

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO

INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIRUGÍA "MVS"

DEPARTAMENTO DE ATENCIÓN A LA SALUD
ÁREA: VII. CIENCIAS DE LA INGENIERÍA: CIENCIAS DE LOS MATERIALES

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIOLÓGICO

TÍTULO DE PROYECTO

FUNCIONALIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE SiO_2 PARA LA LIBERACIÓN
DIRIGIDA DE Cis-Pt

LUGAR DE REALIZACIÓN

LABORATORIO DE NANOTECNOLOGÍA Y NANOMEDICINA G-007 UAM-X
LABORATORIO DE NANOTECNOLOGÍA INNN-MVS

DIEGO ARROYO PERALTA
2153027217

ASESORES RESPONSABLES

Q.F.B. GUSTAVO JARDÓN GUADARRAMA
DRA. EMMA ELISA ORTIZ ISLAS

I N D I C E

1. Introducción	2
2. Antecedentes	3
2.1. Sistema Nervioso Central	3
2.2. Cerebro	3
2.2.1. Morfofisiología	3
2.3. Tumores cerebrales	4
2.3.1. Clasificación de tumores cerebrales	5
2.3.2. Tumores de tipo GBM	8
2.3.3. Tratamientos	9
2.3.3.1. Cirugía	9
2.3.3.2. Radio terapia	9
2.3.3.3. Quimioterapia	9
2.4. Nanomateriales	10
2.4.1. Aplicación de los nanomateriales en el área médica	11
2.4.2. Nanomateriales de SiO ₂	12
2.5. Cisplatino	13
2.6. Caracterización de Nanopartículas	13
2.6.1. Infrarrojo	15
2.6.2. Ultravioleta-Visible	16
2.6.3. Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)	17
2.6.4. Análisis Termogravimétrico (TGA)	18
2.6.5. Adsorción/desorción de N ₂	19
3. Objetivos	22
4. Materiales y Equipos	23
5. Desarrollo Experimental	24
5.1. Síntesis de Nanopartículas de SiO ₂	24
5.2. Funcionalización de Nanopartículas de SiO ₂	24
5.3. Adición de Cis-Pt	24
5.4. Caracterización de nanopartículas	24
5.4.1. Microscopia Electrónica de Barrido	24
5.4.2. Espectroscopia Infrarroja	25
5.4.3. Análisis Termogravimétrico	25
5.5. Estudios <i>in vitro</i> de liberación de Cis-Pt	25
6. Resultados	26
6.1. Microscopia Electrónica de Barrido	26
6.2. Adsorción -desorción de nitrógeno	28
6.3. Análisis termogravimétrico	34
6.4. Espectroscopía Infrarroja	36
6.5. Estudios <i>in vitro</i> de liberación de Cis-Pt	39
7. Conclusiones	44
8. Referencias	45

1.- INTRODUCCIÓN

El cáncer de cerebro es una de las principales formas en que éste mal se presenta, siendo de gran riesgo y de alta mortalidad en etapas tardías de su diagnóstico (Comes Maymo, Ramis Andrés, Centelles Ruiz, & Grivé Isern, 2010). En los tratamientos comunes, la cirugía no siempre es la mejor opción ya que, dependiendo de la localización de la masa, puede no ser inextirpable, en estos casos los tratamientos como la quimioterapia, suelen ser la única opción disponible (American Brain Tumor Association, 2014). Con el tiempo, la ciencia ha ido evolucionando hasta lograr la manipulación de partículas nanométricas (10-100nm), una gran gama de aplicaciones de éstas nuevas tecnologías ha sido en el ámbito de la medicina proporcionando, entre otras cosas, marcadores celulares para detectar enfermedades como esta en etapas muy tempranas (Gutiérrez Wing).

El uso de las nanopartículas ha sido variado en el área de la salud, uno de sus usos ha sido para el transporte y liberación de distintos fármacos, esto debido a su gran capacidad de modificación química de su superficie con diferentes agentes químicos, creando así, tratamientos dirigidos, en nuestro caso, se estudiará cómo las nanopartículas de SiO_2 , funcionalizadas con ácido fólico, pueden ayudar a transportar el fármaco, Cis-Pt, de forma específica y selectiva hasta el tumor, sin provocar los efectos adversos que se ven presentes en la quimioterapia normal debido a las altas dosis usadas, , además de aumentar la eficacia del tratamiento para darle a los pacientes un mejor pronóstico y mejor calidad de vida. (Lechuga, 2010; Muniesa Lajara, 2013)

2.- ANTECEDENTES

2.1.- SISTEMA NERVISIO CENTRAL

El sistema nervioso es el encargado de regir nuestra vida, conecta los sentidos, nos da una percepción de nuestro alrededor, determina el funcionamiento de nuestros órganos, nos ayuda a aprender, a captar conductas, mantener equilibrio biopsicosocial, es capaz de darnos una personalidad a través de aprendizajes conductuales y trabajar en más de una cosa a la vez, controla movimientos voluntarios como el escribir, caminar, pero también controla la parte involuntaria de nuestro cuerpo, desde el parpadeo hasta mantener latiendo nuestro corazón. El sistema nervioso es una intrincada red de conexiones neuronales, como su fuese el interior de una supercomputadora, cada “conexión” puede llevar a cabo una acción determinada, desde mantener nuestro estado de ánimo hasta controlar respuestas de estrés, está conectado con el sistema glandular mediando liberación de diferentes hormonas. Este complejo sistema está dividido, principalmente, de forma funcional y anatómica, en la primera podemos encontrar el sistema nervioso central autónomo (SNCV), dedicado a controlar funciones vitales, dividido en simpático y parasimpático, controla nuestra respuesta en los momentos de estrés, el sistema nervioso central somático (SNCS) está encargado de controlar las acciones bajo el control voluntario y consciente a excepción del arco reflejo. Anatómicamente, el sistema nervioso está dividido en central (médula espinal y encéfalo) y periférico (enervaciones sensitivas y motoras). (Rodríguez Rey, 2002)

2.2. CEREBRO

El Cerebro es el “centro de mando del sistema nervioso, es también, el “centro de control” de todo nuestro organismo, se llevan a cabo acciones voluntarias e involuntarias, es nuestra ventana, a través de los sentido, para con el mundo.

2.2.1. Morfofisiología

El cerebro constituye la parte anterior y superior del encéfalo, de todo los elementos del neuroeje es más voluminoso y el más importante, ocupa casi toda la totalidad de la caja craneal, la parte superior corresponde al casquete óseo, la parte anterior al departamento anterior, medio y la tienda del cerebelo. Puede describirse como un ovoide cuyo eje está orientado en sentido anteroposterior con la extremidad más

gruesa hacia atrás, para un hombre adulto, las dimensiones promedio son de 17 cm de longitud, 14cm de anchura y 13 cm de altura (un cm menos de cada dimensión para una mujer adulta), tiene un peso promedio de 1.160 kg. (L. & A., 2001).

El cerebro está compuesto por diferentes células, podemos dividir éstas en dos principales grupos: neuronas y células de la glia (oligodendrocitos, astrocitos, microglía y los endoteliales). La neurona es la unidad estructural y funcional del sistema nervioso, un ser humano promedio contiene más de 10,000 millones de éste tipo celular, por su función podemos distinguir las neuronas motoras, sensitivas y interneuronas, por su morfología podemos distinguir a las unipolares, bipolares y multipolares, dependiendo de la cantidad de dendritas que posean. Las células de la glia se pueden definir de la siguiente forma: los astrocitos, de morfología heterogénea, son las encargadas de proporcionar sostén físico y metabólico a las neuronas, los astrocitos son encontrados de dos tipos, protoplásmicos (sustancia gris) y fibrosos (sustancia blanca), los oligodendrocitos, son células pequeñas activas en la formación y mantenimiento de la mielina en las dendritas y axones, la microglía son células inconspicuas con núcleos pequeños, oscuros y alargados que poseen propiedades fagocíticas, siendo el “sistema inmune del cerebro y de limpieza” por decirlo en palabras más simples. (Ross & Pawlina, 2001)

En su conformación exterior, podemos encontrar dos hemisferios, divididos por su cara interna mediante la cisura interhemisférica, las extremidades anterior y posterior o frontal y occipital, en la cara inferior de los hemisferios, la más irregular de todas, presenta la unión de su cuarto anterior con sus tres cuartos posteriores, una profunda cisura curva de concavidad posterior que es la porción inicial de la cisura de Silvio, en el tercio interno presenta la cintilla olfatoria que termina por delante del bulbo olfatorio y por detrás con la raíz blanca externa e interna, la primera se dirige a la circunvolución del hipocampo y la segunda a la línea media, la parte anterior desciende al departamento medio de la base del cráneo formando el cuerno esfenoidal o cuerno temporal. Existen también diferentes formaciones interhemisféricas como el cuerpo calloso, quiasma óptico, espacio perforado anterior, tubérculo, tallo pituitario, hipófisis, tubérculos mamilares, espacio perforado posterior. Por otra parte, también se puede dividir el cerebro según su función en lóbulos, localizaciones sensitivas, sensoriales, zona motora y el centro del sistema simpático. (L. & A., 2001)

2.3. Tumores Cerebrales

Se entiende por un tumor cerebral, cualquier neoplasia dentro del encéfalo y que forme parte del tejido cerebeloso o estructuras intracraneanas. (Louis, y otros, 2016)

2.3.1 Clasificación de tumores cerebrales

Para conocer los diferentes tipos de neoplasias (malignas o benignas) en la masa intracraneana, es necesario saber su origen celular para poderlos clasificar

- Primarios

Según la clasificación de la OMS, los tumores primarios se agrupan por el presunto origen celular, la malignidad es graduada de acuerdo con las apariencias histológicas:

Grado I: bajo potencial proliferativo, capaces de causar recesión completa (astrocinoma poliocítico, subependimoma, papiloma de plexos, tumores neuronales y Neurogliales, schwannomas, y meningiomas atípicos)

Grado II: discretamente infiltrantes, solo atipias nucleares, tienden a rescindir y se diferencian luego de la intervención (astrocitomas, oligodendrogliomas, ependimomas)

Grado III: Claramente infiltrativos, atipias nucleares y neta actividad mitótica (gliomas y meningiomas anaplásicos)

Grado IV: Evolución rápida antes y después de la cirugía, infiltrantes, atipias nucleares, mitosis y proliferación endotelial o necrosis, tienden a diseminarse por todo el sistema nervioso (glioblastomas, carcinoma de plexos, pineoblastomas y tumores embrionarios) (Louis, y otros, 2016)

- Neurogliales

En esta clasificación podemos encontrar varios tipos: Astrocíticos, glioblastoma multiforme, gliomas del tronco cerebral, oligodendrogliomas, ependimomas, formas mixtas de gliomas, del plexo coroideo, quistes coloides, neuronales y mixtos, solo los quistes coloides son clasificados como formaciones benignas, la mayoría de

estos tipos se presenta después de los 40 años de vida, teniendo mejor pronóstico en edades tempranas, presentan metástasis vía líquido cefalorraquídeo. Diseminados por toda el área intracraneal, pueden presentar variada sintomatología y signos dependiendo de su localización, la mayoría también presentan alta agresividad. (Moscote Salazar, Meneses García, Sáez Amuruz, Penagos, Zubieta, & Romero, 2010; Vega Rodríguez, Rodríguez Vázquez, Wilkinson Brito, & Fernández Lorente, 2012; Castaño González, Angarita Ribero, & Guzmán Cruz, 2013; American Brain Tumor Association, 2014; Forteza Sáez, Pérez Trejo, García Socorrás, & Alert Silvia, 2018; Fierro, 2001)

- Embrionarios

Entre estos, el ependimoblastoma, se presenta en la infancia al igual que los tumores neuroectodérmicos de cerebro, son raros y de conducta agresiva. Los meduloblastomas se presentan en menores de 15 años, de localización infratentorial, en especial de la región del velo posterior. Cursa con hipertensión intracraneana y signos cerebelosos, agresividad extrema y pronóstico malo, el 38% genera metástasis radiculomedulares y el 17% en el resto del encéfalo. (Rivera-Luna, y otros, 2007)

- Nervios Craneales y Espinales

El schwannoma y el neurofibroma (ambas lesiones benignas en su mayoría) se consideran neoformaciones diferentes, éste último se asocia a la facomatosis y en especial a la neurofibromatosis. El schwannoma o neurinoma del octavo par, originado en la rama vestibular. Producen síndrome del ángulo pontocerebeloso, alteraciones cocleovestibulares iniciales, poca incidencia en el quinto, séptimo y duodécimo par craneal. (Venadero-Albarrán, Redríguez Acar, Merelo, Cervantes Acevedo, & Ramos-Garibay, 20014; Suárez García, Fernández Rojas, & Radinche Frias, 2001)

- Células Meníngeas

En éstos hay diferentes formas histológicas, algunas con características malignas. Los meningiomas, más frecuentes en mujeres de 40 y 50 años con localización

preferente en el seno longitudinal superior y las regiones parasagitales, sobre todo en el tercio anterior y medio, en la convexidad del cerebro, en el ala menor del esfenoides, e surco olfatorio, la región supraselar, la fosa posterior (clivus), la tienda del cerebelo, la fosa media, la hoz del cerebro, el ganglio de Gasser, ventrículos laterales y la vaina del nervio óptico. (Leyva-Pérez, Guerrero-Avendaño, & Hernández-Paz, 2013)

- Células Germinales

Podemos encontrar los teratomas y los quistes epidermoides y dermoides. Aparecen en las tres primeras décadas, en especial en la región pineal y supraselar. El germinoma puro, es supraselar, y es necesario diferenciarlo del carcinoma embrionario. (Aladro Hernández, 2013; Díaz-Romero Paz, Balhen Martín, Revuelta Gutiérrez, Vales Hidalgo, Hinojosa González, & Barges Coll, 2009)

- Región Selar

Se puede ubicar la región selar en la cavidad dónde se encuentra la glándula hipofisaria cerebral (pituitaria), la principal lesión que es posible encontrar en esta región es la de tipo neoplásico, siendo el macroadenoma el más frecuente, además de éstos podemos encontrar los craneofaringiomas, adenomas hipofisarios, adenomas secretadores de adrenocorticotrofina y los secretores de prolactina, microadenomas (hasta 10mm) adenomas difusos, rodeados de duramadre que tienden a expandirse afuera de la silla, y los adenoma invasores que comprometen la duramadre, el parenquimia y los huesos vecinos, por último encontramos la apoplejía pituitaria, que son los fenómenos que ocurren a los tumores pituitarios que consisten en hemorragias o necrosis, espontáneos o secundarios a traumatismos craneales, ocasionan reducción bilateral de la visión y hemorragias subaracnoideas. (Cedi-Zamudio, Gray-Lugo, Vega-Gutiérrez, Ramos-Pacheco, Manola-Aguilar, & Guerrero-Avendaño, 2016; Fierro, 2001)

- Hemangioblastomas

Comúnmente asociados a la enfermedad de von Hippel-Lindau o esporádicos, estas neoplasias vasculares se asientan en el cerebelo, el bulbo raquídeo o la médula,

tienen aspecto de formación quística, con un nódulo mural profundamente vascularizado. (Castillo Salgado, Vargas Rivadeneira, & Madera Grijalva, 2018)

- Hemangiomas

Se consideran lesiones congénitas con aspecto de masas, bien limitadas, de vasos y paredes delgadas, desprovistos de parenquimia nervioso interpuesto. La mayoría supratentorial, pocos casos en la región infratentorial, comúnmente en la sexta década de la vida con epilepsia, signos focales y a veces sangrados. Hay zonas mixtas en RM, reticuladas y bien delimitadas con áreas hipointensas debidas al depósito de hemosiderina. Hay formas familiares, autosómica dominante, se expresan más temprano y con lesiones múltiples por lo general. (Fierro, 2001)

- Linfoma Primario del SN

Se manifiesta en los inmunocomponentes como procesos expansivos, de localizaciones profundas y a veces múltiples, en especial preentriculares o en los ganglios de la base. El 95% corresponden a células B, se presentan con letargia, confusión y trastornos comiciales, además de alteraciones neurocognitivas en localizaciones frontales. En pacientes inmunocomprometidos (casos como el SIDA), aumenta su incidencia en edad más temprana y están vinculados con presencia del genoma del virus de Esptein-Barr. (Jiménez, Domínguez, & López Karpovitch, 2007)

2.3.2. Tumores de tipo GMB

Cualquier tumor nacido en la glia, pertenece a los gliomas, el GBM, es la forma más maligna del astrocitoma. Una de las principales características es la necrosis y el aumento de vasos sanguíneos alrededor del tumor, es de crecimiento rápido y de gran malignidad. Aproximadamente el 50% de los gliomas son glioblastomas. Son más comunes en adultos de entre 45 y 65 años de edad, y afectan a más hombres que mujeres. Los glioblastomas se forman a partir de tejido cerebral normal. Pueden invadir y migrar fuera del tumor principal dentro del cerebro; no obstante, los glioblastomas rara vez se propagan a otras partes del cuerpo. Hay dos subtipos de glioblastomas: de novo (nuevo o primario) y secundario. Los tumores de novo se desarrollan rápidamente y tienden a mostrar su presencia en forma abrupta. (American Brain Tumor Association, 2012)

2.3.3 Tratamientos

2.3.3.1 Cirugía

Se basa en la extirpación de las masas tumorales, a veces la resección tumoral apunta a la curación del paciente. La radioterapia también es aplicada según los esquemas propuestos y en dosis de 4.000 a 6.000 cGy, no solo después de la intervención, también en el lecho quirúrgico, se pueden presentar neoformaciones ocasionadas por la radiosensibilidad como los gliomas malignos, astrocitomas, oligodendrogliomas, linfomas primarios, macroadenomas pituitarios, ependimomas y meduloblastomas. (Fierro, 2001; Cedi-Zamudio, Gray-Lugo, Vega-Gutiérrez, Ramos-Pacheco, Manola-Aguilar, & Guerrero-Avendaño, 2016; Vega Rodríguez, Rodríguez Vázquez, Wilkinson Brito, & Fernández Lorente, 2012; Castillo Salgado, Vargas Rivadeneira, & Madera Grijalva, 2018; Forteza Sáez, Pérez Trejo, García Socorrás, & Alert Silvia, 2018; Venadero-Albarrán, Redríguez Acar, Merelo, Cervantes Acevedo, & Ramos-Garibay, 20014)

2.3.3.2 Radioterapia

El régimen más utilizado es de 35Gy repartidos en fracciones de 2.5Gy durante 14 días (fracciones diarias de más de 3Gy incrementan la neurotoxicidad sin mejorar los resultados.). Este tratamiento se utiliza además de para los pacientes previamente descritos, también para pacientes con múltiples metástasis, con pobre estado funcional o con tumor sistémico activo o incontrolado no candidatos a cirugía o radiocirugía. (Comes Maymo, Ramis Andrés, Centelles Ruiz, & Grivé Isern, 2010)

2.3.3.3 Quimioterapia

La quimioterapia se basa en la ingesta de fármacos que impiden la reproducción celular o provocan la muerte celular. Los fármacos citostáticos, encargados de inhibir la reproducción, se dividen los fármacos en diferentes subgrupos, inhibidores de la angiogénesis, reductores de la resistencia farmacológica (inhibidores de PARP), inhibidores del factor de crecimiento. Por otro lado, se encuentran los fármacos citotóxicos, éstos se pueden agrupar en agentes alquilantes, antimetabolitos, antimetabolitos tumorales, hormonas (inhibidores de la proteínquinasa C), inhibidores mitóticos. En éste tipo de terapias, es muy importante

darle un seguimiento al paciente ya que puede ser posible que un fármaco no presente actividad (American Brain Tumor Association, 2014)

2.4. Nanomateriales

Los Nanomateriales son estructuras de dimensiones que van de 1-100 nm, pueden ser cerámicos, poliméricos, de carbono, metálicos o una combinación de uno o varios de éstos. La utilización de estas nuevas tecnologías ha abierto un gran panorama para la ciencia ya que, materiales micrométricos presentan propiedades de sólidos volumétricos, las Nanopartículas son capaces de cambiar estas propiedades, i.e. el cambio de la temperatura de fusión del platino que es de 1773°C, en nanopartículas baja a 600°C. (Gutiérrez Wing)

Otros ejemplos de nanomateriales son los poliméricos dendrímeros y liposomas, los primeros son estructuras de materiales biocompatibles con estructura bien definida y baja polidispersidad, tienen estructuras ramificadas (de ahí su nombre) en formas semi o globulares con alta densidad de grupos funcionales en la superficie, por otro lado, los liposomas han sido desarrollados a partir de lípidos encontrados naturalmente en el organismo para hacer la función de transportar fármacos dentro del citosol con mayor facilidad que otros materiales ya que, el liposoma es reconocido como parte de la misma célula. (Llabot, Palma, & Allemandi, 2008; Gonzalo & Muñoz-Fernandez, 2009)

Por el lado de la increíble química del carbono se han logrado diversos adelantos, uno de los más comunes son los nanotubos de carbono, estructuras aleótropas de pared simple o múltiple que ha tenido grandes aplicaciones en el área médica como terapia fototérmica, imagen fotoacústica, administración de fármacos entre otras (Andrade Guel, López López, & Sáenz Galindo, 2012). Por su parte los grafenos y furullenos, estructuras también aleotrópicas, son usados con mayor frecuencia en el área de desarrollo de materiales ya que se ha visto que se puede almacenar gran cantidad de energía e información. (Herráez, 2011)

El desarrollo de las nanopartículas ha ido más allá del uso de solo sílice, biopolímeros o carbono, se han utilizado, en especial en el área de la salud, se han desarrollado métodos para trabajar con metales como oro y plata y óxidos como titanio además del sílice, su principal función ha sido como vehículo para diversos fármacos además de terapias fotorreactivas (Gutiérrez Wing).

El inicio del estudio de las nanopartículas fue con Faraday en 1857, pero fue hasta 1959 que el premio Nobel de Física, Feynman, propuso el fabricar productos a base de un reordenamiento de átomos y moléculas, ganándose el título del padre de la nanotecnología, su artículo mencionaba el como una computadora, al trabajar con átomos individuales podría consumir poca energía y conseguir velocidades impresionantes. (Díaz del Castillo Rodríguez, 2012).

El término nanotecnología fue acuñado en 1974 por N. Taniguchi, desde entonces grandes avances han dado paso al estudio de éstas partículas. En 1986 los galardonados al premio Nobel de física H. Rohrer y G. Binning, inventores del microscopio de efecto túnel, dieron paso a los microscopios de proximidad, herramientas utilizadas para observar, caracterizar, manipular y mover diferentes nanoobjetos. Tiempo después, en 1991, fueron descubiertos los nanotubos fueron descubiertos por S. Iijima, en 1996, fueron descubiertos los fullerenos por R. Smalley, R. Curl y H. Kroto, ganadores de ese año del premio nobel de Química y en 2010, los científicos A. K. Geim y K. S. Novoselov, galardonados con el premio Nobel de Física, descubrieron el grafeno. La búsqueda de éste tipo de estructuras, ha mostrado su productividad en el área de la microelectrónica, satisfaciendo las predicciones de la Ley de Moore. (Serena Domingo, 2013).

2.4.1. Aplicación de los nanomateriales en el área médica

La nanomedicina es la rama de la nanotecnología dedicada a ayudar al área médica en el desarrollo de nuevas terapéuticas y formas de diagnóstico más eficaces, también teniendo costos más bajos y respetuosa con el ambiente. La nanomedicina ha tenido grandes avances en áreas como el nanodiagnóstico, que es el detectar enfermedad en etapas muy tempranas a nivel celular o molecular, también se han desarrollado nanosistemas de imagen para marcajes *in vivo* como contrastes, dando mayor sensibilidad a los equipos y mayor contraste, por otro lado, el uso de nanobiosensores son capaces, en tiempo real, de detectar todo tipo de sustancias biológicas y químicas sin la necesidad de marcadores fluorescentes o radioactivos (biosensores nanofotónicos, nanoplasmonicos, nanomecánicos). Se han desarrollado sistemas “lab-in-a-chip”, teniendo como objetivo, a partir de una gota de sangre poder dar un diagnóstico completo a partir de cambios moleculares. En el área de la farmacología también han pronosticado desarrollar nuevas formas de liberación controlada de fármacos aunque esto aún se ve un poco lejano. Estas nuevas técnicas han permitido desarrollar terapias a partir de nanopartículas, ayudando a destruir células cancerosas, o usarla para regenerar tejidos u órganos dañados, aplicando terapias génicas, biorregeneración, ingeniería de tejidos y terapia celular. (Lechuga, 2010).

Los nuevos avances en el área biomédica, han dado auge a nuevos sistemas para que, el fármaco utilizado llegue al lugar de acción causando la menor cantidad de efectos adversos, en éste sentido, se ha estudiado la utilización de moléculas cuyos receptores solo se expresan en células enfermas o, en el caso del ácido fólico, sobre expresados los receptores GBM. EL folato, (la sal del ácido fólico) es usada en procesos de biosíntesis de ADN, razón por la cual, en células cancerosas son sobre expresados estos receptores para compensar la alta demanda de la sal. Se ha demostrado en numerosos estudios, que el conjugar la nanopartícula, con folatos, aumenta el efecto, ya que es fagocitada de forma más simple por las células cancerosas, también se han visto disminuidos los efectos secundarios de diferentes quimioterapias ya que la dosis puede ser disminuida de forma importante, y se sigue obteniendo el mismo efecto. (Samadian, Hosseini-Nami, Kamran Kamrava, Ghaznavi, & Shakeri-Zadeh, 2016)

2.4.2. Nanomateriales de SiO₂,

Los nanomateriales de sílice han sido ampliamente usados ya que en su uso, no han presentado reacciones adversas en organismos, incluso, se sabe que las nanopartículas de SiO₂ son fagocitadas de forma “voluntaria” por células tumorales. Éste tipos de partículas, han se diseñan esperando tenerlas mesoporosas para una liberación controlada del fármaco que llevan en su interior, se sabes que se les puede agregar agentes orgánicos sensibles al pH para abrir o cerrar los poros de la nanopartícula. EL uso de los nanomateriales de SiO₂, ha tenido gran auge, ya que no presenta toxicidad, inclusive se ha llegado a usar como marcador tumoral fotolumincente. (Ragmir, ZAjac, Sekhar, Lee, Zhukov, & Bhansali, 2007; Muniesa Lajara, 2013).

Para la síntesis de éste tipo de nanopartículas, el proceso más usado es el método de Sol-Gel. Es preciso señalar que es la evolución de un sistema suspensión-coloide, la base de ésta técnica. El método tuvo sus inicios en 1860 con Thomas Graham, pero fue hasta los trabajos de Rustum Roy que comenzó su desarrollo, a pesar del tiempo que tiene la técnica, solo en las últimas décadas atendido su más grande auge, en especial para la fabricación de pigmentos cerámicos, en general la técnica requiere de los siguientes pasos: formación de una dispersión estable (sol), evaporación del disolvente, evaporación de líquidos remanentes en el gel y la deshidratación total del gel y la incineración de los residuos orgánicos. (Hernández Sánchez, 2013)

En años recientes, además de la técnica clásica de sol-gel, se han hecho modificaciones para obtener mejores resultados, el método de Störbe fue desarrollado en 1968, se usa un precursor de sílice (TEOS el más común), que es hidrolizado en el medio formando EtOH, la base conjugada y agua, posterior a la hidrólisis ocurre la condensación observable a un incremento de opalescencia, se obtienen partículas menores a los 100nm suspendidas en la solución coloidal, que a la vez forman grupos silanol (Si-OH), luego estos grupos se condensan y polimerizan obteniendo así las nanopartículas. (Vega-Lopez & Morales-Muñoz, 2016)

Estos nanomateriales, se han usado para la liberación dirigida de fármaco como se ha mencionado aunque, por el momento, solo abordaremos la forma en que se da esta “*drug delivery*” usando este material de sílice. Primero es necesario mencionar que se debe de hacer modificaciones a la estructura superficial de la partícula, también tomar en cuenta que existen dos mecanismos, activo y pasivo. El pasivo hace referencia al acumulamiento natural de las nanopartículas de sílice en las masas tumorales sólidas, mientras el activo se refiere a la utilización de modificadores de superficie específicos para cierto receptor sobre expresado. (Watermann & Brieger, 2017)

2.5. Cisplatino

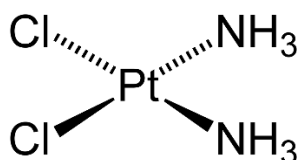


Figura 1.- estructura del cisplatino. (fuente: <https://en.wikipedia.org/wiki/Cisplatin>)

Nombre IUPAC: Cis-diaminodichloroplatino(II)

Fórmula: $\text{Cl}_2(\text{NH}_3)_2\text{Pt}$

El cisplatino es un fármaco usado en el tratamiento como quimioterapia de tumores de testículos, pulmón, ovario, vejiga, cabeza y cuello, cuello uterino, se usa también en pediatría para tumores recurrentes de cerebro, sarcomas osteogénicos y trasplantes autólogos de médula ósea. (Comité de Medicamentos de la Asociación Española de Pediatría, 2016)

Este principio activo es usado de forma intravenosa, su principal acción se deriva de la inhibición de la síntesis del ADN, se instala entre la doble hélice formando enlaces inter e intracatenarios, deteniendo el ciclo celular en la fase G2 y activándolos mecanismos de apoptosis, se sabe que entre el 27-45% del fármaco inyectado se elimina en las primeras 120 h, aunque se han encontrado residuos en tejidos y plasma después de años de su última administración, se sabe que se elimina la mayor parte por orina aunque se ha demostrado que también se elimina en la saliva y en bilis. Entre sus principales efectos adversos se encuentra la toxicidad renal, auditiva y hematológica. (Ramón-López, Escudero-Ortiz, Carbonell, Pérez-Ruixo, & Valenzuela, 2011)

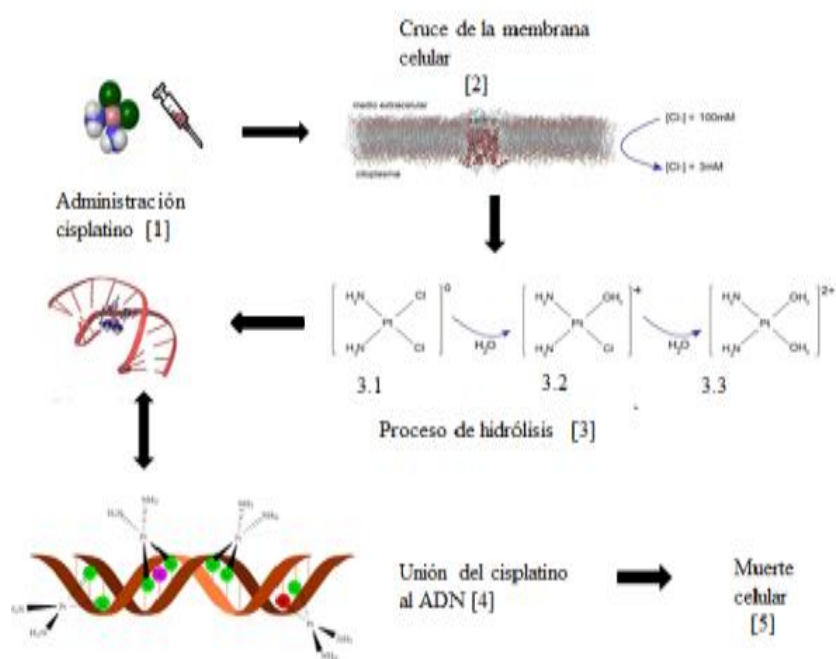


Figura 2.- mecanismo de acción del Cis-Pt (fuente: <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/MARTA%20RODRIGUEZ%20GOMEZ.pdf>)

2.6. Caracterización de Nanopartículas.

En el mundo de la química, es necesario no solo hacer una síntesis correcta, sino también el confirmar que el producto obtenido es el deseado, por ese motivo, es necesario recurrir a diferentes métodos que nos ayuden a identificarlo, que podamos caracterizarlo para un futuro, solo revisar las referencias y poderlo hacer más práctico. Para lograr identificar cualquier producto es necesario hacerlo diferentes pruebas.

2.6.1. Espectroscopia Infrarroja

El espectro Electromagnético, tiene grandes aplicaciones en el área de análisis químicos, el infrarrojo, que va de $12800\text{-}10\text{ cm}^{-1}$ ha sido de gran ayuda para poder determinar grupos funcionales y poder caracterizar una molécula. El espectro infrarrojo se divide en tres secciones: cercano ($12800\text{-}400\text{ cm}^{-1}$), medio ($4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$) y el lejano ($400\text{-}10\text{ cm}^{-1}$), en los análisis instrumentales se utiliza la región media ya que, en ese rango de longitud de onda, las moléculas, especialmente orgánicas, presentan absorción. La espectroscopia infrarroja se basa en un modelo que implica las vibraciones normales de una molécula que, al pasar el haz infrarrojo, la hará vibrar de una manera específica para cada tipo de enlace molecular ya que, cada unión presenta diferente energía y, por consiguiente, van a dar una vibración diferente. Los equipos actualmente están equipados con un sistema que les permite transformar las señales captadas (interferograma) en % de transmitancia gracias a la transformada de Fourier. Para hacer un análisis correcto, es necesario tener algunas condiciones, como que la muestra esté totalmente seca (sin disolventes ni humedad), tener el *background* (aire) y que haya en la habitación la menor cantidad de humedad posible. (Skoog, Holler, & Nieman, 1971)

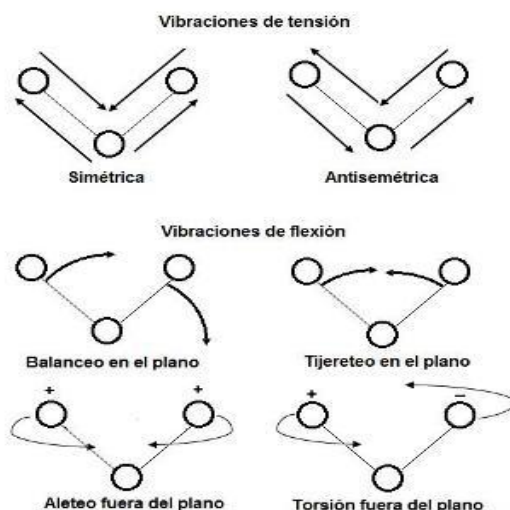


Figura 3.- Movimientos vibracionales detectados en espectroscopia infrarroja (fuente: <http://cambioclimaticoenergia.blogspot.com/2014/06/por-que-hay-gases-de-efecto-invernadero.html>)

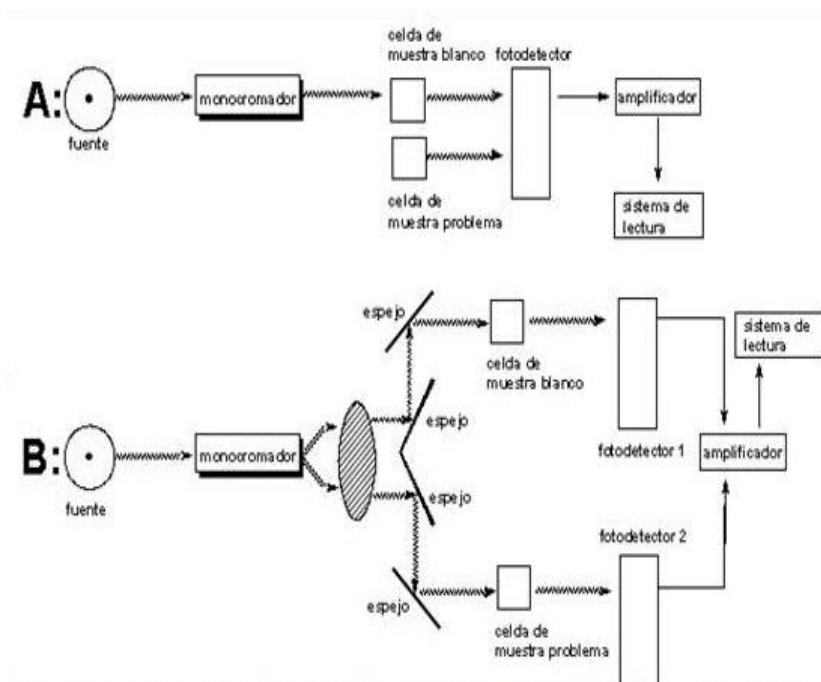


Figura 4.- Esquema que muestra las partes de un aparato de análisis de espectroscopia infrarroja de haz sencillo y haz doble (fuente:

<http://navarrof.orgfree.com/Docencia/AnalisisInstrumental/UT2/UV2.htm>)

2.6.2. Espectroscopía Ultravioleta/Visible

Complementario a la espectrofotometría infrarroja, se utiliza otra sección del espectro electromagnético llamado ultravioleta/visible (UV/visible, 100-780 nm), éste tipo de técnicas está asociada a las transiciones electrónicas entre los diferentes niveles energético en cierto grupos o átomos de la molécula y no caracterizan a la molécula como entidad, es decir, a diferencia del IR, la absorbancia de un compuesto en la región de UV/visible no es suficiente para caracterizarla ya que solo nos habla de que posee las insaturaciones y no una estructura específica. Los compuestos analizados en UV/visible se suelen dividir en cromóforo (compuestos insaturados), auxocromo (con grupo funcional que no absorbe pero es capaz de desplazar los picos de los grupos cromóforos, longitudes de onda más corta: efecto hipsocrómico, longitudes de onda más largas: efecto batocrómico), a diferencia del IR, en los equipos UV/visible, la muestra está en solución y se necesita ajustar el blanco (solución sin la muestra). (Skoog, Holler, & Nieman, 1971)

2.6.3. Microscopia electrónica de barrido (MEB)

El ojo humano es capaz de distinguir a una distancia de 30 cm con iluminación adecuada, dos puntos separados por 0.1 mm, a esto se le llama resolución del ojo humano, para poder ver cosas más pequeñas, hemos desarrollado instrumentos como las lupas. Los microscopios ópticos pueden amplificar unas 2000 veces el tamaño de los objetos, es decir, ver detalles de 0.2 μm , éste límite está dado por la naturaleza ondulatoria de la luz, ya que no se pueden resolver detalles más pequeños que la longitud de onda visible según la física. En 1920 se comprobó que un haz de electrones en el vacío, además de recorrer trayectorias rectas se comportaba como una onda similar a la luz solo que con una longitud 100,000 veces más pequeña. (Echlin, 2009).

La formación de imágenes se obtiene a partir de señales emitidas por la muestra y se va formando a medida que el haz de electrones se desplaza sobre una porción de la superficie, el Scanning se hace por un raster (área rectangular), a diferencia de un microscopio normal, la imagen formada no es real, es virtual, es decir, la imagen se visualiza en un tubo de rayos catódicos donde las bobinas de deflexión del haz están sincronizadas con el haz de barrido de electrones del microscopio, modulando ese haz, se obtiene la imagen del registro punto por punto. El microscopio utiliza un sistema de lentes electrónicas (magnéticas) que desvían la trayectoria del haz al igual que las lentes de un microscopio óptico lo hace con la luz, se tiene que tomar en cuenta que al proyectar el haz de electrones, pueden existir aberraciones esféricas como en un microscopio óptico, ya que los rayos no paraxiales proviene de ángulos mayores al eje óptico, también se pueden encontrar aberraciones cromáticas que proviene de la desviación de distintos ángulos de los electrones, para disminuirlas, las aperturas solo se imitan a la divergencia anular y define el diámetro final del haz sobre la muestra. (Sorrivas de Lozano, Morales, & Yañez, 2014)

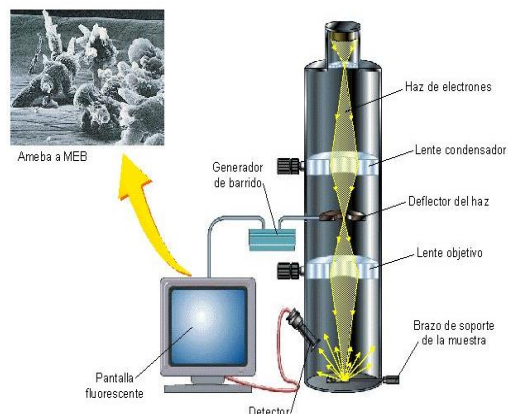


Figura 5.- Diagrama de un microscopio electrónico de barrido (MEB) (fuente: <https://www.ucaldas.edu.co/portal/u-caldas-extendi-convocatoria-para-adquirir-microscopio-electronico/>)

2.6.4. Análisis termogravimétrico (TGA)

La termogravimetría es un conjunto de análisis térmicos que han sido desarrollados para identificar y medir los cambios físicos y químicos que sufren los materiales con cambios de temperatura controlados, cabe mencionar que éste tipo de análisis no nos permite conocer la composición química del material ni identificar cambios que sean respecto a la masa como la transición vítrea o cristalizaciones. Éste método es usado en caracterización cuantitativa y cinética de polímeros, carbón y arcillas. (Rodríguez & Villegas , 2012; Intertek, 2018)

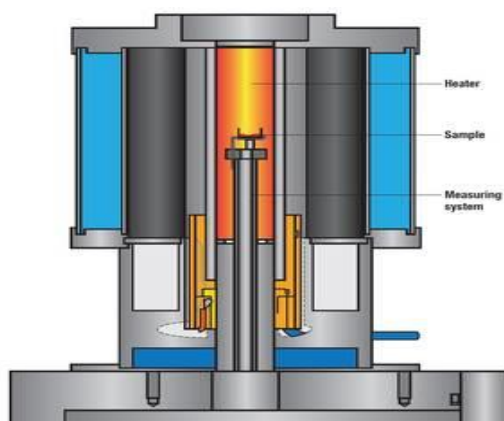


Figura 6.- Diagrama de un equipo utilizado para análisis termogravimétricos (fuente: <https://www.linseis.com/fr/produits/thermogravimetrie/>)

2.6.5. Adsorción/desorción de Nitrógeno líquido

Este análisis fue desarrollado en 1938 por Stephen Brunauer, Paul Hugh Emmett y Edward Teller, originando la teoría detrás del proceso de adsorción multimolecular usando determinada área superficial, extendieron el concepto de Langmuir (1918 de adsorción en diferentes capas moleculares, todo esto se le añadió propiedades relevantes como la distribución del tamaño de poro en la partícula, análisis de microporosidad y porosidad. (Brunauer, Emmett, & Teller, Absortion of Gases in Multimolecular Layers, 1938)

Se asume que la partícula tiene un área homogénea, esto es, toda la superficie absorbe de la misma manera, tiene interacciones moleculares limitadas; interacciones moleculares limitadas, se refiere a que se descarta las interacciones laterales o cola fase gaseosa; equilibrio local, quiere decir que la última capa está en equilibrio con la fase gaseosa, el grado de adsorción es igual de adsorción saturando el sistema; proceso cinético limitado, La velocidad de la reacción está limitada por su cinética siendo la energía necesaria proporcionada por calor, en la capa superior es igual al calor de adsorción, muestras que la capa siguiente se toma como un líquido condensado y la energía requerida es igual al calor de condensación, éste proceso es homogéneo en todo el material y por último, la infinita adsorción en la saturación, fenómeno que dice que una vez alcanzada la presión de saturación, todo el material está rodeado de una capa de una capa líquida de adsorbente. (Brame & Griggs, 2016).

Éstos resultados son obtenidos en forma de isothermas de adsorción, el análisis permite relacionar la masa total de gas adsorbida por el sólido poroso en estudio, con la premisa de una presión constante, por lo cual, la cantidad de gas adsorbida, es proporcional a la masa del objeto en estudio (m), y depende de la temperatura (T) a la que se realice el estudio así como la presión (o presión relativa) (p/p_0) a la que se llega, ésta última depende casi completamente del gas a utilizar, de ésta forma se puede obtener la ecuación para obtener la cantidad de gas adsorbido. (Martín Martínez, 1990)

$$n = f\left(\frac{p}{p_0}\right)_{T, gas, sólido}$$

Ecuación 1.- Determinación de moles de gas adsorbido

Las gráficas obtenidas o isothermas, pueden ser clasificadas de 6 formas diferentes dependiendo la “forma” que se observe según la IUPAC.

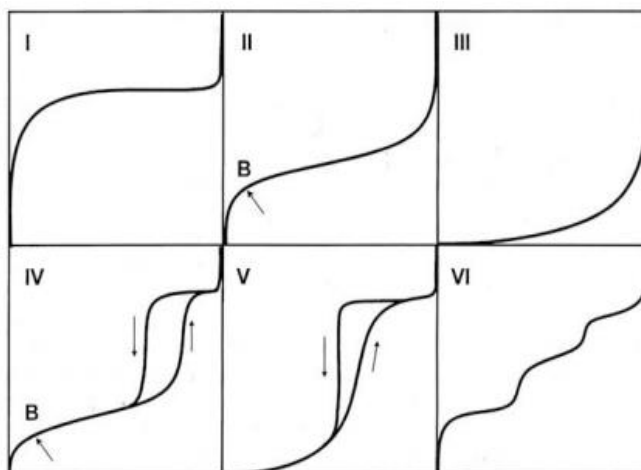


Figura 7.- tipos de isothermas según la IUPAC (fuente: IUPAC)

En la imagen superior podemos identificar los diferentes tipos de isothermas. El tipo I es cóncava respecto al eje de la presión relativa (p/p_0), aumenta rápidamente a baja presión ($p/p_0 < 1 \times 10^{-3}$) y posteriormente alcanza un plateau de saturación horizontal. Esta clase de isothermas es característica de materiales microporosos. El tipo II a bajas presiones es cóncava respecto al eje de la presión relativa (p/p_0), luego aumenta linealmente y finalmente se vuelve convexa. Puede ser interpretada como la formación de una capa adsorbida cuyo espesor es incrementado progresivamente a medida que aumenta la presión. Si la rodilla de la isoterma es pronunciada, se asume que en el punto B (el punto donde comienza la sección cuasilineal de la isoterma) se ha completado la formación de la capa monomolecular (monocapa.) y empieza la formación de las capas multimoleculares (multicapas). La ordenada del punto B nos da una estimación de la cantidad de adsorbato requerido para cubrir por unidad de masa, la superficie del sólido con una capa monomolecular (capacidad de monocapa). Esta clase de isoterma es característica de sólidos no-porosos o de adsorbentes macroporosos. El tipo III es convexa respecto al eje de la presión relativa (p/p_0) en todo el rango de presión. Esta característica es indicativa de interacciones débiles entre el adsorbato y el adsorbente. El tipo IV a bajas presiones se comporta como la del Tipo II, siendo el rasgo distintivo de esta isoterma su lazo de histéresis. Es característica de los sólidos mesoporosos. El tipo V del mismo modo que las de Tipo III, esta clase de isothermas se obtiene cuando las interacciones entre el adsorbato y el adsorbente son débiles. La presencia del lazo de histéresis está asociado con el mecanismo de llenado y vaciado de los poros. El último tipo, el tipo VI o isoterma escalonada es la menos común de todas las isoterma. Se la asocia con la adsorción capa por capa sobre superficies que son altamente homogéneas respecto del adsorbato. La forma del escalón depende de la temperatura y de los detalles del sistema. (Brunauer, Deming, Deming, & Teller, 1940)

De igual forma, se puede clasificar el tipo de poro presentado en la muestra, éstos se encuentran de tres tipos según la IUPAC: micro, meso y macroporo. El micro poro se caracteriza por tener un diámetro menor a $20\text{\AA}$ (menor a 2nm), el mesoporo se encuentra entre los $20\text{\AA}$ y $500\text{\AA}$ ($2\text{-}50\text{nm}$) de diámetro, el macroporo tiene un diámetro mayor a $500\text{\AA}$ (mayor a 50nm). (Horacio López, 2004)

3. OBJETIVOS

GENERAL:

Obtener nanopartículas biocompatibles de SiO_2 funcionalizadas con ácido fólico para la liberación dirigida de Cis-Pt

PARTICULARES:

- 1) Obtener nanopartículas mesoporosas de SiO_2 mediante el proceso sol-ge modificado (método de Stöber)
- 2) Funcionalizar las nanopartículas de SiO_2 con ácido fólico para obtener conjugados de SiO_2 -HF que sean selectivos hacia células cancerosas.
- 3) Adicionar Cis-pt en las nanopartículas de SiO_2 -HF
- 4) Obtener perfiles de liberación in vitro de Cis-pt

4. MATERIALES Y EQUIPOS

Abreviaciones de las principales sustancias química usadas en la síntesis de las nanopartículas y su funcionalización:

CTAB (Bromuro dehexadeciltrimetilamonio) (Sigma Aldrich $\geq 99\%$)

TEOS (Tetraetilortosilicato) (Sigma Aldrich $\geq 98\%$)

APTS ((3-aminopropil) trietoxisilano) (Sigma Aldrich $\geq 98\%$)

NaOH (Hidróxido de sodio) (J.T. Baker $\geq 98.1\%$)

NHS (N-Hidroxisuccinimida) (Sigma Aldrich $\geq 98\%$)

EDC (1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida) (Sigma Aldrich $\geq 98\%$)

HOBT (Hidroxibenzotriazol) (Sigma Aldrich $\geq 98\%$)

DDC (N-N' -diciclohexilcarbodiimida) (Sigma Aldrich $\geq 99\%$)

DMSO (Sigma Aldrich $\geq 99.5\%$)

Ácido fólico (HF) (Sigma Aldrich $\geq 97\%$)

Tolueno (Sigma Aldrich $\geq 99.8\%$)

Equipos usados:

Adsorción-desorción de Nitrógeno líquido: BELPREP II, BELSORP II

Análisis Termogravimétrico (TGA): TGA i 1000

Disolutor: ElectroLab EDT 208LX

Microscopia Electrónica de Barrido (MEB): JEOL JSM-6010LV

UV/Vis: Cary 60 UV

Espectroscopía Infrarroja (IR): IRAffinity-1

5. DESARROLLO EXPERIMENTAL

5.1. Síntesis de nanopartículas de SiO₂

Se disolvieron 4.5832g de CTAB en 480mL de agua desionizada después, se adicionaron 280mg de NaOH, se mezcló con agitador magnético y se calentó a 80°C, alcanzada la temperatura se adicionó 5mL de TEOS con goteo lento. La mezcla se dejó agitando por 2 horas a 70 °C. Las nanopartículas obtenidas se filtraron y se lavaron varias veces con agua hasta pH neutro, luego se lavaron dos veces con etanol. Posteriormente las NP's se secaron a 60°C por 24 h. Para eliminar el template (CTAB), el sólido obtenido se calcinó a 540 °C durante 4h.

5.2. Funcionalización de Nanopartículas de SiO₂

Se mezcló en DMSO el ácido fólico, NHS, DCC, APTS, se dejó en agitación durante 5 horas, pasando este tiempo, se suspendieron las nanopartículas en tolueno, se añadió a la mezcla anterior y se dejó en agitación 72 horas, se filtró, se realizaron cuatro lavados: 1.-tolueno; 2.-DMSO; 3.-agua desionizada; 4.-acetona.

5.3. Adición de Cis-Pt

Se disolvió el fármaco en agua desionizada y se agregaron las nanopartículas funcionalizadas, se dejaron en agitación 24 horas, se dejó secar a 20°C durante 3 días.

5.4. Caracterización de nanopartículas

Se usaron las siguientes técnicas para la caracterización de las nanopartículas de SiO₂, SiO₂-HF y Cis-Pt/SiO₂-HF: Espectroscopia Infrarroja, Adsorción-desorción de nitrógeno, microscopia electrónica de barrido

5.4.1. Microscopia Electrónica de Barrido

La muestra se colocó sobre el portamuestra con una cinta adhesiva doble cara de carbono, se observó la imagen.

5.4.2. Espectroscopia Infrarroja

De forma general, se pesó 5mg de la muestra y 95mg de bromuro de potasio, se comprimieron en una prensa hidráulica, las muestras analizadas fueron. SiO₂, Cis-Pt, HF, SiO₂-HF, SiO₂-HF/Cis-Pt.

5.4.3. Adsorción /desorción de nitrógeno

Se puso a secar y desgacificar la muestra a 100°C por 24 h, se metió a análisis, las muestras analizadas fueron: SiO₂, SiO₂-HF y SiO₂-HF/Cis-Pt, además, se probó la muestra de SiO₂-HF/Cis-Pt después de tenerla en agitación por 24 h, esperando la liberación del fármaco.

5.4.4. Análisis Termogravimétrico

Se colocó la muestra en los portamuestras de platino, se ajustó una rampa de calentamiento de 10°C/min hasta llegar a 800°C.

5.5. Estudios *in vitro* de liberación de Cis-Pt

Se pesó una muestra de alrededor de 50 mg de las NP's funcionalizadas y con Cis-Platino, se ajustó la agitación a 70 rpm, a 37°C en 150ml en agua desionizada, se tomaron muestras cada 15 minutos la primer hora, después cada 30 minutos hasta las 6 horas y una última muestra a la 25 horas, se analizó en UV/Vis a 206nm. Para determinar la concentración del fármaco liberado, se construyó una curva de calibración del fármaco en agua desionizada con concentraciones de 8.16, 16.32, 24.48, 32.64, 40.8 y 48.96 µg/mL.

6. RESULTADOS

6.1 Microscopía Electrónica de Barrido

A continuación se pueden observar las microfotografías tomadas a las diferentes muestras usando el microscopio electrónico de barrido

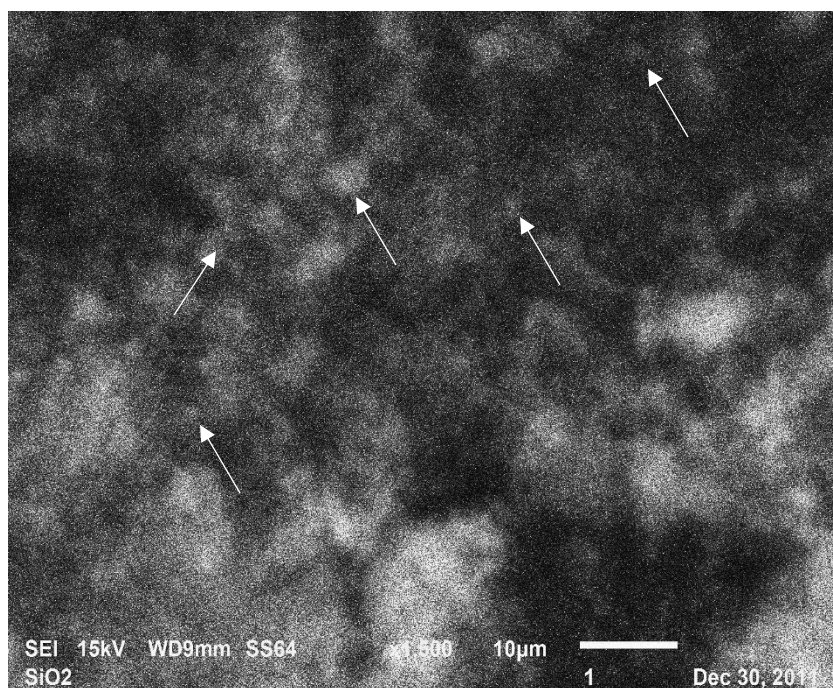


Figura 8.- Microfotografía electrónica de barrido de nanopartículas SiO₂ (x1500).

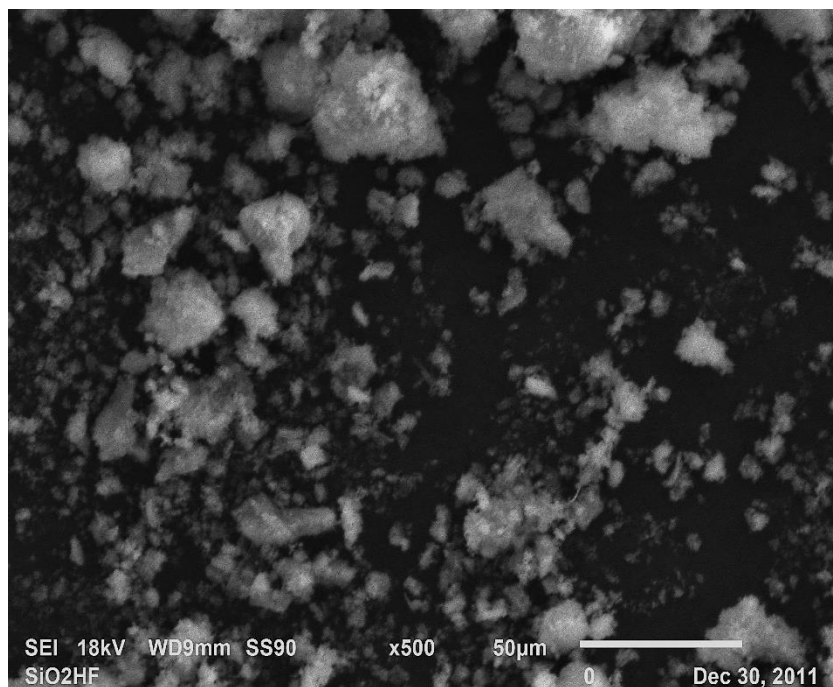


Figura 9.- Microfotografía electrónica de barrido de nanopartículas SiO₂-HF (x500)

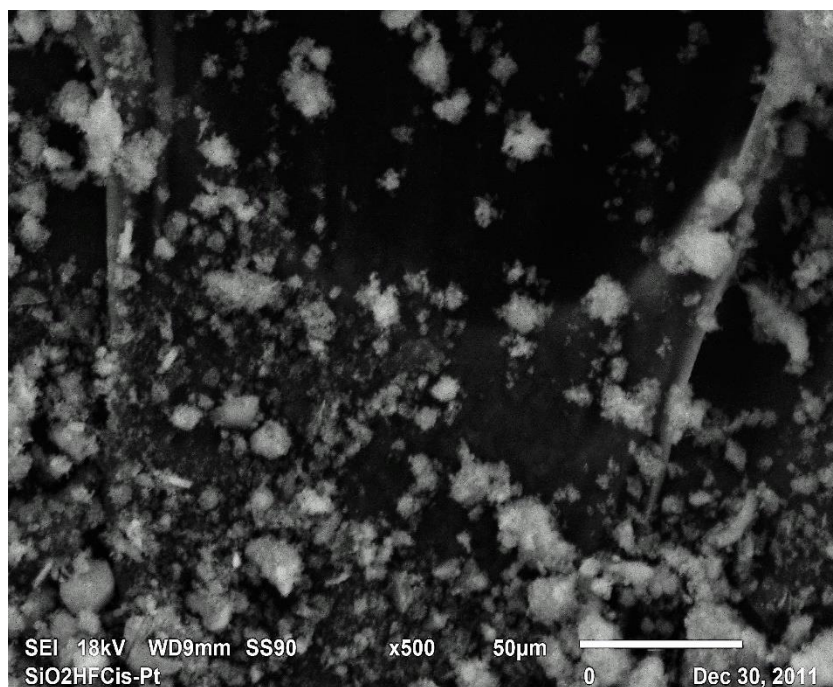


Figura 10.- Microfotografía electrónica de barrido de nanopartículas SiO₂-HF/Cis-Pt (x500)

En la figura 8 se puede observar la muestra de SiO₂ con un aumento de x1500, se pueden observar los conglomerados de las nanopartículas, a pesar de eso, se puede observar pequeños objetos posiblemente menores a 1 μ m (flechas).

En la figura 9, apreciamos la muestra de $\text{SiO}_2\text{-HF}$ con un aumento de x500, se pueden observar también los aglomerados de las nanopartículas, en la figura 10, se observa la muestra de $\text{SiO}_2\text{-HF/Cis-Pt}$, es necesario mencionar que las muestras no se pueden apreciar con el aumento suficiente para poder caracterizar su tamaño nanométrico ya que el SiO_2 no es un buen conductor de la electricidad, motivo que dificulta su correcta visualización y correcta caracterización.

6.2 Análisis de adsorción /desorción de nitrógeno

En el análisis en el equipo BET se pudo encontrar los siguientes datos:

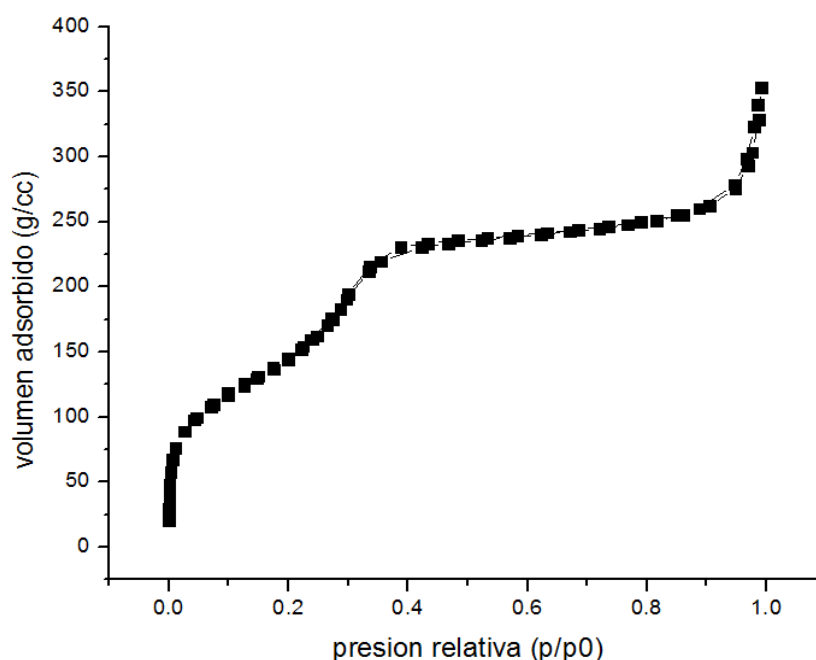


Figura 11.- Isotherma de adsorción/desorción SiO_2

En la Figura 11 podemos observar la isoterma de tipo IV o escalonada de la muestra de las nanopartículas de SiO_2 , se puede observar en la tabla 1 el tamaño de poro que es de 3.4766 nm, también podemos observar el área superficial de $140.44 \text{ cm}^2/\text{g}$ y el volumen total de poros es de $0.5303 \text{ cm}^3/\text{g}$, En la Figura 12, podemos observar también que la distribución del tamaño de poro es uniforme.

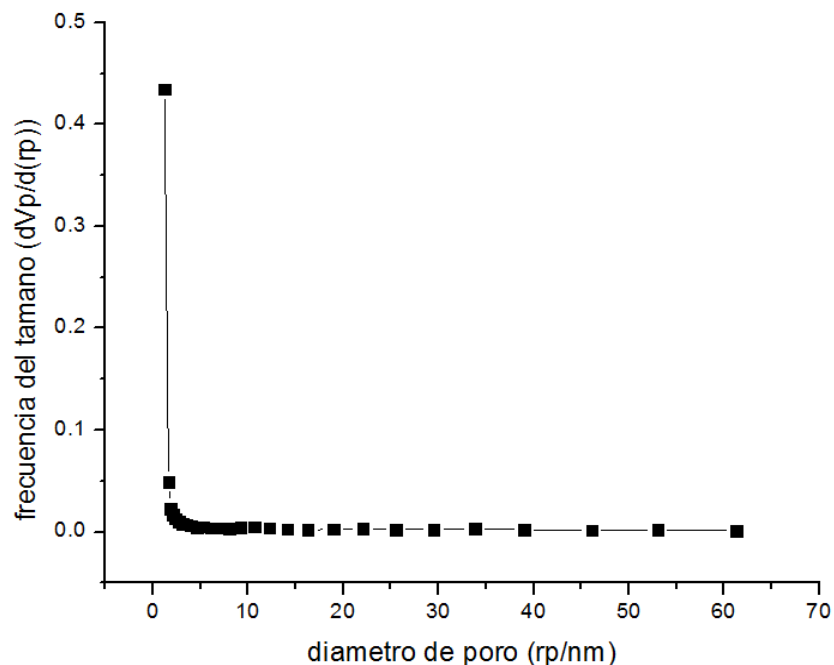


Figura 12.- Distribución de poro de la muestra de SiO₂

Para la muestra de SiO₂-HF se obtuvo un cambio en el área superficial respecto a la muestra de SiO₂, tamaño de poro y volumen de poro como se puede observar en la tabla 1 después de la adición del ácido fólico a la superficie. Podemos observar en la Figura 14, que la distribución del tamaño de poro cambió como resultado de la adición del ácido fólico respecto a la muestra de SiO₂. Se puede observar el cambio de tipo de isoterma, en la figura 13 se observa un tipo III.

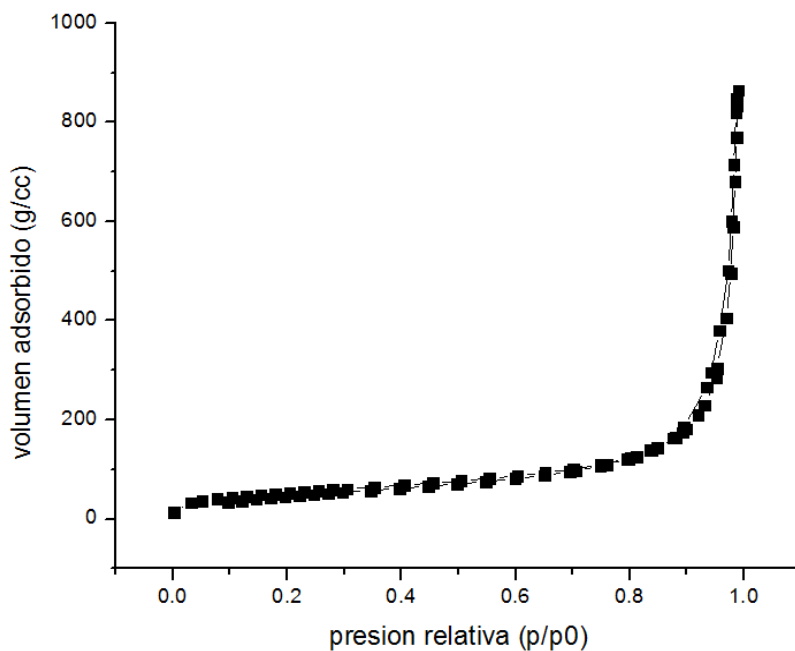


Figura 13.- Isotherma de adsorción/desorción de nitrógeno de SiO₂-HF

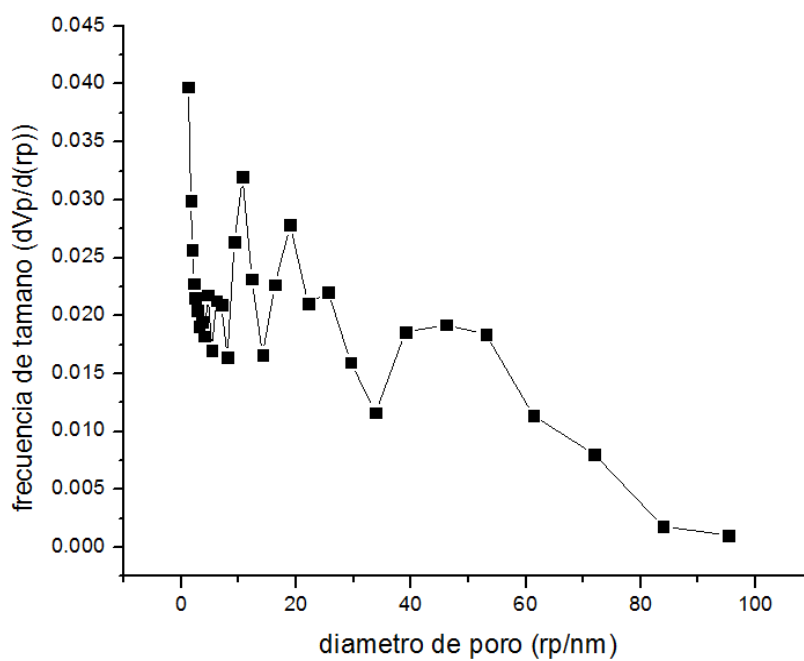


Figura 14.- Distribución de poro de la muestra de SiO₂-HF

Después de hecha la funcionalización, se procedió a ocluir el Cis-Pt a las NP's, muestra que también fue llevada a análisis para observar si el fármaco estaba ocluido, se obtuvo un cambio de tamaño de poro respecto a la muestra de SiO₂-HF,

volumen y área superficial como podemos ver en la tabla 1, en la figura 15, se puede observar un isoterma de tipo III.

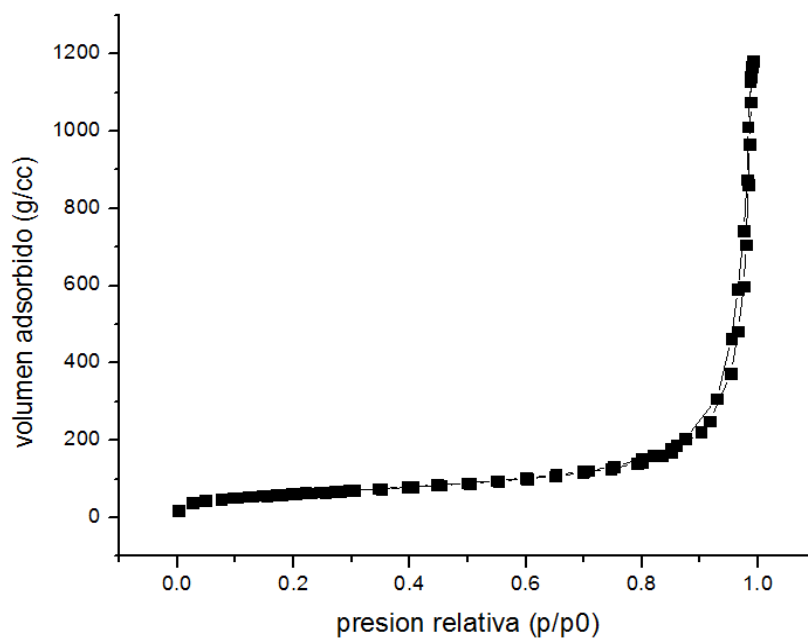


Figura 15.- Isotherma de adsorción/desorción de nitrógeno de SiO₂-HF/Cis-Pt

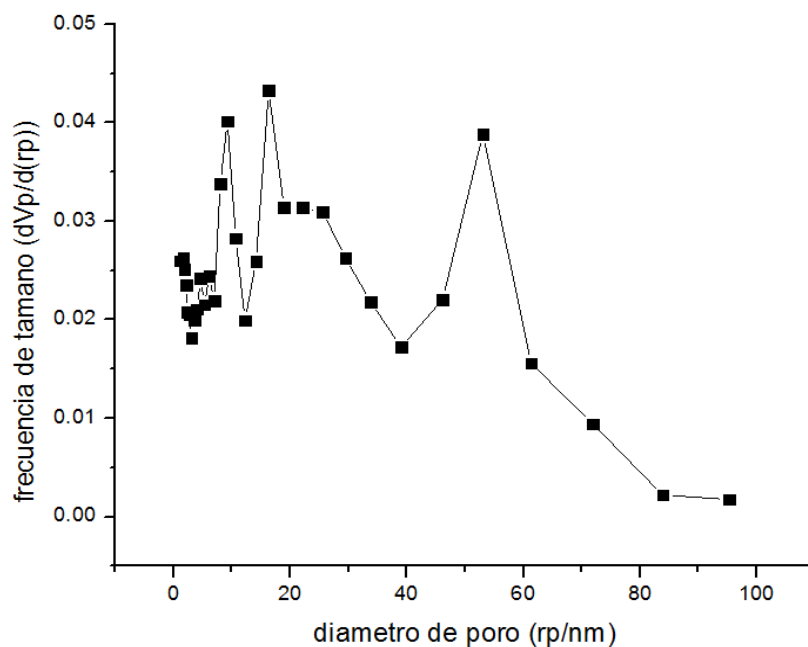


Figura 16.- Distribución de poro de la muestra de SiO₂-HF/Cis-Pt

De modo para comparar la liberación del fármaco, la misma muestra de SiO₂-HF/Cis-Pt se puso en agitación para la liberación del principio activo, se volvió a analizar en el equipo de adsorción/desorción de nitrógeno, para ver cómo se comportaba después del tratamiento. Se observó el cambio de nuevo del tamaño de poro, área superficial y volumen de poro como se muestra en la tabla 1, además de su isoterma de tipo III con un pequeña histéresis.

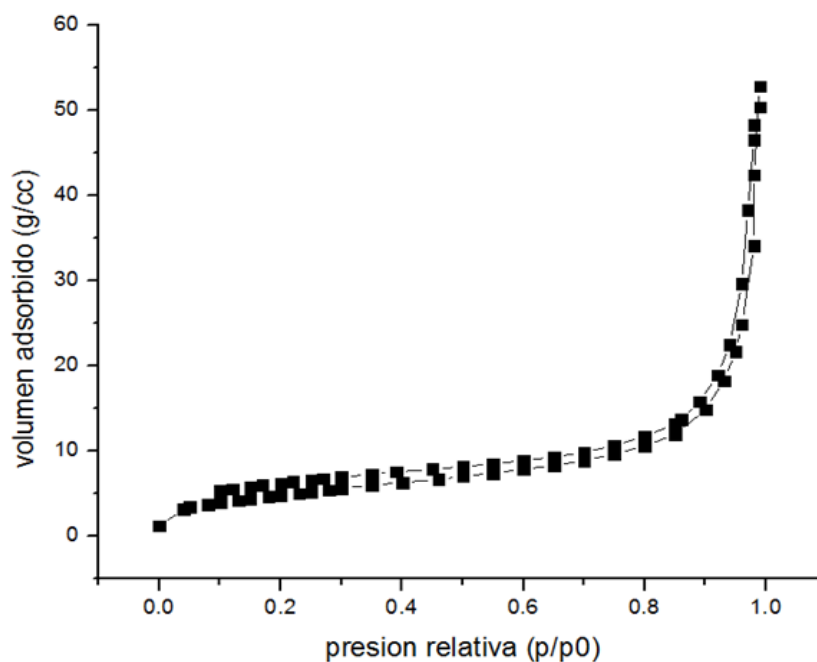


Figura 17.- Isotherma de adsorción/desorción de nitrógeno de SiO₂-HF/Cis-Pt (liberado)

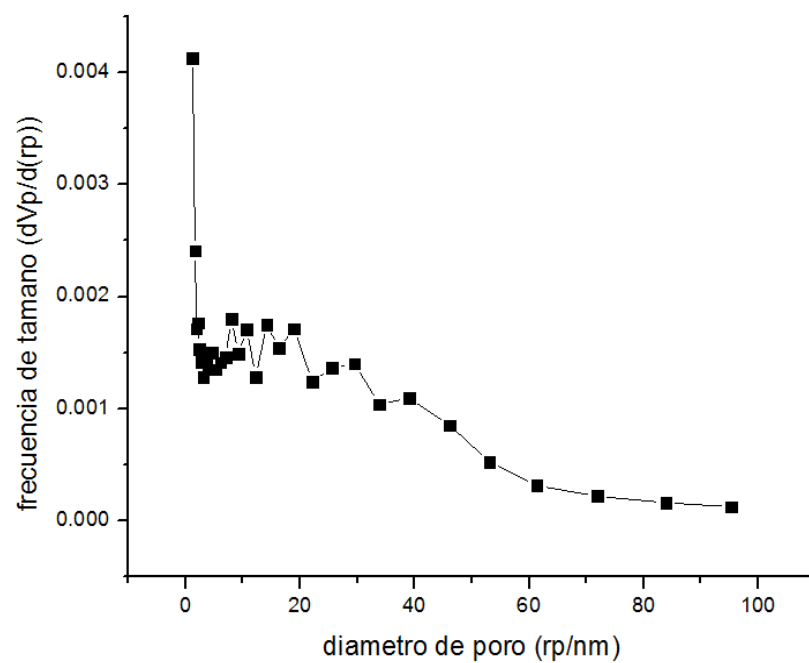


Figura 18.- Distribución de poro de la muestra de SiO₂-HF/Cis-Pt (liberado)

Podemos ver los datos obtenidos en el análisis de adsorción/desorción de nitrógeno en la siguiente tabla comparativa:

Muestra	Tamaño de poro (nm)	Volumen de poro (cm ³ /g)	Área BET (m ² /g)
SiO ₂			
SiO ₂ -HF	29.155	1.3226	1.8146
SiO ₂ -HF/Cis-Pt	33.849	1.7754	2.098
SiO ₂ -HF/Cis-Pt (liberado)	19.338	8.1577	1.6874

Tabla 1.- Comparativo de datos obtenidos en el análisis de adsorción/desorción de nitrógeno

En la tabla superior se puede observar el comparativo entre el tamaño de poro, volumen de poro y área superficial que tuvo la muestra de SiO₂, se puede observar como el tamaño de poro se ve modificado por la adsorción del ácido fólico en su superficie.

7.3. Análisis termogravimétrico

Para el análisis se usó la muestra SiO₂ sin calcinar, es decir, aún con el CTAB para poder observar de cuanto es la pérdida aproximada después de la calcinación. En el análisis obtenido (Figura 19) se puede observar una pérdida de peso de alrededor del 20%, también se observa que la pérdida empieza cerca de los 500°C, temperatura a la cual se calcina el template.

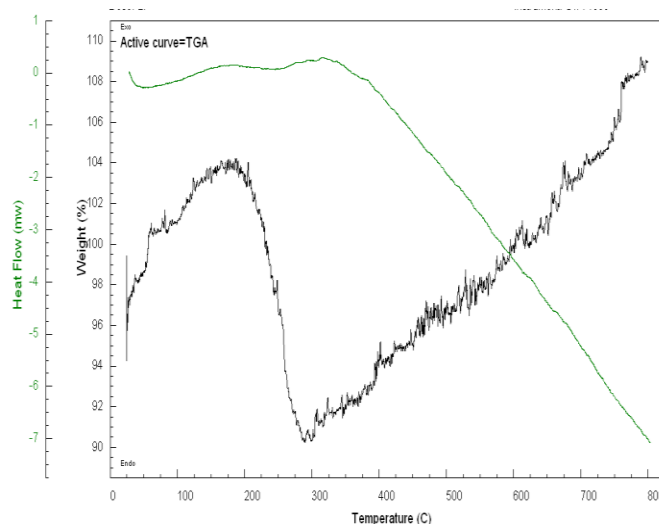


Figura 19.- Análisis termogravimétrico de SiO₂-CTAB.

De igual forma se analizaron las nanopartículas funcionalizadas con el ácido fólico, a fin de observar si éste estaba unido a las nanopartículas o seguía libre, se usaron las mismas condiciones de análisis, se pudo observar que solamente se registra una pérdida de peso, por lo cual podemos suponer que el ácido fólico si se encuentra unido a las nanopartículas (figura 20) ya que alrededor de esa temperatura se encuentra el punto de fusión del ácido fólico.

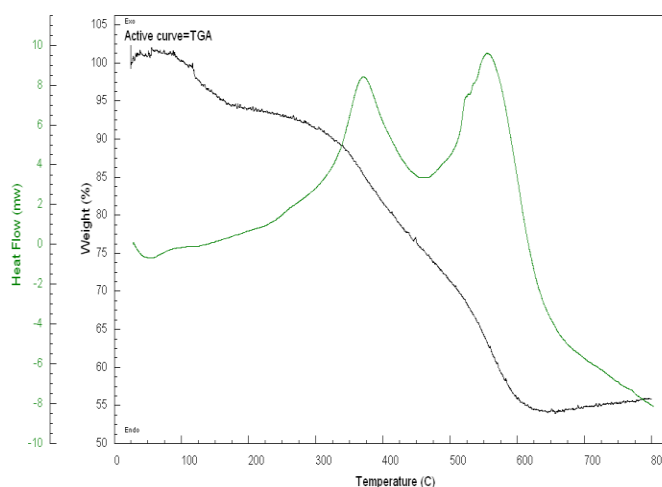


Figura 20.- análisis termogravimétrico de SiO₂-HF

6.4. espectroscopia infrarroja

Los resultados del análisis infrarrojo son los siguientes:

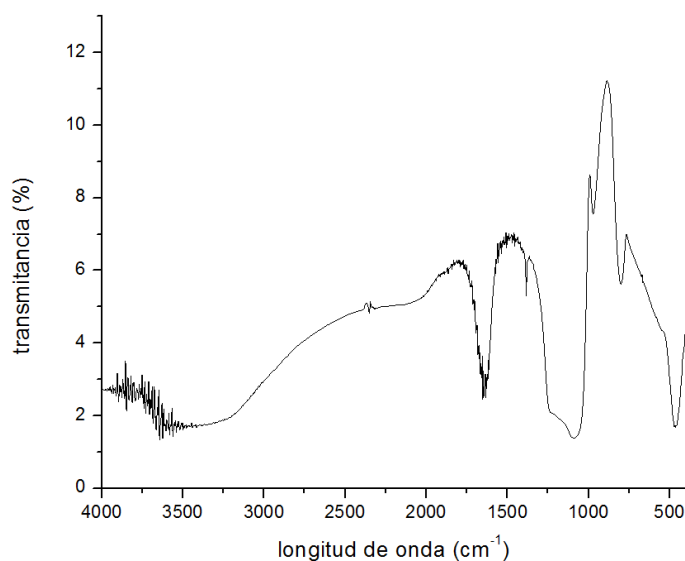


Figura 21.- espectro FT-IR de nanopartículas de SiO₂

En la Figura 21 se puede observar el espectro infrarrojo de la muestra de SiO₂, que coincide con el reportado por Cornejo y otros, coincidiendo las bandas alrededor de los 1100-1200, 1630 y 3400.

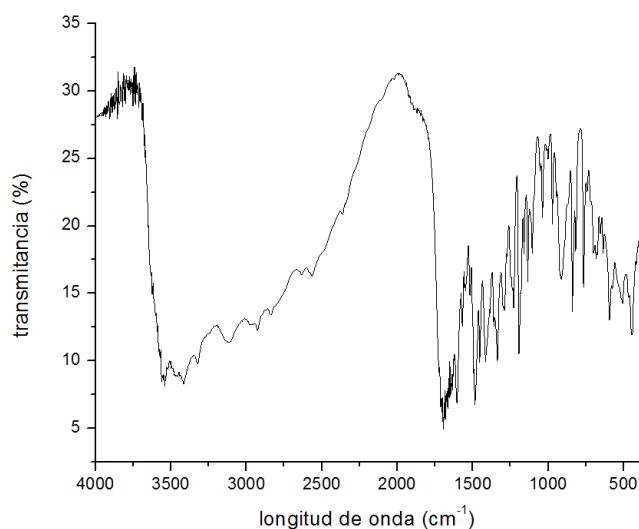


Figura 22.- espectro IR de HF

Para la funcionalización se decidió observar primeramente el espectro infrarrojo del ácido fólico (figura 22), se pueden observar la banda de los 3500-2400 característica de la tensión O-H, de igual forma la banda de 1700 del enlace C=O, la banda cerca de los 1300 de la tensión C-O y la banda cerca de los 1000 de la flexión C-O-H, se observan pequeños picos sobre la banda de 3500-2400 a la altura de 3500, 3450, 3490 y 3400 correspondientes al estiramiento de los enlaces N-H incluidos en anillos aromáticos, también se pueden observar las bandas de flexión de los enlaces N-H₂ y N-H (alifáticas como aromáticas) en 1540, 1570 y 900. En el mismo espectro, se pueden observar las señales características de los enlaces CH₂ (sobre la banda de 3500-2400) en 2920, 2850 así como la señal del aromático en 3050, sin sobretonos observables.

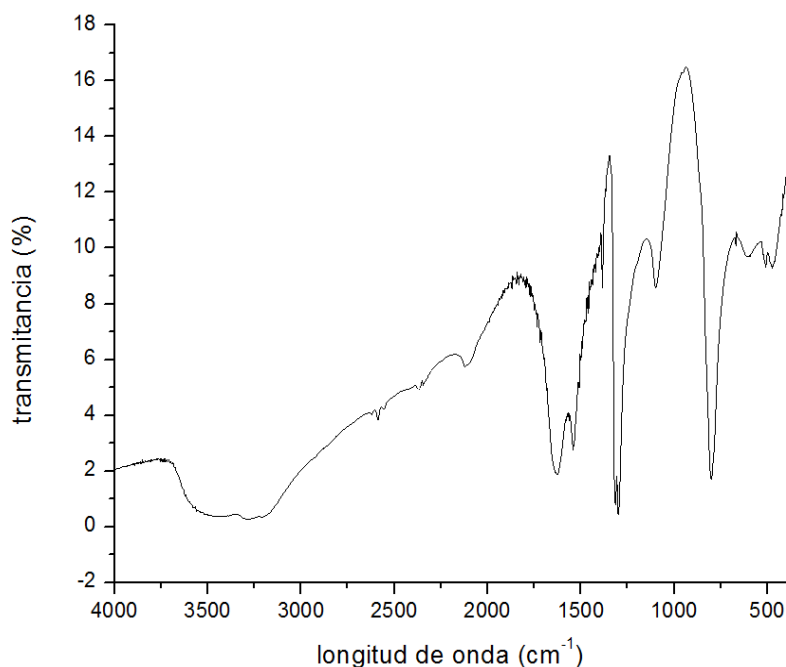


Figura 23.- espectro FT-IR de Cis-Pt

También se obtuvo el espectro infrarrojo del fármaco a usar para comprobar su existencia en la muestra de SiO₂-HF. Se pueden observar bandas en 1290, 1530 y 1620, que coincide con lo obtenido por Al-jorani y otros. La banda que aparece a

partir de los 3250, es considerada como humedad de la muestra (figura 23). (Al-Jorani, y otros, 2018)

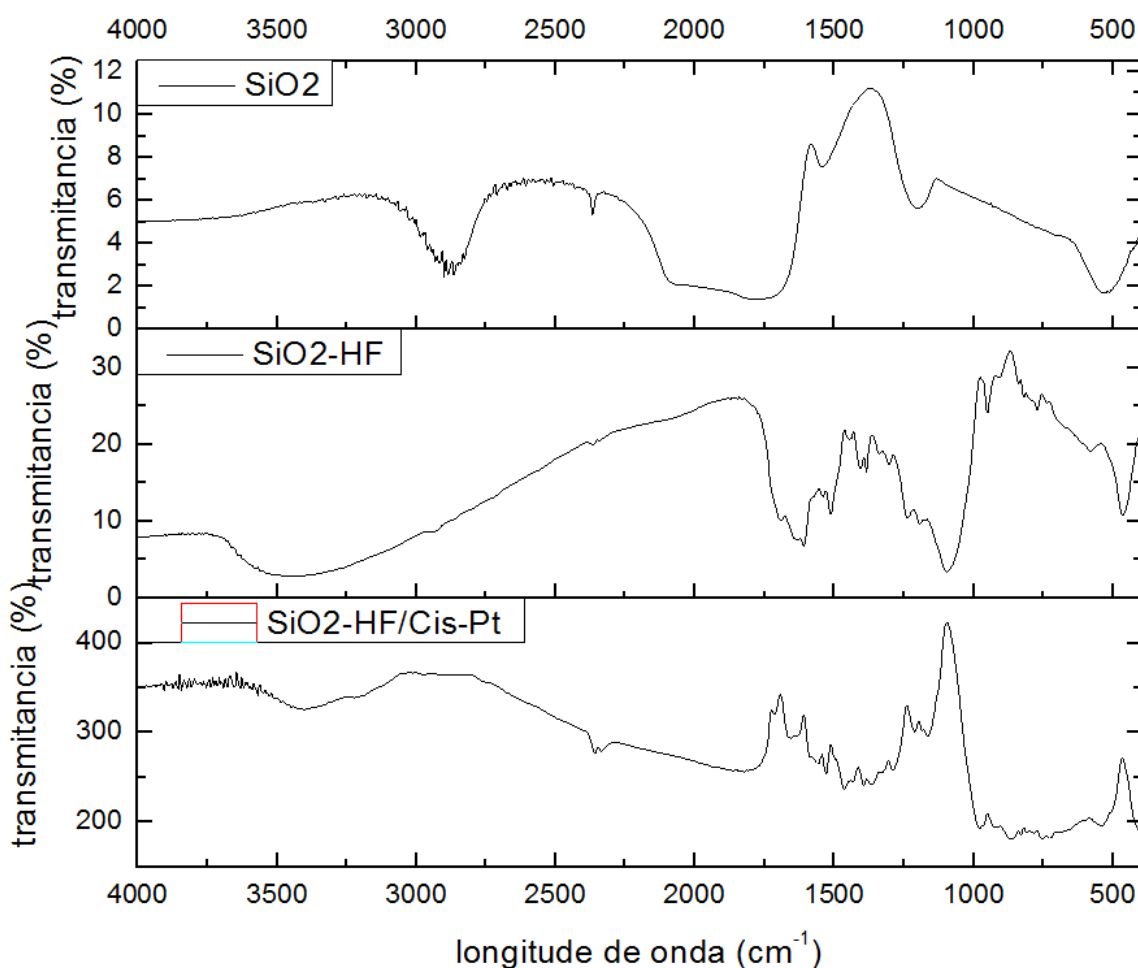


Figura 24.- espectro FT-IR de nanopartículas de SiO₂, SiO₂-HF y SiO₂-HF/Cis-Pt

En la figura 24 se observa como la intensificación de las señales de 1750-1100 por la posible acumulación de las bandas de cada muestra en esos sitios, también el ensanchamiento de las bandas de 1000-500 por la presencia del HF y Cis-Pt, ya que expresan bandas en ese rango de longitud de onda habiendo una posible acumulación. Podemos ver que la banda de los 3700-2500 disminuye de su intensidad probablemente debido a la concentración de la muestra. Se observa

desplazamiento de la banda de 1100-1200 de la muestra de SiO_2 hacia la derecha por las interacciones con el HF y Cis-Pt. También la banda de 2800 de la muestra de SiO_2 se ve casi totalmente desaparecida probablemente a la unión del HF con los OH de la superficie de la muestra.

6.5. Estudios *in vitro* de liberación de Cis-Pt

Se realizó un perfil de liberación del Cis-Pt de las Nanopartículas ya funcionalizadas a fin de poder observar su cinética de liberación, el perfil fue realizado en agua con una curva de calibración usando solamente el Cis-Pt.

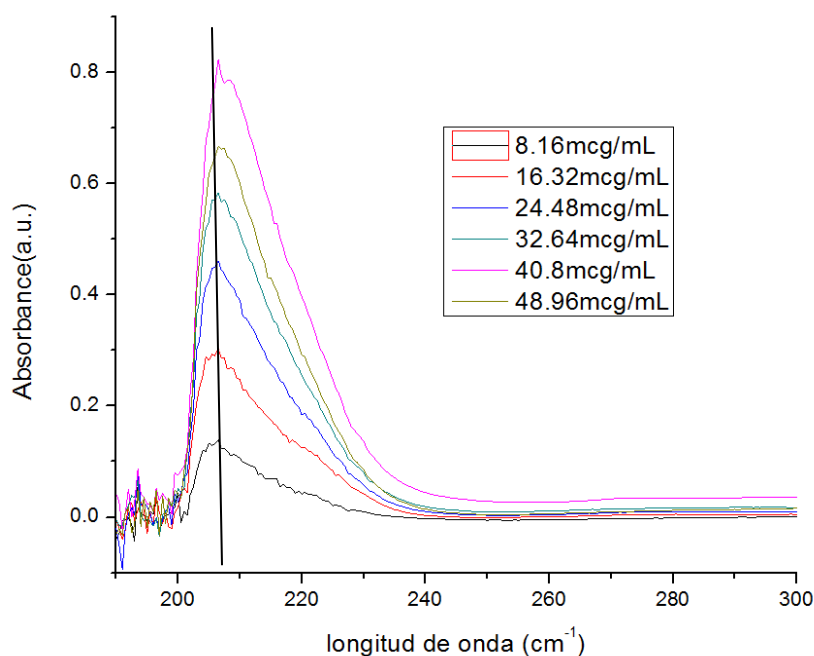


Figura 25.- Espectros UV de diferentes soluciones de Cis-Pt de creciente concentración a partir de los cuales se construyó la de curva de calibración de Cis-Pt en agua, $\lambda=206\text{nm}$.

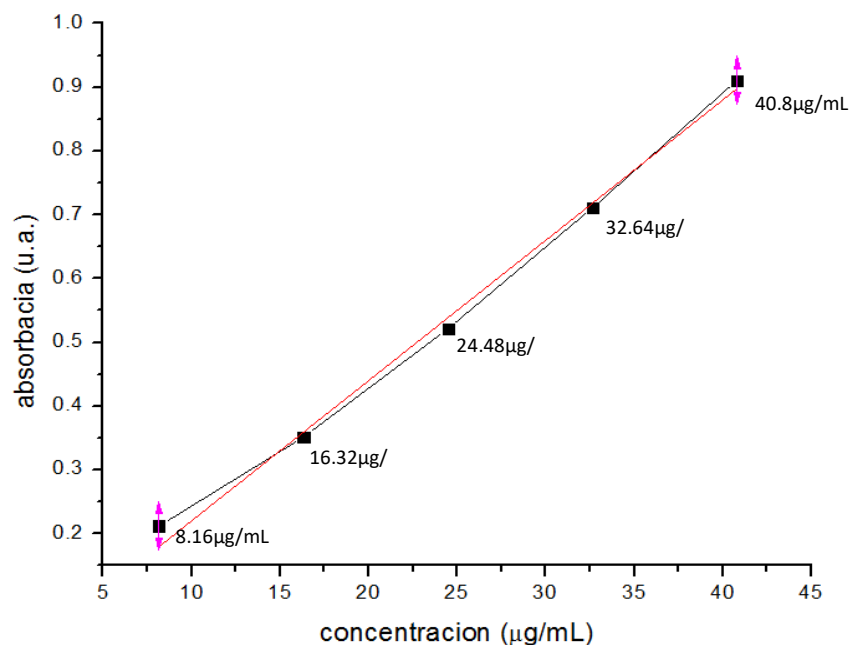


Figura 26.- Curva de calibración de Cis-Pt en agua ($\lambda=206$ nm).

En la figura 26 se puede observar el espectro del Cis-Pt dónde se decidió hacer la medición a 206 nm ya que es la señal más intensa, el espectro se decidió solo analizar hasta los 300nm, ya que después de esa longitud, no se presenta ninguna señal. Se puede observar la curva de calibración (figura 27) que se obtiene un coeficiente de correlación lineal con valor de 0.9988, lo que nos indica que la linealidad del método puede ser usada para determinar concentración que entren dentro de los rangos de las absorbancias obtenidas, se obtiene también una ecuación de $y=0.022x$ ya que se ajustó el intercepto a cero.

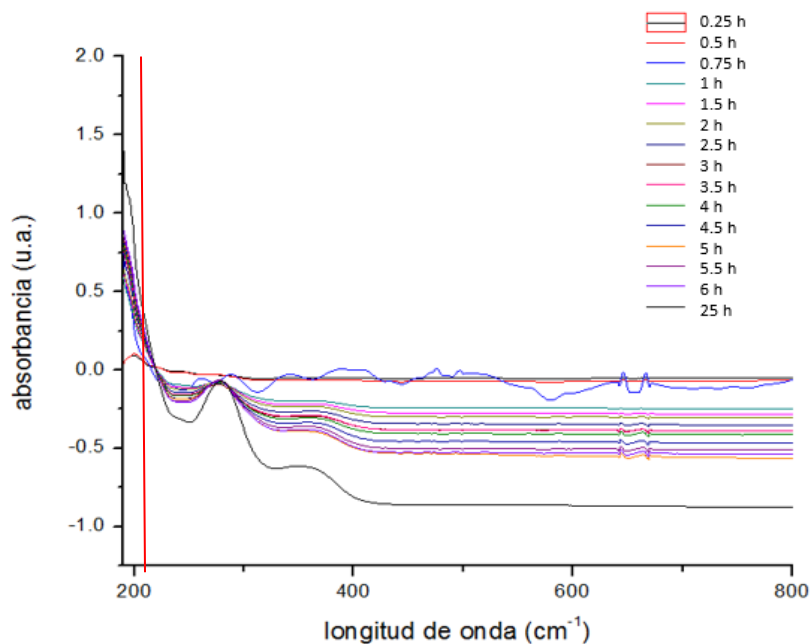


Figura 27.- Espectro UV de liberación de Cis-Pt de la muestra de SiO₂-HF/Cis-Pt, en función del tiempo a partir de los cuales se obtuvieron los perfiles de liberación de la muestra 1.

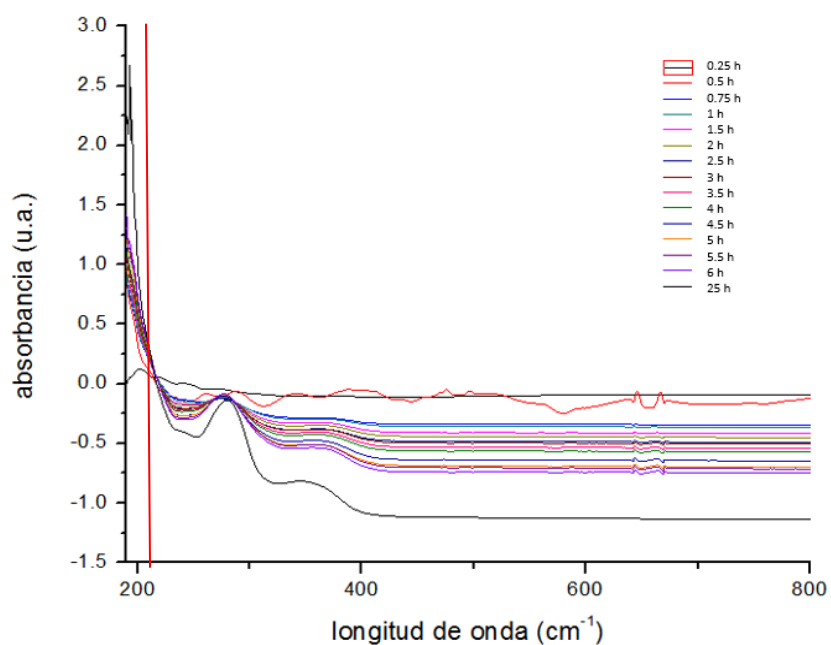


Figura 28.- Espectro UV de liberación de Cis-Pt de la muestra de SiO₂-HF/Cis-Pt, en función del tiempo a partir de los cuales se obtuvieron los perfiles de liberación de la muestra 2

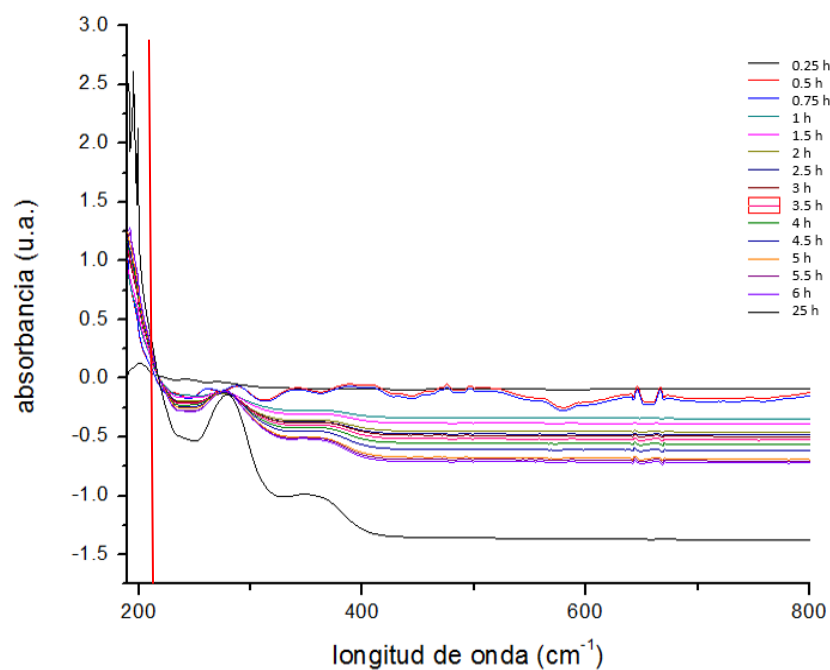


Figura 29.- Espectro UV de liberación de Cis-Pt de la muestra de SiO₂-HF/Cis-Pt, en función del tiempo a partir de los cuales se obtuvieron los perfiles de liberación de la muestra 3

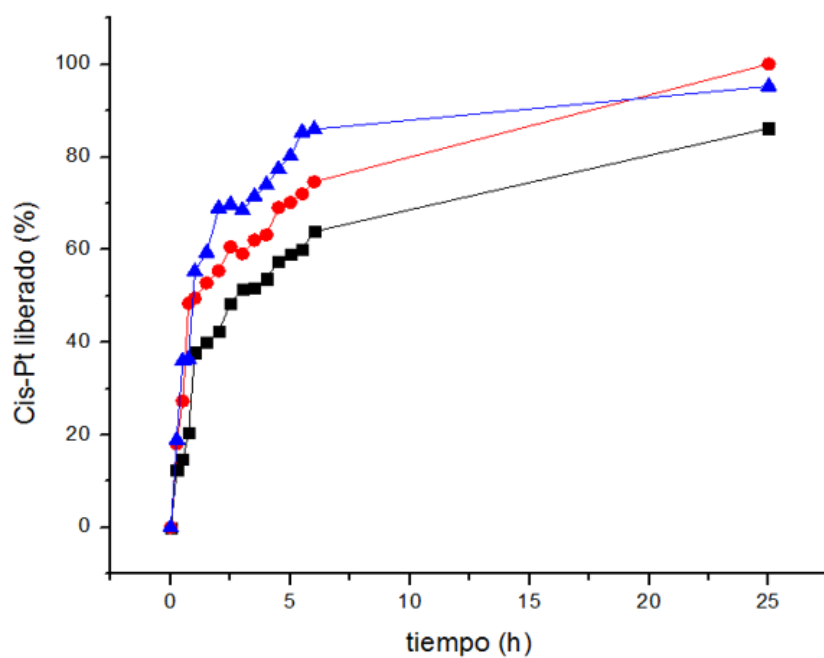


Figura 30.- Perfiles de liberación de Cis-Pt de la muestra de SiO₂-HF/Cis-Pt en agua. Muestra 1: negro; muestra 2: rojo; muestra 3: azul

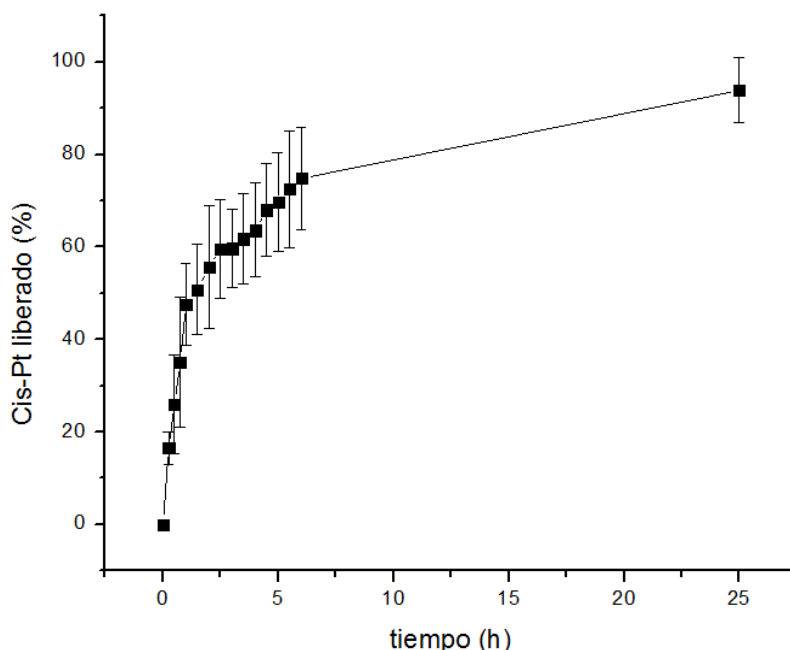


Figura 31.- Perfil de liberación promedio de Cis-Pt en agua.

Los perfiles de liberación fueron realizados por triplicado, con tabletas de SiO₂-HF/Cis-Pt como se puede observar en la tabla 2, se colocaron en 150 mL de agua desionizada a una agitación de 70 rpm a una temperatura de 37.5°C en un disolutor de tipo 1. Las mediciones para construir el perfil, fueron obtenidas a partir de las figuras 28-30 con la medición a 206nm. Se puede observar en las figuras 30 y 31 que la liberación sigue una cinética de tipo Wilbull 1 con valor de WSS=78.4277(Weighted Sum Statistic) y AIC=75.7948 (Akaike information criterion), R=0.9908 y R_{ajus}=0.9894, se observa también que hay puntos donde la concentración disminuye, se presume que es por una reoclusión del principio activo en las nanopartículas.

Muestra	Peso total (mg)	Cis-Pt teórico (mg)	Cis-Pt liberado a las 25 h (%)
SiO ₂ -HF/Cis-Pt-1	47.5	4.75	80.5
SiO ₂ -HF/Cis-Pt-2	53.8	5.38	97.3
SiO ₂ -HF/Cis-Pt-3	48.2	4.82	100.1

Tabla 2: Comparativo de muestras y resultados de los perfiles de liberación

7. CONCLUSIONES

En la microscopía electrónica de barrido, debido a la mala visualización de la muestra, no se pudo caracterizar de forma correcta, se recomienda dar otro tratamiento a la muestra como podría ser un recubrimiento de oro para una mejor conducción electrónica y así poderla visualizar mejor

En base a los estudios realizados para la caracterización de las nanopartículas mediante FT-IR, se obtuvieron nanopartículas de SiO_2 , se encontró ácido fólico en la muestra y la presencia de Cis-Pt.

Por el análisis de adsorción/desorción de nitrógeno podemos concluir que se obtuvieron nanopartículas de SiO_2 mesoporosas con cambios de tamaño de poro, superficie y volumen de poro de igual forma, se comprobó la liberación del fármaco también después de 24 hr de agitación por el regreso de los valores de tamaño de poro, volumen de poro y superficie a los presentados en la muestra de SiO_2 -HF.

En el análisis termogravimétrico se puede observar la pérdida del template en la primera muestra, en la segunda se puede observar la pérdida de peso correspondiente al HF, lo cual nos indica su presencia en las nanopartículas.

Los perfiles de disolución nos refieren una cinética de Weibull, es decir, se observa una fracción acumulada de fármaco en función del tiempo, en otras palabras, la liberación del fármaco depende del tiempo que se realice el estudio y no de la agitación o temperatura, se puede observar también, que después de 25 h, la liberación del fármaco es casi del 100% en las tres muestras, presentando una liberación prolongada del fármaco desde las nanopartículas.

8. REFERENCIAS

- Aladro Hernández, F. (2013). Diagnóstico imagenológico de teratoma cerebral maduro. *Panorama Cuba y Salud*, 8(3), 46-48.
- Al-Jorani, K., Rüther, A., Martin, M., Haputhanthri, R., Deacon, G. B., Lin Li, H., y otros. (2018). The Application of ATR-FTIR Spectroscopy and the Reversible DNA Conformation as a Sensor to Test the Reversible DNA Conformation as a Sensor to Test the. *MDIP Journal, Sensors*, 18(4297).
- American Brain Tumor Association. (2012). *Glioblastoma y astrocitoma maligno*. Chicago, IL: Grupo Roche.
- American Brain Tumor Association. (2014). *Quimioterapia*. Chicago, IL: Grenetech.
- American Brain Tumor Assosiation. (2014). *Oligodendroglioma y Oligoastrocitoma*. Chicago, IL: American Brain Tumor Assosiation.
- Andrade Guel, M. L., López López, L. I., & Sáenz Galindo, A. (2012). Nanotubos de Carbono: Funcionalización y aplicaciones Biológicas. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 43(3), 9-18.
- Brame, J., & Griggs, C. (2016). *Surface Area Analysis Using the Brunauer-Emmett-Teller (BET) Method*. MS: Inovative Solutions.
- Brunauer, S., Deming, L. S., Deming, W. E., & Teller, E. (6 de July de 1940). On a Theory of van der Walls Adsorption of Gases. *Journal of American Chemistry Society*, 62(7), 1723-1732.
- Brunauer, S., Emmett, P. H., & Teller, E. (1938). Absortion of Gases in Multimolecular Layers. *Journal of the American Chemical Society*, 60(2), 309-319.
- Castaño González, A., Angarita Ribero, C. T., & Guzmán Cruz, P. C. (junio de 2013). Glioma del tallo cerebral metasatásico en pediatría: revisión y reporte de caso. *Universidad de Medicina*, 54(2), 261-267.
- Castillo Salgado, C., Vargas Rivadeneira, E., & Madera Grijalva, A. (2018). Hemangioblastoma de fosa posterior asociado a enfermedad de vonn Hippel Lindau. *Servisio de Neurocirugía, hospital docente Quito No 1 de la Policía Nacional*.
- Cedi-Zamudio, S., Gray-Lugo, M., Vega-Gutiérrez, A., Ramos-Pacheco, V., Manola-Aguilar, L., & Guerrero-Avendaño, G. (2016). Lesiones de la región selar que pueden simular macroadenomas. *Anales de Radiología México*, 15(4), 251-260.

- Comes Maymo, E., Ramis Andrés, M. Á., Centelles Ruiz, M., & Grivé Isern, E. (2010). *Metástasis cerebrales*.
- Comité de Medicamentos de la Asociación Española de Pediatría. (2016). *Pediamecum*. Recuperado el 13 de 01 de 2019, de <http://pediamecum.es/wp-content/farmacos/Cisplatino.pdf>
- Cornejo Monroy, D., Sánchez Ramírez, J., Pescador Rojas, J., Herrera Pérez, J., González Araoz, M., & Guarneros, C. (2009). Nanoesferas monodispersas de SiO₂: síntesis controlada y caracterización. *Sociedad Mexicana de Ciencia y Tecnología de Superficies y Materiales*, 22(3), 44-48.
- Díaz del Castillo Rodríguez, M. (2012). *Introducción a los nanomateriales*. (L. d. materiales, Ed.) Cuautitlan Izcalli, Estado de México, México: Lecturas de ingeniería 20.
- Díaz-Romero Paz, R. F., Balhen Martín, C. M., Revuelta Gutiérrez, R., Vales Hidalgo, L. O., Hinojosa González, R., & Barges Coll, J. (2009). Quistes Epidermoides del ángulo pontocerebeloso. *Archivo de Neurociencias (México)*, 14(2), 85-93.
- Echlin, P. (2009). *Handbook of Sample Preparation for Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis* (1ra ed.). New York, New York, United States Of America: Springer Science+Business Media LLC.
- Fierro, J. L. (2001). *Neurología básica* (1ra ed.). Santiago de Chile, Chile: mC Graw Hill Interamericana.
- Forteza Sáez, M., Pérez Trejo, M., García Socorrás, B., & Alert Silvia, J. (2018). Ependimomas intracraneanos en el Instituto Nacional de Oncología y Radiobiología. *Revista Cuabana de Pediatría*, 90(1), 70-78.
- Gonzalo, T., & Muñoz-Fernandez, M. (2009). Dendrímeros y sus aplicaciones biomédicas. *Anales de la Real Academia de Farmacia*, 169-200.
- Gutiérrez Wing, C. E. (s.f.). Las NANOPARTÍCULAS: pequeñas estructuras con gran potencial ¿Porqué el interés en estos materiales? ¿Qué aplicaciones tiene? *Contacto Nuclear*, 24-29.
- Hernández Sánchez, M. Y. (2013). *Síntesis de pigmentos cerámicos por métodos no convencionales: Técnica Sol-Gel*. (I. M. Restrepo Baena, Ed.) Medellín, Colombia: Universidad Nacional de COlombia; FAcultad de Minas, Escuela de Ingeniería de MAteriales.
- Herráez, A. (2011). Las asombrosas estructuras del carbono: fullerenos, grafenos y nanotubos. *apuntes de ciencia*, 22-25.
- Horacio López, R. (2004). *Caracterización de Medios Porosos y Procesos Percolativos y de transporte*. (J. A. Zgrablich, Ed.) San Luis, Argentina:

universidad Nacional de San Luis, Facultad de Ciencias Físico-Matemáticas y Naturales, Departamento de Física.

- Intertek. (2018). *Intetek: Total Quality Assured*. Recuperado el 14 de 1 de 2019, de <http://www.intertek.com/polymers/testlopedia/tga-astm-e1131/>
- Jiménez, V. H., Domínguez, V., & López Karpovitch, X. (2007). Linfoma primario del sistema nervioso central: epidemiología, biología, diagnóstico y tratamiento. *medicina Interna de México*, 23(1), 66-77.
- L., T., & A., L. (2001). *Compendio de anatomía descriptiva* (2da ed.). Barcelona, España: Masson S.A.
- Lechuga, L. M. (2010). Nanomedicina: aplicación de la nanotecnología en la salud. En J. bueren Roncero, J. Bueren Roncero, & 2. EdikaMed (Ed.), *Biotechnología Aplicada a la Salud Humana* (9na ed., págs. 98-112). Madrid, España: CIEMAT.
- Leyva-Pérez, I., Guerrero-Avendaño, G., & Hernández-Paz, J. R. (2013). Meningiomas: apariencia por tomografía y porresonancia magnética. Localizaciones más frecuentes. *Anales de Radiología México*, 12(1), 36-44.
- Llabot, J. M., Palma, S. D., & Allemandi, D. A. (2008). Nanopartículas poliméricas sólidas. *Nuestra Farmacia*(53), 40-47.
- Louis, D. N., Perry, A., Reifenberger, G., von Deimling, A., Figuerella-Branger , D., Cavanee, W. K., y otros. (09 de Mayo de 2016). The 2016 Worl Health Organization Classification or Tumor on the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol*.
- Martín Martinez, J. M. (1990). *Adsorción física de gases y vapores por carbones*. Alicante, España: Universidad de Alicante.
- Moscote Salazar, L., Meneses García , C., Sáes Amuruz, M., Penagos , P., Zubieta , C., & Romero , A. (2010). Manejo Actual del Glioblastoma Multiforme. *Revista Ciencias Biomédicas*, 1(2), 237-245.
- Muniesa Lajara, C. (2013). *MATERIALES NANOESTRUCTURADOS BIOCOPATIBLES BASADOS EN SÍLICE. PREPARACIÓN Y APLICACIONES EN TERAPIA ANTICANCERÍGENA*. (A. P. Botella, Ed.) Valencia, España: Universidad Politécnica de Valencia, Dpto de Química; Instituto de Tecnología Química.
- Ragmir, N. S., ZAjac, A., Sekhar, P. K., Lee, L., Zhukov, T. A., & Bhansali, S. (2007). Voltammetric Detection of Cancer Biomarkers Exemplified by Interleukin-10 andOsteopontin with Silica Nanowires. *Journal of Physics and Chemestry*, 111(37), 13981-13987.

- Ramón-López, A., Escudero-Ortiz, V., Carbonell, V., Pérez-Ruixo, J., & Valenzuela, B. (7 de marzo de 2011). Farmacocinética poblacional de cisplatino aplicada a la personalización de su dosificación en pacientes oncológicos. *Farmacia Hospitalaria*, 36(5), 392-402.
- Rivera-Luna, R., Niembro-Zúñiga, A. M., Zarco, A., Merhx-Bracho, A., Cárdenas-Cárdos, R., Olaya-Vargas, A., y otros. (2007). Meduloblastomas en pediatría. Pronóstico y tratamiento en la actualidad. *Gaceta Médica Mexicana*, 143(5), 415-420.
- Rodriguez Rey, R. (2002). *Fundamentos de neurología y neurocirugía*. San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina: Magna Publicaciones.
- Rodríguez, E., & Villegas, E. (2012). Caracterización de polímeros aplicando el método termogravimétrico. *Métodos y Materiales*, 2(Noviembre), 25-32.
- Ross, M. H., & Pawlina, W. (2001). *Histología: Texto y atlas correlación con biología molecular y celular* (7ma ed.). (A. Alday, Trad.) Philadelphia, E.E.U.U.: Wolters Kluwer.
- Samadian, H., Hosseini-Nami, S., Kamran Kamrava, S., Ghaznavi, H., & Shakeri-Zadeh, A. (2016). Folate-conjugated gold nanoparticle as a new nanoplatform for targeted cancer therapy. *Journal of Cancer Research Clinical Oncology*, 142, 2217-2229.
- Serena Domingo, P. A. (2013). La nanotecnología, una revolución desconocida. *Encuentros multidiciplinares*, 15(45), 32-40.
- Skoog, D. A., Holler, F. J., & Nieman, T. A. (1971). *Análisis Instrumental* (Quinta ed.). (C. Fernández Madrid, Ed., M. Martínez Gómez, B. López Ruiz, M. A. Martín Carmona, G. Garcedo Güémez, & A. I. Olives Barba, Trans.) Madrid, España: Mc Garw Hills.
- Sorrivas de Lozano, V., Morales, A., & Yañez, M. J. (2014). *Principios y práctica de la Microscopía Electrónica* (1ra ed.). Bahía Blanca: Viviana Sorrivas de Lozano.
- Suárez García, R., Fernández Rojas, L., & Radinche Frias, F. L. (2001). Neurinoma del acústico, Schwannoma vestibular. *Correo Científico de Holguín*, 15(4).
- Vega Rodriguez, D. M., Rodríguez Vázquez, D. I., Wilkinson Brito, L., & Fernández Lorente, D. (May-Jun de 2012). Tumores astrocíticos: un acercamiento a una patología. *Revista médica Electrón*, 34(3).
- Vega-Lopez, E. M., & Morales-Muñoz, U. (2016). El Proceso Stöber: Principios y Actualidad 2ª Parte. *revista Naturaleza y Tecnología, Universias de Guanajuato*.

Venadero-Albarrán, F., Redríguez Acar, M., Merelo, V., Cervantes Acevedo, A. M., & Ramos-Garibay, A. (20014). Neurofibroma solitario. Comunicación de dos casos. *Revista Científica Dermatol Pascua*, 13(2), 99-102.

Watermann, A., & Brieger, J. (2017). Mesoporous Silica Nanoparticles as Drug Delivery Vehicles in Cancer. *nanomaterials*, 189(7).

Vo. Bo. De los asesores respecto a los contenidos académicos

Nombre y firma del asesor interno

Cargo

No. Económico

Nombre y firma de la asesora externa

Cargo

No. Cédula profesional