

## Tabla de contenido

Modificación Química de Nanopartículas de Dióxido de Titanio Para Mejorar su Interacción en Sistemas Acuosa.....	2
Efecto de la carboxilación en las nanoestructuras formadas por el copolímero tribloque, pluronic F-127.....	5
Obtención de sistemas vesiculares no iónicos (niosomas) usando dos diferentes métodos de manufactura .....	9



Sociedad Química de México, A.C.

*"La química nos une"*

## Trabajos profesionales

# Modificación Química de Nanopartículas de Dióxido de Titanio Para Mejorar su Interacción en Sistemas Acuosos

Heber Natanael Martínez<sup>1</sup>, Leticia López Zamora<sup>1</sup>, J. A. Gonzalez Calderon<sup>2</sup>

<sup>1</sup> División de Estudios de Posgrado e Investigación, Instituto Tecnológico de Orizaba,

<sup>2</sup> Posgrado en Ciencias en Ingeniería Bioquímica, Instituto Tecnológico de Celaya

letylopezito@gmail.com

### Resumen

La dispersión de nanopartículas (NPs) de TiO<sub>2</sub> en agua y soluciones ácidas acuosas incrementó por la modificación superficial mediante una reacción de silanización con el agente de acoplamiento 3-Aminopropiltriethoxisilano (APTES). Para comprobar la funcionalización de las NPs se realizaron análisis por Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR), Microscopia electrónica de transmisión (TEM), estabilidad coloidal por precipitación de partículas, así como también Potencial Z. Los resultados de estas pruebas confirmaron la existencia de grupos funcionales orgánicos en las NPs provenientes del APTES, lo que le proporciona una mejor suspensión en medios acuosos, además de ser una ruta económica y amigable con el ambiente.

### Extenso

#### Introducción

Muchos de los productos en las industrias de pinturas y recubrimientos usan partículas de dióxido de titanio (TiO<sub>2</sub>), como pigmento blanco debido a su alto índice de refracción [1], es un óxido anfótero muy estable químicamente y utilizado como recubrimiento anticorrosivo, sensor de gases, absorbente de rayos UV en productos cosméticos y de manera general en la industria cerámica [2] y también a una amplia variedad de materiales, especialmente para aquellos con una baja resistencia al calor tales como textiles, madera, plásticos, papeles y biomateriales [3]. Sin embargo, existe el problema de la rápida aglomeración y precipitación de las partículas de TiO<sub>2</sub> [1] limitando su estabilidad en suspensión. Por ello en este trabajo se busca proporcionar mayor dispersión a las NPs de TiO<sub>2</sub> en soluciones acuosas mediante un agente de acoplamiento tipo organosilano, tal como el APTES.

#### Discusión de resultados

Los espectros infrarrojos confirmaron la modificación superficial de las NPs con APTES, los cuales se analizaron del rango de 1800 a 1000 cm<sup>-1</sup> (ver Figura 1).

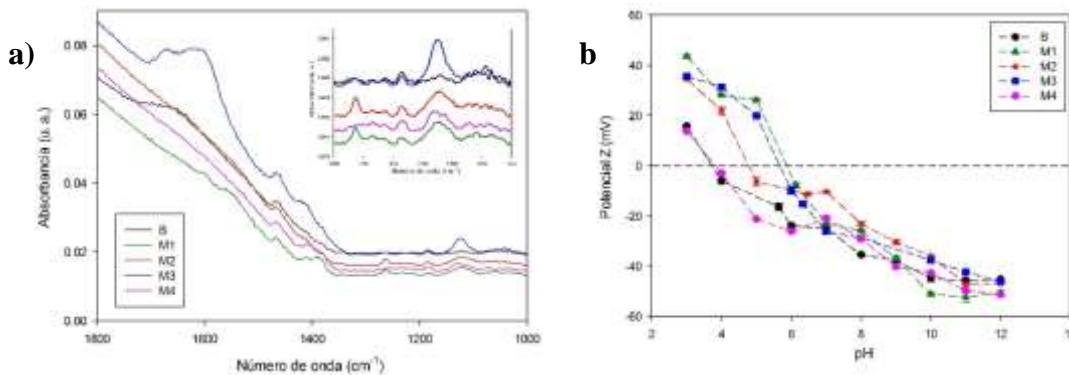


Figura 1 Graficas de a) Espectros IR y b) Potencial Z

Se pueden apreciar los picos en  $1260$  y  $1120\text{ cm}^{-1}$ , ocasionados por la vibración del enlace C-N [4,5], estas vibraciones se encuentran presentes en los espectros de las nanopartículas que fueron silanizadas (excepción de **M4**, que sólo presenta el pico de  $1120\text{ cm}^{-1}$ ) mientras que en el  $\text{TiO}_2$  sin modificar no existen dichas bandas además de que la intensidad es mayor en el espectro correspondiente a **M3**. La curva en  $1640\text{ cm}^{-1}$  en la muestra **B** es atribuido al agua absorbida (grupos -OH) en la superficie del  $\text{TiO}_2$  [5,6, 7]. Por otro lado, en la región de  $1670\text{-}1620\text{ cm}^{-1}$  en el espectro de **M3** se logra apreciar las vibraciones de tijereo del enlace N-H de la amina primaria [5, 8], lo que sugiere la modificación superficial del  $\text{TiO}_2$  con el APTES. Finalmente existe un pico de baja intensidad en  $1044\text{ cm}^{-1}$  en el espectro de **M3**, causado por la extensión asimétrica del enlace Si-O-Si, [8], en el rango de  $830\text{-}1110\text{ cm}^{-1}$  [5].

Las mediciones de potencial Z de **M1**, **M2** y **M3** (véase Figura 1) presentan un desplazamiento del punto isoeléctrico hacia un pH menos ácido en comparación de **B**, además de que el potencial Z incrementa aproximadamente  $18\text{ mV}$  (en pH de 3) debido a la existencia de cargas positivas en el  $\text{TiO}_2$  (ocasionado por el recubrimiento orgánico de APTES) incrementando la repulsión entre ellas, éste incremento de potencial Z es favorable porque aleja de la inestabilidad de las NPs y con ello la aglomeración, sin embargo, **M4** demostró un comportamiento muy similar a **B**.

En la Figura 2a se presentan las micrografías de las nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  sin modificación. Se observan las superficies amorfas del  $\text{TiO}_2$ , Los recubrimientos formados por el organosilano se visualizaron de manera parcial en las partículas de las cuatro silanizaciones, cabe resaltar que la micrografía de **M3** (d) muestra NPs con un recubrimiento mayor ( $\sim 3.27\text{ nm}$ ) comparado a las demás muestras ( $\sim 2.34\text{ nm}$ ).

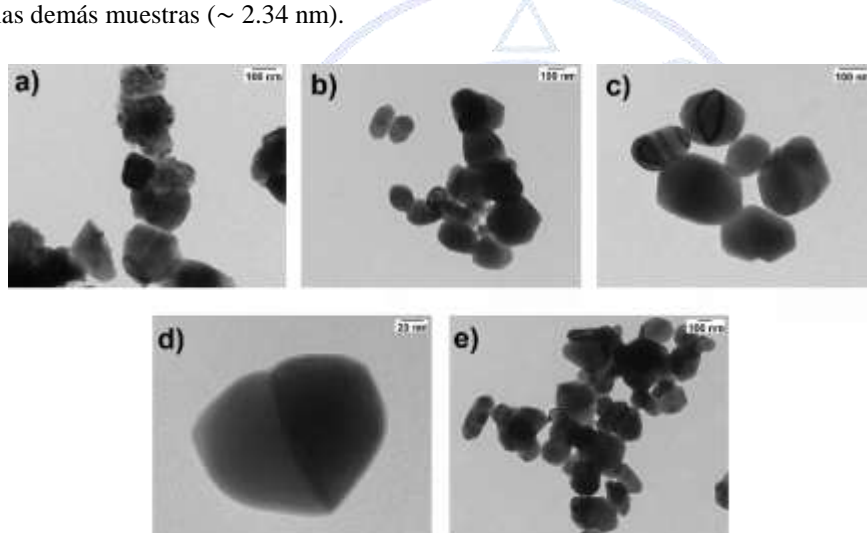


Figura 2. Micrografías TEM de NPs no funcionalizadas (a) v funcionalizadas: (b-d)

La evaluación de la estabilidad coloidal fue realizada por precipitación de partículas. En el tiempo inicial las NPs de **B** en ambos sistemas comienzan a tener una aglomeración y precipitación rápida [1], mientras que las nanos modificadas permanecen suspendidas. A través del tiempo monitoreado, se aprecia cómo de manera lenta las NPs van precipitando. Para el tiempo final, las NPs de todos los viales han precipitado y en las cuales **M4** precipitó de manera más rápida, teniendo un comportamiento similar a las NPs no modificadas.

## Materiales

Nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  en fase cristalina de rutilo con código R-104, con un diámetro aproximado de  $350\text{ nm}$  adquiridos de DuPont. Agente de acoplamiento 3-Aminopropiltrietoxisilano (APTES) de Sigma Aldrich (México).

## Métodos

El proceso de silanización del  $\text{TiO}_2$  se realizó considerando 4 diferentes proporciones,  $\text{TiO}_2\text{:APTES}$ , (**M1**: 0.5:1, **M2**: 1:1, **M3**: 5:1 y **M4**: 10:1). Se realizó la caracterización estructural y morfológica, empleándose un espectrómetro FTIR-ATR marca

Perkin-Elmer, considerando un rango de onda de 1800 a 1000  $\text{cm}^{-1}$  con un escaneo de 80 barridos, para las micrografías TEM se empleó un microscopio electrónico de transmisión JEOL TEM-1010 operando a 100 kV. Las pruebas de dispersión se realizaron mediante precipitación de partículas, en dos grupos de viales (agua y ácido láctico 1% v/v) de 15 mL se colocaron 146 mg de polvos de cada experimento y de  $\text{TiO}_2$  sin modificar. Fueron sonicados a 40 KHz por 15 min y posteriormente mezclados en un agitador tipo vortex durante 1 min, se monitorearon durante 164 h. La determinación de potencial Z ( $\zeta$ ) se realizó utilizando un medidor de Potencial Z marca Malvern Instrument modelo Malvern Zen3600.

### Conclusiones

Se mejoró la dispersión de nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  en sistemas formados por agua y ácido láctico al 1% (v/v), mediante una modificación superficial con el agente de acoplamiento 3-Aminopropiltriethoxisilano en relaciones 0.5:1, 1:1, 5:1 y 10:1 (g- $\text{TiO}_2$ :mL-APTES). Se logró una buena suspensión coloidal con respecto a las NPs no funcionalizadas. Los análisis de infrarrojos demostraron la existencia de grupos aminos y silicio presentes en los polvos de  $\text{TiO}_2$ . Las micrografías evidenciaron que las partículas silanizadas presentaban una superficie más homogénea comparada con las NPs originales, además de que se logró apreciar un pequeño recubrimiento de manera parcial en la mayoría de éstas, el incremento del potencial Z en pH ácido y desplazamiento del punto isoelectrico hacia un pH menos ácido sugirieron el cambio de cargas en la superficie del  $\text{TiO}_2$  ocasionado por los grupos del APTES. Además de que los análisis realizados revelaron que **M3** tuvo una superficie con el recubrimiento orgánico.

### Bibliografía

- [1] Solís-Gómez, A., Neira-Velázquez, M. G., Morales, J., Sánchez-Castillo, M. A. y Pérez Elías. 2014. Improving stability of  $\text{TiO}_2$  particles in wáter by RF-plasma polymerization of poly(acrylic acid) on the particle Surface. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engeneering Aspects*. **451**:66-74.
- [2] Vargas-Urbano M. A., Ochoa-Muñoz, Y. H., Ortégón-Fernández, Y., Mosquera, P., Rodríguez-Páez, J. E. y Camargo-Amado, R. J. 2011. Nanopartículas de  $\text{TiO}_2$ , fase anatasa, sintetizada por métodos químicos. *Ingeniería y Desarrollo*. 29(2):186-201.
- [3] Daoud, W. A., Xin, J. H. y Zhang, Y. 2005. Surface functionalization of cellulose fibers with titanium dioxide nanoparticles and their combined bactericidal activities. *Surface Science*, **599**:69-75.
- [4] Silverstein, R. M., Webster F. X., y Kiemle.D. J., 2005. *Spectrometric Identification of organic compounds*. John Wiley & Sons, Inc. Unite States of America.
- [5] Gradzik, B., El Fray, M. y Wiśniewska, E. 2011. Surface modification of  $\text{TiO}_2$  and  $\text{SiO}_2$  nanoparticles for application in polymeric nanocomposites. *Science Technique*. **65**(7):621-626.
- [6] Weerachawanasak, P., Hutchings, G. J., Edwards, J. K., Kondrat, S. A., Miedziak, P. J., Prasertham, P. y Panpranot, J. 2014. Surface functionalized  $\text{TiO}_2$  supported Pd catalysts for solvent-free selective oxidation of benzyl alcohol. *Catalysis Today*. **250**:218-225.
- [7] Mallakpour, S. y Nikkhoo, E. 2013 Production and characterization of nanocomposites base don poly(amide-imide) containing 4,4'-methylenebis(3-chloro-2,6-diethylaniline) using nano- $\text{TiO}_2$  surface-coupled by 3-aminopropyltriethoxysilane. *Progress in Organic Coatings*. **76**:231-237.
- [8] Liu, L., Mei, A., Liu, T., Jiang, P., Sheng, Y., Zhang, L. y Han, H. 2015. Fully printable mesoscopic perovskite solar cells with organic silane self-assembled monolayer. *Journal of the American Chemical Society*. **137**(5):1790-1793.

## Efecto de la carboxilación en las nanoestructuras formadas por el copolímero tribloque, pluronic F-127.

Ramón A. Gutiérrez – Saucedo<sup>1</sup>, Paulina Verduzco Navarro - <sup>1</sup>, María Isabel Zamora – González<sup>2</sup>, Luz Elena Nando – Rodríguez<sup>2</sup>, Antonio Topete<sup>3</sup>, Eduardo Mendizabal - Mijares<sup>1</sup>, **Edgar B. Figueroa – Ochoa<sup>1</sup>**.

<sup>1</sup> Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingeniería, Departamento de Química, Universidad de Guadalajara.

<sup>2</sup> Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingeniería, Departamento de Farmacología, Universidad de Guadalajara.

<sup>3</sup> Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Departamento de Fisiología, Universidad de Guadalajara.

ing.edgar.figueroa@hotmail.com

### Resumen

En este trabajo de investigación se efectuó la reacción química para realizar la derivatización de los grupos funcionales hidroxilo (-OH) contenidos en el copolímero tribloque pluronic F127, en grupos funcionales de carboxilo (-COOH). La caracterización química del complejo F127-COOH, se llevó a cabo mediante la técnica de espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) y RMN. Las mediciones del tamaño de partícula se realizaron tanto para el copolímero tribloque como para el complejo F127-COOH, mediante experimentos de dispersión de luz dinámica (DLS) con ángulo de 90°, así como la utilización de TEM. Este complejo formado, será utilizado posteriormente en la preparación de nanopartículas poliméricas y nanoestructuras funcionalizadas con moléculas guía, capaces de transportar de forma selectiva fármacos anticancerígenos.

### Introducción

Muchos fármacos usados en la actualidad para el tratamiento de una amplia gama de enfermedades incluyendo infecciones virales, bacterianas, hongos, trastornos como la hipercolesterolemia y diferentes tipos de cáncer son hidrófobos, es decir, poco solubles en agua. En las últimas dos décadas se ha hecho un gran esfuerzo en el desarrollo de una serie de productos terapéuticos estructurados de tamaño nanométrico, los cuales son capaces de solubilizar fármacos hidrófobos, permitiendo su liberación controlada y mejorando su farmacocinética en medio acuoso [Arias, (2011); Cho y col., (2008)].

Entre los sistemas de nanopartículas adecuados para encapsular y liberar fármacos se encuentran las micelas poliméricas formadas por copolímeros de bloques en disolventes

Estas nanopartículas poliméricas generan complejos estables y pueden ser modificadas en su superficie para modular sus propiedades, tienen estructuras moleculares de tamaños nanométricos que van de 10 a 100 nm. El núcleo tiene la función de favorecer la encapsulación del fármaco anticancerígeno y protegerlo del entorno fisiológico. La cubierta polimérica, además de aportar estabilidad al sistema dentro y fuera del organismo, puede tener distintas funciones como: interactuar con membranas celulares, favorecer el transporte del fármaco, acceso a células diana y controlar la liberación del fármaco, protege al fármaco de la degradación y modificar las propiedades de superficie para proporcionar una mejor interacción con materiales biológicos [Danhier y col., (2012); Albanese y col., (2012) y Wilczewska y col., (2012)].

Los tumores cancerígenos presentan características especiales, diferentes a los tejidos sanos. Tienen una rápida y desregulada proliferación, lo cual provoca un desarrollo vascular aumentado para poder abastecer sus requerimientos. Los tumores también presentan un drenaje linfático deficiente, angiogénesis aumentada, arquitectura vascular deficiente y una alta permeabilidad vascular. Estas características permiten a las nanopartículas acumularse en los tumores y posteriormente internalizarse en las células, fenómeno conocido como efecto de penetración y retención aumentada (efecto EPR) [Danhier y col., (2010) y Martínez-Soler y col., (2010)]. Otro mecanismo que utilizan las nanopartículas para poder internalizarse en las

células cancerosas es por medio de su funcionalización con moléculas guía (anticuerpos, péptidos, aptámeros y ácido fólico). El cual consiste en procesos de modificación de la superficie de las nanopartículas para el reconocimiento celular aprovechando la sobreexpresión de receptores en la superficie de la célula tumoral. El uso de este tipo de sistemas permite aumentar la especificidad del tratamiento a nivel celular.

De esta forma, es factible sintetizar nanopartículas teranósticas que combinen varios tipos de terapias y diagnóstico en un sistema único y que además sea capaz de dirigirse selectivamente a tejidos y células específicas, incrementando significativamente la efectividad terapéutica de los fármacos asociados, reduciendo al mismo tiempo la aparición de daños colaterales [Byrne y col. (2008), Wang y col., (2010) y Fay y col., (2011)].

La conjugación de dichas moléculas guía requiere la presencia de grupos funcionales reactivos en la superficie de de las NPs. Con esta finalidad, se han modificado los grupos terminales del P-F127 para proveerlo de grupos carboxilo fácilmente reaccionables con los grupos amino de anticuerpos monoclonales y péptidos.

El uso de vehículos capaces de incrementar la solubilidad de fármacos hidrofóbicos para ser suministrados en medio acuoso representa un área importante en la investigación y desarrollo farmacéutico, ya que de esta manera es posible mantener un nivel constante del fármaco dentro de un intervalo de concentración terapéuticamente eficaz. De estos sistemas, las nanopartículas poliméricas estabilizadas con Pluronic F127 (P-F127) proporcionan una excelente vehículo para la administración de fármacos por diversas vías fisiológicas, incrementando la solubilidad con gran variedad de sustancias [4]. Los Pluronicos son considerados materiales prometedores para el desarrollo de dispositivos médicos debido a su biocompatibilidad y la posibilidad de ser utilizado como transportadores de agentes bioactivos tales como fármacos, proteínas o factores de crecimiento así como para la regeneración de tejidos, generación de piel artificial, injertos óseos y conductos de tejido nervioso [5].

## **Materiales**

Los reactivos utilizados en este proyecto de investigación, son el copolímero tribloque pluronic F-127 ( $M_w = 12$  kDa), ácido cloroacético, hidróxido de sodio 10 M, HCl 6N y fosfato diácido de sodio, los cuales fueron adquiridos en la casa comercial Sigma-Aldrich. Todas soluciones se prepararon con agua desionizada ( $> 18$  M $\Omega$  cm).

## **Metodología**

Se preparó una solución al 5 % en peso de F-127/Agua, disolviendo el pluronic F-127 lentamente en agua a baja temperatura, el sistema se coloca en un baño de hielo para evitar la formación de grumos y burbujas, con agitación moderada. Posteriormente se preparó la solución de ácido cloroacético en agua y se le agrega 40  $\mu$ L de NaOH 10 M ( $[\text{NaOH}]:[\text{ClCH}_2\text{COOH}] = 3$ ) agitando la solución durante 30 s en un baño helado. Finalmente se mezcló el cloroacetato de sodio generado en el paso anterior, con la disolución P-F127/Agua y se dejó reaccionar por 24 horas a temperatura ambiente (25°C) con una agitación moderada para evitar la formación de espuma causada por el cambio de pH y las propiedades tensioactivas características de los copolímeros tribloque. Se detuvo la reacción mediante la adición de 4 mg de fosfato diácido de sodio y se ajustó el pH a 7 mediante la adición de solución de HCl 6N.

La Purificación del complejo formado (Pluronic F127-COOH), se realiza mediante diálisis con membranas MWCO 3000 Da, en agua desionizada por 48 horas, cambiando el agua de la diálisis cada 12 h con la finalidad de remover el exceso de reactivos. La Identificación de los grupos funcionales del complejo formado F127-COOH, se realiza mediante espectroscopia de infrarrojo FTIR y RMN, identificando las modificaciones de los espectros del copolímero, antes y después de su derivatización. Por otra parte las mediciones del tamaño de partícula, se realizaron mediante experimentos de dispersión de luz dinámica (DLS, ALV-5000F, ALV-GmbH, Alemania) con ángulo de 90°, utilizando las funciones de correlación del DLS con el método CONTIN, así como la utilización de TEM.

## **Resultados**

En la Figura 1 se muestra el espectro del copolímero tribloque F-127 (línea azul) y el complejo F-127-COOH (línea roja) sin modificación en su estructura, por lo que en el rango de 1500 a 2600  $\text{cm}^{-1}$  de longitud de onda no aparecen perturbaciones considerables, mientras que en la figura 2 y 3, perteneciente al espectro del PF127-COOH muestra modificaciones en el espectro en ese rango, principalmente en una longitud de onda de 1631 y 1966  $\text{cm}^{-1}$  debidas las vibraciones fundamentales y a la estructura rotacional del grupo carbonilo [8].

Figura 1. Espectros IR, F-127 y F127-COOH.

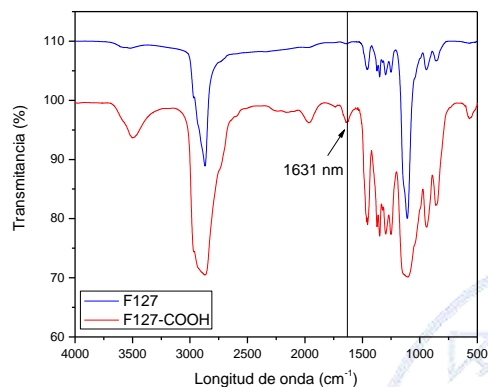
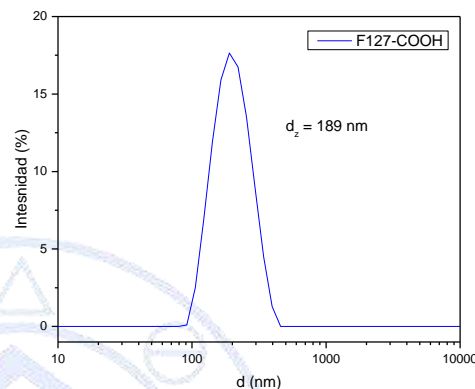


Figura 2. Tamaño de partícula complejo F127-COOH.



## Conclusiones

En este trabajo se encontró que el ácido cloroacético, bajo condiciones básicas en medio acuoso, puede modificar los hidroxilos no reactivos del P-F127 a grupos carboxilo. Esta reacción se lleva a cabo en polisacáridos y polímeros los cuales llevan en su estructura grupos hidroxilo, sin presencia de otros grupos funcionales, que pasan a ser grupos carboxilo, los cuales tienen la posibilidad de un gran número de reacciones de conjugación secundarias con otros nucleófilos, tales como aminas, si están presentes en la matriz. La reacción utilizada para la carboxilación del P-F127 demostró ser efectiva, así como el método de eliminación de impurezas mediante diálisis.

Se logró obtener el polímero con grupos carboxilo los cuales posteriormente pueden servir como sitios de anclaje de moléculas guía mediante técnicas de bioconjugación como la química de carbodiimida.

## Referencias

- [1] Farokhzad O. C., Langer R., "Impact of Nanotechnology on Drug Delivery". *ACS Nano*, Vol. 3, No. 1, p. 16-20, 2009.
- [2] Saxena V., Sadoqi M., Shao J., "Polymeric nanoparticulate delivery system for Indocyanine green: Biodistribution in healthy mice", *International Journal of Pharmaceutics*. Vol. 308, No. 1-2, p. 200-2004, 2006.
- [3] Jain R. A., "The manufacturing techniques of various drug loaded biodegradable poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) devices", *Biomaterials*, Vol. 21, No. 23, p. 2475-90, 2000.
- [4] Bilati U., Allémann E., Doelker E., "Development of a nanoprecipitation method intended for the entrapment of hydrophilic drugs into nanoparticles", *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 24, No. 1, p. 67-75, 2005.
- [5] Kwon G. S. "Polymeric Micelles for Delivery of Poorly Water-Soluble Compounds", *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, Vol. 20, No. 5, p. 1-47, 2003.
- [6] Topete A., Melgar D., Alatorre-Meda M., Iglesias P., Argibay B., Vidawati S., et al. "NIR-light active hybrid nanoparticles for combined imaging and bimodal therapy of cancerous cells". *Journal of Materials Chemistry B*, Vol. 2, No. 40, p. 6967-6977, 2014.

[7] Sperling R. A., Parak W. J., “Surface modification, functionalization and bioconjugation of colloidal inorganic nanoparticles”, *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, Vol. 368, No. 1915, p. 1333-1383, 2010.

[8] Chen Y. Z., Zhang W., Huang Y. K., Gao F., Fang, X. L., “Dual-functional c(RGDyK)-decorated Pluronic micelles designed for antiangiogenesis and the treatment of drug-resistant tumor”. *International Journal of Nanomedicine*. Vol. 10, No. 1, p. 4862-4881, 2015.

Albanese, A., Tang, P.S., Chan, W.C., “The effect of nanoparticle size, shape, and surface chemistry on biological systems”. *Annual review of biomedical engineering*, 14, 1-16, (2012).

Alexandridis, P., Olsson, U., Lindman, B., “Self-assembly of amphiphilic block copolymers: the (EO)13(PO)30(EO)13-water-p-xylene system”, *Macromol.*, 28, 7700, (1995).

Almgren, M., Brown, W., Hvidt, S., “Self-aggregation and phase behavior of poly(ethylene glycol) – poly(propylene glycol) – poly(ethylene glycol) block copolymers in aqueous solution”, *Colloid Polym. Sci.*, 2, 273, (1995).

Arias, J. L., “Drug targeting strategies in cancer treatment: an overview”. *Rev. Med. Chem.*, 11, 1-17, (2011).

Battaglia, G. and Ryan, A. J., “Bilayers and interdigitation in block copolymer vesicles”. *J. Am. Chem. Soc.*, 127, 8757-8764, (2005).

Byrne, J.D., Betancourt, T., Brannon-Peppas, L., “Active targeting schemes for nanoparticle systems in cancer therapeutics”. *Advanced drug delivery reviews*, 60, 1615-1626, (2008).

Cho, K., Wang, X., Nie, S., Chen, Z., Shin, D., “Therapeutic nanoparticles for drug delivery in cancer”. *Clin. Cancer Res.*, 14, 1310-1316, (2008).

Danhier, F., Feron, O., Preat, V., “To exploit the tumor microenvironment: Passive and active tumor targeting of nanocarriers for anti-cancer drug delivery”. *Journal of controlled release*, 148, 135-146, (2010).

Danhier, F., Ansorena, E., Silva, J.M., Coco, R., Le Breton, A., Preat, V., “PLGA-based nanoparticles: an overview of biomedical applications. *Journal of controlled release*”. *Journal of the Controlled Release Society*, 161, 505-522, (2012).

Fay, F., Scott, C.J., “Antibody-targeted nanoparticles for cancer therapy”. *Immunotherapy*, 3813-94, (2010).

Hamaguchi, T., Matsumura, Y., Suzuki, M., Shimizu, K., Goda, R., Nakamura, I., Nakatomi, I., Yokoyama, M., “NK105, a paclitaxel incorporating micellar nanoparticle formulation, can extend in vivo antitumour activity and reduce the neurotoxicity of paclitaxel”. *Br. J. Cancer*, 92, 1240-1246, (2005).

Martínez-Soler, G., Pérez-Artacho, B., Sàez-Fernández, E., Gallardo, V., Arias, J.L., “Estrategias para el transporte de fármacos basadas en el efecto de permeación y retención aumentada”. *Ars Pharm.*, 51, 113-116, (2010).

Velázquez, B., “Farmacología básica y clínica”. 18a ed., Ed. Médica Panamericana., pg 957-996, ISBN 978-84-9835-162-2, (2008).

Wang, H., Xu, J., Wang, J., Chen, T., Wang, Y., Tan, Y.W., Su, H., Chang, K.L., Chen, H., “Probing the kinetics of short-distance drug release from nanocarriers to nanoacceptors”. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 49, 8426-8430, (2010).

Wang, M., Thanou, M., “Targeting nanoparticles to cancer”. *Pharmacological research*, 62, 90-99, (2010).

Wilczewska, A.Z., Niemirowicz, K., Markiewicz, K.H., Car, H., “Nanoparticles as drug delivery systems”. *Pharmaceutical research*, 64, 1020-1037, (2012).

Sociedad Química de México, A.C.

“La química nos une”



## **Obtención de sistemas vesiculares no iónicos (niosomas) usando dos diferentes métodos de manufactura**

Aguilar-Jiménez, Zenayda<sup>a</sup>; Ruiz-Azuara, Lena<sup>a</sup>.

<sup>a</sup> Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México. Circuito exterior S/N, Ciudad Universitaria, Coyoacán, Ciudad de México.  
[zenayda\\_aj@hotmail.com](mailto:zenayda_aj@hotmail.com).

Los métodos de formación de los sistemas vesiculares no iónicos (niosomas) están siendo ampliamente evaluados dada la aplicación de los niosomas como sistemas de liberación de fármacos. Al evaluar el tamaño de partícula en la formación de las vesículas por medio del método de hidratación de la película delgada (MHPD) y el método de inyección del éter (MIE), se encontró que para ambos métodos, cuando la concentración del tensoactivo (más aditivos) aumenta, el número de poblaciones y la polidispersidad aumenta, mientras que cuando la concentración es menor se reduce el tamaño y poblaciones de partícula. Pese a que los resultados son semejantes para ambos métodos, el MIE presenta ventajas como ausencia de sonicado y menor volumen de disolvente utilizado, lo que se traduce en un menor costo, menor gasto energético y menor dificultad de escalamiento industrial.

### Introducción

Los niosomas son vesículas en bicapas formadas a partir de tensoactivos no iónicos, un aditivo como colesterol y alguna molécula cargada para otorgarles estabilidad; estos sistemas fueron reportados por L'oreal en 1980 y han sido estudiados como sistemas nanoacarreadores de fármacos, alimentos y cosméticos<sup>1</sup>. Los niosomas ofrecen ventajas sobre los liposomas como bajo costo y alta estabilidad química. Además, dada su estructura en bicapas, pueden encapsular compuestos hidrofílicos y lipofílicos, obteniéndose altas eficiencias de encapsulación<sup>2,3</sup>. Se ha reportado la formación de los sistemas vesiculares a partir de diversos métodos entre los que destacan el método de hidratación de la película delgada y el método de inyección del éter. Sin embargo, se ha visto, que el primero puede presentar baja reproducibilidad, uso de disolventes tóxicos y difícil escalamiento industrial<sup>4</sup>.

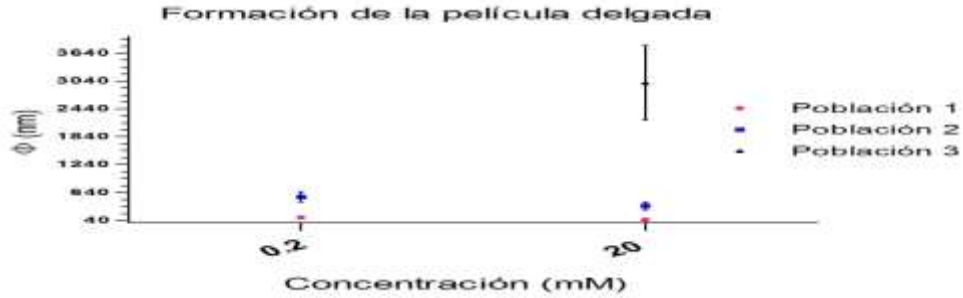
### Estrategia experimental

Se realizó la formación de los sistemas vesiculares por medio de dos métodos: Método de la hidratación de la película delgada (MHPD) y método de inyección del éter (MIE), en ambos casos se utilizó monoesterato de sorbitan (Span60) y colesterol (relación molar 1:1). La concentración de la mezcla Span60/Colesterol (S/C) fue variada para conocer su influencia en el tamaño de partícula que fue evaluada mediante la técnica de dispersión dinámica de luz. En el método de HPD, la cantidad correspondiente de S/C se disolvió en 10 mL de metanol/diclorometano (1:4 v/v), posteriormente los disolventes fueron removidos bajo vacío para formar una película delgada que fue hidratada con 10 mL de agua destilada a 60 °C, la dispersión se sonicó durante una hora. En el caso del método de IE, la cantidad correspondiente de S/C fue disuelto en éter etílico; esta disolución fue agregada por goteo a 10 mL de de agua destilada a 60 °C. El sistema se dejó en agitación lenta durante 90 minutos a temperatura ambiente hasta la evaporación del éter. Del sistema obtenido, 5 mL fueron sometidos a sonicación durante 30 minutos. Los niosomas fueron observados por microscopía electrónica de transmisión.

### Resultados y discusiones

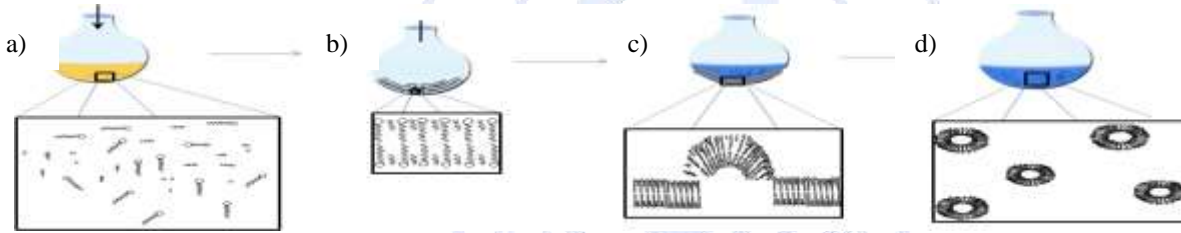
#### *Método de hidratación de la película delgada (MHPD)*

En la figura 1, se presentan el tamaño de partícula de las vesículas obtenidas por el MHPD, donde las concentraciones fueron de 0.2 y 20 mM. Comúnmente para este método, las concentraciones usadas van de 10-30 mM con formación de vesículas multilamelares grandes, utilizando sonicado y en algunos casos extrusión para la disminución del tamaño de partícula. En este trabajo se observó que cuando se utilizó 20 mM se obtuvieron tres poblaciones, mientras que a 0.2 mM, se observaron 2 poblaciones. La diferencia en el número de poblaciones, pudo ser debida al espesor de la película formada, que al ser hidratada probablemente provocó formación de niosomas por arriba de 3000 nm para 20 mM, mientras que para 0.2 mM, los niosomas estuvieron por debajo de 700 nm. Asimismo, se ha visto que el aplicar sonicado puede causar una mayor polidispersidad, provocando la aparición de poblaciones con menor tamaño de partícula. Hao y Li en 2010, reportaron que a una menor concentración se obtiene mejores eficiencias de encapsulación<sup>5</sup>.



**Figura 1.** Tamaño de partícula obtenido con a) método de la película delgada con dos diferentes concentraciones de S/C (0.2 y 20 mM).

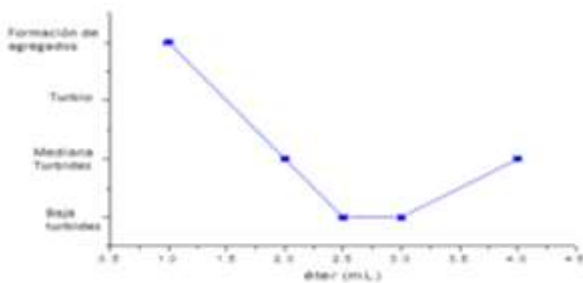
En la figura 2 se esquematiza una propuesta de formación de los sistemas vesiculares por el MHPD. Posterior a la disolución del tensoactivo y el colesterol (figura 2a), se da la evaporación del disolvente para la formación de la película (figura 2b), durante la cual las cabezas hidrófilas podrían orientarse hacia la superficie del matraz, dada la hidrofiliidad del vidrio de borosilicato; mientras que las colas hidrocarbonadas se orientan hacia el espacio aire/vacio con posibles interacciones hidrofóbicas entre ellas, dado su parámetro de empaquetamiento<sup>6</sup>. Por su parte, los monómeros de colesterol podrían encontrarse formando puentes de hidrógeno con las cabezas polares del tensoactivo, acomodándose entre los monómeros del Span60. Posteriormente, se puede observar la hidratación de la película delgada (figura 2c) a la temperatura de transición de fases del Span60 (60 °C)<sup>34</sup>. Cuando el agua precalentada es agregada a la película formada, ocurre la hidratación de las cabezas hidrófilas y posteriormente un hinchamiento de la bicapa por la penetración de las moléculas de agua en el espacio interlamelar lo que provoca una alta tensión superficial y una curvatura diferente a cero<sup>78</sup>, formando vesículas unilamelares y multilamelares grandes.



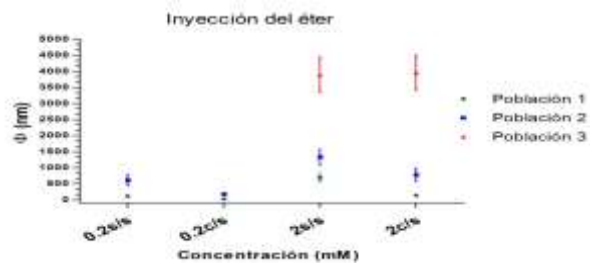
**Figura 2.** Probable formación por el MHPD, donde a) monómeros de S/C en metanol/diclorometano b) Arreglo de los monómeros en la película, c) hidratación, d) vesículas formadas luego de la hidratación.

*Método de inyección del éter (MIE)*

Previo a la formación de los niosomas, se evaluó de forma visual la cantidad de disolvente a utilizar, observando si se presentaba una baja, mediana o alta turbidez (figura 3). Cuando la cantidad de éter fue de 1 mL se observó precipitación del tensoactivo, y mientras el volumen aumentaba se observó una menor turbidez. No así, para 4 mL donde la turbidez del medio aumentó. Se ha reportado que el volumen donde se obtienen menores tamaños de partícula para liposomas es de 25 %. Es por lo observado y por lo reportado en la literatura, que se utilizó 2.5 mL de éter etílico para la formación de los niosomas.



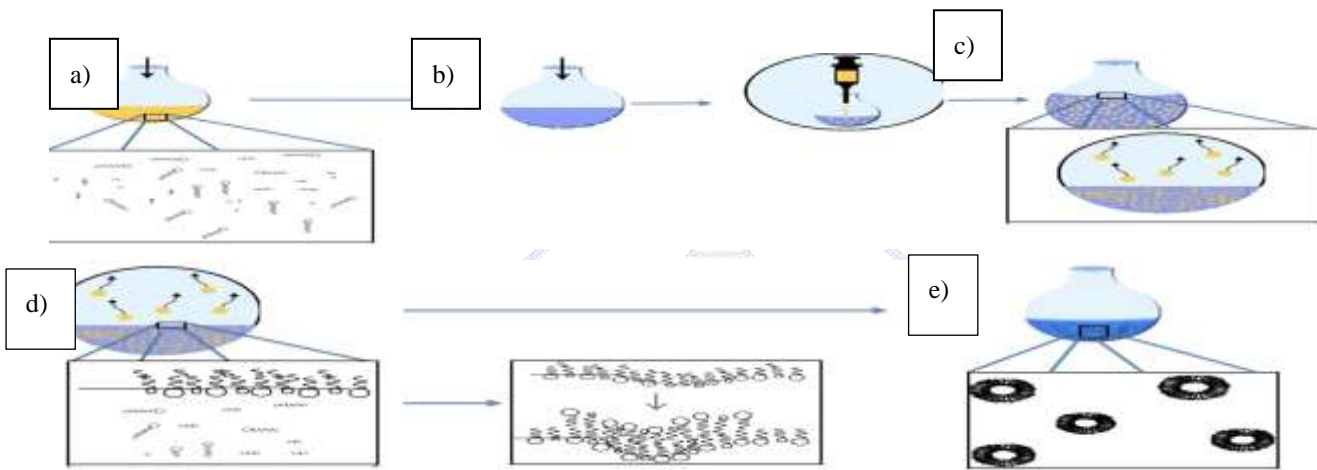
**Figura 3.** Evaluación de forma visual si existía una turbidez en F el sistema dependiente del volumen del disolvente.



**Figura 4.** Tamaño de partícula obtenido mediante el MIE para 0.2 y 2 mM, donde s/s: sin sonicado y c/s: con sonicado.

El tamaño de partícula obtenido con el método de HPD es presentado en la figura 4, cuando la concentración fue de 2 mM, se obtuvieron (con y sin sonificado) tres poblaciones, mientras que cuando la concentración fue menor (0.2 mM) se obtuvieron dos poblaciones, siendo menor el tamaño cuando fue aplicado sonificado.

En la figura 5 se presenta la propuesta de formación de los niosomas por el MIE, donde el tensoactivo y el colesterol es disuelto en éter etílico (figura 5a). Posteriormente, se realizó una inyección por goteo de la disolución del éter en el agua precalentada (60 °C), donde se espera una rápida evaporación del disolvente (figura 5c), mientras que las cadenas del tensoactivo comienzan a migrar a la superficie del agua, ya que se ha visto que las cadenas del Span60 pueden formar monocapas, donde las cadenas hidrocarbonadas son dirigidas hacia el espacio aire/vacio, mientras que las cabezas polares se dirigen a la fase acuosa (figura 5d)<sup>9</sup>. Cuando la concentración del tensoactivo aumenta, la presión superficial es suficiente para llegar a una alta tensión interfacial entre el agua y la porción hidrocarbonada, lo que favorece la asociación de los monómeros anfifilos dentro de las vesículas (figura 5e).

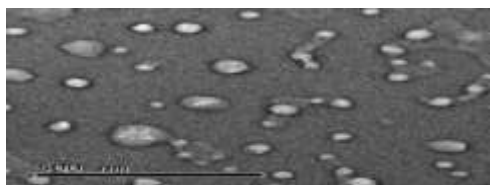


**Figura 5.** Formación de los niosomas mediante el MIE. Donde a) monómeros de S/C en éter, b) agua destilada a 60 °C, c) inyección por goteo y evaporación del disolvente, d) formación de la monocapa, e) formación de pequeñas y grandes vesículas unilamelares.

En el cuadro 1, se presenta una comparación del tamaño de partícula obtenido por ambos métodos fijando la concentración de la mezcla S/C a 0.2 mM, (tomando los datos de sin sonificado para el MIE). Pese a que las poblaciones obtenidas para ambos métodos fueron semejantes, el MIE, presenta ventajas como ausencia de sonificado (menor gasto energético, mayor facilidad de escalamiento industrial), el tamaño de partícula no es dependiente del espesor de la película formada y se utiliza una mejor cantidad de disolvente, siendo menos tóxico el éter, que el diclorometano/metanol para su uso en productos farmacéuticos. En la figura 6 se presentan las micrografías de los niosomas obtenidos por el método de inyección del éter.

Método	$\Phi \pm DE$ (nm)	porcentaje en número
Hidratación de la película delgada	101± 22 545±110	99.5 0.5
Inyección del éter	108±30 610±170	99 1

Cuadro 1. Comparación del tamaño de partícula obtenido por ambos métodos para una concentración de S/C de 0.2 mM.



**Figura 6.** Micrografías de los niosomas.

## Conclusiones

Se realizó la formación de los niosomas por el método de hidratación de la película delgada y el método de inyección del éter, donde se encontró que el segundo método presenta ventajas como ausencia de sonicado, lo que representa un menor gasto energético, se requiere menos volumen de disolvente y se utiliza éter que se trata de un disolvente menos tóxico para la salud humana.

Se obtuvo un sistema niosomal que fue observado mediante TEM.

## Referencias

- (1) Uchegbu, I. F.; Vyas, S. P. *Int. J. Pharm.* **1998**, *172*, 33–70.
- (2) Nasir, A.; Harikumar, S.; Amanpreet, K. *Int. J. Res. Pharm. Chem.* **2012**, *2* (2), 479–487.
- (3) Rajera, R.; Nagpal, K.; Singh, S. K.; Mishra, D. N. *Biol. {&}pharmaceutical Bull.* **2011**, *34* (July), 945–953.
- (4) Moghassemi, S.; Hadjizadeh, A. *J. Control. Release* **2014**, *185*, 22–36.
- (5) Hao, Y. M.; Li, K. *Int. J. Pharm.* **2011**, *403*, 245–253.
- (6) Cohen, A.; Bagatolli, L. a. *Langmuir* **2004**, *20* (6), 9720–9728.
- (7) Lasic, D. . *J. Colloid Interface Sci.* **1990**, *140* (1), 302–304.
- (8) Walde, P.; Cosentino, K.; Engel, H.; Stano, P. *ChemBioChem* **2010**, *11*, 848–865.
- (9) Peltonen, L.; Yliruusi, J. *J. Colloid Interface Sci.* **2000**, *227*, 1–6.

