

NANOPARTÍCULAS DE SÍLICE: ENCAPSULACIÓN DE FÁRMACOS Y TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES

Natalia Jaramillo¹, Carlos Paucar², Claudia Garcia^{3}*

1: Ingeniera química, Estudiante Maestría en Ing. de Materiales y Procesos, Grupo de Cerámicos y Vítreos, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, Colombia

3: Docente Escuela de Física, Grupo de Cerámicos y Vítreos, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, Colombia

2: Docente Escuela de Química Grupo de Cerámicos y Vítreos, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, Colombia

* Contacto: cpgarcia@unal.edu.co

RESUMEN

En el mundo existe una gran demanda de tecnologías efectivas de diagnóstico y tratamiento de enfermedades, con las cuales se busca tener un dominio sobre éstas y prolongar el promedio de vida de la sociedad. Las metodologías tradicionales para el tratamiento de enfermedades, no sólo no tienen la capacidad de dirigir la droga a su sitio de acción, sino que no pueden mantener las concentraciones de ésta durante el tiempo y en los niveles terapéuticamente necesarios. Además, presentan liberación prematura, o en su defecto son expulsadas del nicho celular luego de un tiempo determinado sin haber cumplido a cabalidad su tarea [1-4]. Por esta razón, se convierte en un propósito de primer orden, avanzar en terapias no convencionales que permitan allanar el camino en la solución de estos inconvenientes. En el presente trabajo, se reporta la síntesis de nanopartículas de sílice, apta para detectar y realizar un tratamiento adecuado de enfermedades por medio de la encapsulación de un fármaco. Así mismo, se incluye la caracterización morfológica de las nanopartículas y algunos avances obtenidos en cuanto a su dispersabilidad en fluidos de uso fisiológico.

Palabras claves: *Nanopartículas de sílice, Encapsulación de un fármaco, Micelas inversas*

ABSTRACT

In the world there is a great demand for effective technologies and diagnostic treatment of diseases, which it seeks to have dominion over them and prolong the average life of society. Traditional methodologies for treating diseases, not only have the ability to direct the drug to its site of action, but not concentrations can keep it for as long and therapeutically levels necessary. Furthermore, they have premature release, or otherwise are expelled from the niche cell after a given time without having complied fully their task [1-4]. For this reason, it becomes a first-order purpose; advancing unconventional therapies allow pave the way in solving these problems. In the present work, we reported the synthesis of silica nanoparticles, capable to detect and treatment proper diseases through the encapsulation of a drug. Likewise, it includes morphological characterization of nanoparticles and some progress made in their use dispersibility physiological fluids.

Keywords: *Silica nanoparticles, Encapsulating a drug, Reverse micelles*

1 INTRODUCCIÓN

La farmacología ha sido una de las ramas en el ámbito de la terapéutica, que ha puesto al hombre y a la civilización en un plano del dominio de la enfermedad y le ha permitido prolongar su promedio de vida. Las metodologías actuales de administración de fármacos, presentan algunos inconvenientes tales como solubilidad, alto peso molecular, acidez, degradación enzimática, lo cual limita la capacidad de dirigir el fármaco a su sitio de acción, impidiendo mantener las concentraciones de éste durante el tiempo y en los niveles terapéuticamente necesarios, además presenta liberación prematura, o en su defecto son expulsadas del nicho celular luego de un tiempo determinado sin haber cumplido a cabalidad su tarea. Por esta razón, las investigaciones apuntan hacia el aumento del índice terapéutico de los fármacos, comenzando con la encapsulación de principios farmacológicamente activos en tamaños de partícula nanométricos [1-4]. Estas investigaciones sugieren que la nanotecnología (creación y manipulación de materiales a escala nanométrica para formar productos que presentan nuevas propiedades), tendrá un profundo impacto en la prevención, diagnóstico y tratamiento de enfermedades [5, 6], debido a su incomparable posibilidad de convertirse en vehículos biológicos con información farmacológica, capaces de resolver algunas limitaciones de los sistemas convencionales de suministro de fármacos no específicos. Las nanopartículas de sílice son una buena opción para encapsular fármacos gracias a su alta estabilidad térmica y química en suspensiones acuosas, gran área superficial y que son inertes para el ambiente [7, 8]. Por otra parte, poseen propiedades físicas y químicas que son técnicamente atractivas como por ejemplo, son transparentes, poco apetecidas por microorganismos, y pueden actuar como una barrera, limitando el efecto del ambiente exterior en el núcleo de la partícula [8].

La metodología empleada en este trabajo se centra principalmente en 3 etapas. En la primera de ellas, se sintetizaron nanopartículas de sílice por el método sol-gel asistido por microemulsión de micelas inversas a partir de tetraetil ortosilicato (TEOS) teniendo en cuenta los parámetros fundamentales para obtener un tamaño de partícula en el rango nanométrico. En la segunda etapa, se realiza la encapsulación de un anti-inflamatorio (ibuprofeno) dentro de las nanopartículas de sílice y por último, la tercera etapa consta de la evaluación de la cinética de liberación de los fármacos en un fluido de uso fisiológico como el buffer fosfato (PBS).

2 METODOLOGÍA

La síntesis de nanopartículas de sílice para detección y tratamiento de enfermedades, se lleva a cabo mediante el método sol-gel asistido por microemulsión de micelas inversas, usando Triton x-100/Ciclohexano/Metanol en una relación molar es 1/7.6/24.7. En la síntesis de nanopartículas de sílice es importante definir parámetros como las relaciones molares $h = [\text{H}_2\text{O}]/[\text{TEOS}]$, $p = [\text{Metanol}]/[\text{Triton x-100}]$, y $R = [\text{H}_2\text{O}]/[\text{Triton X-100}]$ los cuales tienen efecto en el tamaño y morfología de la partícula. Así mismo, es importante definir el tiempo involucrado en el proceso de síntesis, ya que de ello depende la formación y las características de las partículas obtenidas.

La incorporación del fármaco antiinflamatorio en el interior de la partícula de sílice se lleva a cabo justo después de formada la microemulsión de micelas inversas. Se le adiciona el fármaco, con el fin de que en el momento en que el precursor de sílice comience sus reacciones de

hidrólisis y condensación, tenga dentro de la partícula que se forma, moléculas del fármaco. Luego se sigue el mismo procedimiento de la síntesis de nanopartículas descrita anteriormente. Para obtener los perfiles de liberación del fármaco en fluido de uso fisiológico (PBS), los ensayos fueron llevados a cabo en un baño termostatizado a una temperatura de $37\text{ °C} \pm 0,1$. Las nanopartículas con el fármaco encapsulado fueron dispersadas en un buffer fosfato de pH= 7.4 durante 2 horas. Cada 30 minutos se hicieron extracciones de la solución del buffer fosfato en contacto con las nanopartículas con el respectivo fármaco encapsulado para ser monitoreado por medio de Espectroscopía Uv-Vis y por cromatografía líquida (HPLC).

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 1, se muestran los espectros de rayos x para el ibuprofeno puro y el ibuprofeno encapsulado en el interior de las nanopartículas de sílice. El difractograma correspondiente al ibuprofeno puro se caracteriza por tener una gran variedad de picos bien definidos que demuestra que se trata de una estructura altamente cristalina. Cuando se realiza la encapsulación del fármaco en las partículas de sílice, el difractograma resultante es idéntico al respectivo de las nanopartículas de sílice puras. Esto puede significar, o bien que el fármaco pierde su carácter cristalino una vez se encapsula en el interior de las nanopartículas de sílice, o que se encuentra totalmente en el interior de la nanopartícula y el difractograma sólo muestra la naturaleza amorfa de ésta.

La figura 2, muestra un espectro FTIR en el cual se comparan las vibraciones de las nanopartículas de sílice con el fármaco incorporado y el fármaco puro. Las bandas características de la sílice sintetizada en la etapa 1 aparecen en este espectro comparativo dando cuentas de la formación de SiO₂ (Tabla 1).

Tabla 1. Asignación de vibraciones fundamentales de SiO₂ en la región de 4000 a 550 cm⁻¹[11].

Frecuencia (cm ⁻¹)	Asignación de vibraciones
600 a 680	Vibraciones del Si-O
750 a 810	Flexión del Si-O
900 a 1043	Grupos silanos y estiramiento Si-O-Si [9]
1050 a 1115	Estiramientos asimétricos de Si-O
1510 a 1680	Deformación (Tijereteo y aleteo) del H del alcohol [9]
3400 a 3500	Presencia de alcohol y estiramiento de los grupo hidroxilo de Si-OH [10]
3540	Silanoles ligados al alcohol a través de puentes de hidrogeno
3660	Pares de Si y OH ligados por puentes de hidrogeno y silanoles
3750	Silanoles libres en la superficie

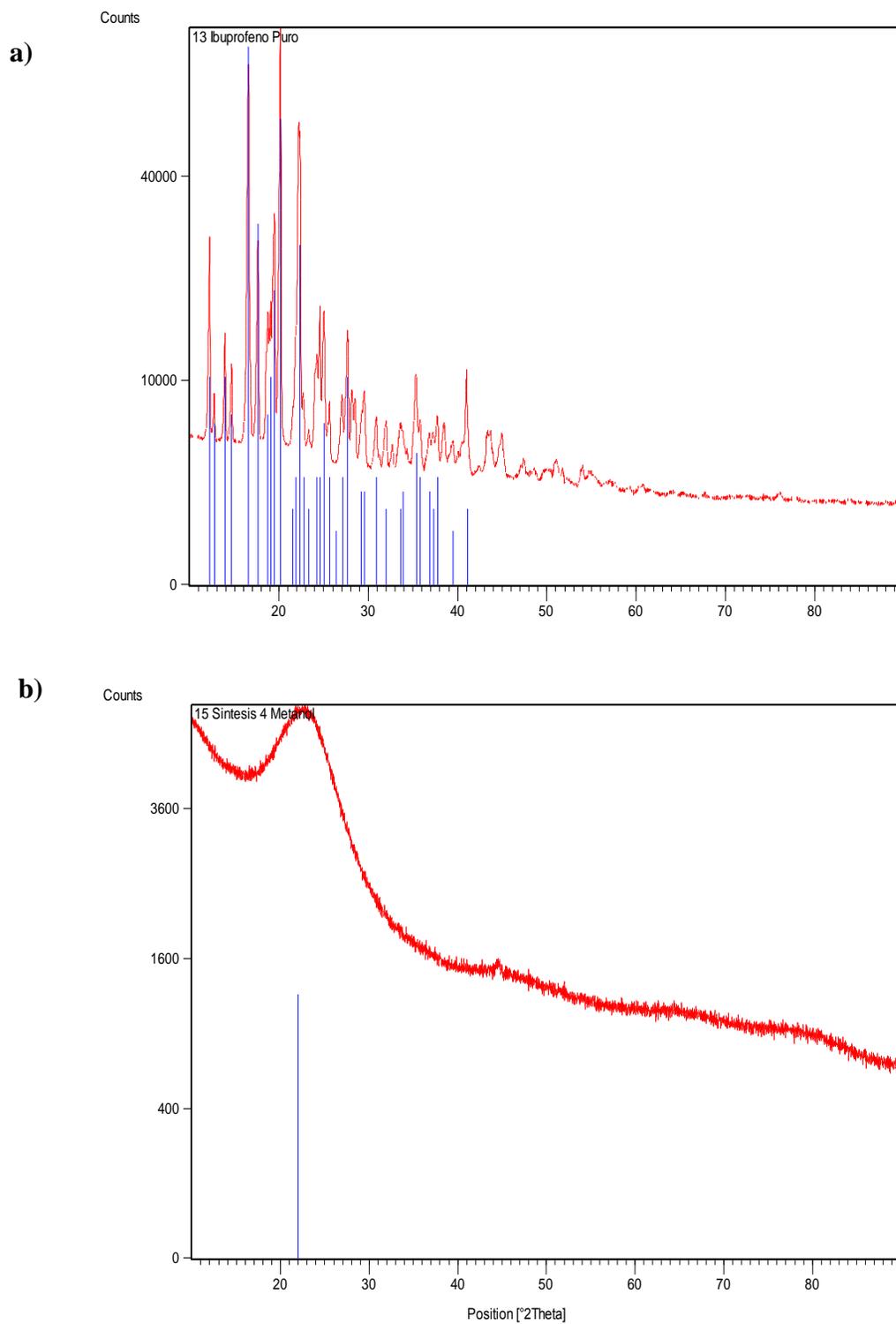


Figura 1. Difractogramas de rayos X del a) Ibuprofeno puro b) Ibuprofeno encapsulado.

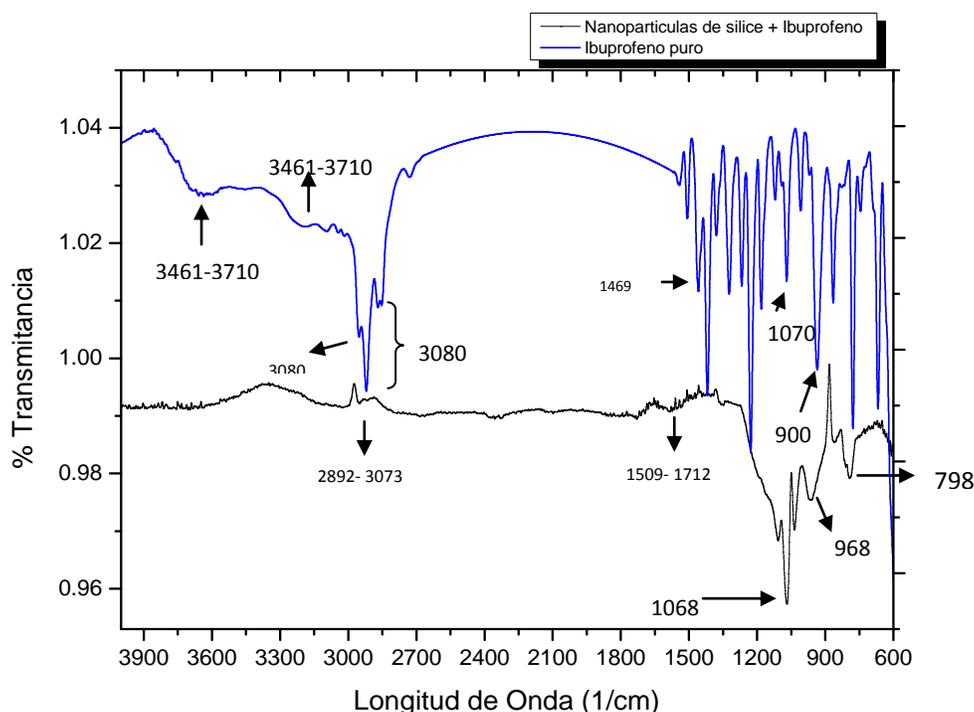


Figura 2. Espectro FTIR del ibuprofeno puro (en azul) e ibuprofeno encapsulado en las nanopartículas de sílice (en negro).

Las principales bandas de absorción del ibuprofeno se dan por los estiramientos del enlace C-O y los movimientos de flexión y extensión del grupo O-H del ácido. Estas bandas se encuentran a 1070, 1228, 1265, 939 y 3461 a 3710 cm^{-1} respectivamente, complementándose con la aparición en 1708 cm^{-1} de una banda de absorción debida al estiramiento C=O del mismo ácido. Los movimientos C-H del ibuprofeno tienen varias bandas de absorción: en 1419 y 1324 cm^{-1} debidas a enlaces CH₃, en 1469 cm^{-1} por los enlaces CH₂, 2 picos a 2921 y 2854 cm^{-1} debidos a la tensión del enlace y de 3035 a 3251 cm^{-1} , y 900 cm^{-1} correspondientes a los enlaces del anillo aromático. En 3080 cm^{-1} aparece un pico correspondiente al enlaces =C-H [12,13].

La encapsulación del fármaco en el interior de las partículas, se hace posible gracias a la polimerización del precursor de sílice, el cual en cada núcleo formado, atrapa moléculas del fármaco. A pesar que el fármaco se encuentra dentro de las nanopartículas de sílice, puede quedar fármaco remanente en el interior de la micela el cual no fue encapsulado. En particular, para este caso, el fármaco logro ser encapsulado en su totalidad, lo cual se corrobora gracias a que las huellas digitales del ibuprofeno no son vistas ni en el espectro FTIR, ni en los difractogramas de rayos X las nanopartículas con el fármaco. En estas técnicas se observan únicamente las bandas y picos asociados al SiO₂ obviando cualquier otro pico que de cuenta de la presencia de otra sustancia.

Cuando se forman los núcleos de sílice, la partícula tiene una morfología y tamaño de partícula específicos. Sin embargo, la encapsulación o atrapamiento de cualquier sustancia en el interior de éstas, puede generar un aumento en su tamaño debido al mayor número de interacciones en el

interior de ella. Aunque existiera un aumento de tamaño, su morfología no se vería afectada debido a que es la micela inversa la encargada de controlar la morfología. Las figuras 3 y 4, muestran las fotomicrografías de Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) y Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM), para las nanopartículas de sílice sin y con el fármaco encapsulado. Con estas técnicas fue posible corroborar si la morfología, monodispersidad y tamaño de partícula variaban.

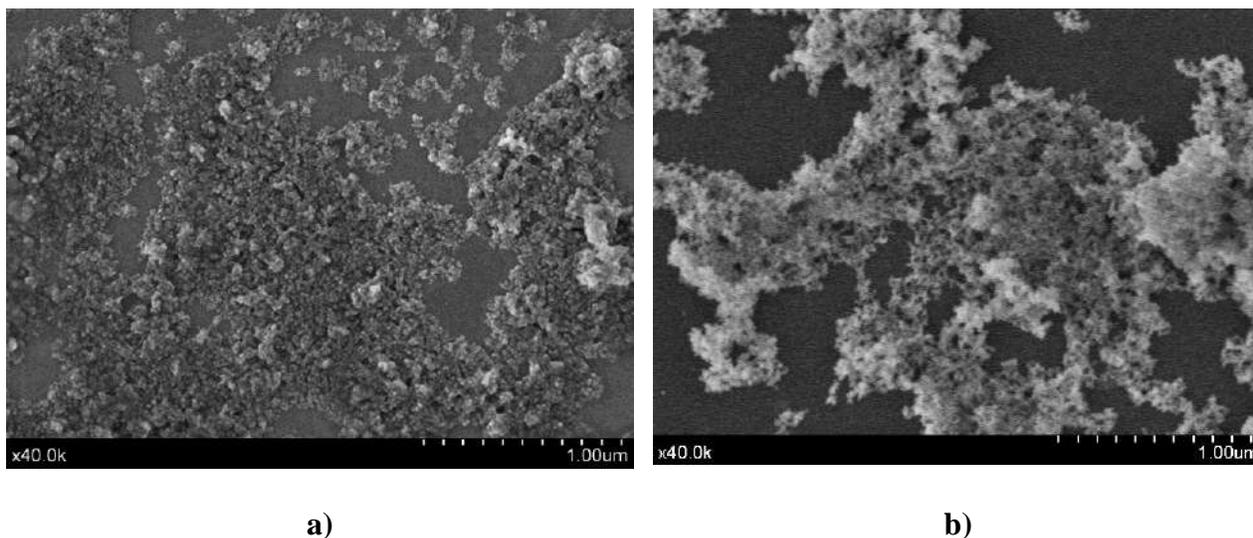
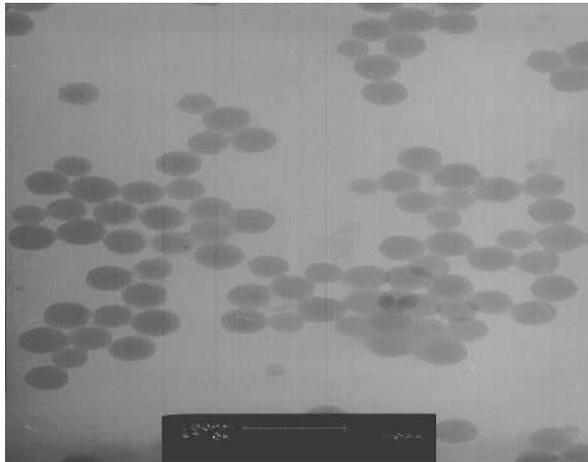
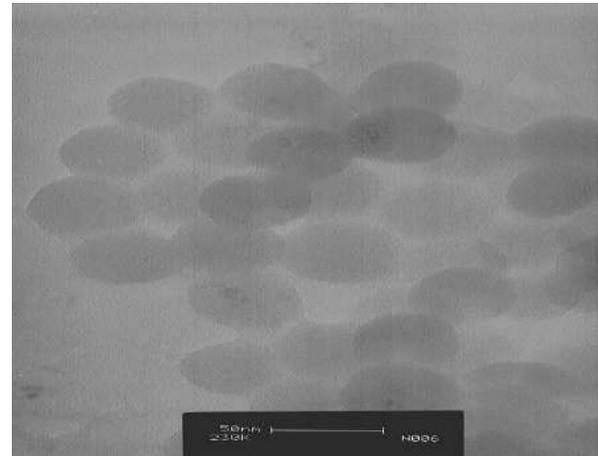


Figura 3. Fotomicrografías de Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) de a) nanopartículas de sílice y b) Nanopartículas de sílice con Ibuprofeno encapsulado.

A medida que se realiza la incorporación del fármaco en el interior de la nanopartícula de sílice, estas van creciendo en tamaño sin modificar su morfología esférica. La figura 4, muestra las partículas de sílice sin fármaco con un tamaño aproximado de 50 nm y cuando estas tienen incorporados el fármaco presentan un tamaño de partícula de aproximadamente 55 nm, lo cual evidencia lo dicho anteriormente, a medida que se va incorporando un fármaco en el interior de la partícula esta va aumentando el tamaño de partícula debido a la interacción con nuevos grupos funcionales.



a)



b)

Figura 4. Fotomicrografías de Microscopia Electrónica de Transmisión (TEM) de a) nanopartículas de sílice y b) Nanopartículas de sílice con Ibuprofeno encapsulado.

La liberación in vitro del fármaco ha sido investigada por medio de la espectroscopia de Uv-Vis y por cromatografía líquida (HPLC). Los espectros con el perfil de liberación del fármaco por Uv-vis, se construyeron teniendo en cuenta el tiempo de vida media del fármaco encapsulado. La figura 5, muestra los espectros correspondientes a la liberación del Ibuprofeno en PBS a través del tiempo a una longitud de onda de 310 nm.

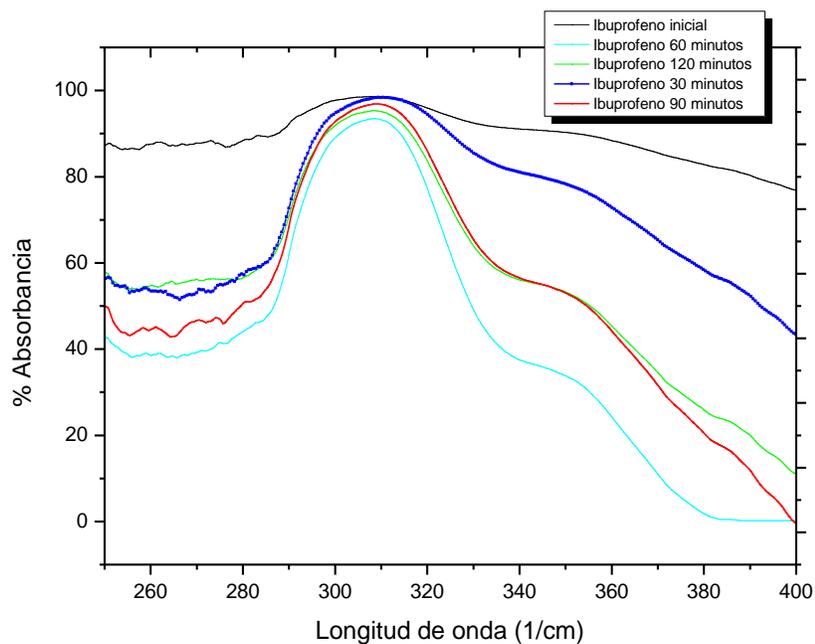


Figura 5. Espectros Uv- vis de liberación del Ibuprofeno en PBS medidos cada 30 minutos hasta 2 horas.

Se observa una curva de mayor absorbancia a los 60 minutos de exposición, luego de lo cual la liberación de ibuprofeno va disminuyendo. La cantidad de ibuprofeno liberado es mayor cuando han transcurrido 60 minutos. Luego de esta liberación, el fármaco parece ir degradándose, y no parece haber mucha disponibilidad del fármaco en el interior de la partícula. El espectro Uv-Vis del ibuprofeno indica que a pesar que la liberación se efectúa de forma controlada, se tiene un pico máximo de liberación luego de 60 minutos de exposición del fármaco encapsulado en las nanopartículas. Una vez la liberación del ibuprofeno presenta un pico máximo, la cantidad de fármaco que se sigue liberando disminuye, debido quizás a que hay ya poca disponibilidad de éste en el interior de las nanopartículas. Vale la pena recordar que el ibuprofeno es un fármaco que se absorbe rápidamente por lo cual tendrá picos de concentración de 1 a 2 horas aproximadamente.

La Figura 6, muestra el perfil de liberación del ibuprofeno medido por cromatografía líquida (HPLC). Las nanopartículas que encapsulan el ibuprofeno, liberan el fármaco en muy poco tiempo, hasta llegar a un máximo de liberación, luego de lo cual, la cantidad de fármaco liberado vuelve a decaer. En un tiempo de 30 minutos la degradación de la partícula de sílice libera el 20% del fármaco. Transcurridos 60 minutos es liberado el 64 % del fármaco, generando un máximo de fármaco liberado. Este resultado concuerda con lo encontrado en el espectro Uv-vis y tiene que ver con la estabilidad del fármaco. El ibuprofeno se absorbe rápidamente en el tracto gastrointestinal, presentándose picos de concentraciones plasmáticas 1-2 horas después de la administración. Su vida media de eliminación es de unas 2 horas aproximadamente. La liberación rápida del ibuprofeno por parte de las nanopartículas posibilita su acción efectiva. Es posible que las reacciones del fármaco que tienen lugar en el interior de la partícula, exijan su inmediata liberación y la nanopartícula de sílice, como respuesta a estas reacciones, libere el fármaco de forma inmediata. Si la liberación no se hiciera de forma tan repentina, ya el fármaco se degradaría y no sería efectivo dentro del organismo. Una vez el fármaco se libera en el organismo, en el interior de la nanopartícula queda poca cantidad de fármaco y es posible que lo que quede, se degrade.

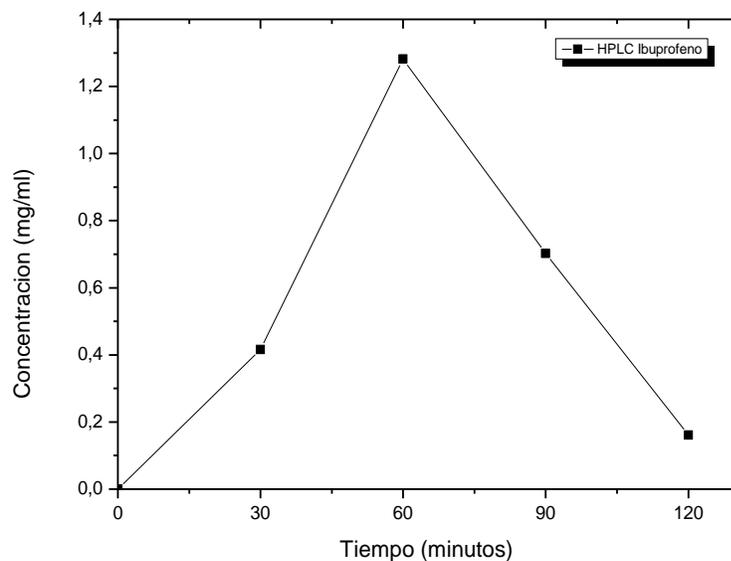


Figura 4. Perfil de liberación in vitro por cromatografía líquida de Ibuprofeno en capsulado en nanopartículas de sílice.

4 CONCLUSIONES

En esta investigación fue posible obtener las condiciones óptimas para sintetizar partículas de sílice vía sol gel asistido por microemulsión de micelas inversas de tamaño nanométricos.

La encapsulación del fármaco en el interior de las nanopartículas de sílice se dio de manera satisfactoria. En la superficie de las partículas no se encontraron trazas o huellas dactilares del fármaco que dieran cuenta de su presencia.

El ibuprofeno presentó una liberación del 64% del fármaco a los 60 minutos de haberse puesto en contacto con el PBS. Gracias a que las partículas de sílice les proporcionan a los fármacos una protección del ambiente circundante, este método de síntesis y encapsulación es prometedor. La partícula de sílice comienza a degradarse y es en ese instante donde el fármaco sale de la matriz de sílice y comienza a realizar su función. De esta manera puede garantizarse que el fármaco en realidad llegue a su sitio de acción y no deje trazas en todo el trayecto aumentando su efectividad.

5 AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por el Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación –Colciencias- Convocatoria Jóvenes Investigadores e Innovadores “Virginia Gutiérrez de Pineda” del año 2009 y 2011. La Alcaldía de Medellín con el programa “Enlaza Mundos”. Universidad de Sevilla y el Instituto Tecnológico de la Construcción AIDICO (España) y la Dirección de Investigación de la Sede Medellín de la Universidad Nacional de Colombia bajo la convocatoria DIME 2012 al proyecto 15519.

6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Brigger, C., Dubernet, and e. al, “Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis”. *Adv. DrugDeliv Rev*, 2002. 54: páginas, 631–651.
2. Dubernet, B. and P. Couvreur, “Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis”. *Adv. Drug Delivery Rev*, 2002. 54: páginas, 631-651.
3. Manish, G. and S. Vimukta, “Targeted drug delivery system: A Review”. *Res. J. Chem. Sci*, 2011. 1(2): páginas, 135-138.
4. Moghimi, S.M., A.C. Hunter, and e. al, “Long-circulating and target specific nanoparticles: theory to practice”. *Pharmacol Rev*, 2001. 53: páginas, 283–318.
5. Wang, M. and M. Thanou, “Targeting nanoparticles to cancer”. *Pharmacological Research*. 62(2): páginas, 90-99.
6. Haley, B. and E. Frenkel, “Nanoparticles for drug delivery in cancer treatment”. *Urologic oncology*, 2008. 26(1): páginas, 57-64.

7. Tang, D., R. Yuan, and e. al, "Signal amplification of electrochemical immunosensor for the detection of human serum IgG using double-codified nanosilica particles as labels Clinical chemistry", 2007. 53: páginas, 1323-1329.
8. Carturan, G., et al., "Encapsulation of functional cells by sol-gel silica: actual progress and perspectives for cell therapy". J. Mater. Chem, 2004. 14: páginas. 2087-2098.
9. Andrade, A. and e. al, "Análisis de las reacciones de hidrólisis y condensación en muestras de sílica xerogeles usando espectroscopía infrarroja". Rev. Mex. Fís, 2000. 46: páginas, 593.
10. Bi, L. and e. al, "Multifunctional organic-inorganic multilayer films of tris(2,2'-bipyridine)ruthenium and decatungstate". Electrochemistry Communications, 2003. 5(11): páginas, 913-918.
11. Katumba, G., M. B.W, and T.R. Mothibinyane, "FTIR and Raman Spectroscopy of Carbon Nanoparticles in SiO₂, ZnO and NiO Matrices". Nanoscale Research Letters. 3(11): páginas, 421-426.
12. Liu, L. and H. Gao, Molecular structure and vibrational spectra of ibuprofen using density function theory calculations. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. 89(0): páginas, 201-209.
13. Vueba, M.L., M.E. Pina, and L.A.E. Batista de Carvalho, "Conformational stability of ibuprofen: Assessed by DFT calculations and optical vibrational spectroscopy". Journal of Pharmaceutical Sciences, 2008. 97(2): páginas, 845-859.