**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA**

**MAESTRIA Y DOCTORADO EN CIENCIAS E INGENIERIA**

# "SINTESIS Y ENCAPSULACION DE HALOPERIDOL EN RESERVORIOS NANOESTRUCTURADOS DE $SiO_2$ Y $TiO_2$ PARA EL TRANSTORNO DE ESQUIZOFRENIA"

**TESIS**

**Que para obtener el grado de**

**MAESTRO EN CIENCIAS**

**PRESENTA**

**IQ. Janeth Guadalupe Contreras Márquez**

**DIRECTOR DE TESIS**

**Dra. Karla Alejandra Espinoza Dueñas**

# Universidad Autónoma de Baja California

## FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA

### COORDINACIÓN DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

**FOLIO No. 092**

**Tijuana, B. C., a 15 enero de 2013**

**C. Janeth Guadalupe Contreras Márquez**
**Pasante de: Maestro en Ciencias**
**Presente**

**El tema de trabajo y/o tesis para su examen profesional, en la Opción TESIS**

**Es propuesto, por los C. Dres. Karla Alejandra Espinoza Dueñas e Ignacio Alfredo Rivero Espejel**

**Quienes serán los responsables de la calidad de trabajo que usted presente, referido al tema "SINTESIS Y ENCAPSULACION DE HALOPERIDOL EN RESERVORIOS NANOESTRUCTURADOS DE $SiO_2$ Y $TiO_2$ PARA EL TRANSTORNO DE ESQUIZOFRENIA".**

**el cual deberá usted desarrollar, de acuerdo con el siguiente orden:**

I.- MARCO TEORICO
II.- ANTECEDENTES
III.- OBJETIVOS
IV.- EXPERIMENTAL
V.- RESULTADOS Y DISCUSION
VI.- CONCLUSIONES
VII.- REFERENCIAS
VIII.- APENDICE

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA

Dra. Karla Alejandra Espinoza Dueñas
**Directora de Tesis**

Q. Noemí Hernández Hernández
**Sub-Director Secretario**

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS E INGENIERIA

Dr. Ignacio Alfredo Rivero Espejel
**Co-Director de Tesis**

Dr. Luis Enrique Palafox Maestre
**Director**

*SI CAES ES PARA LEVANTARTE, SI TE LEVANTAS ES PARA SEGUIR, SI SIGUES ES PARA LLEGAR A DONDE QUIERES IR Y SI LLEGAS ES PARA SABER QUE LO MEJOR ESTA POR VENIR...*
*E.M.*

*ELBANO MENDOZA*

## DEDICATORIAS

A DIOS Y A MI FAMILIA

Dedico el éxito y la satisfacción de esta investigación a Dios quien me regala los dones de la Sabiduría y el entendimiento, a mi mamá y a mi hermana quienes aún en la distancia siempre han estado conmigo, a mi abuela y mi tía lupita que fueron como segundas madres y mi Esposo SANTIAGO STEPHENS por su apoyo incondicional, amor, alegría y ánimo los cuales me permitieron poder llevar acabo la culminación de este proyecto.

# CONTENIDO


| | |
|---|---|
| Hoja de Aprobación | ii |
| Dedicatorias | iv |
| Contenido | v |
| Lista de Abreviaturas | vi |
| Lista de Esquemas | ix |
| Lista de Figuras | xi |
| Lista de Tablas | xiii |
| Agradecimientos | xiv |
| Resumen de tesis | xvi |

**I. INTRODUCCIÓN.**
**II. ANTECEDENTES**

| | |
|---|---|
| 2.1.- Esquizofrenia | 6 |
| 2.2.- Haloperidol | 9 |
| 2.2.1.- Formas de Administración | 12 |
| 2.2.2.- Sol-gel | 15 |
| 2.3.- Fluorescencia | 18 |
| 2.3.1.-Estados Excitados | 19 |
| 2.3.2.- Fluoróforo Cloruro de Dansilo**.** | 20 |

**III.-OBJETIVOS**

| | |
|---|---|
| 3.1.- Objetivo General. | 23 |
| 3.2.- Objetivos Específicos. | 23 |

**IV.- EXPERIMENTAL**

| | |
|---|---|
| 4.1.- Generalidades | 25 |
| 4.2. Ruta general para la síntesis de nanopartículas. de $SiO_2$ y $TiO_2$ | 26 |

4.3.- MARCAJE FLUORESCENTE.
4.3.1.- Proceso general del marcaje fluorescente de las nanopartículas de oxido de sílice y Titania de referencia por la técnica de ultrasonido. 33
4.3.2.- Proceso general del marcaje fluorescente de las nanopartículas de oxido de sílice y Titania de referencia por la técnica de Microondas. 34
4.3.3.- Proceso general del marcaje fluorescente de las nanopartículas de oxido de sílice y Titania de referencia por la técnica de microondas con el fármaco ocluido. 35
4.3.4.- Proceso general del marcaje fluorescente del fármaco haloperidol. 36

4.4.- PROCESO GENERAL PARA LOS ESTUDIOS DE LIBERACIÓN.
4.4.1.- Proceso general de la liberación evaluado en fluorescencia de las nanopartículas (referencia y fármaco ocluido). 37
4.4.2.- Proceso general para la curva de calibración.
4.4.3.- Proceso Liberación evaluado por espectroscopia UV-Visible al fármaco haloperidol. 38

**V.- RESULTADOS Y DISCUSION**
5.1.- Generalidades. 40
5.2.- Interacción del fármaco haloperidol con grupos OH 41
5.3.- Síntesis de nanopartículas de referencia SiO2 y TiO2 42
5.4.- Marcaje Fluorescente 44
5.4.1.- Generalidades 44
5.4.2.- Nanopartículas de SiO2 de referencia. 44
5.4.2.1- Técnicas de Baño ultrasónico (adsorbido) y Microondas. 44
5.4.2.2- Técnicas de Baño ultrasónico (adsorbido), Microondas y Oclusión. 49
5.4.2.- Nanopartículas de TiO2 50
5.3.2.1- Técnicas de baño ultrasónico (adsorbido) y Microondas. 50
5.4.3.- Marcaje fármaco haloperidol 56
5.5.- Estudios de Liberación 57
5.5.1 – Liberación en espectroscopia de fluorescencia. 57
5.5.1.1.- Proceso general a las nanopartículas de referencia con el fármaco ocluido. 59
5.5.2 – Liberación seguida por espectroscopia de Ultra Violeta. 61
5.5.2.1.- Curva de calibración 61
**VI. – CONCLUSIONES**
**VII. – REFERENCIAS**

## VII.- APÉNDICE

# LISTA DE ABREVIATURAS

| Abreviatura | Descripción |
|---|---|
| **$SiO_2$** | Óxido de silicio |
| **$TiO_2$** | Oxido de titanio |
| **NMDA** | Receptores ionotrópicos de glutamato |
| **GABA** | Ácido gamma-aminobutírico |
| **EtOH** | Etanol |
| **$H_2O$** | Agua |
| **MeOH** | Metanol |
| **DCM** | *Di*-cloro metano |
| **TEA** | *Tri*-etil amina |
| **TEOS** | *Tetra*-etil *orto*-silicato |
| **mL** | Mililitros |
| **mmol** | Mili mol |
| **mg** | Miligramos |
| **nm** | nanómetros |
| **u.a** | Unidad de Absorbencia (cm) |
| **RMN $^{1}H$** | Resonancia magnética nuclear de protón |
| **RMN $^{13}C$** | Resonancia magnética nuclear de carbón |
| **IR** | Espectroscopia de Infrarrojo |
| **UV** | Espectroscopia de Ultra Violeta |
| **CCF** | Cromatografía de Capa Fina |

## CONTENIDO DE IMÁGENES


| No. Imagen | Descripción | Página |
|---|---|---|
| **Imagen 1.** | Aplicaciones y usos de la nanotecnología en diferentes disciplinas | 3 |
| **Imagen 2.** | Aplicaciones y usos de la nanomedicina en diferentes disciplinas | 4 |
| **Imagen 3**. | Imagen del cerebro padeciente de una enfermedad neurológica | 7 |
| **Imagen 4.** | Síntomas más comunes del tratamiento de esquizofrenia. | 9 |
| **Imagen 5**. | Formas de acción de algunos fármacos para el trastorno. de Esquizofrenia | 11 |
| **Imagen 6.** | Clasificación de antisépticos en función de su riesgo al metabolismo humano. | 12 |
| **Imagen 7.** | Tipos de síntesis de nanopartículas. | 16 |
| **Imagen 8.** | Espectrofotómetro RF-5301 PC SPECTROFLUOROPHOTOMETER. SHIMADZU | 20 |
| **Imagen 9.** | Espectro de fluorescencia. | 21 |
| **Imagen 10.** | Forma amorfa del fármaco haloperidol | 44 |
| **Imagen 11.-** | Estructura de energía del fármaco con las posibles interacciones | 45 |

# LISTADO DE ESQUEMAS


| No. Esquema | Descripción | Página |
|---|---|---|
| **Esquema 1.** | Diferentes tipos de Fármacos para esquizofrenia. | 10 |
| **Esquema 2.** | Estructura química Fármaco haloperidol. | 13 |
| **Esquema 3.** | Estructura química del $TiO_2$. | 17 |
| **Esquema 4.** | Estructura química del $SiO_2$. | 19 |
| **Esquema 5.** | Estructura química del cloruro de dansilo. | 22 |
| **Esquema 6.** | Proceso general Síntesis de nanopartículas con el fármaco ocluido. | 29 |
| **Esquema 7.** | Proceso general Síntesis de nanopartículas de Referencia con el Fármaco Ocluido | 30 |
| **Esquema 8.** | Síntesis de nanopartículas de $SiO_2$ referencia. | 32 |
| **Esquema 9.** | Síntesis de nanopartículas de $TiO_2$ de referencia. | 32 |
| **Esquema 10.** | Síntesis de la oclusión del fármaco haloperidol a las nanopartículas de SiO2. | 34 |
| **Esquema 11.** | Síntesis de nanopartículas de $TiO_2$ con haloperidol ocluido. | 34 |
| **Esquema 12.** | Marcaje de nanopartículas de $SiO_2$ por cloruro de dansilo. | 35 |
| **Esquema 13.** | Marcaje de nanopartículas de $TiO_2$ por cloruro de dansilo. | 35 |
| **Esquema 14.** | Marcaje de nanopartículas de $SiO_2$ por cloruro de dansilo por medio de la técnica microondas. | 36 |
| **Esquema 15.** | Marcaje de nanopartículas de $TiO_2$ por el fluoróforo cloruro de Dansilo por medio de la técnica microondas. | 36 |
| **Esquema 16.** | Marcaje de nanopartículas de $SiO_2$ con haloperidol ocluido por medio de la técnica microondas. | 37 |
| **Esquema 17.** | Marcaje de nanopartículas de $TiO_2$ con haloperidol ocluido por medio de la técnica microondas. | 37 |
| **Esquema 18.** | Marcaje del Fármaco haloperidol por cloruro de dansilo. | 38 |
| **Esquema 19.** | Proceso de liberación de las nanopartículas en fluorescencia. | 39 |
| **Esquema 20.** | Proceso de liberación del fármaco haloperidol en espectroscopia UV-Vis | 40 |
| **Esquema 21.** | Posibles estructuras de los complejos formados por el haloperidol y el EtOH. | 43 |
| **Esquema 22**. | Síntesis de nanopartículas de referencia con fármaco ocluido. | 47 |

## LISTADO DE FIGURAS.


| No. Figura | Descripción | Página |
|---|---|---|
| **Figura 1.** | Espectro IR de Nanopartículas de $SiO_2$ y $TiO_2$. | 46 |
| **Figura 2.** | a) Espectro de fluorescencia por la técnica de ultrasonido, b) Espectro de fluorescencia por la técnica de microondas. | 49 |
| **Figura 3.** | Espectro de florescencia de nanopartículas de oxido de sílice marcadas al 5 y 15% de cloruro de Dansilo. | 51 |
| **Figura 4.** | Espectro de fluorescencia del comparativo del total de los porcentajes de las nanopartículas de SiO2 marcadas . con cloruro de Dansilo | 52 |
| **Figura 5.** | Marcaje fluorescente de nanopartículas de $SiO_2$ por la técnica de a) ultrasonido, b) microondas c) SiO2 oculuído por microondas. | 54 |
| **Figura 6.** | Marcaje fluorescente de nanopartículas de $TiO_2$ de referencia por la técnica a) ultrasonido, b) microondas. | 55 |
| **Figura 7.** | Marcaje fluorescente de nanopartículas de $TiO_2$ de referencia por la microondas en los porcentajes 5,10 y 15% | 57 |
| **Figura 8.** | Comparativo del marcaje de las nanopartículas de $TiO_2$ referencia por la técnica de microondas. | 59 |
| **Figura 9.** | Marcaje fluorescente de nanopartículas de $TiO_2$ con haloperidol ocluido por la técnica de microondas. | 60 |
| **Figura 10.** | Marcaje del Fármaco Haloperidol. | 61 |
| **Figura 11.** | Espectro de liberación de las nanopartículas de SiO2 de referencia. | 63 |
| **Figura 12.** | Espectro de liberación de las nanopartículas de $TiO_2$ de referencia. | 64 |
| **Figura 13.** | Espectro de liberación de las nanopartículas de $SiO_2$ con haloperidol ocluido. | 65 |
| **Figura 14.** | Espectro de liberación de las nanopartículas de $TiO_2$ con haloperidol ocluido. | 66 |
| **Figura 15.** | Curva de Calibración del Fármaco Haloperidol. | 68 |
| **Figura 16.** | Espectro de IR de Haloperidol Puro. | 79 |
| **Figura 17.** | Espectro de IR de nanopartículas de $SiO_2$ de referencia. | 80 |
| **Figura 18.** | Espectro de IR de nanopartículas de $SiO_2$ de referencia con haloperidol ocluido. | 81 |
| **Figura 19.** | Espectro de IR de nanopartículas de $TiO_2$ de referencia. | 82 |
| **Figura 20.** | Espectro de IR de nanopartículas de $TiO_2$ de referencia con haloperidol ocluido. | 83 |

## LISTADO DE TABLAS


| No. Tabla | Descripción | Página |
|---|---|---|
| **Tabla 1.** | Datos químicos y farmacocinéticos del fármaco haloperidol en la industria farmacéutica. | 11 |
| **Tabla 2**. | Propiedades químicas del cloruro de dansilo comercialmente. | 21 |
| **Tabla 3.** | Comparativo de fluorescencia a las nanopartículas $SiO_2$ de referencia. | 46 |
| **Tabla 4.** | Resultados de fluorescencia de la totalidad de diferentes concentraciones del marcaje a las nanopartículas de $SiO_2$. | 48 |
| **Tabla 5.** | Resultados del comparativo entre las técnicas de microondas y la técnica de ultrasonido. | 52 |
| **Tabla 6**.- | Resultados del comparativo de las intensidades fluorescentes. | 53 |
| **Tabla 7**.- | Concentración de la solución madre para el fármaco haloperidol. | 62 |

## AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de Baja California y la Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería de la UABC, por darme la oportunidad de ocupar un espacio en sus aulas y por las atenciones otorgadas para el logro de esta meta.

Al Instituto Tecnológico de Tijuana por el apoyo brindado para alcanzar una meta más.

Con especial reconocimiento a mi directora de tesis:

***Dra. Karla Alejandra Espinoza Dueñas,***

Por permitirme ser parte de su proyecto, darme la confianza para realizarlo, por el apoyo moral y académico brindado, por la paciencia, comprensión, crítica pero especialmente por su amistad durante estos años de trabajo.

Reconocimiento con gran respeto y gratitud a mi codirector Dr. Ignacio Rivero Espejel por su importante contribución y apoyo al proyecto, la atención brindada y su experiencia aportada en este camino.

Al Dr. Cesar Díaz Trujillo por su cooperación y apoyo al aceptar ser mi tutor de tesis y estar ahí hasta el último momento.

A todos mis amigos y compañeros del laboratorio por el apoyo mostrado durante este tiempo, Dr. Ramón Rodríguez, MC. Lizbeth Heredia, MC. Carolina Flores e Ing. José Luis Villegas.

Muchas gracias en especial a mi Familia por el tiempo, cariño y apoyo para lograr este trabajo.

Este trabajo fue apoyado con el financiamiento de CONACYT.

Agradecemos el apoyo brindado por CONACYT a través de su beca para la realización de estudios de posgrado.

**RESUMEN DE TESIS**

# SINTESIS Y LIBERACION DE RESERVORIOS NANOESTRUCTURADOS DE $SiO_2$ y $TiO_2$ PARA EL TRANSTORNO DE ESQUIZOFRENIA".


**Por**

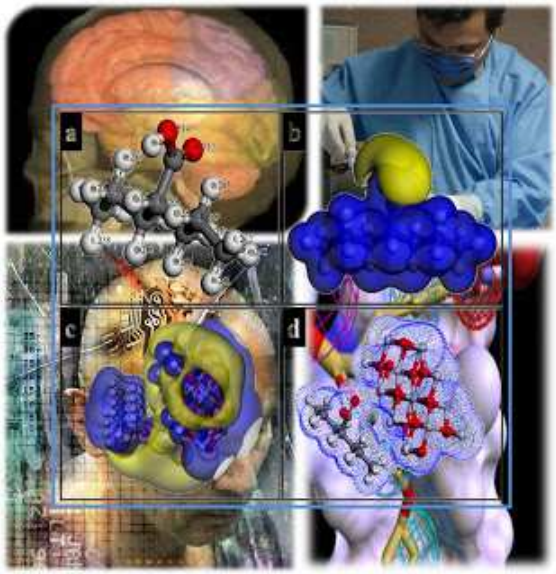
**Ing. Janeth Guadalupe Contreras Márquez**

**Para obtener el grado de Maestro en Ciencias**

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA**

**Dra. Karla Alejandra Espinoza Dueñas**

**Directora de Tesis.**

La nanotecnología es la aplicación de la ciencia de los sistemas a escala nanométrica, es decir, a nivel de átomos y moléculas (nanomateriales) que implica la caracterización, la fabricación y/o manipulación de estructuras, dispositivos o materiales que tienen al menos una dimensión. Cuando el tamaño de partícula es reducido, el material expone las propiedades físicas y químicas que son considerablemente diferentes de las propiedades de materiales de macroescala.[1,2] Las nanopartículas han sido también utilizadas en la bioseparación de células por métodos de extracción o liberación de productos químicos, en la administración de fármacos (formación de sol-gel un ejemplo serian los hidrogeles los cuales son potenciales biomateriales para la liberación de fármacos controlada, los nanohilos que permiten la detección de infecciones virales cuando el sistema inmunológico aun es incapaz de actuar), y en el tratamiento de nanopartículas para cáncer basándose en tres objetivos principales:[3]

1.-Colocar los átomos de forma ordenada.
2. Conseguir que casi cualquier estructura sea consistente con las leyes de la física y la química que podemos especificar y describir a nivel atómico.
3. Lograr que los costos de fabricación de procesos industriales o biológicos no sean tan costosos.

La interacción entre la Nanotecnología y la medicina constituye una oportunidad para llevar a cabo nuevos tratamientos o mejorar los ya existentes. Las diferentes técnicas que forman parte de la Nanotecnología manipulan átomos y moléculas, produciendo nanoestructuras artificiales que, siendo del mismo tamaño que las biomoléculas, pueden interaccionar con células de los

seres humanos. Por este motivo, la nanomedicina ofrece nuevas soluciones en diagnóstico, tratamientos “inteligentes” y medicina regenerativa, actuando y estimulando los propios mecanismos controladores y reparadores del cuerpo humano. La medicina realmente preventiva será una realidad gracias a estas nuevas tecnologías. Haciendo uso de todos estos progresos y del hecho de que cada día se tiene un conocimiento más extenso del cuerpo humano a escala molecular, se puede tener una mayor capacidad de intervenir antes de la aparición de los síntomas de una enfermedad. Por todo ello, la nanomedicina tendrá un gran impacto en el diagnóstico precoz y en el tratamiento de enfermedades como cáncer, diabetes, alzheimer, parkinsons, esquizofrenia y los problemas cardiovasculares, inflamatorios e infecciosos.

Hoy en día la fabricación de los nanomateriales en el caso particular de $SiO_2$ y $TiO_2$ ha sido usada en la neurociencia como una tentativa de limitar o invertir procesos de neuropatologías. Las ventajas son debido a sus características específicas, como la capacidad para actuar recíprocamente con en sistemas biológicos con un alto grado de especificidad. Además, los nanomateriales, como se piensa, son capaces de estimular y actuar recíprocamente con células objetivo y tejidos de modos controlados, induciendo efectos secundarios deseados fisiológicos.

En este trabajo se plantea la síntesis de nanopartículas para de $SiO_2$ y $TiO_2$, encapsulación y liberación del fármaco haloperidol. Este fármaco es utilizado en el trastorno de esquizofrenia, esta síntesis se llevo a cabo por medio de reservorios nanoestructurados marcadas con el fluoruforo cloruro de dansilo y

fueron calculados por espectroscopia de fluorescencia, además de espectroscopia de UV, IR para la liberación del fármaco.

# Capítulo I

## Introducción

## I.- INTRODUCCION

La nanotecnología es la aplicación de la ciencia de los sistemas a escala nanométrica, es decir, a nivel de átomos y moléculas (nanomateriales) que implica la caracterización, la fabricación y/o manipulación de estructuras, dispositivos o materiales que tienen al menos una dimensión. Cuando el tamaño de partícula es reducido, el material expone las propiedades físicas y químicas que son considerablemente diferentes de las propiedades de materiales de macroescala [1]

La nanotecnología emplea materiales o dispositivos que actúan recíprocamente con sistemas biológicos en un nivel molecular que podrían revolucionar el tratamiento de desórdenes neurodegenerativos respondiendo y actuando en sitios objetivo para inducir respuestas fisiológicas de tal modo que se pueda reducir al mínimo los efectos secundarios de dichos desordenes.[2] La investigación en el campo de nanotecnología ha tenido un crecimiento exponencial. Actualmente ya hay numerosas empresas que se especializan en la fabricación de las nuevas formas de materia de nanosíntesis, con usos que incluyen la terapéutica médica y el diagnóstico, la producción de energía, la informática molecular.[2]

Hoy en día los Nanomateriales han sido usados en neurociencia en una tentativa de limitar o invertir procesos neuropatológicos. Las ventajas son debido a sus características específicas, como la capacidad para actuar recíprocamente con los sistemas biológicos con un alto grado de especificidad. Además, los nanomateriales, como se piensa, son capaces de estimular y actuar recíprocamente con células objetivo y tejidos de modos controlados, induciendo respuestas deseadas fisiológicas

con efectos secundarios mínimos.[3] Los usos principales neurológicos a los cuales la investigación de nanotecnología contribuye son resumidos en: [4,5,6]

- Neuro- diagnósticos
- Neuro- protección terapéutica
- Neuro- regeneración terapéutica
- Nanoescalas de herramientas para ayudar a procedimientos neuros psiquiátricos, entre otros reflejados en la siguiente imagen:

**Imagen 1.** Aplicaciones y usos de la nanotecnología en diferentes disciplinas

La interacción entre la nanotecnología y la medicina constituye una oportunidad para llevar a cabo nuevos tratamientos o mejorar los ya existentes. Las diferentes técnicas que forman parte de la Nanotecnología manipulan átomos y moléculas, produciendo nanoestructuras artificiales que, siendo del mismo tamaño que las biomoléculas, pueden interaccionar con células de los seres humanos. Por este motivo, la nanomedicina ofrece nuevas soluciones en diagnóstico, tratamientos “inteligentes” y

medicina regenerativa, actuando y estimulando los propios mecanismos controladores y reparadores del cuerpo humano.[7,8] La medicina realmente preventiva será una realidad gracias a estas nuevas tecnologías. Haciendo uso de todos estos progresos y del hecho de que cada día se tiene un conocimiento más extenso del cuerpo humano a escala molecular, se puede tener una mayor capacidad de intervenir antes de la aparición de los síntomas de una enfermedad. Por todo ello, la nanomedicina tendrá un gran impacto en el diagnóstico precoz y en el tratamiento de enfermedades comol cáncer, diabetes, alzheimer, parkinsons, squizofrenia y los problemas cardiovasculares, inflamatorios e infecciosos.[9] Las distintas aplicaciones de la nanomedicina se han agrupado en el presente informe en tres grandes áreas interrelacionadas entre sí, que son: técnicas analíticas y herramientas de diagnóstico, liberación de fármacos y medicina regenerativa.

**Imagen 2.** Aplicaciones y usos de la nanomedicina en diferentes disciplinas.[9]

1.1.- Técnicas analíticas y herramientas de diagnóstico.

Debido a las limitaciones de la tecnología actual de diagnóstico, el diagnóstico de determinadas enfermedades sólo es posible cuando la enfermedad se encuentra en

un estado demasiado avanzado. El objetivo de la nanotecnología aplicada al diagnóstico es conseguir un diagnóstico temprano, con una sola o muy pocas moléculas o células. Las distintas técnicas analíticas y herramientas de diagnóstico se pueden agrupar dentro de dos grandes categorías: los **dispositivos de diagnóstico *in vitro*** y el **diagnóstico por imagen**.[10]

1.2.- Liberación de fármacos.

Los sistemas de liberación de fármacos surgen como consecuencia de la imposibilidad de trasladar de forma directa al organismo los principios activos que constituyen los medicamentos.[11]

1.3.- Medicina Regenerativa.

La Medicina Regenerativa es una disciplina que busca el mantenimiento, la mejora o la restauración de la función de las células, tejidos y órganos, mediante la aplicación de métodos relacionados principalmente con la terapia celular y la ingeniería Tisular[12]. La ingeniería tisular aplica los principios propios de la ingeniería y de las ciencias de la vida para conseguir desarrollar órganos completos y funcionales que puedan sustituir a sus homólogos naturales[13]

Algunas enfermedades neurológicas incluyen una amplia gamma de desórdenes que afectan un porcentaje grande de la población líder mundial y según estudios epidemiológicos se esperan aumentar con el envejecimiento de la población. Las enfermedades de Alzheimer y Parkinson, el autismo, la herida traumática cerebral, y la esquizofrenia son sólo un número grande de las patologías que se han beneficiado de los avances en la investigación de neurología.[14-17]

Las síntesis que se plantean en el siguiente trabajo se llevo a cabo por medio de reservorios nanoestructurados marcadas con cloruro de dansilo, y fueron medidos por espectroscopia de fluorescencia, además la liberación del fármaco fue monitoreada por espectroscopia de UV.

# Capítulo II

## Antecedentes

## II.- Antecedentes

Las enfermedades neurológicas son trastornos del cerebro, la médula espinal y los nervios de todo el cuerpo. En conjunto, esos órganos controlan todas las funciones del cuerpo. Cuando algo funciona mal en alguna parte del sistema nervioso, es posible que tenga dificultad para moverse, hablar, tragar, respirar o aprender. También puede haber problemas con la memoria, los sentidos o el estado de ánimo.[18]

Las enfermedades neurológicas representan un grupo de padecimientos con importantes repercusiones sociales y económicas, parece evidente el costo económico relacionado a los medicamentos,[19] cuidadores y terapeutas así como el fuerte impacto que causan en las familias.

Existen más de 600 enfermedades neurológicas, **la imagen 3** presenta un posible panorama del cerebro de una persona con una enfermedad neurológica, donde los tipos más reconocidos incluyen:

- Enfermedades causadas por genes defectuosos, tales como la enfermedad de Huntington y la distrofia muscular
- Enfermedades degenerativas, en las cuales las células nerviosas están dañadas o mueren, tales como las enfermedades de parkinson y alzheimer

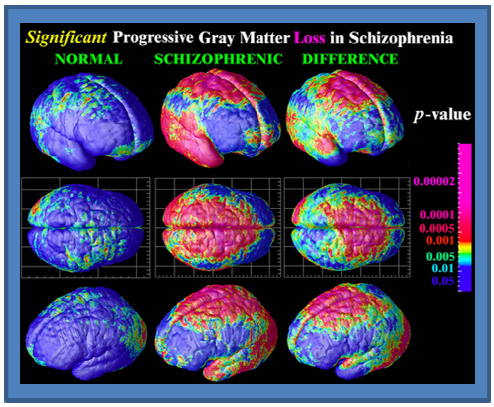



**Imagen 3**: Imagen del cerebro de un paciente con esquizofrenia.

- Enfermedades de los vasos sanguíneos que abastecen el cerebro, tales como los derrames cerebrales
- Lesiones en la médula espinal y el cerebro
- Trastornos convulsivos, tales como la epilepsia
- Cáncer, tales como los tumores cerebrales
- Enfermedades mentales, tales como la esquizofrenia y la bipolaridad, entre otras.[20-23]

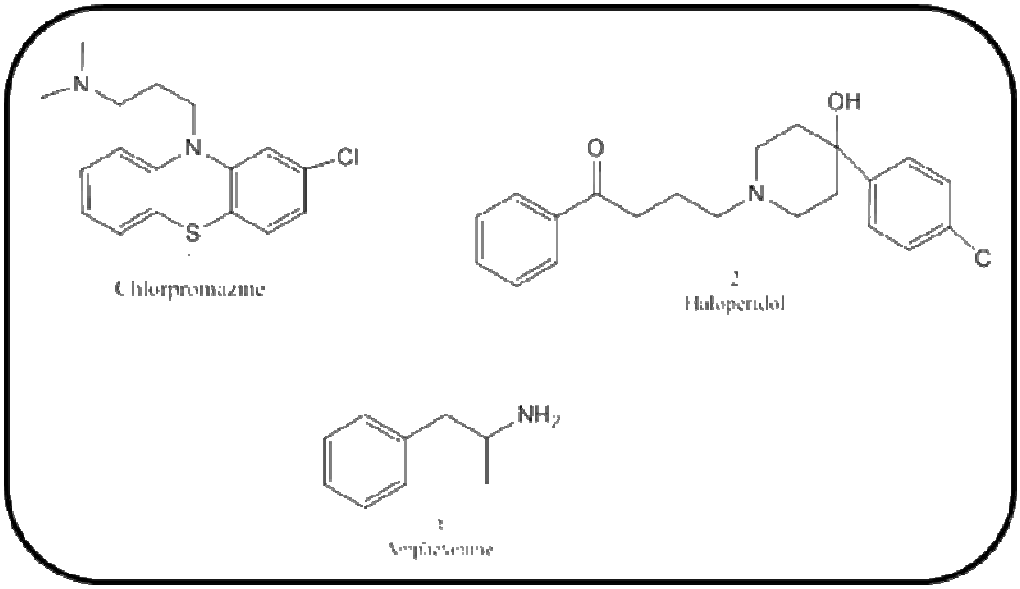
### 2.1.- Esquizofrenia

La esquizofrenia es una de las enfermedades mentales más serias que ocasionan una gran perturbación en las relaciones sociales, familiares y labores de las personas que la sufren, iniciándose generalmente en la etapa de adolescencia y para la cual, no existe un tratamiento curativo en la actualidad, lográndose únicamente una remisión de los síntomas con el uso de antipsicóticos.[24]

La esquizofrenia es un trastorno mental que hasta la fecha se define de modo sindrómico, puesto que así se denomina a un conjunto de síntomas, con una cierta duración en el tiempo; y cuya etimología y fisiopatología no son aun suficientemente conocidas. Existe evidencia de anomalías neurobiológicas y cognitivas que preceden la aparición de los síntomas, y que hacen que las funciones mentales del sujeto sean vulnerables a diversos factores estresantes que actuarían como desencadenantes (Modelo de estrés-vulnerabilidad).[25] En la **imagen 4** se engloban algunos de los síntomas más importantes en el trastorno de esquizofrenia.

**Imagen 4**.- Síntomas más comunes que diagnostican la enfermedad de esquizofrenia

Varios grupos de investigación tienen demostrado que por medio de la fluorescencia de nanopartículas de silicio y titanio en las regiones azules, verdes, amarillas y rojas del espectro, que es compatible con el confinamiento cuántico se puede obtener un avance científico en la región afectada para las personas con trastornos esquizofrénicos.[19-24] El tratamiento de esquizofrenia hoy implica una variedad de medicinas, que son clasificadas como “antipsicóticos”, dependiendo de la selectividad del tipo de neuroreceptor y el grado de efectos secundarios que ellos causan.[25-28] Hasta hace poco los médicos llamaban neurolépticos a los medicamentos antipsicóticos, por su tendencia a causar efectos secundarios neurológicos. Los medicamentos que han estado disponibles por algunos años son ahora llamados antipsicóticos estándar: torazina, clorpromazina y el haloperidol son ejemplos de los más sobresalientes en el tramiento del transtorno de esquizofrenia y se presentan en el **esquema 1.**




**Esquema 1.** Diferentes tipos de fármacos para el tratamiento de esquizofrenia

## 2.2.- Haloperidol

La primera droga antipsicótica que fue lanzada al mercado para el tratamiento de la esquizofrenia fue la clorpromazina, en 1955,[27] desde entonces aparecieron múltiples drogas con el mismo mecanismo de acción llamados "bloqueadores de receptores de dopamina[28] A esta clase de fármacos se le llama neurolépticos clásicos y son efectivos en el control de los síntomas positivos y en la prevención de recurrencias de episodios agudos; sin embargo son muy mal tolerados por la gran frecuencia de sus efectos colaterales.[29] La **imagen 5** muestra la forma de acción de algunos fármacos utilizados en el trastorno de la esquizofrenia.

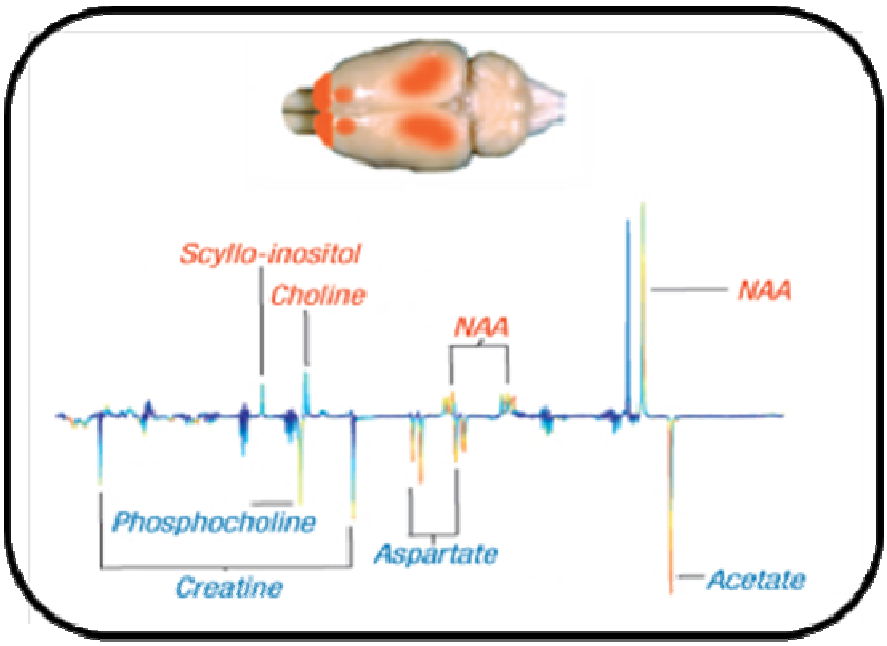



**Imagen 5.** Formas de Acción de Algunos Fármacos para el trastorno de Esquizofrenia

El fármaco haloperidol es un típico antipsicótico que ha sido usado como una medicina antipsicótica en el humano. Lamentablemente, los efectos terapéuticos de también vienen con efectos secundarios, causando desórdenes de movimiento en pacientes.[29] Debido a estos efectos los fármacos han sido clasificados según su riesgo, **la imagen 6** muestra la clasificación de los antipsicótico según su función y liberación en el metabolismo, así como su riesgo metabólico.

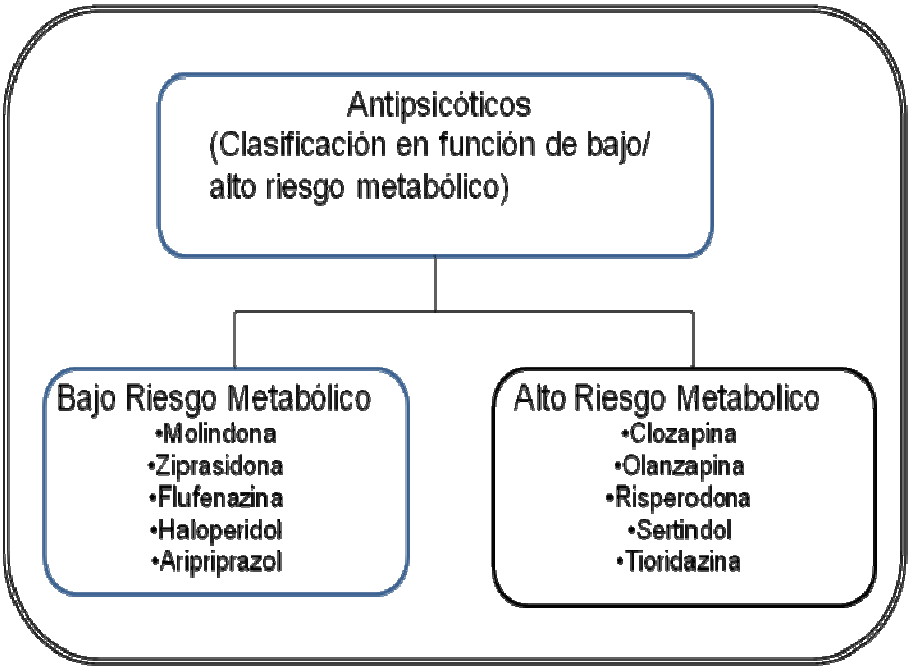
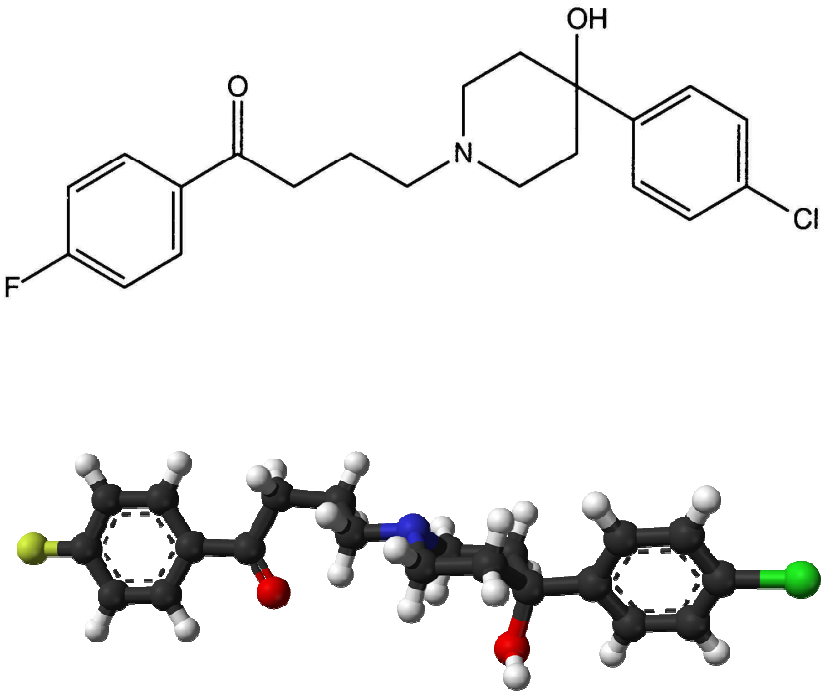



**Imagen 6.-** Clasificación de antipsicóticos en función de su riesgo al metabolismo humano

El fármaco haloperidol es un antipsicótico, perteneciente al grupo de las butirofenonas, es decir, es un potente antagonista de los receptores centrales, fue desarrollado a finales de los años 1950 y pronto introducido a terapia [18,19] clínica, su potencial antipsicótico está basado en el potente bloqueo de receptores de dopamina (D2) receptores en el cerebro como consecuencia directa del efecto bloqueante dopaminergico central, también posee una actividad incisiva sobre delirios y alucinaciones (probablemente debido a una interacción en los tejidos límbicos y mesocortical) y una actividad sobre los glanglios basales. [30]

En el esquema y tabla siguientes se representan la estructura química y la información farmacocinética del fármaco haloperidol.




**Esquema 2.** Estructura química Fármaco Haloperidol

| Datos Químicos | |
|---|---|
| Fórmula | $C_{21}H_{23}NClFO_2$ |
| Masa Molar | 375.9g/mol |
| **Farmacocinética** | |
| Biodisponibilidad | Aproximadamente de 60 a 70% |
| Metabolismo | Hepático |
| Vida Media | 12 a 36 horas |
| Excreción | Biliar o renal |

**Tabla 1.** Datos químicos y farmacocinéticos del fármaco haloperidol.

Se utiliza para tratar la esquizofrenia, estados psicóticos agudos, algunos estados de agitación psicomotriz, estados maniacos, estados de pánico y ansiedad,[31] incrementa la secreción de prolactina en humanos, apoyando la hipótesis de que la dopamina es la hormona que inhibe la liberación de prolactina en el hipotálamo, se absorbe bien por vía oral, con una biodisponibilidad media del 60-65% y se distribuye a todos los tejidos y rápidamente alcanza una concentración adecuada en el sistema nervioso central, con un volumen de distribución de 20 l/kg.[31]

### 2.2.1.- Formas de Administración

La dosis requerida por cada paciente es muy variable. Como ocurre con otros antipsicótico la dosis debe individualizarse de acuerdo con las necesidades y la respuesta de cada paciente, realizando ajustes de la dosis hasta alcanzar el control terapéutico óptimo.[32] Para determinar la dosis inicial debe tenerse en cuenta la edad del paciente, la severidad de la enfermedad, la respuesta previa a otros fármacos antipsicótico, la existencia de patología subyacente o la utilización concomitante de otros fármacos. En general, los niños, ancianos, pacientes debilitados o con antecedentes de reacciones adversas a otros antipsicótico requieren una menor dosis del fármaco y un ajuste más gradual de la dosis para obtener la respuesta óptima.[33]

El fármaco haloperidol se presenta en forma de tabletas y de un líquido concentrado para administrarse por vía oral. Por lo general, se toma una o dos veces al día. Posiblemente el médico le recete al principio una dosis baja de haloperidol y luego la aumente en forma gradual y es posible que la disminuya una vez que su afección esté bajo control.[34] Este fármaco ayuda a controlar la enfermedad, pero no la cura ya que

existen muchas desventajas asociadas en el empleo y liberación de dicho fármaco, esto se distribuye en el organismo según sus propiedades físicas, tales como la solubilidad, coeficiente de partición y carga. En consecuencia este fármaco[35] puede alcanzar gran variedad de sitios en los cuales puede que se encuentren fuera de su intervalo terapéutico, que sea inactivo, o que su acción sea indeseada o nociva, y por tanto, con efectos secundarios negativos.[36]

La dosis óptima recomendada es de 6 a 12 mg/día de haloperidol o su equivalente en los otros fármacos.

La concentración máxima de haloperidol tras su administración por vía oral se alcanza de 2-6 horas, siendo la concentración terapéutica de haloperidol de 5 a 20 g/l. Después de la administración por vía oral el haloperidol sufre un metabolismo de primer paso del 40%. La principal vía de metabolismo implica una N-desalquilación oxidativa que produce metabolitos piperidínicos y el ácido 4-fluorobenzoilpropiónico.[37] El fármaco haloperidol también presenta un metabolismo reversible a haloperidol reducido que es menos activo, con una actividad aproximadamente del 25% con respecto a la del producto original[37]. La depuración del haloperidol reducido es similar al del haloperidol (11,8 ± 2,9 ml/min/kg) aunque el volumen de distribución y la semivida de eliminación (67 ± 51 horas) son superiores a las del haloperidol, por lo que la semivida de eliminación plasmática de haloperidol incrementa con la administración de dosis repetidas (de 3 a 10 días). La unión a proteínas de haloperidol es del 92%. Haloperidol se excreta fundamentalmente por vía renal (45%), en las heces (15%) y una pequeña cantidad por vía biliar. Menos del 1% de haloperidol inalterado se elimina por vía renal. La semivida de eliminación plasmática de haloperidol oscila ente 10-38 horas. [38]

Actualmente existen dos métodos para mejorar la acción de los fármacos, en la siguiente imagen se ilustran con mas precisión.

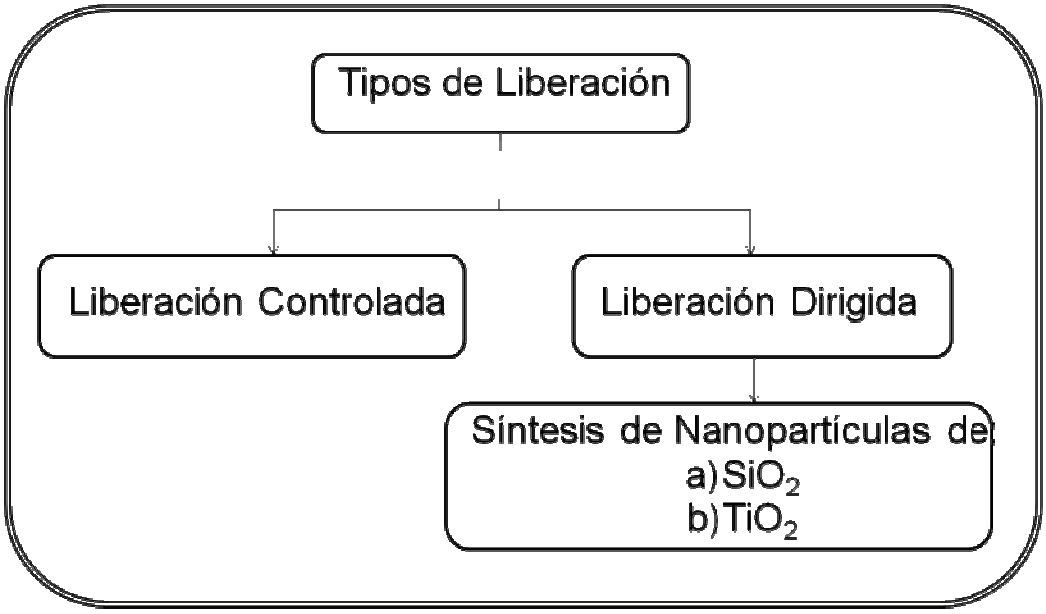



**Imagen 7.-** Tipos de liberación de fármacos.

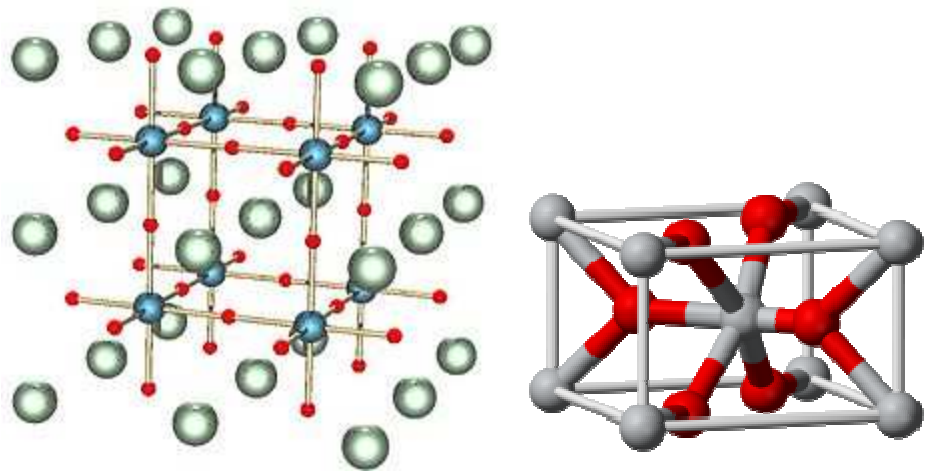
a) *Liberación controlada*, [39] que trata de eliminar o reducir los efectos secundarios produciendo una concentración terapéutica del fármaco que sea estable en el organismo. Se trata de alcanzar una cinética de liberación de orden cero y no suelen existir cambios en la concentración del fármaco en el organismo (comparándolo con los cambios intermitentes de concentración en las dosificaciones convencionales),

b) *Liberación dirigida hacia lugares específicos,* que trata de asegurar que el fármaco es liberado en el lugar requerido, y al mismo tiempo mantiene el fármaco inactivo en cualquier otro lugar del organismo.[40]

### 2.2.2.- Sol-gel

Hoy en día óxido de titanio ha llamado la gran atención de muchos científicos debido a sus múltiples usos en fotocatálisis, células solares, síntesis para liberación de fármacos entre otros.[41-43]

Varias estrategias sintéticas han sido establecidas para producir nanoestructuras de $TiO_2$ usando el tratamiento de sol-gel ya que este proceso permite la fabricación de materiales amorfos y policristalinos con características especiales en su composición y propiedades. Su utilidad radica en que necesita menor temperatura en comparación con los métodos tradicionales de fabricación de vidrios por fusión.[44]



**Esquema 3.** Estructura química del $TiO_2$

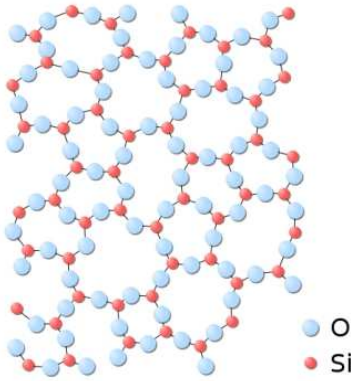
El sol-gel es una ruta química que inicia con la síntesis de una suspensión coloidal de partículas sólidas o cúmulos en un líquido (sol) y la hidrólisis y condensación de éste sol para formar un material sólido lleno de solvente (gel).[44] Se basa en una mezcla de reactivos líquidos a nivel molecular, la cual permite obtener materiales incluso a

temperatura ambiente contaminados con iones de tierra rara ó colorante orgánico, nanopartículas, etc.

En las matrices sol-gel basadas en $TiO_2$-$SiO_2$, se ha reportado la obtención de fases cristalinas de $TiO_2$ a concentraciones altas del precursor de titanio y con temperaturas altas de secado – densificado. Esto favorece la separación de fases del $TiO_2$-$SiO_2$ y la cristalización del $TiO_2$.[45] La *anatasa* y el *rutilo* son las fases cristalinas del $TiO_2$ obtenidas con tratamientos térmicos de los materiales con bajas y altas temperaturas, respectivamente. La anatasa se puede obtener para el caso de materiales sol-gel de titanio puro, con temperaturas del orden de los 350-400°C; mientras que el rutilo comienza a generarse a partir de los 600°C.[46,47] El óxido de titanio ($TiO_2$) es un compuesto de gran interés tecnológico, presenta cuatro fases cristalinas: rutilo (estructura tetragonal), anatasa (estructura octaédrica), brookita (estructura ortorrómbica) y una de alta presión tipo $PbO_2$.[48] El polvo cerámico de dióxido de titano puede ser obtenido utilizando métodos como: Sol-Gel,[49] Hidroterma Precipitación Controlada[50] y el denominado Precursor Polimérico (Pechini), entre otros.

El empleo de depósitos nanostructurados para la medicina ha sido enfocado principalmente al tratamiento neurodegenerativo, enfermedades como epilepsia o tumores de cáncer y esquizofrenia. [51]

El $SiO_2$ es un compuesto de silicio y oxígeno, llamado comúnmente sílice. Es uno de los componentes de la arena. Una de las formas en que aparece naturalmente es el cuarzo.




**Esquema 4.** Estructura química del $SiO_2$

Este compuesto ordenado espacialmente en una red tridimensional (cristalizado) forma el cuarzo y todas sus variedades. Si se encuentra en estado amorfo constituye el ópalo, que suele incluir un porcentaje elevado de agua, y el sílex. El $SiO_2$ se usa, entre otras cosas, para hacer vidrio artificial, cerámicas y cemento.

El gel de sílice es un desecante, es decir que quita la humedad del lugar en que se encuentra.[52]

## 2.3.- Fluorescencia

La microscopía de fluorescencia se basa en los mismos principios de óptica de la microscopía común, con diferencias en el manejo y el diseño relacionadas con la generación y transmisión de longitudes de onda adecuadas a los fluorocromos que se quieren visualizar,[53] ya sean propios de la muestra o de la coloración utilizada. El fundamento de la técnica radica en la capacidad que muestran algunos elementos o compuestos fluorescentes, denominados fluorocromos, en fijarse a los anticuerpos mediante un enlace químico estable que no puede romperse durante el curso de la reacción inmunológica. El fenómeno de fotoluminiscencia ocurre cuando una especie química es excitada por medio de radiación electromagnética y como consecuencia la especie pierde la energía adquirida reemitiendo esta en forma parcial o total.[54] Esto es, parte de la energía adquirida por la especie química se reemite en forma de choques moleculares y parte en forma de energía luminosa o el total de la energía adquirida se remite en forma de radiación.

**Imagen 8**. Espectrofotómetro RF-5301PC Shimadzu

La fluorescencia y la fosforescencia son dos manifestaciones diferentes del fenómeno fotoluminiscente.[54] Estos dos efectos difieren entre sí en el mecanismo a través del cual son producidos, además del tiempo de duración de la fotoluminiscencia una vez que ha cesado de excitarse la muestra con radiación electromagnética. La fluorescencia cesa casi inmediatamente después de que a la muestra se le suspende la radiación de 6-10 segundos., mientras que la fosforescencia puede durar varios segundos o minutos en iguales circunstancias.[54] La fluorescencia no está restringida

a un estado físico determinado de la materia, esta puede existir en: gases, sólidos o líquidos.

Uno de los aspectos más atractivos de la luminiscencia es su sensibilidad inherente, con límites de detección que son a menudo tres órdenes de magnitud más pequeños que los encontrados en espectroscopia de absorción. Los límites de detección típicos son el orden de partes por billón.[55]

### 2.3.1.-Estados Excitados

Cuando se forma un enlace entre dos átomos en una molécula, los orbitales atómicos de cada uno de los átomos que forman el enlace generan dos orbitales: uno enlazante de baja energía y otro antienlazante de energía mucho mayor.[55-57] Cuando la molécula no está excitada, los electrones que forman un enlace específico se encuentran ocupando los orbitales enlazantes, debido a que estos son de energía menor y por lo tanto de esta manera la molécula es más estable. Asociados a cada nivel electrónico se encuentran diferentes niveles vibracionales, por lo que cuando una molécula es irradiada con energía de cierta frecuencia o longitud de onda esta puede pasar a diferentes niveles vibracionales de alguno de los estados excitados.[56]

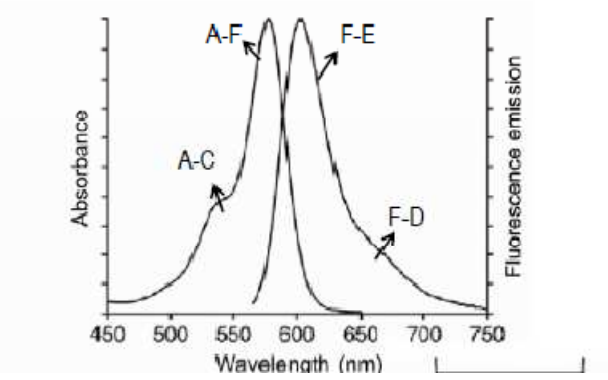
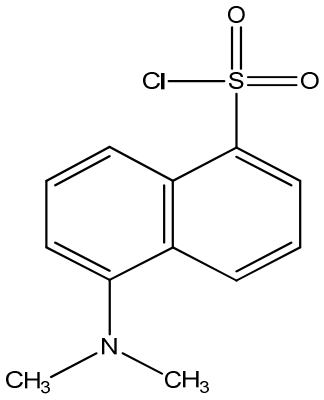



**Imagen 9.-** Espectro de Fluorescencia.

### 2.3.2.- Fluoroforo cloruro de dansilo.

Se encuentran diversos ejemplos de fluorocromos naturales, como algunas vitaminas, esteroides, porfirinas, etc. Otros compuestos que fluorescen –rodamina, auramina, fluoresceína, colorantes de acridina– se utilizan en distintas técnicas de tinción, como la tinción de microorganismos ácido-resistentes con auraminarodamina en muestras de tejido y esputo.[58] El cloruro de Dansilo (cloruro de 5-N,N-dimetilamino-naftalen-1-sulfonilo) es un reactivo de derivatización fluorogénico bien conocido para la determinación de aminas primarias y secundarias.[59]

Para el cloruro de dansilo, hay una variedad de valores de los coeficientes de extinción que han sido reportados. Algunos de los valores se utilizan para calcular el grado de éxito en los intentos para conjugar el colorante a una proteína. Otros valores pueden ser utilizados para determinar una concentración precisa de una solución madre. El esquema siguiente representa la formula química para el fluoroforo cloruro de Dansilo, también se hace referencia en la tabla 2 sobre sus propiedades quimicas.[57-61]




**Esquema 5**. Estructura química del cloruro de dansilo

| Datos Químicos | |
|---|---|
| Formula | $C_{12}H1_2CINO_2S$ |
| Masa Molar | 269.75g/mol |
| Punto de Fusión | 70°C, 343 K, 158°F |

**Tabla 2**. Propiedades químicas del cloruro de Dansilo comercialmente.

# Capítulo III

## Objetivos

## III.- OBJETIVOS

### 3.1.- Objetivo General:

Síntesis, marcaje estructural, y estudios de liberación de haloperidol de reservorios nanoestructurados utilizados en el tratamiento contra la esquizofrenia. Los reservorios nanoestructurados serán de $SiO_2$ y $TiO_2$, al cual se le ocluirán el medicamento haloperidol. Los estudios de liberación serán monitoreados por medio de la técnica de fluorescencia, la sonda fluorescente que será utilizada será el cloruro de dansilo.

### 3.2.- Objetivos Específicos:

**1.-** Síntesis de las nanopartículas $SiO_2$, $TiO_2$ y oclusión del fármaco.

2.- Acoplamiento y optimización de la sonda fluorescente (cloruro de dansilo) al fármaco.

3.- Caracterización del medicamento marcado por medio de las técnica de fluorescencia, IR, RMN.

4.-Caracterización de los reservorios por medio de las técnicas FTIR, RMN, UV-Vis.

5.-Estudios de Liberación del fármaco por medio de fluorescencia y UV-Vis.

# Capítulo IV

## Experimental

## IV.- EXPERIMENTAL.

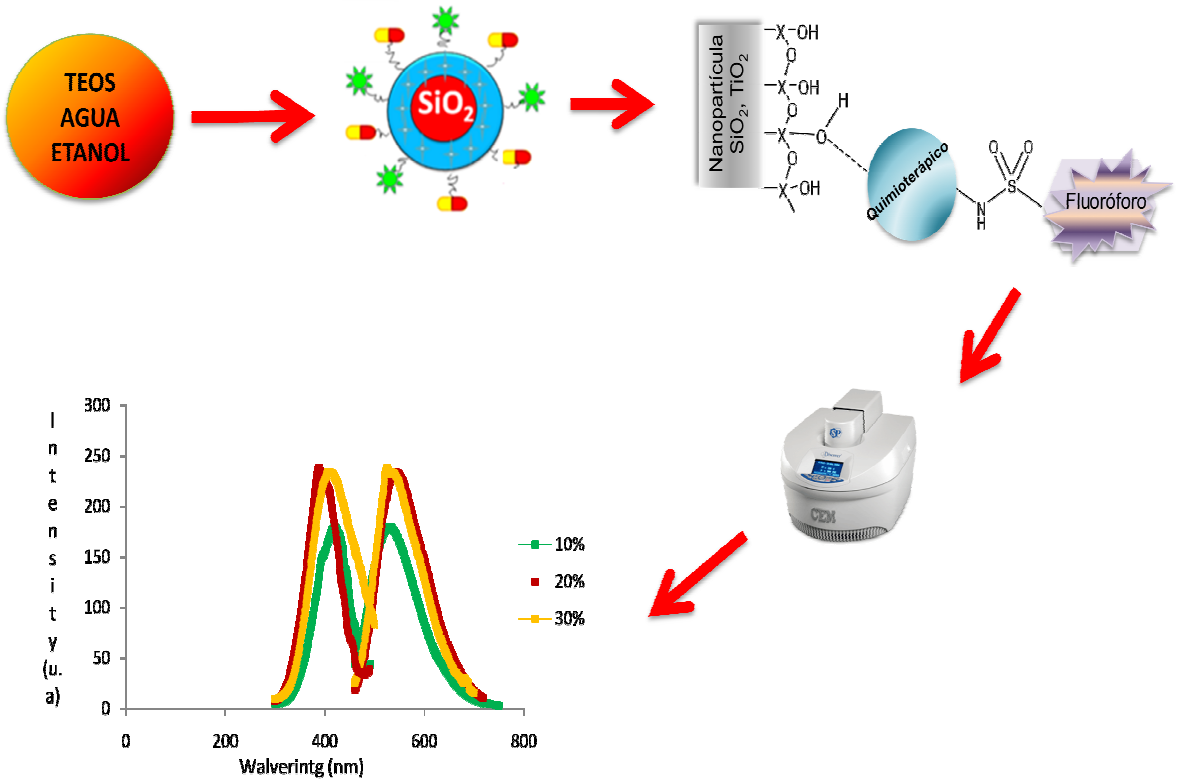
### 4.1.- Generalidades

Todos los reactivos fueron adquiridos en Aldrich Chemical Co. Los solventes fueron adquiridos en Productos Químicos Monterrey, fueron secados de acuerdo a los métodos usuales, así como almacenados y manipulados en atmosfera inerte. Los análisis espectroscópicos y espectrométricos se desarrollaron en las instalaciones de Centro de Investigación en Química Avanzada del Instituto Tecnológico de Tijuana. Fueron realizados y supervisados por la Dra. Karla Alejandra Espinoza Dueñas, el Dr. Ignacio A. Rivero Espejel y la Ing. Janeth Guadalupe Contreras Márquez. Los espectros de infrarrojo se realizaron en un espectrómetro Perkin-Elmer serie 1600, Perkin Elmer Spectrum One. Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de $^{13}C$, se llevaron a cabo a 200 y 125 MHz, utilizando cloroformo deuterado como disolvente en un espectrómetro de marca Varian, los estudios de fluorescencia se midieron en un Espectrofotómetro RF-5301 PC chimdzu, ubicados en el área de investigación del Instituto Tecnológico de Tijuana.

## 4.2. Ruta general para la Síntesis de Nanopartículas de $SiO_2$ y $TiO_2$.

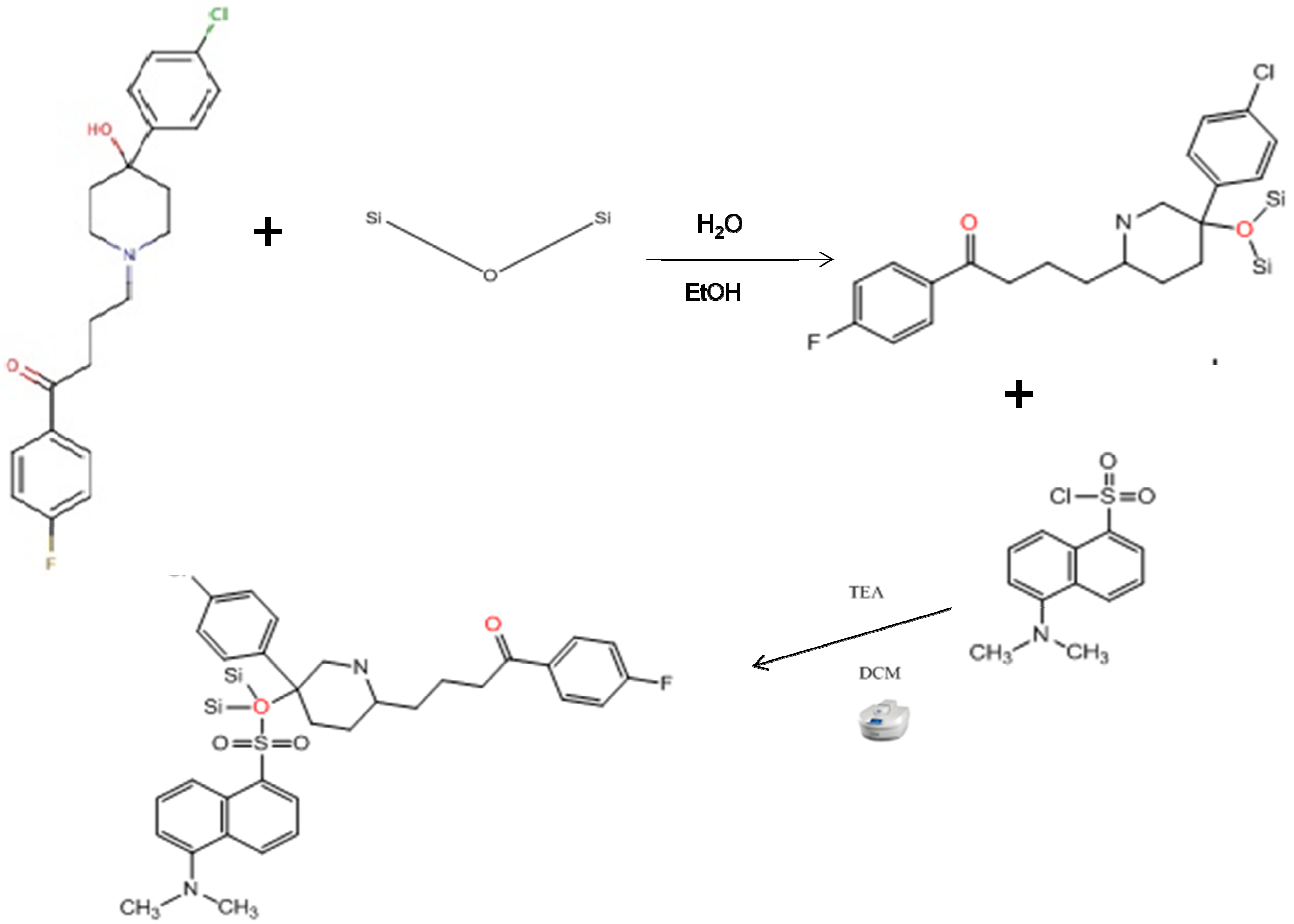
A continuación se presenta los esquemas generales de las síntesis de uno de los compuestos principales para la formación de nanopartículas y elaboración del presente proyecto, los esquemas presentan también la oclusión del fármaco las Nanopartículas de referencia partiendo de los solventes TEOS (23%, 117mol) y $H_2O$ para la formación de $SiO_2$ y $TiO_2$, posteriormente la oclusión del fármaco haloperidol utilizando el solvente EtOH y de nuevo $H_2O$, formando así las muestras principales del proyecto.

**Método general para la síntesis de Nanopartículas de Oxido de Sílice y Titanio de Referencia.**




**Esquema 6.** Proceso general Síntesis de nanopartículas de Referencia con el Fármaco Ocluido

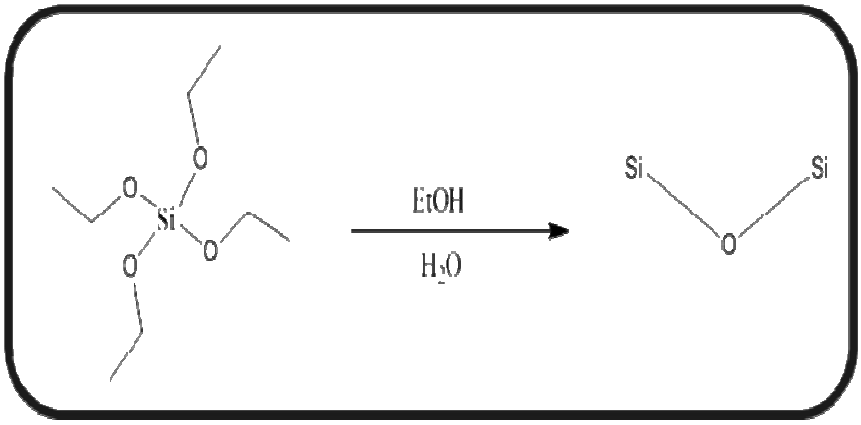
**Método general para la síntesis de Nanopartículas de Oxido de Sílice y Titanio de Referencia.**




**Esquema 7.** Proceso general Síntesis de nanopartículas de Referencia con el Fármaco Ocluido

### 4.2.1.- Método general para la síntesis de Nanopartículas de $SiO_2$ y $TiO_2$ de referencia.

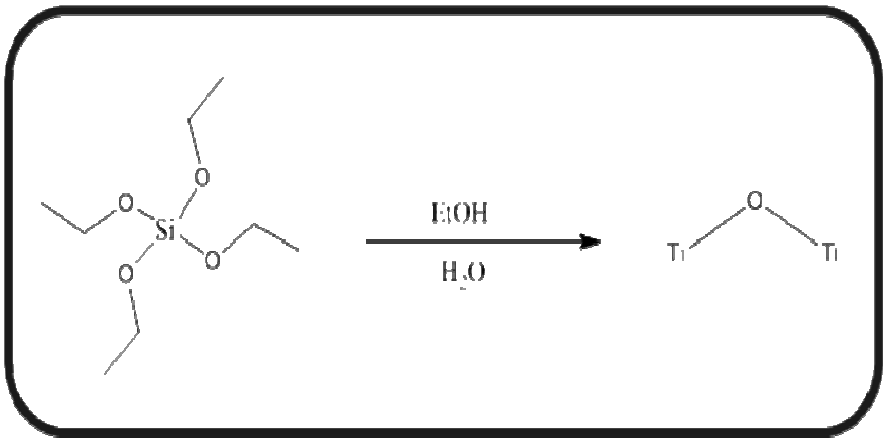
Para la síntesis de nanopartículas de referencia en un matraz tres bocas fueron colocados $H_2O$ (300 mL) y EtOH (150 mL), consecutivamente por medio de embudos de adición fueron añadidos GABA (5mg) (4.8%, y 4.8mmol) y TEOS (17 mL), $NH_4PO_3$ (35mg) (33%, y 3.3mmol) y acido fosfórico (10 mL), $(NH_4)_2SO_4$ (26 mg) (37.27%, y 3.727mmol) y $H_2SO_4$ (9 mL) anteriormente disueltos en agua (2 mL) cada uno, la reacción se mantuvo en agitación constante durante 24 horas, posteriormente el producto fue sometido a filtración por medio de una bomba de vacio, eso con el fin de remover el disolvente (**Esquemas 8 y 9**).




Sólido color blanco
**Rendimiento**: 80%
**Formula Molecular**: $SiO_2$
**Peso Molecular(g/mol):** 60.08

**Esquema 8.** Síntesis de nanopartículas de $SiO_2$ referencia

**IR (KBr):** (Si-1088), 3393 (O-H), 787, 2354 $cm^{-1}$



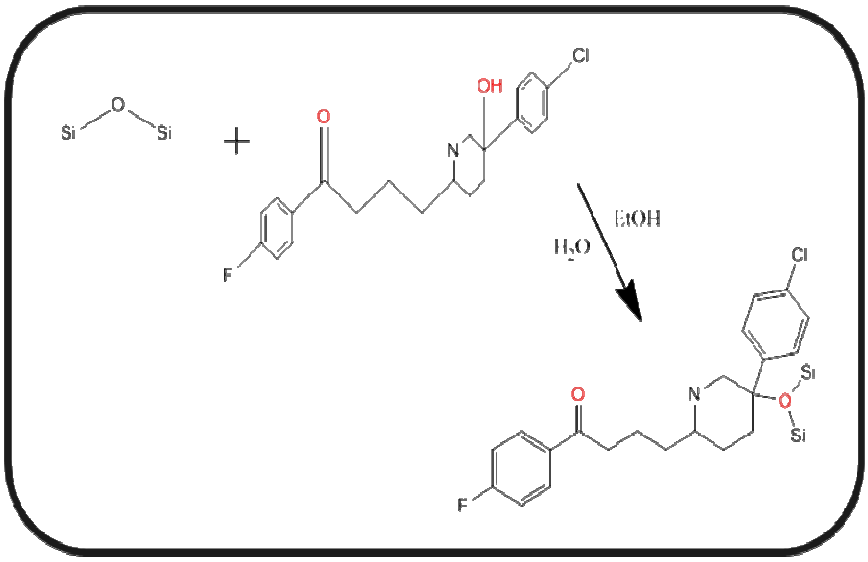

Sólido color blanco
**Rendimiento**: 87%
**Formula Molecular**: $TiO_2$
**Peso Molecular(g/mol):** 79.88

**Esquema 9.** Síntesis de nanopartículas de $TiO_2$ de referencia

**IR (KBr):** (Ti-1535), 2909 (O-H), $cm^{-1}$

### 4.2.2.- Método general para la síntesis de Nanopartículas de $SiO_2$ y $TiO_2$ con haloperidol ocluido.

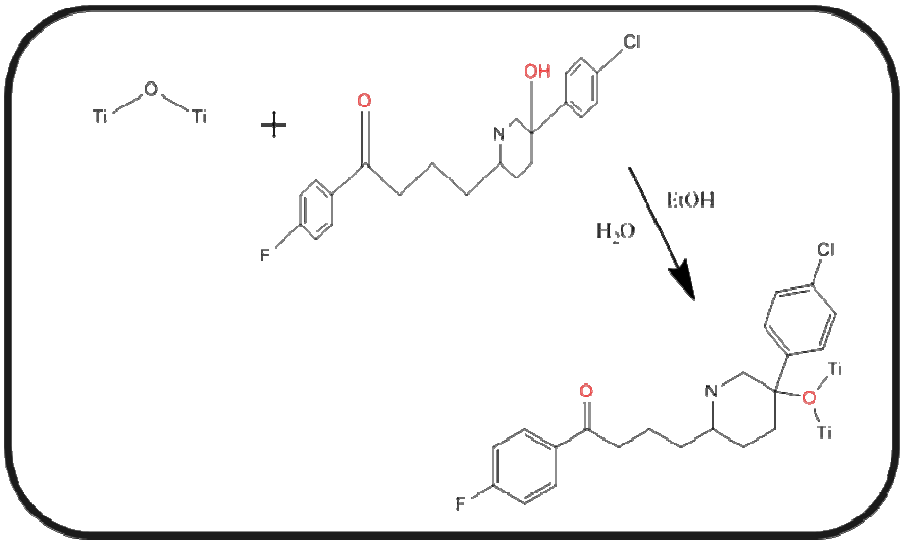
Para la síntesis de oclusión del fármaco haloperidol en un matraz bola de 250mL fueron colocados $H_2O$ (90 ml), EtOH (33 ml) y el fármaco haloperidol (45mg) (0.1197mmol) en agitación constante. Por medio de una bomba de adición fueron añadidos GABA (10 mg) (0.097mmol) el cual fue previamente disuelto en 2ml de agua y TEOS (3.7 ml). Una vez terminada la adición la reacción se continúo en agitación constante hasta evaporar los solventes y formar el material sol-gel (**Esquemas 10 y 11**). Todas las etapas de síntesis mencionadas se siguieron por cromatografía de capa fina (CCF); una vez purificados los compuestos se caracterizaron por la técnica de espectroscopia de infrarrojo.




Sólido color blanco
**Rendimiento**: 92%
**Peso Molecular(g/mol):** 435.08

**Esquema 10.** Síntesis de la oclusión del fármaco haloperidol a las nanopartículas de $SiO_2$.

**IR(KBr):** 1079 (Si-O), 3393 (O-H), 787, 2354 $cm^{-1}$




Sólido color blanco
**Rendimiento**: 90%
**Peso Molecular(g/mol):** 435.08

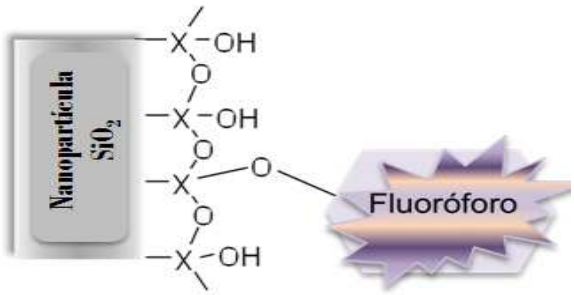
**Esquema 11.** Síntesis de nanopartículas de titanio con haloperidol ocluido

**IR (KBr):** 1535 (Ti-O), 2354 (O-H), 1110 $cm^{-1}$

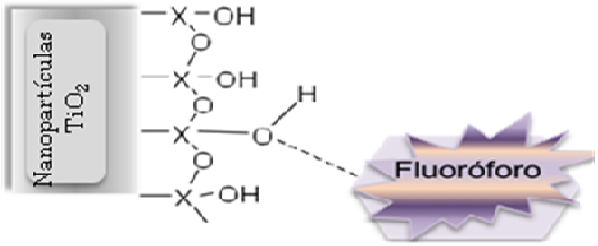
## 4.3.- MARCAJE FLUORESCENTE.

### 4.3.1.- Proceso general del marcaje fluorescente de las nanopartículas de oxido de sílice y titania de referencia por la técnica de ultrasonido.

Para el marcaje con la sonda fluorescente fueron preparadas tres muestras de $SiO_2$ y $TiO_2$ 50mg (73%, y 0.626mmol $TiO_2$) (1.78mmol $SiO_2$) de a diferentes concentración de cloruro de dansilo 10%, 20% y 30%, diluidas en 20ml de DCM, se dejaron por el tiempo de 1 hora en un baño ultrasónico, posteriormente el material fue secado por medio de vacio para retirarle el exceso de solvente (**Esquemas 12 y 13**). Todas las etapas del proceso fluorescente se siguieron por cromatografía de capa fina (CCF) y caracterizadas por espectroscopia de fluorescencia.



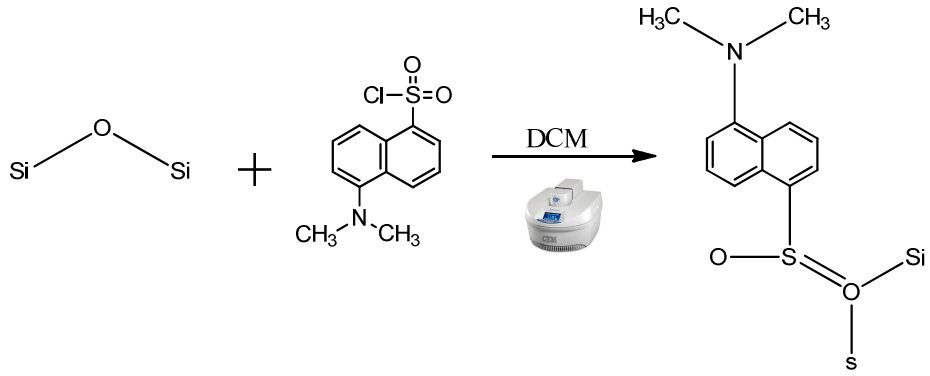

**Esquema 12.** Marcaje de nanopartículas de $SiO_2$ por el fluoroforo cloruro de dansilo.



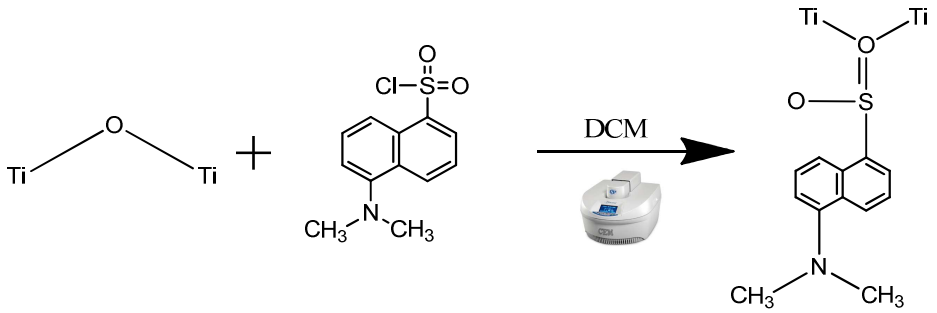

**Esquema 13.** Marcaje de nanopartículas de $TiO_2$ por el fluoróforo cloruro de dansilo

**4.3.2.- Proceso general del marcaje fluorescente de las nanopartículas de oxido de sílice y Titania de referencia por la técnica de Microondas.**

Fueron preparadas cuatro muestras de 10mg (0.16mmol) $SiO_2$ y $TiO_2$ (0.2089mmol) con 2mg (0.007mmol) de cloruro de dansilo en 5ml de tolueno, las cuales fueron puestas en microondas a las temperaturas de 50º C, 90ºC y 150º con un tiempo de 6 minutos cada una, posteriormente la mezcla de reacción fue extraída con DCM para remover el exceso de reactivo. Al solido le fue removido el exceso de solvente a presión reducida, obteniéndose un solido fluorescente (**Esquemas 14 y 15**).



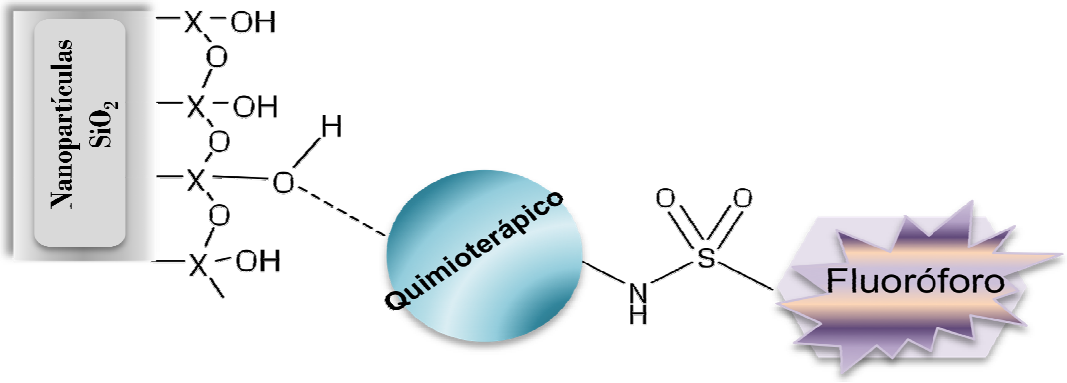

**Esquema 14.** Marcaje de nanopartículas de oxido de sílice por el fluoroforo cloruro de dansilo por medio de la técnica microondas. Pf: , IR(KBr): $u =$ 1079 (Si-O), 1630 (C=O), 3393 (O-H), 787, 2354 $cm^{-1}$



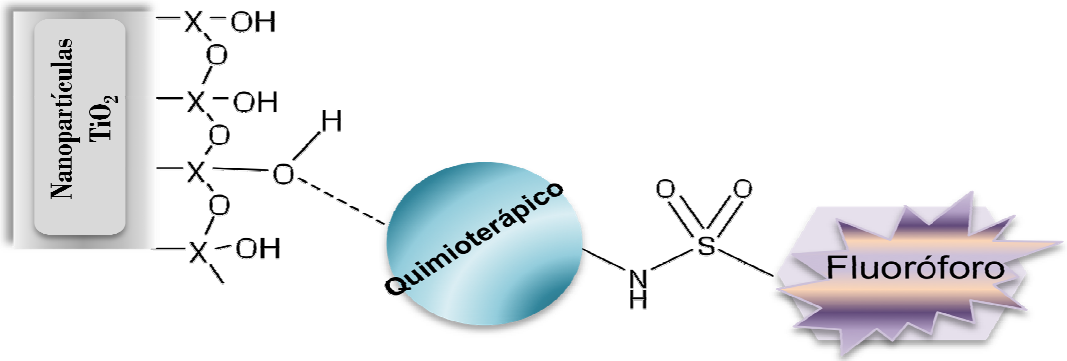

**Esquema 15.** Marcaje de nanopartículas de oxido de titanio por el fluoroforo cloruro de dansilo por medio de la técnica microondas. . Pf: , IR(KBr): $u =$ (Ti-1535), 1630 (C=O), 2909 (O-H), $cm^{-1}$

**4.3.3.- Proceso general del marcaje fluorescente de las nanopartículas de oxido de sílice y Titania de referencia por la técnica de Microondas con el fármaco ocluido.**

Se preparo una muestra 1g (mmol) de $TiO_2$ con haloperidol, se le agregaron 20mg (.0075mmol) de cloruro de dansilo, posteriormente fueron diluidas en 20ml de diclorometano, puestas en baño ultrasónico por el tiempo de una hora, filtradas y secadas por medio de vacio para retirarle todo el contenido de diclorometano y poder ser evaluadas en fluorescencia, obteniéndose un solido fluorescente, **(Esquemas 16 y 17**).



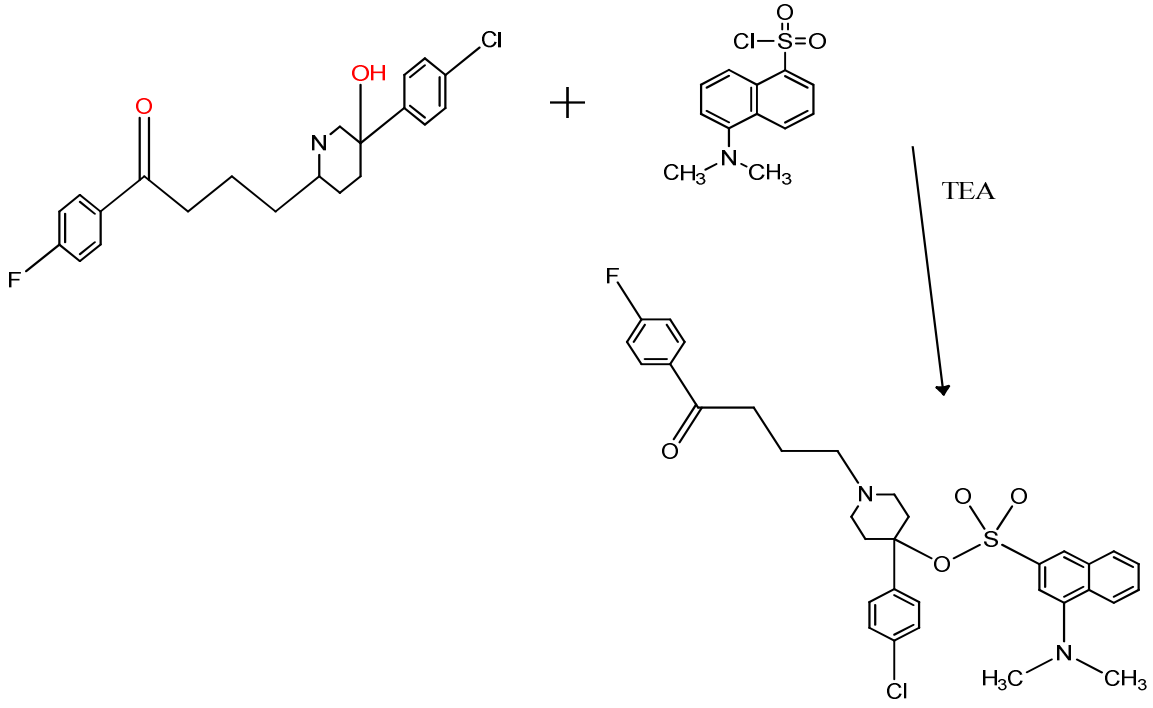

**Esquema 16.** Marcaje de nanopartículas de oxido de Sílice con haloperidol ocluido por medio de la técnica microondas.




**Esquema 17.** Marcaje de nanopartículas de oxido de titanio con haloperidol ocluido por medio de la técnica microondas.

### 4.3.4.- Proceso general del marcaje fluorescente del fármaco Haloperidol.

Para el proceso de la oclusión de la sonda fluorescente al fármaco fueron colocados en un matraz de fondo plano de 250 mL el fármaco haloperidol (150mg, 0.056mmol), posteriormente se le adicionaron 3 gotas de TEA y 5mL de DCM anhidro, la mezcla de reacción se coloco con agitación constante por 20 minutos en atmosfera inerte. Posteriormente se agrego una solución de cloruro de dansilo (90mg, .0024mmol) en 5 mL de DCM anhidro. La reacción se mantuvo en agitación constante por 24 horas. La mezcla de reacción fue extraída con DCM para remover el exceso de reactivo. Al sólido le fue removido el exceso de solvente a presión reducida, obteniéndose un sólido blanco (**Esquema 18**).. Pf:, IR(KBr): cm-1. H RMN (CDCl3); ppm. $^{13}$C RMN (200MHz, $CDC_{l3}$):




**Esquema 18.** Marcaje del fármaco haloperidol por el fluoróforo cloruro de dansilo

## 4.4.- PROCESO GENERAL PARA LOS ESTUDIOS DE LIBERACION.

### 4.4.1.- Proceso general de la Liberación en fluorescencia de las nanopartículas (referencia y fármaco ocluido).

Para llevar a cabo la liberación fue necesaria la formación de pastillas con las nanopartículas de referencia marcadas ($SiO_2$ y $TiO_2$) marcadas con la sonda fluorescente cloruro de dansilo, la cual consistió en pesar 50mg de las nanopartículas, posteriormente en una prensa se les dio la forma de pastilla.

Las pastillas fueron puestas en un papel filtro, el cual fue sellado para no permitir el paso del líquido. La pastilla en el filtro fue colocada a un matraz erlenmeyer de 100ml con agua destilada y monitoreada durante una semana con tiempos de una hora en un Espectrofotómetro RF-5301 PC.

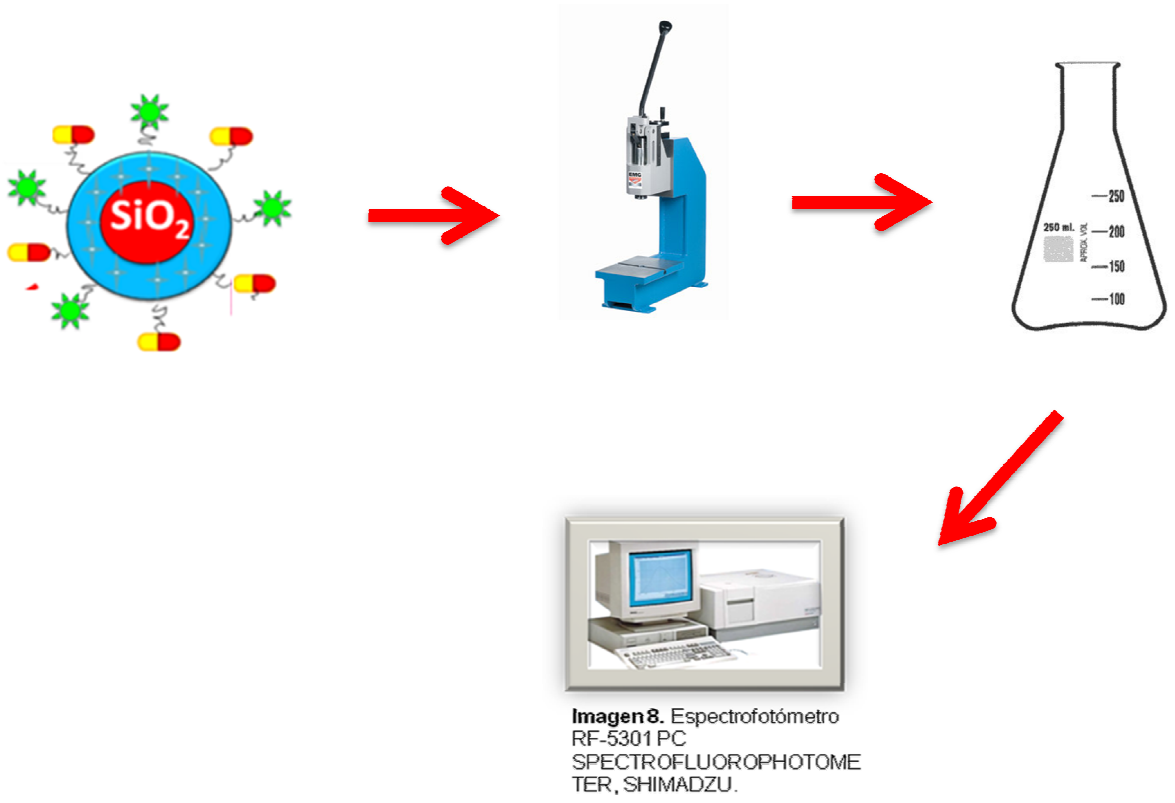



**Imagen 8.** Espectrofotómetro RF-5301 PC SPECTROFLUOROPHOTOMETER, SHIMADZU.

**Esquema 19.** Proceso de liberación de las nanopartículas en fluorescencia

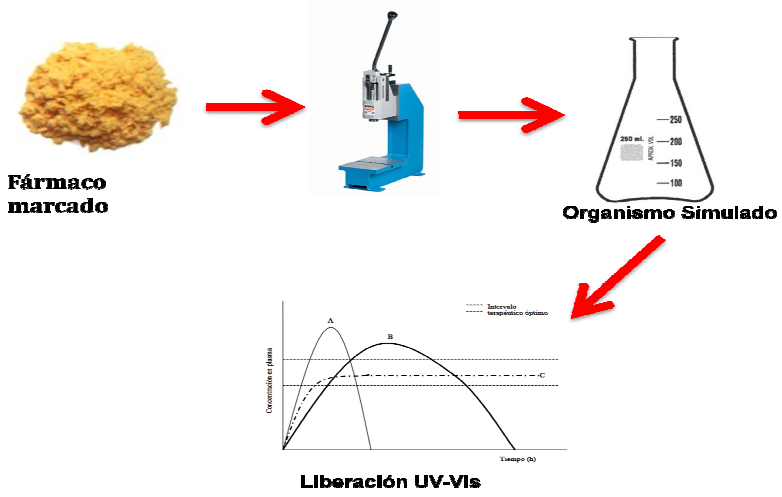
### 4.4.2.- Proceso general para la curva de calibración para la liberación del fármaco.

Para la curva de calibración fueron disueltos 10mg del fármaco haloperidol en un litro de agua, se le adicionaron tres gotas de EtOH para disolver completamente el fármaco y así obtener una solución madre. Se realizaron una serie de 5 disoluciones con su respectiva cantidad solvente en un volumen de 100ml. Las lecturas de las distintas concentraciones corrieron en un espectrofotómetro UV VISIBLE 50 SCAN,

### 4.4.3.- Proceso Liberación en monitoreado por espectroscopia ultravioleta del fármaco haloperidol

Para llevar a cabo la liberación fue necesaria la formación de una pastilla del fármaco marcado con la sonda fluorescente cloruro de dansilo, la cual consistió en pesar 50mg del fármaco marcardo, posteriormente en una prensa se les dio la forma de pastilla.

La pastilla fue disuelta totalmente en 100mL de $H_2O$ y monitoreada por una semana en intermedio de dos horas.




**Esquema 20.** Proceso de liberación del fármaco haloperidol en espectroscopia UV-Vis.

# Capítulo V

## Resultados y Discusión

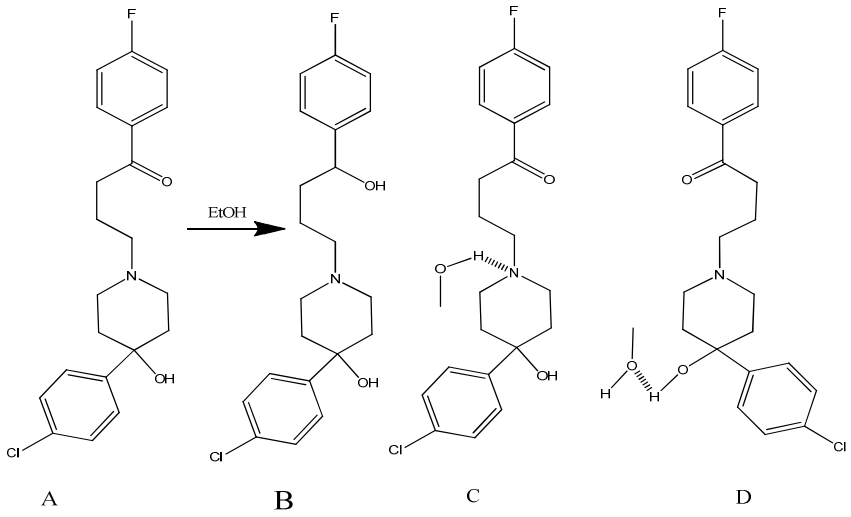
# V.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## 5.1.- Generalidades

En este trabajo se presentan los resultados de la síntesis de nanopartículas de $SiO_2$ y $TiO_2$ (**Esquemas 7- 12**). Se presenta también el material marcado por la sonda fluorescente (**Esquemas 12 y 13)** y medida en espectroscopia de fluorescencia por un Espectrofotómetro RF-5301 PC, ubicado en el área de investigación del Instituto Tecnológico de Tijuana.

## 5.2.- Interacción del fármaco haloperidol con grupos OH

Con el objetivo de hacer un estudio más completo entre el mecanismo de interacción de los grupos funcionales OH de la matriz $SiO_2$ y el fármaco haloperidol se decidió realizar el siguiente experimento:




**Esquema 21**. a) Estructura del Haloperidol b) Posibles Estructuras de los complejos formados por el Haloperidol y el EtOH

Las posibles estructuras de la matriz y los grupos funcionales se llevaron a cabo colocando en un tubo de RMN 20mg de Haloperidol disueltos en 1 mL de cloroformo deuterado, se obtuvo el espectro de RMN del material puro y después se adicionaron 40 microlitros de EtOH y obtuvo el espectro de $^{13}C$ RMN.

**Cálculos teóricos.** Con los estudios de RMN se efectúan cálculos para establecer el de menor energía y su interacción con $SiO_2$ y $TiO_2$, para saber cuál es el más favorable entre los dos.

Al adicionar las bases con las que se realizaron los cálculos y el programa que se utilizo para realizar la optimización de energía de las estructuras.

En la ***imagen 10*** se observan las dos estructuras de mínima energía del fármaco, la estructura de menor energía fue utilizada para calcular la las interacciones con la sílice y la titania en su forma amorfa.

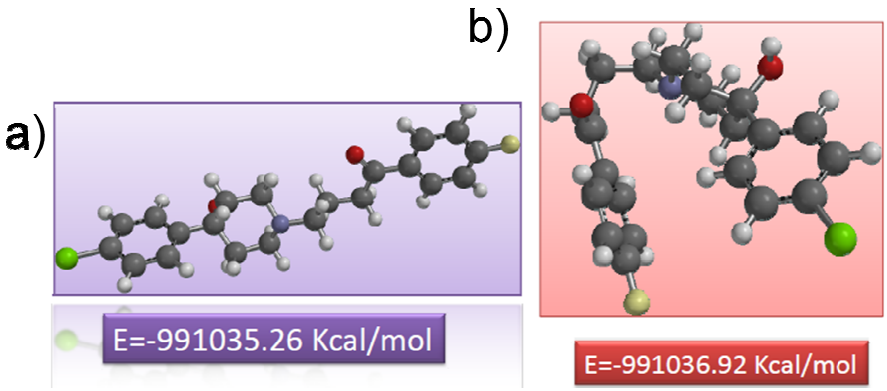



**Imagen 10.** Forma amorfa del Fármaco Haloperidol.

En la ***imagen 11*** se muestran los resultados de las interacciones del fármaco puro con las moléculas de sílice y la titania en unidades de Kj utilizando la conversión de Kcal=4186kJ, estos cálculos fueron realizados por la interacción dipolo-dipolo inducido a la distancia de contacto. Para ello considerararon ambas moléculas como esferas con diámetros rígidos de 3.08 Å para la sílice y la titania y 2.76 Å para el agua. Si la polarizabilidad del agua es de un volumen de y los potenciales de ionización del agua y el fármaco son respectivamente 12.6 y 15.8 eV. Sus interacciones fueron las siguientes:

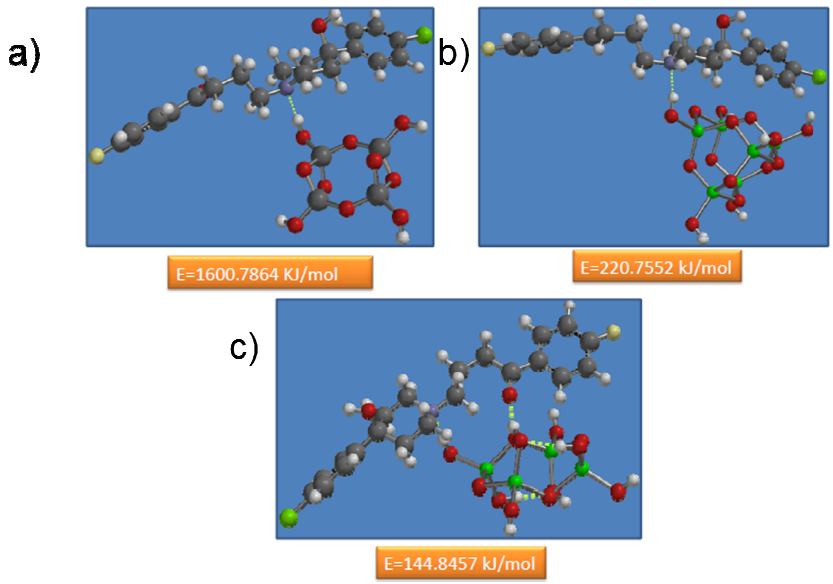



**Imagen 11.- a**) Estructura de energía del fármaco con las posibles interacciones b) interacción con la titania c) interacción con sílice

En los espectros de $SiO_2$ y $TiO_2$, no se observa la aparición de las señales por lo que es necesario rehacer la síntesis de los materiales y hacer los espectros de IR.

En el espectro de $^{13}C$ (**figura 1)** del haloperidol puro contra el espectro del haloperidol interactuando con el EtOH, se pueden observar 3 cambios muy marcados en los desplazamientos de los carbonos los cuales indican la interacción de los grupos OH del metanol sobre el carbonilo efectuando un equilibrio teórico con la estructura inicial, la segunda interacción se efectúa entre el grupo OH del MeOH y el grupo amino de la piperidina por medio de un puente de hidrogeno y finalmente la ultima interacción de tipo puente de hidrogeno, se efectúa entre los grupos OH del MeOH y del Haloperidol.

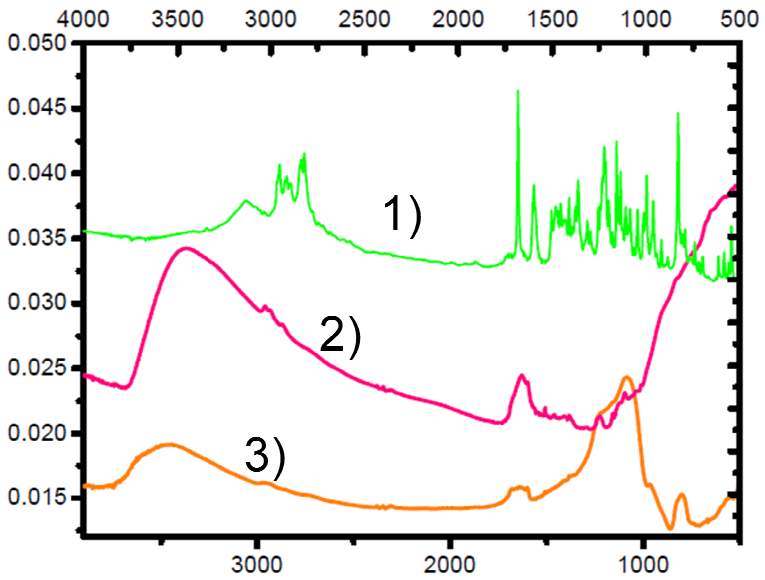
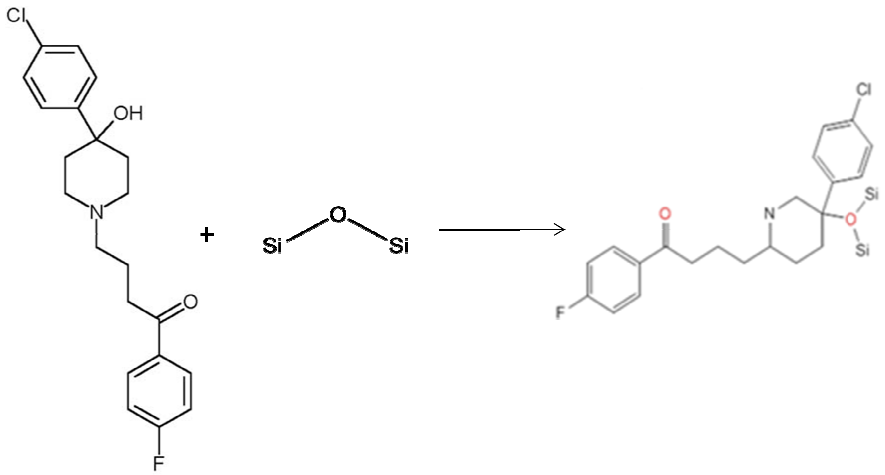



**Figura 1.-** Espectro IR de Nanopartículas de $SiO_2$ y $TiO_2$. 1) Interacción de los grupos OH del metanol sobre el carbonilo 2) interacción del grupo OH del MeOH y el grupo amino de la piperidina por medio de un puente de hidrogeno 3) interacción de los grupos OH del MeOH y del Haloperidol.

## 5.3.- Síntesis de nanopartículas de referencia $SiO_2$ y $TiO_2$

En este trabajo se presenta la síntesis realizada a las nanopartículas de referencia anteriormente mencionadas en los **Esquemas 10 y 11**. El método consiste en el uso del solvente TEOS y $H_2O$ como material de partida, obteniéndose el sistema de nanopartículas de referencia $SiO_2$ y $TiO_2$ correspondientes. Posteriormente, se efectúa la reacción de oclusión del fármaco haloperidol a las nanopartículas de referencia como obtener el material ocluido.

El material de referencia es, como se ha visto en los antecedentes de este trabajo, un importante material de partida para la preparación de los compuestos de liberación. Por ello, el primer objetivo que fue planteado en nuestro grupo de trabajo fue la preparación del material de referencia $SiO_2$ y $TiO_2$.




**Esquema 22**. Síntesis de nanopartículas de referencia con fármaco ocluido.

De esta forma, cuando se hicieron reaccionar las nanopartículas con el fármaco haloperidol para la síntesis de los compuestos ocluidos durante 24 horas, se obtuvieron las correspondientes nanopartículas de referencia con haloperidol ocluido con un rendimiento del 92%.

### 5.4.- Marcaje Fluorescente

#### 5.4.1.- Generalidades

Las figuras y tablas que a continuación se presentan reflejan el resultado del marcaje a las nanopartículas de $SiO_2$ y $TiO_2$ referencia, a las nanopartículas con el fármaco ocluido, además del marcaje del fármaco puro. Los resultados que se mencionan fueron obtenidos utilizando dos técnicas y concentraciones diferentes (**Esquemas 11-17)** para el marcaje, se mencionaran comparativos entre ellas y se ejemplificaran en tablas (**Tabla 4, Tabla 5 y Tabla 6**).

#### 5.4.2.- Nanopartículas de $SiO_2$ de referencia.

En este tema se abordaran los resultados del marcaje a las nanopartículas de $SiO_2$ de referencia iniciando por las técnicas de baño ultrasónico y microondas, las cuales a continuación se mencionan.

##### 5.4.2.1- Técnicas de baño ultrasónico (adsorbido) y microondas.

La ***figura 2*** muestra un comparativo del marcaje a las nanopartículas de $SiO_2$ de referencia por las técnicas de microondas y la técnica de baño ultrasónico (adsorbido), en los porcentajes de 10%, 20% y 30% de cloruro de Dansilo. La técnica de microondas presento las siguientes intensidades: (diez porciento 179u.a, veinte

porciento 232.443u.a, y treinta porciento obtuvo la intensidad de 238u.a) con una de emisión de 550nm y una en excitación de 475nm en todas las concentración. Estos resultados de emisión y excitación muestran que los porcentajes de 20 y 30% presentan mayor saturación en el marcaje sin dar grandes cambios entre ellos, mientras la técnica de baño ultrasónico mostro las intensidades de 68u.a, 71u.a y 72u.a respectivamente, las cuales pueden confundirse con ruido. Por lo tanto tomando en cuenta la diferencia entre sus intensidades se llega a la conclusión de que la técnica de microondas fue superior en resultados mostrando una intensidad fluorescente en todas las concentraciones y manteniendo su longitud de onda en absorción y emisión.

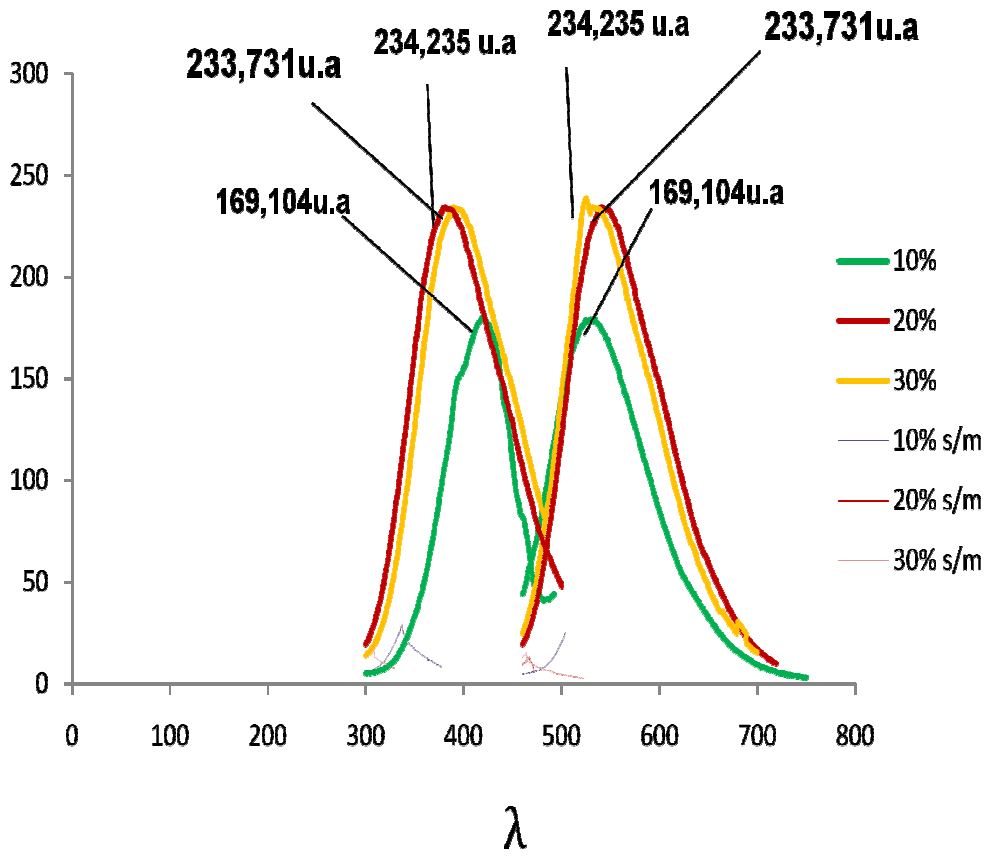



**Figura 2.** Espectros de fluorescencia por las técnicas de: a) ultrasonido, b)microondas.

La ***Tabla 3*** se observa las diferentes intensidades en emisión y excitación del marcaje a las nanopartículas de $SiO_2$ de referencia, con lo que se confirma que la concentración de 0.20 por la técnica microondas proporciona resultados favorables de intensidad fluorescente con una $\lambda max$ de emisión de 550nm y $\lambda max$ de excitación de 475nm.

**Tabla 3.** Comparativo de fluorescencia a las nanopartículas $SiO_2$ de referencia.

| **Fluorescencia de nanopartículas de $SiO_2$** | | | |
|---|---|---|---|
| Técnica Microondas | | Técnica Baño ultrasónico | |
| Concentración | Intensidades | Concentración | Intensidades |
| 10 | 182 | 10 | 50 |
| 20 | 237 | 20 | 75 |
| 30 | 233 | 30 | 79 |

Debido a que en los porcentajes vistos en los resultados anteriores **Tabla 3** eno mostraron cambios en cuanto a concentraciones, se llevo a la conclusión de que las nanopartículas se encontraban saturadas a dicha concentración, por lo tanto se tomo la decisión de llevar a cabo un nuevo análisis con nuevos porcentajes 5 y 15% dando margen a un cambio entre 5 y 10 o 10 y 15% ambos marcajes fueron sometidas a microondas a la temperatura de 400°C con una duración de 6 minutos.

La ***Figura 3*** muestra la intensidad fluorescente de las nuevas concentraciones, exponiendo intensidades de de emisión de 233.014u.a y 210.975u.a en las

concentraciones de 0.05 y 0.15 respectivamente con una emisión de 530nm y una de excitación de 450nm. Con los datos anteriores se determina que a concentraciones menores de 0.10 las intensidades no muestran cambios, siendo hasta la concentración 0.15 cuando se observa un ligero desplazamiento en la de emisión de 550nm y una excitación de 475nm, con lo que ser reafirma que la concentración mas eficiente de intensidad y es la de 0.20, siendo a esa concentración cuando los resultados vuelven a estabilizarse.

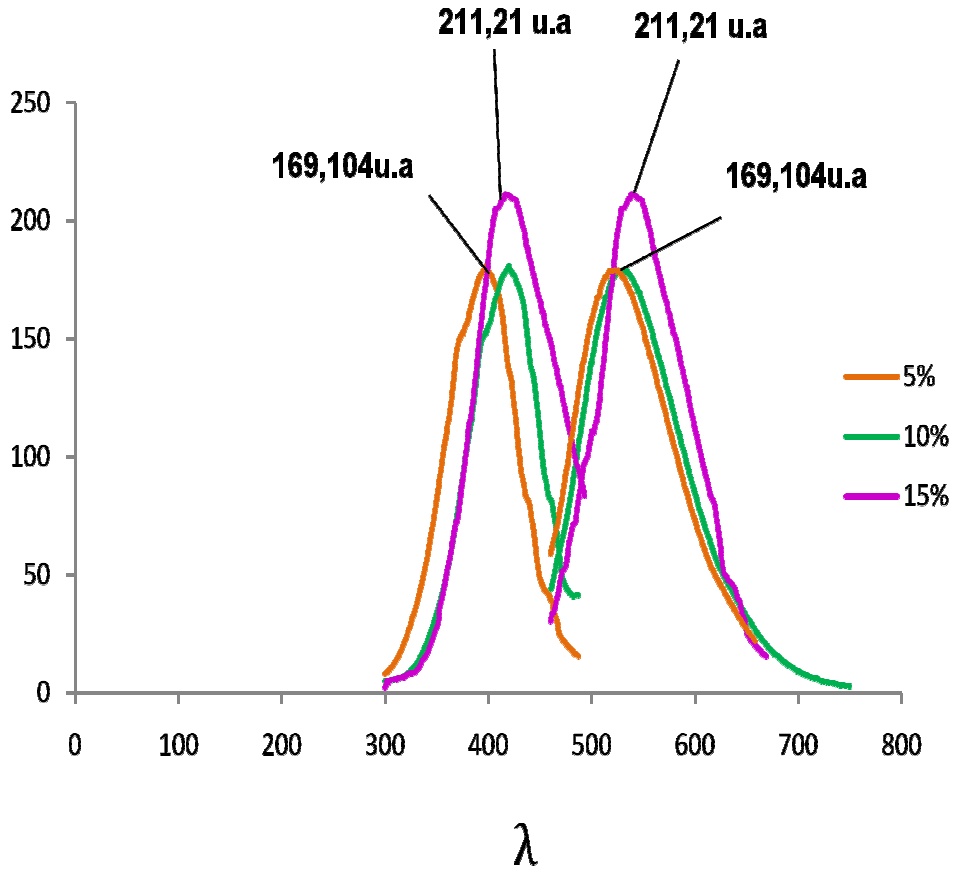



**Figura 3.** Espectro de florescencia de nanopartículas de oxido de sílice marcadas al 5 y 15% de cloruro de Dansilo.

En la ***Figura 4*** presenta los resultados obtenidos del marcaje a las nanopartículas de $SiO_2$ por medio de la técnica microondas tomando como mínimo en el porcentaje 5%

y máximo de 30%. Este espectro de emisión y excitación confirma que las concentración de 20% es la más satisfactoria ya que muestra un aumento considerable en la intensidad de fluorescencia la cual se estabiliza, con una de emisión de 550nm y una excitación de 475nm.

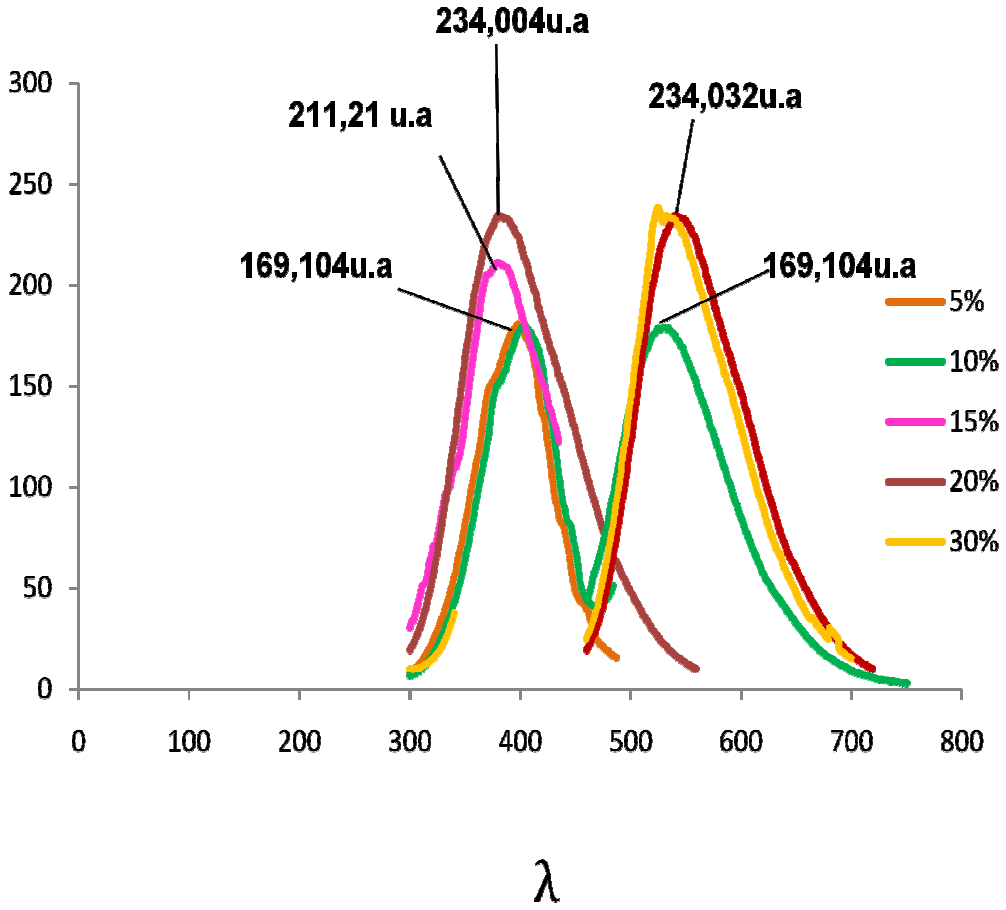



**Figura 4.** Espectro de fluorescencia del comparativo del total de los porcentajes de las nanopartículas de oxido de sílice marcadas con cloruro de Dansilo.

En la ***Tabla 4*** se resumen las señales de intensidad de onda de emisión entre las diferentes concentraciones del marcaje de nanopartículas con cloruro de Dansilo.

**Tabla 4.** Resultados de fluorescencia de la totalidad de diferentes concentraciones del marcaje a las nanopartículas de $SiO_2$.

| **Fluorescencia de nanopartículas $SiO_2$** | |
|---|---|
| Concentración | Intensidad (u.a = cm) |
| 5 | 178 |
| 10 | 182 |
| 15 | 211 |
| 20 | 237 |
| 30 | 233 |

### 5.4.2.2- Técnicas de Baño ultrasónico (adsorbido), Microondas y Oclusión.

La ***Figura 5*** refleja el resultado en el comparativo de las diferentes técnicas de marcaje a las nanopartículas de $SiO_2$ de referencia (técnicas de baño ultrasónico, microondas y sílice ocluido por microondas), se puede observar que la técnica de ultrasonido no se obtiene intensidad fluorescente, la técnica de sílice ocluido muestra una intensidad de 210u.a contra la técnica de microondas la cual mostro una intensidad de 234.004u.a llevándose a cabo a la concentración de 0.20, las tres técnicas mostraron una $\lambda max$ de emisión de 550nm y una $\lambda max$ de excitación de 475nm.

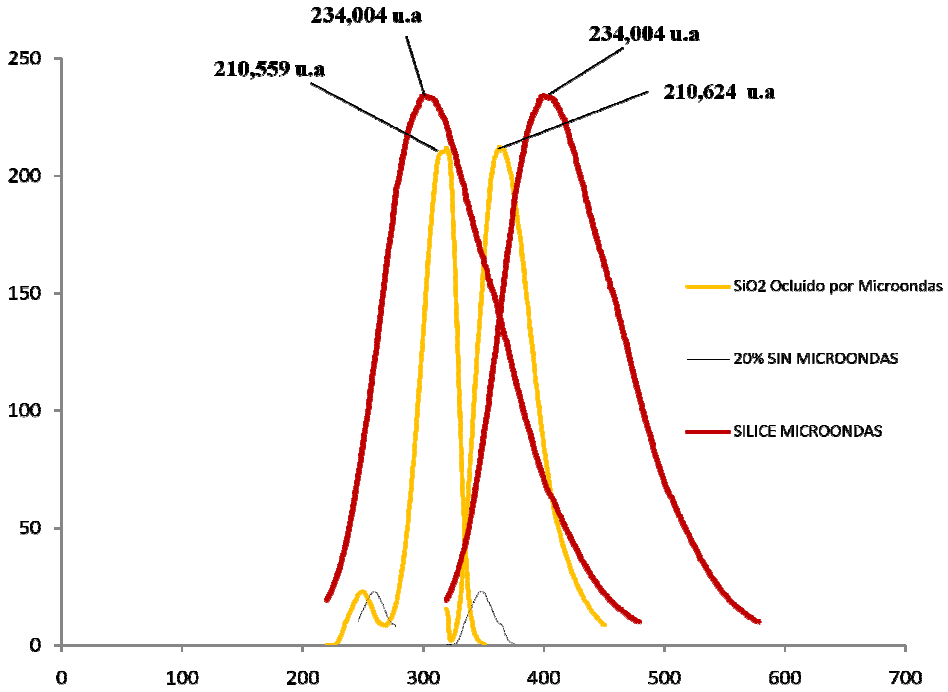



**Figura 5.** a) Marcaje fluorescente de nanopartículas de $SiO_2$ por la técnica de ultrasonido, b) técnica de microondas, c) técnica de oclusión en microondas

### 5.4.2.- Nanopartículas de $TiO_2$

A continuación se presentan los resultados obtenidos del marcaje a las nanopartículas de $TiO_2$ por las técnicas de baño ultrasónico (adsorbido) y microondas, así como las diferentes concentraciones utilizadas para cada una de las técnicas.

#### 5.4.1.1- Técnicas de baño ultrasónico (adsorbido) y microondas.

La ***Figura 6*** muestra un comparativo del marcaje a las nanopartículas de $TiO_2$ de referencia por las técnicas de microondas y la técnica de baño ultrasónico, en los porcentajes de 10%, 20% y 30% de cloruro de Dansilo, la cual presento las siguientes

intensidades: (diez porciento 788 u.a, veinte porciento 877 u.a, y treinta porciento obtuvo la intensidad de 878 u.a) con una de emisión de y una en excitación de 475nm en todas las concentración. Estos resultados de emisión 550nm y excitación muestran que los porcentajes de 20 y 30% presentan mayor saturación en el marcaje sin dar grandes cambios entre ellos, mientras la técnica de baño ultrasónico mostro las intensidades de 385u.a, 385u.a y 472u.a respectivamente, con una de emisión de 500 nm y una de excitación de 350 nm también en todas las concentraciones, estos resultados nos indican que la técnica de microondas proporciona resultados satisfactorios en las concentraciones de 20 y 30% al permanecer constantes en tanto de emisión como de excitación así como en su intensidad fluorescente.

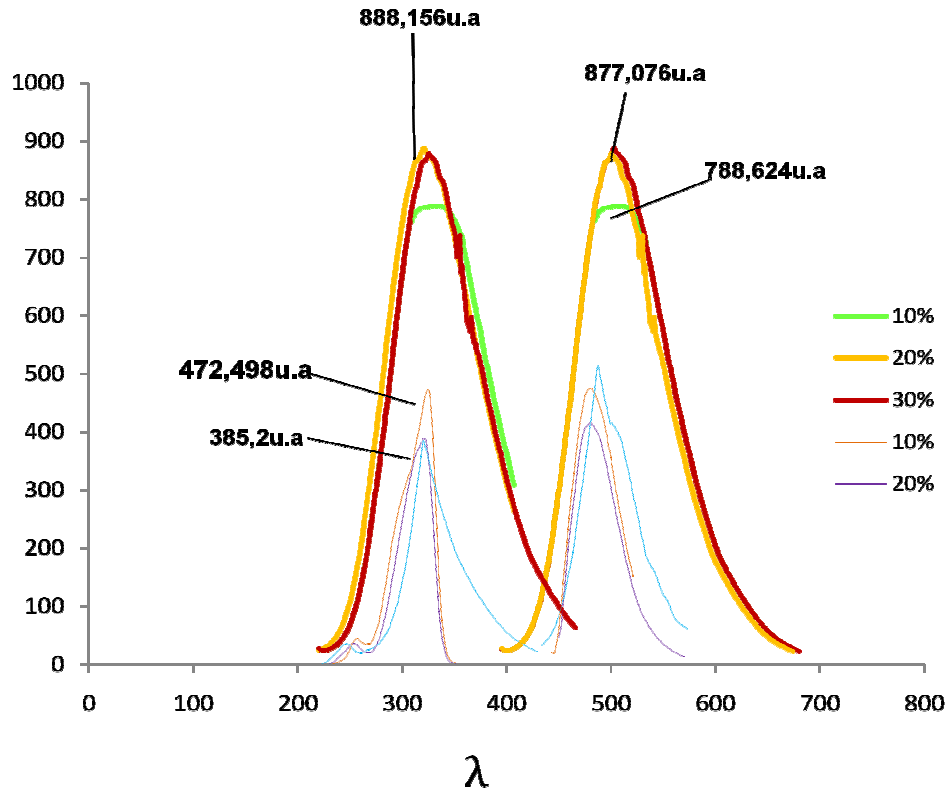



**Figura 6.** Marcaje fluorescente de nanopartículas de $TiO_2$ de referencia por las técnicas de: a) ultrasonido, b) microondas.

En la ***Tabla 5*** se resumen las señales mas importantes de las intensidades de emisión de la espectroscopia de fluorescencia para las nanopartículas de $TiO_2$ por las técnicas de microondas y baño ultrasónico.

Observándose que el porcentaje de 20 mantuvo valores de longitud de onda tanto en la técnica de microondas como en la de ultrasonido de una mayor intensidad fluorescente entre las nanopartículas.

**Tabla 5.** Resultados del comparativo entre las técnicas de microondas y la técnica de ultrasonido.

| **Fluorescencia de las nanopartículas de $TiO_2$** | | | |
|---|---|---|---|
| Técnica Microondas | | Técnica Baño Ultrasónico | |
| Concentración | Intensidad (u.a=cm) | Concentración | Intensidad (u.a=cm) |
| 10 | 788 | 10 | 473 |
| 20 | 888 | 20 | 389 |
| 30 | 879 | 30 | 385 |

La ***Figura 7*** refleja los resultados de la variación de intensidad fluorescente en nuevas concentraciones de marcaje a las nanopartículas de $TiO_2$ con la sonda fluorescente Cloruro de Dansilo en los porcentajes de 5% y 15%.

Se pueden ver las intensidades de: 688.156.u.a, y 869.636u.a respectivamente en los porcentajes, estos resultados representan la estabilidad en la intensidad en las

concentraciones de 0.10 y 0.15, confirmando que el resultado satisfactorio es a la concentración de 20%..

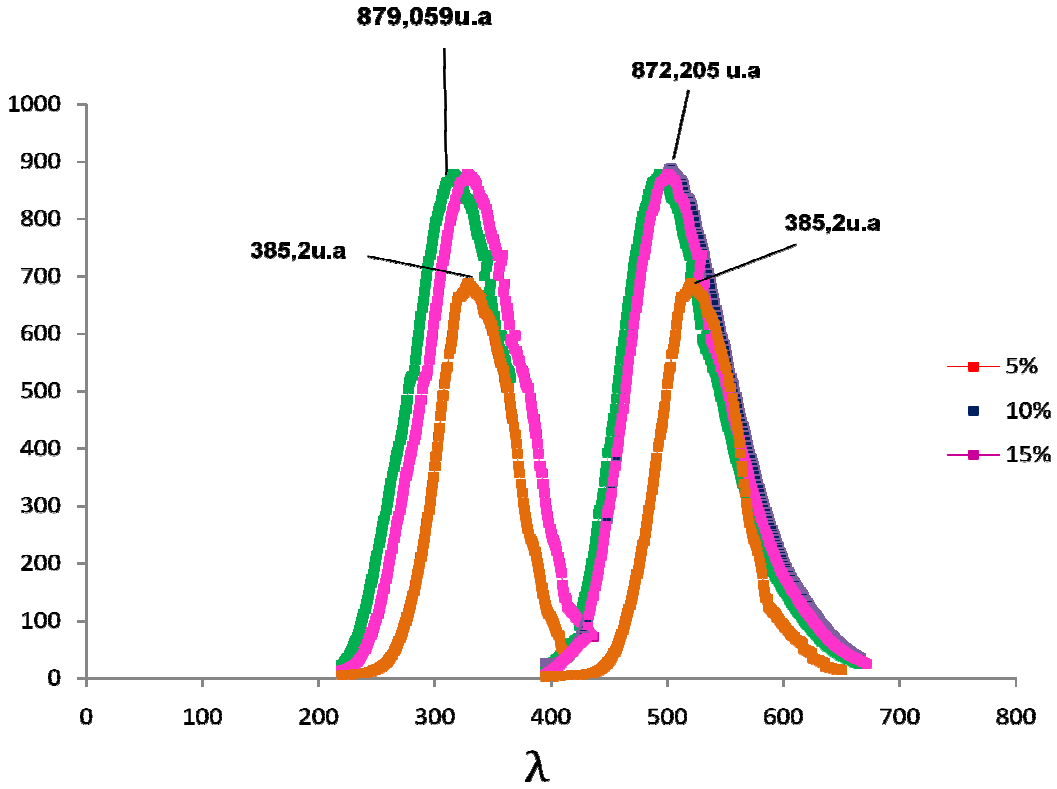



**Figura 7.** Marcaje fluorescente de nanopartículas de $TiO_2$ de referencia por la microondas en los porcentajes 5,10 y 15% de cloruro de dansilo.

La ***Tabla 6*** muestra las señales de las intensidades de longitud de onda de emisión en los porcentajes desde 5 hasta 30% de cloruro de Dansilo, observándose que a partir del porcentaje de 15 se mantiene la intensidad en la longitud de onda, lo que nos permite afirmar que el porcentaje de 20 es el mas optimo entre todo los estudiados.

**Tabla 6.** Resultados del comparativo de las intensidades fluorescentes.

| FLUORESCENCIA DE NANOPARTÍCULAS DE TIO2 | |
|---|---|
| CONCENTRACIONES | INTENSIDADES (U.A=CM) |
| 5 | 688 |
| 10 | 788 |
| 15 | 877 |
| 20 | 888 |
| 30 | 879 |

La ***Figura 8*** es una representación gráfica de la variación en los resultados obtenidos del marcaje a las nanopartículas de $TiO_2$ de referencia desde la concentración de 5% hasta 30% por medio de la técnica microondas Se puede observar que de la concentración de 15% la intensidad fluorescente permanece constante de 887u.a con una $\lambda max$ de emisión de 500nm y una $\lambda max$ excitación de 350nm. Estos resultados confirman los resultados obtenidos en la ***Figura 8*** reflejando como resultado satisfactorio la intensidad en longitud de onda emisión y excitación en el porcentaje de 20% a una temperatura de 150°C y una duración de 6 minutos en microondas.

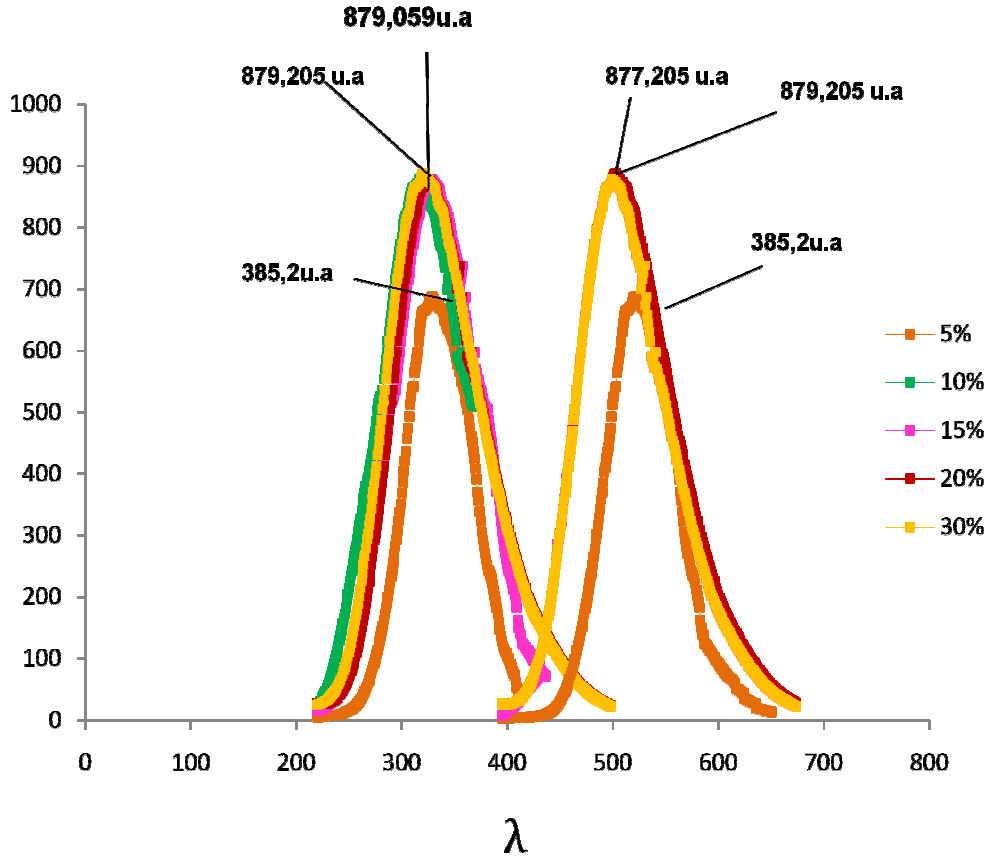



**Figura 8.** Comparativo del marcaje a las nanopartículas de $TiO_2$.

En la ***Figura 9*** se presenta el resultado el comportamiento de emisión y excitación de fluorescencia de las nanopartículas de $TiO_2$ con haloperidol ocluido al 20% de cloruro de Dansilo por la técnica de microondas, como se puede ver el las longitudes onda claras y altas 788u.a con una en emisión de 490nm y una de excitación de 320nm, observándose una desplazamiento hacia la izquierda en el material marcado con el fármaco ocluido respecto a la nanopartículas de referencia, este resultado refleja, la incorporación del fármaco y el grupo dansilo a la nanopartícula, por lo que se puede concluir que la síntesis y el marcaje fueron exitosos para ambos procedimientos.

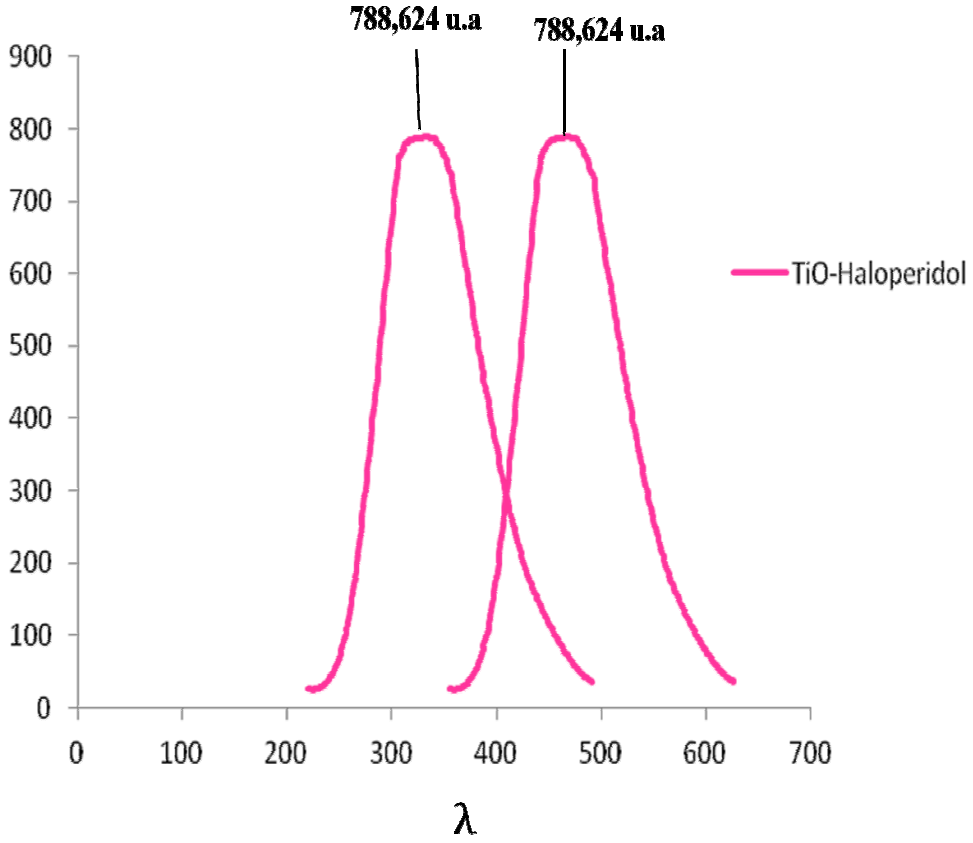



**Figura 9.** Marcaje fluorescente de nanopartículas de $TiO_2$ con haloperidol ocluido por la técnica de microondas.

### 5.4.3.- Marcaje Fármaco Haloperidol

La ***Figura 10*** refleja el resultado de la intensidad fluorescente en emisión y excitación del fármaco haloperidol marcado con el fluoróforo cloruro de dansilo. La longitud de onda máxima de emisión que presenta es 575nm mientras que la longitud máxima de excitación y 375nm. . El reflejo de las intensidades de emisión y excitación confirman la reacción de marcaje hacia el fármaco, acoplando el grupo dansilo al radical OH del fármaco haloperidol.

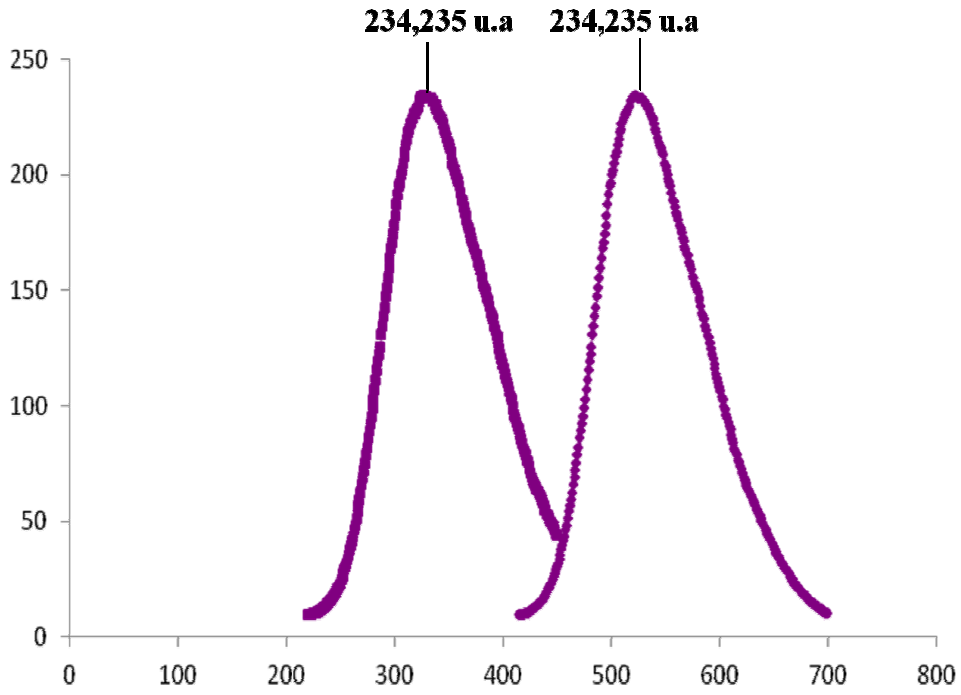



**Figura 10.** Espectro de fluorescencia del fármaco haloperidol marcado

## 5.5.- ESTUDIOS DE LIBERACION DE HALOPERIDOL

### 5.5.1 – Liberación evaluada por espectroscopia de fluorescencia.

Los resultados que a continuación se mencionan expresan la información sobre los resultados de las metodologías pertenecientes a los **Esquemas 16 y 17** anteriormente mencionados pertenecientes al marcado de las nanopartículas de referencia para su liberación en fluorescencia.

En la ***Figura 11*** se ven expresados los resultados de la liberación en fluorescencia de las nanopartículas de $SiO_2$ de referencia transcurridas dos semanas. El monitoreo a diferentes tiempos de la liberación nos muestra que el encapsulamiento de las

nanopartículas hizo que la intensidad de fluorescencia mostrara longitudes de onda de emisión y excitación mostrando señales 247.214u.a y 246.351u.a respectivamente con una de emisión 550nm y de excitación de 400nm, encontrando un ligero desplazamiento en la intensidad de emisión . Estos resultados nos muestran que la liberación no afecto en nada a la intensidad de fluorescencia, solo la fue poco desplaza.

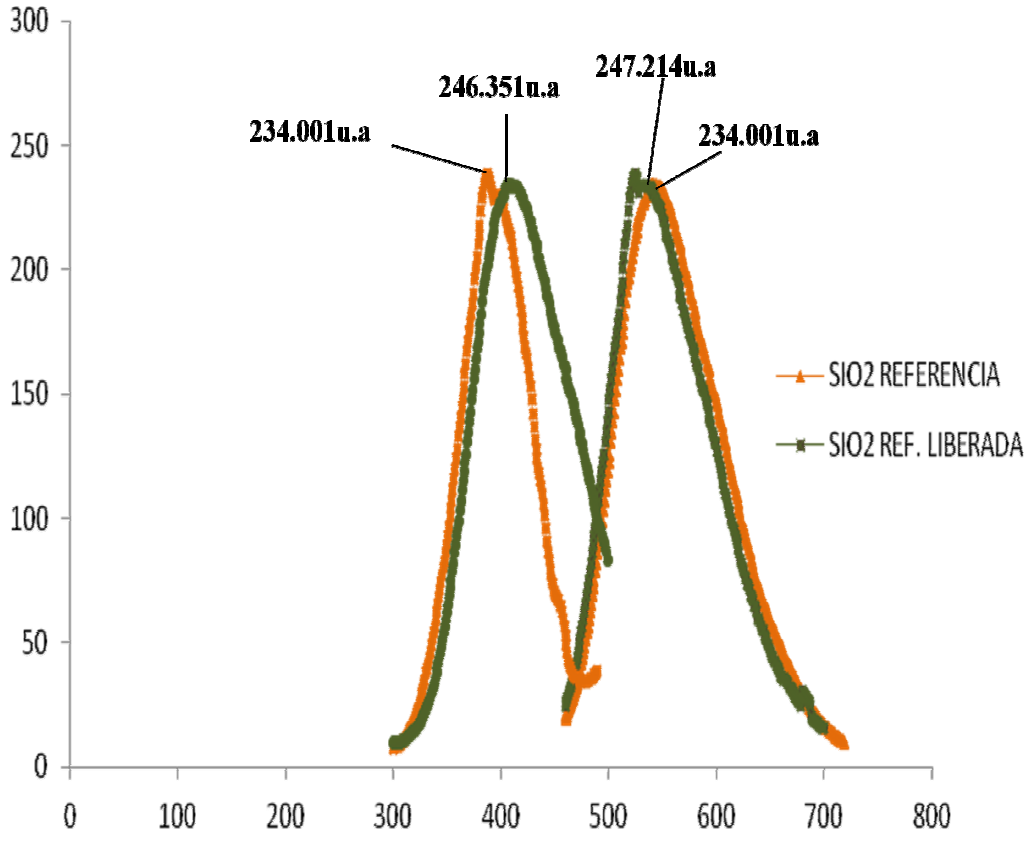



**Figura 11.** Espectro de liberación de las nanopartículas de $SiO_2$ de referencia.

La ***Figura 12*** muestra el resultado de la liberación en fluorescencia de las nanopartículas de oxido de titanio de referencia transcurridas dos semanas. El monitoreo a diferentes tiempos de la liberación nos muestra que el encapsulamiento

de las nanopartículas hizo que la fluorescencia se mostrara con mayor intensidad en las longitudes de onda de emisión y excitación obteniéndose los siguientes picos 875.032u.a y 875.032u.a respectivamente contra las longitudes de onda originales de emisión y excitación 875.032u.a y 875.032u.a, llegándose a la conclusión que la liberación no afecto para nada la fluorescencia o causo daño alguno el paso del tiempo.

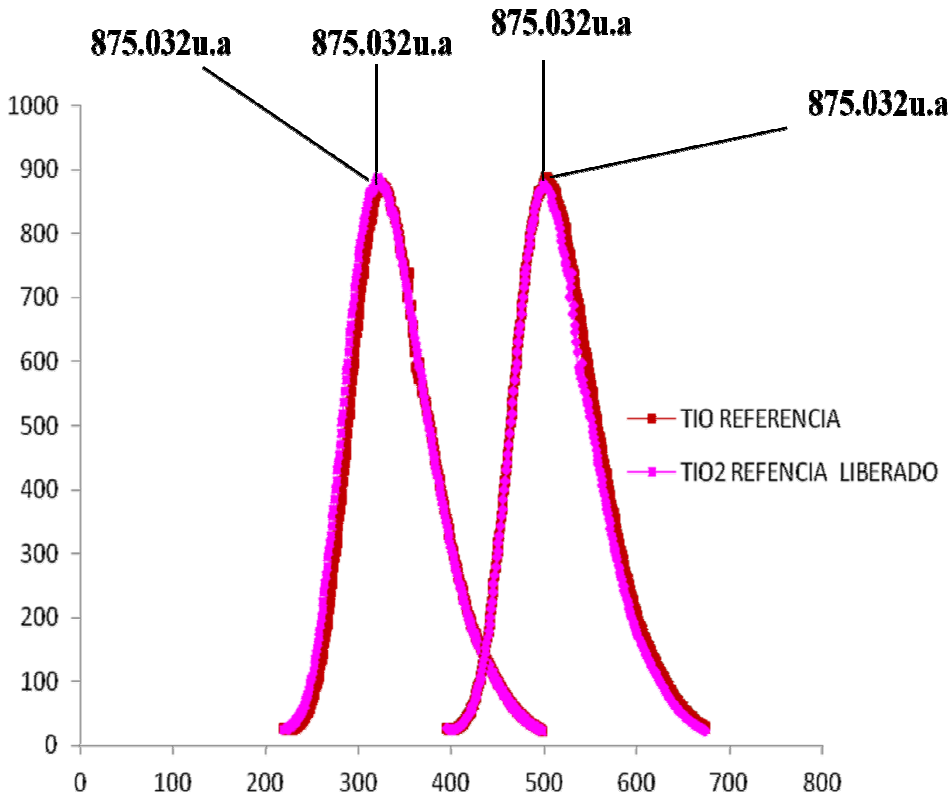



**Figura 12.** Espectro de liberación de las nanopartículas de $TiO_2$ de referencia.

### 5.5.1.1.- Proceso general a las Nanopartículas de Referencia con el fármaco ocluido.

La ***Figura 13*** refleja el resultado de fluorescencia de la simulación donde se estudio la liberación del fármaco a partir de las nanopartículas de $SiO_2$ con el fármaco ocluido transcurridas dos semanas.

El monitoreo a diferentes tiempos de la liberación muestra que el encapsulamiento de las nanopartículas desplazo ligeramente la longitud de onda de emisión y excitación de las nanopartículas marcadas, mostrando ahora una longitudes de 590nm y una de 390nm. Se pudo observar también que la intensidad no mostro cambio alguno tras transcurrir el tiempo de monitoreo. Este resultado nos permite concluir que la liberación no afecta directamente la fluorescencia presentada por la muestra, lo cual nos dio la respuesta esperada del material.

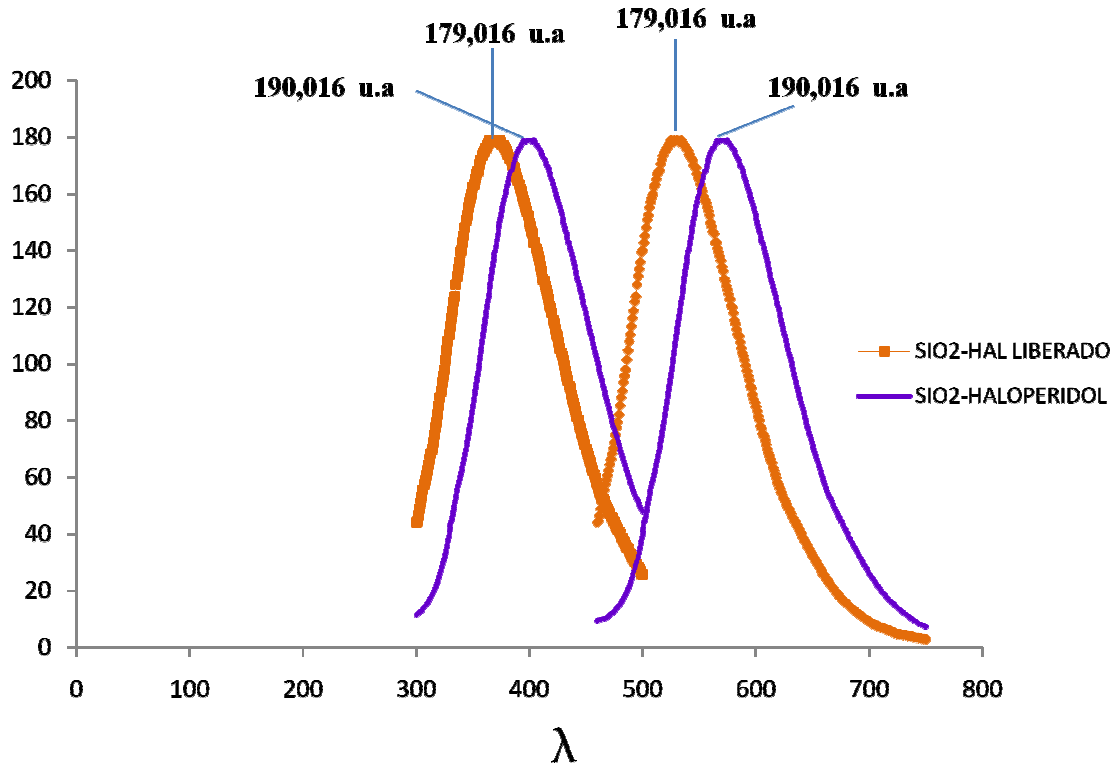



**Figura 13.** Espectro de liberación de las nanopartículas de $SiO_2$ con haloperidol ocluido.

En la ***Figura 14*** se ve reflejado el resultado de la liberación en fluorescencia de las nanopartículas de $TiO_2$ con el fármaco ocluido transcurridas dos semanas. El monitoreo a diferentes tiempos de la liberación, muestra como resultado que no causo daño alguno a la intensidad de emisión o excitación en las nanopartículas, manteniéndose tanto la intensidad fluorescente como la longitud en de onda de emisión y excitación 783.975.a y 783.934u.a 788nm y una 788nm respectivamente.

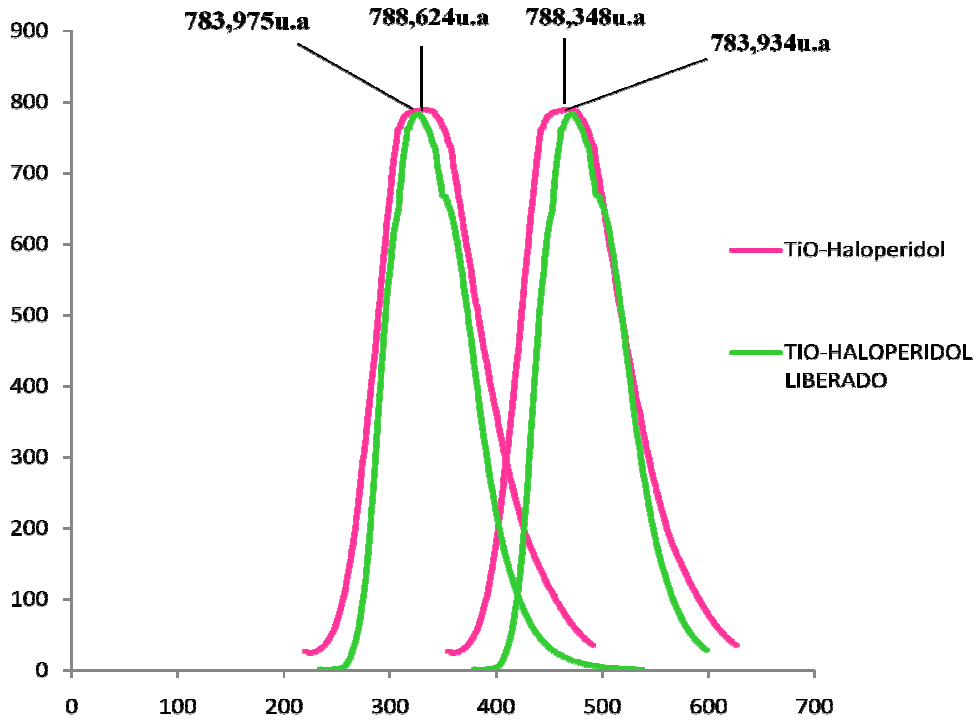



**Figura 14.** Espectro de liberación de las nanopartículas de $TiO_2$ con haloperidol ocluido

### 5.5.2 – Liberación del fármaco evaluado por espectroscopia de ultra violeta

A continuación se mencionan los resultados que se obtuvieron al realizar la liberación del fármaco haloperidol. Estos resultados fueron monitoreados durante una semana por cada hora y fueron medidos por espectros de UV VISIBLE 50 SCAN.

#### 5.5.2.1.- Curva de Calibración

La finalidad de investigar la influencia de la fuerza iónica en la emisión y excitación de fluorescencia en el sólido marcado (fármaco), se llevo a cabo una solución madre de 1Lt a diferentes concentraciones como se muestra la ***Tabla 7.***

**Tabla 7**.- Concentración de la solución madre para el fármaco haloperidol

| Tubo | Concentración | mL de $H_2O$ | mL de Solución (x) |
|---|---|---|---|
| 1 | 0.0001 | 0.11170475 | 1mg/ml |
| 2 | 0.0003 | 0.14628229 | 0.80mg/ml |
| 3 | 0.0005 | 0.21009719 | 0.60mg/ml |
| 4 | 0.0007 | 0.23194067 | 0.40mg/ml |
| 5 | 0.0009 | 0.35156385 | 0.20mg/ml |

Los resultados de la ***Figura 15*** expresan las diferentes concentraciones a las que fue sometida la solución madre del fármaco haloperidol, con una serie de disoluciones con su respectiva cantidad de mordente se obtiene un coeficiente de correlación de .99.

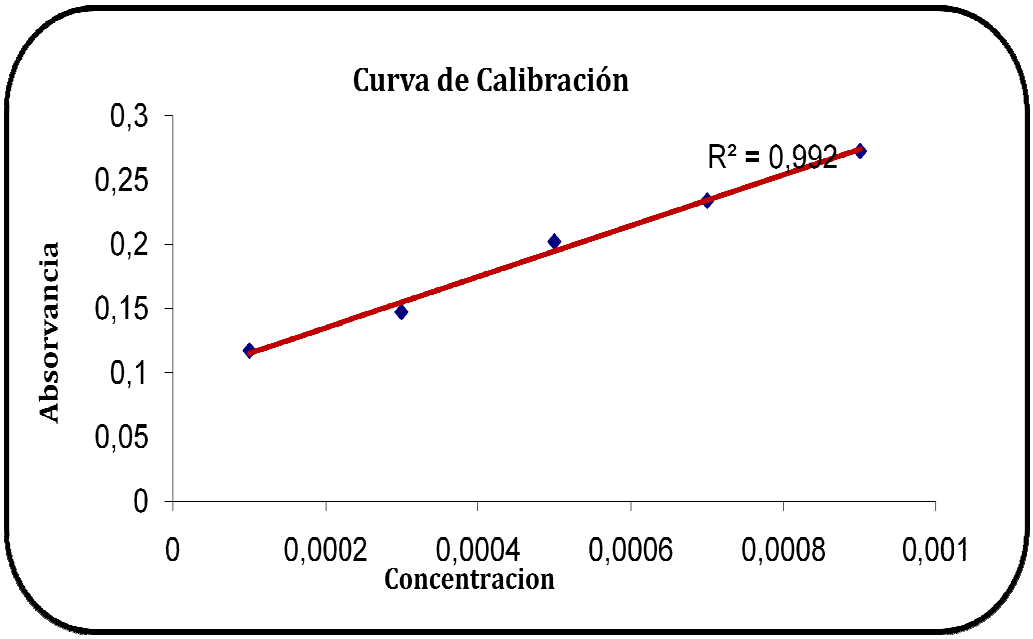



**Figura 15.** Curva de calibración solubilidad del fármaco haloperidol

Las pruebas realizadas al fármaco con detector de fluorescencia mostraron la respuesta esperada, la ***Figura 16*** revela el estudio de la liberación del fármaco marcado por la sonda fluorescente cloruro de dansilo respecto al tiempo de monitoreo de una semana por periodos de dos horas entre ellos en un UV VISIBLE 50 SCAN. Como se puede observar, la respuesta del sistema es proporcional a las intensidades medidas en espectroscopia de fluorescencia, mostrando alta intensidad en la medición.

Como se puede ver la respuesta del sistema es proporcional a las concentraciones investigadas y arrojadas por la curva de calibración, mostrando un factor de correlación de 0.8839, a concentraciones mas altas el sistema muestra una

descompostura total y en concentraciones menores que un 1nm la respuesta se pierde y no se distingue la línea base.

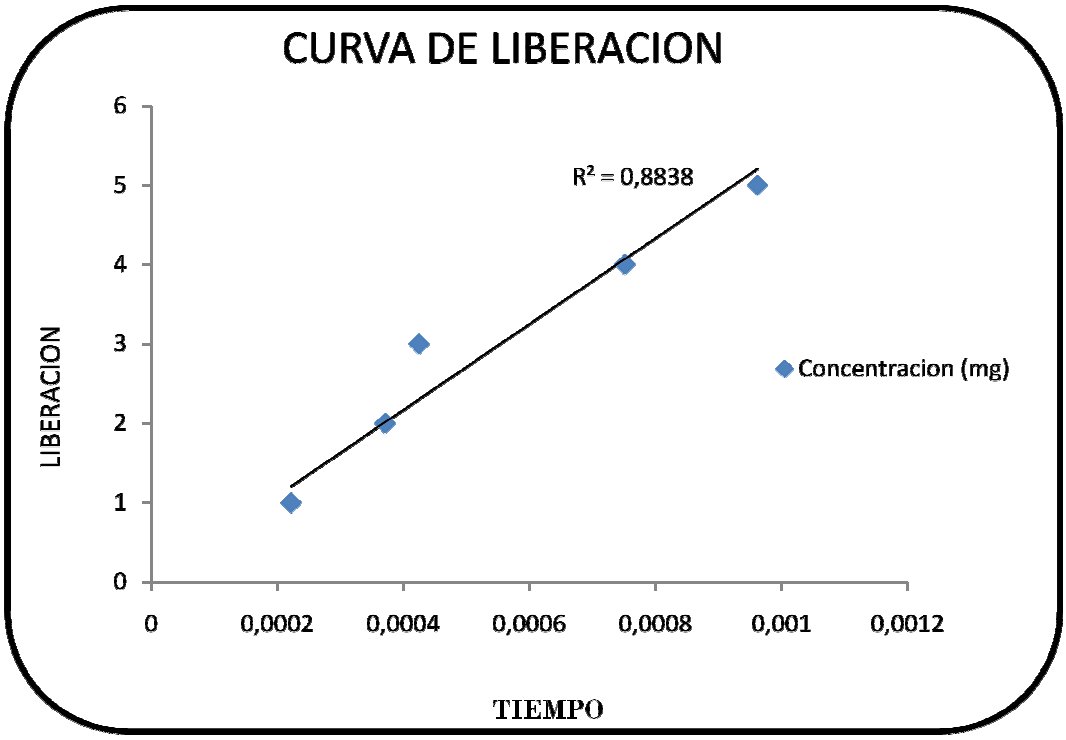



**Figura 16.** Curva de liberación del fármaco haloperidol marcado.

De acuerdo a los objetivos planteados en este proyecto, se ha demostrado que tanto las nanopartículas como el fármaco presentan señales aceptables y sin variación en sus intensidades de fluorescencia, lo que significa que tanto el fármaco como las nanopartículas presentan reacción con el grupo dansilo de la sonda fluorescente utilizada.

# Capítulo VI

## Conclusiones

## VI. – CONCLUSIONES

- De acuerdo a los objetivos planteados se llevaron a cabo 4 diferentes síntesis de nanopartículas, la formación de $TiO_2$ y $SiO_2$ de referencia, la oclusión de el fármaco haloperidol a las nanopartículas de referencia las cuales fueron caracterizadas y marcadas con la sonda fluorescente cloruro de dansilo, para ser medidas en espectroscopia de fluorescencia.
- Se practicaron tres diferentes técnicas de marcaje para las nanopartículas de $SiO_2$ teniendo como resultado satisfactorio, la técnica de microondas y dos técnicas diferentes para las nanopartículas de $TiO_2$.
- Se llevo a cabo la técnica de microondas a distintas temperaturas y tiempos dando como resultado satisfactorio la temperatura de 400°C con una duración de 6 minutos, para cada concentración de nanopartículas.
- Se realizo el marcado del fármaco haloperidol con por el fluoróforo cloruro de dansilo, dicho material fue caracterizado por espectroscopia de IR, RMN y fluorescencia.
- Por ultimo se llevo a cabo la liberación de las nanopartículas marcadas por la técnica de fluorescencia y la liberación del fármaco por la técnica UV-Vis.
- Se llego a la conclusión que las nanopartículas de $TiO_2$ por ambas técnicas de marcaje presentaron fluorescencia, mientras que las nanopartículas solo presentaron fluorescencia por la técnica de microondas.

Todas liberaciones se hicieron en agua simulando el organismo, mostrando las nanopartículas de $SiO_2$ referencia una longitud de onda en emisión de 550nm y una en excitación de 475nm mostrando solo un ligero desplazamiento en la oclusión del fármaco pero no afectando la intensidad de fluorescencia.

Las nanopartículas de TiO2 de referencia así como las de fármaco ocluido no presentaron ningún cambio.

La liberación de las nanopartículas se llevaron a cabo con éxito presentando después de ser liberadas la misma intensidad fluorescente y la misma longitud de onda.

El fármaco liberado presento un coeficiente de correlación de 0.8839 lo cual indica su linealidad al ser liberado. Dichos resultados nos llevan a la conclusión general de que los objetivos planteados a principios del proyecto fueron llevados a cabo satisfactoriamente.

# Capítulo VII

## Referencias

## VII. - REFERENCIAS:


1.- Agrawal, A., Henderson, R., 2002. Putting patents in context: exploring knowledge transfer from MIT. Management Science 48 (1), 44–60.

2.-Ahuja,G.,2000. Collaboration networks, structural holes, and innovation: a longitudinal study. Administrative Science Quarterly 45 (3), 425–455.

3.- Alencar, M.S.M., Antunes, A.M.S., Porter, A.L., 2007. Nanopatenting patterns in relation to product life cycle. Technological Forecasting and Social Change 74 (9), 1661–1680

4.- English, D. S.; Pell, L. E.; Yu, Z.; Barbara, P. F.; Korgel, B. A.*Nano Lett.* 2002, *2*, 681-685.

5.- Levy, L.; Sahoo, Y.; Kim, K. S.; Bergey, E. J.; Prasad, P. N. *Chem. Mater.* 2002, *14*, 3715

6.- Nanotechnology – 2005–2009, Department of Industry, Innovation, Science and Research, Australia, 2009.

7.- Samitier, J. (2005). Presentación del Lanzamiento Público de la Plataforma Española de Nanomedicina (http://www.nanomedspain.net).

8.- Market Attitude Research Services, Australian Community Attitudes about Nanotechnology – 2005–2009, Department of Industry, Innovation, Science and Research, Australia, 2009.

9.- Lechuga, L. M. y Martínez, A.C. (2006). Nanobiotecnología: avances diagnósticos y terapéuticos. Especial Nanociencia y Nanotecnología. *Revista de Investigación en Gestión de la Ciencia y la Tecnología. M+d.* Revista nº 35: Nanociencia y Nanotecnología II.

10.- Sáez et al. (2004). Liberación controlada de Fármacos. Micropartículas. *Revista iberoamericana de polímeros*, 5:2.

11.- Allen, T. M. y Cullis, P. R. (2004). Drug Delivery Systems: Entering the Mainstream. *Science*, 303: 1818-1822.

12.- Bawa, R. et al. (2005). Protecting new ideas and inventions in nanomedicine with patents.Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine, 1:150-158.

13.-Bertone, P. y Snyder, M. (2005). Advances in functional protein microarray technology. FEBS J., 272(21):5400-11.

14.-Bianco, A. et al. (2005). Biomedical applications of functionalised carbon nanotubes. Chem Commun,
5:571-7

15.- B. Finnigan, Barrier polymers, in: K.L. Yam (Ed.), The Wiley Encyclopedia of Packaging Technology, John Wiley and Sons, Inc., New York, 2009, pp. 103–109.

16.- C. J. Brinker, G. W.. Scherer, “Sol-Gel Science”. Academic Press, Boston USA. (1990)

17.- M. Pollnau “Population Mechanisms in Erbium-Doped Solid-State Lasers” Ph.D. Dissertation. Bern, Switzerland (1996)

18.- Kortekaas R, Leenders KL, Van Oostrom JCH, Vaalburg W, Bart J, Willemsem ATM, et al. Bloodebrain barrier dysfunction in parkinsonian midbrain in vivo. Ann Neurol 2005;57:176e9

19.- J. Castañeda-Contreras, M. A. Meneses Nava, O. Barbosa G., E de la Rosa, J. Francisco M. *Journal of Luminescence*. 102-103 . pp 504-509. (2003).

20.- J. Castañeda-Contreras, M. A. Meneses Nava, O. Barbosa J. L. Maldonado,, J. Francisco M. *Journal of Optical materials* Vol 27. pp 301-305. (2004)

21.- C. Coutier, M. Audier, J. Fick, R. Rimet, M. Langlet, “Aerosol-gel preparation of optically active layers in the system Er/$SiO_2$-$TiO_2$” *Thin Solid Films* **372**, 177 (2000).

22.-J. D. Mackenzie, D. Ulrich, “Sol-gel optics, present status and future trends.” *SPIE* Vol. 1328. (1990).

23.-Jablensky, A.; Sartorius, N.; Ernberg, G.; Anker, M.; Korten, A.; Cooper, J. E.; Day, R.; Bertelsen, A. Schizophrenia: manifestations, incidence and course in different cultures. A World Health Organization ten-country study. *Psychol. Med. Monogr. Suppl.* **1992**, *20*, 1-97.

24.- Shapiro, R. M. Regional neuropathology in schizophrenia: where are we? Where are we going? *Schizophr. Res.* **1993**, *10* (3), 187- 239.

25.- Harrison, P. J. The neuropathology of schizophrenia. A critical review of the data and their interpretation. *Brain* **1999**, *122* (Pt 4), 593-624.

26.- Pearlson, G. D.; Marsh, L. Structural brain imaging in schizophrenia: a selective review. *Biol. Psychiatry* **1999**, *46* (5), 627- 649.

27.- Harrison, P. J.; Roberts, G. W. *The Neuropathology of Schizophrenia. Progress and Inerpretation*; Oxford University Press: Oxforr, U.K., 2000.

27.- Shenton, M. E.; Dickey, C. C.; Frumin, M.; McCarley, R. W. A review of MRI findings in schizophrenia. *Schizophr. Res.* 2001, *49* (1-2), 1-52.

28.- Harrison, P. J.; Freemantle, N.; Geddes, J. R. Meta-analysis of brain weight in schizophrenia. *Schizophr. Res.* **2003**, *64* (1), 25-34.

28.- Liddle, P.; Pantelis, C. In *Brain Imaging in Schizophrenia*; Blackwell Science: Oxford, U.K., 2003; pp 403-417.

30.- Baldessarini, R. J. In *Goodman and Gilman's Pharmacological Basis of Therapeutics*, 7th ed.; Gilman, G. A., Goodman, L. S., Rall, T. W., Murad, F., Eds.; Macmillan Publishing Company: New York, pp 385-445.

31.- Seeman, P.; Lee T. Antipsychotic drugs: Direct correlation between clinical potency and presynaptic action on dopamine neurons. *Science* 1975, *188*, 1217-1219. (b) Seeman, P.; Lee, T.; Chau-Wong, M.; Wong K. Antipsychotic drug doses and neuroleptic/dopamine receptors. *Nature* 1976, *261*, 717-9.

32.- Depatie, L.; Lal, S. Apomorphine and the dopamine hypothesis of schizophrenia: A dilemma? *J. Psychiatry Neurosci*. 2001, *26*, 203-220.

33.- Buckley, P. F. Update on the treatment and management of schizophrenia and bipolar disorder. *CNS Spectr.* 2008, *13*, 11–2.

34.- Wong, A. H.; Van Tol, H. H. Schizophrenia: from phenomenology to neurobiology. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2003, *27* (3), 269–306

35.- Phillips, R. L.; Miranda, O. R.; You, C.-C.; Rotello, V. M.; Bunz, U. H. F. *Angew. Chem., Int. Ed.* 2008, *47*, 2590.

36.- Sonnichsen, C.; Reinhard, B. M.; Liphardt, J.; Alivisatos, A. P. *Nat. Biotechnol.* 2005, *23*, 741.

37.- J.C. Shah, Y. Sadhale, D.M. Chilukuri, Cubic phase gels as drug delivery systems, Adv Drug Deliver Rev 47 (2001) 229–250.

38.- R. Burrows, J.H. Collett, D. Attwood, The release of drugs from monoglyceride–water liquid crystalline phases, Int. J. Pharm. 111 (1994) 283–293.

39.- C.J. Drummond, C. Fong, Surfactant self assembly objects as novel drug delivery vehicles, Current Opinion Colloid Interface Science 4 (2000) 449–456.

40.- W. Fong, T. Hanley, B. Boyd, Stimuli responsive liquid crystals provide 'on-demand' drug delivery in vitro and in vivo, J. Control. Release 135 (2009) 218–226.

41.- L. C. Klein. "Sol-gel technology for thin films, fibres, preforms, electronics and special shapes". *Noyes publications*. USA (1998).

42.- Arconada N., Durán A. Síntesis y propiedades fotocatalíticas de recubrimientos porosos de TiO2– anatasa producidos por sol-gel. X Congreso Nacional de Materiales (Donostia - San Sebastián, 18-20 Junio 2008).

43.-B. Siekmann, H. Bunjes, M. Koch, K. Westesen, Preparation and structural investigations of colloidal dispersions prepared from cubic phase monoglyceride/ water phases, Int. J. Pharm. 244 (2002) 33–43.

50.- Janssen, P. A. J.; van de Westeringh, C.; Jageneau, A. H. M.; Demoen, P. J. A.; Hermans, B. K. F.; van Daele, G. H. P.; Schellekens, K. H. L.; van der Eycken, C. A. M.; Niemegeers, C. J. E. *J. Med. Pharm. Chem.* **1959**, *1*, 281-297.

51.- Holstein, A. P.; Chen, C. H. *Am. J. Psychiatry* **1965**, *122*, 462- 463.

52.- M.C. Roco, C.A. Mirkin, M.C. Hersam (Eds.), Nanotechnology Research Directions for Societal Needs in 2020: Retrospective and Outlook, World Technology Evaluation Center (WTEC) and the National Science Foundation (NSF), Springer, 2010. <http://www.wtec.org/nano2/Nanotechnology_Research_ Directions_to_2020/> (accessed 29.06.11)

53.- Zeman D, Adam P, Kalistova H, Sobek O, Andel J, AndelM (2001). Cerebrospinal fluid cytologic findings in multiple sclerosis. A comparison between patient subgroups. *Acta Cytol* **45:**51–59

54.- Wang H-E, Zheng L-X, Liu C-P, Liu Y-K, Luan C-Y, Cheng H, et al. J Phys Chem C 2011;115:10419–25.

55.- Barillet, S., Simon-Deckers, A., Herlin-Boime, N., Mayne-L'Hermite, M., Reynaud, C., Cassio, D., Gouget, B., Carrière, M., 2010. Toxicological consequences of TiO2, SiC nanoparticles and multi-walled carbon nanotubes exposure in several mammalian cell types: an in vitro study. J. Nanopart. Res. 12, 61–73

56.- Acar,G., Idiman, F., Kirkali,G.,Ozakbaş, S., Oktay,G., Cakmakçi, H., Idiman, E., 2005. Intrathecal sICAM-1 production in multiple sclerosis—correlation with triple dose Gd-DTPA MRI enhancement and IgG index. J. Neurol. 252, 146–150

57.- G.A. Silva, Neuroscience nanotechnology: progress, opportunities and challenges, Nat. Rev. Neurosci. 7 (2006) 65–74.

58.- W.M. Pardridge, The blood–brain barrier: bottleneck in brain drug development, NeuroRx 2 (2005) 3–14.

59.- Walker JM (1994). *El método para la identificación de Dansilo N-terminal de aminoácidos.* "Los protocolos básicos de proteínas y péptidos". *Mol Métodos. Biol. **32:.*** 321-8. doi : 10.1385/0-89603-268-X: 321 . ISBN 0-89603-268-X . PMID 7951732 .

60.- Walker JM (1994). *El método Dansilo-Edman para la secuenciación de péptidos.* "Los protocolos básicos de proteínas y péptidos". *Mol Métodos. Biol.* ***32:.*** 329-34. doi : 10.1385/0-89603-268-X: 329 . ISBN 0-89603-268 X . PMID 7951733 .

61.- Reviews dealing with silicon-based drugs: (a) Tacke, R.; Zilch, H. *Endeavour* **1986**, *10*, 191-197. (b) Tacke, R.; Linoh, H. In *The Chemistry of Organic Silicon Compounds*; Patai, S., Rappoport, Z., Eds.; Wiley: Chichester, U.K., 1989; Part 2, pp 1143-1206. (c) Bains, W.; Tacke, R. *Curr. Opin. Drug Discovery Dev.* **2003**, *6*, 526-543.

# Capítulo VI

## Apéndice

ESPECTRO IR  DEL FARMACO HALOPERIDOL PURO

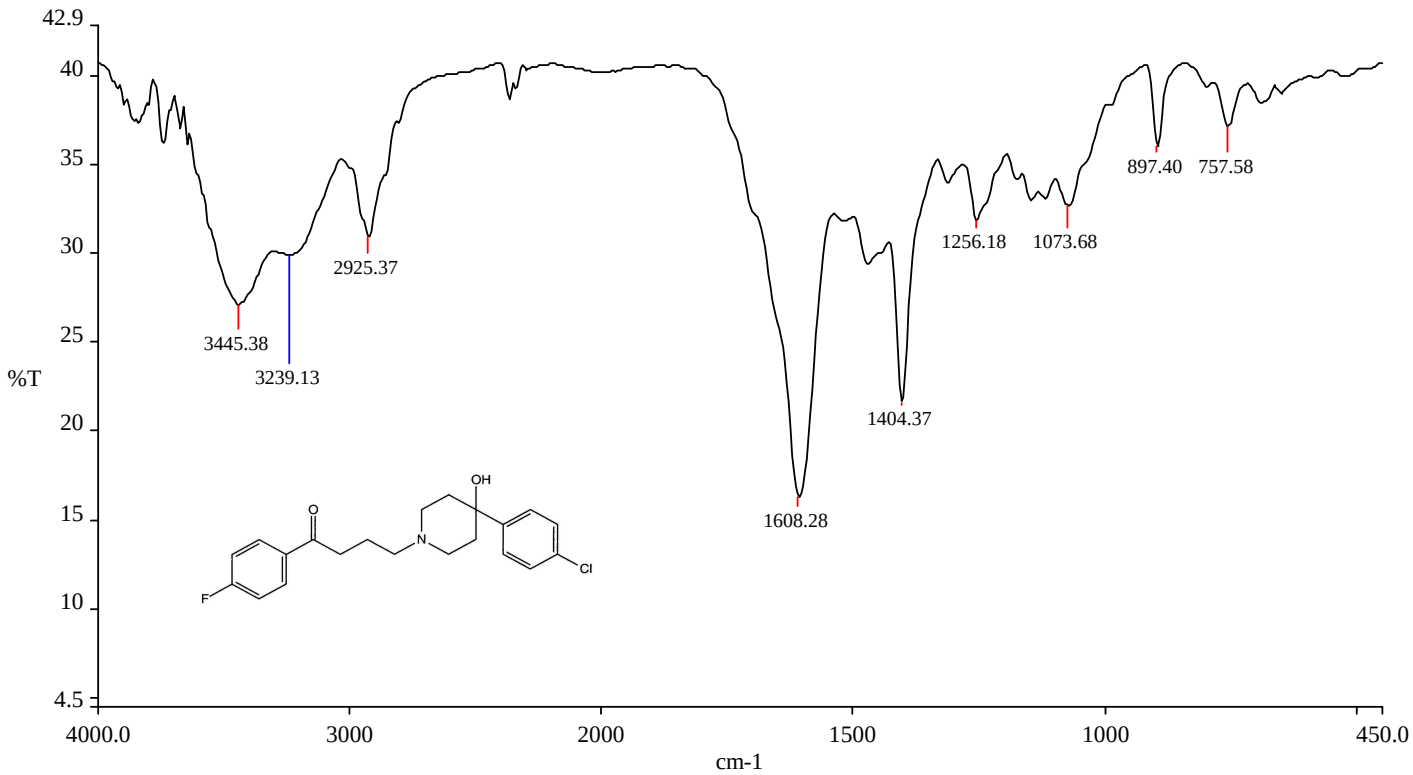



**Figura 17.** Espectro de IR de Haloperidol Puro.

ESPECTRO IR NANOPARTICULAS OXIDO DE SILICE DE REFERNCIA

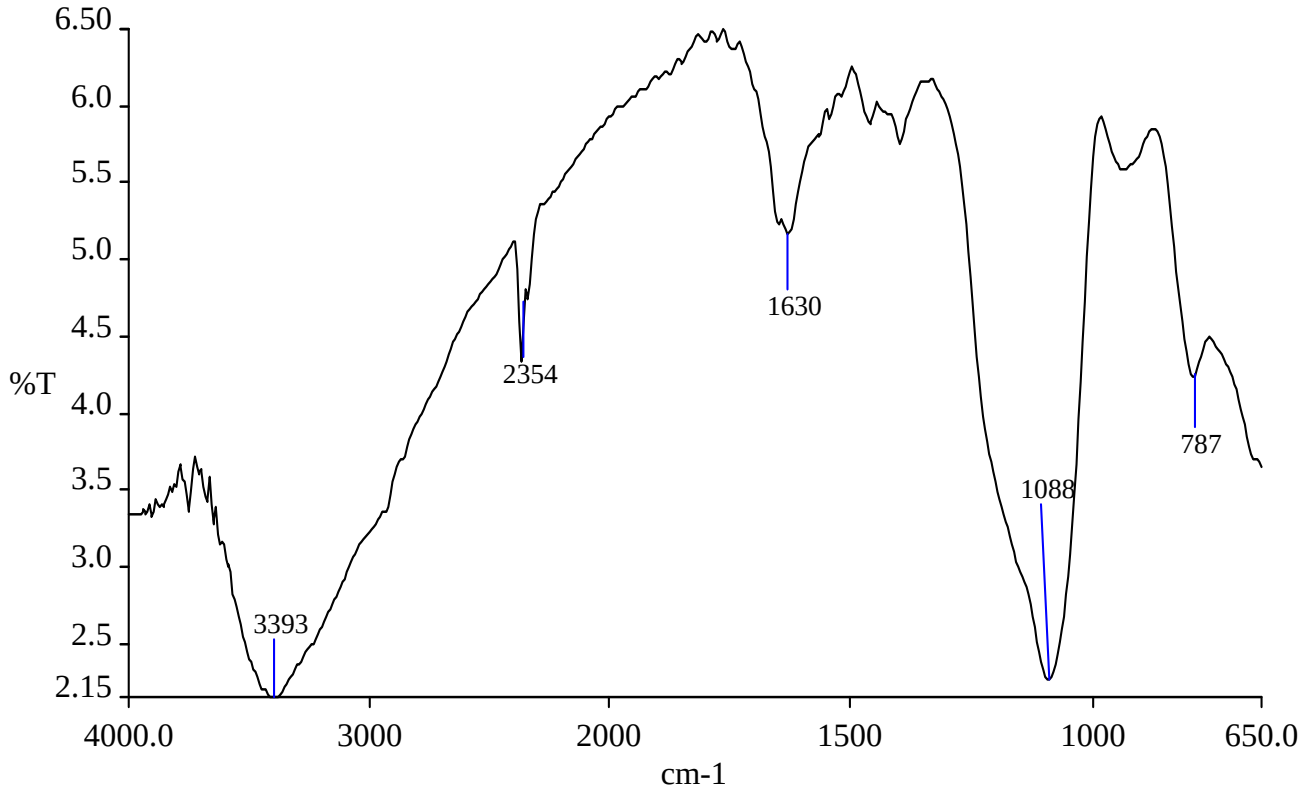



**Figura 18.** Espectro de IR de nanopartículas de $SiO_2$ de referencia.

**IR (KBr):** $\nu$ = (Si-1088), 3393 (O-H), 787, 2354 $cm^{-1}$

Nanopartículas $SiO_2$ ref/ $SiO_2$ – haloperidol

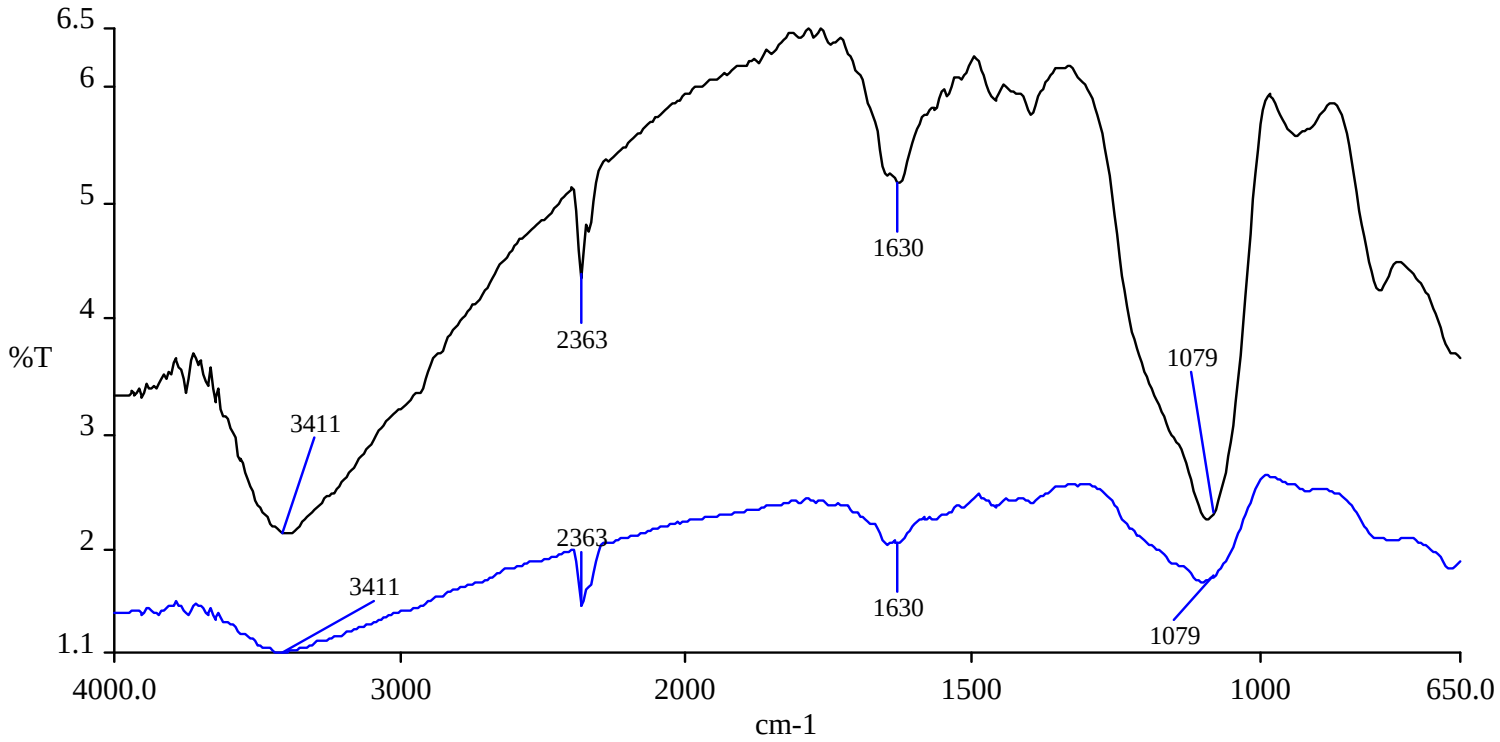



**Figura 19.** Espectro de IR de nanopartículas de $SiO_2$ de referencia con haloperidol ocluido

**IR(KBr):** $\nu$ = 1079 (Si-O), 3393 (O-H), 787, 2354 $cm^{-1}$

ESPECTRO IR NANOPARTICULAS OXIDO TITANIA DE REFERNCIA

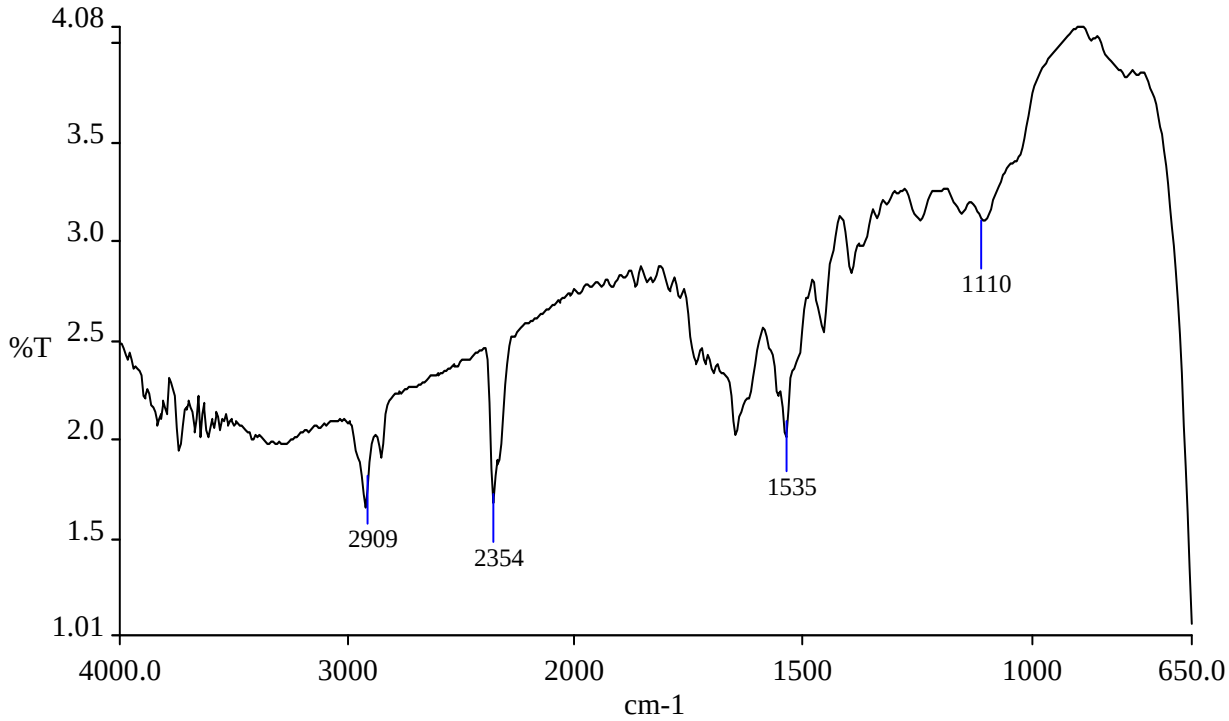



**Figura 20.** Espectro de IR de nanopartículas de $TiO_2$ de referencia.

**IR (KBr):** $\nu$ = (Ti-1535), 2909 (O-H), $cm^{-1}$