



**INSTITUTO POTOSINO DE INVESTIGACIÓN  
CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA, A.C.**

**POSGRADO EN NANOCIENCIAS Y MATERIALES**

**Síntesis de nanopartículas de  $\text{SiO}_2$  como  
potenciales vehículos para administración  
de fármacos**

Tesis que presenta

**Claudia Verónica Espinoza Silva**

Para obtener el grado de

**Maestra en Nanociencias y Materiales**

**Director de la Tesis:**

**Dr. Vicente Rodríguez González**

San Luis Potosí, S.L.P., 12 de noviembre de 2015



## Constancia de aprobación de la tesis

La tesis “**Síntesis de nanopartículas de SiO<sub>2</sub> como potenciales vehículos para administración de fármacos**” presentada para obtener el Grado de Maestra en Nanociencias y Materiales fue elaborada por **Claudia Verónica Espinoza Silva** y aprobada el **12 de noviembre de 2015** por los suscritos, designados por el Colegio de Profesores de la División de Materiales Avanzados del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.

---

Dr. Vicente Rodríguez González  
(Director de la tesis)

---

Dr. Miguel Ávalos Borja  
(Miembro del Comité Tutorial)

---

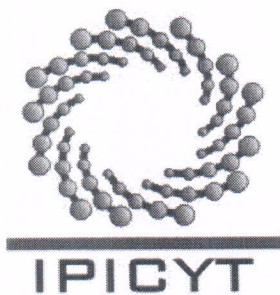
Dra. Alma Gabriela Palestino Escobedo  
(Miembro del Comité Tutorial)



## **Créditos Institucionales**

Esta tesis fue elaborada en el Laboratorio de Nuevos materiales y catálisis heterogénea ambiental de la División de Materiales Avanzados del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., bajo la dirección del Dr. Vicente Rodríguez González.

Durante la realización del trabajo el autor recibió una beca académica del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT 302291) y del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A. C. La beca mixta para estancias en el extranjero del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT MZO2016). Se adquirió una beca del comité de becas de Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A. C.



# Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.

## Acta de Examen de Grado

El Secretario Académico del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., certifica que en el Acta 016 del Libro Primero de Actas de Exámenes de Grado del Programa de Maestría en Nanociencias y Materiales está asentado lo siguiente:

En la ciudad de San Luis Potosí a los 12 días del mes de noviembre del año 2015, se reunió a las 16:15 horas en las instalaciones del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., el Jurado integrado por:

|  |                   |               |
|--|-------------------|---------------|
| <b>Dra. Alma Gabriela Palestino Escobedo</b> | <b>Presidenta</b> | <b>UASLP</b>  |
| <b>Dr. Miguel Avalos Borja</b>               | <b>Secretario</b> | <b>IPICYT</b> |
| <b>Dr. Vicente Rodríguez González</b>        | <b>Sinodal</b>    | <b>IPICYT</b> |

a fin de efectuar el examen, que para obtener el Grado de:

**MAESTRA EN NANOCIENCIAS Y MATERIALES**

sustentó la C.

**Claudia Verónica Espinoza Silva**

sobre la Tesis intitulada:

*Síntesis de nanopartículas de SiO<sub>2</sub> como potenciales vehículos para administración de fármacos*

que se desarrolló bajo la dirección de

**Dr. Vicente Rodríguez González**


El Jurado, después de deliberar, determinó

**APROBARLA**

Dándose por terminado el acto a las 17:30 horas, procediendo a la firma del Acta los integrantes del Jurado. Dando fe el Secretario Académico del Instituto.

A petición de la interesada y para los fines que a la misma convengan, se extiende el presente documento en la ciudad de San Luis Potosí, S.L.P., México, a los 12 días del mes de noviembre de 2015.

  
**Mtra. Ivonne Lizette Cuevas Vélez**  
Jefa del Departamento de Posgrado

  
**Dr. Marcial Bonilla Marín**  
Secretario Académico



## **Dedicatorias**

A mis padres, por su amor, su apoyo incondicional, su presencia y su inspiración porque ellos me inspiran día a día a ser como ellos, una gran persona en todos los sentidos y porque gracias a ellos soy esto. GRACIAS LOS AMO.

A mis hermanos porque a pesar de que somos tan diferentes y que les ha tocado tolerar a una hermana demasiado egocéntrica, enojona y dura siempre han estado ahí apoyándome, queriéndome y aguantándome. Mi vida no sería lo mismo sin ustedes, los amo.

A toda mi familia, que en forma diferente tal vez pero siempre han estado presentes y me han apoyado. GRACIAS no tengo como pagarlo, todos y cada uno de ustedes desde el más pequeño hasta mis abuelos están en mi corazón.

A mis amigos, porque todos ellos en diferentes etapas han sido un gran apoyo en mi vida y se han convertido en un segunda familia para mí.

## Agradecimientos

Agradezco al Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A. C. por las facilidades prestadas, instalación e infraestructura, para la realización de este trabajo de tesis. Así también extendiendo un agradecimiento a todo el personal de esta institución por todos los servicios proporcionados.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca No. 302291 otorgada para realización de mis estudios de Maestría y la beca mixta para la realización de la estancia. Así como por el apoyo financiero proporcionado a través de los proyectos SEP-CONACYT 2014 S-2780 y CB-2011/169597.

Al Dr. Vicente Rodríguez González por todo el apoyo y dirección brindada para la realización de esta tesis, así como todo el conocimiento compartido en este proceso. Le agradezco también el haberme facilitado los medios suficientes para el desarrollo de esta tesis.

A mi comité tutorial, la Dra. Alma Gabriela Palestino y el Dr. Miguel Avalos Borja por el tiempo, observaciones y consejos.

Al Laboratorio Nacional de Investigación de Nanociencias y Nanotecnología (LINAN) y al Laboratorio Nacional de Biotecnología Agrícola, Médica y Ambiental (LANBAMA) por permitirme el uso de su infraestructura para la caracterización de mis muestras. Muy especialmente a los técnicos del LINAN y LANMABA, Dr. Héctor Gabriel Silva Pereira, Dra. Gladis Judith Labrada Delgado, M. C. Beatriz Adriana Rivera Escoto, M.C. Ana Iris Peña Maldonado y M. C. Dulce Isela de Fátima Partida Gutiérrez por el apoyo brindado en la caracterización.

A la Dra. Andrea de Vizcaya Ruíz y la M. C. Silvia Aidee Solorio Rodríguez por el apoyo en los análisis de citotoxicidad, así mismo agradezco al Centro de investigación y estudios avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV) por permitir el uso de sus instalaciones.

A la Dra. Eliana María Barbosa Souto y la Dra. Carla Vitorino por el apoyo en la evaluación de los materiales sintetizados, así mismo agradezco a la Universidad de Coímbra por permitir el uso de sus instalaciones.

A mis compañeros del Laboratorio de Nuevos Materiales y Catálisis Heterogénea Ambiental, Jacky, Jonathan, Anel, Mariana, David, Silvia, Blanca, Erick y Marisa, por la compañía, el apoyo, los consejos, la instrucción y sobre todo la amistad.

A mis amigos de maestría y de la vida Carito (mi hermanita del alma), Anayeli, Ana Clau, Paquito, Fernandito, Gama, Iván, Blanquita y Silvia por el apoyo, las horas de desvelo, la compañía, la diversión y la convivencia.

A mi FAMILIA y AMIGOS, cada uno de ustedes ha estado presentes en algún momento o muchos momentos del desarrollo de este trabajo, pero especialmente a MIS PADRES Y MIS HERNAMOS, porque gracias a ellos soy e hice todo esto.

Principalmente a DIOS, porque él ha puesto en mi camino a grandes seres humanos. Sin él no tendría tantas personas a las cuales agradecer, su amor, su apoyo y su compañía.

# Contenido

|  |       |
|--|-------|
| Constancia de aprobación de tesis                                | ii    |
| Créditos institucionales   | iii   |
| Acta de examen   | iv    |
| Dedicatorias   | v     |
| Agradecimientos  | vi    |
| Lista de tablas  | xi    |
| Lista de Figuras   | xii   |
| Abreviaturas   | xv    |
| Resumen  | xvii  |
| Abstract   | xviii |
| <b>Introducción</b>  | 1     |
| <b>Hipótesis y objetivos</b>                                     | 6     |
| <b>Capítulo 1. Marco Teórico</b>                                 | 7     |
| 1.1 Antecedentes   | 8     |
| 1.1.1 Materiales porosos   | 8     |
| 1.1.2 Síntesis de NPsSiO <sub>2</sub>                            | 9     |
| 1.1.3 Síntesis de NPsSiO <sub>2</sub> porosas                    | 11    |
| 1.2 Aplicación   | 15    |
| 1.2.1 Sistemas de liberación controlada                          | 15    |
| <b>Capítulo 2. Síntesis y caracterización</b>                    | 19    |
| 2.1 Síntesis   | 20    |
| 2.1.1 Síntesis de las NPsSiO <sub>2</sub> porosas                | 20    |
| 2.1.2 Síntesis de las NPsSiO <sub>2</sub> sólidas                | 22    |
| 2.1.3 Funcionalización de las NPsSiO <sub>2</sub> porosas        | 23    |
| 2.1.4 Adsorción de Aspirina                                      | 23    |
| 2.1.5 Preparación de la solución de fluido corporal simulado PBS | 24    |
| 2.1.6 Adsorción de Rodamina B                                    | 24    |
| 2.1.7 Adsorción de Ibuprofeno                                    | 24    |
| 2.2 Caracterización  | 25    |



|  |           |
|--|-----------|
| 2.2.1 Difracción de rayos X  | 25        |
| 2.2.2 Dispersión de rayos X a bajo ángulo                                    | 25        |
| 2.2.3 Espectrometría infrarroja por transformada de Fourier                  | 25        |
| 2.2.4 Microscopia electrónica de barrido                                     | 26        |
| 2.2.5 Microscopia electrónica de transmisión                                 | 26        |
| 2.2.6 Fisorción de N <sub>2</sub>  | 26        |
| 2.2.7 Dispersión de luz dinámica, punto isoelectrico y potencial Z           | 26        |
| <b>Capítulo 3. Pruebas de liberación y viabilidad celular</b>                | <b>27</b> |
| 3.1 Ensayos de viabilidad celular  | 28        |
| 3.1.1 Ensayos de viabilidad celular MTT                                      | 29        |
| 3.2 Ensayos de liberación  | 29        |
| 3.2.1 Liberación de Rodamina B   | 29        |
| 3.2.2 Liberación de Ibuprofeno   | 29        |
| 3.2.3 Espectroscopia UV-vis  | 30        |
| <b>Capítulo 4. Resultados y discusión</b>                                    | <b>31</b> |
| 4.1 Caracterización de las NPsSiO <sub>2</sub>                               | 32        |
| 4.1.1 Microscopia electrónica de barrido                                     | 32        |
| 4.1.2 Difracción de rayos x  | 34        |
| 4.1.3 Espectrometría infrarroja por transformada de Fourier                  | 35        |
| 4.1.4 Microscopia electrónica de transmisión                                 | 36        |
| 4.1.5 Fisorción de N <sub>2</sub>  | 37        |
| 4.1.6 Dispersión de rayos X a bajo ángulo                                    | 39        |
| 4.1.7 Dispersión de luz dinámica y potencial Z                               | 39        |
| 4.1.8 Ensayos de viabilidad celular MTT                                      | 40        |
| 4.2 Funcionalización y evaluación de las NPsSiO <sub>2</sub>                 | 41        |
| 4.2.1 Espectrometría infrarroja por transformada de Fourier                  | 41        |
| 4.2.2 Punto isoelectrico   | 43        |
| 4.2.3 Pruebas de liberación con moléculas modelo                             | 43        |
| 4.2.4 Microscopía electrónica de barrido de las NPsSiO <sub>2</sub> -IBU     | 43        |
| 4.2.4 Microscopía electrónica de transmisión de las NPsSiO <sub>2</sub> -IBU | 45        |
| <b>Conclusiones</b>  | <b>48</b> |

|  |    |
|--|----|
| <b>Perspectivas</b>  | 50 |
| <b>Anexos</b>  | 51 |
| <b>Anexo 1. Otros materiales porosos evaluados en liberación controlada</b>      | 51 |
| A.1.1 Ensayos de viabilidad celular MTT  | 51 |
| A.1.2 Dispersión de luz dinámica y potencial Z                                   | 52 |
| A.1.3 Pruebas de liberación con moléculas modelo                                 | 53 |
| <b>Anexo 2. Clasificación de isotermas de adsorción e histéresis de la IUPAC</b> | 55 |
| <b>Anexo 3. Curvas de calibración de Rodamina B e Ibuprofeno</b>                 | 57 |
| <b>Anexo 4. Modelo de Korsmeyer-Pepas</b>  | 59 |
| <b>Referencias Bibliográficas</b>  | 61 |

## Lista de tablas

|   |    |
|---|----|
| <b>Tabla 1.</b> Clasificación de los materiales porosos (IUPAC)                               | 4  |
| <b>Tabla 1.1.</b> Grupos terminales presentes en las SiO <sub>2</sub> NPs                     | 13 |
| <b>Tabla 2.1.</b> Reactivos   | 20 |
| <b>Tabla 2.2.</b> Parámetros modificados  | 21 |
| <b>Tabla 4.1.</b> Resultados de fisisorción de N <sub>2</sub>                                 | 38 |
| <b>Tabla 4.2.</b> Características de las NPsSiO <sub>2</sub> en solución                      | 38 |
| <b>Tabla 4.3.</b> Cantidad y porcentajes de liberación  | 43 |
| <b>Tabla A.1.</b> Características de las NPsSiO <sub>2</sub> con 1 y 5 % Fe en solución       | 52 |
| <b>Tabla A.2.</b> Cantidad y porcentajes de liberación de las NPsSiO <sub>2</sub> 1 y 5 % Fe. | 53 |
| <b>Tabla A3.</b> Datos de liberación de Rodamina B  | 57 |
| <b>Tabla A4.</b> Datos de liberación de Ibuprofeno  | 58 |

## Lista de figuras

|  |    |
|--|----|
| <b>Fig. 1.</b> Matrices orgánicas e inorgánicas empleadas como vehículos en la dosificación de fármacos.   | 2  |
| <b>Fig. 2.</b> Escala de comparación de los órdenes de magnitud hasta llegar a la escala nanométrica.  | 3  |
| <b>Fig. 1.1.</b> a) Estructuras de la familia M41S, en orden MCM-41(fase hexagonal), MCM-48 (fase cubica), MCM-50 (fase laminar). b) Acercamiento a la estructura porosa de la MCM-41. c) Estructura micro y mesoporosa de la familia SBA. | 9  |
| <b>Fig. 1.2.</b> Número de publicaciones a partir de 2001 a la fecha de trabajos en el área del uso de nanoparticulas en liberación controlada de fármacos, reporte de ISIweb.   | 9  |
| <b>Fig. 1.3.</b> a) Reacción de hidrólisis del precursor alcoxilano en medio acuoso y básico. b) Reacciones de condensación.   | 11 |
| <b>Fig. 1.4.</b> Diagrama del proceso de síntesis de las NPsSiO <sub>2</sub> .   | 12 |
| <b>Fig. 1.5.</b> Representación esquemática de la a) funcionalización post-síntesis, b) funcionalización co-condensación.  | 14 |
| <b>Fig. 1.6.</b> Representación de los diferentes vehículos en escala manométrica que se usan como sistemas de liberación controlada.  | 16 |
| <b>Fig. 1.7.</b> Esquema en el cual se explica resumidamente el proceso por el cual se sintetizan, cargan y funcionalizan las nanopartículas.  | 16 |
| <b>Fig. 1.8.</b> Diversidad de estímulos empleados para el proceso de liberación controlada.   | 17 |
| <b>Fig. 1.9.</b> Esquemización del fenómeno estímulo- respuesta.   | 17 |
| <b>Fig. 2.1.</b> Esquema representativo de la síntesis de las NPsSiO <sub>2</sub> mesoporosas.   | 22 |
| <b>Fig. 2.2.</b> Esquema representativo de la síntesis de las NPsSiO <sub>2</sub> sólidas.   | 22 |

|  |    |
|--|----|
| <b>Fig. 2.3.</b> Esquema representativo de la funcionalización de las NPsSiO <sub>2</sub> mesoporosas.   | 23 |
| <b>Fig. 3.1.</b> Esquema representativo del proceso de evaluación de citotoxicidad.  | 28 |
| <b>Fig. 4.1</b> Imágenes de SEM donde se aprecia la morfología y tamaño de las NPsSiO <sub>2</sub> sintetizadas con una relación de 44mmol de CTAB a: a) 25 °C, b) 50 °C, c) 80 °C y d) 95 °C.   | 32 |
| <b>Fig. 4.2</b> Histogramas del tamaño promedio de partícula de las micrografías presentadas en las Fig. 4.1. a) 25 °C, b) 50 °C y c) 80 °C, d) 95 °C.   | 33 |
| <b>Fig. 4.3</b> a) imagen de SEM de las NPsSiO <sub>2</sub> sólidas sintetizadas, b) histograma de tamaño promedio de partícula correspondiente a las NPsSiO <sub>2</sub> sólidas.   | 33 |
| <b>Fig. 4.4</b> Difractograma de las NPsSiO <sub>2</sub> porosas sintetizadas a diferentes temperaturas y NPsSiO <sub>2</sub> sólidas.   | 34 |
| <b>Fig. 4.5</b> Espectro FT-IR de las NPsSiO <sub>2</sub> sólidas y porosas con una variación en el proceso de eliminación del template.   | 36 |
| <b>Fig. 4.6</b> Micrografía de TEM a) Micrografía de HRTEM en donde se corrobora la estructura porosa ordenada de las NPsSiO <sub>2</sub> . b) Imagen de TEM a menor magnificación de las NPsSiO <sub>2</sub> , c) Análisis químico elemental por EDS donde se confirma la presencia de oxígeno y silicio únicamente en la muestra, d) histograma del tamaño promedio de poro de las NPsSiO <sub>2</sub> . | 37 |
| <b>Fig. 4.7</b> Isotermas de adsorción-desorción de las NPsSiO <sub>2</sub> .  | 38 |
| <b>Fig. 4.8</b> Difractograma de SAXS de las NPsSiO <sub>2</sub> .   | 39 |
| <b>Fig. 4.9</b> Resultados de los ensayos MTT de viabilidad celular en células HepG2 expuestas a diferentes concentraciones de NPsSiO <sub>2</sub> porosas durante 24 y 48 horas con respecto al control. Se sembraron 30,000 cel/cm <sup>2</sup> , utilizando como control positivo 25 µg/mL de ZnO.  | 41 |
| <b>Fig. 4.10</b> Espectro FT-IR de las NPsSiO <sub>2</sub> porosas   | 42 |

funcionalizadas con APTMS e IBU.

|   |    |
|---|----|
| <b>Fig. 4.11</b> Esquema representativo de la interacción de las NPsSiO <sub>2</sub> con la molécula APTES e IBU.   | 42 |
| <b>Fig. 4.12</b> Grafico de variación del potencial Z con respecto al pH.   | 43 |
| <b>Fig. 4.13</b> Grafico del porcentaje de liberación de rodamina B e ibuprofeno con respecto al tiempo en un fluido corporal simulado PBS (pH=7.5).  | 44 |
| <b>Fig. 4.14</b> a) Micrografía de SEM de las NPsSiO <sub>2</sub> -IBU, b) histograma del tamaño promedio de partícula de las NPsSiO <sub>2</sub> -IBU.   | 45 |
| <b>Fig. 4.15</b> Serie de imágenes obtenidas por TEM en campo de las NPsSiO <sub>2</sub> -IBU.  | 46 |
| <b>Fig. 4.16</b> Comparación de imágenes de TEM en campo claro de a) NPsSiO <sub>2</sub> y b) NPsSiO <sub>2</sub> -IBU.   | 46 |
| <b>Fig. A.1</b> Resultados de los ensayos MTT de viabilidad celular en células HepG2 expuestas a diferentes concentraciones de NPsSiO <sub>2</sub> porosas con un contenido a) 1% Fe b) 5% F2, durante 24 y 48 horas. Se sembraron 30,000 cel/cm <sup>2</sup> .                   | 51 |
| <b>Fig. A.2</b> Grafico del porcentaje de liberación de rodamina B e ibuprofeno con respecto a la cantidad adsorbida mostrada en la tabla A.2 contra el tiempo de muestreo en un fluido corporal simulado PBS (pH=7.5) de NPsSiO <sub>2</sub> con un contenido en Fe de 1% y 5% . | 53 |
| <b>Fig. A3.</b> Clasificación de la IUPAC a) isothermas de adsorción b) histéresis en las isothermas de adsorción   | 55 |
| <b>Fig. A4.</b> Curva de calibración de la molécula modelo a) RB y b) IBU.  | 57 |
| <b>Fig. A5.</b> Ajuste al modelo de Korsmeyer-Pepas, de la cinética de a) RB e b) IBU.  | 60 |

## Abreviaturas

|                           |  |
|---------------------------|--|
| <b>APTES</b>              | 3-Aminopropil trietoxisilano   |
| <b>CMC</b>                | Concentración Micelar Crítica  |
| <b>CTAB</b>               | Bromuro de hexadeciltrimetilamonio   |
| <b>DLS</b>                | Dispersión de Luz Dinámica   |
| <b>DMEM F-12</b>          | Medio Esencial Modificado de Dulbecco  |
| <b>DRX</b>                | Difracción de Rayos X  |
| <b>EDS</b>                | Espectroscopia de dispersión de rayos X  |
| <b>Et-OH</b>              | Alcohol etílico absoluto anhídrido   |
| <b>FT-IR</b>              | Espectroscopia de Infra Rojo por Transformada de Fourier   |
| <b>HRTEM</b>              | Microscopia Electrónica de Transmisión de Alta Resolución  |
| <b>IBU</b>                | Ibuprofeno   |
| <b>IUPAC</b>              | Intenational Union of Pure and Applied Chemistry   |
| <b>MTT</b>                | Bromuro de 3-(4,5- dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol                                      |
| <b>NPs</b>                | Nanopartículas   |
| <b>NPsSiO<sub>2</sub></b> | Nanopartículas de dióxido de silicio   |
| <b>P-123</b>              | Poly(ethylene glycol)- <i>block</i> -poly(propylene glycol)- <i>block</i> -poly(ethylene glycol) |
| <b>PBS</b>                | Tampón de Fosfato Salino   |
| <b>PEG</b>                | Polietilenglicol   |
| <b>PI</b>                 | Punto Isoeléctrico   |
| <b>PVP</b>                | Polivinilpirrolidina   |
| <b>RB</b>                 | Rodamina B   |
| <b>SAXS</b>               | Dispersión de Rayos X a Bajo Angulo  |
| <b>SBA</b>                | Santa Barba Amorphous  |
| <b>SEM</b>                | Microscopia Electrónica de Barrido   |

|                        |   |
|------------------------|---|
| <b>SiO<sub>2</sub></b> | Dióxido de silicio                                  |
| <b>ST25</b>            | Síntesis a una temperatura de 25 grados centígrados |
| <b>ST50</b>            | Síntesis a una temperatura de 50 grados centígrados |
| <b>ST80</b>            | Síntesis a una temperatura de 80 grados centígrados |
| <b>ST95</b>            | Síntesis a una temperatura de 95 grados centígrados |
| <b>TEM</b>             | Microscopia Electrónica de Transmisión              |
| <b>TMOS</b>            | Tetrametil ortosilicato                             |
| <b>TEOS</b>            | Tetraetil ortosilicato                              |
| <b>UV-Vis</b>          | Ultravioleta- Visible                               |



## Resumen

Uno de los principales problemas en el área de la salud es la baja eficiencia que presentan los sistemas de administración fármacos usados actualmente. Como resultado en los últimos años ha incrementado el interés en el desarrollo de nuevos vehículos de administración, destacando el uso de materiales a base de dióxido de silicio ya que se reportan como materiales biocompatibles, no tóxicos, mecánica y químicamente estables, además de presentar una superficie química funcionalizable.

En este trabajo se presenta la síntesis de nanopartículas de dióxido de silicio (NPsSiO<sub>2</sub>) esféricas con porosidad ordenada y su evaluación como posibles vehículos para liberación controlada de fármacos, sintetizadas por el método Stöber modificado, con el uso de un precursor alcóxido tetraetil ortosilicato, en medio acuoso con bromuro de hexadeciltrimetilamonio y como catalizador una solución de nitrato de amonio. Finalmente se optimizó la síntesis de material mediante la variación de los parámetros concentración y temperatura.

Para determinar que el tratamiento térmico al que se sometió el producto de reacción fuera el adecuado, el material resultante se caracterizó por difracción de rayos X (DRX), la pureza del material y la presencia de los grupos siloxano (Si-O-Si) y silanol (Si-OH) se determinó mediante espectroscopia de IR por transformada de Fourier (FT-IR), por microscopia electrónica de barrido (SEM) y microscopia electrónica de transmisión (TEM) se comprobó la morfología esférica y porosa así como se determinó el tamaño promedio de partícula (~70 nm), el área superficial (743 m<sup>2</sup>/g), diámetro promedio de poro (3 nm) y tipo de porosidad se determinó por análisis de fisisorción de N<sub>2</sub>, mientras que el tamaño de partícula en solución se determinó mediante dispersión de luz dinámica (DLS) en medio acuoso, en un medio de cultivo basal DMEM-F12 (medio suplementado de Dulbecco) y un tampón de fosfato salino como fluido corporal simulado PBS. Finalmente la toxicidad del material se evaluó mediante ensayos de viabilidad celular MTT en células de carcinoma humano HepG2. Posterior a la caracterización las NPsSiO<sub>2</sub> se evaluaron en la adsorción del marcador rodamina B y los fármacos aspirina e ibuprofeno. La concentración de molécula liberada y la cinética de liberación de las especies adsorbidas se evaluó en un fluido corporal simulado de PBS y se monitoreo en un espectrofotómetro UV-VIS.

**PALABRAS CLAVE.** Nanopartículas esféricas, dióxido de silicio, porosidad ordenada, vehículos de liberación controlada.

## Abstract

One of the main problems in the area of human health is the low efficiency that of the drug delivery systems currently used. As result in recent years interest has increased in develop of new delivery vehicles and the use of materials based on silicon dioxide as they have been reported as materials biocompatible, no-toxic, mechanically and chemically stable, and chemically versatile surface.

This paper presents the synthesis of silicon dioxide nanoparticles (NPsSiO<sub>2</sub>) with spherical orderly porosity and their evaluation as potential vehicles for controlled drug release. They were synthesized by the modified Stöber method with the use of a precursor alkoxide tetraethyl orthosilicate in an aqueous medium with hexadecyltrimethylammonium bromide, and as the catalyst an ammonium nitrate solution. Finally the synthesis material was optimized by modifying parameters such as concentration and temperature.

To determine the exclusive presence of the amorphous phase of the SiO<sub>2</sub> the product was characterized by X-ray diffraction (XRD), the purity of the material and the presence of siloxane (Si-O-Si) and silanol (Si-OH) groups was determine by Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), by scanning electron microscopy (SEM) and transmission electron microscopy (TEM). The spherical morphology and porous, and the average particle size (~ 70 nm) was verified. The surface area (743 m<sup>2</sup>/g), average diameter pore size (3 nm) and type of porosity was determined by N<sub>2</sub> physisorption analysis, while the particle size in the solution was determined by dynamic light scattering (DLS) in an aqueous medium, cell culture medium DMEM-F12 (supplemented medium Dulbecco) and phosphate buffered saline PBS like body fluid. Finally the toxicity of the material was evaluated by MTT cell viability assays in HepG2 human cells. Subsequent to the characterization the NPSiO<sub>2</sub>, were evaluated in adsorption marker rhodamine B and the drugs aspirin and ibuprofen. The concentration of molecule released and the release kinetics of the adsorbed species were evaluated in a simulated body fluid PBS and were monitored in a UV-vis spectrophotometer.

**KEYWORDS.** Spherical nanoparticles, silicon dioxide, ordered porosity, controlled release vehicles.

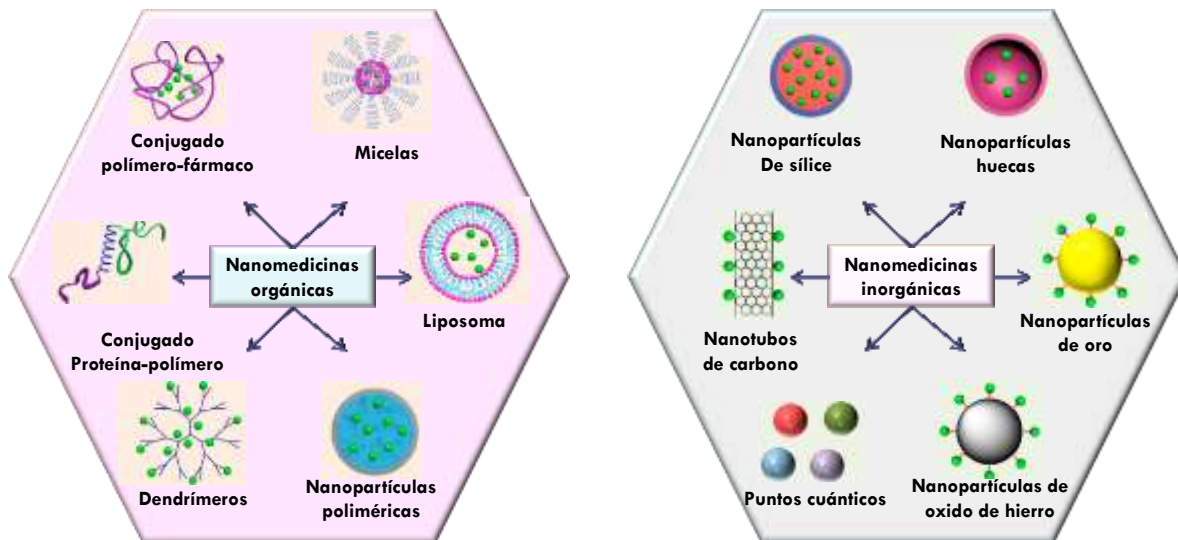


# INTRODUCCIÓN

# Síntesis de nanopartículas de SiO<sub>2</sub> como potenciales vehículos para administración de fármacos

## Introducción

Actualmente uno de los principales problemas en el área de la salud humana es la baja eficiencia que exhiben los sistemas de administración de fármacos, se estima que a partir de 1980 [1] la cantidad de efectos secundarios provocados por su uso aumento considerablemente. En la búsqueda por solucionar estos problemas y mejorar nuestra calidad de vida se han desarrollado e investigado nuevos sistemas orgánicos e inorgánicos como se muestra en la Fig. 1.

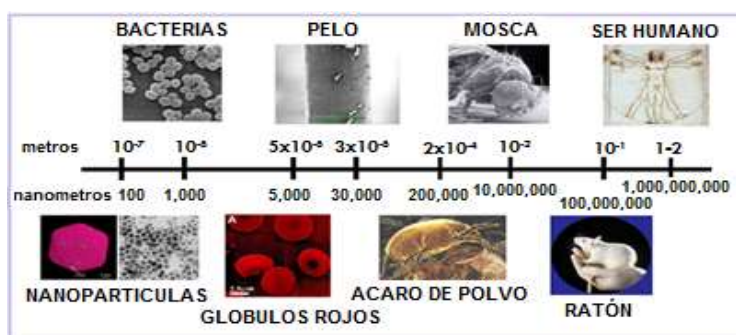


**Fig. 1.** Matrices orgánicas e inorgánicas reportados en la literatura como posibles vehículos en la dosificación de fármacos: [1].

La escala nanométrica es óptima en cuanto a vehículos de liberación se trata, ya que materiales de mayor tamaño tienen más posibilidades de desencadenar respuestas inmunes agudas, pues sus dimensiones se encuentran dentro de la ventana de las bacterias y la eficiencia en la captación celular decrece. Por otra parte los materiales en orden nanométrico favorecen la captación celular y el transporte a través del torrente sanguíneo, además que desde el punto de vista estructural es bien conocido que el área superficial aumenta al hablar de NPs y por ende incrementa cantidad de sitios de adsorción del fármaco en el material [1].

Las  $\text{NPsSiO}_2$  conllevan las ventajas antes descritas además de que la presencia de los enlaces Si-O en la estructura del material favorecen su resistencia a la degradación mecánica en comparación con liposomas y dendrímeros, y presentan una mejor biocompatibilidad en comparación con materiales a base de otros óxidos metálicos. Otro factor que favorece su uso es el hecho de que es un material muy versátil, ya que se ha logrado obtener con diferentes morfologías (esferas, nanotubos, estructuras cubicas y lamelares), diferentes tamaños de partícula y porosidad, así como porosidad ordenada. Características que pueden manejarse adecuadamente mediante el control de las condiciones de síntesis y pueden favorecer el proceso de liberación [1].

Con lo anterior en mente y considerando el manejo frecuente de algunos términos a lo largo de este escrito se define a un nanomaterial como un material con al menos una dimensión en la escala de 100 nm, en la Fig.2. se muestra una comparación de objetos a diferentes escalas desde el tamaño macroscópico hasta el nanométrico.



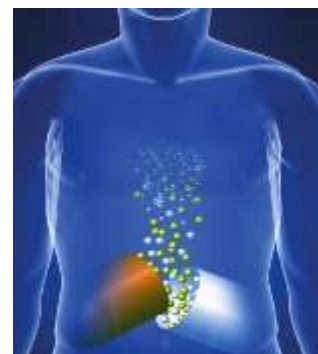
**Fig. 2.** Escala de comparación de los órdenes de magnitud hasta llegar a la escala nanométrica.

Mientras que un material poroso se puede definir como materiales con cavidades o canales, en los cuales las características varían dependiendo de la disposición, forma y tamaño de los poros. La IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) clasifica a estos en tres categorías en función del diámetro de poro [2. 3]:

| <b>Tabla 1. Clasificación de los materiales porosos (IUPAC)</b> |                         |
|---|-------------------------|
| <b>Material</b>   | <b>Diámetro de Poro</b> |
| Microporoso   | < 2 nm                  |
| Mesoporoso  | 2 nm – 50 nm            |
| Macroporoso   | > 50 nm                 |

Todos estos materiales pueden presentar básicamente dos diferentes disposiciones de poros, ordenada o desordenada. La porosidad ordenada se define como la presencia de un tamaño de poro, forma y orientación bien definida, mientras que los materiales con porosidad desordenada presentan una orientación aleatoria de los poros y generalmente una amplia distribución de tamaño [3].

Uno de los materiales porosos más estudiados debido a la variedad de aplicaciones que presenta es el  $\text{SiO}_2$ . Específicamente en sistemas de liberación controlada y agentes marcadores las  $\text{NPsSiO}_2$  son consideradas vehículos no tóxicos, ya que estas nanopartículas inorgánicas son estables (mecánica y térmicamente), biocompatibles y químicamente versátiles. Como vehículo presenta ventajas respecto a otros materiales:



- Lograr una liberación sostenida y controlada.
- Proteger la carga de la degradación fisiológica.
- Alta capacidad de carga.

Por estas características su uso se reporta en la adsorción, encapsulación y liberación de diversos fármacos, péptidos, oligonucleótidos y proteínas como insulina (Lin et al.), así como su uso con diferentes recubrimientos poliméricos o funcionalizada con diferentes moléculas para lograr la liberación con apoyo de agentes externos como se describirá en el capítulo 1.2 [4, 5].

Como una posible solución a la problemática presentada, en este trabajo se exhibe la síntesis y caracterización de NPsSiO<sub>2</sub> esféricas porosas como posibles matrices para la liberación controlada de medicamentos, usando como fármacos modelo ibuprofeno y aspirina. Analgésicos y anti-inflamatorios ampliamente utilizados, de tamaños recomendables para moléculas de prueba (aproximadamente 1.0x1.0 nm) ambas moléculas poseen un grupo carboxilo que puede formar enlaces con una gran variedad de grupos funcionales mediante reacciones ácido-base. La liberación de ambos fármacos en el material es detectable mediante espectroscopia UV-Vis a una longitud de onda de 246 nm y 333 nm respectivamente [6].

# HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

## Hipótesis

Las nanopartículas de dióxido de silicio (NPSiO<sub>2</sub>) esféricas con porosidad ordenada sintetizadas por el método Stöber modificado son adecuadas para actuar como vehículos en la administración controlada de fármacos.

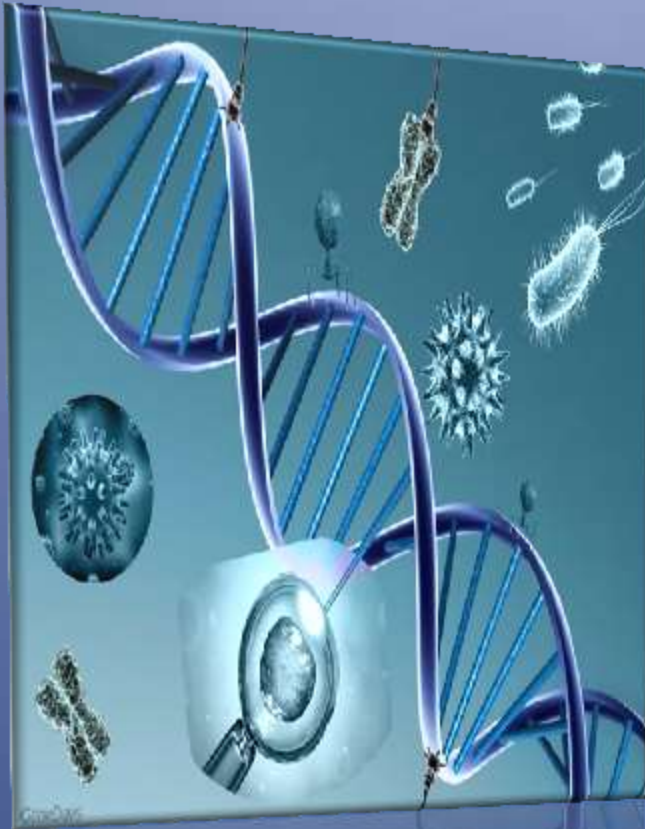
## Objetivo general

Sintetizar NPSiO<sub>2</sub> por el método Stöber modificado, caracterizarlas y evaluar su posible aplicación en liberación controlada con el uso de una molécula modelo.

## Objetivos específicos

- Optimizar la síntesis de NPSiO<sub>2</sub> esféricas con un diámetro menor a 100 nm, variando (temperatura, tensoactivo y relación molar TEOS/tensoactivo).
- Realizar, DRX, SEM, TEM, FT-IR, SAXS y fisisorción de N<sub>2</sub> para corroborar la morfología, tipo de porosidad, grupos superficiales y tamaño de las NPSiO<sub>2</sub>.
- Evaluar la citotoxicidad, tamaño de partícula en solución y punto isoeléctrico, por ensayos MTT, DLS y potencial Z respectivamente.
- Evaluar las NPSiO<sub>2</sub> como vehículos en liberación controlada del marcador rodamina B y del fármaco ibuprofeno como moléculas modelo.





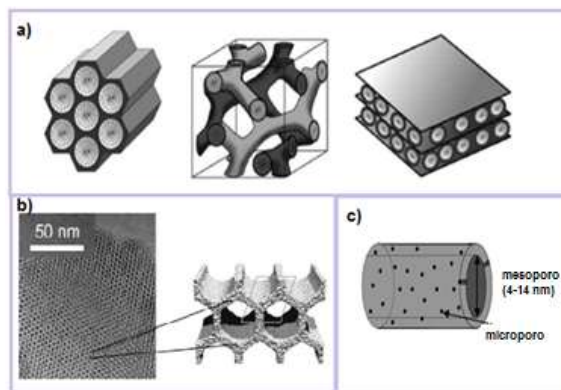
# CAPÍTULO 1. MARCO TEÓRICO

## Capítulo 1. Marco teórico

### 1.1 Antecedentes

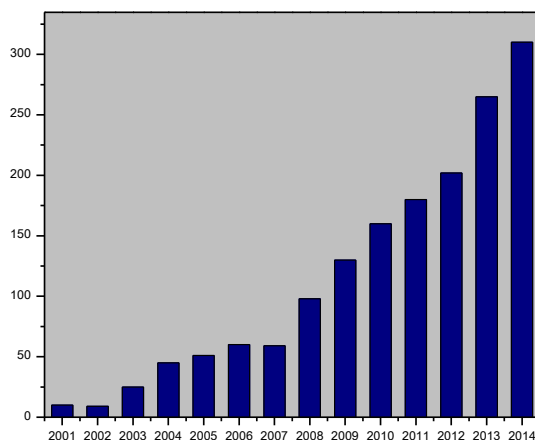
#### 1.1.1 Materiales Porosos

Las zeolitas son unos de los materiales porosos más conocidos y con mayor número de aplicaciones, ya que son estables, selectivos, activos y tienen la capacidad de incorporar una gran variedad de elementos en su estructura. Existen numerosas investigaciones acerca de su síntesis, propiedades y aplicaciones, pero uno de los mayores retos es incrementar el diámetro de poro ya que la mayoría de estos materiales presentan microporos lo que limita su aplicación. En la búsqueda de ampliar el diámetro de poro de estos materiales y así mejorar las propiedades de adsorción de moléculas de mayor tamaño, en 1990 Yanagisawa y colaboradores reportan la síntesis de sílicas porosas con tamaños uniformes de poro, pero irregularmente espaciados y con una amplia distribución de tamaño. A partir de esto en 1992 los laboratorios Mobil Corporation dan a conocer una familia de materiales porosos a base de aluminio-silicatos llamados M41S, donde reportan el uso de moléculas orgánicas, específicamente sales de amonio cuaternario (CTAB), un tensoactivo que actúa como direccionador de la estructura porosa, con diámetros de poro en un rango de 1.5 – 10 nm. Posteriormente en 1998 la Universidad de Santa Barbara reporta la síntesis de un material con micro y mesoporosidad ordenada, con un diámetro de poro mayor a la familia M41S los cuales llamaron SBA, donde reportan obtener diámetros de poro alrededor de 4 -14 nm a partir del uso de copolímeros de tres bloques no iónicos como el P65 Pluronic, P123, y F127. En la Fig. 1.1 se muestra una serie de imágenes de la familia M41S y SBA, así como una reconstrucción de cómo se ordenan los poros [7 - 11].



**Fig. 1.1.** a) Estructuras de la familia M41S, en orden MCM-41(fase hexagonal), MCM-48 (fase cubica), MCM-50 (fase laminar). b) Acercamiento a la estructura porosa de la MCM-41. c) Estructura micro y mesoporosa de la familia SBA [2].

El uso de nanomateriales porosos como vehículos para el transporte de fármacos se ha incrementado notablemente desde el informe del grupo Vallet-Regí en 2001 (Fig. 1.2.) donde reportan el uso de estos materiales para liberación controlada de ibuprofeno [12].



**Fig. 1.2.** Artículos publicados por año de 2001 al 2014. Búsqueda: nanopartículas drug delivery. Fuente: Web of Science. (Septiembre 2015).

### 1.1.2 Síntesis de $\text{NPsSiO}_2$

La síntesis de  $\text{NPsSiO}_2$  ha incrementado debido a su fácil preparación y a su aplicación en diversas áreas como catálisis, separación, pigmentos, farmacia, electrónica, detergentes, cosméticos y sensores, ya que su estructura porosa

presenta características como alta área superficial ( $>1,000 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ ), gran volumen de poro ( $0.8 - 1.5 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$ ) y distribución uniforme de tamaño de poro.<sup>[8, 12]</sup>

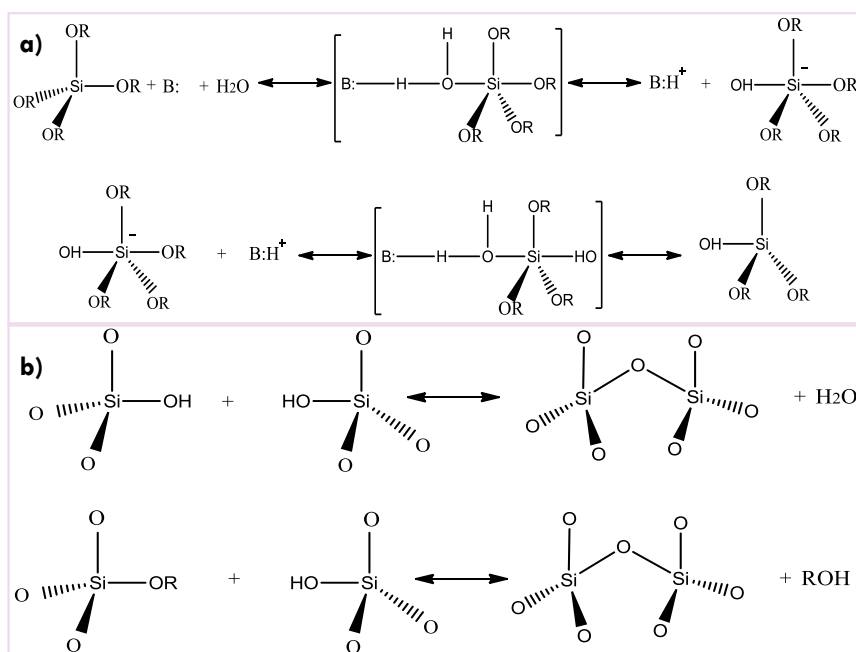
Las  $\text{NPsSiO}_2$  se han sintetizado por distintos métodos tales como sol-gel, Stöber, Stöber modificado y microemulsión, con morfologías esféricas, esferas huecas, tubos y fibras de  $\text{SiO}_2$  estructuralmente amorfo [10].

El método sol-gel es uno de los pioneros en la síntesis de una amplia variedad de materiales nanoestructurados, es un método atractivo debido a que es un proceso a baja temperatura, pero con un tiempo de síntesis prolongado. En 1968 Stöber propone un método para la síntesis eficaz de nanopartículas de sílice monodispersas usando una mezcla de alcohol – agua y amoníaco como catalizador para hidrolizar un alcoxilano, con la ventaja de ser fácilmente escalado para aplicaciones comerciales y obtención de nanopartículas en un rango de 50 nm - 1  $\mu\text{m}$  con una estrecha distribución de tamaño y menor tiempo de síntesis. Posteriormente Grun propone una modificación al método mediante la adición de un tensoactivo de tipo catiónico, que derivó en la obtención de nanopartículas porosas con un diámetro de poro controlado. Otras modificaciones al método fueron la adición de lisina y arginina realizadas por Hartlen et al. y Yokoi et al. respectivamente, así como Meng et al. reporta la síntesis de NPs sólidas en una microemulsión acuosa con el uso de un tensoactivo obteniendo partículas en un rango de 20-300 nm y un método de obtención por microemulsión inversa [10, 13-16].

Todos estos estudios llevaron a obtener NPs con diámetros y tamaños de poros más uniformes, años después Bogush et al. demostraron que el proceso de crecimiento depende de la reacción de condensación de monómeros hidrolizados y pequeños oligómeros, mientras que la nucleación de las partículas de la agregación de subestructuras de siloxano [16].

### 1.1.3 Síntesis de NPs $\text{SiO}_2$ porosas

En todos los métodos mencionados en el apartado anterior lo que ocurre básicamente es la hidrólisis controlada de un precursor alcoxilano (TEOS, TMOS, etc.) en medio acuoso u alcohólico, lo que da como resultado la formación de grupos silanol que al condensarse forman puentes siloxano (Si-O-Si). En la fig. 1.3 se presenta el mecanismo de las reacciones de hidrólisis y condensación que ocurren de forma simultánea.



**Fig. 1.3.** a) Reacción de hidrólisis del precursor alcoxilano en medio acuoso y básico. b) Reacciones de condensación.

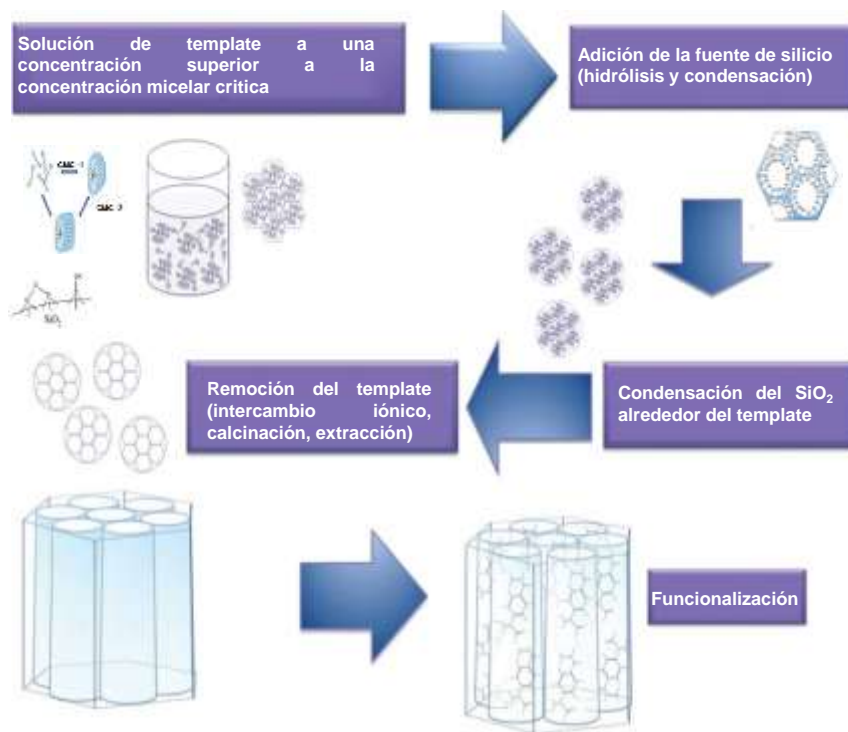
La hidrólisis Fig. 1.2 a) ocurre por un ataque nucleofílico tipo SN<sub>2</sub> de un átomo de oxígeno a la molécula de agua, donde se forma un intermediario pentacoordinado, para posteriormente el grupo alcoxil (R-O) ser remplazado por un grupo hidroxilo (OH<sup>-</sup>). Paralelamente en la condensación Fig. 1.2 b) las moléculas de silanol (Si-OH) y alcoxilano (Si-OR) forman enlaces siloxano (Si-O-Si).

Para la formación de una especie porosa es necesario el uso de especies que funjan como centro de nucleación y especies directoras de la estructura, con este propósito se comenzaron a utilizar moléculas orgánicas de carácter anfifílico de

alto peso molecular que en medio acuoso forman micelas. Este químico en la literatura es referenciado como un tensoactivo y provee al material de una estructura porosa, un tamaño de poro sintonizable y alta área superficial, así como una gran variedad de mesoestructuras tales como desordenada, agujero de gusano, hexagonal, mesofases cúbicas y laminares.

El tensoactivo actúa formando micelas esféricas para reducir el contacto entre las cadenas hidrocarbonadas hidrofóbicas y el agua, reduciendo así la tensión superficial y buscando un estado de equilibrio, es decir, de mínima energía. Dicho estado ocurre a una cierta relación de concentración entre el agua y el tensoactivo llamada concentración micelar crítica (CMC), la cual depende de las condiciones de síntesis como la temperatura y tipo de tensoactivo. Entre los tensoactivos más utilizados en la síntesis de  $\text{NPsSiO}_2$ , se encuentran el polietilenglicol (PEG), la polivinilpirrolidina (PVP), el polietilenglicol-block-polipropilenglicol-block-polietilenglicol (Pluronic) y el bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB) [2].

El tensoactivo debe ser removido de la estructura por métodos de calcinación o extracción para así obtener poros huecos, como se muestra en la Fig.1.4 donde se presenta una esquematización del proceso de síntesis.

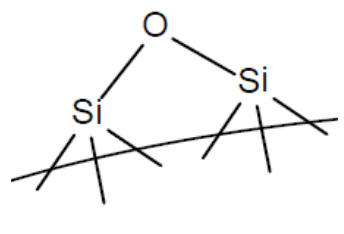
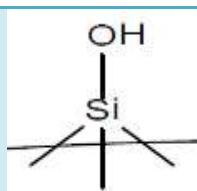
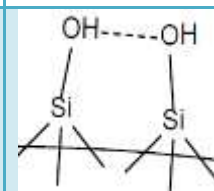
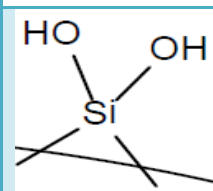


**Fig. 1.4.** Diagrama del proceso de síntesis de las NPsSiO<sub>2</sub> [17].

Otro factor importante en la síntesis es el pH, la síntesis se puede llevar a cabo en condiciones ácidas o básicas, es decir, por debajo del punto isoeléctrico de la sílice (PI=2), se encuentra cargada positivamente favoreciendo la unión electrostática con tensoactivos de tipo aniónico, mientras que a un pH por encima de este PI la densidad de carga de la sílice es negativa por lo que se favorece la unión con tensoactivos de tipo catiónico o polímeros neutros a través de atracciones electrostáticas y enlaces de hidrogeno. Otro factor importante a considerar es que a pH básico se favorece la etapa de condensación lo que da como resultado la formación de estructuras de mayor tamaño [10].

Como ya es conocido el material no tiene una estructura con ordenamiento periódico, es decir está constituido de una fase amorfa de SiO<sub>2</sub>, lo cual se debe a la gran cantidad de defectos en la conectividad, ya que no todos los tetraedros están unidos a otros cuatro tetraedros dejando oxígenos libres que forman grupos hidroxilo (OH<sup>-</sup>), lo que da como resultado una superficie cargada que favorece funcionalización y adsorción de una gran variedad de especies químicas. En el caso de las NPsSiO<sub>2</sub> la presencia de los grupos siloxano (Si-O-Si) y silanol (Si-OH)

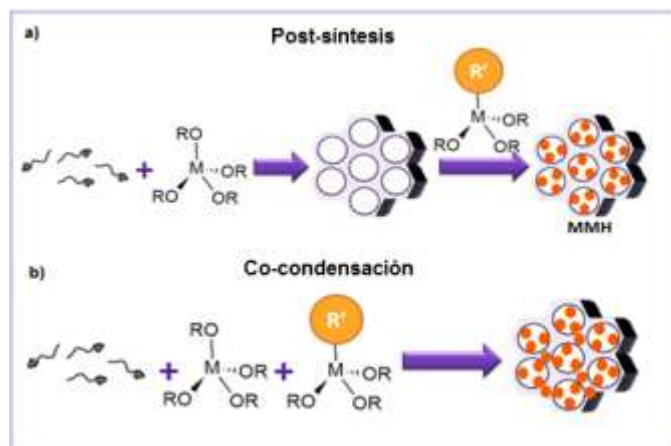
en la superficie del material favorece estos procesos, en la tabla 2 se muestran los diferentes tipos de grupos que se encuentran superficialmente en las SiO<sub>2</sub>NPs. La cantidad de estos grupos depende en gran medida de la técnica que se use para remover el tensoactivo, calcinación o extracción, si se realiza por un método de calcinación en la literatura se reporta que se tiene una presencia de alrededor de 3 grupos/nm<sup>2</sup> [11].

| Tabla 1.1. Grupos terminales presentes en las SiO <sub>2</sub> NPs                |   |  |   |
|---|---|--|---|
| Siloxano  | Silanol   |  |   |
|   | Aislado   | Vertical   | Geminal   |
|  |  |  |  |

La presencia de estos grupos en la superficie es de gran importancia en el proceso de funcionalización con especies químicas y adsorción de fármacos, los cuales se pueden realizar por el método de co-condensación y el de post-síntesis.

- Co-condensación: Es la unión de un compuesto a la estructura del material desde la hidrólisis de los silanos (Si-H<sub>4</sub>) funcionales, lo que conlleva que una fracción del precursor se sustituya por un precursor híbrido y la molécula de funcionalización se encuentre dentro y fuera de las paredes del material.
- Post-síntesis: Es la adsorción de una molécula por enlaces de tipo covalente o puentes de hidrogeno, y en contraste con el método anterior los grupos funcionales se unen principalmente a la superficie de sílice expuesta después se forman las nanopartículas, lo cual se puede realizar ya sea antes o después de remover el tensoactivo, como se muestra en la fig. 1.5.





**Fig. 1.5.** Representación esquemática de la a) funcionalización post-síntesis, b) funcionalización co-condensación [18].

De los métodos descritos anteriormente para la adsorción del fármaco en mariales porosos es más factible el uso método post-sintético ya que en el proceso se requiere la posterior liberación del mismo y el método de co-condensación retiene el fármaco dentro de la estructura del material, lo cual se refleja en una disminución el potencial de liberación.

En resumen todas las características mencionadas anteriormente (porosidad ordenada, forma, presencia de grupos silanol en la superficie, etc.) indican una alta factibilidad en el uso de las NPsSiO<sub>2</sub> como vehículos en la liberación controlada de fármacos.

## 1.2 Aplicación

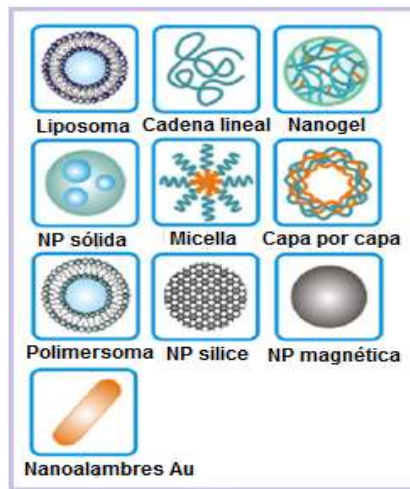
### 1.2.1 Sistemas de liberación controlada

Los sistemas de liberación controlada se han investigado extensamente debido a la demanda de materiales activos en administración controlada de fármacos, ya que los sistemas actuales presentan desventajas como mala solubilidad en el torrente sanguíneo, poca especificidad, rápida descomposición, pérdida de la actividad y como consecuencia una gran cantidad de efectos adversos.

Es por eso que en el diseño de nuevos vehículos es necesario tomar en cuenta características como:

- La compatibilidad del material.
- Alta capacidad de carga para la encapsulación del fármaco.
- Sin liberación prematura.
- Tasa adecuada de liberación.
- Incrementar la biodisponibilidad del medicamento
- Efectos secundarios mínimos.

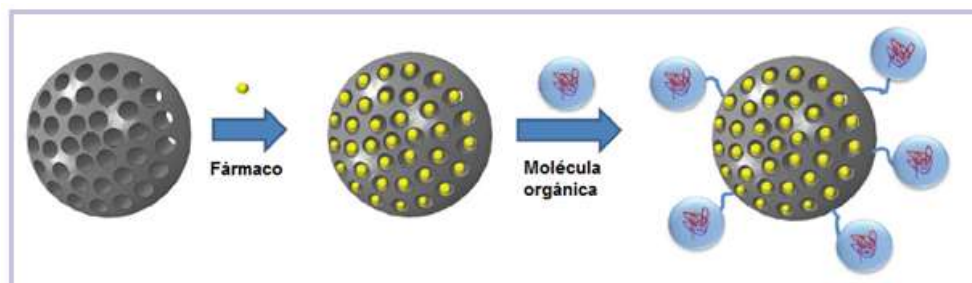
Como producto de la investigación realizada en esta área se han estudiado como nuevos vehículos para liberación controlada de fármacos el uso de distintos sistemas tales como liposomas, dendrímeros, nanopartículas poliméricas, nanopartículas inorgánicas e hidrogeles (Fig. 1.6.).



**Fig. 1.6.** Representación de los diferentes vehículos en escala nanométrica que se usan como sistemas de liberación controlada [19].

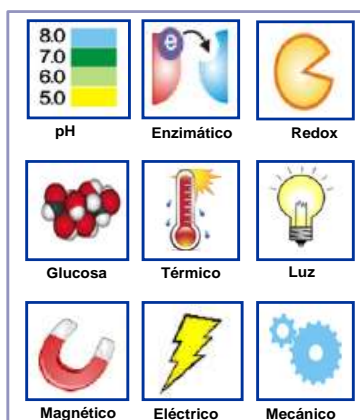
De esta nueva área de investigación nace un nuevo término “nanomedicina”, es el área de la nanotecnología que se encarga del estudio de los sistemas de encapsulación, adsorción y entrega a escala nanométrica. Estos materiales se consideran adecuados en aplicaciones médicas debido a que su tamaño permite diversas vías de administración (tópica, intramuscular, intramucosal, pulmonar, oral, etc.) [5].

En este contexto las  $\text{NPsSiO}_2$  presentan ventajas como porosidad ordenada, elevada biocompatibilidad, capacidad de adsorción, rápido transporte de masa dentro de la estructura porosa, estabilidad mecánica, baja toxicidad, capacidad de adsorber una gran variedad de moléculas, lo cual permite que la plataforma inorgánica albergue cantidades apreciables de carga sin ser desestabilizada.



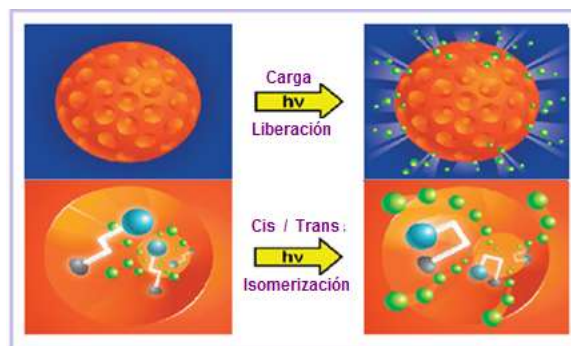
**Fig. 1.7.** Esquema en el cual se explica resumidamente el proceso por el cual se sintetizan, cargan y funcionalizan las nanopartículas [20].

Posterior a la integración del fármaco en las nanopartículas, es relevante considerar que el sistema podría someterse a una liberación controlada tras la activación por uno o más estímulos posibles, tales como cambios en el pH o la temperatura, aplicación de pulsos de luz, campos eléctricos o magnéticos y potencial redox, lo que tiene como efecto causar cambios en la estructura del vehículo o en las moléculas que funcionan como válvulas en el control individual de los poros, por ejemplo nanopartículas inorgánicas, moléculas orgánicas y macromoléculas biológicas.



**Fig. 1.8.** Diversidad de estímulos empleados para el proceso de liberación controlada [19]

Dichas moléculas pueden formar enlaces químicos sobre la superficie exterior de los poros, para ser removidas posteriormente por un estímulo como se muestra en la Fig. 1.9. Estas herramientas se presentan como optimas opciones para mejorar los procesos de liberación de toda esta gama de nuevas matrices y son un área importante de investigación en cuanto al área de nanomedicina se refiere.



**Fig. 1.9.** Esquematización del fenómeno estímulo- respuesta [14].

Como fue mencionado el grupo de Vallet-Regi fue uno de los pioneros en el uso de materiales a base de  $\text{SiO}_2$  (SBA-15) como vehículos para liberación de medicamentos específicamente Ibuprofeno. El uso de los materiales es posible debido a la formación de puentes de hidrogeno con las moléculas del fármaco y los grupos silanol ( $\text{Si-OH}$ ) en la superficie del material [4, 21].

Como se describió a lo largo de este escrito las  $\text{NPsSiO}_2$  presentan una serie de características favorables para actuar como vehículos en la liberación controlada de fármacos, además de que existe una gran variedad de reportes acerca de su uso. Por dichas características se presenta la síntesis de  $\text{NPsSiO}_2$  por el método Stöber modificado como una posible solución a los problemas que presentan los sistemas de administración de fármacos.



# CAPÍTULO 2. SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN

## Capítulo 2. Síntesis y caracterización

### 2.1 Síntesis

Los reactivos que se utilizaron en la síntesis del material se presentan en la tabla 2.1.

| Tabla 2.1. Reactivos   |   |                                       |
|--|---|---------------------------------------|
| Nombre   | Formula Química   | Especificaciones                      |
| Alcohol etílico absoluto anhídrido (Et-OH)   | CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> OH  | J T.Baker (99.90% ACS)                |
| Poly(ethylene glycol)-block-poly(propylene glycol)-block-poly(ethylene glycol) (P-123) | (C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O.C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O) <sub>x</sub>      | Sigma Aldrich (M <sub>n</sub> ~5,800) |
| Solución de Hidróxido de Amonio (NH <sub>4</sub> OH)                                   | NH <sub>4</sub> OH.OH   | Sigma Aldrich (28%)                   |
| Tetraetil ortosilicato (TEOS)  | C <sub>8</sub> H <sub>20</sub> O <sub>4</sub> Si                                    | Sigma Aldrich (98%)                   |
| Aspirina   | 2-(CH <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> )C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> CO <sub>2</sub> H | Sigma Aldrich (99%)                   |
| Bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB)  | C <sub>19</sub> H <sub>42</sub> BrN   | Sigma Aldrich (99%)                   |
| 3-Aminopropil trietoxisilano (APTES)   | C <sub>9</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>3</sub> Si                                   | Sigma Aldrich (98%)                   |
| Ácido acético (HAc)  | C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>  | Sigma Aldrich (99.705)                |
| Cloruro de sodio (NaCl)  | NaCl  | MERCK (99.5%)                         |
| Dihidrogenofosfato de potasio (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )                       | KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>   | MERCK (99.5%)                         |
| Fosfato de hidrogeno de sodio dihidratado (Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )          | Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> •2H <sub>2</sub> O                                 | MERCK (99.5%)                         |
| Cloruro de Potasio (KCl)   | KCl   | MERCK (99.5%)                         |
| Rodamina B (RB)  | C <sub>28</sub> H <sub>31</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>3</sub>                     | Sigma Aldrich                         |
| Dex (S+) ibuprofeno (IBU)  | C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>                                      | Boots Chemical Nottingham             |
| Agua mili-Q  | H <sub>2</sub> O  | —                                     |
| Agua destilada   | H <sub>2</sub> O  | —                                     |

#### 2.1.1 Síntesis de las NPsSiO<sub>2</sub> porosas

La síntesis de la nanopartículas se realizó por el método Stöber modificado, en donde se variaron parámetros como el tipo de tensoactivo, relación molar de alcóxido-tensoactivo y temperatura, esto con el fin de encontrar la condiciones

óptimas de síntesis (diámetro de partículas <100 nm, diámetro de poro >2 nm, morfología porosa y estructura mesoporosa ordenada).

En un vaso de precipitado de 500 mL se colocaron 400 mL de agua destilada y el tensoactivo, ya disuelto el tensoactivo, esta solución se coloca en un reactor de fondo plano (con una capacidad de 2 L) con el resto de agua, se agita por 5 min. Posteriormente se agregan 16 mL de NH<sub>3</sub>OH y finalmente por goteo se adicionan 17.14 mL de TEOS. La temperatura se eleva a 95 °C y se deja reaccionar por una hora con agitación constante a 700 rpm, el producto se deja enfriar y se centrifuga a 15,000 rpm durante 15 min con tres lavados de una solución etanol-agua para remover el tensoactivo y recuperar las nanoparticulas sólidas, estas se secan a 90°C por 12 horas y se calcina a 500 °C, para eliminar humedad, restos del tensoactivo y proporcionar resistencia mecánica al material. Finalmente se filtra y lava en una matraz kitasato con una solución etanol-agua para remover los remanentes de tensoactivo y se seca a 90 °C durante 12 horas [22].

En la tabla 2.2. se muestran las variaciones que se realizaron a la síntesis.

| <b>Tabla 2.2. Parámetros modificados</b> |                    |                       |                    |                         |
|--|--------------------|-----------------------|--------------------|-------------------------|
| <b>Síntesis</b>                          | <b>Tensoactivo</b> | <b>Cantidad (mol)</b> | <b>Medio</b>       | <b>Temperatura (°C)</b> |
| <b>SP-123</b>                            | P-123              | 3.5 mmol              | HCl                | 100 °C                  |
| <b>SCTAB/P123</b>                        | CTAB/P123          | 2.2/2.2 mmol          | NH <sub>4</sub> OH | 95 °C                   |
| <b>SCTAB</b>                             | CTAB               | 2.2 mmol              | NH <sub>4</sub> OH | 50 °C                   |
| <b>SCTABM</b>                            | CTAB               | 0.029 mmol            | NH <sub>4</sub> OH | 50 °C                   |
| <b>SCTABX2</b>                           | CTAB               | 4.4 mmol              | NH <sub>4</sub> OH | 50 °C                   |
| <b>ST25</b>                              | CTAB               | 4.4 mmol              | NH <sub>4</sub> OH | 25 °C                   |
| <b>ST50</b>                              | CTAB               | 4.4 mmol              | NH <sub>4</sub> OH | 50 °C                   |
| <b>ST80</b>                              | CTAB               | 4.4 mmol              | NH <sub>4</sub> OH | 80 °C                   |
| <b>ST95</b>                              | CTAB               | 4.4 mmol              | NH <sub>4</sub> OH | 95 °C                   |

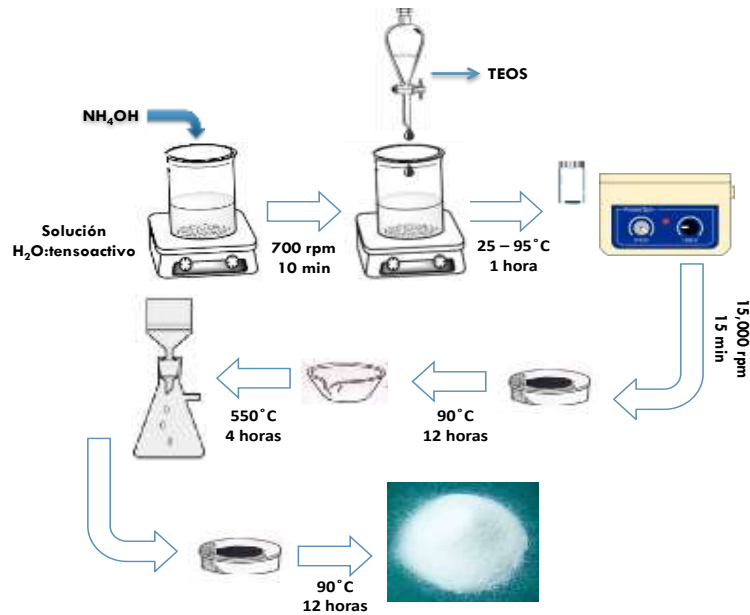


Fig. 2.1. Esquema representativo de la síntesis de las NPsSiO<sub>2</sub> mesoporosas.

### 2.1.2 Síntesis de las NPsSiO<sub>2</sub> sólidas.

La síntesis de la nanoparticulas sólidas se realizó por el método Stöber. En un vaso de precipitado de 200 mL se mezclan 20 mL de agua destilada y 60 mL de Et-OH, en agitación se agregan 2 mL de NH<sub>4</sub>OH, para finalmente agregar 5 mL de TEOS por goteo, la reacción transcurre durante 3 horas y el producto se recupera por filtración para finalmente secarlo a 90°C durante 12 horas.

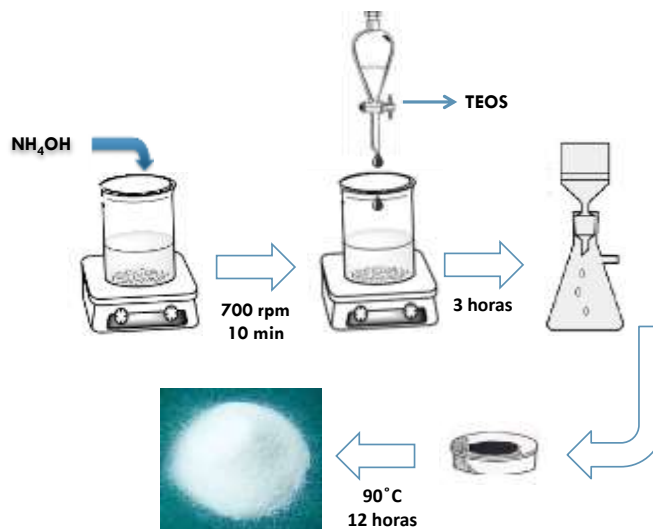


Fig. 2.2. Esquema representativo de la síntesis de las NPsSiO<sub>2</sub> sólidas.



### 2.1.3 Funcionalización de las NPsSiO<sub>2</sub> porosas

Con el fin de disminuir la toxicidad de las nanopartículas y facilitar la adsorción del fármaco, se realiza una funcionalización de las nanopartículas regularmente con grupos amino.

En una concentración de 10 mg/mL de nanopartículas en agua se coloca el HAC en una concentración de 0.05% y finalmente se agrega APTES en una concentración de 0.3%. La solución se trata en un baño ultrasónico por 1 minuto y se deja reaccionar por 2 horas a temperatura ambiente y una agitación de 400 rpm. Posteriormente se incubó a 90°C durante 1 hora. El material se centrifuga a 13,500 rpm durante 20 minutos y se le realizan 3 lavados con etanol, finalmente resuspendiéndolas en H<sub>2</sub>O e incubándolas 16 horas a temperatura ambiente [26].

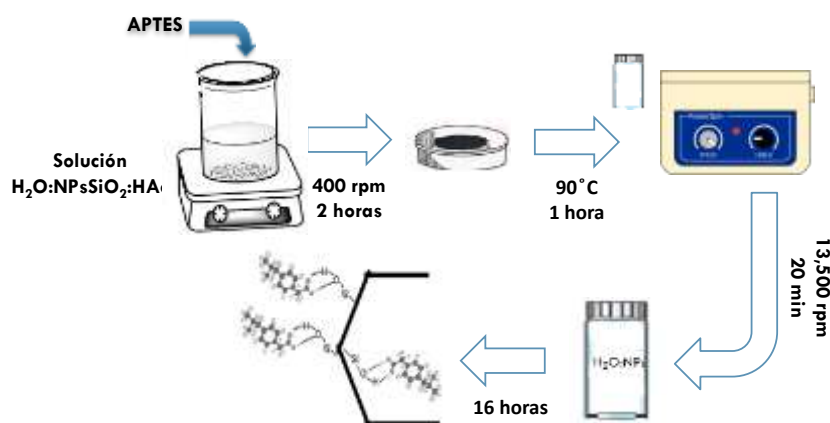


Fig. 2.3. Esquema representativo de la funcionalización de las NPsSiO<sub>2</sub> mesoporosas.

### 2.1.4 Adsorción de aspirina

En un vaso de precipitado se disuelve 0.025 g de aspirina en 25 mL de etanol y posteriormente se agregan 0.2 g de NPsSiO<sub>2</sub>, la adsorción se realiza con agitación a 600 rpm y a temperatura ambiente durante 14 horas, finalmente el producto se filtra y el filtrado se evaluó por espectroscopia UV-vis a 243 nm para indirectamente determinar la cantidad de aspirina adsorbida en las NPs. El producto sólido se secó a 60°C durante 4 horas para su posterior caracterización [27].

### **2.1.5 Preparación de la solución de fluido corporal simulado PBS**

En un matraz aforado de 1L se disuelve 8 g de NaCl, 0.2 g de KCl, 1.44 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 0.24 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  y se afora con 1L de agua mili-Q. Se mide el pH de la solución y se ajusta con HCl o NaOH a un pH de 7.4 (pH de la sangre).

### **2.1.6 Adsorción de rodamina B**

Para la adsorción de la RB, las  $\text{NPsSiO}_2$  se disolvieron en una solución de fluido corporal simulado PBS y RB (0.15 mg/mL) en una concentración de 2.0 mg/mL, dicha solución se agita en vortex durante 5 min y se deja reposar 48 horas.

Después de 48 horas la solución  $\text{NPsSiO}_2$ -RB se coloca bajo baño ultrasónico durante 30 min y se toma una alícuota de 5 mL, la cual se centrifuga a 12,000 rpm durante 5 min, se realizan 3 lavados con un buffer PBS para eliminar la RB superficial y se resuspenden en PBS para los análisis de liberación [4].

### **2.1.7 Adsorción de ibuprofeno**

Se disolvió IBU en Et-OH hasta una concentración 10 mg/mL, posteriormente se agregaron las  $\text{NPsSiO}_2$  en una concentración de 2.0 mg/mL y se mantuvieron en agitación durante 48 horas.

Después de 48 horas la solución  $\text{NPsSiO}_2$  se coloca bajo baño ultrasónico durante 30 min y se toma una alícuota de 5 mL, la cual se centrifuga a 12,000 rpm durante 5 min, se realizan 3 lavados con una solución 1:1 Et-OH: PBS para eliminar el IBU superficial y se resuspenden en PBS para los análisis de liberación.

La NPs sintetizadas se caracterizaron por DRX, SAXS, FT-IR, SEM, TEM, fisisorción de  $\text{N}_2$  y DLS para comprobar la existencias de las propiedades esperadas en el material.

## **2.2 Caracterización**

### **2.2.1 Difracción de rayos X**

La presencia del SiO<sub>2</sub> amorfo y la ausencia de restos de CTAB por debajo del 1% W (límite de detención del equipo) se corroboró con un análisis de DRX realizado en un difractor D8 Advance de la marca BRUKER, con la radiación de una lámpara de Cobre ( $\lambda = 1.54184$ ). 1g de muestra se colocó en un portamuestras de Aluminio y la velocidad angular del goniómetro fue de 0.02°/s, el intervalo de barrido en  $2\theta$  fue de 10° a 50° a 35 kV y 25 mA.

### **2.2.2 Dispersión de rayos X a bajo ángulo.**

La porosidad ordenada y tipo de poro del material se determinó por dispersión de rayos X a bajo ángulo (SAXS por sus siglas en inglés), utilizando un difractor RIGAKU modelo SmartLab, con la radiación de una lámpara de Cobre ( $\lambda = 1.54184$ ). El intervalo de barrido en  $2\theta$  fue de 1° a 6° a 40 kV y 44 mA.

### **2.2.3 Espectrometría infrarroja por transformada de Fourier**

El análisis por FT-IR permitió determinar la presencia de enlaces siloxano (Si-O-Si) y silanol (Si-OH) en la estructura y superficie del material respectivamente, así como la ausencia de restos de CTAB (C-H) y la adsorción de la RB y los fármacos aspirina e IBU.

La técnica se realizó en un espectrómetro FT-IR Nicolet 6700 con punta de diamante, de la marca ThermoScientific, en un rango de 500-4000 cm<sup>-1</sup>, con una velocidad de barrido de 4.

### **2.2.4 Microscopia electrónica de barrido**

La presencia de una morfología esférica, la aproximación del tamaño de partícula y la determinación de composición química puntual se realizó en el Microscopio Electrónico de Barrido Dual Beam (FIB/SEM) FEI-Helios Nanolab 600 con una

aceleración de 15 kV una resolución de 1 nm en modo barrido. Se realizó espectroscopia de dispersión de energía (EDS) y análisis morfológico superficial por electrones secundarios.

### **2.2.5 Microscopia electrónica de transmisión**

La estructura porosa del material se corroboró por la técnica de TEM en el Microscopio Electrónico de Transmisión HR-TEM FEI Tecnai F30 (300 keV). También se realizó un análisis de traza para la determinación de composición química por espectroscopia de dispersión de energía (EDS). Los datos se analizaron con ayuda de software Digital Micrograph.

### **2.2.6 Fisisorción de N<sub>2</sub>**

El área superficial así como tamaño y volumen de poro se determinaron en un equipo de fisisorción Quantachrome modelo NOVAe, con una temperatura de desgasificación de 200 °C, y un rango de P/P<sub>0</sub> de 0.005-0.095 con 40 puntos de adsorción y 39 de desorción.

### **2.2.7 Dispersión de luz dinámica, punto isoeléctrico y potencial z**

El análisis de tamaño promedio de partícula en solución y la determinación del punto isoeléctrico y el potencial z de las NPs se realizó en un equipo Zetasizer Nano ZS90 de la marca Malvern, el cual mide el tamaño de partícula y el tamaño molecular en un ángulo de dispersión de 90 grados utilizando dispersión de luz dinámica, también con la capacidad de medir potencial zeta usando movilidad electroforética y un láser doppler de microelectroforesis, y determinar el punto isoeléctrico realizando una valoración con HCl y NaOH.

Ya caracterizado el material se prosiguió a corroborar la baja toxicidad del material con ensayos de viabilidad celular MTT, para finalmente realizar la evaluación de las NPs como potenciales vehículos en la administración de fármacos.



# **CAPÍTULO 3. PRUEBAS DE LIBERACIÓN Y VIABILIDAD CELULAR**

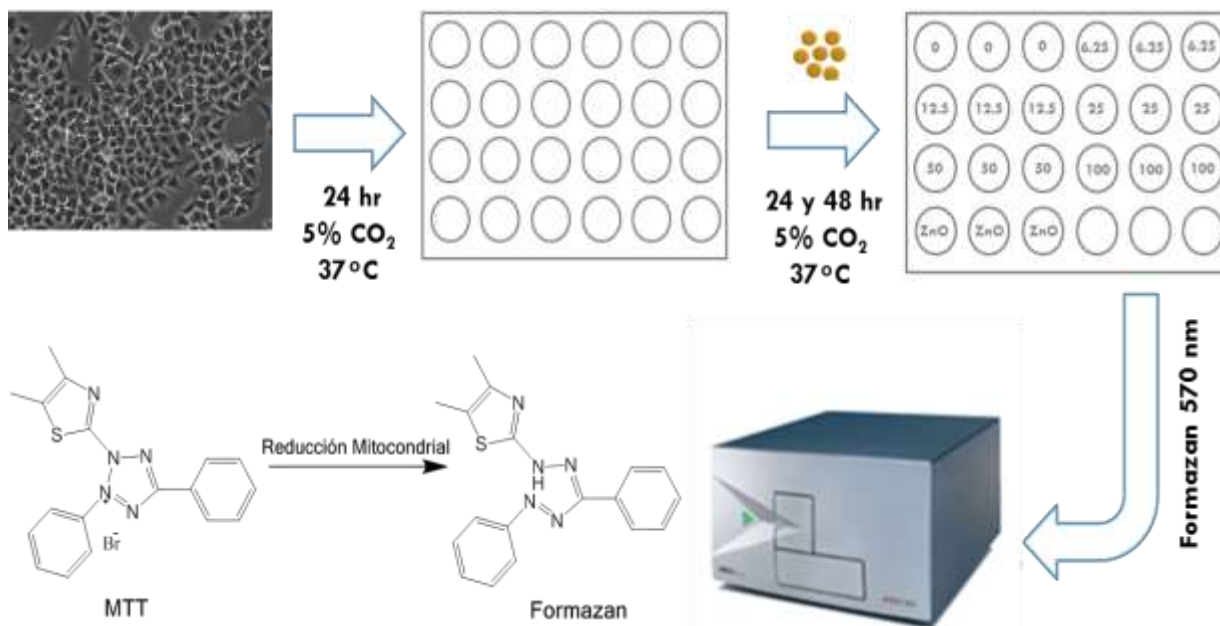
## **Capítulo 3. Pruebas de liberación y viabilidad celular.**

### **3.1. Ensayo de viabilidad celular.**

#### **3.1.1 Ensayos de viabilidad celular MTT**

Se realizó ensayos de viabilidad celular al material para corroborar su baja toxicidad, los ensayos se realizaron en células HepG2 (células hepáticas de carcinoma humano), con cuatro ensayos independientes por triplicado, con ZnO como control positivo (sustancias de las cuales se conoce su efecto citotóxico) [29] y como control negativo células no tratadas. La viabilidad se estimó mediante ensayos colorimétricos MTT, el cual se basa en la reducción metabólica del Bromuro de 3-(4,5- dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol (MTT) realizada por la enzima mitocondrial succinato-deshidrogenasa en un compuesto de color azul (formazan), permitiendo determinar la funcionabilidad mitocondrial de las células tratadas mediante análisis de absorción de luz.

Las células se cultivaron en DMEMF-12 (medio esencial modificado de Dulbecco) suplementado con FSB (suero fetal bovino) al 10% y se incubaron a 37°C y en una atmosfera estéril. Cuando las células alcanzan un 90% de confluencia se sembraron en una placa de 24 pozos con una densidad de 30,000 células/m<sup>2</sup>, después de 24 horas de ser incubadas a 37°C y en una atmosfera al 5% de CO<sub>2</sub> se agregaron las NPsSiO<sub>2</sub> en concentraciones de 0 a 100 µg/mL. La exposición a las nanoparticulas fue por 24 y 48 horas, después del tiempo de incubación requerido se adiciono el colorante MTT y se mantuvo durante 4 horas en incubación a las mismas condiciones, transcurridas las 4 horas los cristales de formazan formados se solubilizan. La absorbancia de la solución resultante se midió en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 570 nm.



**Fig. 3.1.** Esquema representativo del proceso de evaluación de citotoxicidad.

## 3.2 Ensayos de liberación

### 3.2.1 Liberación de rodamina B

Con el fin de determinar la concentración del ibuprofeno por espectroscopia UV-vis se realizó una curva de calibración la cual se muestra en el anexo 3.

Después de la adsorción se centrifuga y el primer sobrenadante, se analiza por espectrofotometría de UV-Vis a una longitud de onda de 500 nm con el fin de determinar de forma indirecta la cantidad de RB adsorbida. Por otra parte las NPsSiO<sub>2</sub>-RB recuperadas se resuspenden en una solución PBS-EtOH 1:1, 30 minutos después se centrifugan a 12,000 rpm durante 5 min y el sobrenadante se analiza en las mismas condiciones, finalmente se muestrea cada 30 min.

### 3.2.2 Liberación de ibuprofeno

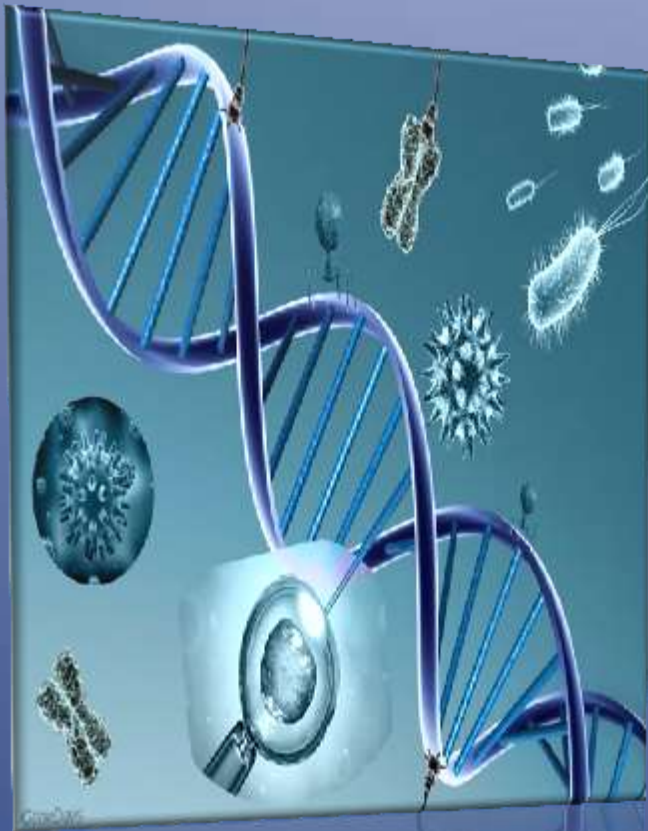
El mismo procedimiento descrito para la liberación de RB se reproduce para la liberación de IBU a una longitud de onda de 264 nm.

### **3.2.3 Espectroscopia UV-Vis**

La evaluación de las cinéticas de liberación de RB e IBU se monitorearon cada 30 min durante 4 horas seguidas en un espectrofotómetro UV-Vis (UV-1603, marca Shimadzu) a una longitud de onda de 500 nm y 264 nm respectivamente.

En este capítulo se presentó la metodología con la cual se evaluó la toxicidad de las NPs y la liberación de las moléculas modelo RB e IBU, en el siguiente apartado se presenta el análisis de los resultados obtenidos.





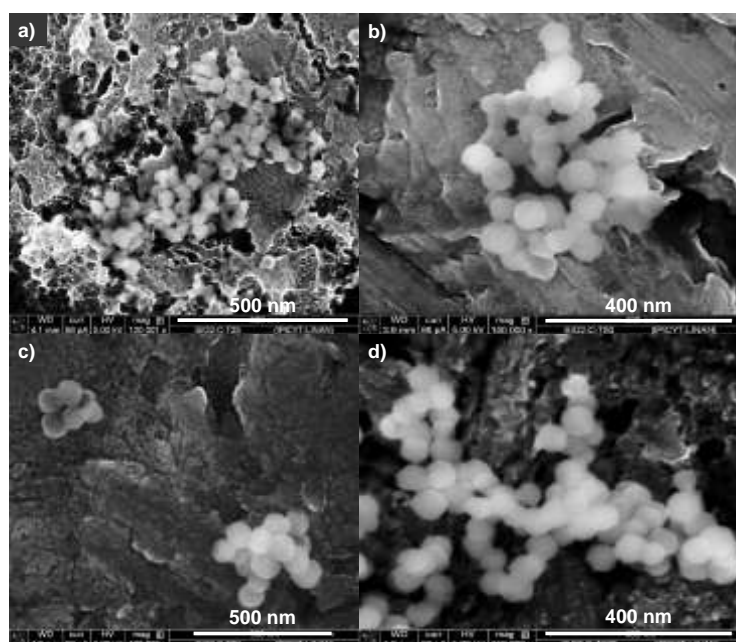
# CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## Capítulo 4. Resultados y discusión.

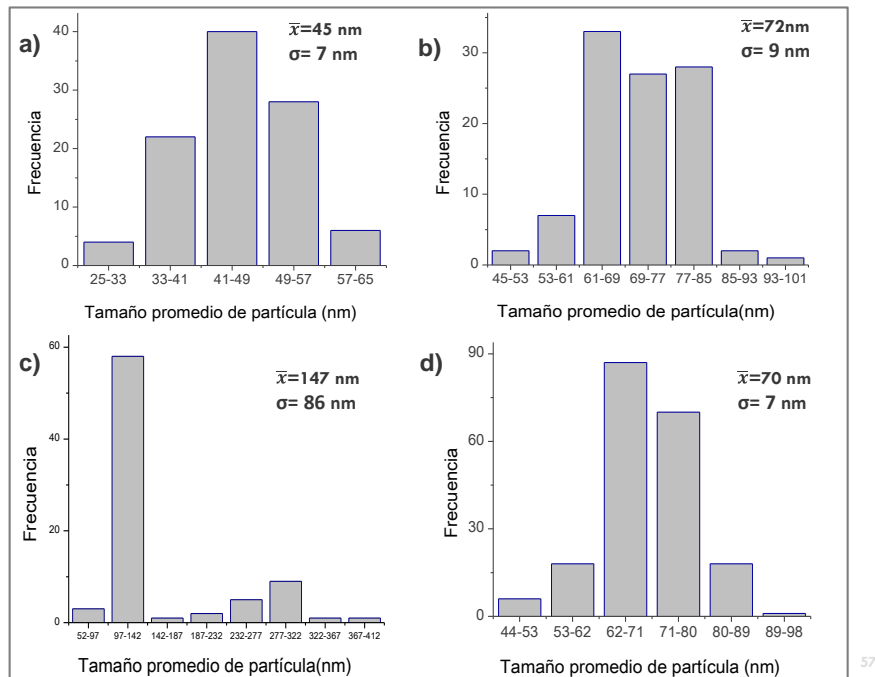
### 4.1 Caracterización de las $\text{NPsSiO}_2$

#### 4.1.1 Microscopia electrónica de barrido

Por SEM se determinó que las condiciones que favorecen la síntesis de  $\text{NPsSiO}_2$  porosas esféricas son las que conllevan el uso de 44 mmol de CTAB a una temperatura de 95 °C, en medio básico. En la Fig. 4.1 se puede observar que a menores temperaturas se presenta una combinación de morfologías esféricas y ovaladas, además de una mayor distribución de tamaño como se observa en la Fig. 4.2. En la búsqueda por mejorar la morfología y aumentar el tamaño de poro del material se sumó a la síntesis el uso del template P-123 solo y en combinación con CTAB, como resultado se obtuvieron bajas eficiencias debido a que las condiciones de la reacción no fueron las adecuadas, además de morfologías no deseadas tal como alambres y aglomerados amorfos. Por esta razón no se presentan imágenes de estas síntesis y el resto de la caracterización se centrara en las  $\text{NPsSiO}_2$  sintetizadas a de 95 °C.

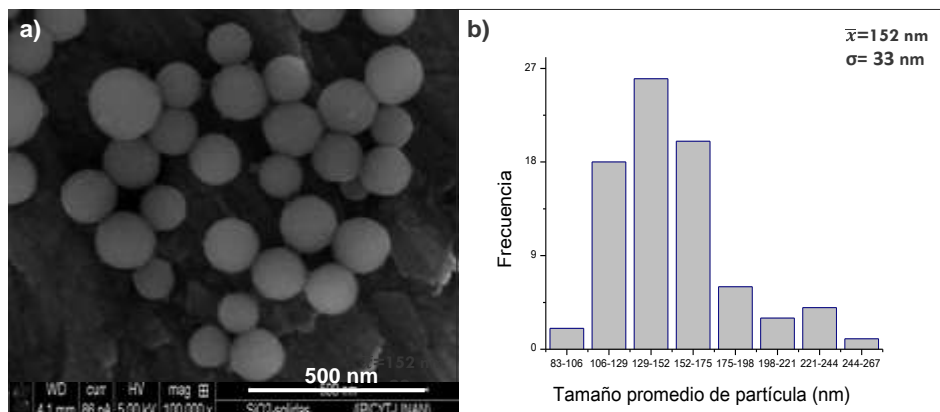


**Fig. 4.1.** Imágenes de SEM a 120,000x, 150,000x, 100,000x y 150,000x magnificaciones respectivamente, donde se aprecia la morfología y tamaño de las  $\text{NPsSiO}_2$  sintetizadas con una relación de 44mmol de CTAB a: a) 25 °C, b) 50 °C, c) 80 °C y d) 95 °C.



**Fig. 4.2.** Histogramas del tamaño promedio de partícula de las microfotografías presentadas en las Fig. 4.1. a) 25 °C, b) 50 °C y c) 80 °C, d) 95 °C.

El tamaño promedio de partícula Fig. 4.2 se determinó mediante un conteo y análisis estadístico de 100 (a, b,c) y 200 (d) nanopartículas en el software Digital Micrograph, y las mejores condiciones se encontraron a 95 °C obteniéndose un diámetro promedio de 70 nm y tamaño de partícula más homogéneo.

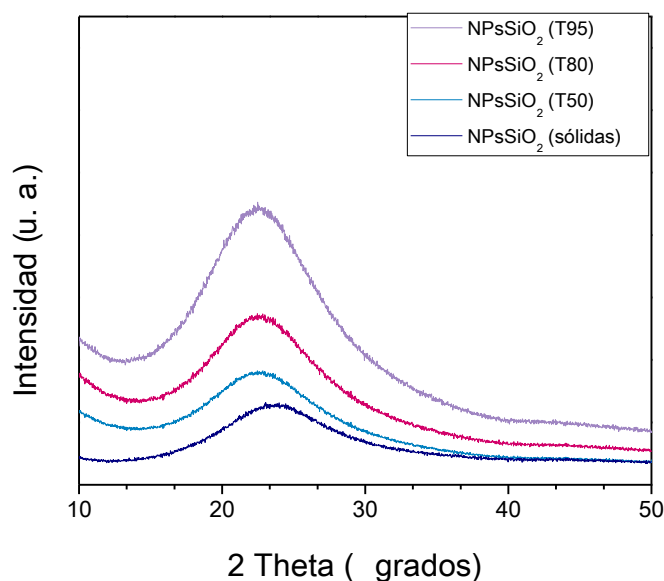


**Fig. 4.3.** a) imagen de SEM a 100,000x aumentos de las NPsSiO<sub>2</sub> sólidas sintetizadas, b) histograma de tamaño promedio de partícula correspondiente a las NPsSiO<sub>2</sub> sólidas.

En lo referente a la síntesis de nanopartículas sólidas, como producto se obtuvo como resultado partículas esféricas (Fig. 4.3 a) con una gran distribución de tamaño como se observa en el histograma presentado en la Fig. 4.3 b) en un rango de 83-250 nm, preferentemente entre 100-170 nm por lo cual no se evaluaron en el proceso de liberación, ya que se buscaba obtener partículas con un tamaño < 100 nm .

#### 4.1.2 Difracción de rayos X

El análisis de DRX permitió corroborar la ausencia de cristalinidad en el material de SiO<sub>2</sub> sintetizado, ya que no se observa ningún pico de difracción solo una amplia banda centrada en 24 grados, como aparece en la carta cristalográfica 00-029-0085 [28], además de que la técnica permitió elucidar la ausencia de picos que indiquen la presencia de impurezas (residuos de los precursores), lo cual indica que el proceso de lavado utilizado es adecuado.



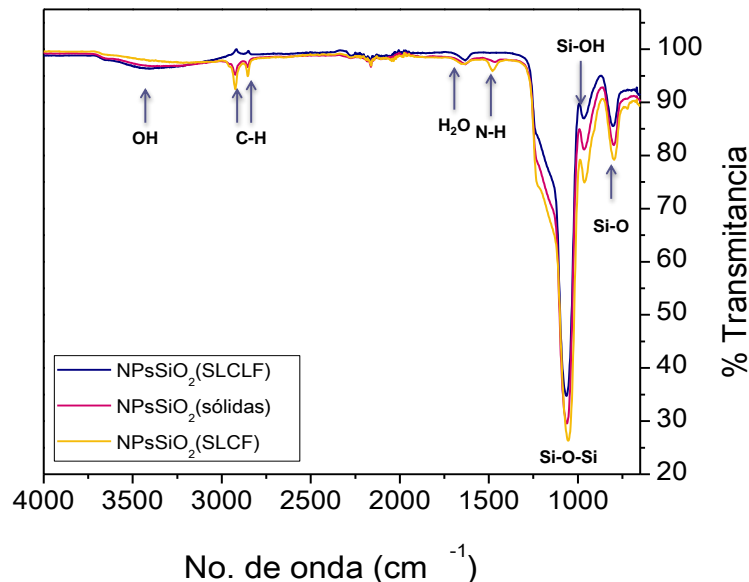
**Fig. 4.4.** Difractograma de las NPsSiO<sub>2</sub> porosas sintetizadas a diferentes temperaturas y NPsSiO<sub>2</sub> sólidas.

En el difractograma presentado en la Fig. 4.4 se aprecia el incremento de la temperatura de síntesis no tiene efecto en el arreglo estructural del material pues

persiste exclusivamente una banda ancha en 22 grados tal como se reporta P. Jia et al. [28], el cambio de intensidad no se puede relacionar con el tamaño de partícula obtenido en cada síntesis ya que a pesar de que los análisis se realizaron a las mismas condiciones se realizaron en diferente instrumento. En el difractograma de las  $\text{NPsSiO}_2$  sólidas se observa un ligero desplazamiento del pico a ángulos mayores (24 grados) lo cual indica una compresión del material, la ley de Bragg nos indica que un incremento en el ángulo de difracción es resultado de una disminución en la distancia inter-planar.

#### **4.1.3 Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier**

La efectividad del proceso de lavado y la presencia de grupos silanol (Si-OH) en la superficie de las  $\text{NPsSiO}_2$  porosas y sólidas se determinó por FT-IR (Fig. 4.5), en todas las muestras se presentan bandas de vibración en  $1076\text{ cm}^{-1}$  y  $809\text{ cm}^{-1}$  las cuales corresponden a estiramientos y flexiones del enlace silicio y oxígeno (Si-O-Si). La banda ubicada en  $1076\text{ cm}^{-1}$  corresponde a vibraciones asimétricas, mientras que la banda a  $809\text{ cm}^{-1}$  se atribuye a vibraciones simétricas de estiramiento (Si-O-Si). La vibración del enlace del grupo silanol (Si-OH) se presenta en  $964\text{ cm}^{-1}$  y en  $3500\text{ cm}^{-1}$  se aprecia la vibración de los grupos hidroxilo ( $\text{OH}^-$ ) producto de la presencia de los grupos Si-OH superficiales. Adicionalmente las muestras de  $\text{NPsSiO}_2$  sólidas y las  $\text{NPsSiO}_2$  (SLCF) presentan bandas en el rango de  $2870\text{-}2970\text{ cm}^{-1}$  correspondientes a vibraciones asimétricas y de deformación plana del enlace C-H lo cual indica restos del tensoactivo en el material obtenido, por lo cual se decidió sumar una etapa al proceso de lavado y la muestra sometida a la etapa de lavado extra se nombró  $\text{NPsSiO}_2$  (SLCLF).

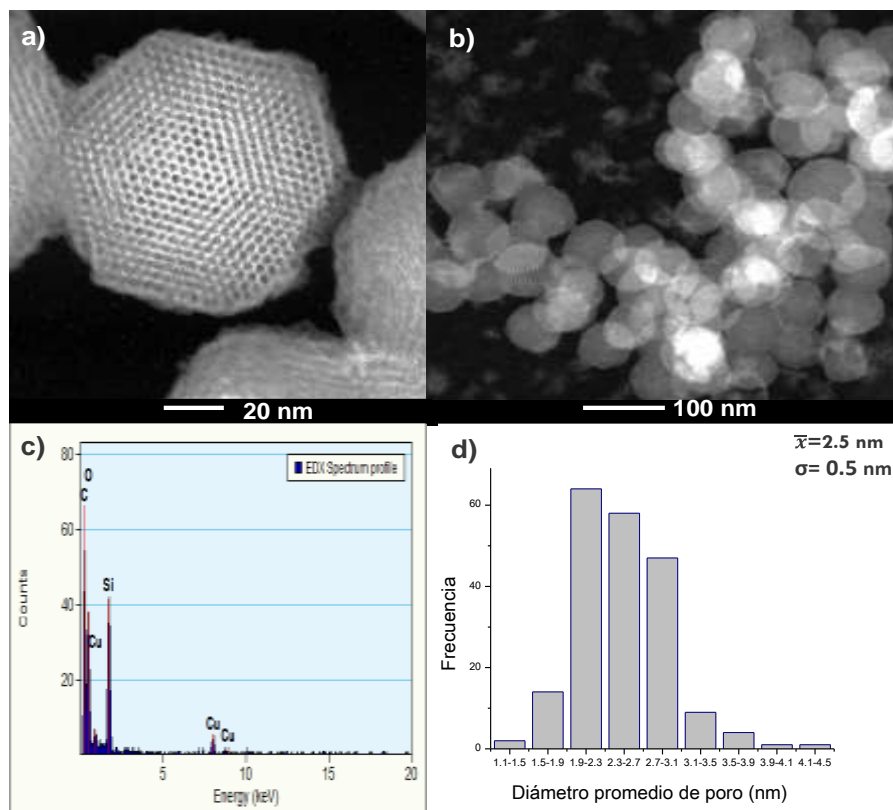


**Fig. 4.5.** Espectro FT-IR de las NPsSiO<sub>2</sub> sólidas y porosas con una variación en el proceso de eliminación del template.

En el espectro mostrado en la Fig. 4.5 permitió determinar que el realizar un lavado después de calcinar la muestra permite la eliminación de los restos de tensoactivo en la superficie del material (tomando en cuenta el límite de detección del equipo 0.1%), además de corroborar la presencia de grupos hidroxilo en el material.

#### 4.1.4 Microscopia electrónica de transmisión

Las imágenes de TEM revelan una estructura porosa con arreglo hexagonal y una morfología esférica, así como homogeneidad en el arreglo poroso de todas las NPs. Para corroborar la presencia exclusiva de SiO<sub>2</sub> se realizó un análisis EDX en 6 puntos por triplicado como el que se muestra en la Fig. 4.6. Esta técnica permitió realizar una estimación del tamaño de poro con el software Digital Micrograph, realizando un conteo en 200 poros se determinó un tamaño de 2.5 nm  $\pm$  0.5 nm, posteriormente por fisisorción de N<sub>2</sub> se determinó el tamaño promedio de poro.



**Fig. 4.6.** Micrografía de TEM a) Micrografía de HRTEM en donde se corrobora la estructura porosa ordenada de las NPsSiO<sub>2</sub>. b) Imagen de TEM a menor magnificación de las NPsSiO<sub>2</sub>. c) Análisis químico semicuantitativo por EDS donde se confirma la presencia de oxígeno y silicio únicamente en la muestra, d) histograma del tamaño promedio de poro de las NPsSiO<sub>2</sub>.

#### 4.1.5 Fisisorción de N<sub>2</sub>

Las isothermas de adsorción-desorción de 40 puntos, se analizaron por el método BET y se determinó que el área superficial de las NPsSiO<sub>2</sub>-porosas se encuentra aproximadamente en 743 m<sup>2</sup>/g y análisis de tamaño promedio de poro con el método BJH se aproxima a 3.1 nm, mientras que para las NPsSiO<sub>2</sub>-sólidas el área superficial es de 320 m<sup>2</sup>/g con un tamaño promedio de poro de 3.1 nm. Los resultados obtenidos son comparables con lo reportado en la literatura para la síntesis de NPsSiO<sub>2</sub> por este método de síntesis, donde obtienen diámetros de poro de 2.5 – 4.0 nm y áreas superficiales que van de los 700 – 100 m<sup>2</sup>/g [23].

En la Fig. 4.7 se muestra las isothermas de adsorción-desorción ambas pertenecen a una isoterma tipo IV, según la clasificación de la IUPAC, característica de materiales microporosos y mesoporosos. Las NPsSiO<sub>2</sub> porosas presenta dos

ciclos de histéresis uno de 0.05-0.4 tipo H1 propio de materiales con estructuras porosas altamente ordenada y de 0.5-0.9 presenta una histéresis tipo H4 típica de poros cilíndricos. La histéresis presente de 0.1-0.3 en las isothermas de ambas NPs es atribuible a la condensación capilar del nitrógeno en los mesoporos (anexo 3).

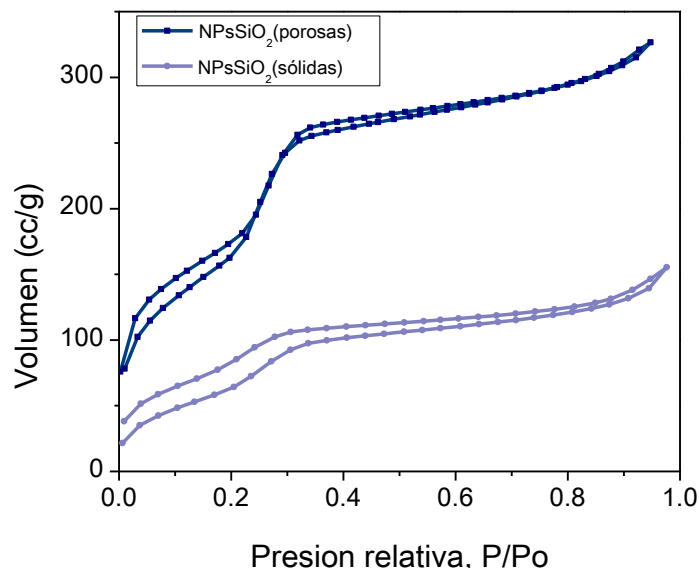


Fig. 4.7. Isothermas de adsorción-desorción de las NPsSiO<sub>2</sub>.

| Tabla 4.1. Resultados de fisisorción de N <sub>2</sub> |                                      |                                |
|--|--------------------------------------|--------------------------------|
| Muestra  | Área superficial (m <sup>2</sup> /g) | Diámetro promedio de poro (nm) |
| NPsSiO <sub>2</sub> porosas                            | 743                                  | 3.1                            |
| NPsSiO <sub>2</sub> sólidas                            | 320                                  | 3.1                            |

Comparando los valores encontrados, como se esperaba el área superficial de las NPs sólidas es menor, y el tamaño promedio de poro fue el mismo en ambos casos lo cual hace interesante el estudio sintetizadas sin CTAB como trabajo a futuro. El decremento en el área superficial de las NPs sólidas a pesar de presentar un tamaño de poro similar a las porosas se debe a la diferencia de tamaño de partícula, al ser mayor el de las NPs sólidas su área superficial disminuye. A pesar de presentar porosidad adecuada para la adsorción de moléculas a caracterización y evaluación de las NPsSiO<sub>2</sub> sólidas no se continuo



en este trabajo debido a su elevado tamaño de partícula, ya que se buscaba obtener NPs sólidas con el fin de comparar el comportamiento del material con y sin porosidad.

#### 4.1.6 Dispersión de rayos X a bajo ángulo

El patrón exhibe un pico de reflexión intenso a  $2\theta$  en un valor  $2.10^\circ$  con un hombro amplio asignado al plano (100), lo que es indicio de la estructura mesoporosa de la sílice, además de dos picos en  $3.7^\circ$  y  $4.4^\circ$  en  $2\theta$  correspondientes a la difracción de los planos (110) y (200) respectivamente que describen una estructura hexagonal (2D) de orden a largo alcance [24].

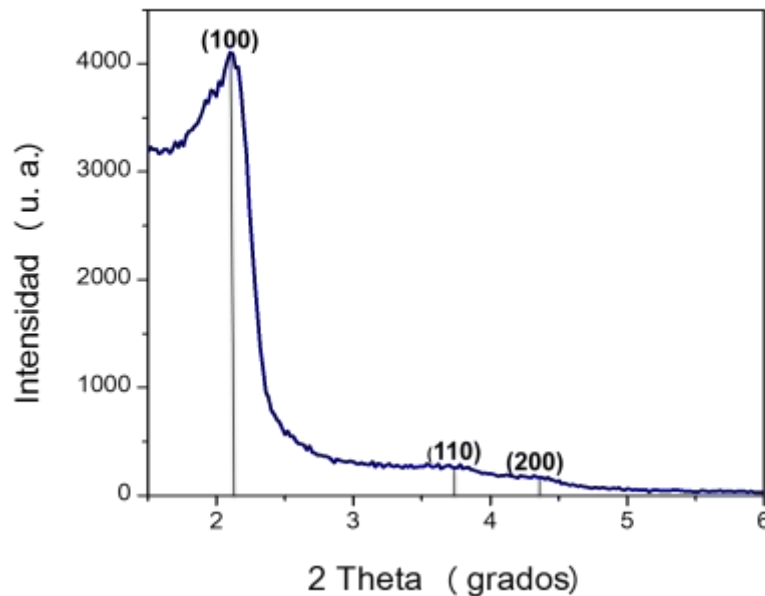


Fig. 4.8. Difractograma de SAXS de las NPsSiO<sub>2</sub>.

#### 4.1.7 Dispersión de luz dinámica y potencial z

La determinación del tamaño de partícula en solución se realizó en medio acuoso, medio de cultivo DMEM-F12 y PBS ya que para los propósitos de aplicación de este material es relevante conocer su comportamiento en medios biológicos y

acuosos. En la tabla. 4.2 se resumen los datos obtenidos diámetros de partícula (dp), índice de polidispersión (PDI) y potencial Z en cada medio.

En todos los casos el diámetro aumenta principalmente debido a la aglomeración de las NPs en solución como lo demuestra el valor del PDI, además del efecto de la interacción de estas con el medio. El potencial Z se midió solo en PBS ya que es el fluido en cual se trabajó para realizar las cinéticas de liberación, se aprecia que el material se encuentra cargado en este medio, lo cual puede favorecer las uniones electrostáticas con especies como el IBU.

**Tabla 4.2. Características de las NPsSiO<sub>2</sub> en solución**

| Muestra          | Medio    | Diámetro (nm) | PDI  | PZ (mv) |
|------------------|----------|---------------|------|---------|
| SiO <sub>2</sub> | Agua     | 312           | 0.23 | -14     |
|                  | DMEM-F12 | 266           | 0.22 |         |
|                  | PBS      | 378           | 0.24 | -15.7   |

#### 4.1.8 Ensayos de viabilidad celular MTT

En la literatura los materiales de SiO<sub>2</sub> se reportan como biocompatibles y no tóxicos, este es un aspecto sumamente importante debido a al área de aplicación de este material. Por esta razón se realizó un estudio de viabilidad celular mediante ensayos MTT, como se observa en la Fig. 4.8 en un tiempo de exposición de 24 y 48 hr, considerando las barras de error no existen cambios apreciables en el crecimiento y función de la células, lo cual se traduce en una baja toxicidad del material. Como se esperaba la toxicidad es baja y lo cual da pauta para realizar los estudios de liberación controlada de las moléculas modelo.

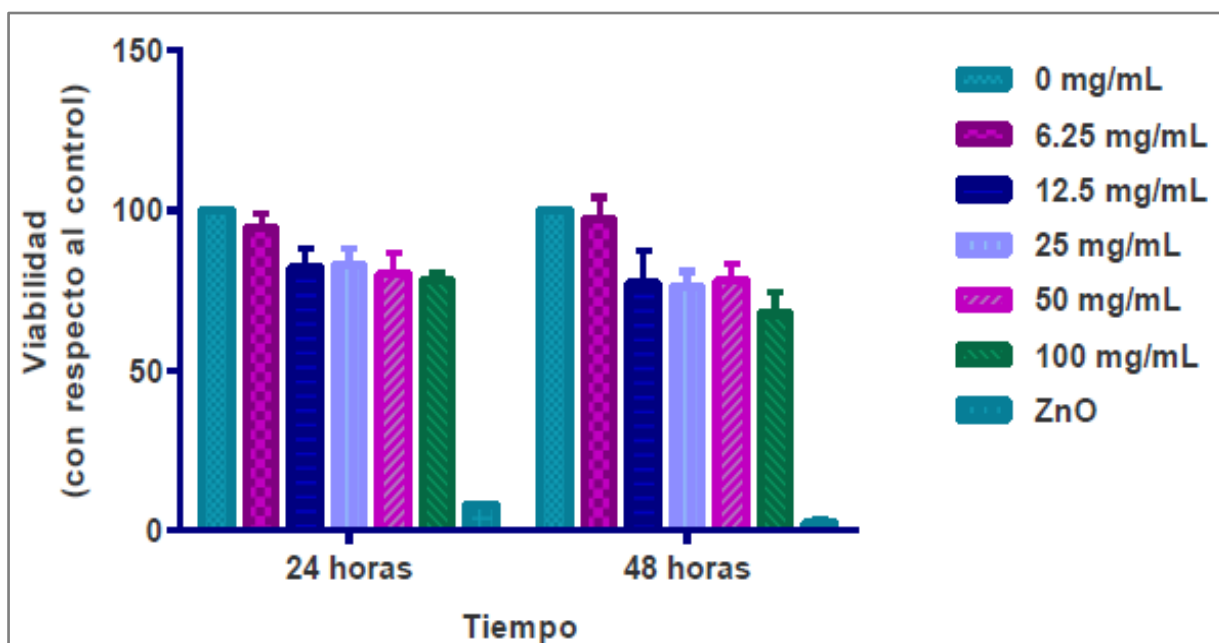
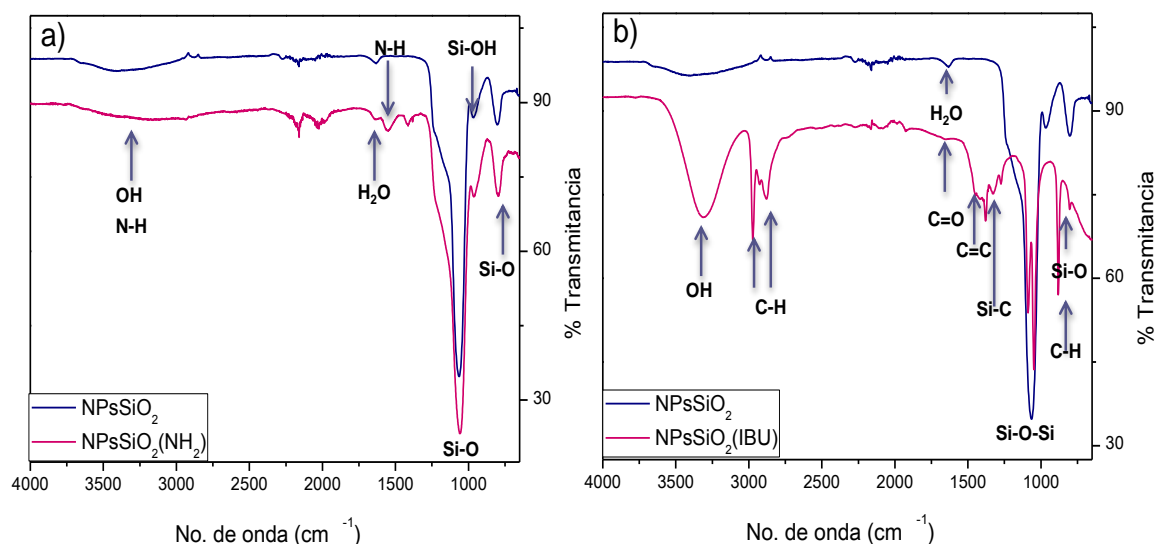


Fig. 4.9. Resultados de los ensayos MTT de viabilidad celular en células HepG2 expuestas a diferentes concentraciones de NPsSiO<sub>2</sub> porosas durante 24 y 48 horas con respecto al control. Se sembraron 30,000 cel/cm<sup>2</sup>, utilizando como control positivo 25 µg/mL de ZnO.

## 4.2 Funcionalización y evaluación de las NPsSiO<sub>2</sub>

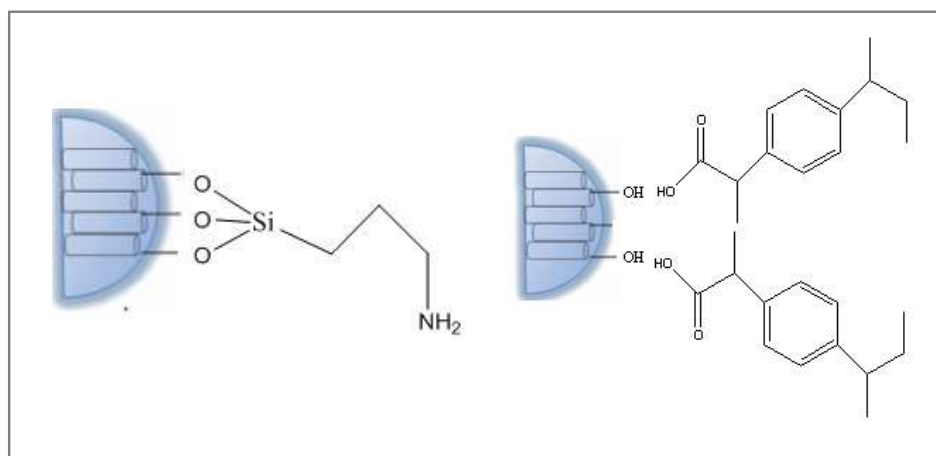
### 4.2.1 Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier

Con el propósito de disminuir la interacción entre las NPsSiO<sub>2</sub> y las células se funcionalizo la superficie del material con grupos amino, la presencia de estos grupos en el material se corrobora por FT-IR. Como se presenta en la Fig. 4.9 a 1540 cm<sup>-1</sup> aparece la vibración del enlace N-H, así como en 3300 cm<sup>-1</sup> donde se traslapa con las bandas pertenecientes a la vibración del grupo OH<sup>-</sup>. lo cual es congruente con lo reportado por A. Szegedi et al, donde funcionalizaron la superficie de esferas tipo MCM-41 con APTES y reportan la formación de enlaces covalentes entre los oxígenos de los grupos silanol y el átomo de silicio presente en la molecula de APTES como se aprecia en la Fig. 4.11.



**Fig. 4.10.** Espectro FT-IR de las NPsSiO<sub>2</sub> porosas funcionalizadas con a) APTMS y b) IBU.

La presencia del ibuprofeno adsorbido se determinó por la presencia de las bandas en 754, 2871 y 2971 cm<sup>-1</sup> correspondiente a la vibración del enlace C-H de deformación plana, estiramientos simétricos y asimétricos, en 1282 cm<sup>-1</sup> se presenta la banda correspondiente al grupo Si-C y en 1460 cm<sup>-1</sup> aparece la vibración de estiramiento C=C de un grupo aromático. En la figura 4.11 se aprecia la interacción por puentes de hidrogeno que se propone de las NPsSiO<sub>2</sub> con la molécula de IBU, el cual fue reportado por A. Szegedi et al.



**Fig. 4.11.** Esquema representativo de la interacción de las NPsSiO<sub>2</sub> con la molécula APTES e IBU.

### 4.2.2 Punto Isoeléctrico

En la literatura se reporta que el  $\text{SiO}_2$  presenta su punto de carga cero a un pH de 2 [10]. y al ser funcionalizado con grupos amino se desplaza hacia pH básicos aproximadamente de 8, como parte de la caracterización del material sintetizado se determinó el punto isoeléctrico y se confirmó que es cercano a dos y al funcionalizar se desplazó a 9.5 lo que nos permite validar por otra técnica la presencias de los grupos amino.

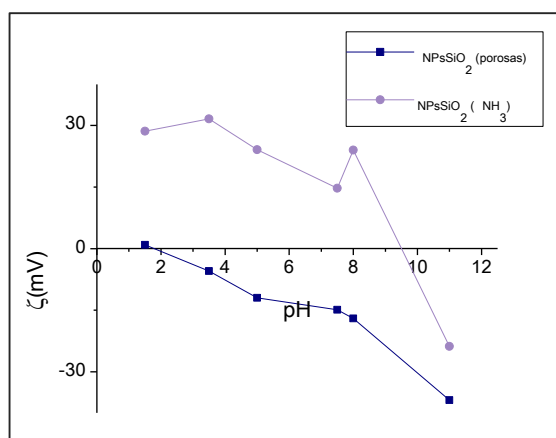


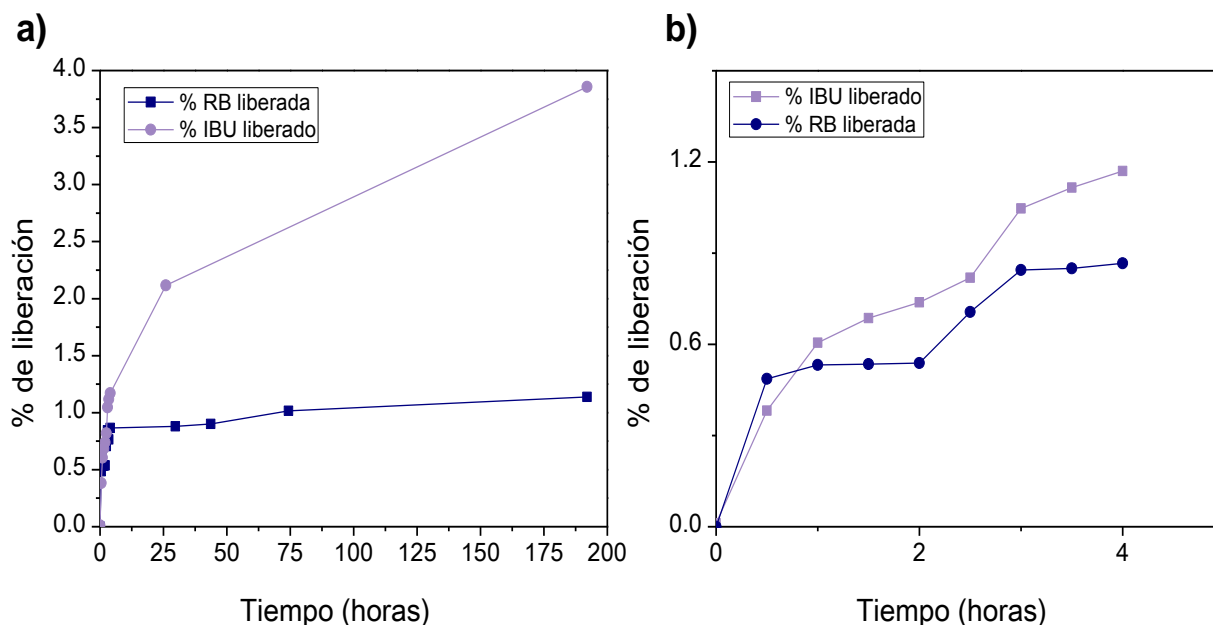
Fig. 4.12 Grafico de variación del potencial Z con respecto al pH.

### 4.2.3 Pruebas de liberación con moléculas modelo

La capacidad de adsorción del material se comprobó con rodamina B como marcador y posteriormente con ibuprofeno como fármaco modelo, la cantidad adsorbida se determinó mediante espectroscopia UV-vis, las cantidades adsorbidas después de 48 horas se presentan en la tabla 4.3.

| Tabla 4.3 Cantidad y porcentajes de liberación |                       |                                   |                          |                         |                             |
|--|-----------------------|-----------------------------------|--------------------------|-------------------------|-----------------------------|
| Molécula                                       | Longitud de Onda (nm) | Cantidad NPsSiO <sub>2</sub> (gr) | Cantidad a adsorber (gr) | Cantidad adsorbida (gr) | Porcentaje de adsorción (%) |
| RB   | 500                   | 0.1                               | 0.0075                   | 0.0037                  | 49                          |
| IBU  | 264                   | 0.03                              | 0.15                     | 0.11                    | 74                          |

Tomando en cuenta la cantidad adsorbida, la liberación en un fluido corporal simulado hasta alrededor de 140 horas es lenta y continua lo cual es una cualidad que favorece la aplicación del material.



**Fig. 4.13** Grafico del porcentaje de liberación de rodamina B e ibuprofeno con respecto a la cantidad adsorbida mostrada en la tabla 4.3 contra el tiempo de muestreo en un fluido corporal simulado PBS (pH=7.5) a) Hasta 200 horas de liberación, b) Visualización de las primeras horas de liberación 0-4 horas.

El tipo de curva obtenida Fig. 4.13 en ambos casos es del tipo de liberación sostenida, de ambas curvas con un comportamiento que se ajusta a modelo de Korsmeyer-Pepas (A4). Realizando el ajuste al modelo se obtiene que la constante de liberación ( $k$ ) para RB es  $k=0.58$ , mientras que para IBU es  $k=0.60$ . El exponente que indica el mecanismo mediante el cual ocurre la liberación ( $n$ ) para RB es  $n=0.13$ , en el caso del IBU  $n=0.37$ . El modelo de Korsmeyer-Pepas describe que cuando  $n=0.5$  el mecanismo que rige la liberación es la difusión de Fick, lo cual equivale a la liberación de la molécula de prueba por diferencia de concentraciones.

En la literatura se reporta generalmente una liberación del 90% fármaco alrededor de las 72 h en materiales de este tipo con una relación mg de fármaco/ g de NPs de 1200 mg/g [26,30], como se observa en la Fig. 4.12 las NPsSiO<sub>2</sub> presentan una

liberación paulatina la cual en el caso del IBU se puede adjudicar a la baja solubilidad del fármaco en PBS, aun cuando existe un ligero incremento al avanzar el tiempo. Calculando la relación mg de fármaco/ g de NPs el valor es superior a lo que se reporta 3600 mg/g.

#### 4.2.4 Microscopia electrónica de barrido de las NPsSiO<sub>2</sub>-IBU

Un aspecto importante a conocer del material es conocer el tamaño de partícula posterior a la adsorción del fármaco, ya que según la investigación realizada su tamaño debe estar dentro del orden nanométrico para disminuir su efecto toxico, con este objetivo se analizaron las NPs por SEM y realizo un análisis estadístico con ayuda del software Digital Micrograph. En la Fig. 4.14 se observa que tras la adsorción del fármaco las NPsSiO<sub>2</sub> mantienen su morfología esférica y el tamaño de partícula aumenta 26 nm en promedio pero en general se mantiene dentro del rango de los nanomateriales, lo que es favorable para su aplicación.

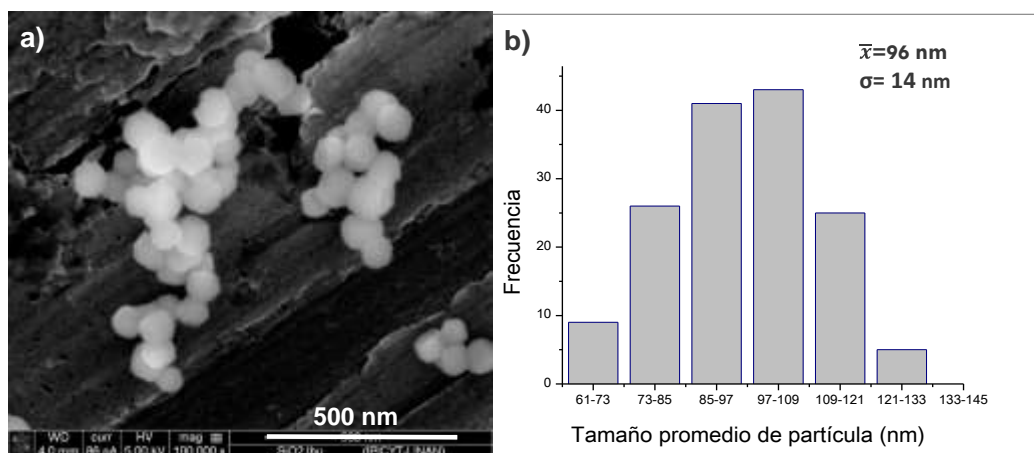
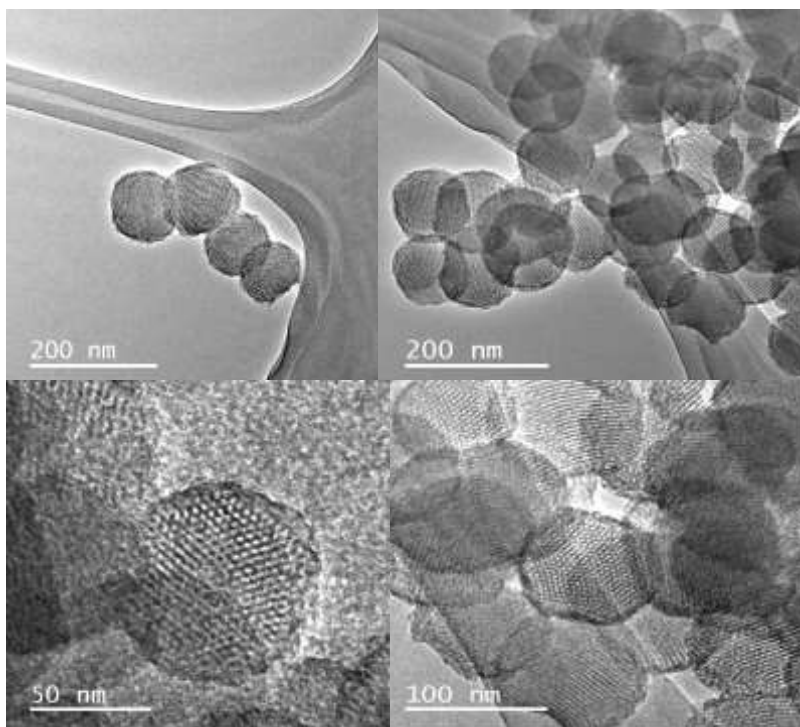


Fig. 4.14 a) Micrografía de SEM a una magnificación de 100,000x de las NPsSiO<sub>2</sub>-IBU, b) histograma del tamaño promedio de partícula de las NPsSiO<sub>2</sub>-IBU.

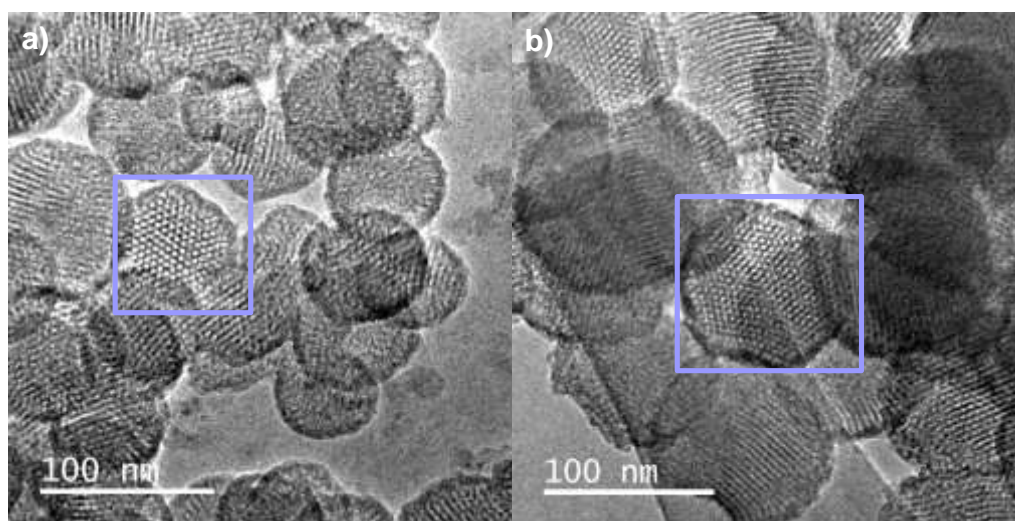
#### 4.2.5 Microscopia electrónica de transmisión de las NPsSiO<sub>2</sub>-IBU

Por TEM se buscó corroborar la estabilidad de la forma esférica de las NPsSiO<sub>2</sub>, así como la disminución del tamaño en los poros del material debido a la presencia del ibuprofeno en estos. En la serie de imágenes presentes en la Fig. 4.15 se logra apreciar le estabilidad de la morfología y un cambio en la porosidad,

el cual se aprecia mejor en la Fig. 4.15 donde además del cambio en la porosidad se observa un incremento en el tamaño de partícula debido a la adsorción de ibuprofeno en los poros.



**Fig. 4.15** Serie de imágenes obtenidas por TEM en campo de las NPsSiO<sub>2</sub>-IBU.



**Fig. 4.16** Comparación de imágenes de TEM en campo claro de a) NPsSiO<sub>2</sub> y b) NPsSiO<sub>2</sub>-IBU.



Como se observa en las imágenes de SEM y TEM hay un incremento considerable en el tamaño promedio de partícula debido a la adsorción del IBU en el material, este hecho da pauta al siguiente paso que es encontrar las mejores condiciones para lograr una liberación más efectiva y que potencie la aplicación de las NPsSiO<sub>2</sub>.

## Conclusiones

- El método Stöber modificado resulto adecuado para la síntesis de las NPsSiO<sub>2</sub> esféricas con mesoporosidad ordenada.
- La variación de temperatura (25-95 °C) permitió optimizar la síntesis y obtener NPsSiO<sub>2</sub> (70 nm) esféricas con mesoporosidad (3 nm) ordenada y alta área superficial (743 m<sup>2</sup>/g).
- La ausencia de tensoactivo en la síntesis y el uso de una mezcla H<sub>2</sub>O/Et-OH como medio de reacción dio como resultado esferas más compactas con un diámetro promedio de 152 nm y un área superficial de 320 m<sup>2</sup>/g.
- El tamaño de partícula obtenido por el método de síntesis descrito es el adecuado para tener una interacción saludable con las células, ya que a tamaños menores es fácil traspasar la pared celular y dañar a la célula, mientras que a mayor tamaño el material entraría en la ventana del tamaño de los virus lo cual incrementa la posibilidad de rechazo.
- Las NPsSiO<sub>2</sub> presentan grupos siloxano (Si-O-Si) y silanol (Si-OH) que actúan como centros de adsorción del fármaco.
- Se logró la funcionalización del material con grupos amino su presencia se corrobora por FT-IR y el desplazamiento del PI del material de 2 a 9.
- La adsorción de aspirina en las NPsSiO<sub>2</sub> funcionalizada con grupos amino no se logró, probablemente debido a que las condiciones del medio usado en el proceso de adsorción no fue el adecuado.
- Se comprobó la baja toxicidad de los materiales de silicio, tal como se reporta en la literatura. Las NPsSiO<sub>2</sub> presentaron una disminución de la viabilidad menor al 10 %.
- Se consiguió la adsorción de IBU directamente sobre la superficie de las NPsSiO<sub>2</sub> como muestran los datos de FT-IR y UV-vis.
- Los materiales sintetizados presentaron buenos resultados en las pruebas de liberación de IBU y RB como moléculas modelo, ambas cinéticas

presentan una liberación por difusión de Fick, según en ajuste que se realizó al modelo de Korsmeyer-Peppas.

- Con los resultados obtenidos se puede concluir que la adsorción y liberación dependen principalmente del tipo de fármaco que se use en el proceso, así como del medio en cual se realice la evaluación.
- El comportamiento de las cinéticas es comparable con los datos reportados en la literatura.

## Perspectivas

- Evaluar la adsorción y liberación de IBU en mayores concentraciones en el mismo fluido corporal simulado y en otros medios (diferentes pH).
- Incrementar la viabilidad de las NPsSiO<sub>2</sub> así como mejorar la adsorción del fármaco mediante la funcionalización con moléculas como polietilenglicol o glucosa.
- Establecer la metodología de HPLC para evaluar la concentración del fármaco.
- Evaluar la adsorción y liberación de otros fármacos.
- Mejorar el método de síntesis en ausencia de tensoactivo para obtener NPs con un menor diámetro de partícula y tamaño homogéneo, para evaluar el material en liberación controlada.
- Evaluar el proceso de liberación controlada en otros materiales como Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, TiO<sub>2</sub>, Fe con SiO<sub>2</sub> como recubrimiento.
- Modificar la superficie externa del material con especies capaces de dar respuesta a estímulos externos como glucosa (pH) o azobenceno (luz).
- Evaluar la respuesta de los materiales dopados con Fe a impulsos magnéticos.

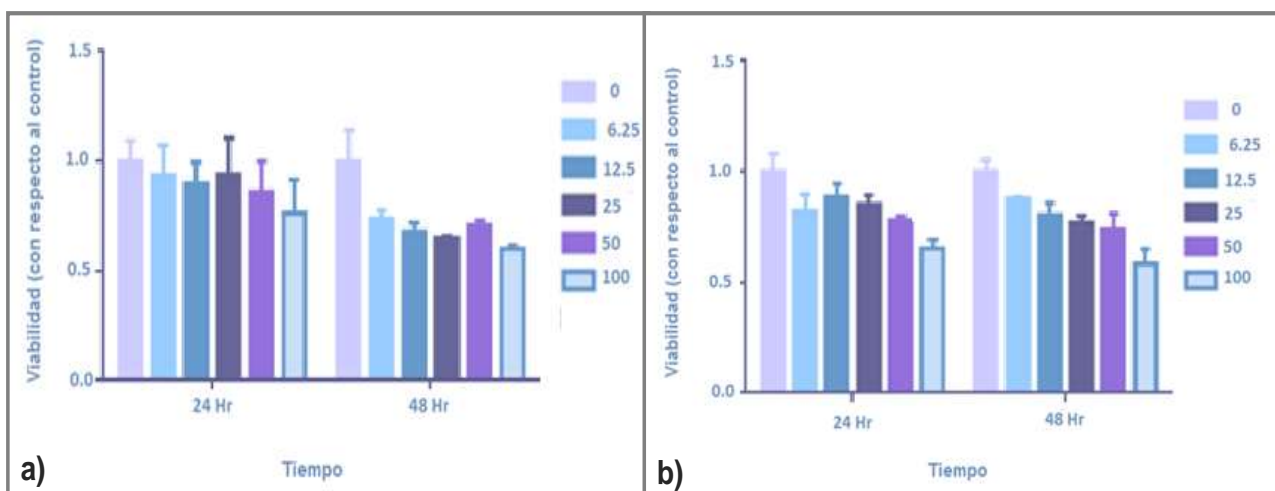
## Anexos

### Anexo 1. Otros materiales porosos evaluados en liberación controlada

Como trabajo extra se evaluó la citotoxicidad de  $\text{NPsSiO}_2$  con un contenido en 1 y 5 % en Fe, así como se analizó la adsorción y liberación de RB e IBU.

En el trabajo de tesis se corroboró la baja toxicidad de las  $\text{NPsSiO}_2$  y como se describió a lo largo del documento los procesos de liberación se pueden manipular con el uso de pulsos externos, como los campos magnéticos. La adición de Fe a las  $\text{NPsSiO}_2$  provee al material susceptibilidad a campos de este tipo lo que potencia su futuro uso en la liberación de fármacos de forma específica, por lo que representa una opción conveniente su evaluación en la liberación controlada de fármacos.

#### A.1.1 Ensayos de viabilidad celular MTT



**Fig. A.1** Resultados de los ensayos MTT de viabilidad celular en células HepG2 expuestas a diferentes concentraciones de  $\text{NPsSiO}_2$  porosas con un contenido a) 1% Fe b) 5% F2, durante 24 y 48 horas. Se sembraron 30,000 cel/cm<sup>2</sup>.

En comparación con los resultados de las  $\text{NPsSiO}_2$  estos materiales presentan una toxicidad más significativa al incrementarse el contenido en Fe. La actividad mitocondrial de las células decrece aproximadamente en un 40% a en ambos

tiempos de exposición a altas concentraciones, lo cual probablemente hace necesario en uso de alguna molécula como recubrimiento externo para disminuir el efecto toxico del material.

### A.1.2 Dispersión de luz dinámica y potencial Z

La determinación del tamaño de partícula en solución se realizó en medio acuoso, medio de cultivo DMEM-F12 y PBS. En la tabla. A.1 se resumen los datos obtenidos diámetros de partícula (dp), índice de polidispersión (Pdl) y potencial Z en cada medio.

En todos los datos se muestra un aumento en el diámetro de partícula principalmente debido a la aglomeración de las NPs en solución como lo demuestra el valor del PDI, además del efecto de la interacción de estas con el medio. El potencial Z se midió exclusivamente en PBS ya que es el fluido en cual se trabajó para realizar las cinéticas de liberación, se aprecia que el material se encuentra cargado en este medio, lo cual puede favorecer las uniones electrostáticas con diversas especies.

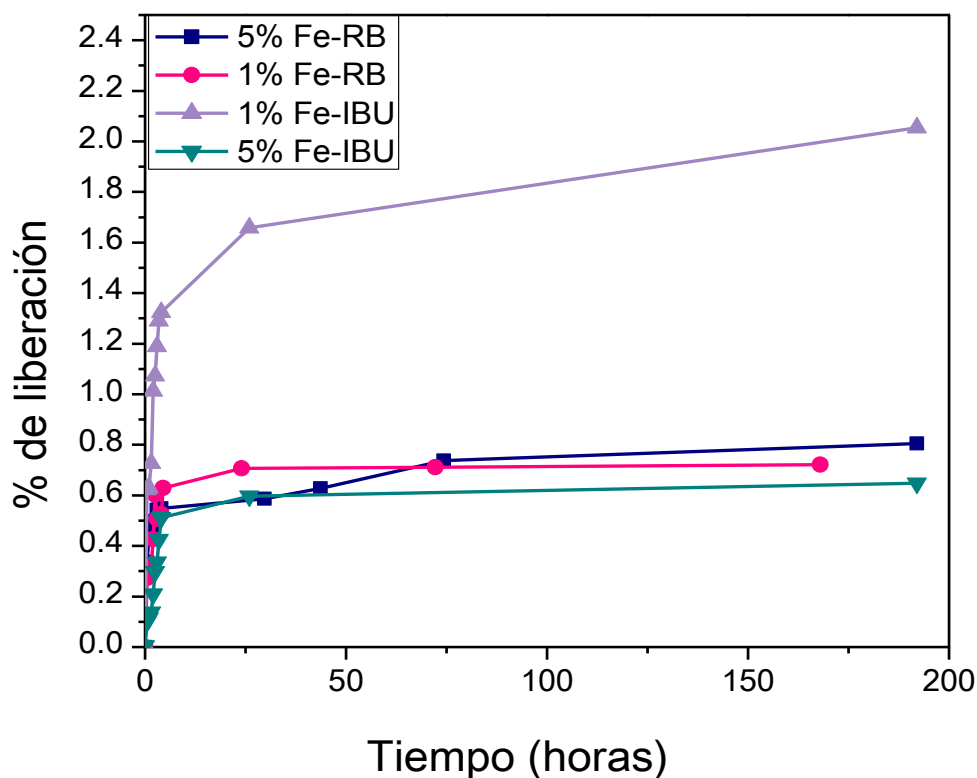
**Tabla A.1. Características de las NPsSiO<sub>2</sub> con 1 y 5 % Fe en solución**

| Muestra | Medio    | Diámetro (nm) | PDI  | PZ (mv) |
|---------|----------|---------------|------|---------|
| 1% Fe   | Agua     | 513           | 0.35 | ----    |
|         | DMEM-F12 | 515           | 0.29 | ----    |
|         | PBS      | 2664          | 0.55 | -18     |
| 5% Fe   | Agua     | 574           | 0.50 | ----    |
|         | DMEM-F12 | 550           | 0.56 | ----    |
|         | PBS      | 2884          | 0.59 | -16     |

### A.1.3 Pruebas de liberación con moléculas modelo

| Muestra | Molécula | Longitud de Onda (cm <sup>-1</sup> ) | Cantidad muestra (gr) | Cantidad a adsorber (gr) | Cantidad adsorbida (gr) | Porcentaje de adsorción (%) |
|---------|----------|--------------------------------------|-----------------------|--------------------------|-------------------------|-----------------------------|
| 1% Fe   | RB       | 500                                  | 0.1                   | 0.0075                   | 0.005                   | 66                          |
|         | IBU      | 264                                  | 0.03                  | 0.15                     | 0.110                   | 73                          |
| 5% Fe   | RB       | 500                                  | 0.1                   | 0.0075                   | 0.0036                  | 48                          |
|         | IBU      | 264                                  | 0.03                  | 0.15                     | 0.112                   | 75                          |

El incorporar Fe al material no presenta importantes efectos en la adsorción y liberación de RB e IBU los valores presentados en la tabla A.2 tienen una gran similitud con los obtenidos para las NPsSiO<sub>2</sub>. De igual forma se obtuvo el mismo comportamiento de las cinéticas de liberación (liberación sostenida).



**Fig. A.2** Gráfico del porcentaje de liberación de rodamina B e ibuprofeno con respecto a la cantidad adsorbida mostrada en la tabla A.2 contra el tiempo de muestreo en un fluido corporal simulado PBS (pH=7.5) de NPsSiO<sub>2</sub> con un contenido en Fe de 1% y 5% .

En la Fig. A2 se observa un incremento en la velocidad de liberación con la adición de 1% en Fe, pero al incrementar el contenido la velocidad disminuye y presenta el mismo comportamiento de las NPsSiO<sub>2</sub>. Esto crea la necesidad de evaluar el material en contenidos intermedio de Fe (1-5 %) y encontrar probablemente una concentración óptima en este rango.



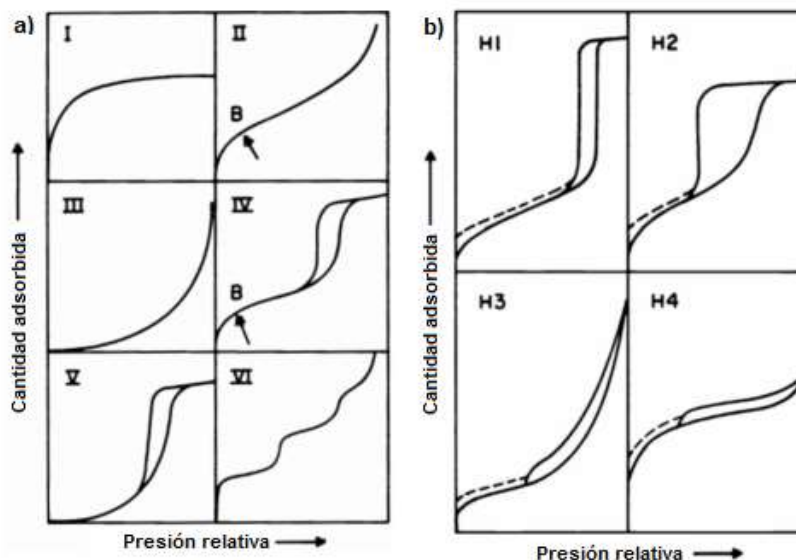
## Anexo 2. Clasificación de isothermas e histéresis de la IUPAC

Los materiales porosos se caracterizan en términos del tamaño de poro, derivado de los datos de adsorción de gases. La IUPAC ha propuesto convenciones para clasificar los tamaños de poro, las isothermas de adsorción de gas y la histéresis que presente entre las isothermas de adsorción y desorción.

Los poros se clasifican de acuerdo con diámetro de poro como sigue: microporos, poros con diámetros de menores a 2 nm, mesoporos diámetros comprendidos entre 2 - 50 nm y macroporos diámetros mayores a 50 nm [2-3, 31].

Adsorción por mesoporos está dominada por la condensación capilar, mientras que el llenado de microporos se controla por las interacciones fuertes entre las moléculas de adsorbato y las paredes del poro [31].

La clasificación de la IUPAC de isothermas de adsorción se ilustra en la Fig. 1.6, donde la tipo I es característica de materiales microporosos, la tipo II, III y VI no porosos o macroporosos y finalmente la tipo IV y V de materiales con mesoporos,

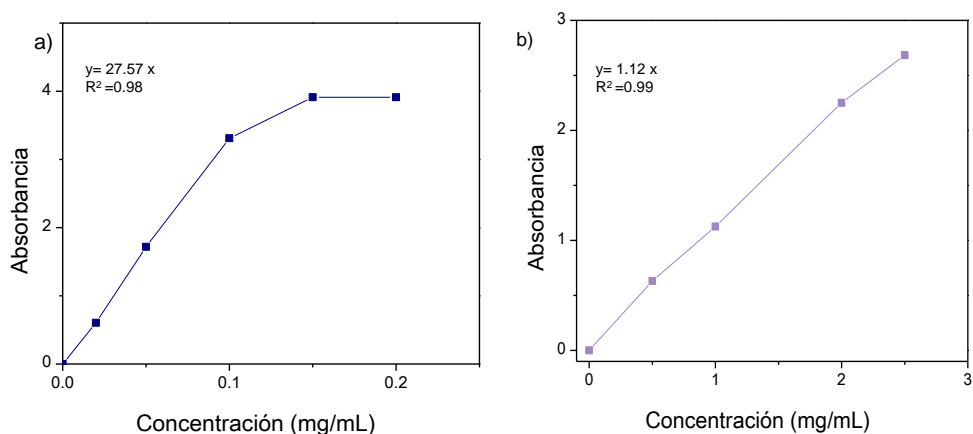


**Fig. A3.** Clasificación de la IUPAC a) isothermas de adsorción b) histéresis en las isothermas de adsorción [31, 32].

Los ciclos histéresis generalmente exhibidos por las isothermas tipo IV y V están asociados con la condensación capilar en los mesoporos, La histéresis se clasifica según la Fig. A3 donde H1 se presenta en materiales con poros cilíndricos o cerrados o en aglomerados de partículas esféricas con tamaños aproximadamente uniformes, H2 se presenta como consecuencia de poros interconectados en el material con tamaños y forma de poro no bien definidos, principalmente poros tipo bote. H3 y H4 se presenta en solidos con poros abiertos o laminas con tamaño uniforme en el caso de H3 y no uniforme en H4 [31, 32].

### Anexo 3. Curvas de calibración de Rodamina B e Ibuprofeno

En la Fig. A4 se muestra las curva de calibración que se usó para a partir de la ecuación de Lambert-Beer determinar las concentraciones de RB e IBU liberadas en un tiempo t.



**Fig. A4.** Curva de calibración de la molécula modelo a) RB y b) IBU.

Se realizó un ajuste lineal en el cual se obtuvo la ecuación que aparece en cada gráfica y se determinó la cantidad liberada como se muestra en las tablas A3 y A4.

| Tabla A3. Datos de liberación de Rodamina B |             |                          |                  |               |
|---|-------------|--------------------------|------------------|---------------|
| Tiempo (horas)                              | Absorbancia | Concentración RB (mg/mL) | RB liberada (mg) | % RB liberada |
| 0.0   | 0.00000     | 0.00000                  | 0.00000          | 0.00000       |
| 0.5   | 0.05150     | 0.00179                  | 0.01794          | 0.48670       |
| 1.0   | 0.05633     | 0.00196                  | 0.01963          | 0.53238       |
| 1.5   | 0.05660     | 0.00197                  | 0.01972          | 0.53490       |
| 2.0   | 0.05693     | 0.00198                  | 0.01984          | 0.53805       |
| 2.5   | 0.07477     | 0.00261                  | 0.02605          | 0.70658       |
| 3.0   | 0.08937     | 0.00311                  | 0.03114          | 0.84456       |
| 3.5   | 0.08103     | 0.00282                  | 0.02823          | 0.76580       |
| 4.0   | 0.09170     | 0.00320                  | 0.03195          | 0.86661       |
| 29.7  | 0.09310     | 0.00324                  | 0.03244          | 0.87984       |
| 43.7  | 0.09540     | 0.00332                  | 0.03324          | 0.90157       |
| 74.3  | 0.10740     | 0.00374                  | 0.03742          | 1.01498       |
| 192.0                                       | 0.12050     | 0.00420                  | 0.04199          | 1.13878       |

| <b>Tabla A4. Datos de liberación de Ibuprofeno</b> |                    |                                  |                          |                       |
|--|--------------------|----------------------------------|--------------------------|-----------------------|
| <b>Tiempo (horas)</b>                              | <b>Absorbancia</b> | <b>Concentración IBU (mg/mL)</b> | <b>IBU liberado (mg)</b> | <b>% IBU liberado</b> |
| <b>0.0</b>   | 0.000467           | 0.016162                         | 0.000417                 | 0.011111              |
| <b>0.5</b>   | 0.016100           | 0.557576                         | 0.014375                 | 0.383333              |
| <b>1.0</b>   | 0.025500           | 0.883117                         | 0.022768                 | 0.607143              |
| <b>1.5</b>   | 0.028900           | 1.000866                         | 0.025804                 | 0.688095              |
| <b>2.0</b>   | 0.031100           | 1.077056                         | 0.027768                 | 0.740476              |
| <b>2.5</b>   | 0.034500           | 1.194805                         | 0.030804                 | 0.821429              |
| <b>3.0</b>   | 0.044100           | 1.527273                         | 0.039375                 | 1.050000              |
| <b>3.5</b>   | 0.047000           | 1.627706                         | 0.041964                 | 1.119048              |
| <b>4.0</b>   | 0.049300           | 1.707359                         | 0.044018                 | 1.173810              |
| <b>26.0</b>  | 0.089200           | 3.089177                         | 0.079643                 | 2.123810              |
| <b>192.0</b>                                       | 0.162500           | 5.627706                         | 0.145089                 | 3.869048              |

#### **Anexo 4. Modelo de Korsmeyer-Pepas**

El modelo de Korsmeyer-Pepas es un modelo matemático propuesto en 1983 utilizado para describir el mecanismo mediante el cual ocurre el proceso de liberación, descrito por la ecuación [24, 25]:

$$f_t = kt^n$$

Donde:

$f_t$ ; Cantidad de fármaco liberado a un tiempo  $t$ .

$k$ ; Constante de liberación que incorpora características estructurales y geométricas del sistema.

$t$ : Tiempo de liberación

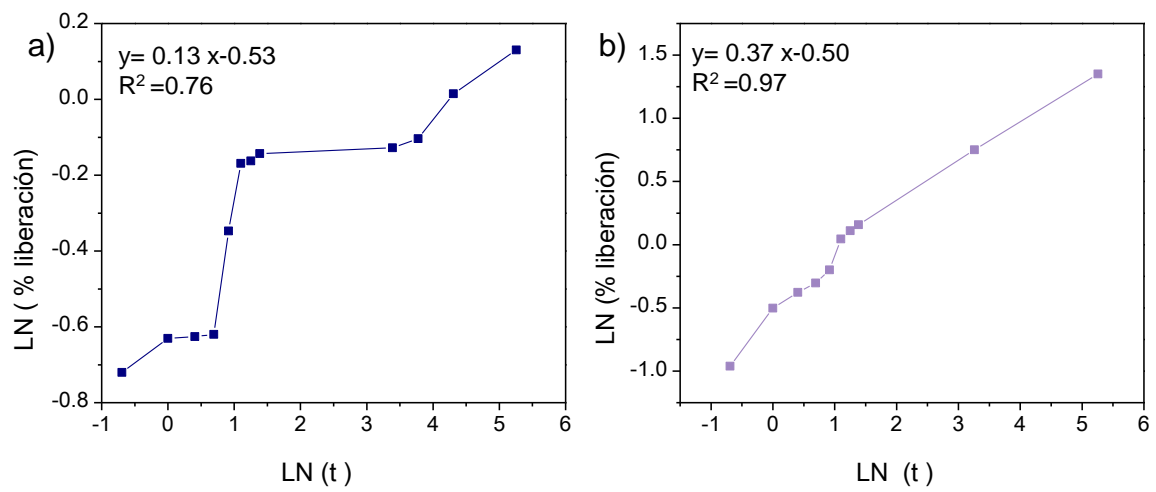
$n$ : Es el exponente que indica el mecanismo mediante el cual ocurre la liberación del fármaco.

Para valores de  $n=0.5$  rige el mecanismo de difusión de Fick, mientras que para valores superiores a este  $n$  entre  $0.5 -1$  rige el mecanismo de liberación por transferencia de masa. La difusión generalmente ocurre a en las primeras horas del proceso de liberación seguido de un comportamiento regido por la transferencia de masa [24, 25].

Los datos de liberación obtenidos se ajustaron al modelo de Korsmeyer-Pepas, donde se graficó el LN del % de liberación vs el LN del tiempo (horas), para así proceder a realizar un ajuste lineal de acuerdo a la ecuación:

$$LN (\% \text{ liberación}) = LN k + n LN t$$

Como resultado se obtuvieron las ecuaciones presentadas en las Fig.5 donde el valor encontrado para  $n$  nos indica que el mecanismo de liberación es por difusión de Fick.



**Fig. A5.** Ajuste al modelo de Korsmeyer-Pepas, de la cinética de a) RB e b) IBU.

## Referencias Bibliográficas.

- [1] S. Kwon, R. Singh, R. Pérez, E. Abou, H. Kim, W. Chrzanowski. Silica-based mesoporous nanoparticles for controlled drug delivery. *J Tissue Eng Regen M.* 2013, 4, 1-18.
- [2] V. Meynen, P. Cool, E. Vansant. Synthesis of siliceous materials with micro- and mesoporosity. *Micropor and Mesopor Mat.* 2007, 104, 26-38.
- [3] C. de Mello. Nanoparticles workhorses of nanoscience. Springer. 2014, cap 4 pag 99.
- [4] P. DeMuth , M. Hurley, C. Wu, S. Galanie, M. Zachariah, P. DeShong. Mesoscale porous silica as drug delivery vehicles: Synthesis, characterization, and pH-sensitive release profiles. *Micropor and Mesopor Mat.* 2011, 141, 128-134.
- [5] O. Koo, I. Rubinstein, H. Onyuksel. Role of nanotechnology in targeted drug delivery and imaging: a concise review. *Nanomed-nanotechnol.* 2005, 1, 193-212.
- [6] Z. Yu, S. Jian, L. Yong, C. Hang, S. Wei, D. Xiao. Storage and release of ibuprofen drug molecules in hollow mesoporous silica spheres with modified pore surface. *Micropor and Mesopor Mat.* 2005, 85, 75–81.
- [7] M. Yang, G. Wang, Z. Yang. Synthesis of hollow spheres with mesoporous silica nanoparticles shell. *Mater Chem Phys.* 2008, 111, 5-8.
- [8] Z. Wei, Q. Xue, Z. Yan, Y. Jie, Z. Zi. Organic modified mesoporous MCM-41 through solvothermal process as drug delivery system. *Mater Rese Bull.* 2005, 40, 766-772.

- [9] I. Slowing, J. Vivero, C. Wu, S. Lin. Mesoporous silica nanoparticles as controlled release drug delivery and gene transfection carriers. *Adv Drug Delivery Rev.* 2008, 60, 1278-1288.
- [10] W. Si-Han, M. Chung-Yuan, L. Hong-Ping. Synthesis of mesoporous silica nanoparticles. *Chem Soc Rev.* 2013, 42, 3862-3875.
- [11] N. Vadia, S. Rajput. Mesoporous material, MCM-41: a new drug carrier. *Asian J Pharm Clin Res.* 2011, 4, 46-53.
- [12] S. Wang. Ordered mesoporous materials for drug delivery. *Micropor and Mesopor Mat.* 2009, 117, 1-9.
- [13] A. Karim, A. Jalil, S. Triwahyono, S. Sidik, N. Kamarudin, R. Jusoh, N. Jusoh, B. Hameed. Amino modified mesostructured silica nanoparticles for efficient adsorption of methylene blue. *J Colloid Interf Sci.* 2012, 386, 307-314.
- [14] L. Zongxi, J. Barnes, A. Bosoy, J. Stoddart, J. Zink. Mesoporous silica nanoparticles in biomedical applications. *Chem Soc Rev.* 2012, 41, 2590-2605.
- [15] G. Jianjun, L. Xuehui, C. Yuchuan, L. Yong, X. Gaojie, C. Ping. Size-controllable synthesis of monodispersed colloidal silica nanoparticles via hydrolysis of elemental silicon. *J Colloid Interf Sci.* 2008, 326, 138-142.
- [16] L. Tang, J. Cheng. Nonporous silica nanoparticles for nanomedicine application. *Nano Today.* 2013, 8, 290-312.
- [17] M. Arruebo. Drug delivery from structured porous inorganic materials. *Advanced Review.* 2011.



- [18] María Verónica Lombardo. Síntesis y propiedades de sílice mesoporosa híbrida y su uso en recuperación secundaria en iones divalentes. Universidad Nacional de San Martín. 2013.
- [19] Y. Lu, W. Sun, Z. Gu. Stimuli-responsive nanomaterials for therapeutic protein delivery. *J. Control Release*. 2014, 194, 1–19.
- [20] A. Baeza, E. Guisasola, A. Torres, J. González, G. Melen, M. Ramirez, M. Vallet. Hybrid enzyme-polymeric capsules/mesoporous silica nanodevice for in situ cytotoxic agent generation. *Adv Fund Mater*. 2014, 24, 4625-4633.
- [21] Z. Yanzhuo, Z. Zhuangzhi, J. Tongying, Z. Jinghai, W. Zhanyou, W. Siling. Spherical mesoporous silica nanoparticles for loading and release of the poorly water-soluble drug telmisartan. *J Control Release*. 2010, 145, 257–263.
- [22] J. Andrade, G. Ortega, A. Gómez, Vicente Rodríguez. N<sub>2</sub>O catalytic reduction over different porous SiO<sub>2</sub> materials functionalized with copper. *Powder Technol*, 2015, 74, 305–312.
- [23] M. Yanga, G. Wang, Z. Yang. Synthesis of hollow spheres with mesoporous silica nanoparticles shell. *Mater Chem Phys*. 2008, 111, 5–8.
- [24] L. Gao, J. Sun, Y. Li, L. Zhang. Bimodal mesoporous silicas functionalized with different level and species of the amino groups for adsorption and controlled release of aspirin. *J Nanosci Nanotechnol*. 2011, 11, 6690–6697.
- [25] J. Aragón, R. González, N. Brizuela, L. Oliver. Estudio cinético de liberación in vitro en un biomaterial compuesto por HAP-200/POVIAC/CaCO<sub>3</sub>. *Rev Iberoamer Polím*. 2009. 10, 119-130.

[26] A. Salvati, A. Pitek, M. Monopoli, K. Prapainop, F. Baldelli, D. Hristov, P. Kelly, C. Åberg, E. Mahon and K. Dawson. Transferrin-functionalized nanoparticles lose their targeting capabilities when a biomolecule corona adsorbs on the surface. *Nat Nanotechnol.* 2013, 8, 137-143.

[27] L. Gao, J. Sun, Y Li. Functionalized bimodal mesoporous silicas as carriers for controlled aspirin delivery. *J Solid State Chem.* 2011, 184, 1909–1914.

[28] P. Jia, X. Liu, M. Yu, Y. Luo, J. Fang, J. Lin. Luminescence properties of sol-gel derived spherical  $\text{SiO}_2@\text{Gd}_2(\text{WO}_4)_3:\text{Eu}^{3+}$  particles with core-shell structure. *CHEM PHYS LETT.* 2006, 424, 358–363.

[29] T. Brunne , P. Wick, P. Manser, P. Spohn , R. Grass, L. Limbach, A. Bruinink, and W. Stark. In vitro cytotoxicity of oxide nanoparticles: comparison to asbestos, silica, and the effect of particle solubility. *Environ Sci Technol.* 2006, 40, 4374-4381.

[30] A. Szegedi, M. Popova, I. Goshev, J.Mihály. Effect of amine functionalization of spherical MCM-41 and SBA-15 on controlled drug release. *J Solid State Chem.* 2011, 184, 1201–1207.

[31] T. Barton, L. Bull, W. Klemperer, D. Loy, B. McEnaney, M. Misono, P. Monson, G. Pez, G. Scherer, J. Vartuli, and O. Yaghir. Tailored Porous Materials. *Chem Mater.* 1999, 11, 2633-2656.

[32] David Rubinos González. Utilización de lodos rojos de bauxita en la contención e inactivación de residuos tóxicos y peligrosos. *Universidade de Santiago de Compostela.* 2007.