



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

POSGRADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

**“APLICACIÓN DE POLÍMEROS DE IMPRESIÓN
MOLECULAR EN COMBINACIÓN CON
DERIVADOS DE NAFTOQUINONAS DE ACTIVIDAD
MICROBIANA PARA LIBERACIÓN PROLONGADA”**

TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MAESTRO EN CIENCIAS QUÍMICAS

**PRESENTA:
GONZÁLEZ SALAZAR LUIS FERNANDO**

DIRECTORES DE TESIS
DRA. DENISSE ATENEA DE LOERA CARRERA

DR. ROGELIO FLORES RAMÍREZ

SAN LUIS POTOSÍ, S.L.P

AGOSTO, 2023



El programa de Maestría en Ciencias Químicas de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí pertenece al Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del CONAHCYT, registro 00519, en el Nivel Consolidado.

CVU de la beca otorgada por el CONAHCYT: 1149459



Aplicación de polímeros de impresión molecular en combinación con derivados de naftoquinonas de actividad microbiana para liberación by Luis Fernando González Salazar is licensed under a Creative Commons Reconocimiento- No Comercial-Sin Obra Derivada 4.0 Internacional License



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
Facultad de Ciencias Químicas
Centro de Investigación y Estudios de Posgrado
Posgrado en Ciencias Químicas
Programa de Maestría

Formato M28

Carta de Análisis de Similitud

San Luis Potosí SLP a mes/ día /año

L.B. María Zita Acosta Nava
Biblioteca de Posgrado FCQ

Asunto: Reporte de porcentaje de similitud de tesis de grado

Por este medio me permito informarle el porcentaje de similitud obtenido mediante Ithenticate para la tesis titulada Aplicación de polímeros de impresión molecular en combinación con derivados de naftoquinonas de actividad microbiana para liberación prolongada presentada por el autor Luis Fernando González Salazar. La tesis es requisito para obtener el grado de Maestría en el Posgrado en Ciencias Química. El análisis reveló un porcentaje de similitud de 22% excluyendo referencias y metodología.

Agradezco sinceramente su valioso tiempo y dedicación para llevar a cabo una exhaustiva revisión de la tesis. Quedo a su disposición para cualquier consulta o inquietud que pueda surgir en el proceso.

Sin más por el momento, le envío un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E

Dra. Denisse Atenea de Loera Carrera
Coordinadora Académica del Posgrado en Ciencias Químicas

San Luis Potosí, SLP.

12 de julio de 2023

Comité Académico del Posgrado en Ciencias Químicas
Facultad de Ciencias Químicas de UASLP

Por medio de la presente comunicamos que la tesis llevada a cabo por el alumno de Maestría L.Q. Luis Fernando González Salazar, titulada “Aplicación de polímeros de impresión molecular en combinación con derivados de naftoquinonas de actividad microbiana para liberación prolongada”, ha sido concluida y aprobada por el comité tutorial para dar inicio a los trámites correspondientes para su titulación. El examen de grado tendrá lugar el próximo 10 de agosto del presente año, a las 10 horas en la Sala Audiovisual de la Biblioteca del Posgrado de la UASLP.

Atentamente

Dra. Denisse Atenea de Loera Carrera
Directora de tesis

Dr. Rogelio Flores Ramírez
Co-Director de tesis

Dra. Luz Eugenia Álcantara Quintana
Comité tutelar extendido



Universidad Autónoma
de San Luis Potosí

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



FACULTAD DE
CIENCIAS QUÍMICAS

POSGRADO EN CIENCIAS QUÍMICAS-CIEP

**"APLICACIÓN DE POLÍMEROS DE IMPRESIÓN
MOLECULAR EN COMBINACIÓN CON DERIVADOS
DE NAFTOQUINONAS DE ACTIVIDAD
ANTIMICROBIANA PARA LIBERACIÓN
PROLONGADA"**

**TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO
DE MAESTRIA EN CIENCIAS QUIMICAS**

PRESENTA

**GONZALEZ SALAZAR LUIS
FERNANDO**

SINODALES

Dra. Denisse Atenea de Loera Carrera _____

Dr. Rogelio Flores Ramírez _____

Dra. Luz Eugenia Alcántara Quintana _____

SAN LUIS POTOSÍ, S.L.P., MÉXICO. AGOSTO 2023

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

Durante la realización de este trabajo de tesis quiero agradecer a todas las personas que estuvieron involucradas en este trabajo tanto de manera profesional como personal

Les agradezco a mis asesores, la Dra. Denisse por haberme el apoyo constante durante todo este trabajo, su paciencia y su siempre buena actitud, ante todo, al Dr. Rogelio por confiar en mi para ser su alumno, y agradecerle todo lo aprendido y ayuda en mi crecimiento profesional durante mis estudios de maestría, a la Dra Luz, por brindarme su apoyo total en la parte biológica del trabajo y su paciencia.

A mis compañeras y amigas de laboratorio, Vane, Sam, Bere, María e Irma, por convertirse en parte de mi vida y ser con quienes comparto muchos grandes momentos de mi vida y ser parte de mi crecimiento personal y profesional.

A mi familia, mi papá, mi mamá y hermana los cuales siempre han confiado en mí y en mis decisiones y apoyándome en todo momento en cada cosa y proyecto que hago siempre estuvo su apoyo.

Agradezco especialmente a mis abuelitos Marcos y Catalina, por su enorme apoyo en cada visita, desde mis estudios de licenciatura, y ser de las personas más importantes en mi vida Finalmente agradezco a mis amigos, los cuales siempre han estado en mi vida apoyándome y siempre un gran motor para seguir adelante

RESUMEN

En este trabajo se estudió y evaluó la síntesis, caracterización y funcionalización de polímeros de impresión molecular (MIPs) sobre derivados de naftoquinona para su liberación prolongada.

La síntesis se llevó a cabo mediante 2 métodos de polimerización diferentes que fueron: masa y coprecipitación . La capacidad de retención de los MIPs se evaluó utilizando una concentración de 2 mg L⁻¹ de los derivados de naftoquinona, demostrándose una capacidad de retención superior al 90% para los 2 métodos de síntesis. Los MIPs se caracterizaron mediante microscopía electrónica de barrido, encontrándose morfologías de pellets aglomerados. Así mismo durante los ensayos de cinéticas de liberación, se encontró que los MIPs tiene la característica de liberar rápidamente la plantilla durante las primeras 8 horas, para después hasta las 12 horas, mantener una liberación constante y prolongada, así mismo durante los ensayos de citotoxicidad frente a fibroblastos dérmicos, se halló que los MIPs, no presentan citotoxicidad, sino que ayudan a la proliferación celular, finalmente se demostró la actividad antimicrobiana de los MIPs con los derivados de naftoquinona frente a cepas ATTC de S.aureus y E.coli, con una CMI de 3.12 y 12.5 µg mL⁻¹.

Palabras Clave: MIPs, Naftoquinonas, Farmacorresistencia, Liberación controlada

ABSTRACT

This work studied and evaluated the synthesis, characterization, and functionalization of molecularly imprinted polymers (MIPs) on naftoquinone derivatives for sustained release. The synthesis was carried out through two different polymerization methods: bulk and coprecipitation. The retention capacity of MIPs was assessed using a concentration of 2 mg L⁻¹ of naftoquinone derivatives, demonstrating a retention capacity exceeding 90% for both synthesis methods. The MIPs were characterized using scanning electron microscopy, revealing clustered pellet morphologies.

Likewise, during release kinetics experiments, it was found that MIPs exhibit the characteristic of rapidly releasing the template during the initial 8 hours, followed by maintaining a constant and prolonged release up to 12 hours. Similarly, in cytotoxicity assays against dermal fibroblasts, it was discovered that MIPs not only lack cytotoxicity but also promote cell proliferation. Finally, the antimicrobial activity of MIPs against naftoquinone derivatives was demonstrated against ATCC strains of *S. aureus* and *E. coli*, with MIC values of 3.12 and 12.5 µg mL⁻¹.

Key Words: MIPs, Naftoquinones, Drug Resistance, Controlled Release

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS	4
ÍNDICE DE TABLAS	5
1 INTRODUCCIÓN.....	6
1.1 Resistencia antimicrobiana	6
1.2 Causas de la resistencia a los antibióticos	8
1.3 Bacterias comunes en la resistencia a antibióticos	9
1.4 Naftoquinonas	10
1.4.1 Propiedades de las naftoquinonas.....	10
1.4.2 Naftoquinonas con actividad antimicrobiana	12
1.4.3 Mecanismo de acción.....	13
1.5 Dispositivos de administración de fármacos	15
1.6 Polímeros de impresión molecular.....	16
1.6.1 Componentes de los MIPs	17
1.6.2 Métodos de impresión molecular	20
2 JUSTIFICACIÓN.....	20
3 HIPÓTESIS	21
4 OBJETIVOS.....	21
4.1 Objetivo general.....	21
4.2 Objetivos específicos	21
5 MATERIALES Y MÉTODOS	22
5.1 Reactivos	22
5.2 Síntesis de los polímeros de impresión molecular	22
5.2.1 En masa.....	22

5.2.2	Coprecipitación.....	23
5.3	Método analítico	23
5.4	Caracterización fisicoquímica de los polímeros	24
5.4.1	Determinación de porcentajes de retención	24
5.4.2	Caracterización morfológica de los MIPs/NIPs	24
5.4.3	Espectroscopía infrarroja	24
5.4.4	Distribución de la carga superficial y punto de carga cero	24
5.4.5	Isotermas de adsorción.....	25
5.4.6	Factor de impresión.....	27
5.4.7	Cinética de liberación.....	27
5.4.8	Citotoxicidad.....	29
5.4.9	Actividad antimicrobiana.....	30
6	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	31
6.1	Síntesis de los polímeros de impresión molecular	31
6.2	Validación del método analítico	33
6.3	Porcentajes de retención	35
6.4	Caracterización morfológica de los polímeros mediante microscopía electrónica de barrido	37
6.5	Espectroscopía infrarroja	39
6.6	Distribución de la carga superficial y punto de carga cero	40
6.7	Isotermas de adsorción	42
6.8	Factor de impresión	44
6.9	Cinéticas de liberación.....	45
6.10	Citotoxicidad	49
6.11	Actividad antimicrobiana	51

7	CONCLUSIÓN	55
8	BIBLIOGRAFÍA	57
9	GLOSARIO	64

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Derivados de naftoquinona a) NQ-TYR b) Cl-NQ-TYR	13
Figura 2. Ciclo redox típico de una naftoquinona.....	15
Figura 3. Polímeros obtenidos con ácido metacrílico y ácido láctico	32
Figura 4. Curva de calibración para Cl-NQ-TYR.....	34
Figura 5. Curva de calibración para NQ-TYR	34
Figura 6. Cromatograma de Cl-NQ-TYR (2 mg L ⁻¹) con un tiempo de retención de 6.26 min	
Figura 7. Cromatograma de NQ-TYR (2 mg L ⁻¹) con un tiempo de retención de 6.29 min.....	35
Figura 8. Porcentajes de retención de los MIPs sintetizados para NQ-TYR	36
Figura 9. Porcentajes de retención de los MIPs sintetizados para Cl-NQ-TYR	37
Figura 10. Microscopias de los polímeros sintetizados por el método de coprecipitación a) NT-AL-C b) NT-AM-C c) N-AL-C d) N-AM-C	38
Figura 11. Microscopias de los polímeros sintetizados por el método de coprecipitación a) CNT-AL-M b) CNT-AM-M c) N-AL-M d) N-AM-M.....	39
Figura 12. Espectro de ATR-FTIR: a) CNT-AM-M, b) CNT-AL-M c) NT-AM-M d) NT-AL-M	40
Figura 13. Curvas potenciométricas: a) blanco y solución de CNT-AM-M y b) blanco y solución de CNT-AL-M.....	41
Figura 14. Distribución de carga superficial de a) CNT-AM-M y b) CNT-AL-M	42
Figura 15. Isotermas de adsorción de a) Cl-NQ-TYR y b) NQ-TYR en los MIPs.....	44
Figura 16. Perfil de liberación de a) Cl-NQ-TYR y b) NQ-TYR presente en cada uno de los MIPs	46
Figura 17. Perfil de liberación de a) Cl-NQ-TYR y b) NQ-TYR presente en cada uno de los MIPs	48
Figura 18. Porcentaje de viabilidad en células dérmicas normales de fibroblastos (HDFn) contra extractos obtenidos de la exposición de 24 hr de los MIPs en PBS a pH 5.4, utilizando el ensayo de MTT.....	50

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Derivados de naftoquinonas con actividad antimicrobiana (López et al., 2011).	12
Tabla 2. Perfil antibacteriano in vitro (CMI) de los compuestos	13
Tabla 3. Eficiencia obtenida en cada MIP sintetizados con Cl-NQ-TYR	32
Tabla 4. Eficiencia obtenida en cada MIP sintetizados con NQ-TYR.....	32
Tabla 5. Código de los polímeros sintetizados para ambas plantillas.....	32
Tabla 6. Parámetros para la validación del método analítico para ambas plantillas	33
Tabla 7. Constantes de las isoterms de adsorción de los MIPs (10 mg de MIP, 1 hora de contacto, 5 mL de solución, temperatura del medio: 24°C, pH del medio: 6	44
Tabla 8. Coeficientes de partición y factores de impresión de Cl-NQ-TYR y NQ-TYR sobre el MIP y NIP correspondiente.	45
Tabla 9. Parámetros cinéticos para los MIPs.....	48
Tabla 10. Actividad antimicrobiana de los MIPs y NIPs demostrada frente a la forma planctónica de E. Coli (ATCC 25922) y S. Aureus (ATCC 25923).....	52
Tabla 11. Actividad bactericida de los MIPs demostrada frente a la forma planctónica de E. Coli (ATCC 25922) y S. Aureus (ATCC 25923).	53

1 INTRODUCCIÓN

1.1 Resistencia antimicrobiana

La resistencia antimicrobiana (RAM) ha surgido como una preocupación inevitable en el campo de la salud pública, planteando desafíos significativos en el tratamiento de enfermedades infecciosas (Dadgostar, 2019). En las últimas décadas, hemos presenciado un aumento en la complejidad de los tratamientos debido a la evolución constante de las bacterias y su capacidad para desarrollar resistencia a una amplia gama de agentes antimicrobianos. Este proceso biológico natural, causado por mutaciones genéticas y la capacidad de transferencia de material genético entre bacterias, establece una sólida conexión entre el uso de agentes antimicrobianos y el desarrollo de resistencia bacteriana (Abushaheen et al., 2020). Cuando los antimicrobianos se utilizan en exceso, las cepas bacterianas presentan mutaciones favorables para resistir a estos agentes y tienen una mayor probabilidad de sobrevivir y prosperar, mientras que las cepas susceptibles son suprimidas (Shin & Park, 2017).

Los mecanismos principales mediante los cuales las bacterias adquieren resistencia incluyen la alteración de la proteína de unión, donde el antibiótico se une, a través de modificaciones o eliminación del sitio de unión. También se observa la síntesis de enzimas que inactivan el antibiótico mediante su degradación o alteración. Otro mecanismo común es la reducción de la permeabilidad de la membrana celular, impidiendo la entrada del antibiótico mediante la modificación de los canales proteicos en la membrana externa (Hofer, 2019). Además, las bacterias resistentes pueden desarrollar bombas de expulsión que permiten expulsar activamente el antibiótico fuera de la célula bacteriana. Estos mecanismos de resistencia son estrategias adaptativas que las bacterias utilizan para contrarrestar la acción de los antibióticos y sobrevivir en presencia de estos agentes antimicrobianos (Marston et al., 2016).

Como resultado, se favorece la aparición de nuevas cepas bacterianas resistentes, lo cual aumenta significativamente el riesgo de infecciones intratables tanto en seres humanos como en animales. Esta situación conlleva importantes repercusiones, como un incremento en los costos médicos, estadías hospitalarias prolongadas y un aumento en la tasa de mortalidad (Kelesidis et al., 2007).

Es por ello que la RAM se ha convertido en uno de los desafíos más inevitables en el ámbito de la salud pública del siglo XXI. Esta problemática amenaza la capacidad de prevenir y tratar eficazmente una amplia variedad de infecciones bacterianas, ya que los medicamentos que solían ser eficaces contra estos microorganismos ahora han perdido su efectividad (Dadgostar, 2019). Esta situación se ha vuelto especialmente preocupante debido a la creciente prevalencia de bacterias resistentes a múltiples fármacos, conocidas como bacterias multirresistentes. Estas bacterias representan una seria amenaza para la salud global, ya que limitan las opciones de tratamiento y pueden prolongar la duración de las infecciones, aumentar la gravedad de los casos y conducir a resultados clínicos adversos (Prestinaci et al., 2015).

El problema de la RAM ya ha alcanzado niveles alarmantes a nivel global, representando una amenaza significativa para la capacidad de tratar enfermedades infecciosas comunes. Se están identificando y propagando nuevos mecanismos de resistencia en todo el mundo, lo que plantea desafíos adicionales para el campo de la medicina. Esta evolución preocupante ha llevado a que se cataloguen como "superbacterias" lo que destaca la necesidad urgente de abordar este problema desde una perspectiva global y multidisciplinaria (WHO, 2015).

La RAM representa un desafío significativo en el ámbito de la salud, ya que según estimaciones del Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) de Estados Unidos de América, más de dos millones de personas se ven afectadas anualmente por infecciones resistentes a los antibióticos en el país. Esta cifra alarmante refleja el impacto significativo que la RAM tiene en la salud pública y, se estima que al menos 23,000 personas pierden la vida como resultado directo de estas infecciones (CDC, 2013).

En el año 2017, en México se presentó la Estrategia Nacional de Acción contra la Resistencia Antimicrobiana, conocida como el Plan de Acción contra la Resistencia a los Antimicrobianos para México. Esta iniciativa cuenta con la participación de diversas instituciones, entre las que se incluyen la Secretaría de Educación Pública, la Secretaría de Salud, la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, la Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales, la Secretaría de Economía, la Secretaría de Hacienda y Crédito Público, la Secretaría de Relaciones Exteriores, el Instituto Mexicano del Seguro Social y el Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado, bajo la coordinación de la

Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (Zaidi et al., 2015). Esta implementación de la Estrategia Nacional de Acción contra la Resistencia Antimicrobiana en México marca un importante avance en la lucha contra este problema a nivel nacional ya que involucra a diversos sectores clave, lo que permite abordar de manera integral los desafíos asociados con la resistencia antimicrobiana.

Sin embargo, a pesar de las medidas tomadas, existen factores que siguen agravando la situación. Uno de ellos es la falta de acceso adecuado a servicios de salud que dispongan de personal capacitado en la prevención y tratamiento de infecciones. Asimismo, persisten problemas relacionados con la infraestructura de los establecimientos de atención médica, lo que dificulta la implementación de prácticas efectivas para combatir la RAM. Además, la ausencia de una vigilancia sanitaria efectiva por parte de las autoridades dificulta la detección temprana y el control de la RAM en la región (Abushaheen et al., 2020).

1.2 Causas de la resistencia a los antibióticos

La aparición y propagación de patógenos farmacorresistentes han adquirido nuevos mecanismos de resistencia, lo que conduce a la resistencia a los antimicrobianos, este problema sigue comprometiendo la capacidad para tratar infecciones comunes. Es alarmante la rápida propagación mundial de bacterias multirresistentes que provocan infecciones que no pueden tratarse con los medicamentos antimicrobianos, como los antibióticos (Hooper & Jacoby, 2015).

Para ello hay que obtener una comprensión más completa de las causas de la RAM, es necesario examinar los diferentes procesos que los medicamentos atraviesan desde su producción hasta su uso final por parte del paciente. Estos pasos incluyen la fabricación, distribución, prescripción, dispensación y, finalmente, el consumo del medicamento por parte del paciente o su utilización en la producción animal (WHO, 2012). Además, se debe considerar la disposición, ya que existen en los hogares medicamento caducos los cuales frecuentemente son desechados en la basura o drenaje, pudiendo llegar a contaminar efluentes resultando también en una posible causa de la RAM.

Otro factor que contribuye es el almacenamiento inadecuado de los medicamentos, lo cual aumenta el riesgo de degradación de estos. Los medicamentos degradados pueden contener dosis inferiores a las recomendadas, lo que implica que los pacientes consuman una cantidad

no óptima del fármaco (Ayukekbong et al., 2017). En algunos casos, los medicamentos pueden contener cantidades insuficientes o nulas de la sustancia activa antimicrobiana, o incluso pueden contener la sustancia equivocada. En contraste en los países desarrollados, se observa una problemática significativa relacionada con la prescripción excesiva de antibióticos por parte de los médicos generales, incluso en ausencia de indicaciones apropiadas. Esta práctica inadecuada de utilización de antimicrobianos es particularmente frecuente en entornos hospitalarios, donde se recurre a la administración sucesiva de diferentes tipos de antibióticos por la demanda de los pacientes de obtener una solución rápida a su enfermedad (Ventola, 2015). Esta situación conlleva a la exposición de microorganismos sobrevivientes a concentraciones subóptimas del fármaco, lo que a su vez aumenta significativamente las posibilidades de que se desarrollen mecanismos de resistencia (Wang et al., 2019).

Finalmente, una de las razones detrás del uso de antimicrobianos en contextos no humanos es de naturaleza ambiental. El empleo de agentes antimicrobianos en animales, particularmente en aquellos destinados a la producción de alimentos, tiene consecuencias significativas tanto para la salud humana como animal. Esto se debe a que puede propiciar el desarrollo de bacterias resistentes, las cuales portan genes de resistencia. Estas bacterias resistentes presentes en los animales pueden transferirse a los seres humanos a través del consumo de alimentos, el contacto directo con animales de crianza o la dispersión en el entorno, por ejemplo, a través de aguas residuales o drenajes agrícolas (Wang et al., 2019). El uso de antimicrobianos en entornos sanitarios, agrícolas e industriales ejerce una selección que favorece la supervivencia de cepas o genes resistentes en desventaja de las susceptibles, lo que resulta en un aumento relativo de bacterias resistentes dentro de las comunidades microbianas (Velazquez-Meza et al., 2022).

1.3 Bacterias comunes en la resistencia a antibióticos

En la actualidad, se enfrenta a un desafío considerable con respecto a las infecciones más graves que representan una amenaza para la vida humana. Estas infecciones son causadas por un conjunto específico de bacterias que han desarrollado resistencia a los antibióticos. Este conjunto de bacterias, conocido como grupo ESKAPE por la Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas (IDSA), se compone de seis tipos de bacterias que son responsables de la mayoría de las infecciones hospitalarias (De Oliveira et al., 2020). Lo que

lo que lo distingue es su capacidad relativa para evadir los efectos de los antimicrobianos. Las bacterias incluidas en este grupo son *Enterococcus spp*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter spp* (Santajit & Indrawattana, 2016).

Los patógenos ESKAPE han desarrollado mecanismos de resistencia mediante mutaciones genéticas y la adquisición de elementos genéticos móviles, contra diversos tipos de antibióticos, que abarcan desde oxazolidinonas, lipopéptidos, macrólidos, fluoroquinolonas, tetraciclinas, β -lactámicos, combinaciones de β -lactámicos e inhibidores de β -lactamasa, hasta antibióticos considerados como la última línea de defensa, como los carbapenémicos, glicopéptidos y polimixinas, los cuales presentan limitaciones clínicas significativas (Mulani et al., 2019). Dado que estas bacterias causantes de infecciones se encuentran ampliamente distribuidas, el CDC ha emitido una alerta con el objetivo de promover el desarrollo de nuevas estrategias en el tratamiento de estas infecciones (De Oliveira et al., 2020).

1.4 Naftoquinonas

Ante el creciente y preocupante aumento de bacterias resistentes, resulta imprescindible impulsar una mayor innovación e investigación en el desarrollo de nuevos fármacos antimicrobianos, vacunas y métodos de diagnóstico. Un ejemplo prometedor en este sentido son las quinonas, compuestos de origen natural que han demostrado poseer propiedades biológicas significativas (Jali et al., 2018). Entre estas se encuentran la 1,4-naftoquinonas y sus derivados, tanto en su forma natural como sintética. Estos pigmentos naturales se distinguen por una amplia gama de colores, desde el amarillo hasta un intenso rojo, y se caracterizan por contar con grupos carbonilo en las posiciones 1 y 4 del anillo de naftaleno. En la naturaleza, se pueden encontrar tanto en forma libre como enlazadas a diversos monosacáridos, lo cual ofrece un potencial importante para hacer frente a la resistencia antimicrobiana (Babula et al., 2007).

1.4.1 Propiedades de las naftoquinonas

Los compuestos que se derivan de las naftoquinonas son una clase de sustancias orgánicas que interactúan con diversos sistemas biológicos. Las propiedades químicas y biológicas de estos compuestos están principalmente determinadas por la posición y la composición química de los grupos laterales (R) unidos a la estructura del anillo de la naftoquinona. Algunos ejemplos de estos grupos incluyen hidrógeno, hidroxilo, metilo, nitrógeno, azufre y

haluro (Leyva et al., 2017). Durante la última década, existe un gran interés en la investigación de las naftoquinonas sustituidas, debido a que poseen diferentes propiedades farmacéuticas. Las naftoquinonas, como la plumbagina, el lapachol o la juglona, muestran un potencial como agentes citostáticos (Lopez et al., 2011)

En un estudio realizado por Babula (2009) se observó la inducción de muerte celular por naftoquinonas en numerosas células, incluyendo líneas celulares de cáncer como HEPA-3B, COLO-25, A-459, ME-180, HaCaT y HeLa, así como los compuestos plumbagina y la shikonina tienen la capacidad de inhibir la activación de la vía NF-kappa B por factores como el factor de necrosis tumoral (TNF), carcinógenos y otros estímulos inflamatorios.

Además, se ha comprobado la actividad de diversas naftoquinonas extraídas de hongos, como el *Chloridium sp.* Este hongo endófito se encuentra en tejidos vegetales de forma asintomática y se ha aislado la javanicina (6-acetonil-5,8-dihidroxi-7-metil-3-metoxi-1,4-naftoquinona) como uno de sus componentes. Se ha observado que este compuesto muestra actividad contra *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Bacillus sp.* y *Fusarium oxysporum* (Kharwar et al., 2009).

También se ha comprobado la actividad antitumoral de los derivados de naftoquinona en varios estudios. Por ejemplo, en una investigación realizada por Klaus (2010), se evaluaron diferentes derivados de naftoquinona en queratinocitos humanos (HaCaT). Se descubrió que estos compuestos inducían daño oxidativo en las bases del ADN y la acumulación de roturas en la cadena de ADN.

Otro ejemplo del uso de derivados de naftoquinona con actividad antitumoral se encuentra en el estudio realizado por Oramas-Royo (2013). En este caso, se sintetizaron y probaron complejos metálicos de lawsona contra la línea celular RAW 246.7 de leucemia macrofágica en ratones, así como en varias células cancerosas humanas, incluyendo HT-29 (adenocarcinoma colorrectal humano), HepG2 (carcinoma hepatocelular humano) y HeLa (células de adenocarcinoma cervical humano). Se observó una disminución significativa en la viabilidad celular de las células HepG2, y se indujo apoptosis mediante la activación de las caspasas 3, 8 y 9, así como la modulación de proteínas relacionadas con la apoptosis como Bax, Bad y p53.

1.4.2 Naftoquinonas con actividad antimicrobiana

La investigación enfocada en la creación de un agente antimicrobiano novedoso ha puesto su atención principalmente en dos áreas: el incremento en la potencia de los antígenos bacterianos y la aparición de nuevas bacterias patógenas. En este sentido, las naftoquinonas y sus derivados desempeñan un papel crucial en el desarrollo de nuevos medicamentos antibacterianos dirigidos a diversas bacterias y patógenos. Se ha comprobado que los compuestos derivados de la naftoquinona exhiben una actividad antibacteriana potente (Mantravadi et al., 2019).

En un estudio realizado por Lim (2007), se aisló la 5-hidroxi-1,4-naftoquinona de *Caesalpinia sappan* y se evaluó su capacidad para inhibir el crecimiento de diferentes cultivos intestinales, incluyendo *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli* y *Lactobacillus casei*. Los resultados revelaron que esta sustancia mostró actividad contra estas bacterias. Por otro lado, en la investigación llevada a cabo por Choudhari (2019), se probaron dos derivados de la 1,4-naftoquinona y se examinó su potencial antibacteriano contra varios patógenos y se observó una actividad antibacteriana destacada contra *S. aureus* y *P. aeruginosa*, con valores de concentración mínima inhibitoria en el rango de 32-512 µg/ml

En la **Tabla 1**, se muestran diferentes derivados de naftoquinona los cuales han sido estudiadas como agentes antimicrobianos.

Tabla 1. Derivados de naftoquinonas con actividad antimicrobiana (López et al., 2011).

Derivado de Naftoquinona	Bacteria	CMI
5-amino-8-hidroxi-1,4-naftoquinona	<i>S.aureus</i>	30-125 µg/mL
	<i>S.intermedius</i>	
	<i>S.epidermis</i>	
5,8-dihidroxi-1,4-naftoquinona	Diversas especies de micobacterias	6.25 µg/mL
Derivados azufrados con sustitución p-anisidilo	<i>Streptococcus faecalis</i>	6.25 µg/mL
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	

Derivados con sustitución o-anisidilo, fenilo y metilo	<i>Escherichia coli</i>	6.25 µg/mL
	<i>Helicobacter pylori</i>	
8-hidroxi-2-(1-hidroxi-etil)nafto[2,3- <i>b</i>]furano-4,9-diona,	<i>Staphylococcus</i>	
	<i>Enterococcus</i>	1.56 a 25 µg/mL
	<i>Bacillus</i>	
	<i>Clostridium</i>	

En investigaciones recientes, se destaca el estudio realizado por López (2022), en el cual se sintetizaron múltiples derivados de naftoquinona. Para el propósito específico de este estudio, se centrará en la evaluación de dos de estos derivados. (**Figura 1**).

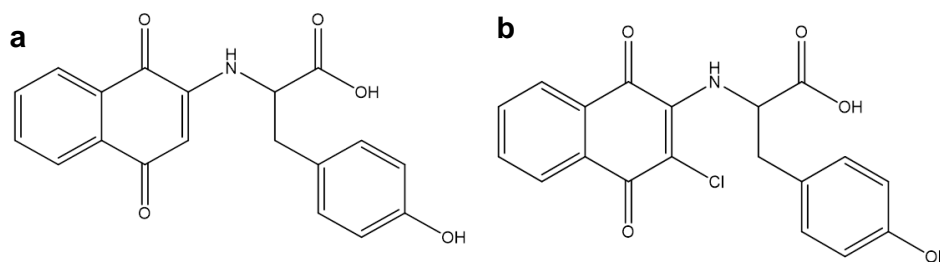


Figura 1. Derivados de naftoquinona a) NQ-TYR b) Cl-NQ-TYR

Los resultados obtenidos revelaron que estos dos derivados exhibieron actividad antimicrobiana, como se muestra en la **Tabla 2**, donde se detallan los microorganismos contra los cuales mostraron actividad, así como la concentración mínima inhibitoria correspondiente.

Tabla 2. Perfil antibacteriano *in vitro* (CMI) de los compuestos

Derivado de naftoquinona	Concentración mínima inhibitoria µg/mL					
	<i>Sa</i>	<i>Ec</i>	<i>Ef</i>	<i>Pa</i>	<i>Sa</i> *	<i>Ec</i> *
1	49.7	49.7	49.7	49.7	99.5	49.7
2	49.7	49.7	49.7	49.7	83.3	49.7

Sa: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Ec*: *Escherichia coli* ATCC 25922; *Ef*: *Enterococcus faecalis* ATCC 29212; *Pa*: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. *Cepas clínicas.

1.4.3 Mecanismo de acción

Gran parte de las actividades biológicas observadas en las naftoquinonas se han atribuido a su capacidad de aceptar uno o dos electrones, lo que resulta en la formación de radicales

aniónicos o dianiónicos, así como a sus propiedades ácido-base. Estas propiedades están estrechamente relacionadas con la estructura química de las naftoquinonas y la naturaleza electrónica de los grupos que se encuentran sustituyendo el núcleo de la molécula (Leyva et al., 2016).

Las naftoquinonas, a través de sus mecanismos de acción, desempeñan un papel fundamental en la estimulación del estrés oxidativo y la alquilación de nucleófilos celulares. El estrés oxidativo surge de un desequilibrio en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), como el anión superóxido, el peróxido de hidrógeno y el radical hidroxilo, en comparación con la capacidad del sistema biológico para contrarrestar estos agentes (Pereyra et al., 2019). Esta diferencia puede tener consecuencias graves, incluida la muerte celular. Los radicales de oxígeno, al interactuar con macromoléculas, desencadenan la peroxidación de lípidos y la destrucción de membranas, lo que a su vez conlleva la inactivación de enzimas, la degradación del ADN y la posibilidad de mutaciones genéticas. Estos procesos son indicativos del impacto significativo que las naftoquinonas pueden tener en el nivel celular y su potencial como agentes terapéuticos en diversos campos de la biomedicina (Rani et al., 2022).

En la **Figura 2** se presenta el ciclo redox característico de una naftoquinona, el cual desempeña un papel importante en la generación de ROS que pueden conducir al estrés oxidativo. Este proceso comienza con la oxidación de las naftoquinonas, transformándolas en semiquinona. A continuación, se forma un intermediario radical que, al reaccionar con oxígeno molecular, tiene la capacidad de generar el anión superóxido. Estos aniones superóxido, a su vez, pueden dar lugar a la producción de peróxido de hidrógeno. Estas ROS pueden desencadenar una serie de eventos perjudiciales en la célula, como la peroxidación de lípidos, la destrucción de membranas celulares, la inactivación de enzimas y la degradación del ADN (Ramos-Peralta et al., 2015).

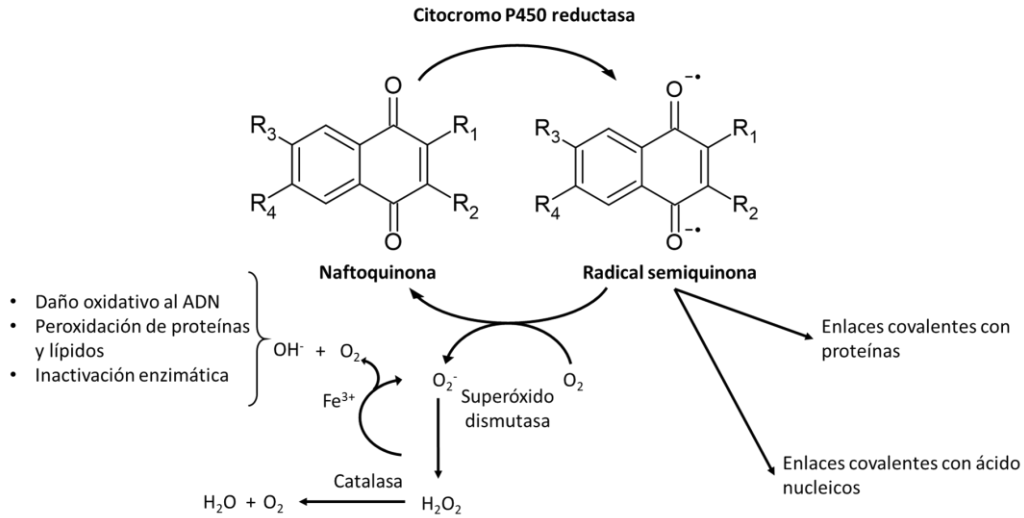


Figura 2. Ciclo redox típico de una naftoquinona.

1.5 Dispositivos de administración de fármacos

Un sistema de administración de fármacos (DDS) se define como una formulación o un dispositivo que permite la introducción de una sustancia terapéutica en el organismo, estos sistemas han sido desarrollados con el objetivo de optimizar la eficacia terapéutica y minimizar los efectos secundarios no deseados (Benson, 2006). Al controlar el ritmo de liberación, se logra mantener una concentración constante del fármaco. Además, los DDS también permiten dirigir la liberación del fármaco a sitios específicos del cuerpo, como órganos o tejidos afectados por una enfermedad, lo que maximiza su acción terapéutica y reduce la exposición de tejidos sanos a posibles efectos adversos (Prausnitz & Langer, 2008).

En el diseño de nuevos DDS, es esencial considerar una serie de características fundamentales para garantizar su eficacia y seguridad (Davoodi et al., 2018). Estos aspectos incluyen:

- **Compatibilidad del material:** Es importante seleccionar materiales adecuados que sean compatibles con el fármaco y que no comprometan su estabilidad ni propiedades terapéuticas.
- **Alta capacidad de carga:** El vehículo debe tener la capacidad de encapsular una cantidad suficiente del fármaco, permitiendo una administración precisa y controlada.

- Liberación controlada: Es esencial evitar la liberación prematura del fármaco en el organismo, asegurando que se libere en el momento y lugar adecuados para lograr el efecto terapéutico deseado.
- Tasa de liberación adecuada: El vehículo debe ser capaz de liberar el fármaco a una tasa apropiada, manteniendo concentraciones terapéuticas en el cuerpo durante el tiempo necesario para obtener el máximo beneficio.
- Mejora de la biodisponibilidad: Se busca optimizar la absorción y disponibilidad del fármaco en el organismo, permitiendo que alcance su sitio de acción con eficacia y en cantidades adecuadas.
- Minimización de efectos secundarios: Un vehículo eficaz debe reducir al mínimo los efectos secundarios no deseados, protegiendo los tejidos y órganos sanos de cualquier interacción negativa con el fármaco.

A raíz de las investigaciones llevadas a cabo en este campo, se han explorado diversas estrategias y sistemas innovadores para lograr una liberación controlada de fármacos. Entre estos sistemas, se destacan los liposomas, dendrímeros, nanopartículas poliméricas, nanopartículas inorgánicas e hidrogeles, los cuales han mostrado gran potencial como vehículos para la administración de medicamentos (Alavi et al., 2017).

Las partículas poliméricas, por su parte, ofrecen ventajas como la versatilidad en la modulación de su tamaño y propiedades superficiales, lo que permite ajustar la velocidad de liberación del fármaco. También han despertado interés debido a su capacidad de encapsular y liberar fármacos de manera precisa y controlada (Fam et al., 2020).

1.6 Polímeros de impresión molecular

Los polímeros de impresión molecular (MIPs), son materiales sintéticos diseñados con sitios de reconocimiento específicos que imitan las características de entidades biológicas como anticuerpos y enzimas. Estos polímeros son capaces de unirse selectivamente a una molécula objetivo, mostrando preferencia por ella en comparación con compuestos similares (BelBruno, 2019). La estructura tridimensional altamente reticulada de los MIPs se logra mediante la polimerización de monómeros funcionales y reticulantes alrededor de una molécula de interés, que actúa como una plantilla (Turiel & Martín-Esteban, 2010).

Este proceso da lugar a una red polimérica con cavidades y sitios de unión que se asemejan a una cerradura específica para la molécula objetivo, formando un complejo de "llave-cerradura" (Meléndez-Marmolejo et al., 2022).

Estos materiales sintéticos ofrecen numerosas ventajas en comparación con los sistemas convencionales de reconocimiento molecular. En primer lugar, los MIPs pueden ser diseñados para reconocer una amplia variedad de moléculas objetivo, lo que los hace altamente versátiles en diversas aplicaciones. Además, su estabilidad química y mecánica garantiza su durabilidad y rendimiento a lo largo del tiempo. Los MIPs han demostrado su eficacia en diversas áreas, como la separación de compuestos, sensores químicos y, en particular, en la liberación controlada de fármacos (He et al., 2021). En este último campo, los MIPs se utilizan para encapsular y liberar de manera controlada los medicamentos en el lugar y momento adecuados, presenta ventajas como su alta estabilidad química y física, su preparación fácil, barata y su larga vida útil son algunas de las ventajas que los hacen adecuados para su uso en la administración de fármacos (Luliński, 2017) .

La aplicabilidad de los MIPs como DDS se debe principalmente a su capacidad de ser funcionalizados para unirse selectivamente a una amplia gama de moléculas de fármacos con una alta afinidad. Siendo una de las características distintivas de los MIPs es su capacidad para cargar o liberar de forma selectiva la molécula plantilla, lo que se conoce como enantioselectividad (Zaidi, 2020). Esto significa que los MIPs pueden discriminar entre diferentes enantiómeros de una molécula, lo que resulta en una capacidad de carga de fármacos significativamente mayor y una liberación más controlada y específica (Bodoki et al., 2019). Además, los MIPs pueden mejorar la estabilidad y la vida útil de los fármacos, protegiéndolos de la degradación y el metabolismo temprano. Esto es principalmente útil en el caso de fármacos con baja solubilidad o alta toxicidad, ya que los MIPs actúan como una barrera protectora y permiten una liberación gradual y controlada, maximizando los beneficios terapéuticos (Puoci et al., 2011).

1.6.1 Componentes de los MIPs

A continuación, se describirán los distintos componentes utilizados en la síntesis de los polímeros de impresión, incluyendo la molécula plantilla o molde, el monómero, el entrecruzante, el iniciador y el disolvente o porógeno.

1.6.1.1 Molécula plantilla

En la síntesis de un MIP, la molécula plantilla juega un papel crucial al determinar los diferentes componentes que se utilizarán. Es importante considerar que las moléculas de mayor tamaño pueden enfrentar obstáculos estéricos más significativos en comparación con las de menor tamaño. Existen una amplia gama de compuestos que pueden emplearse en la preparación de MIPs. Con éxito, se han utilizado moléculas como aminoácidos, carbohidratos, proteínas, hormonas, pesticidas y antibióticos para la creación de matrices con capacidad de reconocimiento selectivo. Estos compuestos han demostrado ser efectivos en la generación de matrices que pueden discernir específicamente la molécula plantilla de interés (Meléndez-Marmolejo et al., 2022).

1.6.1.2 Monómero funcional

El monómero funcional es un componente esencial en la estructura del polímero, ya que debe complementar a la molécula molde y maximizar la formación del complejo de manera estable. La selección del monómero se basa principalmente en los grupos funcionales presentes en el analito (Turiel & Esteban, 2019). En algunos casos, se pueden combinar diferentes monómeros para incrementar las interacciones y mejorar la complementariedad con la molécula molde, lo que proporciona una mayor selectividad.

Los monómeros acrílicos y metacrílicos se han utilizado ampliamente en diversas aplicaciones de los MIPs, y también pueden utilizarse para desarrollar DDS debido a su biocompatibilidad de igual forma el ácido láctico (Ben Moussa et al., 2022). Este último ha sido ampliamente empleado en diversas aplicaciones biomédicas, como la fabricación de hilos de sutura quirúrgicos, la reconstrucción de tejidos y el desarrollo de medicamentos de liberación controlada (Saini et al., 2016).

Su versatilidad y compatibilidad con el entorno biológico los convierten en una opción destacada para la generación de polímeros de impresión molecular con aplicaciones biomédicas (Singhvi et al., 2019).

1.6.1.3 Entrecruzante

El entrecruzante desempeña un papel fundamental en la síntesis del polímero, ya que debe interactuar con el complejo de pre-polimerización y preservarlo durante todo el proceso (Soledad-Rodríguez, 2020). Sus funciones principales se resumen de la siguiente manera:

- Determina la morfología de la matriz polimérica, siendo el responsable principal de su estructura y forma.
- Estabiliza los sitios de unión selectivos formados durante la impresión molecular, asegurando que el polímero retenga su capacidad de reconocimiento selectivo.
- Aporta estabilidad mecánica al material sintetizado, otorgándole resistencia y cohesión.
- Proporciona porosidad adecuada en el polímero, lo que garantiza la accesibilidad del analito al interior de la matriz, permitiendo su interacción con los sitios de reconocimiento.

1.6.1.4 Disolvente o porógeno

Este componente desempeña un papel crucial en la formación de poros y en el control de su tamaño en el material, por lo que también se le conoce como porógeno. Por tanto, el disolvente utilizado en la síntesis del polímero juega un papel de vital importancia, ya que el tamaño de los poros determina la facilidad con la que el analito puede difundirse a través de las cavidades del polímero (Dong et al., 2021). Es esencial que el solvente cumpla con ciertos requisitos, como la solubilidad de la plantilla, el monómero y el entrecruzante. Además, es deseable que el porógeno tenga una baja polaridad para minimizar interferencias durante la formación del complejo entre la molécula plantilla y el monómero, lo cual favorece una alta selectividad en las cavidades del polímero (Piletsky et al., 2020).

1.6.1.5 Iniciador

La selección del iniciador se basa principalmente en las características de la plantilla, si la plantilla es térmicamente o fotoquímicamente inestable, no se pueden utilizar iniciadores que se activen mediante temperatura o luz, respectivamente. En casos donde la polimerización del monómero y la plantilla ocurre a través de enlaces de hidrógeno, se requieren bajas temperaturas y se recomienda el uso de un iniciador que se active fotoquímicamente (Belbruno, 2019).

El azo-bis-isobutironitrilo (AIBN) es el iniciador más comúnmente empleado en la preparación de polímeros de impresión molecular. Este iniciador se descompone en radicales tanto por la acción de la radiación ultravioleta como por el calor a temperaturas superiores a 60°C (Soledad-Rodríguez, 2020).

1.6.2 Métodos de impresión molecular

Existen múltiples enfoques para la síntesis de los MIPs, donde se busca modificar la forma en que se generan los grupos funcionales del polímero para lograr un reconocimiento molecular óptimo. Es posible clasificar los polímeros de impresión molecular en función del tipo de interacción entre el monómero funcional y la plantilla objetivo, ya que esto tiene un impacto significativo en las propiedades del polímero resultante (Belbruno, 2019).

La síntesis de polímeros mediante métodos no covalentes implica la unión reversible del analito al monómero funcional a través de enlaces covalentes. Este enfoque de síntesis es complejo, ya que requiere la preparación previa del compuesto analito-monómero antes de la formación del polímero (Fresco-Cala et al., 2020). Una ventaja clave de este tipo de polimerización es su alta selectividad, ya que, al llevarse a cabo en condiciones estequiométricas, no hay monómeros fuera de las cavidades, lo que reduce en gran medida las interacciones no específicas.

Los polímeros sintetizados mediante métodos no covalentes son aquellos en los que la interacción entre el analito plantilla y el monómero se produce a través de enlaces intermoleculares débiles, como puentes de hidrógeno, interacciones electrostáticas o fuerzas de Van der Waals, tanto durante la síntesis del polímero como en el reconocimiento posterior de los analitos (Ye, 2016). Debido a la amplia disponibilidad comercial de monómeros y analitos capaces de establecer este tipo de interacciones estables, así como a la facilidad de síntesis de estos materiales, la síntesis por métodos no covalentes es ampliamente utilizados en la actualidad (Wackerlig & Lieberzeit, 2015).

Para su obtención, existen diversos métodos de síntesis que resultan en polímeros con diversas características morfológicas, destacando entre ellos la síntesis por emulsión, en masa y coprecipitación.

2 JUSTIFICACIÓN

La creciente proliferación de bacterias resistentes a los antibióticos convencionales es una amenaza para la salud pública tanto en México como a nivel mundial. Esta preocupante realidad ha impulsado la necesidad de desarrollar nuevos compuestos con propiedades antimicrobianas efectivas. Entre estos compuestos prometedores se encuentran los derivados de naftoquinonas, cuya actividad antimicrobiana ha sido comprobada mediante estudios

científicos. Sin embargo, para que estos compuestos puedan ser aprovechados enteramente, es crucial encontrar una forma de mejorar su solubilidad y garantizar su administración de manera segura y efectiva, minimizando al máximo los efectos secundarios indeseados. Es en este contexto que los polímeros de impresión molecular se presentan como una solución innovadora y prometedora. Estos polímeros pueden servir como vehículos de administración para los derivados de naftoquinonas, facilitando su encapsulación y liberación controlada en el organismo.

Al utilizar los polímeros de impresión molecular como dispositivos para la administración de los derivados de naftoquinonas, se pueden lograr múltiples ventajas. Estos polímeros ofrecen una matriz estructural altamente controlada y, que permite ajustar las propiedades físico-químicas del compuesto, como su solubilidad, estabilidad y tasa de liberación. Además, los polímeros de impresión molecular pueden mejorar la biodisponibilidad de los derivados de naftoquinonas, aumentando su eficacia terapéutica y reduciendo la posibilidad de resistencia bacteriana y toxicidad.

3 HIPÓTESIS

Los polímeros de impresión molecular tienen la capacidad de actuar como medio para la liberación controlada de los derivados de naftoquinona con actividad antimicrobiana, en sistemas artificiales; en estudios *in vitro* son capaces de liberar la concentración mínima inhibitoria frente a diferentes microorganismos y no presentar toxicidad.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

- Sintetizar y caracterizar morfológica y funcionalmente polímeros de impresión molecular para la liberación prolongada de derivados de naftoquinonas con actividad antimicrobiana y evaluar su efectividad y seguridad frente a bacterias (*S. aureus* y *E. coli*) y fibroblastos dérmicos, respectivamente.

4.2 Objetivos específicos

- Evaluar diferentes métodos de polimerización de los MIPs para la liberación de los derivados de naftoquinonas.
- Obtener la morfología de los polímeros a través de la microscopía electrónica de barrido.

- Determinar el modelo de adsorción de los polímeros mediante diferentes modelos matemáticos.
- Obtener la caracterización de los polímeros mediante ATR FT-IR.
- Determinar el modelo de cinética de liberación de ellos derivados de naftoquinona mediante el método de difusión de celda de Franz
- Evaluar la citotoxicidad de los MIPs mediante el método de MTT/Formazan
- Evaluar la capacidad antimicrobiana de los derivados de naftoquinona a través de la técnica de microdilución.

5 MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Reactivos

Todos los reactivos, ácido metacrílico (AM), ácido láctico (AL), dimetacrilato de etilenglicol (EGDMA), azobisisobutironitrilo (AIBN) y ácido fórmico, fueron adquiridos por Sigma-Aldrich (Darmstadt, Germany). Los solventes orgánicos, metanol y acetonitrilo fueron obtenidos por Tedia Company Inc. (Fairfield, Ohio, USA). Ácido clorhídrico (HCl) e hidróxido de sodio (NaOH) fueron suministrados por Merck (Estado de México). 3-cloro-2-tirosina-1,4-naftoquinona y 2-tirosina-1,4-naftoquinona fueron obtenidas a través de síntesis orgánica en el grupo de investigación.

5.2 Síntesis de los polímeros de impresión molecular

La síntesis de MIPs y NIPs se realizó siguiendo la metodología establecida en trabajos previos realizados por el grupo de investigación, con algunas modificaciones adaptadas específicamente para este estudio (Meléndez-Marmolejo et al., 2022). Se emplearon dos métodos de polimerización no covalente para llevar a cabo la síntesis de los materiales. Las modificaciones realizadas se basaron en la selección de monómeros, la relación de reactivos y las condiciones de reacción, con el objetivo de optimizar la eficiencia y la selectividad de los materiales sintetizados.

5.2.1 En masa

Primero, la molécula plantilla (Cl-NQ-TYR 1mmol, NQ-TYR 1 mmol) fue mezclada con el monómero (AM 337 μ L o AL 300 μ L) en un matraz de reacción hasta homogeneizar, después se añadió metanol (3 mL), acetonitrilo (3 mL), entrecruzante (EGDMA 3.7 mL), iniciador

(AIBN 285 μL), la reacción se llevó a cabo bajo una atmósfera inerte de nitrógeno sin agitación a 70°C en un baño de glicerina por 24 h.

5.2.2 Coprecipitación

Este método consiste en el mismo procedimiento y condiciones de reacción que el método de polimerización en masa, pero con la adición de 5 veces más cantidad de porógeno (metanol, 15 mL, acetonitrilo 15 mL), con constante agitación magnética a 100 rpm a 70°C por 24 h.

Los polímeros no impresos (NIPs) fueron sintetizados de la misma manera que su correspondiente MIP, pero sin la presencia de la molécula plantilla.

Los polímeros obtenidos fueron triturados en un mortero y tamizado para un tamaño de partícula de 250 μm , los polímeros fueron recuperados y pesados para establecer el rendimiento de la reacción. Para la limpieza de la molécula plantilla en los MIPs, se realizaron 10 ciclos de lavados, donde se utilizó 10 mL de metanol con HCl 0.1 N, cada ciclo se sonicó por 15 min y centrifugado a 2500 rpm por 5 min.

5.3 Método analítico

La cuantificación de CI-NQ-TYR y NQ-TYR se llevó a cabo mediante cromatografía líquida de alta resolución con detector de arreglo de diodos (HPLC-DAD) utilizando un equipo Agilent 1260 Infinity Series. La longitud de onda utilizada fue de 235 nm. Se empleó una columna Zorbax SB-C18 de dimensiones 4.6 x 150 mm y una partícula de 5 μm . La fase móvil consistió en una mezcla isocrática de 30% de ácido fórmico al 0.1% y 70% de acetonitrilo, con un flujo de 1 mL min^{-1} durante 10 minutos. Se inyectó un volumen de muestra de 10 μL para el análisis.

La validación del método se llevó a cabo siguiendo las directrices de la guía para la validación de métodos analíticos para la determinación de compuestos orgánicos a niveles de trazas (AOAC/FAO/IAEA/IUPAC 2000). Se evaluaron diversos parámetros, entre ellos el límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ), la linealidad (R^2), la sensibilidad y la precisión. La linealidad se determinó mediante el coeficiente de correlación (R^2) y la sensibilidad se calculó a partir de la pendiente de la curva. Estos valores se obtuvieron a partir

del promedio de siete curvas generadas durante un período de tres días, siendo tres curvas para evaluar la repetibilidad y cuatro curvas para evaluar la reproducibilidad.

5.4 Caracterización fisicoquímica de los polímeros

5.4.1 Determinación de porcentajes de retención

Se procedió a determinar los porcentajes de retención de los MIPs en presencia de sus respectivas plantillas (CI-NQ-TYR y NQ-TYR). Para ello, se tomaron tubos de 5 mL y se añadieron 10 mg de cada MIP. Posteriormente, se agregó una solución de cada plantilla correspondiente a una concentración de 2 mg L⁻¹ para cada polímero impreso. La reacción se mantuvo en agitación durante 1 hora, tras lo cual se realizó una centrifugación y se tomó una muestra que fue analizada mediante HPLC-DAD. El porcentaje de retención se calculó utilizando la siguiente ecuación:

$$\%R = \frac{C_o - C_f}{C_o} \times 100\% \quad (\text{Eq. 1})$$

Donde C_o es la concentración inicial de cada plantilla en la carga (mg L⁻¹) y C_f es la concentración del eluyente de cada carga (mg L⁻¹).

5.4.2 Caracterización morfológica de los MIPs/NIPs

Para la caracterización morfológica de cada uno de los polímeros se obtuvieron diferentes micrografías a través de un microscopio electrónico de barrido de emisión de campo (FE-SEM) FEI modelo Inspect F50, para la posterior evaluación de la superficie y morfología de cada uno de los polímeros obtenidos.

5.4.3 Espectroscopía infrarroja

Se realizó la evaluación de los diversos grupos funcionales presentes en los materiales utilizando espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier con reflexión total atenuada (FTIR-ATR) mediante un espectrómetro modelo Nicolet iS10 de Thermo Scientific. Los espectros infrarrojos fueron recolectados en un rango de 500 a 4000 cm⁻¹.

5.4.4 Distribución de la carga superficial y punto de carga cero

La carga de la superficie de los MIPs y NIPs fue determinada por la titulación ácido-base propuesta por Kuzin y Loskutov (1996). Para ello, 50 mL de solución neutralizante con un pH entre 2 y 12 fueron preparadas añadiendo varios volúmenes entre 0.2 y 10 mL de

soluciones valoradas de HCl y NaOH, ambas a una concentración de 0.1 N. Las soluciones fueron volumétricamente valoradas con una solución de 0.1 N de NaCl.

Se tomaron tubos de centrifuga y se agregaron 0.1 g de MIP y NIP, así como 25 mL de varias soluciones neutralizadoras. También se colocaron 25 mL de cada solución en tubos como muestras en blanco. Los tubos se agitaron cada 30 minutos durante un periodo de 2 horas. Luego, se evaluó el pH de cada muestra y se trazaron las curvas potenciométricas para los blancos, MIP y NIP.

La carga superficial fue calculada con la siguiente ecuación

$$C_s = \frac{C_N(V_B - V_A)}{m} \times F \quad (\text{Eq. 2})$$

Donde C_s , es la carga superficial del material dado a cada valor de pH ($C \text{ g}^{-1}$), C_N es la concentración de la solución neutralizante (mol L^{-1}), V_A es el volumen de las soluciones de NaOH o HCl 0.1 N, usados para alcanzar cada valor de pH en el experimento usando el material (L), V_B es el volumen de las soluciones de NaOH o HCl 0.1 N usadas para alcanzar cada valor de pH en el experimento usando el material (L), m es la masa de MIP o NIP (g), y F es la constante de Faraday (96485 C mol^{-1})

5.4.5 Isotermas de adsorción

Con el objetivo de estudiar el proceso de adsorción en los MIPs y NIP, se realizaron experimentos para obtener isotermas de adsorción y comprender el mecanismo subyacente. Para ello, se utilizaron tubos de centrifuga de 5 mL, cargados con 10 mg de polímero, y se añadieron soluciones con diferentes concentraciones en el rango de 1 a 310 mg L^{-1} . Una vez que se alcanzó el equilibrio, se midió la concentración del adsorbato en la fase acuosa y se calculó la capacidad de adsorción mediante un balance de masa.

$$q_e = \frac{V(C_i - C_e)}{m} \quad (\text{Eq. 3})$$

Donde:

q_e Es la capacidad de adsorción de soluto (mg g^{-1})

C_i Es la concentración inicial del adsorbato (mg L^{-1})

C_e Es la concentración en el equilibrio (mg L^{-1})

m Es la cantidad de adsorbente (g)

V Es el volumen de la solución (L)

Los datos obtenidos se analizaron mediante los modelos de isoterma de adsorción de Langmuir, Freundlich y SIPS, esto para describir la interacción entre el adsorbente y el adsorbato. Las ecuaciones de los modelos se presentarán a continuación en las **Ecuaciones 4, 5 y 6**.

La expresión matemática de la isoterma de Langmuir se presenta de la siguiente manera:

$$q = \frac{q_m k C_e}{1 + k C_e} \quad \text{(Eq. 4)}$$

Donde:

q Capacidad de adsorción en el equilibrio (mg g⁻¹)

k Es la constante de equilibrio del adsorbato en el equilibrio (L mg⁻¹)

q_m Capacidad de adsorción en monocapa (mg g⁻¹)

C_e Es la concentración del adsorbato en el equilibrio (mg L⁻¹)

El modelo matemático de Freundlich se define por la ecuación:

$$q = k C_e^{1/n} \quad \text{(Eq. 5)}$$

Donde:

q Capacidad de adsorción en el equilibrio (mg g⁻¹)

k Es la constante de equilibrio de adsorción (L g⁻¹)

C_e Es la concentración del adsorbato en el equilibrio (mg L⁻¹)

n Es la constante exponencial para el modelo de Freundlich

Finalmente, el modelo matemático de SIPS se describe con la siguiente ecuación.

$$q = \frac{N_t a C_e^m}{1 + a C_e^m} \quad \text{(Eq. 6)}$$

Donde:

q Capacidad de adsorción en el equilibrio (mg g⁻¹)

N_t Es la constante del modelo de isoterma (mg g⁻¹)

a Es la constante de afinidad (L g⁻¹)

C_e Es la concentración del adsorbato en el equilibrio (mg L⁻¹)

m Es el exponente del modelo de isoterma

5.4.6 Factor de impresión

Para verificar la selectividad de las moléculas plantillas en los diferentes MIPs con los cuales fueron sintetizados, se realizó una solución de 2 mg L⁻¹ de cada plantilla, preparadas en 5 mL, las cuales se agregaron a 10 mg de MIP, todo esto siguiendo la metodología de los ensayos de retención. De igual manera se realizó este mismo procedimiento con los NIPs para su comparación con su correspondiente MIP. La especificidad de los MIPs y NIPs fue a través de la capacidad de enlace en el equilibrio de cada derivado de naftoquinona entre el polímero y la solución. La capacidad de enlace en el equilibrio se calculó mediante la siguiente ecuación

$$K = \frac{(C_i - C_f) \times V}{C_f \times m} \quad (\text{Eq. 7})$$

Donde C_i (mg L⁻¹) es la cantidad de analito unido al MIP o NIP, C_f (mg L⁻¹), es la concentración de cada analito remanente en la carga. De igual manera, el factor de impresión (IF) fue evaluado para la selectividad de cada MIP con la molécula plantilla con la cual fue sintetizado, contrastado contra el NIP correspondiente. El IF fue calculado con la siguiente ecuación:

$$IF = \frac{Q_{MIP}}{Q_{NIP}} \quad (\text{Eq. 8})$$

Donde Q_{MIP} y Q_{NIP} representa el coeficiente de partición de los compuestos estudiado para el MIP y NIP respectivamente.

5.4.7 Cinética de liberación

Las cinéticas de liberación se evaluaron a través de estudios de difusión *in vitro*. Las cinéticas fueron realizadas a una temperatura de 37 ± 0.5 °C, las cuales fueron realizadas en una celda

de difusión de Franz con capacidad de 20 mL en la cámara receptora, usando como filtro polivinildifluoruro (PVDF), que fue colocado entre las secciones donante y receptor de la celda, posteriormente ambas cámaras fueron llenadas con un buffer de fosfatos (PBS) a un pH de 5.4. Posteriormente se fueron tomando muestras a diferentes tiempos (0, 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 12, 24 h) una vez tomada la muestra el medio receptor fue restaurado con medio PBS fresco. El análisis de las concentraciones de las diferentes muestras fue a través de HPLC-DAD. Los experimentos fueron llevados por triplicado para cada MIP sintetizado.

Los datos obtenidos fueron analizados utilizando diferentes modelos matemáticos para su interpretación, siendo el primer modelo el de Higuchi. Este modelo, basado en la segunda ley de Fick, es de naturaleza semiempírica y comúnmente se utiliza para describir la liberación de fármacos en tabletas o sistemas terapéuticos transdérmicos. Algunas consideraciones de este modelo son las siguientes:

- La concentración inicial del compuesto en la fuente de la matriz del material es mayor que la solubilidad del compuesto a liberar.
- La liberación del compuesto solo tiene lugar en una dimensión.
- Es insignificante el hinchamiento de la matriz y la disolución.
- Se considera constante la difusión del compuesto.

El modelo de Higuchi es representado con la siguiente ecuación:

$$M_t = kt^{\frac{1}{2}} \quad (\text{Eq. 9})$$

Donde M_t es la velocidad de la liberación del compuesto al tiempo t , y K siendo la constante de disolución de Higuchi.

El siguiente modelo por el cual se ajustaron los datos experimentales es el modelo de Korsmeyer-Peppas, el cual consiste cuando se requiere describir la liberación en materiales o sistemas poliméricos, donde el mecanismo de liberación no es conocido, o cuando este incluye más de un sistema de transporte involucrado. El modelo matemático es representado por la siguiente ecuación:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = Kt^n \quad (\text{Eq. 10})$$

Donde, $\frac{M_t}{M_\infty}$ es la fracción del compuesto liberado a un tiempo determinado t, k es la constante de velocidad de liberación, la cual también describe las características geométricas y estructurales del sistema de liberación. El coeficiente n, puede adquirir varios valores dentro de los cuales se pueden separar en 5 casos:

- Cuando $n = 0.5$: Al adquirir este valor se obtiene el modelo de Higuchi, donde nos habla de un proceso del tipo Caso I o difusión fickiana, que describe el fenómeno de transporte, en donde el gradiente de difusión del solvente es mucho menor que la tasa de relajación del polímero.
- Cuando $n = 1$: La ecuación de liberación pasa a ser de orden cero, es decir el proceso de liberación es controlado por la relajación de las cadenas poliméricas, a una velocidad constante, si no adquiere otra configuración de la geometría del sistema, durante el proceso de liberación.
- Cuando $0.5 < n < 1$: Un valor en este rango, revela una superposición de ambos mecanismos, hinchamiento y difusión, este tipo de casos es llamado anómalo o del tipo difusión no fickiana, estos casos el gradiente de difusión de relajación del material son iguales.
- Cuando $n > 1$: La liberación del compuesto depende la relajación de las cadenas de la matriz polimérica, ya que pasan de un estado de mayor movimiento cinético.
- Cuando $n < 0.5$: En estos casos el tipo de fenómeno expresa que podría existir otro proceso simultaneo al proceso de difusión.

5.4.8 Citotoxicidad

Para la evaluación de la citotoxicidad de los MIPs se utilizaron fibroblastos dérmicos (NIH/3T3). Los fibroblastos fueron conservados en medio Eagle modificado con Dulbecco's (DMEM, 30-2002 ATCC), suplementado con 10% (v/v) suero bovino fetal (1600.036, Gibco) y penicilina-estreptomina al 1% (v/v) (13377820, ROCHE), las cuales fueron incubadas a condiciones de 37°C y atmósfera humidificada de CO₂ al 5%.

Las células (5×10^4 células/pozo) fueron cultivadas en una placa de 96 pocillos por 72 h, la evaluación de la citotoxicidad fue evaluada a través de ensayos de viabilidad celular utilizando el 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil bromuro de tetrazolio (MTT,

11465007001, ROCHE), el MTT es una solución amarillenta que se convierte en MTTformazan insoluble en agua de color azul, por las células vivas a través de las deshidrogenasas mitocondriales.

Después, las células fueron expuestas con el tratamiento el cual consistía en los extractos de las 24 h de los MIPs obtenidos en las cinéticas de liberación contenidas en PBS, estas se dejaron por 24 h. Pasada la incubación de las células con el tratamiento, 100 μ L de MTT fue añadido a cada pozo. Después de 4 h, el producto de formazan se disolvió en dimetilsulfóxido, y se midió la absorbancia a 570 nm usando un lector de microplacas (Multiskan; Termo Scientific). Se usaron células tratadas y no tratadas con medio DMEN como controles positivo y negativo respectivamente. Los ensayos fueron realizados por triplicado en tres experimentos independientes. La viabilidad porcentual fue obtenida considerando el control positivo como el 100%

5.4.9 Actividad antimicrobiana

Se evaluó la actividad antimicrobiana de los polímeros en dos microorganismos *S. aureus* y *E. coli* (ATCC 25923 y 25922, respectivamente). Las cepas de los microorganismos se mantuvieron en medio sólido de Mueller Hinton (211443, BBLTM) los cultivos se colocaron en una atmósfera humidificada suplementada con CO₂ al 5% durante 24 h. La evaluación de la actividad antimicrobiana se realizó con el método de microdilución para la estimación de los valores de concentración mínima inhibitoria (CMI).

Las CMI se determinaron incubando a *S. aureus* y *E. coli* en microplacas de 96 pocillos en una atmósfera humidificada suplementada con CO₂ al 5% durante 24h. Los microorganismos se expusieron a diluciones en serie de MIPs y NIPs, y los puntos finales se determinaron cuando no se observó turbidez en el pozo. Todos los ensayos fueron realizados por duplicado.

La Concentración Mínima Bactericida (CMB) se determinó mediante el método de extracción en placas Petri con agar Mueller Hinton. Se realizó una primera asada en la que no se observó crecimiento bacteriano, seguida de una segunda y tercera asada en pocillos antes y después del punto en el que no se observó crecimiento. Las placas Petri fueron etiquetadas con la concentración correspondiente y se incubaron a una temperatura de 37°C durante 24 h.

6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Síntesis de los polímeros de impresión molecular

Se realizó la síntesis de los MIPs y NIP utilizando dos monómeros diferentes, los cuales fueron ácido metacrílico (AM) y ácido láctico (AL), usando dos plantillas las cuales fueron la NQ-TYR y Cl-NQ-TYR, empleando dos métodos diferentes de polimerización que fueron en masa y coprecipitación. Cada uno de los polímeros sintetizados presentaron características y propiedades físicas diferentes, dependiendo del monómero y método utilizado. Obteniéndose un total de 12 polímeros, de los cuales fueron 8 MIPs y 4 NIPs.

La relación molar empleada en la síntesis de los polímeros en términos de la proporción plantilla-monomero-entrecruzante fue de 1:4:20. Durante el proceso, se logró obtener un rendimiento de entre 3 y 4 gramos de polímero (**Tablas 3 y 4**).

En medios acuosos, especialmente en condiciones neutras y básicas, el AM se encuentra en forma ionizada debido a su naturaleza ácida. El grupo carboxilo del AM (-COOH) tiene la capacidad de establecer interacciones efectivas con aceptores y donantes a través de enlaces de hidrógeno (H) o interacciones electrostáticas presentes en la estructura de los derivados de naftoquinona. Al perder un átomo de hidrógeno, el grupo carboxilo adquiere una carga negativa, lo que le permite establecer enlaces iónicos a través de su grupo carboxilo. Además, el átomo de oxígeno en el grupo carboxilo actúa como aceptor de enlaces de hidrógeno y puede formar enlaces con donantes de hidrógeno. El grupo hidroxilo no ionizado presente en el AM (-OH) funciona como donante de enlaces de hidrógeno y, por lo tanto, puede interactuar con aceptores de hidrógeno. Gracias a la presencia de un grupo amino, tres grupos carbonilo y un grupo carboxílico en la estructura de los derivados de naftoquinona (Kioomars et al., 2017).

En cuanto a las propiedades físicas de los polímeros obtenidos mediante el método en masa, se observó que presentaban un color blanco y una textura rígida. Por otro lado, los polímeros sintetizados mediante el método de coprecipitación también exhibieron un color blanco, pero se caracterizaron por una textura suave y la formación de un polvo fino (**Figura 3**).



Figura 3. Polímeros obtenidos con ácido metacrílico y ácido láctico

Tabla 3. Eficiencia obtenida en cada MIP sintetizados con CI-NQ-TYR

	Ácido metacrílico		Ácido láctico	
	CNT-AM-M	CNT-AM-C	CNT-AL-M	CNT-AL-C
Peso (g)	3.02	3.61	3.44	3.72

Tabla 4. Eficiencia obtenida en cada MIP sintetizados con NQ-TYR

	Ácido metacrílico		Ácido láctico	
	NT-AM-M	NT-AM-C	NT-AL-M	CNT-AL-C
Peso (g)	3.82	2.89	3.85	3.51

En la **Tabla 5** se presenta el listado de los MIPs y NIPs que han sido sintetizados, junto con los códigos de identificación asignados para su posterior uso y referencia en el estudio.

Tabla 5. Código de los polímeros sintetizados para ambas plantillas

Código	Plantilla	MIP	NIP	Monómero	Método
CNT-AM-M	CI-NQ-TYR	X		Ácido metacrílico	Masa
CNT-AM-C	CI-NQ-TYR	X		Ácido metacrílico	Coprecipitación
CNT-AL-M	CI-NQ-TYR	X		Ácido láctico	Masa
CNT-AL-C	CI-NQ-TYR	X		Ácido láctico	Coprecipitación
NT-AM-M	NQ-TYR	X		Ácido metacrílico	Masa
NT-AM-C	NQ-TYR	X		Ácido metacrílico	Coprecipitación

NT-AL-M	NQ-TYR	X	Ácido láctico	Masa
NT-AL-C	NQ-TYR	X	Ácido láctico	Coprecipitación
N-AM-M	-	X		Masa
N-AM-C	-	X		Coprecipitación
N-AL-M	-	X		Masa
N-AL-C	-	X		Coprecipitación

6.2 Validación del método analítico

La validación del método analítico para las plantillas CI-NQ-TYR y NQ-TYR fue llevada a cabo con éxito, se estableció un rango de linealidad que abarcó concentraciones desde 0.5 mg L⁻¹ hasta 10 mg L⁻¹, obteniendo una alta linealidad con coeficientes de correlación superiores a 0.99. La sensibilidad de ambos métodos fue determinada mediante el cálculo de las pendientes de las curvas, y los límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) se determinaron utilizando el método de pendientes. Los parámetros de validación de ambos métodos se resumen en la **Tabla 6**

Tabla 6. Parámetros para la validación del método analítico para ambas plantillas

Compuesto	LOD (mg L ⁻¹)	LOQ (mg L ⁻¹)	Sensibilidad	Linealidad
CI-NQ-TYR	0.732	0.860	52.20 (IC 95% 48.04-58.48)	0.998
NQ-TYR	0.715	0.864	49.84 (IC 95%: 45.58-55.55)	0.997

LOD: Limite de detección, LOQ: Limite de cuantificación

Las curvas de calibración de ambos compuestos se muestran en las **Figuras 4 y 5**.

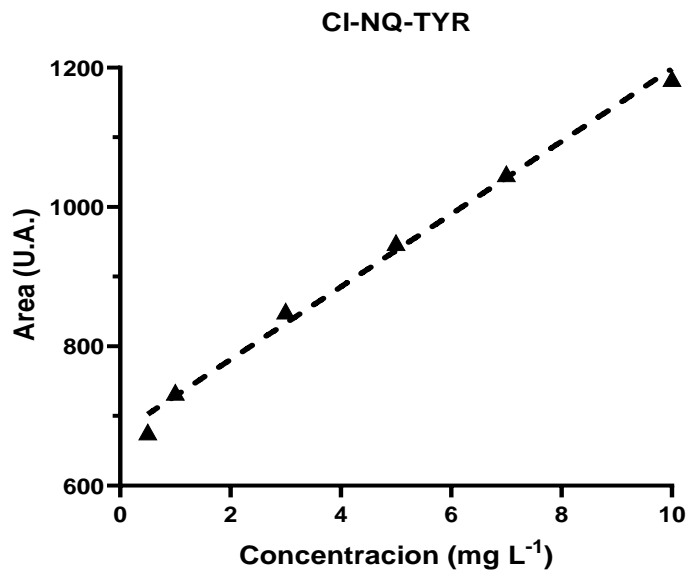


Figura 4. Curva de calibración para CI-NQ-TYR

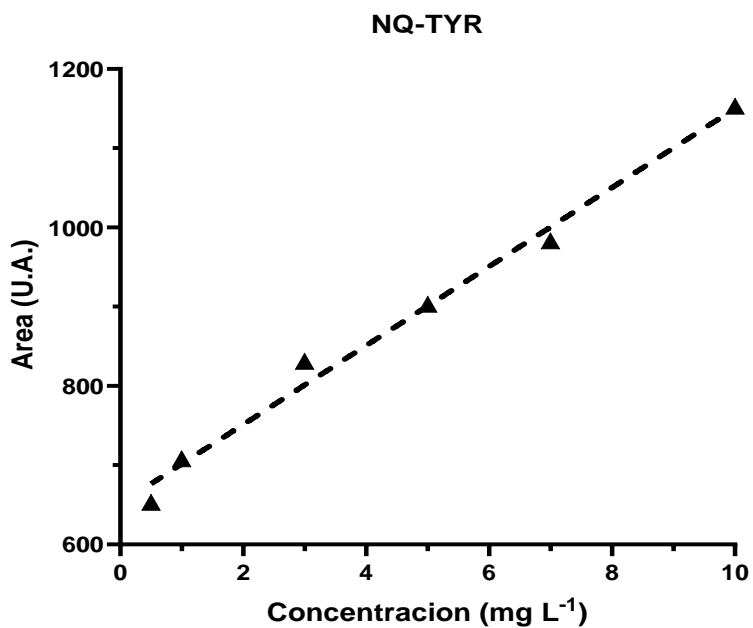


Figura 5. Curva de calibración para NQ-TYR

En las **Figura 6 y 7**, se presentan cromatogramas representativos donde se muestra el tiempo de retención para ambos compuestos siendo 6.26 min para la CI-NQ-TY y de 6.29 min para la NQ-TYR.

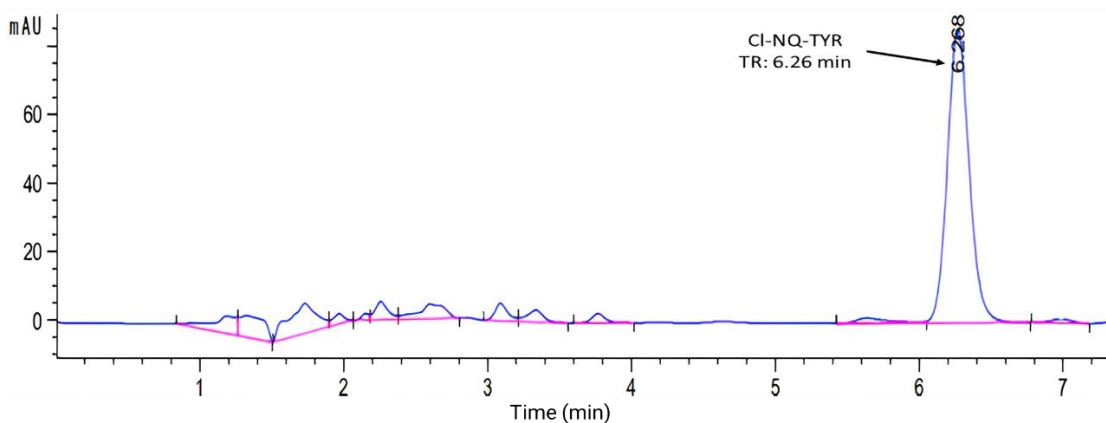


Figura 6. Cromatograma de Cl-NQ-TYR (2 mg L^{-1}) con un tiempo de retención de 6.26 min

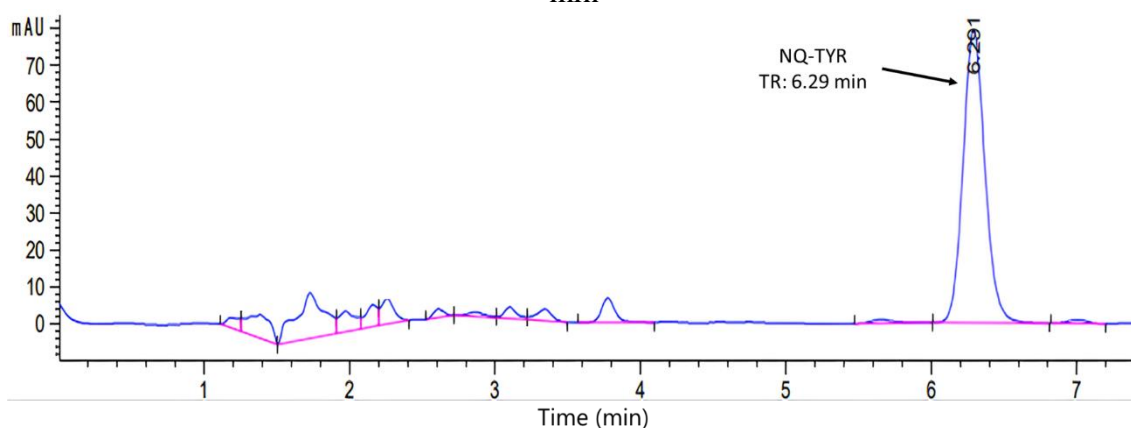


Figura 7. Cromatograma de NQ-TYR (2 mg L^{-1}) con un tiempo de retención de 6.29 min

6.3 Porcentajes de retención

En la **Figura 8** se muestran los porcentajes de retención obtenidos para los MIPs junto con sus respectivos NIPs, los cuales fueron sintetizados utilizando la plantilla NQ-TYR. Se observó que todos los MIPs exhibieron altos porcentajes de retención superiores al 90%. Específicamente, aquellos MIPs sintetizados con ácido metacrílico mediante los métodos de masa y coprecipitación mostraron los mayores porcentajes de retención, con valores de 99.53% y 98.58%, respectivamente. Estos resultados contrastan con los porcentajes obtenidos para los NIPs, donde el valor más alto alcanzó el 63.43%. Estos hallazgos demuestran la eficacia de los MIPs en la retención de la plantilla NQ-TYR, destacando la influencia del método de síntesis y el tipo de polímero utilizado en los resultados obtenidos.

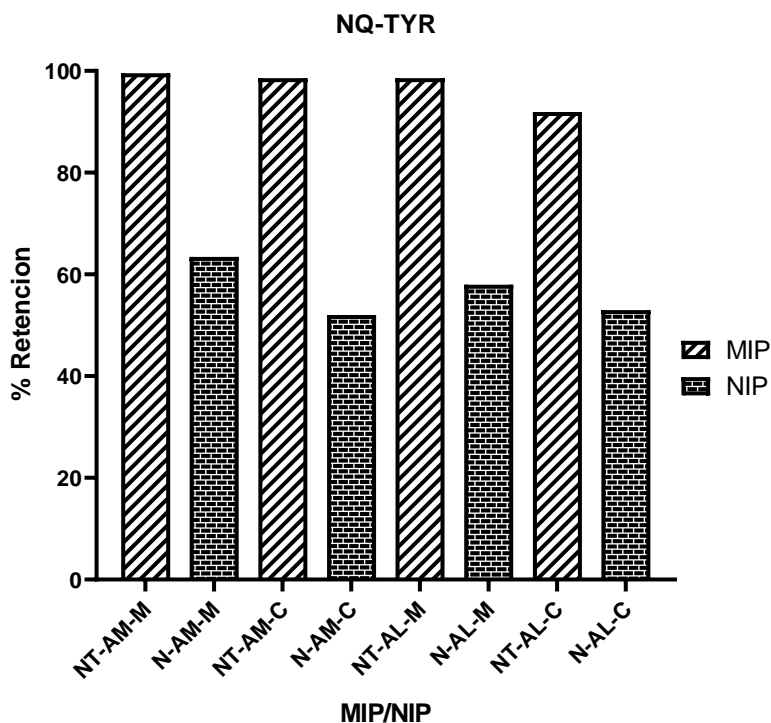


Figura 8. Porcentajes de retención de los MIPs sintetizados para NQ-TYR

En la **Figura 9** se presentan los porcentajes de retención de los polímeros sintetizados utilizando la plantilla de Cl-NQ-TYR. Se pudo observar que los MIPs mostraron una retención significativamente alta, superando el valor del 90%. En particular, se destacaron dos MIPs en términos de retención, el MIP sintetizado con el monómero de AL mediante el método de coprecipitación y el MIP con el monómero de AM mediante el método de en masa, los cuales alcanzaron valores de retención del 98.3% y 96.6%, respectivamente. Estos resultados se compararon con sus correspondientes NIPs, los cuales exhibieron valores de retención de 78.83% y 68.95%

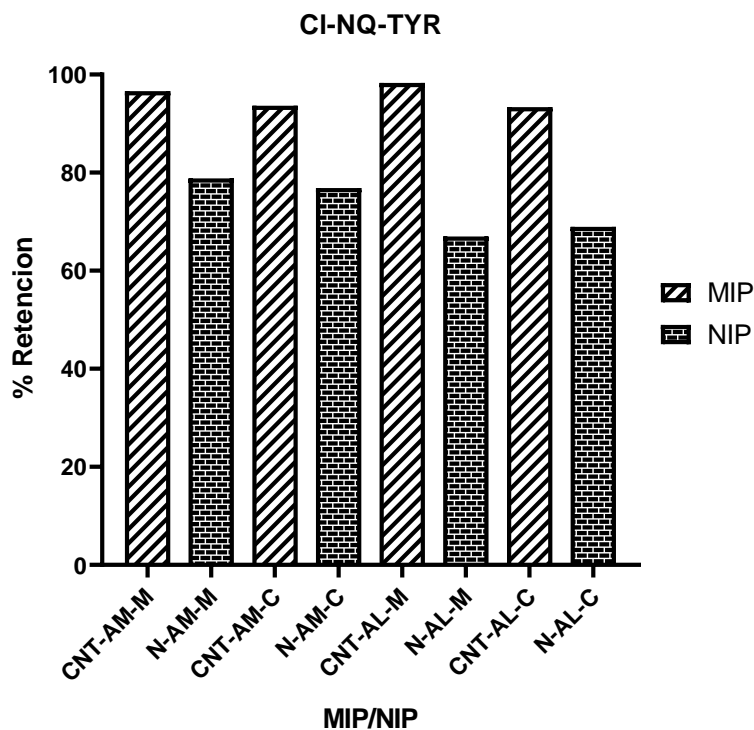


Figura 9. Porcentajes de retención de los MIPs sintetizados para CI-NQ-TYR

Además de la eficiente impresión de las plantillas en los MIPs, se observó una correlación directa entre la capacidad de retención y la presencia de los sitios activos específicos en las estructuras de los polímeros impresos. Esta relación se reflejó en los resultados de los NIPs, que, al carecer de los sitios específicos, mostraron una menor capacidad de retención en comparación con sus contrapartes MIPs. Estos hallazgos respaldan la importancia de la impresión molecular en la creación de sitios de reconocimiento selectivo en los MIPs, lo que les confiere su capacidad única para retener y adsorber las moléculas objetivo de manera eficiente

6.4 Caracterización morfológica de los polímeros mediante microscopía electrónica de barrido

Se llevó a cabo una caracterización morfológica detallada de los MIPs y NIPs mediante microscopía electrónica de barrido (SEM). Este análisis permitió examinar en detalle la estructura y la morfología de los polímeros impresos y no impresos. En el caso de los MIPs sintetizados con las plantillas de CI-NQ-TYR y NQ-TYR, se observó una morfología similar, lo que indica una impresión efectiva de las plantillas en ambos casos. Sin embargo, se pudo diferenciar la morfología en función de los diferentes métodos de síntesis utilizados.

En el caso de los polímeros sintetizados mediante el método de coprecipitación (**Figura 10**), se observa la presencia de aglomerados con una morfología irregular. Estos aglomerados presentaron un tamaño de partícula dentro del rango de 1 a 5 μm . La formación de estos aglomerados puede atribuirse al exceso de porógeno utilizado durante la síntesis. Debido a este exceso, el polímero insoluble tiende a separarse de la disolución y formar núcleos de reacción, lo que a su vez conduce a la formación de partículas más pequeñas y controladas en tamaño.

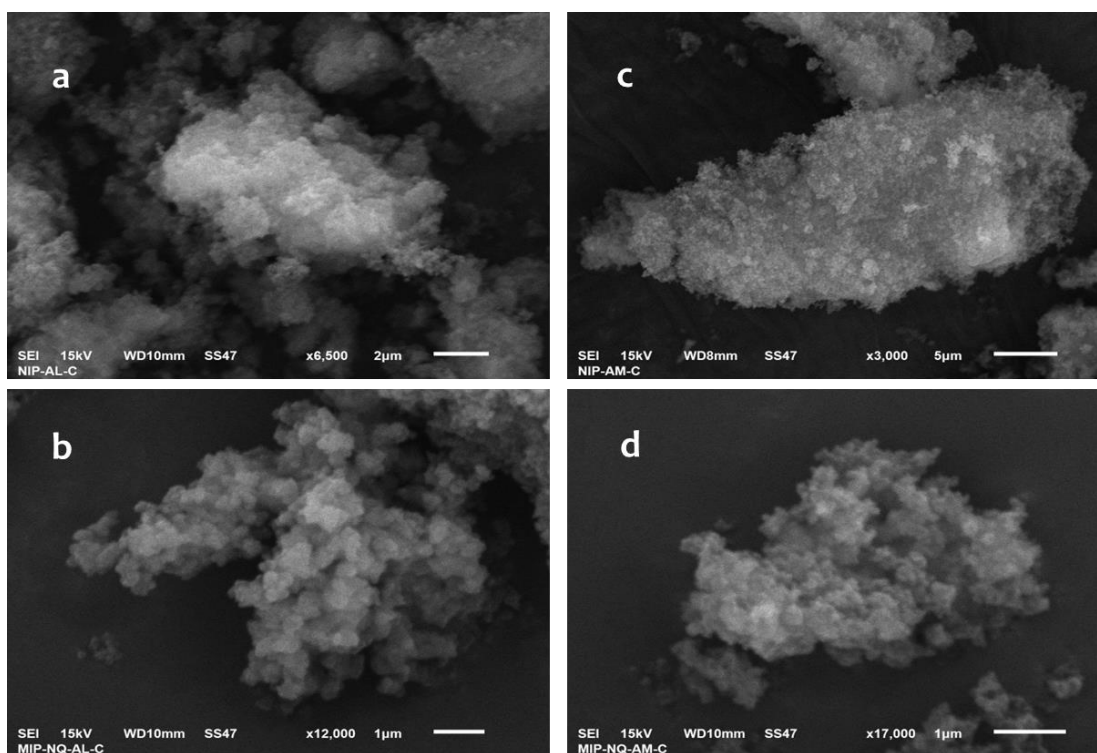


Figura 10. Microscopías de los polímeros sintetizados por el método de coprecipitación a) NT-AL-C b) NT-AM-C c) N-AL-C d) N-AM-C

En el caso de los polímeros sintetizados por el método de en masa (**Figura 11**), se observó una morfología más definida tanto en los MIPs como en los NIPs. Estas partículas de polímero presentaron una estructura monolítica con un rango de tamaño que osciló entre 2 y 10 μm . Esta morfología era esperada, ya que en el método de en masa no se emplea agitación durante la síntesis. La ausencia de agitación permite que las moléculas de monómero se unan y formen estructuras más grandes y definidas.

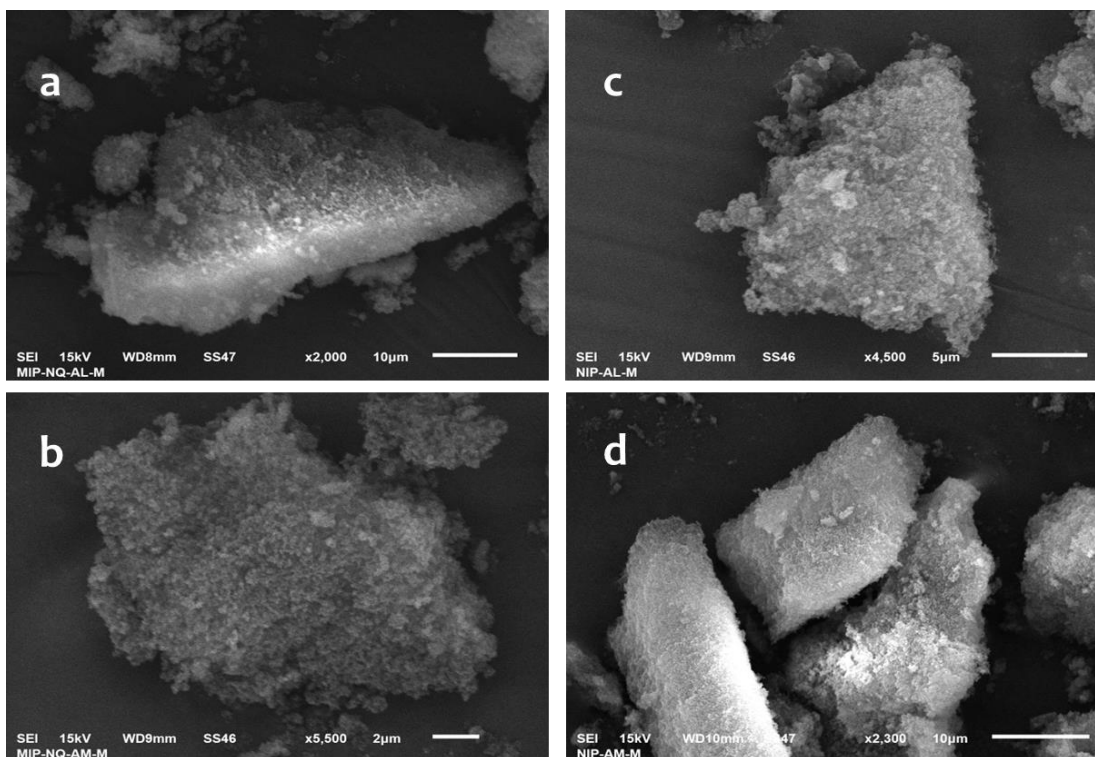


Figura 11. Microscopías de los polímeros sintetizados por el método de en masa a) CNT-AL-M b) CNT-AM-M c) N-AL-M d) N-AM-M

6.5 Espectroscopia infrarroja

Los MIPs y NIPs fueron caracterizados a través de un análisis de ATR-FTIR, donde en la **Figura 12**, se presentan los espectros de infrarrojos de los MIPs representativos de cada molécula plantilla con la cual fueron sintetizados, en comparación con su respectivo NIP, siendo este el polímero con la ausencia de la molécula plantilla.

Para la Cl-NQ-TYR se analizaron los MIPs CNT-AM-M y NT-AM-M y para la NQ-TYR, los MIPs NT-AM-M y NT-AL-M. En los espectros obtenidos se observaron dos bandas distintivas a 1720 y 1200 cm^{-1} , que corresponden a las vibraciones de $\nu(\text{C}=\text{O})$ y $\nu(\text{C}-\text{O})$ respectivamente. Estas bandas son características del grupo ácido carboxílico presente en ambas plantillas, lo que indica su presencia en los compuestos analizados. Además, se identificaron bandas adicionales en los espectros, como las ubicadas en 3450 y 1500 cm^{-1} , que se atribuyen a las vibraciones de tensión del grupo amina $\nu(\text{N}-\text{H})$. Estas bandas proporcionan información sobre la presencia del grupo amina en las moléculas analizadas, finalmente para el MIP sintetizado con la Cl-NQ-TYR, se encuentra una banda de absorción en el valor de 800 , la cual corresponde a la vibración del grupo $\nu(\text{C}-\text{Cl})$. Todas las bandas

identificadas en los espectros infrarrojos están relacionadas con los derivados de naftoquinona utilizados como plantillas. Estos resultados confirman que las plantillas estaban efectivamente impresas en el polímero de impresión molecular analizado.

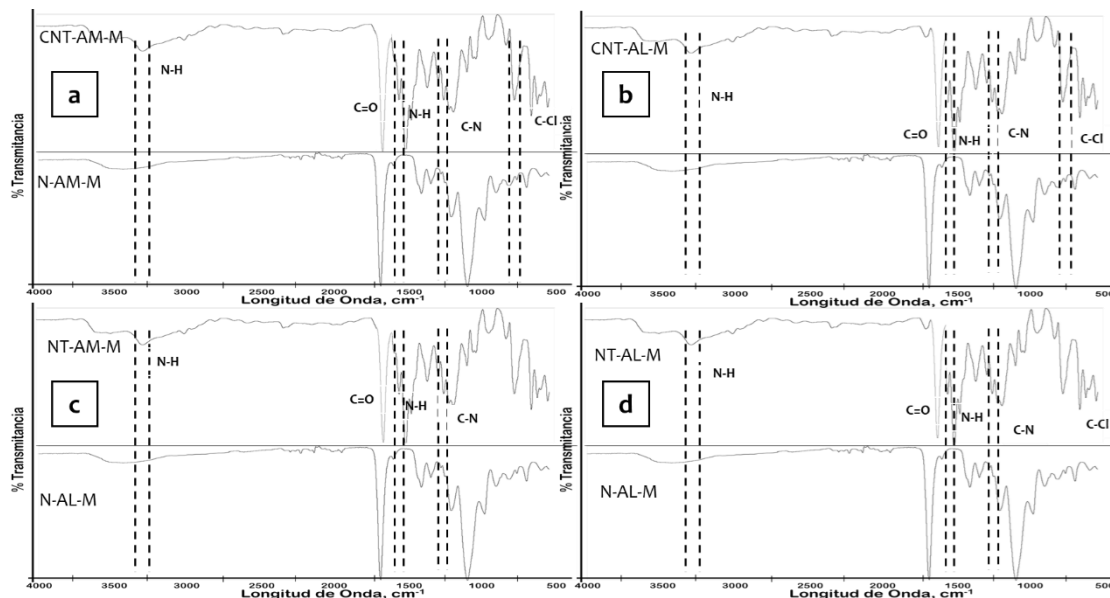


Figura 12. Espectro de ATR-FTIR: a) CNT-AM-M, b) CNT-AL-M c) NT-AM-M d) NT-AL-M

6.6 Distribución de la carga superficial y punto de carga cero

La carga superficial de un material cuando está sumergido en una solución acuosa es originado debido a las interacciones entre los iones presentes en dicha solución, como el ion hidrógeno (H^+) y el ion hidróxido (OH^-), y los grupos funcionales que se encuentran en la superficie del adsorbente. En consecuencia, el potencial de carga de la superficie está directamente relacionado con la cantidad de grupos funcionales presentes en el material y el pH de la solución.

En la **Figura 13**, la cual corresponde al análisis del CNT-AM-M, se muestran las curvas potenciométricas tanto del blanco como de la solución que contiene el polímero. Se observa que estas curvas se interceptan en un pH de 4.8, lo que indica que el punto de carga cero (pH_{pcz}) del MIP tiene una naturaleza ácida. Estos resultados pueden ser explicados por el tipo de monómero utilizado en la síntesis de los polímeros, específicamente el ácido metacrílico, el cual es un ácido débil con un valor de pK_a de 4.7. La presencia de este

monómero ácido en la estructura del polímero contribuye a su comportamiento ácido en condiciones determinadas de pH.

De igual manera en la **Figura 13**, se presentan los resultados obtenidos para los polímeros sintetizados utilizando el monómero de ácido láctico. Se observó que el pH_{pcz} de estos polímeros tuvo un valor de 3.5. Cabe destacar que el ácido láctico es también un monómero del tipo ácido débil, y su pKa es de 3.8, el cual coincide con el valor utilizado en la síntesis de los polímeros. La presencia del ácido láctico en la estructura del polímero influye en su comportamiento ácido con relación al pH.

Estos resultados respaldan la importancia de la selección cuidadosa de los monómeros en la síntesis de los polímeros, ya que afectan directamente las propiedades y el rendimiento de los MIPs

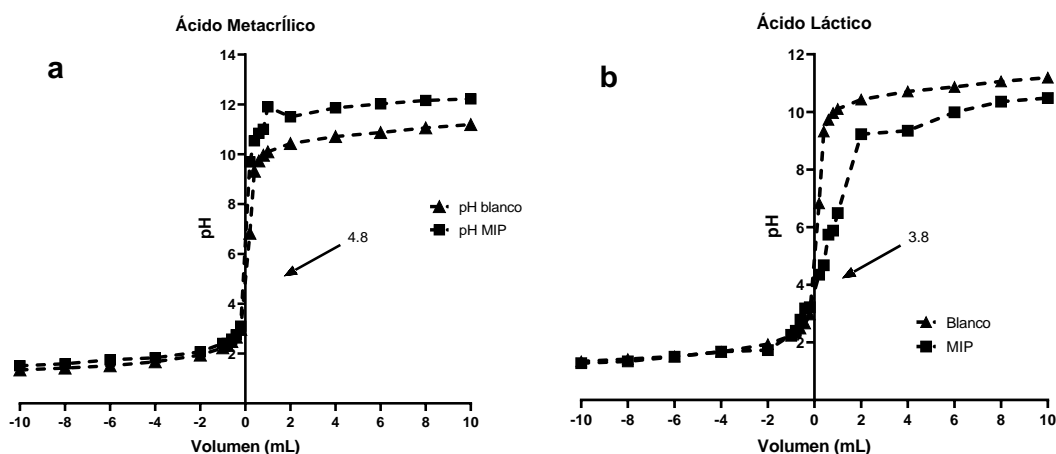


Figura 13. Curvas potenciométricas: a) blanco y solución de CNT-AM-M y b) blanco y solución de CNT-AL-M

La carga superficial fue calculada utilizando la **Ecuación 11** en una amplia gama de valores de pH. Para llevar a cabo esta determinación, se llevaron a cabo experimentos utilizando tanto soluciones con adsorbente MIP (V_A) como sin él (V_B). Con el fin de obtener los pH deseados, se utilizó una variedad de volúmenes de solución. Estas pruebas se llevaron a cabo con el objetivo de examinar cómo la carga superficial de los materiales varía en función del pH.

En la **Figura 14** se muestra la distribución de carga superficial para dos MIPs específicos: a) CNT-AM-M y b) CNT-AL-M, con relación al pH. Este análisis revela características

distintivas en cuanto a la carga de los materiales en diferentes rangos de pH. En el caso del MIP CNT-AM-M, se observa que por encima del pH_{pcz} , el material presenta una carga positiva, lo que indica una preferencia por la interacción electrostática con especies cargadas negativamente en solución. Por otro lado, por debajo del pH_{pcz} , el material exhibe una carga negativa, lo que sugiere una mayor afinidad por especies cargadas positivamente. Estos resultados reflejan las propiedades ácido-base del MIP CNT-AM-M y su capacidad para ajustar su carga en respuesta al pH del entorno

En el caso del MIP CNT-AL-M, se observa que a lo largo del rango de pH de 2 a 9, la carga superficial se mantiene ligeramente positiva. Sin embargo, a medida que se supera este valor de pH, se observa un aumento significativo en la carga, alcanzando una alta positividad. Esto indica que el MIP CNT-AL-M puede presentar una mayor afinidad por especies cargadas negativamente en soluciones alcalinas. El análisis de la distribución de carga superficial en función del pH proporciona una comprensión más detallada de las interacciones electrostáticas y la afinidad del MIP con diferentes especies cargadas

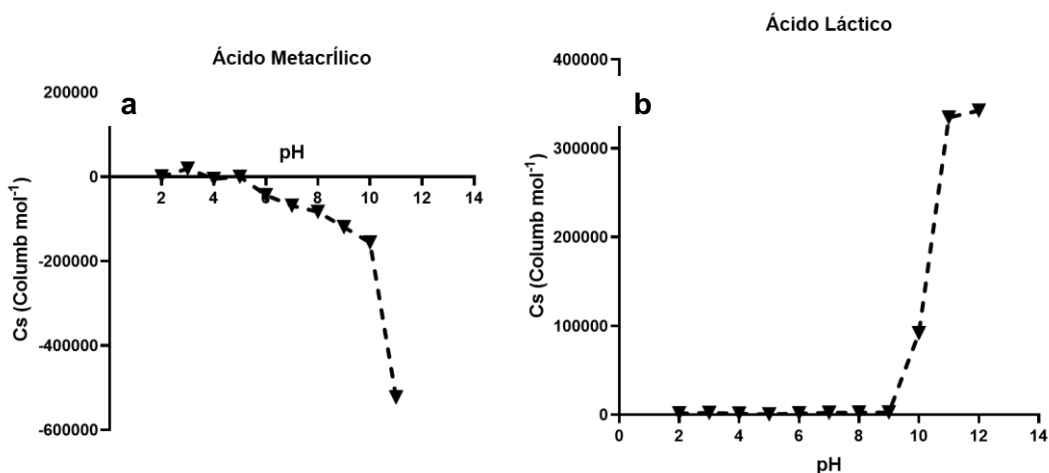


Figura 14. Distribución de carga superficial de a) CNT-AM-M y b) CNT-AL-M

6.7 Isotermas de adsorción

Con el fin de analizar el mecanismo de adsorción en los MIPs, se llevaron a cabo pruebas de adsorción y se determinó el modelo que mejor se ajustaba a cada polímero. Los datos en equilibrio fueron ajustados utilizando los modelos de Freundlich, Langmuir y SIPS. La elección del mejor ajuste de los modelos de isoterma se basó en el valor del coeficiente de

correlación (R^2), buscando en valor más cercano a 1. Las constantes de las isothermas de adsorción para los MIPs en estudio se presentan detalladamente en la **Tabla 7**. Esta tabla proporciona información crucial sobre las características de adsorción de los materiales en cuestión, lo que nos permite comprender mejor su comportamiento y su capacidad de retención de los compuestos objetivo.

Los MIPs CNT-AL-M, NT-AM-M, NT-AL-M y NT-AL-C, se han ajustado al modelo de Freundlich, este resultado revela un comportamiento de adsorción en multicapa, lo que implica que en estas estructuras poliméricas existen múltiples capas de sitios de adsorción disponibles. El modelo de Freundlich es particularmente adecuado para describir sistemas en los que la superficie de adsorción es heterogénea, lo cual implica que hay diferentes tipos de sitios de adsorción con distintas afinidades y capacidades de retención. Estos resultados indican la presencia de una estructura polimérica compleja y altamente interactiva en los MIPs estudiados, lo que brinda un alto potencial para la adsorción selectiva de moléculas objetivo. El uso del modelo de Freundlich como mejor ajuste demuestra la diversidad y la naturaleza heterogénea de las superficies de los MIPs.

Por otro lado, los MIPs CNT-AM-C y NT-AM-C, su mejor ajuste fue al modelo de Langmuir, lo que implica un mecanismo de adsorción en monocapa. Este resultado sugiere que en estas estructuras poliméricas existe una superficie homogénea con un número limitado y específico de sitios de unión disponibles para la adsorción de moléculas. El modelo de Langmuir se basa en la suposición de que cada sitio de unión es independiente y posee una afinidad constante por las moléculas objetivo. Estos hallazgos indican que la capacidad de adsorción de estos MIPs está determinada por la ocupación de sitios de unión individuales y sugieren una distribución uniforme de estos sitios en la superficie polimérica.

Finalmente, el caso del MIP CNT-AM-C, los datos experimentales se ajustaron de manera óptima al modelo de SIPS, lo cual revela una naturaleza característica en términos de los sitios de unión presentes en este polímero. El modelo de SIPS indica que estos sitios de unión pueden exhibir tanto características homogéneas como heterogéneas. Se sugiere que la superficie del polímero puede contener diferentes tipos de sitios de adsorción con distintas afinidades y capacidades de retención. Esta característica de heterogeneidad en los sitios de

unión permite una mayor selectividad y especificidad en la adsorción de las moléculas objetivo.

Tabla 7. Constantes de las isotermas de adsorción de los MIPs (10 mg de MIP, 1 hora de contacto, 5 mL de solución, temperatura del medio: 24°C, pH del medio: 6

MIP	Freundlich			Langmuir			SIPS			
	k (L mg ⁻¹)	n	R ²	Qm (mg g ⁻¹)	k	R ²	Nt (mg g ⁻¹)	a (L g ⁻¹)	m	R ²
CNT-AM-C	2.76	1.12	0.49	353.38	0.006	0.49	83.32	0.005	3.11	0.9
CNT-AL-M	7.82	1.40	0.95	240.82	0.019	0.78	125.06	0.005	0.75	0.91
CNT-AL-C	2.31	0.94	0.71	238.12	0.035	0.92	134.70	0.008	2.24	0.81
NT-AM-M	8.39	1.72	0.93	149.89	0.02	0.83	83.45	0.001	3.17	0.82
NT-AM-C	1.86	0.88	0.47	675.68	0.004	0.30	96.29	0.005	2.71	0.93
NT-AL-M	8.97	1.57	0.97	176.87	0.029	0.88	129.27	0.02	1.29	0.88
NT-AL-C	8.80	1.43	0.92	202.46	0.028	0.76	187.63	0.02	1.03	0.76

En la **Figura 15** se presentan las isotermas experimentales con su modelo de mayor ajuste, a) MIPs con plantilla de CI-NQ-TYR y b) MIPs con plantilla de NQ-TYR.

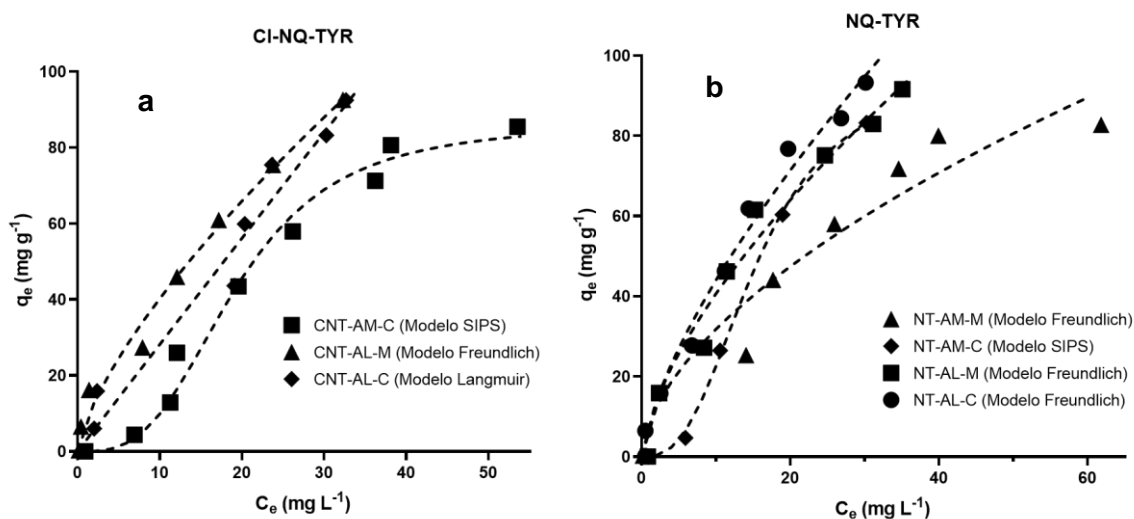


Figura 15. Isotermas de adsorción de a) CI-NQ-TYR y b) NQ-TYR en los MIPs

6.8 Factor de impresión

Con el fin de evaluar la selectividad de los polímeros MIP frente a las moléculas específicas para las cuales fueron diseñados, se utilizó el factor de impresión (IF). El factor de impresión es una medida que proporciona información sobre la capacidad relativa de un MIP para

adsorber su molécula objetivo en comparación con otras moléculas no deseadas o interferentes. En la **Tabla 8** se presentan los valores del factor de impresión para cada uno de los MIPs estudiados.

Tabla 8. Coeficientes de partición y factores de impresión de Cl-NQ-TYR y NQ-TYR sobre el MIP y NIP correspondiente.

MIP/NIP	Q _{MIP}	Q _{NIP}	IF
CNT-AM-M/N-AM-M	1.99	1.26	1.56
CNT-AM-C/N-AM-C	1.97	1.04	1.89
CNT-AL-M/N-AL-M	1.97	1.15	1.70
CNT-AL-C/N-AL-C	1.83	1.05	1.73
NT-AM-M/N-AM-M	1.87	1.57	1.18
NT-AM-C/N-AM-C	1.87	1.53	1.21
NT-AL-M/N-AL-M	1.85	1.33	1.38
NT-AL-C/N-AL-C	1.89	1.37	1.35

El factor de impresión se calcula dividiendo la capacidad de adsorción del MIP hacia la molécula objetivo entre la capacidad de adsorción de los NIPs. Un IF mayor que 1 indica que el MIP muestra una mayor afinidad y selectividad hacia la molécula objetivo con la cual fue sintetizada. Por otro lado, un IF menor a 1 indica una selectividad relativamente baja y una capacidad de adsorción similar hacia las diferentes moléculas.

En el estudio se encontró que para todos los MIPs el factor de impresión fue superior a un valor de 1, siendo los MIPs sintetizados con la plantilla de la Cl-NQ-TYR un valor un poco más elevado a los MIPs con la plantilla de NQ-TYR, los valores del factor de impresión proporcionan una visión cuantitativa de la selectividad de cada MIP. Estos resultados son de gran relevancia para determinar la idoneidad de los MIPs en aplicaciones específicas, como el caso de este estudio, siendo una liberación controlada. Un factor de impresión alto indica una alta especificidad y capacidad para discriminar la molécula objetivo, lo cual es deseable ya que hace que este material sea específico para la molécula con la que fue sintetizado y que no interfieran otras moléculas.

6.9 Cinéticas de liberación

Se llevaron a cabo las cinéticas para determinar las tasas de liberación de Cl-NQ-TYR y NQ-TYR, a partir de los MIPs obtenidos. Estos estudios se realizaron utilizando una técnica de

liberación *in vitro* utilizando una celda de difusión de Franz. Se utilizó un medio receptor de buffer de fosfatos (PBS) con un pH de 5.4, que simula las condiciones de pH de la superficie de la piel en estado de equilibrio. En la **Figura 16** se presentan los perfiles de liberación observados durante un período de 12 horas, donde se monitoreó el proceso de liberación.

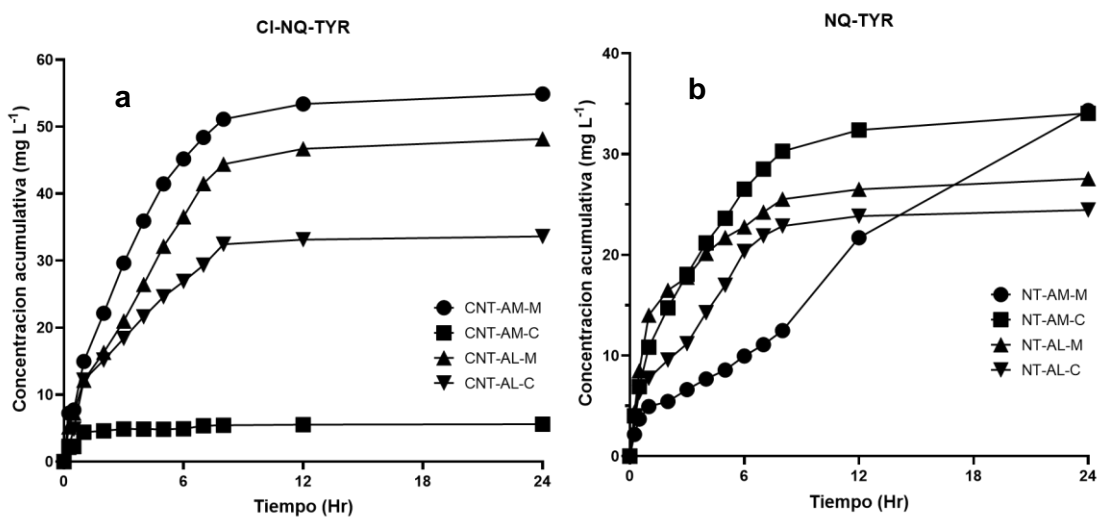


Figura 16. Perfil de liberación de a) CI-NQ-TYR y b) NQ-TYR presente en cada uno de los MIPs

Los resultados de los estudios de liberación de los MIPs basados en la plantilla CI-NQ-TYR, como CNT-AM-M y CNT-AL-M, considerando su comportamiento en términos de liberación de la molécula objetivo las primeras horas de seguimiento, se observó una liberación rápida y significativa, lo que indica una capacidad inicial para liberar el compuesto de manera rápida y eficiente. Sin embargo, a medida que avanzaba el tiempo, la velocidad de liberación disminuyó, dando lugar a una liberación más lenta y controlada. Este patrón sugiere que los MIPs fueron capaces de retener y liberar la molécula de manera gradual, lo cual es beneficioso en aplicaciones donde se requiere una liberación sostenida y controlada.

Por otro lado, el MIP CNT-AL-C también mostró un perfil de liberación similar a los mencionados anteriormente, con una fase inicial de liberación rápida durante las primeras 6 horas. Sin embargo, la concentración liberada en este caso fue ligeramente menor en comparación con los otros MIPs estudiados. Aunque la concentración liberada fue menor, sigue siendo significativa y podría ser suficiente para cumplir con ciertos requisitos terapéuticos o de aplicación. En contraste, el MIP CNT-AM-C exhibió un perfil de liberación más bajo en comparación con los otros MIPs. Durante las 12 horas de estudio, solo logró

liberar 5.9 mg L⁻¹ de la molécula objetivo. Esto sugiere que este MIP tuvo una capacidad de liberación más limitada, lo que resultó en una liberación más lenta y en menor cantidad. En resumen, los MIPs basados en la plantilla Cl-NQ-TYR demostraron diferentes perfiles de liberación, lo que indica su capacidad para ajustar la velocidad y la cantidad de liberación de la molécula objetivo

En el caso de los MIPs sintetizados con la plantilla NQ-TYR, específicamente los MIPs NT-AM-C, NT-AL-M y NT-AL-C, se observó un patrón de liberación similar. Durante las primeras 7 horas, se produjo una liberación rápida de la molécula objetivo, seguida de una liberación más lenta y controlada hasta las 12 horas de estudio. En términos de concentración liberada, se obtuvieron valores de 32.5 mg L⁻¹, 26.4 mg L⁻¹ y 24.6 mg L⁻¹ respectivamente.

Por otro lado, el MIP NT-AM-M presentó un comportamiento distinto. Durante las primeras 7 horas, la concentración liberada fue relativamente baja. Sin embargo, a partir de las 7 horas, se observó una liberación repentina y significativa, caracterizada por una ráfaga de liberación rápida. Al finalizar el período de estudio, se alcanzó una concentración final de 34.32 mg L⁻¹.

Estos resultados muestran la capacidad de los MIPs sintetizados con la plantilla NQ-TYR para lograr una liberación controlada de la molécula objetivo. Aunque los MIPs NT-AM-C, NT-AL-M, NT-AL-C exhibieron perfiles de liberación similares, con una liberación sostenida a lo largo del tiempo, el MIP NT-AM-M mostró un comportamiento distinto con una liberación más concentrada en un período específico. Estos resultados indican que los MIPs basados en la plantilla NQ-TYR tienen la capacidad de controlar la liberación de la molécula objetivo, ofreciendo diferentes perfiles de liberación dependiendo de las condiciones específicas, ya que resaltan el potencial de estos materiales para su aplicación en sistemas de liberación controlada y dirigida, donde la liberación de la molécula se puede adaptar según las necesidades terapéuticas o de otro tipo.

Con el objetivo de analizar las cinéticas y el mecanismo de liberación de la Cl-NQ-TYR y NQ-TYR, se aplicaron los modelos de Higuchi y Korsmeyer-Peppas. Se generaron ecuaciones y gráficos logarítmicos que se presentan en la **Figura 17**, representando los perfiles de liberación de cada MIP. El exponente "n" se utilizó para obtener información sobre la cinética de liberación del compuesto en cada uno de los sistemas impresos. Los

valores de "n" obtenidos se encuentran superior a 0.5 y se detallan en la **Tabla 9**, lo cual indica que la liberación del compuesto sigue un mecanismo de difusión no Fickiana, también conocido como difusión anómala, que se describe y analiza mediante el modelo de Korsmeyer-Peppas. En la difusión no Fickiana, la liberación de la sustancia no sigue la ley clásica de Fick, que se basa en la difusión molecular a través de un gradiente de concentración. En cambio, se observa una liberación más compleja, en la que intervienen diferentes procesos como la hinchazón del polímero, la relajación de cadenas, la erosión del material o la formación de canales y poros en la matriz del sistema de liberación. Durante el período de liberación de 12 horas estudiado, se observó que la mayoría de los MIPs exhibieron un patrón caracterizado por una liberación inicial rápida que disminuye con el tiempo.

Estos resultados proporcionan una comprensión más profunda de las cinéticas y mecanismos de liberación de los MIPs de CI-NQ-TYR y NQ-TYR, lo cual es crucial para optimizar su diseño y aplicaciones terapéuticas.

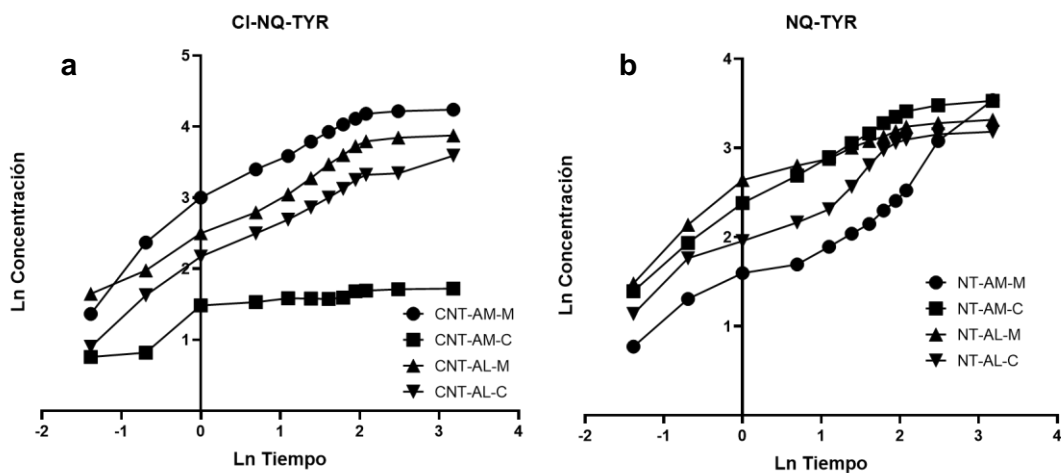


Figura 17. Perfil de liberación de a) CI-NQ-TYR y b) NQ-TYR presente en cada uno de los MIPs

Tabla 9. Parámetros cinéticos para los MIPs

Parámetro	Ácido Láctico				Ácido metacrílico			
	CNT-AL-M	CNT-AL-C	NT-AL-M	NT-AL-C	CNT-AM-M	CNT-AM-C	NT-AM-M	NT-AM-C
n	0.62	1.8	0.58	0.61	0.54	0.58	0.54	0.53
k	2.78	2.08	1.32	1.26	2.49	2.0	1.46	2.29

R ²	0.91	0.84	0.95	0.95	0.96	0.96	0.93	0.95
----------------	------	------	------	------	------	------	------	------

En un estudio realizado por Parisi (2018) obtuvieron MIPs utilizando AM como monómero, en el propósito de crear MIPs para la liberación controlada de diclofenaco (DC), como una terapia tópica, y en el estudio de difusión *in vitro* donde cargaron el material con 30 mg de DC y observaron que la difusión del fármaco se prolonga en el tiempo, alcanzando una cantidad de DC liberada del 92% en 72 h. Con esto demostraron la capacidad del material preparado para liberar el compuesto de forma controlada debido a la presencia de partículas impresas de diclofenaco.

Ruela (2014) abordó partículas MIP a base de nicotina que se dispersaron en aceite mineral (un vehículo no polar) para preparar una formulación transdérmica. Las partículas impresas cargadas tenían una alta estabilidad térmica y química después de cargar la nicotina. Las partículas de MIP de nicotina mostraron una adecuada velocidad de liberación *in vitro*, y la capacidad de permeación también se estudió mediante la fijación directa de las partículas de MIP sobre la piel de oreja porcina en un dispositivo de difusión de vidrio de tipo Franz vertical con agitador magnético. Los estudios de permeación en la piel mostraron que la cantidad acumulada de nicotina que permeó fue de 655 ± 29 mg cm² a las 24 horas utilizando las partículas de MIP, lo cual fue relativamente cercano al valor de 709 ± 56 mg cm² a las 24 horas para el parche comercial, Nicopatch.

Mao (2017) realizó un estudio, donde preparó nanoesferas híbridas sensibles al pH mediante la aplicación de una técnica sencilla de polímero molecularmente (MIP) combinada con un método de polimerización por precipitación iniciada por UV utilizando vancomicina (VA) como plantilla, en los cuales se cargaron con 20 mg de VA, y fueron puestos en una solución de PBS, y encontraron que la VA se liberó completamente de todos los MIPs en dos días, sus resultados indicaron que la velocidad de liberación estuvo controlada principalmente por la disolución del fármaco

6.10 Citotoxicidad

El ensayo de MTT es una técnica ampliamente utilizada para evaluar la viabilidad celular y la actividad metabólica en diversos estudios. En este estudio fibroblastos dérmicos (HDFn), se emplearon para determinar la viabilidad de estas células. Durante el ensayo, el colorante

MTT, que es soluble en agua, se convierte en una forma insoluble de formazán púrpura mediante la acción de la enzima reductasa mitocondrial. Esta conversión proporciona una medida indirecta de la actividad metabólica de las células.

Para establecer puntos de referencia en el ensayo, se utilizaron células no tratadas como control positivo, lo que permitió obtener una referencia de viabilidad celular normal. Por otro lado, se utilizaron células tratadas con peróxido de hidrógeno como control negativo, lo que generó un entorno celular estresado y proporcionó una referencia de viabilidad celular reducida.

La **Figura 18** presenta el gráfico de viabilidad celular de las células HDFn después de 24 horas de exposición a los extractos de las cinéticas de liberación de los MIPs. Se observa que ninguno de los extractos analizados muestra citotoxicidad dentro del tiempo establecido. De hecho, se observa un notable incremento en la viabilidad celular para todos los MIPs evaluados, siendo el MIP CNT-AL-M el que exhibe la mayor viabilidad celular. Estos resultados indican que los MIPs evaluados no son tóxicos para las células HDFn e incluso promueven su viabilidad en comparación con el grupo de control.

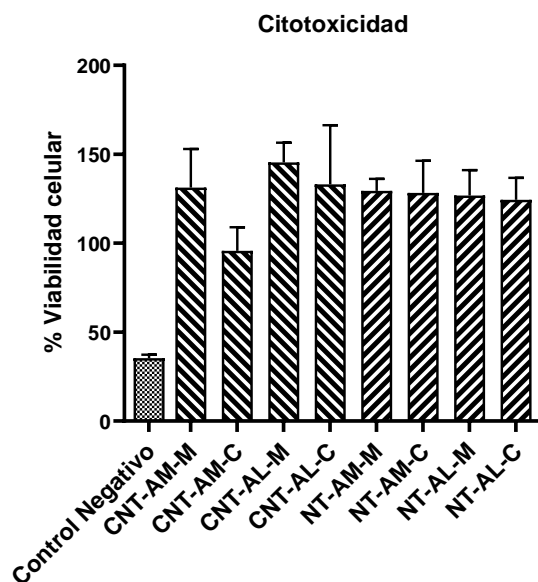


Figura 18. Porcentaje de viabilidad en células dérmicas normales de fibroblastos (HDFn) contra extractos obtenidos de la exposición de 24 h de los MIPs en PBS a pH 5.4, utilizando el ensayo de MTT.

La directriz ISO (ISO 10993-5) establece los estándares para evaluar la viabilidad celular *in vitro* en dispositivos y materiales médicos. Estos criterios son fundamentales para determinar si un producto es citotóxico o no. Según la ISO, se considera aceptable una viabilidad celular igual o superior al 70%. Esta norma internacional busca asegurar que los dispositivos y materiales utilizados en el campo médico sean seguros y compatibles con los tejidos humanos. La evaluación de la biocompatibilidad es esencial para garantizar el uso adecuado de los dispositivos y materiales médicos. La ISO recomienda realizar pruebas de citotoxicidad como parte integral de la evaluación biológica. Estas pruebas permiten detectar la presencia de posibles efectos tóxicos y evaluar cualquier influencia positiva en términos de biofuncionalidad. El cumplimiento de los estándares ISO en términos de viabilidad celular y citotoxicidad es crucial para garantizar la seguridad y eficacia de los dispositivos y materiales utilizados en el ámbito médico. Estas evaluaciones rigurosas son fundamentales para proteger la salud de los pacientes y proporcionar tratamientos confiables y de calidad.

Los resultados obtenidos en este estudio respaldan la seguridad y biocompatibilidad de los MIPs sintetizados con AL y AM, cargados con los derivados de naftoquinona, en relación con las células HDFn. La viabilidad celular aceptable de los polímeros evaluados, que superó el rango establecido por la norma ISO, indica que estos materiales son adecuados para su aplicación en entornos biológicos. Además, la ausencia de toxicidad en las células HDFn confirma que los MIPs son una opción prometedora en el desarrollo de dispositivos y materiales médicos seguros y eficaces. Estos hallazgos respaldan la viabilidad y el potencial terapéutico de los MIPs cargados con derivados de naftoquinona en aplicaciones biomédicas.

6.11 Actividad antimicrobiana

Se llevó a cabo un ensayo de microdilución para evaluar la actividad antimicrobiana de la liberación de los derivados de naftoquinona en los diferentes MIPs y NIPs frente a dos microorganismos, *S. aureus* y *E. coli*. Los valores de la CMI de los tratamientos se presentan en la **Tabla 10**, donde también se incluyen los rangos establecidos en el estudio previo donde se evaluaron únicamente los derivados de naftoquinona por sí solos frente a los microorganismos. Los hallazgos revelaron que los MIPs demostraron una destacada actividad antimicrobiana frente a la forma planctónica de *S. aureus* y *E. coli*, lo cual es un resultado alentador y prometedor

En el ensayo de evaluación de actividad antimicrobiana, se examinó la capacidad de cada uno de los polímeros para inhibir el crecimiento de la forma planctónica de *S. aureus*. Los resultados revelaron que tanto los MIPs cargados con la plantilla de CI-NQ-TYR como los cargados con la plantilla de NQ-TYR exhibieron una CMI de 3.12 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Asimismo, se investigó la acción de los polímeros sobre la forma planctónica de *E. coli*, y se observó una CMI de 12.5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para ambos tipos de MIPs. Por otro lado, se incluyeron en el estudio dos NIPs (AL y AM), los cuales no mostraron actividad inhibidora alguna contra los microorganismos evaluados. Estos hallazgos resaltan la capacidad de los MIPs cargados con las plantillas de CI-NQ-TYR y NQ-TYR para ejercer efectos antimicrobianos selectivos.

Tabla 10. Actividad antimicrobiana de los MIPs y NIPs demostrada frente a la forma planctónica de *E. Coli* (ATCC 25922) y *S. Aureus* (ATCC 25923).

Polímero	Ácido láctico					Ácido metacrílico				
	CNT-AL-M	CNT-AL-C	NT-AL-M	NT-AL-C	N-AL-M	CNT-AM-M	CNT-AM-C	NT-AM-M	NT-AM-C	N-AM-M
CMI ($\mu\text{g mg}^{-1}$) <i>E. Coli</i>	12.5	12.5	12.5	12.5	-	12.5	12.5	12.5	12.5	-
CMI ($\mu\text{g mg}^{-1}$) <i>S.aureus</i>	3.12	3.12	3.12	3.12	-	3.12	3.12	3.12	3.12	-
	Estudio realizado por									
	CI-NQ-TYR					NQ-TYR				
CMI ($\mu\text{g mg}^{-1}$) <i>E. Coli</i>			49.7					49.7		
CMI ($\mu\text{g mg}^{-1}$) <i>S. aureus</i>			49.7					49.7		

Además de evaluar la CMI, se llevó a cabo el estudio de CMB (**Tabla 11**) utilizando los mismos microorganismos que en el estudio anterior. Los resultados obtenidos revelaron que la CMB para la forma planctónica de *S. aureus* fue de 3.12 $\mu\text{g mL}^{-1}$. En el caso de la forma planctónica de *E. coli*, la CMB fue de 25 $\mu\text{g mL}^{-1}$, lo que indica que solo en el caso de *S. aureus*, la CMB y la CMI coincidieron, mientras que para *E. coli*, la CMB resultó ser mayor

que la CMI. De igual manera, se evaluaron dos NIPs (AL y AM) los cuales no presentaron inhibición. Estos hallazgos sugieren que los MIPs poseen una actividad bactericida eficaz.

Tabla 11. Actividad bactericida de los MIPs demostrada frente a la forma planctónica de *E. Coli* (ATCC 25922) y *S. Aureus* (ATCC 25923).

Polímero	Ácido láctico				Ácido metacrílico			
	CNT-AL-M	CNT-AL-C	NT-AL-M	NT-AL-C	CNT-AM-M	CNT-AM-C	NT-AM-M	NT-AM-C
CMB ($\mu\text{g mg}^{-1}$) <i>E. Coli</i>	25	25	25	25	25	25	25	25
CMB ($\mu\text{g mg}^{-1}$) <i>S. aureus</i>	3.12	3.12	3.12	3.12	3.12	3.12	3.12	3.12

El *S. aureus* resistente a la meticilina es responsable de 19.000 muertes, y la hospitalización de 360.000 personas cada año solo en Estados Unidos. Esta alarmante situación ha resaltado la imperante necesidad de desarrollar y sintetizar nuevos compuestos con actividad antimicrobiana para abordar este desafío. Entre ellos, los derivados de naftoquinona con diferentes radicales han demostrado potencializar de manera significativa la actividad antimicrobiana. Estos compuestos representan una esperanza en la búsqueda de soluciones efectivas para combatir la resistencia bacteriana y salvaguardar la salud de la población (Lee et al., 2018).

En relación a esto, Novais (2018) llevó a cabo una evaluación de la 2-hidroxi-3-fenilsulfanilmetil-[1,4]-naftoquinona, utilizando diferentes tioles como sustituyentes, con el objetivo de combatir cepas del grupo ESKAPE y prevenir la formación de biopelículas bacterianas. Los resultados de este estudio revelaron que 10 de los compuestos sintetizados mostraron actividad antimicrobiana, con una concentración mínima inhibitoria (CMI) comprendida entre 4 y 64 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Estos hallazgos indican que la modificación de la estructura base de las naftoquinonas conlleva una mejora en la actividad antimicrobiana contra este tipo de bacterias. Estos resultados son prometedores y respaldan la importancia de seguir explorando enfoques de diseño y síntesis de compuestos para combatir eficazmente las infecciones bacterianas resistentes. Para maximizar su utilidad, es fundamental considerar la incorporación de un vehículo que permita controlar la liberación de estos compuestos,

garantizando así una administración segura y una funcionalidad mejorada. Esta estrategia posee el potencial de mejorar la eficacia terapéutica y reducir la resistencia bacteriana,

Respecto a esto se ha investigado el diseño de materiales que brinden una mayor funcionalidad, mejoren la liberación y exhiban capacidad de inhibir el crecimiento bacteriano, lo cual ha dado lugar a una nueva generación de fármacos capaces de combatir la RAM. En un estudio reciente realizado por Yeo (2018), se desarrolló un hidrogel para enfrentar las biopelículas formadas por *S. aureus* resistente a meticilina, *P. aeruginosa* resistente a carbapenem y *A. baumannii*, utilizando modelos murinos de infecciones superficiales de heridas. Los resultados de la investigación revelaron que el hidrogel eliminó de manera eficaz más del 99.9% de las biopelículas formadas por estos microorganismos, redujo considerablemente la carga bacteriana y la inflamación, y favoreció la cicatrización de las heridas

En un estudio, se llevó a cabo la fabricación de nanofibras mediante la técnica de injerto de MIP, utilizando AM como monómero y sulfato de gentamicina como plantilla en diferentes proporciones (MIP1 1:5, MIP2 1:10 y MIP3 1:20, gentamicina: AM). La actividad antimicrobiana de estas nano fibras se evaluó utilizando el método de difusión en disco con *E. coli* y *S. aureus*. Se observaron diferencias significativas en el tamaño del halo de inhibición bacteriana entre las nano fibras compuestas con MIP y el grupo de control. Para el grupo de control, se obtuvieron valores de 8 mm para *E. coli* y 13.5 mm para *S. aureus*. En cambio, para los MIPs, los diámetros de los halos de inhibición fueron de 11 mm, 9.5 mm y 7.5 mm para *E. coli* en MIP1, MIP2 y MIP3, respectivamente, y de 14.5 mm, 13.5 mm y 12.5 mm para *S. aureus* en MIP1, MIP2 y MIP3, respectivamente (Tamahkar et al., 2019).

La creciente resistencia a los antibióticos y las limitaciones en las formas tradicionales de administración son reconocidas como los principales factores que contribuyen a este problema. Las concentraciones inadecuadas de antibióticos en los sitios de infección, así como la necesidad de dosis frecuentes, han facilitado el desarrollo de resistencia bacteriana. Esta resistencia se ha convertido en un desafío significativo en el campo médico, ya que las cepas resistentes son responsables de una mayor morbilidad en los pacientes. Por lo tanto, es crucial desarrollar nuevos compuestos con actividad antibacteriana como los son los derivados de naftoquinona, implementándose con sistemas de administración que mejoren la

actividad y dosificación de los nuevos compuestos con actividad antibacteriana. En este contexto, el uso de MIPs como portadores para la liberación local de estos compuestos se presenta como una alternativa prometedora, ya que permite un control preciso y prolongado de la concentración del compuesto. Esto ofrece múltiples ventajas en términos de eficacia terapéutica y reducción de la resistencia bacteriana.

7 CONCLUSIÓN

En los últimos años, se ha investigado activamente el desarrollo de nuevos fármacos para abordar la RAM. Los derivados de naftoquinona han demostrado ser prometedores en términos de actividad antimicrobiana contra diversas cepas bacterianas. Paralelamente, los polímeros de impresión molecular han ganado reconocimiento como sistemas de liberación de compuestos, aprovechando su capacidad de carga y su afinidad con los fármacos utilizados como moldes. Una de las ventajas clave de los polímeros de impresión molecular es la capacidad de controlar el tiempo de liberación de los compuestos ajustando las interacciones entre las moléculas del fármaco y los monómeros del polímero. En este estudio en particular, se lograron sintetizar y caracterizar polímeros de impresión molecular que pueden liberar de manera controlada dos derivados de naftoquinona con actividad antimicrobiana (NQ-TYR y Cl-NQ-TYR). Se observó que estas formulaciones liberaban los compuestos en concentraciones menores que las reportadas previamente para los compuestos solos, y aun así mostraban una actividad efectiva contra *S. aureus* y *E. coli*. Así mismo, estos polímeros de impresión molecular también se sometieron a evaluaciones de seguridad, donde se demostró su biocompatibilidad al no causar daño significativo a los fibroblastos dérmicos y, de hecho, se observó una proliferación celular significativa en los ensayos realizados. Estos resultados respaldan aún más el potencial de los polímeros de impresión molecular como sistemas de liberación de compuestos antimicrobianos seguros y eficaces.

Teniendo en cuenta que varios derivados de naftoquinona han demostrado actividad antimicrobiana, es importante destacar que existen escasos estudios que exploren la integración de estos compuestos con materiales para mejorar su forma de liberación. Se espera que la combinación de estos compuestos con materiales adecuados continúe generando investigaciones para combatir la resistencia antimicrobiana y desarrollar tratamientos locales que sean eficaces, compatibles y rentables.

Es importante mencionar que este estudio presenta algunas limitaciones, como la evaluación del tiempo de liberación de los derivados en los polímeros de impresión molecular (MIPs), así como la necesidad de evaluar su actividad contra otras bacterias del grupo ESKAPE para determinar si también mejoran su efectividad contra estas cepas. Además, se sugiere realizar evaluaciones con cepas clínicas. Por lo tanto, las perspectivas futuras de este trabajo incluyen realizar estas evaluaciones adicionales y llevar el estudio al siguiente nivel, es decir, probar los MIPs en modelos animales para obtener una validación más completa de su potencial terapéutico.

Aunque se reconoce la actividad antimicrobiana de los derivados de naftoquinona, es necesario profundizar en la investigación y explorar su combinación con materiales de liberación para mejorar su eficacia. Las futuras investigaciones deben abordar las limitaciones mencionadas y considerar la implementación de pruebas en modelos animales. De esta manera, se podrá avanzar hacia el desarrollo de tratamientos antimicrobianos más efectivos y adecuados para combatir la resistencia y proteger la salud de la población.

8 BIBLIOGRAFÍA

Abushaheen, M. A., Muzaheed, Fatani, A. J., Alosaimi, M., Mansy, W., George, M., Acharya, S., Rathod, S., Divakar, D. D., Jhugroo, C., Vellappally, S., Khan, A. A., Shaik, J., & Jhugroo, P. (2020). Antimicrobial resistance, mechanisms and its clinical significance. *Disease-a-Month*, 66(6), 100971 <https://doi.org/10.1016/j.disamonth.2020.100971>

Alavi, M., Karimi, N., & Safaei, M. (2017). Application of Various Types of Liposomes in Drug Delivery Systems. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 7(1), 3–9. <https://doi.org/10.15171/apb.2017.002>

Ayukekbong, J. A., Ntemgwa, M., & Atabe, A. N. (2017). The threat of antimicrobial resistance in developing countries: causes and control strategies. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 6(1), 47. <https://doi.org/10.1186/s13756-017-0208-x>

Babula, P., Adam, V., Havel, L., & Kizek, R. (2007). [Naphthoquinones and their pharmacological properties]. *Ceska a Slovenska Farmacie : Casopis Ceske Farmaceuticke Spolecnosti a Slovenske Farmaceuticke Spolecnosti*, 56(3), 114–120.

Babula, P., Adam, V., Havel, L., & Kizek, R. (2009). Noteworthy Secondary Metabolites Naphthoquinones – their Occurrence, Pharmacological Properties and Analysis. *Current Pharmaceutical Analysis*, 5(1), 47–68. <https://doi.org/10.2174/157341209787314936>

Belbruno, J. J. (2019). Molecularly Imprinted Polymers. In *Chemical Reviews*, 119(1), 94–119. American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00171>

Moussa, F., Achi, F., Meskher, H., Henni, A., & Belkhalifa, H. (2022). Green one- step reduction approach to prepare rGO@AgNPs coupled with molecularly imprinted polymer for selective electrochemical detection of lactic acid as a cancer biomarker. *Materials Chemistry and Physics*, 289, 126456. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2022.126456>

Bodoki, A. E., Iacob, B.-C., & Bodoki, E. (2019). Perspectives of Molecularly Imprinted Polymer-Based Drug Delivery Systems in Cancer Therapy. *Polymers*, 11(12), 2085. <https://doi.org/10.3390/polym11122085>

Choudhari, D., Lande, D. N., Chakravarty, D., Gejji, S. P., Das, P., Pardesi, K., Satpute, S. K., & Salunke-Gawali, S. (2019). Reactions of 2,3-dichloro-1,4-naphthoquinone with

aminophenols: evidence for hydroxy benzophenoxazine intermediate and antibacterial activity. *Journal of Molecular Structure*, *1176*, 194–206. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2018.08.066>

Dadgostar, P. (2019). Antimicrobial resistance: implications and costs. In *Infection and Drug Resistance* *12*, 3903–3910. Dove Medical Press Ltd. <https://doi.org/10.2147/IDR.S234610>

Davoodi, P., Lee, L. Y., Xu, Q., Sunil, V., Sun, Y., Soh, S., & Wang, C.-H. (2018). Drug delivery systems for programmed and on-demand release. *Advanced Drug Delivery Reviews*, *132*, 104–138. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.07.002>

De Oliveira, D. M. P., Forde, B. M., Kidd, T. J., Harris, P. N. A., Schembri, M. A., Beatson, S. A., Paterson, D. L., & Walker, M. J. (2020). Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *Clinical Microbiology Reviews*, *33*(3). <https://doi.org/10.1128/CMR.00181-19>

Dong, C., Shi, H., Han, Y., Yang, Y., Wang, R., & Men, J. (2021). Molecularly imprinted polymers by the surface imprinting technique. *European Polymer Journal*, *145*, 110231. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2020.110231>

Fam, S. Y., Chee, C. F., Yong, C. Y., Ho, K. L., Mariatulqabtiah, A. R., & Tan, W. S. (2020). Stealth Coating of Nanoparticles in Drug-Delivery Systems. *Nanomaterials*, *10*(4), 787. <https://doi.org/10.3390/nano10040787>

Fresco-Cala, B., Batista, A. D., & Cárdenas, S. (2020). Molecularly Imprinted Polymer Micro- and Nano-Particles: A Review. *Molecules*, *25*(20), 4740. <https://doi.org/10.3390/molecules25204740>

Hofer, U. (2019). The cost of antimicrobial resistance. *Nature Reviews Microbiology*, *17*(1), 3. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0125-x>

Hooper, D. C., & Jacoby, G. A. (2015). Mechanisms of drug resistance: quinolone resistance. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1354*(1), 12–31. <https://doi.org/10.1111/nyas.12830>

López López, L.I.; Nery Flores, D.S.; Silva Belmares, S.Y.; Sáenz Galindo, A. Naphthoquinones: Biological Properties and Synthesis of Lawsone and Derivatives-a Structured Review. *Rev. La Fac. Química Farm.* 2014, *21*, 248–258.

- Jali, B. R., Behura, R., Barik, Soumya. R., Parveen, S., Mohanty, Spandan. P., & Das, R. (2018). A Brief Review: Biological Implications of Naphthoquinone Derivatives. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 11(8), 3698. <https://doi.org/10.5958/0974-360X.2018.00679.0>
- Kelesidis, T., Kelesidis, I., Rafailidis, P. I., & Falagas, M. E. (2007). Counterfeit or substandard antimicrobial drugs: a review of the scientific evidence. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 60(2), 214-236. <https://doi.org/10.1093/jac/dkm109>
- Kharwar, R. N., Verma, V. C., Kumar, A., Gond, S. K., Harper, J. K., Hess, W. M., Lobkovosky, E., Ma, C., Ren, Y., & Strobel, G. A. (2009). Javanicin, an antibacterial naphthaquinone from an endophytic fungus of neem, chloridium sp. *Current Microbiology*, 58(3), 233–238. <https://doi.org/10.1007/s00284-008-9313-7>
- Koomars, S., Heidari, S., Malaekheh-Nikouei, B., Shayani Rad, M., Khameneh, B., & Mohajeri, S. A. (2017). Ciprofloxacin-imprinted hydrogels for drug sustained release in aqueous media. *Pharmaceutical Development and Technology*, 22(1), 122–129. <https://doi.org/10.1080/10837450.2016.1230131>
- Klaus, V., Hartmann, T., Gambini, J., Graf, P., Stahl, W., Hartwig, A., & Klotz, L.-O. (2010). 1,4-Naphthoquinones as inducers of oxidative damage and stress signaling in HaCaT human keratinocytes. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 496(2), 93–100. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2010.02.002>
- Kumar, R., Rani, R., Sethi, K., Gupta, S., & Varma, R. S. (2022). Mechanism of action and implication of naphthoquinone as potent anti-trypanosomal drugs. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 22(25), 2087. <https://doi.org/10.2174/1568026622666220912101332>
- Lee, A. S., De Lencastre, H., Garau, J., Kluytmans, J., Malhotra-Kumar, S., Peschel, A., & Harbarth, S. J. (2018). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nature Reviews Disease Primers*, 4(1). <https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.33>
- Leyva, E., Loredó-Carrillo, S. E., López, L. I., Escobedo-Avellaneda, E. G., & Navarro-Tovar, G. (2017). Importancia química y biológica de naftoquinonas. Revisión bibliográfica. *Afinidad*, 74(577).

Lim, M.-Y., Jeon, J.-H., Jeong, E.-Y., Lee, C.-H., & Lee, H.-S. (2007). Antimicrobial activity of 5-hydroxy-1,4-naphthoquinone isolated from *Caesalpinia sappan* toward intestinal bacteria. *Food Chemistry*, *100*(3), 1254–1258. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.12.009>

López-López, L. I., Rivera-Ávalos, E., Villarreal-Reyes, C., Martínez-Gutiérrez, F., & de Loera, D. (2022). Synthesis and Antimicrobial Evaluation of Amino Acid Naphthoquinone Derivatives as Potential Antibacterial Agents. *Chemotherapy*, *67*(2), 102–109. <https://doi.org/10.1159/000521098>

Luliński, P. (2017). Molecularly imprinted polymers based drug delivery devices: a way to application in modern pharmacotherapy. A review. *Materials Science and Engineering: C*, *76*, 1344–1353. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.02.138>

Mantravadi, P., Kalesh, K., Dobson, R., Hudson, A., & Parthasarathy, A. (2019). The Quest for Novel Antimicrobial Compounds: Emerging Trends in Research, Development, and Technologies. *Antibiotics*, *8*(1), 8. <https://doi.org/10.3390/antibiotics8010008>

Mao, C., Xie, X., Liu, X., Cui, Z., Yang, X., Yeung, K. W. K., Pan, H., Chu, P. K., & Wu, S. (2017). The controlled drug release by pH-sensitive molecularly imprinted nanospheres for enhanced antibacterial activity. *Materials Science and Engineering: C*, *77*, 84–91. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.03.259>

Meléndez-Marmolejo, J., Díaz de León-Martínez, L., Galván-Romero, V., Villarreal-Lucio, S., Ocampo-Pérez, R., Medellín-Castillo, N. A., Padilla-Ortega, E., Rodríguez-Torres, I., & Flores-Ramírez, R. (2022). Design and application of molecularly imprinted polymers for adsorption and environmental assessment of anti-inflammatory drugs in wastewater samples. *Environmental Science and Pollution Research*, *29*(30), 45885–45902. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-19130-0>

Mulani, M. S., Kamble, E. E., Kumkar, S. N., Tawre, M. S., & Pardesi, K. R. (2019). Emerging Strategies to Combat ESKAPE Pathogens in the Era of Antimicrobial Resistance: A Review. *Frontiers in Microbiology*, *10*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00539>

Novais, J. S., Moreira, C. S., Silva, A. C. J. A., Loureiro, R. S., Sá Figueiredo, A. M., Ferreira, V. F., Castro, H. C., & da Rocha, D. R. (2018). Antibacterial naphthoquinone derivatives

targeting resistant strain Gram-negative bacteria in biofilms. *Microbial Pathogenesis*, *118*, 105–114. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.03.024>

Oramas-Royo, S., Torrejón, C., Cuadrado, I., Hernández-Molina, R., Hortelano, S., Estévez-Braun, A., & de las Heras, B. (2013). Synthesis and cytotoxic activity of metallic complexes of lawsone. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, *21*(9), 2471–2477. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2013.03.002>

Parisi, O., Ruffo, M., Scrivano, L., Malivindi, R., Vassallo, A., & Puoci, F. (2018). Smart Bandage Based on Molecularly Imprinted Polymers (MIPs) for Diclofenac Controlled Release. *Pharmaceuticals*, *11*(4), 92. <https://doi.org/10.3390/ph11040092>

Pereyra, C. E., Dantas, R. F., Ferreira, S. B., Gomes, L. P., & Silva, F. P. (2019). The diverse mechanisms and anticancer potential of naphthoquinones. *Cancer Cell International*, *19*(1). <https://doi.org/10.1186/s12935-019-0925-8>

Piletsky, S., Canfarotta, F., Poma, A., Bossi, A. M., & Piletsky, S. (2020). Molecularly Imprinted Polymers for Cell Recognition. *Trends in Biotechnology*, *38*(4), 368–387. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2019.10.002>

Prausnitz, M. R., & Langer, R. (2008). Transdermal drug delivery. *Nature Biotechnology*, *26*(11), 1261–1268. <https://doi.org/10.1038/nbt.1504>

Prestinaci, F., Pezzotti, P., & Pantosti, A. (2015). Antimicrobial resistance: a global multifaceted phenomenon. *Pathogens and Global Health*, *109*(7), 309–318. <https://doi.org/10.1179/2047773215Y.0000000030>

Puoci, F., Cirillo, G., Curcio, M., Parisi, O. I., Iemma, F., & Picci, N. (2011). Molecularly imprinted polymers in drug delivery: state of art and future perspectives. *Expert Opinion on Drug Delivery*, *8*(10), 1379–1393. <https://doi.org/10.1517/17425247.2011.609166>

Ramos-Peralta, L., López-López, L. I., Silva-Belmares, S. Y., Zugasti-Cruz, A., Rodríguez-Herrera, R., & Aguilar-González, C. N. (2015). Naphthoquinone: Bioactivity and green synthesis. *The battle against microbial pathogens: basic science, technological advances and educational programs*, *1*, 542-550.

- Ruela, A. L. M., Figueiredo, E. C., & Pereira, G. R. (2014). Molecularly imprinted polymers as nicotine transdermal delivery systems. *Chemical Engineering Journal*, 248, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2013.12.106>
- Saini, P., Arora, M., & Kumar, M. N. V. R. (2016). Poly(lactic acid) blends in biomedical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 107, 47–59. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.06.014>
- Shin, B., & Park, W. (2017). Antibiotic resistance of pathogenic Acinetobacter species and emerging combination therapy. *Journal of Microbiology*, 55(11), 837–849. <https://doi.org/10.1007/s12275-017-7288-4>
- Singhvi, M. S., Zinjarde, S. S., & Gokhale, D. V. (2019). Polylactic acid: synthesis and biomedical applications. *Journal of Applied Microbiology*, 127(6), 1612–1626. <https://doi.org/10.1111/jam.14290>
- Soledad-Rodríguez, B. E. (2020). Analysis of environmental contaminants with molecularly imprinted polymers. *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*, 36(1), 197–207. <https://doi.org/10.20937/RICA.2020.36.32101>
- Tamahkar, E., Bakhshpour, M., & Denizli, A. (2019). Molecularly imprinted composite bacterial cellulose nanofibers for antibiotic release. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 30(6), 450–461. <https://doi.org/10.1080/09205063.2019.1580665>
- Turiel, E., & Martín-Esteban, A. (2010). Molecularly imprinted polymers for sample preparation: A review. *Analytica Chimica Acta*, 668(2), 87–99. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2010.04.019>
- Velazquez-Meza, M. E., Galarde-López, M., Carrillo-Quiróz, B., & Alpuche-Aranda, C. M. (2022). Antimicrobial resistance: One Health approach. *Veterinary World*, 743–749. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2022.743-749>
- Ventola, C. L. (2015). The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. *Pharmacy and therapeutics*, 40(4), 277.

Wackerlig, J., & Lieberzeit, P. A. (2015). Molecularly imprinted polymer nanoparticles in chemical sensing – Synthesis, characterisation and application. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 207, 144–157. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.09.094>

Wang, X., Zhang, H., & Chen, X. (2019). Drug resistance and combating drug resistance in cancer. *Cancer Drug Resistance*, 2(2), 141. <https://doi.org/10.20517/cdr.2019.10>

World Health Organization. (2012). *The evolving threat of antimicrobial resistance: options for action*. World Health Organization.

Ye, L. (2016). Molecularly imprinted polymers with multi-functionality. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 408(7), 1727–1733. <https://doi.org/10.1007/s00216-015-89292>

Yeo, C. K., Vikhe, Y. S., Li, P., Guo, Z., Greenberg, P., Duan, H., Tan, N. S., & Chan-Park, M. B. (2018). Hydrogel Effects Rapid Biofilm Debridement with ex situ Contact-Kill to Eliminate Multidrug Resistant Bacteria in vivo. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 10(24), 20356–20367. <https://doi.org/10.1021/acsami.8b06262>

Zaidi, M. B., Dreser, A., & Figueroa, I. M. (2015). A Collaborative Initiative For the Containment of Antimicrobial Resistance in Mexico. *Zoonoses and Public Health*, 62, 52–57. <https://doi.org/10.1111/zph.12166>

Zaidi, S. A. (2020). Molecular imprinting: A useful approach for drug delivery. *Materials Science for Energy Technologies*, 3, 72–77. <https://doi.org/10.1016/j.mset.2019.10.012>

9 GLOSARIO

ADN	Ácido desoxirribonucleico
AIBN	2,2-azobisisobutironitrilo
ATR-FTIR	Transformación Infrarroja de Fourier
AM	Ácido metacrílico
AL	Ácido láctico
CDC	Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades
DDS	Sistema de administración de fármacos
EDGMA	Dimetacrilato de etilenglicol
EPA	Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos
FDA	Administración de Medicamentos y Alimentos
HPLC	Cromatografía de líquidos de alta resolución
IDSA	Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas
IF	Factor de impresión
MIP	Polímero de impresión molecular
MTT	Bromuro de 3-(4,5- dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol
NIP	Polímero no impreso
OMS	Organización Mundial de la Salud
PCZ	Punto de carga cero
PTAR	Plantas tratadoras de aguas residuales
PVA	Alcohol polivinílico
RAM	Resistencia antimicrobiana
ROS	Especies reactivas de oxígeno
SDS	Lauril sulfato
SEM	Microscopio Electrónico de Barrido