

"BIOCATALIZADORES NANOESTRUCTURADOS Y BIOCOMPATIBLES PARA SU USO EN EL TRATAMIENTO DEL CÁNCER"

CAMPO DE LA INVENCIÓN

Esta invención se refiere al uso de biocatalizadores nanoestructurados y biocompatibles en el
5 tratamiento del cáncer.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

El cáncer es una de las principales causas de muerte en todo el mundo. Lo que se utiliza para su
tratamiento es cirugía, radioterapia, quimioterapia o una combinación de ellos. La quimioterapia, que es
uno de los principales métodos para el tratamiento del cancer, utiliza agentes químicos (medicamentos
10 contra el cáncer) para destruir las células cancerosas.

Desafortunadamente, la mayoría de los medicamentos contra el cáncer tienen una selectividad
limitada para el cáncer y son inherentemente tóxicos, tanto para el cáncer como para los tejidos
normales. Al igual que otros agentes quimioterapéuticos contra el cáncer, los compuestos que exhiben
una alta actividad antitumoral, como el cisplatino, suelen ser altamente tóxicos. Las principales
15 desventajas del cisplatino son su extrema nefrotoxicidad y neurotoxicidad, que es un importante factor
limitante para su uso. Se distribuye rápidamente a través del torrente sanguíneo, con una vida media en
circulación de solo unos minutos, y su fuerte afinidad por las proteínas plasmáticas (Freise *et al.*, 1982,
Arch. Int. Pharmacodyn Ther. 258 (2): 180-192). Otros efectos secundarios de los medicamentos contra
el cáncer incluyen la disminución de glóbulos blancos, glóbulos rojos y plaquetas, lo que aumenta el
20 riesgo de infecciones, hematomas y hemorragias.

Lo más importante, los tratamientos convencionales pueden causar resistencia a los
medicamentos y, por lo tanto, fracaso del tratamiento (Pastan y Gottesman, 1991, Gottesman 2002). Un
mecanismo importante de resistencia está relacionado con la bomba de glicoproteína P ubicada en la
membrana celular (Gottesman 2002) que une los medicamentos a medida que ingresan a la membrana
25 plasmática transportando el medicamento fuera de las células. Como consecuencia, la concentración
efectiva del medicamento en el citoplasma está muy por debajo del umbral de destrucción celular, lo que
resulta en una eficacia terapéutica limitada.

El desarrollo de nuevas metodologías que tienen una mayor selectividad farmacológica para el
cáncer que al mismo tiempo reducen la toxicidad para los tejidos sanos, es un desafío más que
30 importante en el tratamiento del cáncer. El tamaño de corte del cáncer de los capilares sanguíneos del
cáncer (ca. 400-800 nm) permite extravasaciones de partículas coloides a los tejidos cancerosos, por
otro lado, ya que los tejidos cancerosos tienen menos drenaje de los capilares linfáticos de los capilares
a los tejidos sanos, esto provoca la captura de partículas coloidales en tejidos cancerosos, lo cual se
conoce como el "efecto mejorado de permeabilidad y retención" (Maeda et al. 2001, Lukyanov *et al.*,

2002). Las nanopartículas fabricadas por autoensamblaje de copolímeros anfífilos se han utilizado como portadores de cisplatino (Yokoyama *et al.*, 1996, Bogdanov *et al.*, 1997).

El uso de nanopartículas de óxidos inorgánicos ofrece un medio adecuado para administrar medicamentos a los tejidos o las células. Su tamaño submicrométrico favorece la absorción por las células a través de la endocitosis/fagocitosis, el carácter hidrofílico de sus superficies permite evadir el reconocimiento por parte de los sistemas reticuloendoteliales y su estabilidad intrínseca evita la rotura en el torrente sanguíneo. Además de esto, pueden tener un área de superficie alta con una distribución controlada del tamaño de poro y, si es necesario, propiedades de ácido-base de superficie diseñadas para adaptarlas a la especificidad del sitio.

La investigación de vanguardia en el tratamiento de enfermedades crónicas, se basa en el desarrollo de sistemas de liberación controlada capaces de administrar medicamentos de manera rápida y eficiente a donde se necesitan. Un requisito fundamental es que estos dispositivos deben asegurar el suministro y la penetración del medicamento en el sitio activo. Los nuevos materiales nanoestructurados representan una forma eficiente de administrar medicamentos y productos biológicos en futuras aplicaciones. Los hidrogeles basados en n-isopropilacrilamida y ácidos metacrílicos (AMA), han recibido recientemente considerable atención. Esto se debe a su capacidad de hincharse en respuesta a la estimulación del medio. En estado sólido, se ha observado la existencia de complejos interpoliméricos en los que los monómeros están unidos entre sí a través de enlaces de hidrógeno. Estos enlaces se producen en condiciones ácidas y se estabilizan a través de interacciones hidrófobas. Esto conduce a una marcada dependencia del pH del medio en el que se produce la hinchazón. Esta hinchazón también depende en gran medida del grado de reticulación. El uso de la administración de medicamentos por vía oral ha recibido considerable atención, particularmente en los casos en que la activación está controlada por variaciones en el pH. Los copolímeros que tienen una alta concentración de N-isopropilacrilamida parecen ser los más efectivos para permitir obtener diferentes curvas de corte utilizadas en el modelo de medicamento.

En la mayoría de los casos, que implican la liberación controlada de medicamentos, la medicación u otro agente biológico, se introduce en el interior del depósito normalmente conocido como el transportador. El transportador generalmente consiste en un material polimérico. En condiciones normales, la velocidad de liberación del medicamento está controlada por las propiedades del material polimérico que constituye el transportador. Sin embargo, otros factores también pueden determinar la velocidad. Cuando se tienen en cuenta estos factores, es posible asegurar una velocidad lenta y constante de suministro de medicamentos durante períodos prolongados de tiempo. El uso de estos materiales ha conducido a lograr avances considerables en la entrega de medicamentos en comparación con los sistemas actualmente en uso. En los sistemas de administración de medicamentos

convencionales, las concentraciones de los medicamentos alcanzan un valor máximo solo para decaer, y finalmente alcanzan una concentración que requiere la administración de otra dosis. Además, si la concentración máxima del medicamento excede el nivel seguro o si, alternativamente, cae por debajo de la dosis requerida, se producirán períodos cíclicos durante los cuales el medicamento no produce el efecto deseado. Esto se conoce generalmente como "variaciones en la exposición tisular". Cuando se utiliza la liberación controlada de medicamentos, puede ser posible mantener las concentraciones de medicamentos, que se encuentran entre la tasa máxima permitida y la concentración mínima a la que la velocidad es efectiva.

Cuando se trata de nanopartículas de óxido inorgánico, la técnica sol-gel con o sin el uso de plantillas se puede utilizar como un buen método mediante el cual se pueden controlar las diversas fases sólidas (T. López *et al.*, Catalysis Today 35,293.1997). Se puede lograr un mayor grado de control en comparación con otros métodos de síntesis. Se puede personalizar el depósito para ser adaptado a aplicaciones específicas mediante este método. Los avances incluyen: Superior homogeneidad y pureza; Alta acidez sólida; Alta biocompatibilidad con cualquier tejido; Mejor control nano y microestructural de las matrices de óxido inorgánico; Mayor área de superficie BET; Alta dispersión del platino en las matrices; Estabilidad térmica mejorada de los medicamentos unidos al transportador; Distribuciones de tamaño de poro medio bien definidas; Las estructuras de cadena inorgánica se pueden generar en solución; Se puede lograr un mayor grado de control sobre la hidroxilación del transportador.

El proceso de fabricación del transportador tiene como objetivo la optimización de las siguientes variables: tamaño de partícula, tamaño medio de poro, fuerzas de interacción y el grado de funcionalización. También puede ser conveniente modificar el comportamiento textural y electrónico del transportador.

La tecnología Sol-gel es un método de síntesis importante mediante el cual se pueden controlar las fases cristalinas y el tamaño de partícula de los óxidos inorgánicos hidratados. Un sol es una dispersión fluida y coloidal de partículas sólidas en una fase líquida donde las partículas son lo suficientemente pequeñas como para permanecer suspendidas en el movimiento browniano. Un "gel" es un sólido que consta de al menos dos fases en las que una fase sólida forma una red que atrapa e inmoviliza una fase líquida. En el proceso sol-gel, los precursores disueltos o de "solución" pueden incluir alcóxidos metálicos, alcohol, agua, promotores ácidos o básicos y, en ocasiones, soluciones salinas. Los alcóxidos metálicos se emplean comúnmente como precursores de soluciones de alta pureza. Cuando reaccionan con agua a través de una serie de reacciones de hidrólisis y condensación, producen óxidos metálicos amorfos o geles de oxo-hidróxido. Cuando las moléculas de alcohol volátiles son removidas, el resultado es la formación de compuestos sólidos cristalinos. Este sólido puede modificarse agregando

cantidades adecuadas de moléculas deseadas durante el proceso de síntesis, cuya cantidad y estabilidad están determinadas por la constante de estabilidad.

Los materiales que se usan como precursores coloides pueden ser metales, óxidos metálicos, oxo-hidróxidos metálicos u otros compuestos insolubles. El grado de agregación o floculación en el precursor coloidal se puede ajustar de tal manera que se pueda controlar la distribución del tamaño de poro. La deshidratación, la gelificación, la reticulación química y la congelación se pueden utilizar para formar la figura y el aspecto del producto final. Algunas ventajas del uso de la tecnología sol-gel incluyen el control sobre la pureza de los precursores de alcóxido, el control sobre la homogeneidad del producto, el control sobre la evolución de las fases cristalinas deseadas y, lo más importante, la reproducibilidad de los materiales sintetizados.

El producto de hidrólisis no está completamente hidrolizado ni puede ser un óxido puro. Puede estar en la forma, $M_nO_{2n-(x+y)/2}(OH)_x(OR)_y$, M representa silicio, titanio o una mezcla de ambos y R para un fragmento orgánico, preferiblemente C_nH_{n+1} , lineal o ramificado, donde n es el número de átomos de titanio polimerizados en la molécula de polímero y x e y es el número de grupos OH y OR terminales respectivamente. Es bien sabido que algunas estructuras sol-gel alcanzan su estado de coordinación más alto a través de enlaces intermoleculares (Sankar G., Vasureman S y Rao C.N.R., J. Phys. Chem, 94, 1879 (1988) y otras más modernas). Debido a que existen fuertes fuerzas de interacción química entre los medicamentos y el transportador de nanopartículas inorgánicas, es posible encapsular una gran cantidad de medicamentos dentro del transportador.

Patentes adicionales de titania utilizando métodos sol:

La Patente Norteamericana No. 6,124,367 protege los reservorios utilizados en las reacciones Fischer Tropsch de la sinterización al impartir un mayor grado de resistencia mecánica al reservorio. Incorpora SiO_2 y Al_2O_3 en el depósito y reclama una relación de rutilo-anatasa de 1/9. Es un depósito poroso con forma esférica o cilíndrica. Está hecho por extrusión, secado por pulverización o en tabletas.

La Patente Norteamericana No. 6,117,814 describe un depósito de titania que también incorpora sílice y alúmina como aglutinante en la estructura. El propósito del aglutinante es impartir mejores propiedades mecánicas al depósito. El rango de tamaño de este depósito es de entre 20 y 120 micras. El depósito es aproximadamente 50% de aglutinante, que se fabrica mediante un proceso sol-gel.

La Patente Norteamericana No. 6,087,405 describe un depósito que se utilizará en una reacción de síntesis de gas Fischer Tropsch. El depósito incorpora metales del grupo VII en su estructura. La relación rutilo-anatasa en la estructura es una característica distintiva de esta patente.

OBJETOS DE LA INVENCIÓN

Es un objeto de la presente invención, el desarrollo de materiales nanoestructurados para su uso como biocatalizador en el tratamiento del cáncer.

Un objeto más de la presente invención, es la obtención y optimización de un biocatalizador de nanoestructura capaz de destruir células malignas mediante reacción catalítica.

Aún otro objeto de la presente invención es la optimización de materiales para permitir el control de parámetros, tales como: distribución del tamaño de poro, área de contacto, estructura, densidad electrónica, tamaño de partícula, fase cristalina, grado de funcionalización, difusión, tamaño del biocatalizador requerido para reaccionar con la célula, el medicamento y tiempo de liberación para una entrega efectiva.

Es todavía un objeto más de la presente invención, la obtención de una nanopartícula efectiva para usarse en la terapia contra el cáncer y para prevenir los efectos secundarios en el torrente sanguíneo, el hígado, el intestino y los riñones.

DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La figura 1 es: (a) un patrón de difracción de rayos X; y, (b) es un espectro FTIR de $\text{Pt/SiO}_2\text{-Pt}(\text{NH}_3)_4\text{Cl}_2$.

La Figura 2 es una microscopía electrónica de transmisión de las partículas nanoestructuradas, que comprenden el biocatalizador $\text{Pt/SiO}_2\text{-Pt}(\text{NH}_3)_4\text{Cl}_2$.

La Figura 3 son fotomicrografías de secciones teñidas con hematoxilina y eosina de: (a) un tumor tratado con nanopartículas de $\text{Pt/SiO}_2\text{-Pt}(\text{NH}_3)_4\text{Cl}_2$; (b) a una mayor amplificación; y, (c) análisis de túnel.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

Esta invención está relacionada con la síntesis de biocatalizadores nanoestructurados inorgánicos nanoestructurados y biocompatibles definidos como $\text{M}_n\text{O}_{2n-(x+y)/2}(\text{OH})_v(\text{SO}_4)_w(\text{PO}_4)_x(\text{OR})_y(\text{Cl})_z$ donde M representa silicio, titanio o una mezcla de ambos y R para un ligando orgánico, preferiblemente C_nH_{n+i} , ya sea lineal o ramificado a compuestos basados en Pt, Cu o Fe, en estado de oxidación II, III o IV, que tienen actividad citotóxica. Estos biocatalizadores nanoestructurados se administran directamente en el tumor. La acidez de la matriz, estructura, densidad electrónica, distribución del tamaño de poro, tamaño de partícula de la matriz, tamaño de partícula de platino, cobre o hierro, dispersión de platino, cobre o hierro en el soporte (sílice o titania), tamaño de cristalito y estado de oxidación del platino, cobre o hierro está controlado. Estas formulaciones de biocatalizadores anticancerígenos se administrarán directamente al tumor.

La presente invención incluye un nuevo nanomaterial (sílice, titania y sílice-titania) obtenido por el proceso sol-gel al que se unen los compuestos de platino. El tamaño de partícula de soporte oscila entre 10 nm y 1 μ m.

El metal de platino se une como nanopartículas metálicas o como complejos de platino unidos covalentemente. El tamaño de las nanopartículas metálicas varía de dispersión atómica a 100 nm.

Este nanomaterial consiste en óxidos parcialmente hidrolizados que tienen un rango de composiciones de Ti: Si entre (100:0 y 0:100). Estos materiales se prepararon utilizando un proceso sol-gel, que se ha utilizado para sintetizar materiales cerámicos y de vidrio.

Los materiales de titania, sílice y titania-sílice xerogeles (100:0, 0:100) son biocompatibles con el tejido circundante.

La síntesis del medicamento que contiene platino se lleva a cabo agregando el compuesto de platino durante el proceso de gelificación o injertando el compuesto de platino en los óxidos obtenidos de sol-gel. La cantidad total de platino puede ser tan alta como 10% en peso.

Los óxidos mesoporosos de sol-gel se pueden sintetizar en atmósfera reactiva (es decir, aire, dióxido de carbono, etc.) o inerte (es decir, nitrógeno, argón, etc.) a un pH que varía de 2 a 12 utilizando una relación de alcóxido de agua que varía de 2 a 64. Agua, se usaron alcoholes primarios, secundarios o terciarios de C₁ a C₅, acetil acetona, acetona o una mezcla de alcohol-agua o acetona-acetil acetona como disolvente para la síntesis.

El pH durante la síntesis se fijó usando HCl, H₂SO₄, ácidos carboxílicos H₃PO₄ (es decir, EDTA, ácido acético, ácido amino butírico, ácido glutámico, etc.) o bases (es decir, hidróxido de amonio, fenitoína, bases púricas, bases pirimidínicas, etc.).

El proceso de gelificación se llevó a cabo desde la temperatura ambiente hasta 80 °C en presencia o ausencia de plantillas o modificadores orgánicos (es decir, P123, acetil-acetona, CTAB, etc.).

Los precursores del compuesto de platino son H₂PtCl₆ cis-Pt o PtAcAc o Pt(NH₃)₄Cl₂.

Los volúmenes de poro y los diámetros de poro no se ven fuertemente afectados por las cargas de compuestos de platino.

La forma de administración puede ser: a) suspensión de nanopartículas en fluidos fisiológicamente compatibles; b) extruidos, en este caso podrían usarse aglutinantes biocompatibles (es decir, ácido poli [bis (p-carboxipenoxi)] propano-sebácico, PLGA, metilcelulosa, PVP, etc.); y c) nanodispositivos implantables autosoportados.

La presente divulgación incluye la divulgación de una formulación, que comprende una cantidad de óxido de sílice, una cantidad de óxido de titanio y una cantidad (o cantidades) de uno o más de cobre, plata, oro, hierro, rutenio, paladio, zinc, metales de manganeso, iridio y/o platino, como se hace referencia en este documento.

La metodología sol-gel se utiliza para controlar las propiedades fisicoquímicas del material en un tamaño delgado, nanométrico y con un área de superficie amplia. Las nanopartículas comprendidas en la formulación descrita se caracterizan por ser un ácido sólido que consiste en óxidos mixtos de sílice y titania que incorporan en su matriz dispersa, metales de cobre, plata, oro, hierro, rutenio, paladio, zinc, manganeso, iridio y/o metales de platino o mezclas de los mismos, a concentraciones mínimas; y al menos un agente funcionalizante en contacto con la partícula. El portador puede estar en forma líquida, aceite, gel o sólido.

La tecnología Sol-gel es un método de síntesis importante mediante el cual se pueden controlar las fases cristalinas y el tamaño de partícula de los óxidos inorgánicos hidratados. Un sol es una dispersión líquida y coloidal de partículas sólidas en una fase líquida donde las partículas son lo suficientemente pequeñas como para permanecer suspendidas en el movimiento browniano. Un "gel" es un sólido que consta de al menos dos fases en las que una fase sólida forma una red que atrapa e inmoviliza una fase líquida. En el proceso sol-gel, los precursores disueltos o de "solución" pueden incluir alcóxidos metálicos, alcohol, agua, promotores ácidos o básicos y, en ocasiones, soluciones salinas. Los alcóxidos metálicos se emplean comúnmente como precursores de soluciones de alta pureza. Cuando reaccionan con agua a través de una serie de reacciones de hidrólisis y condensación, producen óxidos metálicos amorfos o geles de oxo-hidróxido. Cuando se remueven las moléculas de alcohol volátil, el resultado es la formación de compuestos sólidos cristalinos. Este sólido puede modificarse agregando cantidades adecuadas de moléculas deseadas durante el proceso de síntesis, en donde la cantidad y la estabilidad están determinadas por la constante de estabilidad.

Los materiales que se usan como precursores coloides pueden ser metales, óxidos metálicos, oxo-hidróxidos metálicos u otros compuestos insolubles. El grado de agregación o floculación en el precursor coloidal se puede ajustar de tal manera que se pueda controlar la distribución del tamaño de poro. La deshidratación, la gelificación, la reticulación química y la congelación se pueden utilizar para formar la figura y el aspecto del producto final. Algunas ventajas de utilizar la tecnología sol-gel incluyen el control sobre la pureza de los precursores de alcóxido, control sobre la homogeneidad del producto, control sobre la evolución de las fases cristalinas deseadas y, lo más importante, la reproducibilidad de los materiales sintetizados.

El producto de hidrólisis no está completamente hidrolizado ni puede ser un óxido puro. Puede estar en la forma, $M_nO_{2n-(x+y)/2}(OH)_x(OR)_y$, en donde M representa silicio, titanio o una mezcla de ambos y R para un fragmento orgánico, preferiblemente C_nH_{n+1} , lineal o ramificado, en donde n es el número de átomos de titanio polimerizados en la molécula de polímero y x e y es el número de grupos OH y OR terminales respectivamente. Es bien sabido que algunas estructuras sol-gel alcanzan su estado de coordinación más alto a través de enlaces intermoleculares. Debido a que existen fuertes fuerzas de

interacción química entre los medicamentos y el transportador de nanopartículas inorgánicas, es posible encapsular una gran cantidad de medicamento dentro del transportador.

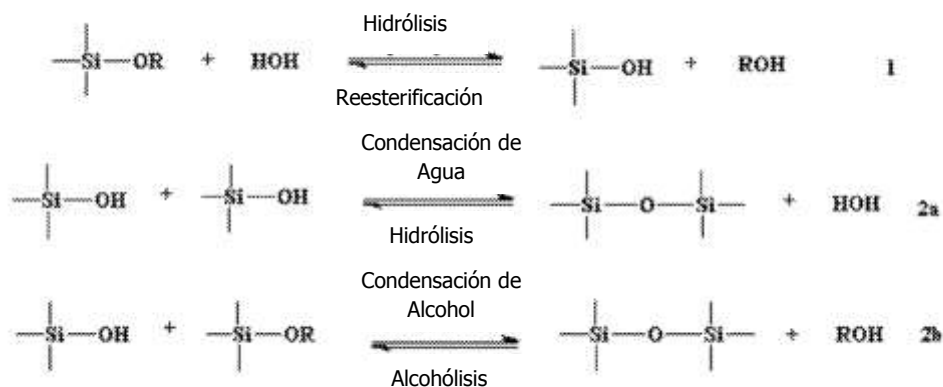
Proceso sol-gel utilizando alcóxidos metálicos:

A nivel del grupo funcional, generalmente se usan tres reacciones para describir el proceso sol-gel: hidrólisis, condensación de alcohol y condensación de agua. Sin embargo, las características y propiedades de una red inorgánica sol-gel en particular están relacionadas con una serie de factores que afectan la velocidad de las reacciones de hidrólisis y condensación, como el pH, la temperatura y el tiempo de reacción, las concentraciones de reactivos, la naturaleza y concentración del catalizador. Relación molar H_2O/M (R), temperatura y tiempo de envejecimiento y secado. De los factores mencionados anteriormente, el pH, la naturaleza y la concentración del catalizador, la relación molar H_2O/M (R) y la temperatura se han identificado como los más importantes. Por lo tanto, al controlar estos factores, es posible variar la estructura y las propiedades de la red inorgánica derivada de sol-gel en amplios intervalos. Por ejemplo, Sakka *et al.*, observó que la hidrólisis de TEOS utilizando valores R de 1-2 y HCl 0.01 M como catalizador produce una solución viscosa y giratoria. Se demostró además que estas soluciones exhibían una fuerte dependencia de la concentración de la viscosidad intrínseca y una dependencia de ley de potencia de la viscosidad reducida del peso molecular promedio en número [31-34]:

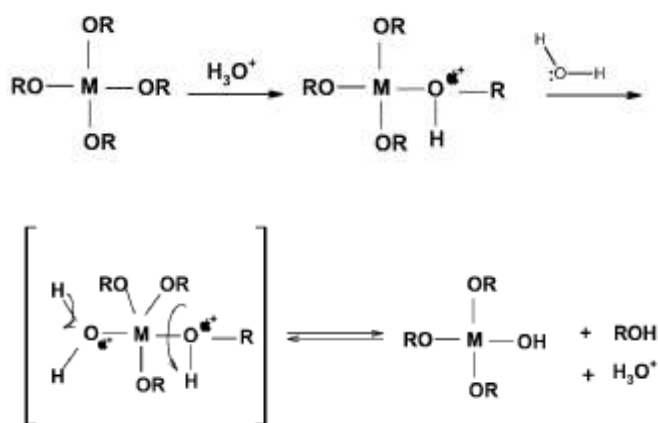
$$[\eta] = k (Mn)^a \quad (1)$$

Los valores para un rango de 0.5 a 1.0, indican una cadena o molécula lineal o ligeramente ramificada.

Los valores de "a" en la ecuación 1 varió de 0.1 a 0.5, lo que indica partículas esféricas o en forma de disco. Estos resultados son consistentes con las estructuras que emergen bajo las condiciones empleadas por el proceso Strober, para preparar polvos de SiO_2 . Se demostró además que con la hidrólisis en condiciones básicas y valores de R que varían de siete (7) a veinticinco (25), se pueden producir partículas esféricas monodispersas.

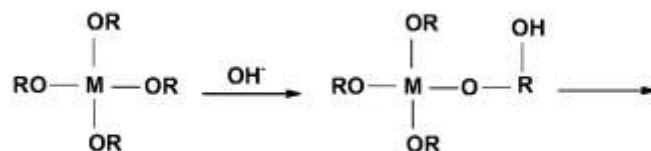


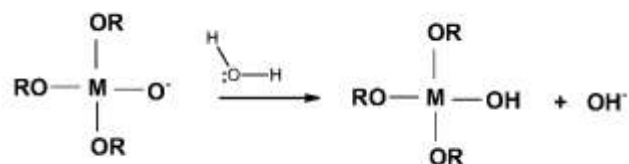
En términos generales, la reacción de hidrólisis (Ecuación 2), mediante la adición de agua, reemplaza los grupos alcóxido (OR) con grupos hidroxilo (OH). Se realizan reacciones de condensación posteriores, que implican que los grupos silanol (Si-OH) producen enlaces siloxano (Si-O-Si) más los subproductos agua o alcohol en el caso de sílice. En la mayoría de las condiciones, la condensación comienza antes de que se complete la hidrólisis. Sin embargo, condiciones como el pH, la relación molar (R) H₂O/Si y el catalizador pueden forzar la finalización de la hidrólisis antes de que comience la condensación. Además, debido a que el agua y los alcóxidos son inmiscibles, se utiliza un disolvente mutuo. Con la presencia de este agente homogeneizador, el alcohol, la hidrólisis se facilita debido a la miscibilidad del alcóxido y el agua. Como el número de enlaces siloxano aumenta, las moléculas individuales se unen y se agregan conjuntamente en el sol. Cuando las partículas de sol se agregan o se entrecruzan en una red, se forma un gel. Al secarse, los volátiles atrapados (agua, alcohol, etc.) se expulsan y la red se encoge, ya que puede producirse una mayor condensación. Sin embargo, debe enfatizarse que la adición de solventes y ciertas condiciones de reacción pueden promover reacciones de esterificación y despolimerización. La reacción de hidrólisis/condensación sigue dos mecanismos diferentes, que dependen de la coordinación del átomo central metálico. Cuando se satisface el número de coordinación, la reacción de hidrólisis ocurre por sustitución nucleofílica (S_N):



Reacción de hidrólisis por sustitución nucleofílica (S_N).

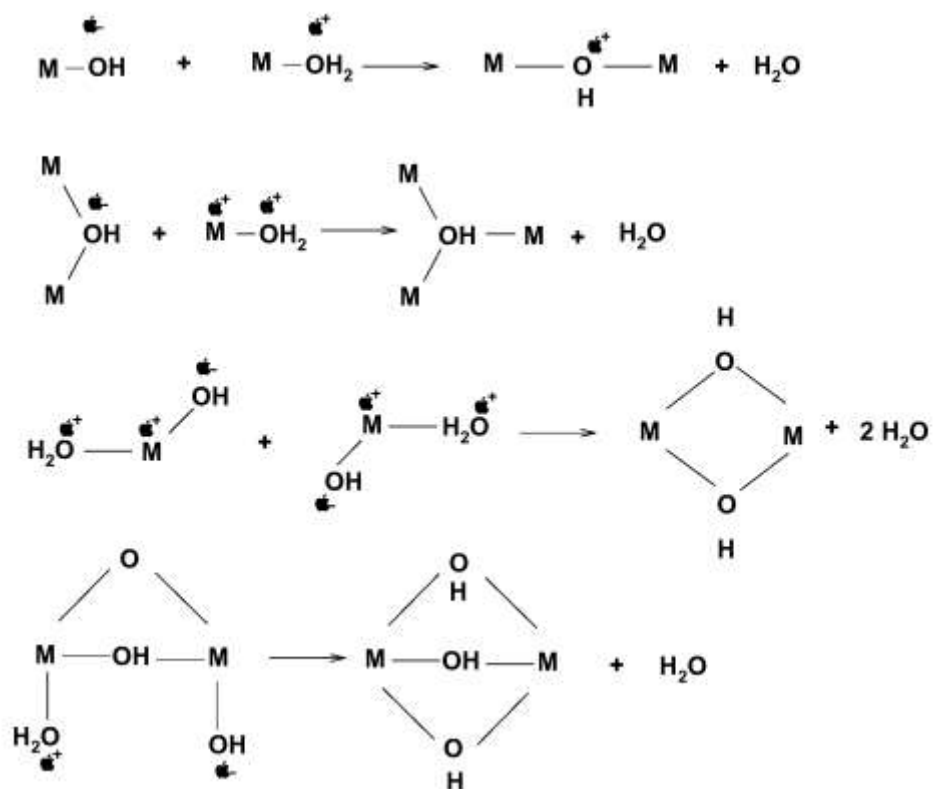
20 Cuando el número de coordinación es mayor, la reacción de hidrólisis tiene lugar por adición nucleofílica:





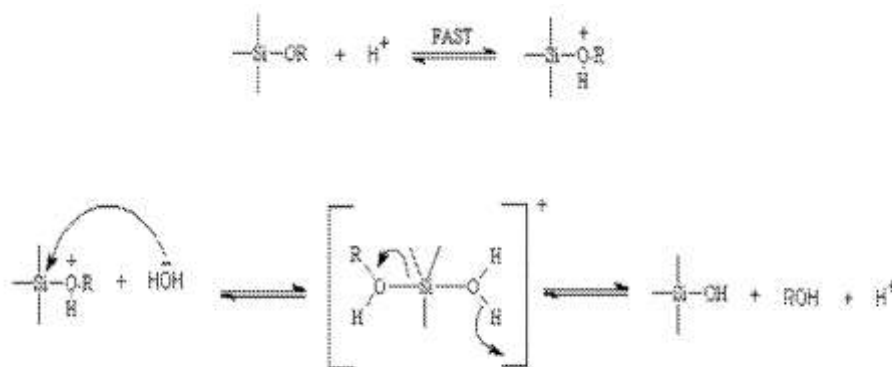
Reacción de hidrólisis por adición nucleofílica (A_n).

Estos mecanismos necesitan que la coordinación de oxígeno aumente de 2 a 3, la generación adicional de enlaces involucra un par de electrones del oxígeno y el nuevo enlace puede ser equivalente a los otros enlaces. Durante la etapa de condensación se forma una enorme concentración de grupos hidroxilo. Este OH puede estar unido entre los átomos metálicos o solo ser un ligando simple -OH en la superficie.



Etapa de condensación del método sol-gel.

Bajo condiciones ácidas, es probable que un grupo alcóxido sea protonado en un primer paso rápido. La densidad de electrones se retira del átomo de silicio, lo que lo hace más electrofílico y, por lo tanto, más susceptible al ataque del agua. Esto da como resultado la formación de un estado de transición penta-coordinado con un carácter de tipo S_N2 significativo. 13 El estado de transición decae por el desplazamiento de un alcohol y la inversión del tetraedro de silicio, usando sílice como ejemplo:

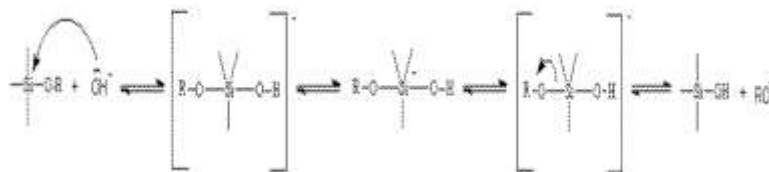


Hidrólisis catalizada con ácido

Mecanismo catalizado por base:

- 10 La hidrólisis catalizada por bases de alcóxidos de silicio procede mucho más lentamente que la hidrólisis catalizada por ácido a una concentración de catalizador equivalente. Los oxígenos de alcóxido básicos tienden a repeler el nucleófilo, $-OH$. Sin embargo, una vez que se ha producido una hidrólisis inicial, las siguientes reacciones proceden paso a paso, y cada grupo alcóxido posterior se elimina más fácilmente del monómero que el anterior. Por lo tanto, las siliconas más altamente hidrolizadas son más propensas a los ataques. Además, la hidrólisis del polímero formador está impedida estéricamente más que la hidrólisis de un monómero. Aunque la hidrólisis en ambientes alcalinos es lenta, aún tiende a ser completa e irreversible. Por lo tanto, en condiciones básicas, es probable que el agua se disocie para producir aniones hidroxilo en un primer paso rápido. El anión hidroxilo ataca el átomo de silicio. Nuevamente, se ha propuesto un mecanismo de tipo S_N2 en el que el $-OH$ desplaza a $-OR$ con la inversión del tetraedro de silicio.
- 20





Hidrólisis catalizada por bases

Descripción detallada de los métodos de síntesis utilizados:

Biocatalizadores de la síntesis de platino, cobre o compuesto de hierro-sol-gel: En el matraz de tres cuellos, se calienta a reflujo una mezcla que consiste en agua desionizada, compuesto de platino, cobre o hierro, base o ácido y disolvente. Antes de iniciar el reflujo, se ajusta el pH de la solución. En cualquier caso, el ácido o la base se agrega de manera "gota a gota" hasta que se obtiene el pH deseado. El pH se controla continuamente usando un potenciómetro durante todo el proceso. Usando un embudo, se agrega alcóxido de metal o una mezcla de alcóxidos de metal a la solución a reflujo. La adición gota a gota se realiza durante un período de 4 a 10 horas para mejorar la nucleación y la funcionalización. Después de la adición del alcóxido, la suspensión coloidal se calienta a reflujo durante un período de 24 a 240 horas. Siguiendo este proceso, las muestras se secan al vacío en un roto-vapor (10^{-3} mm de Hg) para eliminar el exceso de agua y alcohol. Finalmente, las muestras se secan a 30°C durante 24-72 horas. Para alcanzar la temperatura final de secado de 30°C , la temperatura se incrementa a una velocidad de $0.25^{\circ}\text{C}/\text{min}$ a $5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ utilizando un horno convencional.

En el caso de los óxidos mesoestructurados, el procedimiento de síntesis sigue los procedimientos de síntesis conocidos para obtener la concentración adecuada de micelas.

Alternativamente, los óxidos inorgánicos se sintetizan siguiendo el mismo procedimiento, pero en ausencia del compuesto de platino, cobre o hierro.

Una vez que se obtiene el nanomaterial, se agrega la cantidad deseada de platino, cobre o hierro mediante:

- a) Una solución que contiene el compuesto de platino, cobre o hierro al alcóxido inorgánico de tal manera que el volumen de la solución coincida con el volumen de poros del óxido inorgánico.
- b) Una solución que contiene el compuesto de platino, cobre o hierro al alcóxido inorgánico a un pH superior o inferior al punto isoeléctrico de la superficie. En todos los casos, el pH se ajusta para preservar o descomponer el compuesto de platino, cobre o hierro. Por ejemplo, para injertar $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_4]\text{Cl}_2$ en una superficie de titania, se usa una solución rica en cloruro a pH bajo.

En la figura 1a, un patrón de difracción de rayos X (obtenido usando un instrumento Brucker D-5000 equipado con radiación Cu-Ka con una longitud de onda de 1.5418 Å (45 kV y 40 mA)), en el que una banda ancha indefinida característica de sílice amorfa se muestra. También se observan varias bandas pequeñas, que son reflejos del Pt (NH₃)₄Cl, centrado a 12° y 24° (2 theta). Estos resultados sugieren que un grupo OH en la sílice se ha coordinado a Pt dando como resultado una estructura cuadrada plana.

En el espectro de transmitancia infrarroja mostrado en la figura 1b, (los espectros infrarrojos de las muestras en polvo se realizaron a temperatura ambiente usando un Termo-Espectrofotómetro Nicolet Nexus FT-IR), se observa una banda centrada a 3667 cm⁻¹. Esta banda está asignada a una vibración de estiramiento OH que interactúa con el complejo Pt. En general, esta banda se observa a 3700 cm⁻¹ en sílice pura y se debe a la presencia de grupos hidroxilo terminales que dan lugar a los sitios ácidos Lewis y Brønsted. La banda centrada a 3451 cm⁻¹ se debe a las vibraciones de estiramiento OH, que se incorporan al marco de sílice. Las vibraciones de flexión OH correspondientes se centran en 1633 cm⁻¹. Las bandas infrarrojas asociadas con las vibraciones de estiramiento de los grupos amina se observan a 3230 cm⁻¹. Estas observaciones son consistentes con el hecho de que el complejo ha perdido solo un átomo de cloro y que es probable que se haya producido cierta descomposición del complejo, lo que ha resultado en algo de PtO y Pt metálico soportado. En la región de baja energía del espectro, se observa una banda ancha centrada en 1095 cm⁻¹ con un hombro a 1228 cm⁻¹. Estas vibraciones se deben a las vibraciones de estiramiento (-O-Si-O-). El precursor de platino utilizado en la síntesis dio como resultado varias características nuevas observadas en el espectro infrarrojo. En particular, son evidentes una banda de deformación H-N-H centrada a 1548 cm⁻¹ y una banda de estiramiento asimétrica a 3230 cm⁻¹.

En las micrografías que se muestran en la figura 2 (Zeiss, microscopio electrónico de transmisión modelo MM 910 que funciona a 100kV), se puede observar la morfología homogénea de los pequeños aglomerados de partículas esféricas, de alrededor de 30 nm de diámetro. En el lado izquierdo de la figura, las dimensiones de las partículas son claras.

Sin embargo, el lado derecho da una mejor idea de su distribución. Debido a que Pt está muy disperso en la superficie y se ha co-gelificado con el tetraetoxisilano, no se ve en la micrografía. Los estudios futuros con TEM de alta resolución se centrarán en la identificación de los átomos de Pt en el soporte.

Los estudios histológicos con hematoxilina-eosina se realizaron en el tejido que rodea la trayectoria de la inyección de la suspensión de nanopartículas de Pt/SiO₂-H₂PtCl₆ figura 3. Las micrografías correspondientes con este túnel de estudio se muestran en la figura 3. En la figura 3a, una interfaz claramente muestra una línea de demarcación entre dos zonas, una en la que las células tumorales son claramente visibles y la otra, que muestra visiblemente el daño celular. En la figura 3b, se

usa un aumento mayor para examinar el área dañada. En la figura 3c, la ausencia de crecimiento en el tejido tumoral es evidente. Los puntos blancos son fragmentos de ADN.

EJEMPLOS

Ejemplo 1:

5 Para obtener 1% p/p de platino metálico en TiO_2 , se incorporaron 320 mg de $\text{Pt}(\text{NH}_3)_4\text{Cl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ a una mezcla que contenía 190 ml de etanol y 29 ml de agua desionizada, bajo agitación constante a 343K. Esta mezcla se calentó a reflujo durante 10 minutos a 343K antes de la adición del alcóxido de titanio. Luego, se añadieron gota a gota 69 ml del precursor de TiO_2 , n-butóxido de titanio, durante un período de 4 horas. Los soles resultantes se mantuvieron bajo agitación constante hasta que se produce la gelificación. La relación molar total agua: alcóxido: alcohol fue 8:1:16. Se obtuvieron muestras de xerogel de alteración y envejecimiento de 72 horas a temperatura ambiente secando en el horno los sólidos obtenidos a 343K.

15 La tabla 1 muestra el volumen final de los tumores en función del tratamiento. A partir de estos datos, queda claro que tanto el compuesto de coordinación de platino como el vehículo TiO_2 producen una reducción significativa del volumen del tumor. Este efecto se mejora mucho en el caso de los grupos tratados con los nanodispositivos TiO_2 y $\text{TiO}_2\text{-Pt}$. En este último caso, el volumen del tumor es solo el 44% del volumen alcanzado por el grupo de control.

Tabla 1.- Volumen tumoral promedio para los cuatro grupos diseñados de ratas Wistar.

Tratamiento	Volumen/ cm^3
Control	20.9 ± 4.9
$\text{TiO}_2\text{Pt}(\text{NH}_3)_4\text{Cl}_2$	47.2 ± 7.2
$\text{TiO}_2\text{-cisPt}$	26.7 ± 4.9
$\text{SiO}_2\text{-Pt}(\text{NH}_3)_4\text{Cl}_2$	35.6 ± 8.5