý. Carmellose Mucoadhesive Oral Films Containing Vermiculite/Chlorhexidine Nanocomposites as Innovative Biomaterials for Treatment of Oral Infections. *Hindawi Publishing Corporation*, (2015) 1-15.

- [49] M. Sánchez del Río; M. Suárez; E. García-Romero. The occurrence of palygorskite in the Yucatán peninsula: ethno-historic and archaeological contexts. *Archaeometry* (2009) 214-230.
- [50] S. L. Alonzo; R. C. Vinajera; R. G. Rodríguez. Granulometría de dos tipos predominantes de suelo del estado de Yucatán. *Ingeniería* (2006) 61-68.
- [51] D.E. Cisneros-Rosado; E.F. Paz-Alpuche; J.A. Uribe-Calderon. The effect of surface modification of Palygorskite on the morphology, mechanical, and thermal properties of Nylon 6/Palygorskite nanocomposites prepared by melt compounding. *Polymer composites*. 2017. DOI: 10.1002/pc.24427
- [52] K. Shameli; Z. Zakaria; H. Hara; M. Ahmad; S. Mohamad; M. Nordin; K. Iwamoto. Poly (Lactic Acid)/Organoclay Blend Nanocomposites: Structural, Mechanical And Microstructural Properties. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures* (2015) 323 - 329.
- [53] R. Stanislawczuk; A. Reis; P. Malaquias; F. Pereira; P. V. Farago; M. M. Meier; A. D. Loguercio. Mechanical properties and modeling of drug release from chlorhexidine-containing etch-and-rinse adhesives. *Dental Materials* (2014) 392–399.
- [54] R. Gallego, D. García-López; J. C. Merino; J. M. Pastor. How do the shape of clay and type of modifier affect properties of polymer blends? *Applied Polymer Science* (2013) 3009–3016.
- [55] M. Augsburger; E. Strasser; E. Perino; R. Mercader; J. Pedregosa. FTIR and Mössbauer investigation of a substituted palygorskite: silicate with a channel structure. *Journal of Physical Chemical Solids* (1998) 175–180.
- [56] M. Suárez; E. García-Romero. FTIR spectroscopic study of palygorskite: Influence of the composition of the octahedral sheet. *Applied Clay Science* (2006) 154–163.
- [57] H. A. Patel; R. S. Somani; H. C. Bajaj; R. V. Jasra. Nanoclays for polymer nanocomposites, paints, inks, greases and cosmetics formulations, drug delivery vehicle and waste water treatment. *Bulletin of Materials Science*, (2006) 133-145.

- [58] V. Gionis; G. Kacandes; I. Kastridis. On the structure of palygorskite by mid- and near-infrared spectroscopy. *American Mineralogist* (2006) 1125-1133.
- [59] W. Yan; D. Liu; D. Tan; P. Yuan; M. Chen. FTIR spectroscopy study of the structure changes of palygorskite under heating. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, (2012) 1052–1057.
- [60] G. Singhvi; M. Singh. Review: In-Vitro Drug Release Characterization Models. *International Journal of Pharmaceutical Studies and Research* (2011) 77-84.