

**ESTUDIO DE CISPLATINO LIGADO A NANOTUBOS DE CARBONO DE  
PAREDES MÚLTIPLES FUNCIONALIZADOS Y SOLUBILIZADOS, PARA EL  
TRATAMIENTO DE GLIOBLASTOMA**

**JESÚS ANDRÉS NUNCIRA VALENCIA**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICOQUÍMICAS  
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA  
BUCARAMANGA**

**2014**

**ESTUDIO DE CISPLATINO LIGADO A NANOTUBOS DE CARBONO DE  
PAREDES MÚLTIPLES FUNCIONALIZADOS Y SOLUBILIZADOS, PARA EL  
TRATAMIENTO DE GLIOBLASTOMA**

**JESÚS ANDRÉS NUNCIRA VALENCIA**

Trabajo de grado realizado en la Universidad Federal de Minas Gerais presentado  
como requisito para obtener el título de:

Ingeniero Químico

Directores:

**Ph.D. GILLES HENRI GAUTHIER**

**Ph.D. LUIZ ORLANDO LADEIRA**

Codirectora:

**Ph.D. LÍDIA MARIA DE ANDRADE**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE INGENIERÍAS FISCOQUÍMICAS**

**ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA**

**BUCARAMANGA**

**2014**

## DEDICATORIA

*A mi familia, orientadores y amigos.*

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi familia por su interminable apoyo y confianza durante todo mi intercambio académico.

A Clara por su incondicional amor y presencia durante toda esta investigación.

Al profesor Gilles H. Gauthier por su orientación en la realización de este proyecto y la oportunidad que me brindó para poder llevar a cabo esta investigación.

A Lídia Maria de Andrade por su esmero, confianza, dedicación y valiosos conocimientos brindados durante toda mi estadía en el laboratorio.

Al profesor Luiz O. Ladeira por recibirme en su laboratorio y brindarme todas las herramientas necesarias para la realización de este trabajo de grado.

A Tatiane Santos y Sergio Oliveira por su orientación, enseñanzas y amabilidad durante los experimentos y pruebas realizadas en el laboratorio.

A la profesora Elene Pereira Maia y Edgar Lizarazo del Departamento de Química–UFMG por sus valiosos aportes y recomendaciones durante la investigación.

A Stella Lopes, Erick de Souza Ávila, Claudilene Chaves, Eudes Lourençon y a todo el equipo de trabajo del Laboratorio de Nanomateriales–UFMG. A todos los colaboradores de los departamentos de Física–UFMG, Ingeniería Química–UFMG, e Instituto de Ciencias Biológicas–UFMG.

A mi alma máter, la Universidad Industrial de Santander por la grandiosa formación académica brindada durante estos años y las oportunidades que me brindó para desarrollarme integralmente.

## Contenido

INTRODUCCIÓN.....	15
NANOTUBOS DE CARBONO – CNT .....	16
Nanotubos de carbono de pared sencilla (SWCNT).....	16
Nanotubos de carbono de paredes múltiples (MWCNT) .....	16
SISTEMAS DE ENTREGA DE FÁRMACO – DDS.....	17
Componentes de un DDS.....	17
Mecanismos de entrega de fármaco .....	18
AGENTES QUIMIOTERAPÉUTICOS .....	19
GLIOBLASTOMA – GBM.....	20
2  DESCRIPCIÓN METODOLÓGICA.....	22
2.1  SÍNTESIS DE LOS NANOTUBOS DE CARBONO .....	22
2.1.1 Deposición Química de Vapor – CVD.....	22
2.1.2 Proceso de Síntesis.....	23
2.1.3 Tratamiento pos–CVD .....	24
2.2  FUNCIONALIZACIÓN DE LOS NANOTUBOS DE CARBONO.....	25
2.3  SOLUBILIZACIÓN DE LOS NANOTUBOS DE CARBONO .....	26
2.4  ESTERILIZACIÓN DE NANOTUBOS DE CARBONO .....	27
2.5  LIGACIÓN DEL CISPLATINO A LOS NANOTUBOS DE CARBONO .....	27
3  RESULTADOS .....	29
3.1  CARACTERIZACIÓN DE LOS NANOTUBOS DE CARBONO SIN FUNCIONALIZAR	29
3.2  CARACTERIZACIÓN DE LOS NANOTUBOS DE CARBONO FUNCIONALIZADOS	32
3.3  CARACTERIZACIÓN DE CISPLATINO LIGADO A NANOTUBOS DE CARBONO	35
4  CONCLUSIONES.....	40
5  RECOMENDACIONES.....	41
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43
BIBLIOGRAFÍA.....	52
ANEXOS .....	57

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de bloques de la metodología usada.....	22
Figura 2. Esquema general del arreglo de CVD usado.....	23
Figura 3. Esquema del procedimiento usado para quebrar los MWCNTs. ....	25
Figura 4. Esquema del procedimiento de funcionalización de MWCNTs.....	26
Figura 5. Esquema del proceso de solubilización de MWCNTs.....	27
Figura 6. Imágenes SEM de MWCNTs producidos por CVD usando $C_2H_4$ como precursor y Fe–Co/MgO como catalizador .....	30
Figura 7. Imágenes TEM de MWCNTs producidos por CVD usando $C_2H_4$ como precursor y Fe–Co/MgO como catalizador .....	31
Figura 8. Curva TGA obtenida para MWCNTs producidos por CVD usando $C_2H_4$ como precursor y Fe–Co/MgO como catalizador.....	32
Figura 9. Imágenes SEM de MWCNTs funcionalizados .....	33
Figura 10. Imágenes TEM de MWCNTs funcionalizados .....	34
Figura 11. Curva TGA obtenida para los MWCNTs funcionalizados en presencia de $HNO_3$ y $H_2SO_4$ .....	35
Figura 12. Curva TGA obtenida para el CDDP ligado a los MWCNTs.....	36
Figura 13. Comparación entre los espectros RAMAN de MWCNTs y MWCNTs+ CDDP.....	37
Figura 14. Espectros FTIR obtenidos para a) MWCNTs–COOH b) CDDP y c) MWCNTs–COOH–CDDP .....	38

## LISTADO DE TABLAS

Tabla 1. Relación y cantidad de sustancia que conforman el catalizador.....	22
Tabla 2. Parámetros y ajustes en el proceso de CVD .....	24
Tabla 3. Características de la membrana usada en la filtración de MWCNTs. ....	25

## LISTADO DE ANEXOS

ANEXO A. ESTRUCTURAS ELEMENTALES DEL CARBONO .....	58
ANEXO B. TIPOS Y PROPIEDADES DE NANOTUBOS DE CARBONO .....	59
ANEXO C. VÍAS MÁS IMPORTANTES DE ENTREGA DE FÁRMACOS.....	61
ANEXO D. SISTEMAS DE ENTREGA DE FÁRMACO A ESCALA NANO .....	62
ANEXO E. NANOPARTÍCULAS: USOS Y APLICACIONES EN BIOMEDICINA...	65
ANEXO F. ILUSTRACIÓN DE NANOTRANSPORTADORES USADOS FRECUENTEMENTE EN DDS PARA TRATAMIENTOS CONTRA EL CÁNCER.	75
ANEXO G. DIFERENCIAS ENTRE TEJIDO NORMAL Y TEJIDO CANCERÍGENO, Y TIPOS DE ENTREGA DE FÁRMACO.....	76
ANEXO H. COMPUESTOS A BASE DE PLATINO USADOS PARA ACTIVIDADES BIOLÓGICAS.....	78
ANEXO I. ADUCTOS FORMADOS ENTRE EL CISPLATINO Y EL DNA .....	79
ANEXO J. HOJAS DE INFORMACIÓN DE CDDP SIGMA-ALDRICH® .....	80
ANEXO K. MECANISMO DE ACCIÓN DE CDDP .....	82
ANEXO L. DESCRIPCIÓN GRÁFICA DEL OBJETIVO DEL PROYECTO REALIZADO.....	83
ANEXO M. MÉTODOS DE SÍNTESIS DE CNTs .....	84
ANEXO N. INFORMACIÓN ADICIONAL DE LA SÍNTESIS DE LOS MWCNTs POR CVD .....	85
ANEXO O. INFORMACIÓN ADICIONAL DE LA FUNCIONALIZACIÓN DE LOS MWCNTs .....	89
ANEXO P. INFORMACIÓN ADICIONAL DE LA SOLUBILIZACIÓN DE LOS MWCNTs .....	91
ANEXO Q. CARACTERIZACIONES.....	93
ANEXO R. CÁLCULOS Y RESULTADOS ADICIONALES.....	95

## RESUMEN

**TÍTULO:** ESTUDIO DE CISPLATINO LIGADO A NANOTUBOS DE CARBONO DE PAREDES MÚLTIPLES FUNCIONALIZADOS Y SOLUBILIZADOS, PARA EL TRATAMIENTO DE GLIOBLASTOMA.\*

**AUTOR:** JESÚS ANDRÉS NUNCIRA VALENCIA\*\*

**PALABRAS CLAVES:** Nanotubos de carbono de paredes múltiples, cisplatino, glioblastoma, citotoxicidad, sistema de entrega de fármaco.

**DESCRIPCIÓN:** El glioblastoma (GBM) es el tumor cerebral primario más común y agresivo del Sistema Central Nervioso (CNS). La gran resistencia de este a muchos agentes anticancerígenos conlleva a que las terapias existentes sean poco eficientes. El Cisplatino (CDDP), es un fármaco ampliamente usado como agente antineoplásico en terapias contra el cáncer debido a su alta toxicidad sobre objetivos biológicos. Una vez dentro de la célula, el CDDP interactúa negativamente con el DNA de esta, provocando un bloqueo en el ciclo celular y posteriormente la muerte por apoptosis. Los Nanotubos de Carbono (CNT) son materiales que poseen propiedades físicas y químicas extraordinarias, además de su alta relación longitud-diámetro. Estas características los hacen materiales prometedores y únicos para aplicaciones en áreas como nanomedicina y nanobiotecnología, actuando como portadores y transportadores de drogas y/o fármacos.

En este trabajo de grado se estudió el diseño de un Sistema de Entrega de Fármaco (DDS) compuesto por CDDP ligado a la superficie de CNTs de tipo paredes múltiples (MWCNT) mediante interacciones químicas. Los MWCNTs siguieron un protocolo establecido de síntesis, funcionalización, esterilización y solubilización; se caracterizaron mediante técnicas espectroscópicas vibracionales, térmicas y de microscopía electrónica. El CDDP fue previamente caracterizado mediante espectroscopía Raman y de infrarrojo.

Los resultados de este estudio mostraron que los MWCNTs cumplían con las características para conformar un DDS. Finalmente, la caracterización mostró un diseño exitoso del DDS al comprobarse la correcta ligación de CDDP a los MWCNTs, paso preliminar a futuros ensayos biológicos y estudio de escalamiento del proceso de preparación.

---

\* Proyecto de grado.

\*\* Facultad de Ingenierías Físicoquímicas, Escuela de Ingeniería Química. Directores: PhD. Gilles Henri Gauthier, PhD. Luiz Orlando Ladeira; Codirectora: PhD. Lúcia Maria de Andrade.

## ABSTRACT

**TITLE:** STUDY OF CISPLATIN BOUNDED TO FUNCTIONALIZED AND SOLUBILIZED MULTI-WALL CARBON NANOTUBES, FOR GLIOBLASTOMA TREATMENT.\*

**AUTHOR:** JESÚS ANDRÉS NUNCIRA VALENCIA\*\*

**KEYWORDS:** Multi-walled carbon nanotubes, cisplatin, glioblastoma, cytotoxicity, drug delivery system.

**DESCRIPTION:** Glioblastoma (GBM) is the most common and aggressive Central Nervous System (CNS) primary brain tumor. The high resistance of such tumor makes existing therapies being inefficient. Cisplatin (CDDP) is a widely used drug acting as an anticancer agent in cancer therapy because of its high toxicity on biological targets. Once inside the cell, CDDP adversely interacts with cell DNA, resulting in cell cycle blocking and subsequent death by apoptosis. Carbon Nanotubes (CNT) are materials that have outstanding chemical and physical properties, in addition to its high ratio length-diameter. These characteristics make them promising and unique materials for applications in areas such as nanomedicine and nanobiotechnology, acting as drug carriers.

Our work deals with the design of a Drug Delivery System (DDS) formed by CDDP linked by chemical interactions to the CNT surface (Multi-Walled type). The MWCNTs followed an established synthesis, functionalization, solubilization and sterilization protocol; they were characterized by vibrational spectroscopy, thermal analysis and electron microscopy techniques. CDDP was previously characterized by Raman spectroscopy.

The results of the study showed that the MWCNTs characteristics were able to obtain a DDS. Finally, the characterization showed a successful design of the DDS showing CDDP molecules successfully linked at the MWCNTs surface, what is consist of preliminary steps for future bioassays and scaling study of the preparation process.

---

\* Degree work

\*\* Physical-Chemistry Engineering Faculty, Chemical Engineering School. Directors: PhD. Gilles Henri Gauthier, PhD. Luiz Orlando Ladeira; Co-director: PhD. Lídia Maria de Andrade.

## NOTACIONES

AFM = Atomic Force Microscopy

APS = American Physical Society

CDDP = Cisplatino

CNS = Central Nervous System

CNT = Carbon Nanotube

CVD = Chemical Vapor Deposition

DDS = Drug Delivery System

DNA = Deoxyribonucleic acid

EPR = Enhanced Permeability and Retention

EDX = Energy-Dispersive X-ray Spectroscopy

FTIR = Fourier Transform Infrared Spectroscopy

GBM = Glioblastoma, Glioblastoma Multiforme

MWCNT = Multi-Walled Carbon Nanotube

MWCNT-COOH = Nanotubo de Carbono Carboxilado

MWCNT-COOH-CDDP = Sistema Nanotubo de Carbono Carboxilado-Cisplatino

NP = Nanoparticles

SEM = Scanning Electron Microscopy

SWCNT = Single-Walled Carbon Nanotube

TEM = Transmission Electron Microscopy

TGA = Thermogravimetric Analysis

UV-vis = Ultraviolet–Visible Spectroscopy

## INTRODUCCIÓN

En el año 1959, el físico norteamericano Richard Feynman, expuso para la Sociedad Americana de Física (APS) su lectura titulada “There’s Plenty of Room at the Bottom”. En su intervención, Feynman propuso la posibilidad de manipular materiales a escala atómica y molecular, a lo cual llamó proceso de miniaturización, mediante el diseño y construcción de nuevas estructuras y dispositivos a partir de entidades moleculares o supramoleculares, invirtiendo así la visión tradicional de diseñar y construir a escala macro y micro, para hacerlo a escala nano [1]. De esta manera, Feynman introducía lo que años después se conocería como la ciencia de la nanotecnología.

La nanotecnología (Norio Taniguchi, 1974) puede ser definida como la ciencia e ingeniería encargada del diseño, síntesis, caracterización y aplicación de los materiales y dispositivos cuya organización funcional se encuentra a escala nanométrica (1 – 100 nm) [2,3]. En los últimos años, la nanotecnología se ha venido desarrollando a pasos agigantados, dando como resultado aplicaciones extraordinarias en diferentes áreas como por ejemplo la biomedicina y la nanobiotecnología [4,5]. El uso de la nanociencia y la nanotecnología representa una enorme ventaja sobre el cuidado y tratamiento de la salud humana, debido a su gran potencial en el desarrollo de fármacos, descontaminación de aguas, tecnologías de información y comunicación, producción de materiales fuertes y ligeros, entre otras [6]. Los materiales y dispositivos producidos a escala micro con la ayuda de la nanotecnología, presentan propiedades extraordinarias debido a la presencia de efectos cuánticos, gran área superficial y reducción de tamaño, ideales para aplicaciones en diversas áreas de la ciencia y tecnología [7,8].

## **NANOTUBOS DE CARBONO – CNT**

De los materiales creados por el hombre usando la nanotecnología se destacan los nanotubos de carbono (Lijima, 1991), nano–objetos formados a partir de hojas de grafeno que pueden ser de paredes simples (SWCNT) o múltiples (MWCNT) [9]. Estos CNTs, debido a sus excelentes propiedades físicas y químicas, son nanomateriales con aplicaciones potenciales en biomedicina y ciencias de la salud [10], al tener un comportamiento tolerable por el organismo humano y un buen rendimiento al momento de tratar enfermedades y lesiones.

Un CNT es una forma metaestable de carbono como resultado del enrollamiento de un plano de átomos de carbono en hibridación  $sp^2$  en forma de cilindros con diámetro del orden de 1 nanómetro y longitud del orden de 3 – 10 micrómetros (ANEXO A). Este material es considerado un sistema unidimensional (1D) con posibilidad de confinamiento cuántico de los electrones; de hecho tiene la capacidad de comportarse como un metal o un semiconductor. La unión covalente entre sus átomos proporciona a los CNTs características como alta resistencia mecánica, alta conductividad térmica y eléctrica y propiedades ópticas únicas. Los CNTs son materiales prometedores para aplicaciones en catálisis, sensores, electrónica, almacenamiento de energía, dispositivos de emisión de campo, instrumentación, membranas, compuestos poliméricos, nanomedicina y nanobiotecnología [30-37].

**Nanotubos de carbono de pared sencilla (SWCNT):** Formados a partir del enrollamiento de una hoja de grafeno (ANEXO B). Su diámetro interno puede variar entre 0,4 y 2,5 nm y su longitud puede alcanzar el orden de los milímetros. Su temperatura de síntesis es mayor (900 – 1200 °C) respecto a los MWCNTs [30,36,38].

**Nanotubos de carbono de paredes múltiples (MWCNT):** Formados a partir del enrollamiento de múltiples hojas de grafeno (ANEXO B) con espaciamiento entre hojas de aproximadamente 0,34 nm. El diámetro del tubo interno varía entre 1 y 3

nm, mientras que el del tubo externo varía entre 2 y 100 nm. Estos nanotubos se mantienen unidos mediante interacciones de tipo Van Waals y su temperatura de síntesis es menor (600 – 900 °C) respecto a los SWCNTs [30,36,38]. El anterior rango de temperatura evidencia una baja energía de formación para los MWCNTs y por ende, un gasto energético menor debido presumiblemente a los diámetros de mayor tamaño y baja energía de deformación. Además, este rango de temperatura de síntesis favorece el fácil crecimiento a partir de muchos hidrocarburos a diferencia de los SWCNTs que necesitan hidrocarburos selectos para poder crecer [39].

Además de las propiedades mencionadas anteriormente, los CNTs tienen la capacidad de interactuar con otros compuestos químicos mediante diferentes mecanismos, formando sistemas más estables y eficientes con características novedosas con el fin de mejorar el rendimiento y la función para lo cual fueron diseñados e implementados. Una aplicación bien conocida hoy día es la entrega de fármaco, utilizada ampliamente para el tratamiento de enfermedades complejas como el cáncer [11,12].

### **SISTEMAS DE ENTREGA DE FÁRMACO – DDS**

Un DDS consiste en el proceso de administrar fármacos con el fin de lograr los máximos beneficios terapéuticos en humanos o animales (ANEXO C). El objetivo principal del desarrollo de nuevos DDSs es promover los efectos terapéuticos de los fármacos mediante el incremento de la biodisponibilidad de este, la disminución de los efectos secundarios y prevención de toxicidad en los alrededores de las regiones en dónde se ejecuta el fármaco, y la minimización de la degradación y pérdida de este agente [19-22].

**Componentes de un DDS:** Un DDS generalmente está conformado por tres agentes (ANEXO D):

**Agente transportador o vehículo:** encargado de interactuar, proteger y llevar hasta su objetivo al fármaco. Puede ser de múltiples características y diferente naturaleza. Las nanopartículas (NP), debido a sus propiedades físicas y químicas, son ampliamente utilizadas como vehículos cuando se requiere diseñar un DDS (ANEXO E). Entre los nanotransportadores más utilizados se encuentran proteínas, micelas, nanopolímeros, dendrímeros, nanocápsulas, nanobastones, nanocables, nanoporos, puntos cuánticos, fulerenos, liposomas y por supuesto CNTs que son de especial interés en este proyecto (ANEXO F) [13,14,23].

**Agente quimioterapéutico:** son fármacos y drogas con características y comportamientos únicos sobre un determinado proceso biológico. Su función es ejecutarse selectivamente sobre una región por la cual presenta una mayor afinidad, en comparación a otras regiones [13,14,24].

**Agentes complementarios:** encargados de mejorar el rendimiento del DDS, haciéndolo más efectivo y selectivo en menos tiempo y en concentración baja. Entre los agentes comúnmente usados se encuentran proteínas, genes, surfactantes, factores afines a receptores sobreexpresados, anticuerpos, entre otros [13,14,25,26].

**Mecanismos de entrega de fármaco:** La entrega selectiva de fármaco se define como la habilidad para direccionar un DDS hacia un sitio de interés. Existen tres mecanismos (ANEXO G), en los cuales el fármaco es liberado y ejecutado sobre el sitio deseado [27].

**Entrega pasiva:** Basado en el efecto de aumento de permeabilidad y retención (EPR) [28], consiste en la acumulación preferencial por parte de los agentes quimioterapéuticos sobre los tumores sólidos, como resultado del aumento de la permeabilidad vascular en tejidos malignos en comparación con tejidos normales [29].

**Entrega activa:** Consiste en ligar a la superficie de una NP que contiene el fármaco, un factor que tenga afinidad y selectividad por algún receptor de la célula que se encuentre sobreexpresado en su superficie para que puedan interactuar, y así el transporte del agente quimioterapéutico hacía su objetivo se logre de manera más efectiva [27].

**Entrega magnética:** Recientemente estudiada, esta entrega consiste en guiar las NPs magnéticas hacía su objetivo, utilizando campos magnéticos [28,29].

## **AGENTES QUIMIOTERAPÉUTICOS**

La quimioterapia es uno de los tratamientos más importantes contra el cáncer y es comúnmente usado en conjunto con procedimientos como cirugía y radioterapia. La función de los agentes quimioterapéuticos es ejecutarse en concentraciones suficientes sobre células malignas, minimizando los efectos secundarios que puedan presentarse. Sin embargo, la función de estos agentes se ve limitada debido a su pobre solubilidad, rápida degradación, distribución ineficiente, inhabilidad de atravesar barreras celulares e incapacidad de diferenciar entre células normales y cancerígenas [42]. Los avances en los DDSs utilizando la quimioterapia han enfocado muchas investigaciones hacía el uso de fármacos a base de platino [40]. Entre las investigaciones y tecnologías utilizadas, los CNTs combinados con agentes antineoplásicos se destacan por su gran rendimiento y su reducción en los efectos secundarios en pacientes tratados con este tipo de fármacos [41].

**Compuestos a base de platino:** Constituyen un selecto grupo de agentes quimioterapéuticos (ANEXO H) para el tratamiento de un amplio número de tumores malignos [43,44]. Sus mecanismos de acción son interactuar negativamente con el DNA de las células malignas y provocar aductos de tipo

intracatenarios e intercatenarios (ANEXO I) con el fin de afectar los procesos vitales celulares como la transcripción y la replicación, teniendo como consecuencia la muerte de las células tumorales por apoptosis [45,46]. A pesar de su extraordinaria efectividad, las dosis de estos compuestos están limitadas a raíz de problemas de nefrotoxicidad, neurotoxicidad y mielosupresión [47,48].

**Cisplatino:** Es un compuesto a base de platino con comportamiento antineoplásico. Fue descubierto en los años 60's por el biofísico Barnett Rosenberg como un inhibidor del crecimiento de la *E. coli* [50]. El cisplatino, cis-diamminedichloroplatinum (II) o CDDP (ANEXO J), es un fármaco anticancerígeno ampliamente usado para tratar cáncer de testículo, ovario, esófago, vejiga, mama, cabeza, cuello y pulmón; siendo también utilizado en el tratamiento de los gliomas, sarcomas y leucemia [15,51,55]. Una vez dentro de la célula, el CDDP sufre una reacción de hidrólisis, que lo convierte en la molécula  $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}(\text{OH}_2)]^+$  cargada positivamente y altamente reactiva, encargada de generar lesiones en el DNA de la célula maligna [52] [53], ya sea por entrecruzamientos de tipo intracatenario o intercatenario (ANEXO K) [46]. Una de las grandes desventajas del CDDP es su gran toxicidad presente en regiones alejadas de sus objetivos biológicos como por ejemplo en las células normales [15]. También se reporta poca estabilidad cuando entra en contacto con proteínas del plasma, provocando en algunos casos nefrotoxicidad y dificultad de filtración en los riñones [54].

### **GLIOBLASTOMA – GBM**

El GBM es el tumor cerebral primario más común y más agresivo del Sistema Nervioso Central (CNS) [58]. Representa cerca del 20% de todos los tumores cerebrales primarios en la población adulta, y cerca del 75% de todos los gliomas anaplásicos [16,17,56]. A pesar de las técnicas utilizadas para tratar esta enfermedad (cirugía, radioterapia, quimioterapia), los resultados suelen ser poco alentadores ya que las terapias usadas son poco eficientes, y además el tumor ha

logrado desarrollar resistencia a ciertos agentes utilizados como tratamiento. En muchos casos, no existe una entrega exitosa de estos agentes anticancerígenos [18]. La prevalencia del GBM es alrededor de 2 a 4 casos por cada 100000 personas. Este tipo de cáncer es más común en hombres que en mujeres, y su incidencia aumenta con la edad de las personas [57]. La media de sobrevida para pacientes con GBM oscila entre los 3 y 14 meses, dependiendo del tratamiento utilizando para su control (cirugía, radioterapia, quimioterapia) [59,57].

El éxito de las terapias anticancerígenas es debido a factores como: alta efectividad, eficiencia y selectividad, efectos secundarios nulos o leves, rápida entrega y ejecución, entre otras. En este contexto, diseñar e implementar un sistema de entrega de fármaco resulta una manera prometedora para lograr las características mencionadas anteriormente.

El objetivo principal de este proyecto fue diseñar y caracterizar un sistema de entrega de fármaco a base de Cisplatino ligado a Nanotubos de Carbono de Paredes Múltiples funcionalizados con grupos carboxílicos (COOH), usando interacciones químicas y técnicas de imagen, térmicas y espectroscópicas, para que en ensayos posteriores interactúe de manera negativa con el DNA de determinadas líneas celulares de Glioblastoma, provocando una interrupción en el ciclo celular y finalmente la muerte de estas por apoptosis y así, controlar la proliferación del tumor (ANEXO L).

## 2 DESCRIPCIÓN METODOLÓGICA

La metodología desarrollada en esta investigación se muestra a continuación:

**Figura 1.** Diagrama de bloques de la metodología usada.



### 2.1 SÍNTESIS DE LOS NANOTUBOS DE CARBONO

Diversas técnicas de síntesis de CNTs han sido desarrolladas desde su descubrimiento (ANEXO M). Para este trabajo se utilizó la Deposición Química de Vapor (CVD) para la producción de CNTs de tipo MWCNTs [60].

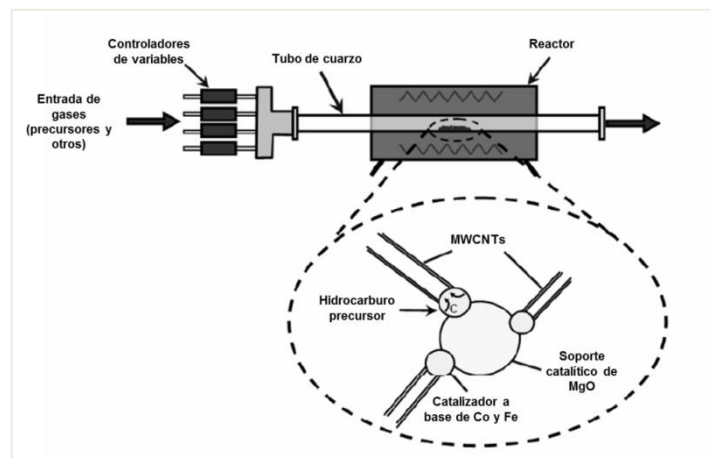
**2.1.1 Deposición Química de Vapor – CVD:** Este tratamiento térmico consistió en separar carbono e hidrógeno a partir de un precursor en presencia de un catalizador a altas temperaturas dentro de un reactor (ANEXO N) [39]. El catalizador utilizado, de morfología granular, fue a base de una mezcla pura de nanopartículas de cobalto (Co) y hierro (Fe), soportado en óxido de magnesio (MgO) en proporciones 2:1:0,5 (en peso) respectivamente (Tabla 1).

**Tabla 1.** Relación y cantidad de sustancia que conforman el catalizador.

CATALIZADOR Fe-Co/MgO		
Elemento/Compuesto	Relación	Cantidad (mg)
Co	2	118,5
Fe	1	59,25
MgO	0,5	29,63
	<b>Total</b>	207,4

El equipo utilizado fue un sistema comercial de CVD Easy Tube fabricado por First Nano Inc., y las variables del proceso (temperatura de reacción, flujos de entrada, presión, tiempo de reacción) se controlaron mediante la herramienta computacional Lab–VIEW de National Instruments. En la Figura 2 se ilustra un esquema general del arreglo utilizado.

**Figura 2.** Esquema general del arreglo de CVD usado.



**Fuente.** Modificado de [30]

**2.1.2 Proceso de Síntesis:** Se pesaron 207,4 mg de catalizador en una balanza Metter Toledo AT201 PRO FACT ( $\pm 0,01$ ). Seguidamente esta cantidad se depositó de manera uniforme usando una espátula sobre una placa de cuarzo y finalmente se introdujo dentro de un tubo de cuarzo en el equipo de CVD (sistema abierto). Posteriormente se abrieron de forma manual las válvulas de flujo del sistema y se ajustó el control automático de temperatura de reacción, flujos de entrada, presión y tiempo de reacción del proceso usando la herramienta computacional mencionada anteriormente. Finalmente, mediante esta misma herramienta se cerró el sistema y se dio inicio al proceso de síntesis.

Durante este proceso, un flujo de  $500 \text{ cm}^3/\text{min}$  de argón (Ar) pasó a través del reactor tubular por un tiempo de 15 minutos, entrando en contacto con el catalizador depositado en la placa de cuarzo, hasta que se llegó a la temperatura de reacción. Cuando la temperatura del sistema alcanzó los  $750 \text{ }^\circ\text{C}$ , la válvula de

flujo de etileno ( $C_2H_4$  – precursor) se abrió y un flujo de  $300\text{ cm}^3/\text{min}$  pasó a través de todo el reactor dando inicio a una reacción de tipo exotérmica descomponiendo el  $C_2H_4$  en hidrógeno y carbono al interactuar con el catalizador por un tiempo de 30 minutos. Durante este proceso, el hidrógeno fue separado del sistema al ser arrastrado por el Ar, mientras que el carbono se disolvió sobre el catalizador dando formación a los MWCNTs. Una vez el carbono alcanzó el límite de solubilidad sobre el catalizador a  $750\text{ }^\circ\text{C}$ , se precipitó y cristalizó formando redes cilíndricas energéticamente estables (nanotubos de carbono). Cumplidos los 30 minutos de reacción las válvulas de flujo se cerraron y se esperó por 15 minutos mientras la temperatura del sistema se estabilizaba. Posteriormente el sistema fue abierto y se procedió a retirar los MWCNTs producidos. Estos MWCNTs registraron una masa de 5023 mg.

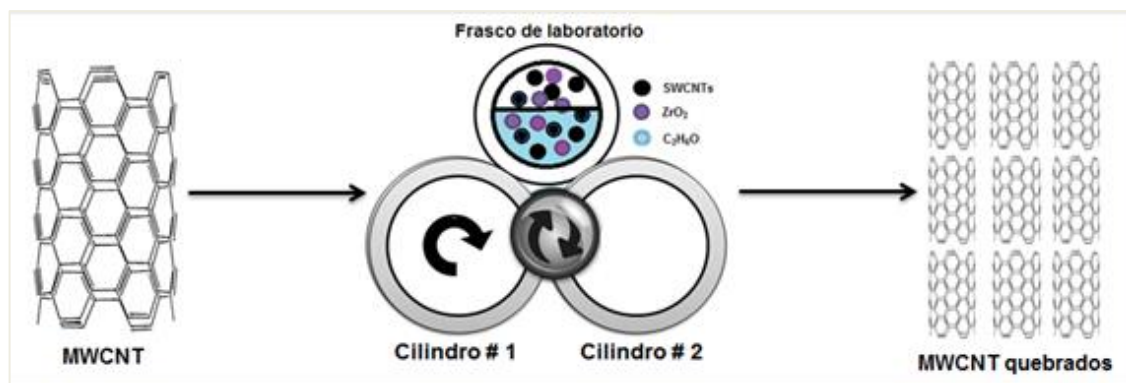
En la Tabla 2 se presentan los parámetros y ajustes usados en el proceso y sus respectivos valores.

**Tabla 2.** Parámetros y ajustes en el proceso de CVD

<b>MÉTODO CVD</b>		
<b>Parámetro – Ajuste</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Unidades</b>
Catalizador usado	207,4	mg
Flujo de entrada de $C_2H_4$	300	$\text{cm}^3/\text{min}$
Flujo de entrada de Ar	500	$\text{cm}^3/\text{min}$
Presión de operación	1	atm
Temperatura de reacción	750	$^\circ\text{C}$
Tiempo de reacción	30	min
Tiempo total de proceso	60	min
MWCNTs producidos	5023	mg

**2.1.3 Tratamiento pos-CVD:** Los MWCNTs obtenidos a partir de la síntesis se depositaron en una frasco de laboratorio de 500 mL junto con esferas de zirconia ( $ZrO_2$ ) y etanol ( $C_2H_6O$ ) y fueron sometidos a un proceso de agitación a 40 rpm por un tiempo de 72 horas (ANEXO N) con el fin de quebrar y reducir su tamaño para que pudieran fácilmente atravesar membranas y barreras celulares (Figura 3). Cumplidas las 72 horas, los MWCNTs fueron almacenados y etiquetados con un código de identificación para su posterior funcionalización.

**Figura 3.** Esquema del procedimiento usado para quebrar los MWCNTs.



## 2.2 FUNCIONALIZACIÓN DE LOS NANOTUBOS DE CARBONO

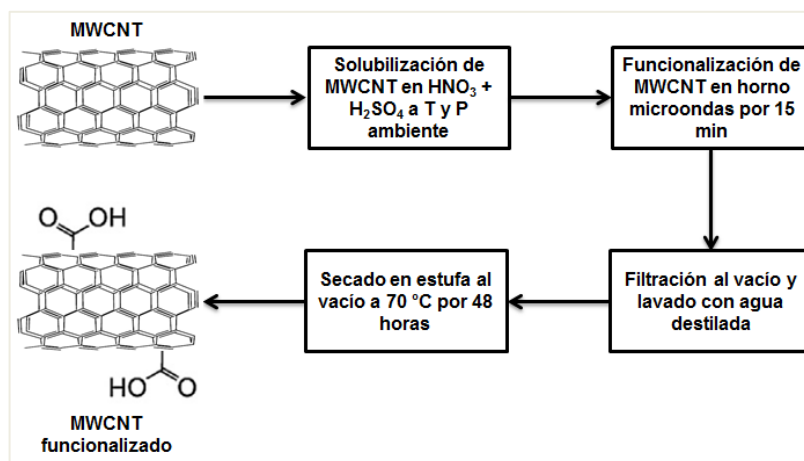
5,023 g de MWCNTs producto de la síntesis anterior se separaron en 5 muestras de aproximadamente 1 g, pesadas en una balanza Metter Toledo AT201 PRO FACT ( $\pm 0,01$ ). Se tomó la primera muestra de MWCNTs y se depositó en un balón de laboratorio de 100 mL. Seguidamente, se le adicionó 20 mL tanto de HNO<sub>3</sub> (65% de pureza) como de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (95–98 % de pureza) y la solución resultante se agitó levemente por 5 minutos. Posteriormente, el balón fue llevado a un horno microondas Start Synth Microwave Synthesis Labstation con potencia de 550 W, por 3 ciclos, cada uno de 5 minutos en donde se dio inicio a la funcionalización a 120 °C y 1 atm (ANEXO O). Cumplidos esos 15 minutos de tratamiento térmico, la muestra fue sacada y dejada a temperatura ambiente por 10 minutos para dejar enfriarla. Enseguida, los MWCNTs contenidos en el balón fueron sometidos a un proceso de filtración al vacío (ver Tabla 3) y lavado con abundante agua destilada con el fin de ajustar su pH entre 5–6.

**Tabla 3.** Características de la membrana usada en la filtración de MWCNTs.

Características de la membrana Qualy – J. Prolab.		
Propiedad	Valor	Unidad
Tamaño de poro	14	$\mu\text{m}$
Permeabilidad de poro	14	$\text{l/s.m}^2$
Espesor	205	$\mu\text{m}$
Cenizas	0,5	%

Finalmente, la solución de MWCNTs funcionalizados (MWCNTs–COOH) se depositó en un vaso de precipitado de 1 L, y fue llevada a una estufa al vacío Brasimet Heraeus para secarlos a 70 °C por un periodo de 48 horas. Este proceso se repitió para las 4 muestras restantes de MWCNTs sin funcionalizar. En la Figura 4 se ilustra el procedimiento realizado.

**Figura 4.** Esquema del procedimiento de funcionalización de MWCNTs.

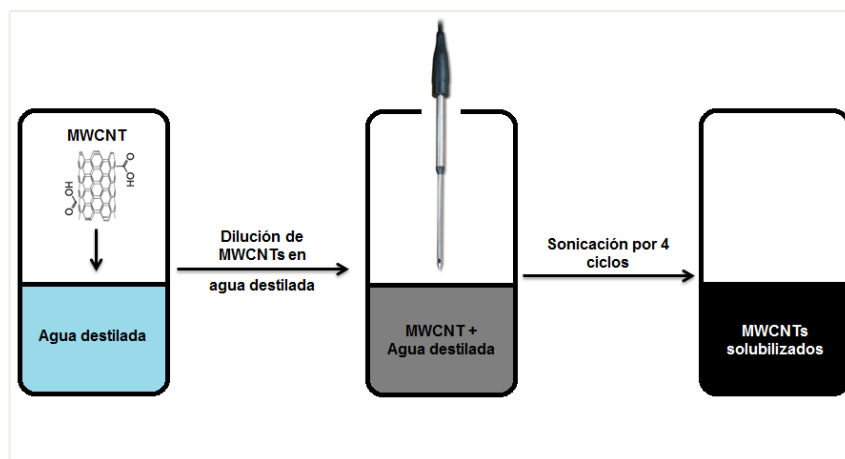


### 2.3 SOLUBILIZACIÓN DE LOS NANOTUBOS DE CARBONO

5 mg de MWCNTs–COOH se pesaron en una balanza Metter Toledo AT201 PRO FACT ( $\pm 0,01$ ) y posteriormente fueron disueltos dentro de un vaso de precipitado con 100 mL de agua destilada. La solución resultante se sometió a sonicación usando un equipo SONICS VIBRA CELL de 500 W de potencia por 4 ciclos, cada uno de 15 minutos, con una amplitud de 30% para los dos primeros ciclos y una de 40% para los dos últimos ciclos con el fin de garantizar la presencia de MWCNTs–COOH solubilizados en la muestra. La aguja del equipo se lavó con agua destilada antes y al finalizar el experimento (ANEXO P). Una vez terminó el proceso de sonicación, los MWCNTs–COOH solubilizados se depositaron en un balón aforado de 100 mL y se almacenaron en ausencia de luz para que posteriormente fueran sometidos a un proceso de esterilización.

En la Figura 5 se ilustra el procedimiento de solubilización realizado.

**Figura 5.** Esquema del proceso de solubilización de MWCNTs.



## 2.4 ESTERILIZACIÓN DE NANOTUBOS DE CARBONO

Los MWCNTs–COOH solubilizados fueron sometidos a esterilización en el Instituto de Ciencias Biológicas (ICB) de la UFMG. Allí fueron depositados dentro de una autoclave por un tiempo de 40 minutos a 120 °C. Cumplido este tiempo, los MWCNTs–COOH se solubilizaron de nuevo mediante el procedimiento descrito en el apartado 2.3.

## 2.5 LIGACIÓN DEL CISPLATINO A LOS NANOTUBOS DE CARBONO

21 mg de CDDP (99,99% de pureza) obtenido de Sigma–Aldrich® fueron pesados en una balanza Mettler Toledo AT201 PRO FACT ( $\pm 0,01$ ) y diluidos dentro de un vaso de precipitado en 100 mL de solución de MWCNTs–COOH para lograr una concentración de  $6,99 \times 10^{-4}$  M (699  $\mu$ M). La solución resultante fue agitada por 5 minutos usando un agitador magnético Corning Stirrer / Hot Plate ( $w=600$  rpm). Seguidamente, el vaso de precipitado fue protegido con papel de aluminio y finalmente la muestra fue almacenada en ausencia de luz por un periodo de 24 horas. Cumplido este tiempo, la solución MWCNTs–COOH–CDDP fue llevada al equipo de sonicación SONICS VIBRA CELL de 500 W de potencia para su agitación por 3 ciclos, cada uno de 15 minutos (con amplitud de 40%), esperando

2 minutos entre ciclos y siguiendo el mismo protocolo de lavado descrito anteriormente (ver sección 2.3).

Finalmente, la solución MWCNTs–COOH–CDPP fue sometida a filtración al vacío con el objetivo de remover el CDDP en suspensión presente en la muestra. Primero, la solución se filtró al vacío usando un filtro de 3  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro. En seguida, el filtro se lavó 3 veces con agua destilada bajo la acción de la bomba al vacío. Después se observó la formación de una película negra sobre el filtro lavado, la cual indicaba presumiblemente que en la muestra no había presencia de CDDP libre. Posteriormente, el filtro se depositó en una caja de Petri y se llevó a una estufa al vacío Brasimet Heraeus para secarlo a 70 °C por un periodo de 48 horas. Cumplido este tiempo, la muestra MWCNTs–COOH–CDDP fue sometida nuevamente a solubilización cumpliendo el protocolo descrito en la sección 2.3

### 3 RESULTADOS

Mediante una relación de masas se halla el rendimiento de los nanotubos de carbono en relación a la masa de catalizador (ANEXO R(1)):

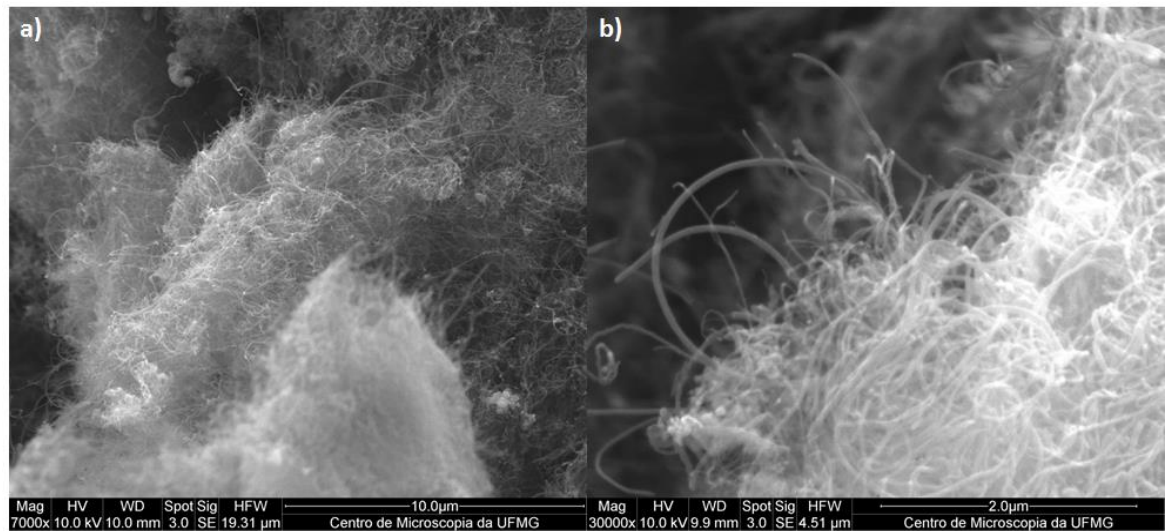
$$\% \text{MWCNTs} = 2421,89\%$$

El alto rendimiento de los MWCNTs usando una cantidad relativamente pequeña de catalizador Fe–Co/MgO cuando el precursor es C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>, evidencia la alta solubilidad y velocidad de difusión del carbono sobre los metales Fe y Co [39,61]. Además de lo anterior, la dispersión de los átomos de Fe y Co debido a la presencia del MgO, indica el buen desempeño de este soporte catalítico al entrar en contacto con estos dos metales.

#### 3.1 CARACTERIZACIÓN DE LOS NANOTUBOS DE CARBONO SIN FUNCIONALIZAR

Las imágenes por SEM de los nanotubos de carbono sintetizados por CVD mediante descomposición catalítica de C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> a 750 °C usando Fe–Co/MgO como catalizador se muestran en la Figura 6, en donde se evidencia la alta densidad de estos sobre el catalizador, estando en concordancia con el alto rendimiento obtenido en la síntesis. Además, se observa el efecto de la temperatura de producción ya que haciendo una mayor magnificación sobre la muestra (Fig. 6(b)), se pueden percibir las nanoestructuras filamentosas huecas formadas, con diámetros aparentemente uniformes debido posiblemente a la naturaleza lineal del hidrocarburo precursor que se descompone en carbonos atómicos o en dímeros/trímeros lineales de carbono [39,62,63].

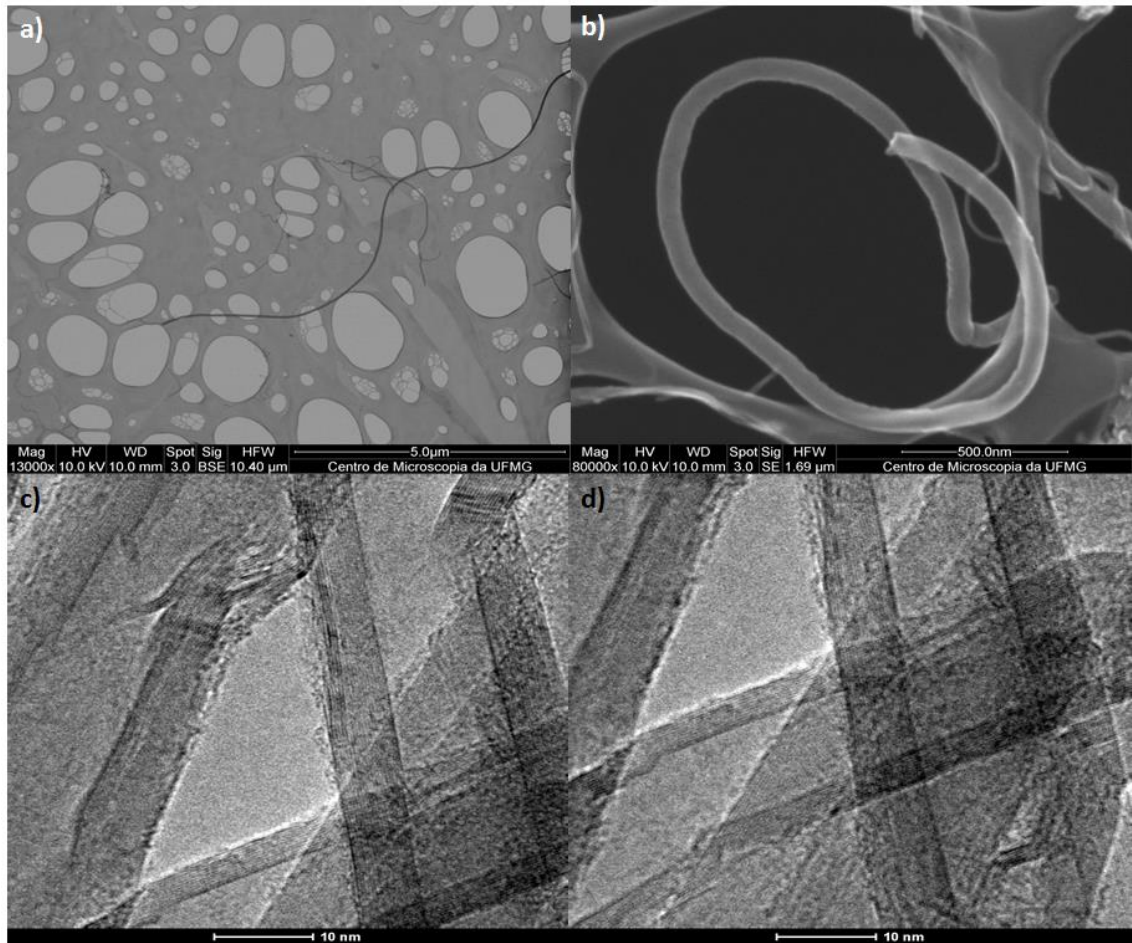
**Figura 6.** Imágenes SEM de MWCNTs producidos por CVD usando  $C_2H_4$  como precursor y Fe–Co/MgO como catalizador



**Fuente.** Centro de Microscopía UFMG

Las imágenes por TEM de los nanotubos de carbono sintetizados por CVD mediante descomposición catalítica de  $C_2H_4$  a  $750\text{ }^{\circ}\text{C}$  usando Fe–Co/MgO como catalizador se muestran en la Figura 7. Estas imágenes permiten estudiar en detalle la morfología y estructura de los MWCNTs, además de permitir hacer una cuantificación aproximada de sus dimensiones. En la Fig. 7(a) se puede confirmar su forma filamentosa (similar a un espagueti) y estructura tubular [68], mientras que la Fig. 7(b) permite observar un diámetro externo del nanotubo de aproximadamente 60 nm confirmando su naturaleza multi-wall [36]. En la Fig. 7(b) también se puede evidenciar la alta pureza de estos nanotubos, al no presentarse regiones de contrastes oscuros sobre su cuerpo. Las Figuras 7(c) y 7(d) permiten contemplar las paredes del nanotubo sustentando el análisis hecho para la Fig. 7(b) sobre su naturaleza. Al hacer una inspección visual se puede presumir que los nanotubos presentan un número de 8 paredes con un diámetro interno de aproximadamente 3 nm.

**Figura 7.** Imágenes TEM de MWCNTs producidos por CVD usando  $C_2H_4$  como precursor y Fe–Co/MgO como catalizador

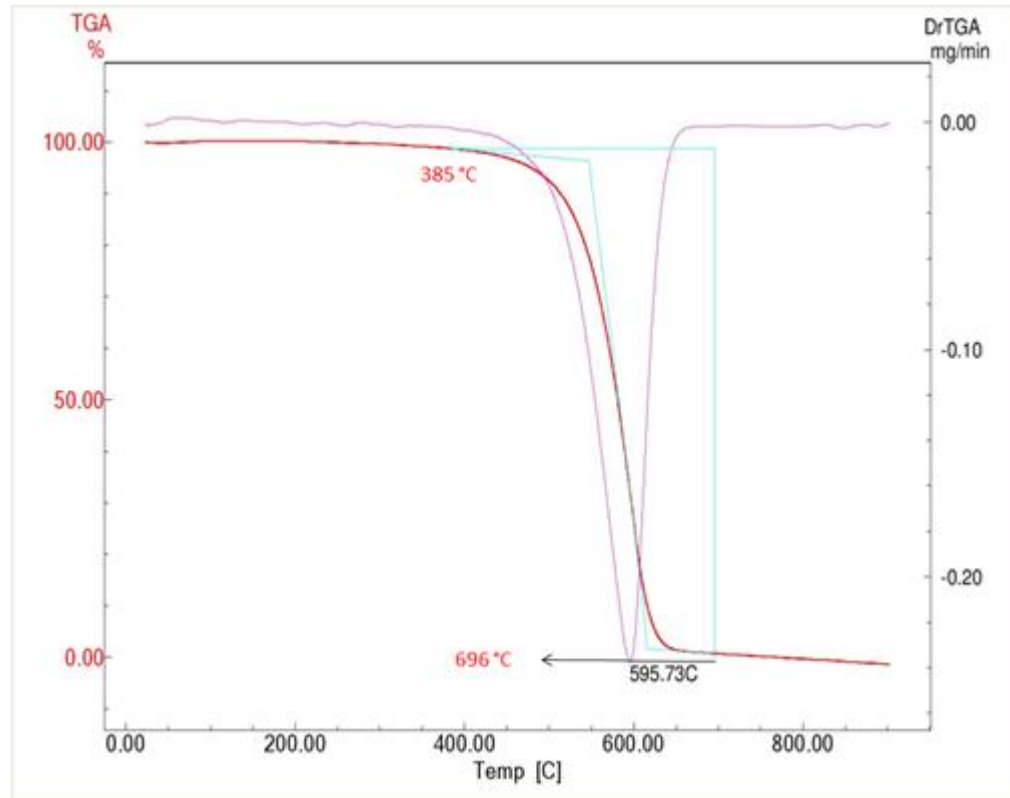


**Fuente.** Centro de Microscopía UFMG

La curva TGA obtenida para los nanotubos de carbono sintetizados por CVD mediante descomposición catalítica de  $C_2H_4$  a 750 °C usando Fe–Co/MgO como catalizador, se muestra en la Figura 8. En esta figura es posible analizar una única región de pérdida de masa comprendida entre 385 y 696 °C causada por la descomposición de nanotubos de carbono y otras formas amorfas de carbono según reporta la literatura [65]. La TGA para esta muestra calculó una pérdida de masa igual a -1,819 mg (-98,059 %) y los residuos presentes al final de la quema corresponden presumiblemente a partículas de catalizador presentes en los nanotubos y cuya eliminación de la muestra requiere de procesos complejos (ver ANEXO R(2))[36]. En relación a esta pérdida de masa es posible afirmar que los

MWCNTs presentan una alta pureza, comprobando el alto rendimiento de la técnica usada para síntesis y el gran desempeño del catalizador utilizado.

**Figura 8.** Curva TGA obtenida para MWCNTs producidos por CVD usando  $C_2H_4$  como precursor y Fe-Co/MgO como catalizador



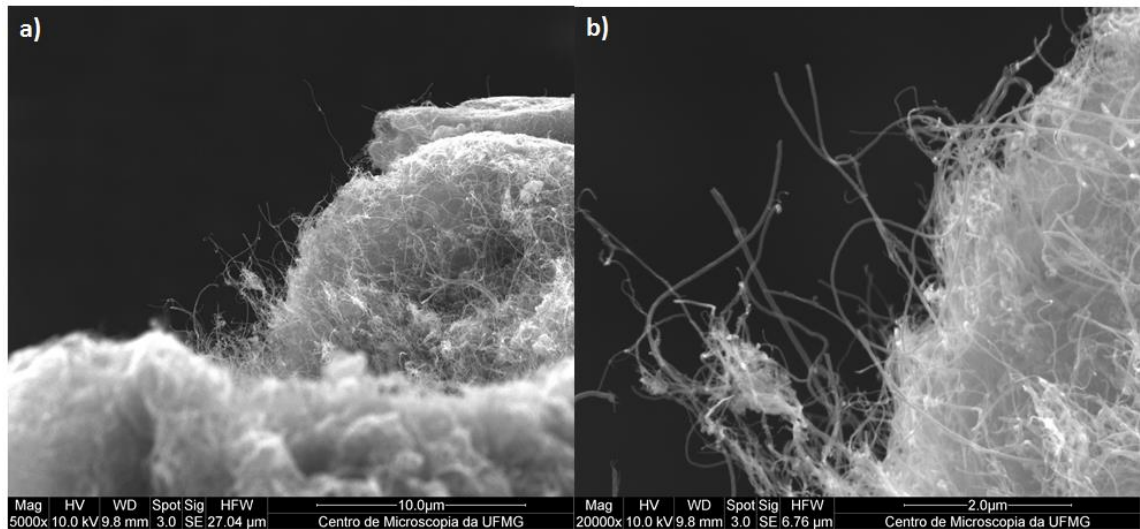
**Fuente.** Laboratorio de Nanomateriales UFMG

### 3.2 CARACTERIZACIÓN DE LOS NANOTUBOS DE CARBONO FUNCIONALIZADOS

Las imágenes por SEM de los nanotubos de carbono funcionalizados con grupos carboxílicos en presencia de  $HNO_3$  y  $H_2SO_4$ , se muestran en la Figura 9. Se pueden observar aglomerados de nanomateriales filamentosos similares a la Figura 6, indicado que una vez termina la funcionalización, los MWCNTs mantienen su morfología y estructura una vez los grupos  $COOH$  son adheridos a su superficie. La formación de los aglomerados puede ser atribuida a las débiles interacciones entre los nanotubos de grandes longitudes, debido presumiblemente

a la menor densidad de grupos COOH en su superficie, en comparación a los nanotubos sueltos que generalmente tienen una longitud menor y presentan una fuerte interacción entre ellos [30]. Los contrastes brillantes apreciados en la Fig. 9(b) al igual que en la Fig. 6(b) sugieren la presencia de pequeñas impurezas en la muestra atribuidas principalmente a restos de catalizador [30].

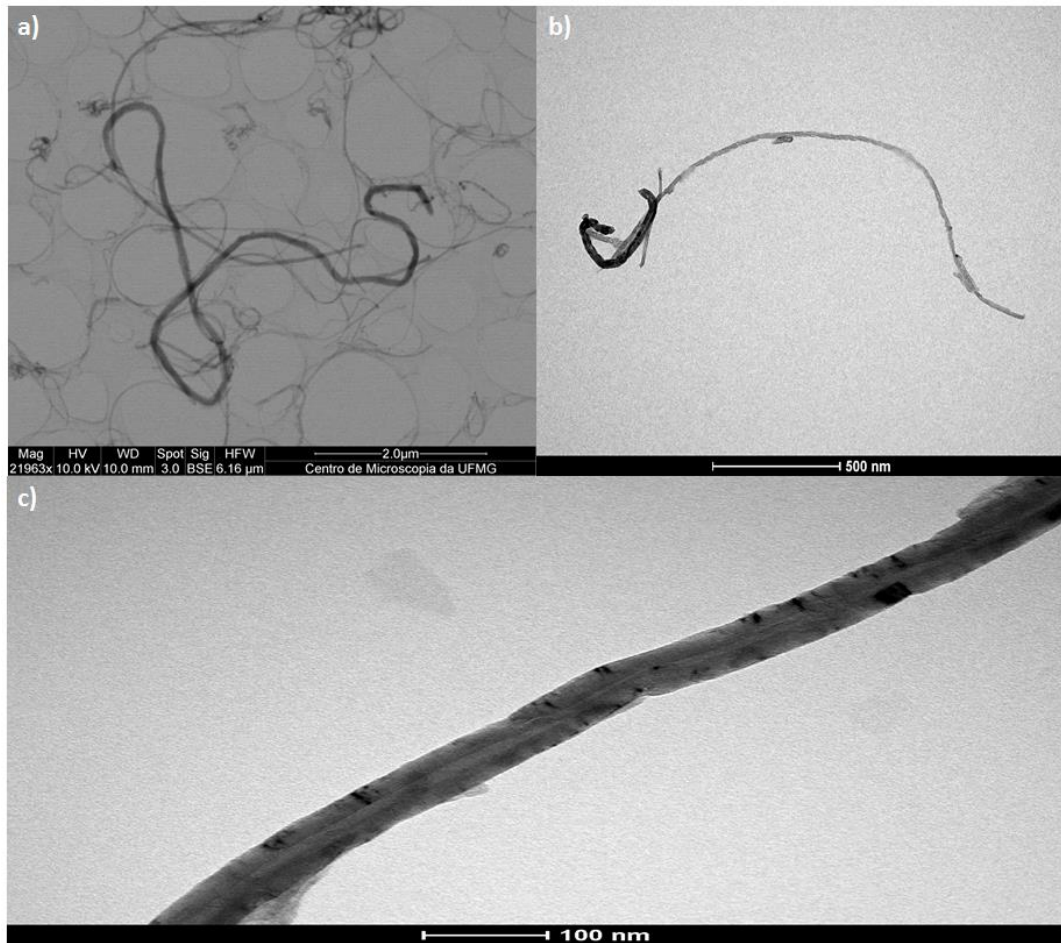
**Figura 9.** Imágenes SEM de MWCNTs funcionalizados



**Fuente.** Centro de Microscopía UFMG

Las imágenes por TEM de los nanotubos de carbono funcionalizados con grupos carboxílicos en presencia de  $\text{HNO}_3$  y  $\text{H}_2\text{SO}_4$  se muestran en la Figura 10, evidenciando una vista detallada de los MWCNTs funcionalizados en comparación a la SEM. Se puede observar una vez más que la morfología y estructura de los nanotubos funcionalizados no cambia después de someterlos al proceso de funcionalización. Al hacer una mayor magnificación (Ver Fig. 10(c)) se aprecia que el diámetro externo de los materiales filamentosos funcionalizados es de aproximadamente 65 nm y se aprecian regiones de contrastes oscuros, confirmado el análisis hecho para la Fig. 9(b) relacionado con la presencia de impurezas en el nanotubo presumiblemente formadas a partir de nanopartículas de Fe y Co.

**Figura 10.** Imágenes TEM de MWCNTs funcionalizados

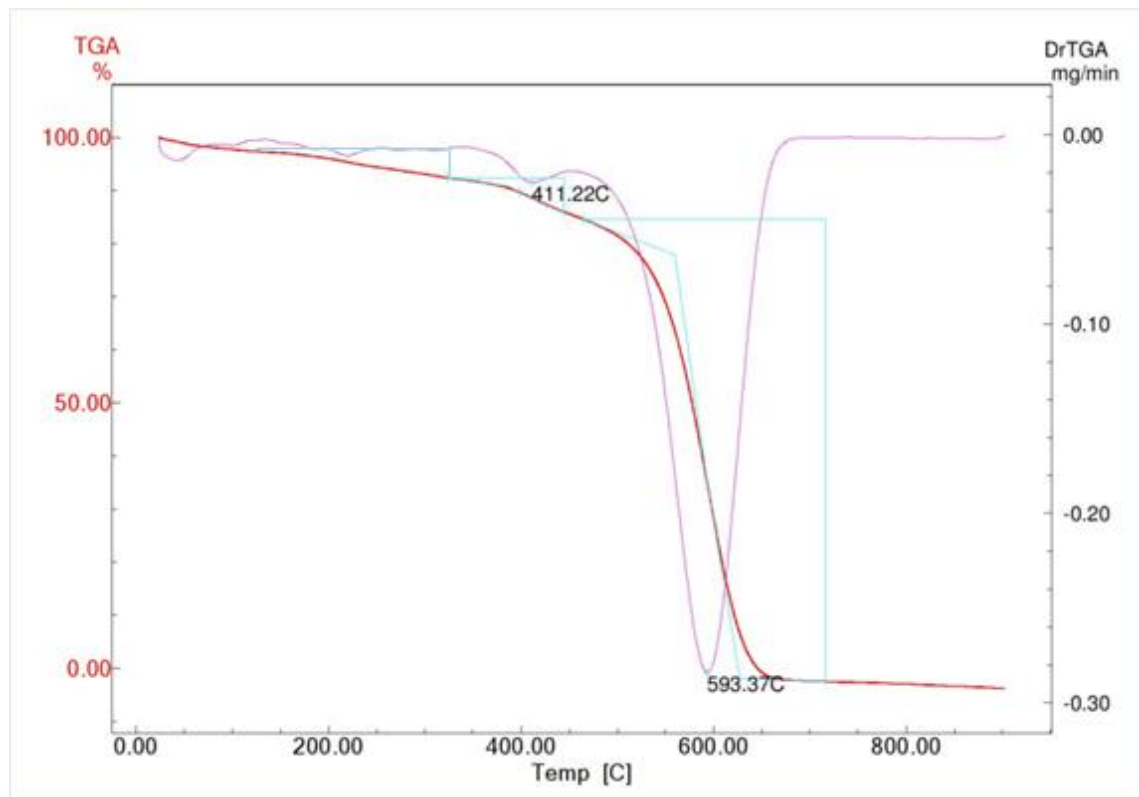


**Fuente.** Centro de Microscopia UFMG

La curva TGA obtenida para los nanotubos de carbono funcionalizados con grupos carboxílicos en presencia de  $\text{HNO}_3$  y  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , se muestra en la Figura 11. En esta figura es posible analizar dos regiones de pérdida de masa. La primera región está comprendida entre 120 y 440 °C y puede estar asociada a la descomposición de los grupos  $\text{COOH}$  presentes en los nanotubos de carbono funcionalizados [64]. La segunda región está comprendida entre 464 y 716 °C y es causada por la descomposición térmica de los nanotubos de carbono y otras formas amorfas del carbono [65]. Para esta muestra el análisis por TGA mostró una pérdida de masa de -0,185 mg (-6,459 %) para la primera región y -2,497 (-87,064 %) para la segunda región (ver ANEXO R(3)). Los residuos presentes están constituidos

básicamente por partículas metálicas de catalizador, algunos carburos metálicos u óxidos cuya eliminación es un proceso complejo.

**Figura 11.** Curva TGA obtenida para los MWCNTs funcionalizados en presencia de HNO<sub>3</sub> y H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>



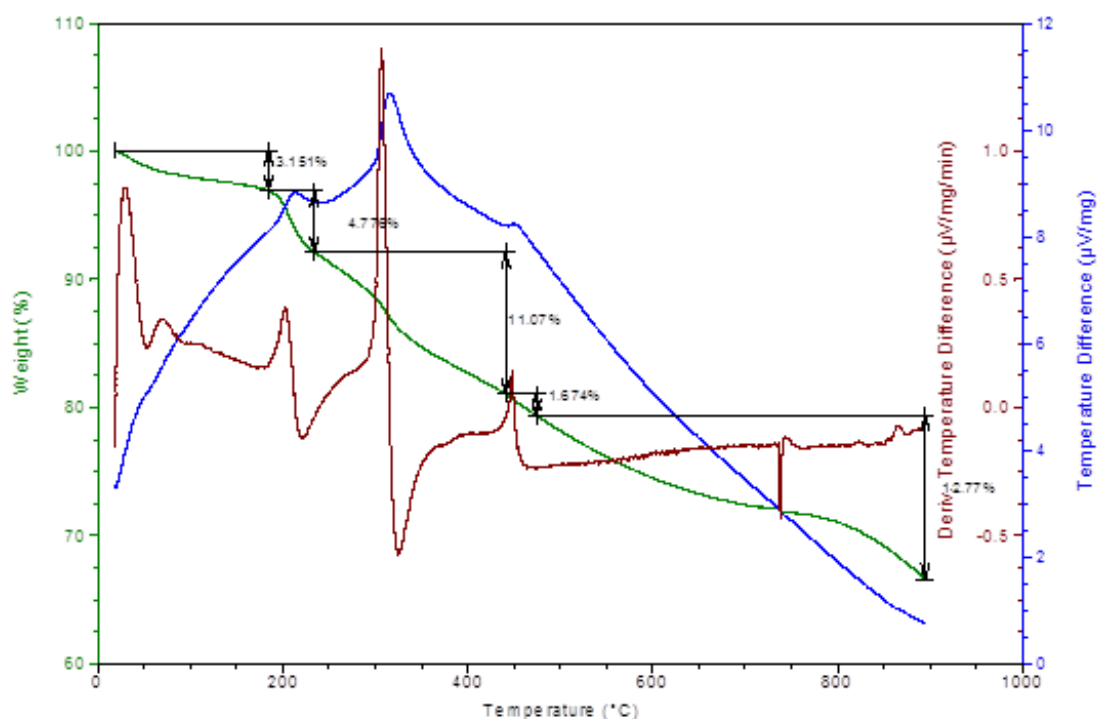
**Fuente.** Laboratorio de Nanomateriales UFMG

### 3.3 CARACTERIZACIÓN DE CISPLATINO LIGADO A NANOTUBOS DE CARBONO

La curva TGA obtenida para el CDDP ligado a los MWCNTs funcionalizados con grupos carboxílicos en presencia de HNO<sub>3</sub> y H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se muestra en la Figura 12, en dónde se observan las regiones de pérdida de masa del CDDP y los MWCNTs-COOH. Se sugiere que la primera región de pérdida comprendida entre 20 y 240 °C está asociada a la disociación de los grupos amino y la descarboxilación y deshidrogenación de los grupos COOH [71,72]. La segunda región comprendida entre 240 y 440 °C sugiere la degradación de las moléculas

de  $\text{NH}_3$  y átomos de Cl que conforman el CDDP. Finalmente, la tercera región comprendida entre 440 y 900 °C sugiere la degradación térmica de los MWCNTs y demás formas de carbono amorfo [65]. A 1000 °C los compuestos y elementos mencionados anteriormente ya han sido oxidados dejando solo la presencia de átomos de Pt (proveniente del CDDP), Fe y Co (proveniente del catalizador) en forma de residuos que representan un 65 % del peso inicial de la muestra. Estos resultados por TGA permiten indagar sobre la presencia del CDDP ligado a los MWCNTs (ver ANEXO R(4)).

**Figura 12.** Curva TGA obtenida para el CDDP ligado a los MWCNTs

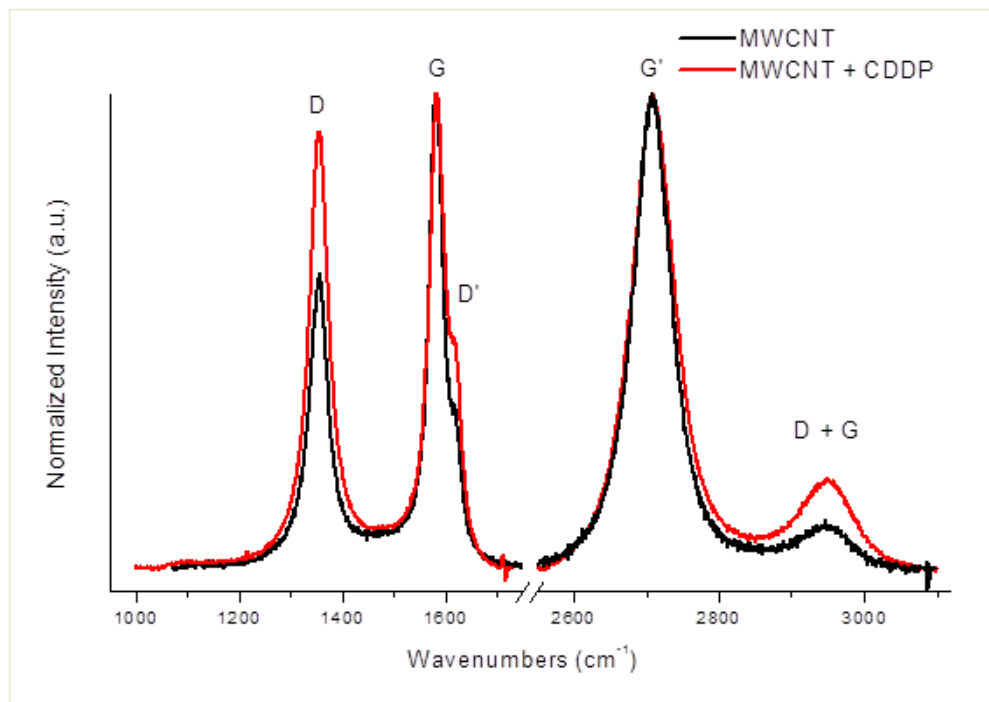


**Fuente.** Laboratorio de Química Inorgánica UFMG

El espectro Raman de cisplatino ligado a los nanotubos de carbono se presenta en la Figura 13, en comparación a los MWCNTs sin CDDP. Como se puede observar, este espectro Raman para ambas muestras se encuentra en la región conocida como alta frecuencia, relacionada con los modos de vibración C–C tangenciales a la curvatura del nanotubo. En esta región de alta frecuencia aparecen bandas

como por ejemplo las situadas en  $1584\text{ cm}^{-1}$  (banda G) y  $1342\text{ cm}^{-1}$  (banda D) que pueden ser observadas tanto para la muestra de MWCNT como para MWCNT + CDDP. La banda G puede ser atribuida al estiramiento tangencial de la ligación C=C, siendo muchas veces formada por la convolución de las bandas  $G^+$  y  $G^-$ . La banda D puede ser atribuida a la presencia de carbono amorfo, impurezas de este o también a los defectos de los nanotubos de carbono dependiendo de su posición y ancho para un valor de longitud de onda determinado. Los nanotubos de carbono de tipo MWCNT no presentan picos en la región de baja frecuencia (RBM) ( $100\text{--}300\text{ cm}^{-1}$ ), siendo este dato un indicador esencial a la hora de diferenciarlos de los SWCNT. Al analizar los dos espectros superpuestos, se confirma la presencia en ambos de los picos característicos en las bandas D y G definidas anteriormente, sugiriendo que la ligación de CDDP a la superficie de los MWCNTs se realizó de manera satisfactoria, al no presentarse una mudanza en significativa de estos picos al superponer los dos espectros [67].

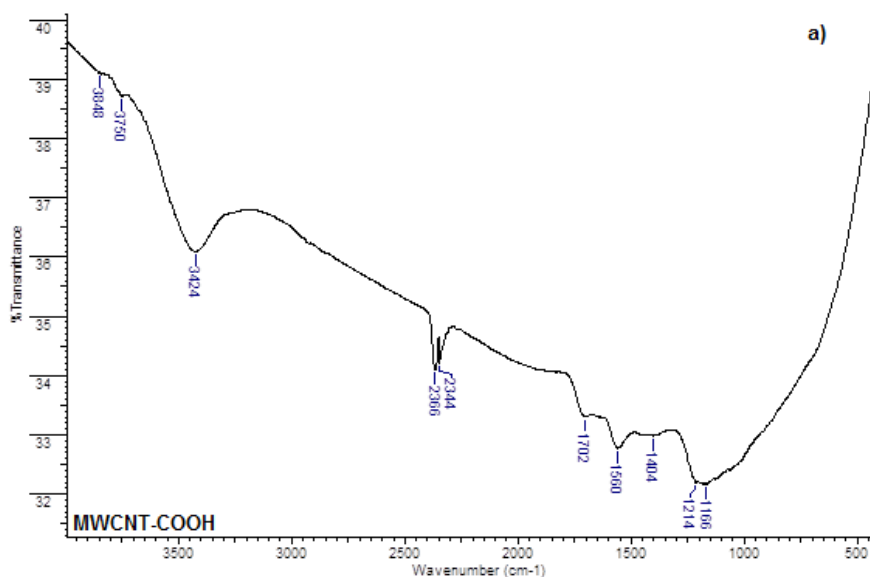
**Figura 13.** Comparación entre los espectros RAMAN de MWCNTs y MWCNTs + CDDP

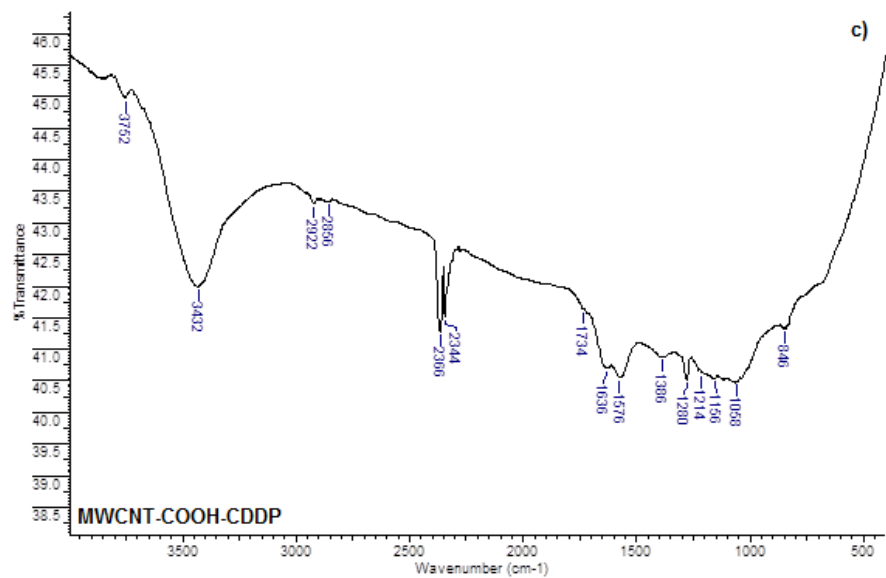
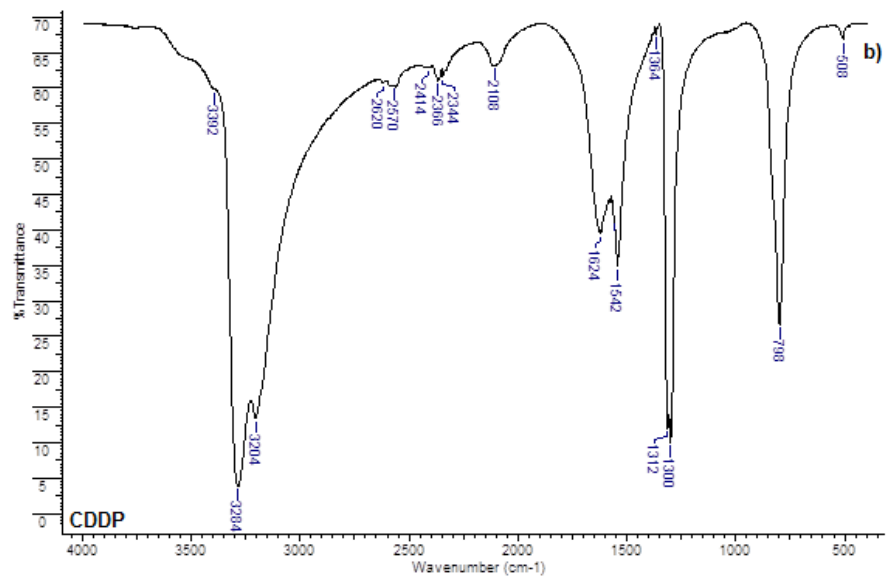


**Fuente.** Laboratorio de Nanomateriales UFMG

La Figura 14 muestra los espectros FTIR en alta frecuencia obtenidos para muestras de MWCNTs-COOH, CDDP y MWCNTs-COOH-CDDP, respectivamente. El estudio de estos tres espectros permite suponer la ligación del cisplatino a los nanotubos de carbono carboxilados basándose en el análisis de las frecuencias vibracionales. Para frecuencias vibracionales de enlaces C=O (cuando son grupos COOH) Pavia *et al.*[70] reporta números de onda entre 1700 y 1725  $\text{cm}^{-1}$ , lo cual indica que el MWCNT está funcionalizado (Fig. 14(a)). La ausencia de este pico (1702  $\text{cm}^{-1}$ ) en la Fig. 14(c) sugiere que los grupos COOH fueron modificados químicamente debido a una posible ligación de CDDP a los MWCNTs. La aparición del pico situado en 690  $\text{cm}^{-1}$  (Fig. 14(c)) sugiere la interacción de enlaces N-H [71] presentes en el fármaco, lo cual soportaría la posible interacción química entre el CDDP y los MWCNTs. La ausencia y/o desplazamientos de las frecuencias vibraciones de enlaces C=O en el Fig. 14(c) es un indicio de una posible adsorción de moléculas de  $\text{NH}_3$  por parte de los MWCNTs. La baja intensidad del pico situado en 690  $\text{cm}^{-1}$  probablemente es debida a que la CDDP ligada se ubicó dentro de las paredes internas de los nanotubos y no en las externas [72].

**Figura 14.** Espectros FTIR obtenidos para a) MWCNTs-COOH b) CDDP y c) MWCNTs-COOH-CDDP





Fuente. Laboratorio de Química Inorgánica UFMG

## 4 CONCLUSIONES

El etileno presenta un gran desempeño actuando como precursor en la síntesis de nanotubos de carbono de paredes múltiples debido a su naturaleza lineal. Bajas cantidades de catalizador (200 mg) son suficientes para lograr altos rendimientos de los nanotubos de carbonos producidos (98%) y bajas impurezas en su estructura.

Perfiles TGA e imágenes TEM y SEM de los nanotubos de carbono sintetizados permiten apreciar su alta pureza y morfología filamentosa, y cuantificar su estructura tubular con diámetros externos entre 60 y 70 nm y número de paredes (aproximadamente 8) que confirman su naturaleza multi-wall.

Estas técnicas permiten confirmar también que los procesos de funcionalización, solubilización y esterilización no afectan la estructura, morfología y desempeño de los nanotubos de carbono sintetizados; por el contrario brindan potenciales aplicaciones biológicas, químicas y físicas con el fin de ser utilizados en múltiples áreas de la ciencia e ingeniería.

Bajas cantidades de cisplatino pueden ligarse mediante interacción química a la superficie de nanotubos de carbono, creando sistemas de entrega de fármaco con elevada citotoxicidad y selectividad, ideales para aplicaciones en áreas como biomedicina y nanobiotecnología.

Mediante espectroscopía Raman, FTIR y termogravimetría se logra comprobar la ligación exitosa del fármaco cisplatino a nanotubos de carbono de paredes múltiples, sugiriendo la conformación de un Sistema de Entrega de Fármaco con prometedoras aplicaciones en terapias anticancerígenas.

## 5 RECOMENDACIONES

A pesar de que la caracterización de los nanotubos de carbono evidenció buenos resultados sobre el proceso de síntesis en relación al rendimiento, morfología y estructura de estos nanomateriales, se recomienda estudiar detalladamente la sección de catalizadores usados para este tratamiento térmico por CVD a fin de comprender en su totalidad el comportamiento fisicoquímico de las nanopartículas metálicas y soportes catalíticos empleados para este proceso, para estar en capacidad de proponer modelos novedosos que aporten resultados significativos a esta técnica.

Gracias a la ciencia e ingeniería, actualmente es posible caracterizar sistemas como el que se desarrolló en este trabajo de grado mediante numerosas técnicas de imagen, calorimétricas, espectroscópicas, colorimétricas, ensayos biológicos, entre otras, que permiten tener certeza de las características fundamentales de estos compuestos. En base a lo anterior se recomienda confirmar los resultados obtenidos en este trabajo mediante otras técnicas a fin de obtener la mayor cantidad de información posible y precisa sobre estos nanomateriales y el fármaco. Se propone usar técnicas como Microscopía de Fuerza Atómica (AFM), Espectroscopía de Dispersión de Rayos-X (EDX), Difracción de Rayos-X (DRX) y Espectroscopía Ultravioleta Visible (UV-vis).

Los protocolos y procedimientos establecidos en los laboratorios son fundamentales para confirmar la veracidad de los resultados obtenidos en las diferentes pruebas, ensayos y técnicas. Una revisión y revalidación (si es necesario) de estos protocolos y procedimientos surge como una recomendación para disminuir las posibles fuentes de error al momento que puedan presentarse en la lectura y análisis de resultados obtenidos.

Considerando la cantidad de metales (Fe, Co, Pt) que quedan después de la TGA, se hace necesario hacer análisis posteriores a los residuos por EDX con el

objetivo de saber exactamente en qué formas y cantidades de se presentan estos elementos y así, en ensayos futuros estudiar la influencia de estos sobre los resultados biológicos como efecto secundario.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] FEYNMAN R.P. *There's Plenty of Room at the Bottom*. American Physical Society. Caltech's Engineering and Science 1960.
- [2] EMERICH D.F., THANOS C.G. *Nanotechnology and medicine*. Expert Opinion on Biological Therapy 2003;3:655–63.
- [3] SAHOO S.K., LABHASETWAR V. *Nanotech approaches to drug delivery and imaging*. Drug Discovery Today 2003;8:1112–20.
- [4] WILLIAMS D. *Nanotechnology: a new look*. Med. Device Technol. 2004;15:9–10.
- [5] CHENG M.M., CUDA G., BUNIMOVICH Y.L., GASPARI M., HEATH J.R., HILL H.D., *et al.* *Nanotechnologies for biomolecular detection and medical diagnostics*. Curr. Opin. Chem. Biol. 2006;10:11–9.
- [6] SAHOO S.K., PARVEEN S., PANDA J.J. *The present and future of nanotechnology in human health care*. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine 2007;3:20–21.
- [7] LEMAY S.G., JANSSEN J.W., VAN DEN HOUT M., Mooij M., BRONIKOWSKI M.J., WILLIS P.A., SMALLEY R.E., KOUWENHOVEN L.P., DEKKER C. *Two-dimensional imaging of electronic wavefunctions in carbon nanotubes*. Nature 2001;412:617–620.
- [8] DEKKER C. *Carbon nanotubes as molecular quantum wires*. Physics Today 1999;52:22–28.
- [9] LIJIMA S. *Helical microtubules of graphitic carbon*. Nature 1991;354:56–58.
- [10] LI J., YAP S.Q., YOONG S.L., NAYAK T.R., CHANDRA G.W., ANG W.H., PANCZYK T., RAMAPRABHU S., VASHIST S.K., SHEU F-S., TAN A.,

PASTORIN G. *Carbon nanotube bottles for incorporation, release and enhanced cytotoxic effect of cisplatin*. Carbon 2012;50:625–634.

[11] PEER D., KARP J., HONG S., FAROKHZAD O., MARGALIT R., LANGER R. *Nanocarriers as an emerging platform for cancer therapy*. Nature nanotechnology 2007;2:751–760.

[12] ZHAO B., HU H., MANDAL S.K., HADDON R.C. *A bone mimic based on the self-assembly of hydroxyapatite on chemically functionalized single-walled carbon nanotubes*. Chem. Mater. 2005;17:3235–3241.

[13] KUBIK T., BOGUNIA-KUBIK K., SUGISAKA M. *Nanotechnology on duty in medical applications*. Current Pharmaceutical Biotechnology 2005;6:17–33.

[14] TIWARI G., TIWARI R., SRIWASTAWA B., BHATI L., PANDEY S., PANDEY P., BANNERJEE S. *Drug delivery systems: An updated review*. Int. J. Pharm. Investig. 2012;2(1):2–11.

[15] O'DWYER P.J., STEVENSON J.P., JOHNSON S.W. *Clinical status of cisplatin, carboplatin, and other platinum-based antitumour drugs*. In: Lippert B. editor. Cisplatin: chemistry and biochemistry of a leading anticancer drug. Zurich (Switzerland), Weinheim (Germany): Verlag Helvetica Chimica Acta (VHCA), Wiley-VCH; 1999. p. 29–69.

[16] HEGI M.E., DISERENS A.C., GORLIA T., HAMOU M.F., DE TRIBOLET N., WELLER M., *et al.* *MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma*. N. Engl. J. Med. 2005;352:997–1003.

[17] STUPP R., MASON W.P., VAN DEN BENT M.J., WELLER M., FISHER B., TAPHOORN M.J., *et al.* *Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma*. N. Engl. J. Med. 2005;352:987–996.

[18] WANG C-H., CHIOU S-H., CHOU C-P., CHEN Y-C., HUANG Y-J., PENG C-A. *Photothermolysis of glioblastoma stem-like cell targeted by carbon*

*nanotubes conjugated with CD133 monoclonal antibody.* Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine 2011;7:69–79.

[19] TORCHILIN V.P. *Lipid–core micelles for targeted drug delivery.* Current Drug Delivery Vol. 2 2005;4:319–327.

[20] TORCHILIN V.P. *Micellar Nanocarriers: Pharmaceutical Perspectives.* Pharmaceutical Research Vol. 24 2007;1:1–16.

[21] UPADHYAY R.K. *Drug delivery systems, CNS protection, and the blood brain barrier.* BioMed Research International. Vol. (2014) 2014, Article ID 869269, 37 pages.

[22] KOO O.M., RUBINSTEIN I., ONYUKSEL H. *Role of nanotechnology in targeted drug delivery and imaging: a concise review.* Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine 2005;1:193–212.

[23] OBEROI H.S., NUKOLOVA N.V., KABANOV A.V., BRONICH T.K. *Nanocarriers for delivery of platinum anticancer drugs.* Advanced Drug Delivery Reviews 2013;65:1667–1685.

[24] GAO W., XIANG B., MENG T–T., LIU F., QI X–R. *Chemotherapeutic drug delivery to cancer cells using a combination of folate targeting and tumor microenvironment–sensitive polypeptides.* Biomaterials 2013;34:4137–4149.

[25] ALLEN T.M. *Ligand–targeted therapeutics in anticancer therapy.* Nature Publishing Group 2002;2:750–763.

[26] BUTLER J.S., SADLER P.J. *Targeted delivery of platinum–based anticancer complexes.* Current Opinion in Chemical Biology 2013;17:175–188.

[27] PRASAD P.V., KUMAR A., PAL P.C., SHARMA R.S., RAO D.N., SHRIVASTAV T.G., GE R.S. *Bird’s Eye View on the Recent Advances in Drug Delivery Systems.* Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology 2011;2:544–556.

- [28] MAEDAA H., WUA J., SAWAA T., MATSUMURAB Y., HORIC K. *Tumor vascular permeability and the EPR effect in macromolecular therapeutics: a review*. Journal of Controlled Release 2000;65:271–284.
- [29] DANHIER F., FERON O., PRÉAT V. *To exploit the tumor microenvironment: Passive and active tumor targeting of nanocarriers for anti-cancer drug delivery*. Journal of Controlled Release 2010;148:135–146.
- [30] ELETO DA SILVA E. (2007). *Síntese e Aplicação de Nanotubos de Carbono em Biotecnologia*. Dissertação doutorado em Física, Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Física, Belo Horizonte, Brasil.
- [31] GECKELER K.E., PREMKUMAR T. *Carbon nanotubes: are they dispersed or dissolved in liquids?*. Geckeler and Premkumar Nanoscale Research Letters 2011;6:136–138.
- [32] DONG L. *DNA-templated synthesis of Pt nanoparticles on single-walled carbon nanotubes*. Nanotechnology 2009;20:1–5.
- [33] VIDU R., RAHMAN M., MAHMOUDI M., ENACHESCU M., POTECA T.D., OPRIS I. *Nanostructures: a platform for brain repair and augmentation*. Frontiers in Systems Neuroscience Vol. 8 2014;91:1–24.
- [34] LIANG Z., LAO R., WANG J., LIU Y., WANG L., HUANG Q., SONG S., LI G., FAN C. *Solubilization of Single-walled Carbon Nanotubes with Singlestranded DNA Generated from Asymmetric PCR*. Int. J. Mol. Sci. 2007;8:705–713.
- [35] PESCHEL G. (2011). *Carbon-Carbon bonds: Hybridization*. Freie Universität Berlin.
- [36] LIRA DE OLIVEIRA B. (2009). *Síntese de Nanotubos de Carbono (NTC) por Deposição Química de Vapor empregando Fe/CaCO<sub>3</sub> e Fe/NTC como Catalisador*.

Dissertação de Mestrado em Engenharia Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

[37] SPASENOVIC M. (2013, 15 de Enero). *The original graphene patent and the rift between industry and academia*. [www.graphenetracker.com] de: <http://www.graphenetracker.com/the-original-graphene-patent/>

[38] MADANI S.Y., MANDEL A., SEIFALIAN A.M. *A concise review of carbon nanotube's toxicology*. Nano Reviews 2013;4: 21521.

[39] KUMAR M., ANDO Y. *Chemical Vapor Deposition of Carbon Nanotubes: A Review on Growth Mechanism and Mass Production*. Journal of Nanoscience and Nanotechnology Vol. 10, 2010:3739–3758.

[40] HARPER B.W., KRAUSE-HEUER A.M., GRANT M.P., MANOHAR M., GARBUTCHEON-SINGH K.B., ALDRICH-WRIGHT J.R. *Advances in Platinum Chemotherapeutics*. Chem. Eur. J. 2010;16:7064–7077.

[41] HILDER T.A., HILL J.M. *Encapsulation of the Anticancer Drug Cisplatin into Nanotubes*. International Conference on Nanoscience and Nanotechnology, ICONN 2008, Melbourne, 25–29 February 2008.

[42] GUVEN A., RUSAKOVA I.A., LEWIS M.T., WILSON L.J. *Cisplatin@US-tube carbon nanocapsules for enhanced chemotherapeutic delivery*. Biomaterials 2012; 33:1455–1461.

[43] WONG B.S., YOONG S.L., JAGUSIAK A., PANCZYK T., HO H.K., ANG W.H., PASTORIN G. *Carbon nanotubes for delivery of small molecule drugs*. Advanced Drug Delivery Reviews 2013;65:1964–2015.

[44] WHEATE N.J., WALKER S., CRAIG G.E., RABBAB OUN R. *The status of platinum anticancer drugs in the clinic and in clinical trials*. Dalton Trans. 2010;39:8113–8127.

- [45] LILLEY D.M.J. *Cisplatin adducts in DNA: distortion and recognition*. JBIC 1996;1:189–191.
- [46] WANG D., LIPPARD S.J. *Cellular Processing Of Platinum Anticancer Drugs*. Nat. Rev. Drug Disc. 2005;4:307–320.
- [47] DECATRIS M.P., SUNDAR S., O'BYRNE K.J. *Platinum-based chemotherapy in metastatic breast cancer: current status*. Cancer Treatment Reviews 2004;4:53–81.
- [48] GO R.S., ADJEI A.A. *Review of the Comparative Pharmacology and Clinical Activity of Cisplatin and Carboplatin*. Journal of Clinical Oncology. Vol. 17 1999;1:409–422.
- [49] ANTONIO CONCONI LAB. (2013). *Cisplatin (Cis-diaminedichloroplatinum)*. [www.conconilab.ca] de: <http://www.conconilab.ca/projects/>
- [50] ROSENBERG B. *Some Biological Effects of Platinum Compounds*. Platinum Metals Review. Vol 15. 1971;2:42–51.
- [51] ALDERDEN R.A., HALL M.D., HAMBLEY T.W. *The Discovery and Development of Cisplatin*. Journal of Chemical Education. Vol. 83 2006;5:728–734.
- [52] JAMIESON E.R., LIPPARD S.J. *Structure, Recognition, and Processing of Cisplatin-DNA Adducts*. Chem. Rev. 1999;99:2467–2498.
- [53] BRUHN S.L., TONEY J.H., LIPPARD S.J. (1990) *Biological Processing of DNA Modified by Platinum Compounds, in Progress in Inorganic Chemistry: Bioinorganic Chemistry, Volume 38* (ed S. J. Lippard), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA.
- [54] DUMA A., PRODANA M., DEMETRESCU I. *Cisplatin Functionalization of Multiwall Carbon Nanotubes*. U.P.B. Sci. Bull., Series B, Vol. 76, 2014;1:49–58.

- [55] SIGMA-ALDRICH®. (2014). Product Information Sheet of Cisplatin. [www.sigmaaldrich.com] de: [http://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigmaaldrich/docs/Sigma/Product\\_Information\\_Sheet/1/p4394pis.pdf](http://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigmaaldrich/docs/Sigma/Product_Information_Sheet/1/p4394pis.pdf)
- [56] DEANGELIS L.M. *Anaplastic Glioma: How to Prognosticate Outcome and Choose a Treatment Strategy*. Journal of Clinical Oncology. Vol. 27. 2009;35:5874–5881.
- [57] URBANCZYKA H., STRACZYNSKA–NIEMIEC A., GŁOWACKI G., LANGE D., MISZCZYKA L. *Case presentation – A five-year survival of the patient with glioblastoma brain tumor*. Reports of Practical Oncology and Radiotherapy 2014;19:347–351.
- [58] BEHIN A., HOANG-XUAN K., CARPENTIER A.F., DELATTRE J.Y., *Primary brain tumours in adults*. The Lancet. Vol. 361. 2003:323–331.
- [59] SETUA S., OUBERAI M., PICCIRILLO S.G., WATTSB C., WELLAND M. *Cisplatin-tethered gold nanospheres for multimodal chemo-radiotherapy of glioblastoma*. Nanoscale 2014;6:10865–10873.
- [60] PRASEK J., DRBOHLAVOVA J., CHOMOUCKA J., HUBALEK J., JASEK O., ADAM V., KIZEK R. *Methods for carbon nanotubes synthesis—review*. J. Mater. Chem. 2011;21:15872–15884.
- [61] DING F., LARSSON P., LARSSON J. A., AHUJA R., DUAN H., ROSÉN A., BOLTON K. *The importance of Strong Carbon–Metal Adhesion for Catalytic Nucleation of Single–Walled Carbon Nanotubes*. Nano Letter. Vol. 8. 2008;2:463–468.
- [62] NERUSHEV O.A., DITTMAR S., MORJAN R.E., ROHMUND F., CAMPBELL E.E.B. *Particle size dependence and model for iron-catalyzed growth of carbon nanotubes by thermal chemical vapor deposition*. Journal of Applied Physics. Vol. 93. 2003:4185–4190.

- [63] MORJAN R.E., NERUSHEV O.A., SVENINGSSON M., ROHMUND F., FALK L.K.L., CAMPBELL E.E.B. *Growth of carbon nanotubes from C<sub>60</sub>*. Appl. Phys. A. 2004;78:253–261.
- [64] SILVA W.M., RIBEIRO H., SEARA L.M., CALADO H.D.R., FERLAUTO A.S., PANIAGO R.M, LEITEC C.F., SILVA G.G. *Surface Properties of Oxidized and Aminated Multi-Walled Carbon Nanotubes*. J. Braz. Chem. Soc. Vol. 23. 2012;6:1078–1086.
- [65] LOURENÇON E. (2008). *Síntese e Aplicação de Nanotubos de Carbono*. Dissertação mestrado em Química, Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Física, Belo Horizonte, Brasil.
- [66] TAKAHASHI S., KITAHARA Y., NAKAMURA M., SHIOKAWAB Y., FUJII T. *Temperature-resolved thermal analysis of cisplatin by means of Li<sup>+</sup> ion attachment mass spectrometry*. Phys. Chem. Chem. Phys. 2010;12:3910–3913.
- [67] BOYER I., KARAM A., ALBANO C., GARCÍA W., URBINA DE NAVARRO C., GONZÁLEZ G. *Caracterización de Nanotubos de Carbono recubiertos con Nanohidroxiapatita*. Acta Microscópica. Vol. 19. 2010;2:196–201.
- [68] THOSTENSON E.T., REN Z., CHOU T-W. *Advances in the science and technology of carbon nanotubes and their composites: a review*. Composites Science and Technology. 2001;61:1899–1912.
- [69] NAKAMOTO K. *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds Part B: Applications in Coordination, Organometallic, and Bioinorganic Chemistry*. Sixth Edition. 2009.
- [70] PAVIA D.L., LAMPMAN G.M., KRIZ G.S., VYVYAN J.R. *Introduction to Spectroscopy*. Fourth Edition. 2008.
- [71] CIOBOTARU C.C., DAMIAN C.M., POLOSAN S., PRODANA M., IOVU H. *Drug Delivery Study of Single-Wall Carbon Nanotubes covalent Functionalized*

*with Cisplatin*. Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures. Vol. 9. 2014; 2:859–868.

[72] Werengowska–Ciecwierz K., Wisniewski M., Terzyk A.P., Gurtowska N., Olkowska J., Kloskowski T., Drewna T.A., Kielkowska U., Druzynski S. *Nanotube-mediated efficiency of cisplatin anticancer therapy*. Carbon. 2014;70:46–58.

## BIBLIOGRAFÍA

AMERICAN BRAIN TUMOR ASSOCIATION. *Glioblastoma and Malignant Astrocytoma*. 2012.

ARORA V. (2014, 10 de Septiembre). *Nanotechnology Drug Delivery Systems: An Insight*. [www.trialx.com] de: <http://trialx.com/curetalk/2012/10/nanotechnology-drug-delivery-systems-an-insight/>

BLAKLEY W.B., COHEN J.I., DOOLITTLE N.D., MULDOON L.L., CAMPBELL K.C., DICKEY T., NEUWELT E.A. *Strategies for preventions of toxicity caused by platinum-based chemotherapy: review and summary of the annual meeting of the blood-brain barrier disruption program, Gleneden beach, Oregon, March 10, 2001*. *Laryngoscope* 2002;112:1997–2001.

DANHIER F., BRETON A.L., PREAT V. *RGD-Based Strategies To Target Alpha(v) Beta (3) Integrin in Cancer Therapy and Diagnosis*. *Molecular Pharmaceutics*. 2012;9:2961–2973.

DE OLIVEIRA CARMINATI P. (2009). *Mecanismos envolvidos nas respostas celulares ao antitumoral cisplatina associada ao inibidor de PI3K (LY294002) em linhagens de glioma*. Tese de Doutorado para obtenção do título de Doutor em Ciências. Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

FLOREA A.M., BÜSSELBERG D. *Cisplatin as an Anti-Tumor Drug: Cellular Mechanisms of Activity, Drug Resistance and Induced Side Effects*. *Cancers* 2011;3:1351-1371.

FREITAS R.A. *What is Nanomedicine?* *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. 2005, NANO-00003; No of pages 8.

GIESE B., McNAUGHTON D., *Interaction of Anticancer Drug Cisplatin with Guanine: Density Functional Theory and Surface-Enhanced Raman Spectroscopy Study*. Biopolymers (Biospectroscopy). Vol. 72, 2003:472–489.

HUANG H., SHI H., FENG S., CHEN W., YU Y., LIN D., CHEN R. *Confocal Raman spectroscopic analysis of the cytotoxic response to Cisplatin in nasopharyngeal carcinoma cells*. Analytical Methods. 2013;5:260.

JEONG B., KIM S. W., BAE Y. H. *Thermosensitive sol-gel reversible hydrogels*. Advanced drug delivery reviews. 2002;54:37–51.

JULIUS H. W. *The mode of action of chemotherapeutic agents*. Annu. Rev. Microbiol. 1952;6:411–436.

KAWASAKI E., PLAYER A., *Nanotechnology, Nanomedicine, and the development of new, effective therapies for cancer*. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine. 2005;1:101–109.

LORENÇON E. (2012). *Estudos de nanotubos de carbono e de titanatos e suas Aplicações em reações de oxidação*. Tese apresentada para a obtenção do grau de Doutor em ciências - Química. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte.

MANISH G., VIMUKTA S., *Targeted drug delivery system: A Review*. Journal of Chemical Science. Vol. 1. 2011:2.

MARSH J., *The effects of Cancer Chemotherapeutic Agents on Normal Hematopoietic Precursor Cells: A Review*. Cancer Res. 1976;36:1853–1882.

MARTINHYO N. DAMGÉ C., PINTO C. *Recent Advances in Drug Delivery Systems*. Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology. 2011;2:510–526.

MENDEZ G., OZPINAR A., RASKIN J., GULTEKIN S.H., ROSS D.A. *Case comparison and literature review of glioblastoma: A table of two tumors*. Surgical Neurology International. 2014;5:121.

MICHALSKA D., WYSOKINSKI R. *The prediction of Raman spectra of platinum (II) Anticancer drugs by density functional theory*. Chemical Physics Letters. 2005;403:211–217.

NAWAZ H., BONNIER F., KNIEF P., HOWE O., LYG F.M., MEADE A.D., BYRNE H.J., *Evaluation of the potential of Raman microspectroscopy for prediction of chemotherapeutic response to Cisplatin in lung adenocarcinoma*. Analyst. 2010;135:3070–3076.

NYATI M. K., MORGAN M. A., FENG F. Y., LAWRENCE T. S. *Integration of EGFR inhibitors with radiochemotherapy*. Nature reviews: Cancer. Vol. 6. 2005:876–886.

ORTEGA A., NUÑO M., WALIA S., MUKHERJEE D., BLACK K. L. PATIL C. G. *Treatment and survival of patients harboring histological variants of glioblastoma*. Journal of Clinical Neuroscience. 2014;21:1709–1713.

SAFARI J., ZARNEGAR Z. *Advanced drug delivery systems: Nanotechnology of health design: A review*. Journal of Saudi Chemical Society. 2014;18:85–99.

SCHLEICH N., PO C., JACOBS D., UCAKAR B., GALLET B., DANHIER F., PREAT V. *Comparison of active, passive and magnetic targeting to tumors of multifunctional paclitaxel/SPIO-loaded nanoparticles for tumor imaging and therapy*. Journal of Controlled Release. 2014;194:82–91.

SHAH H.E., MOVAHEDI F., MOFTAKHARI M.K., ALAVI S., ESLAMIFAR A., MOHAMMADI G., AKBARZADEH A., *Efficacy of Cisplatin-loaded polybutyl cyanoacrylate nanoparticles on the glioblastoma*. Tumor Biol. 2014;35: 4799–4806.

SHAHMABADI H.E., AKBARZADEH A., MOKHTARI M.J., MORTAZAVI M., GHASEMI S., MOHAMMADI H., DOUN S.K.B. *In vitro evaluation of the effects of acetone, on the potency of cisplatin: Is it a good candidate for cisplatin carrier preparation?* E3 Journal of Biotechnology and Pharmaceutical Research Vol. 3(8). 2012:137–140.

SHIMADZU. Thermal Analysis Instruments 60 Series Manual. Japan. 2012.

SIEGAL T. *Which drug or drug delivery system can change clinical practice for brain tumor therapy?*. *Neuro-Oncology*. 2013;15:656–669.

SIGMA-ALDRICH®. (2014). *Carbon nanotubes*. [www.sigmaaldrich.com] de: <http://www.sigmaaldrich.com/materials-science/material-science-products.html?TablePage=16376687>

SILVA H., BARRA C.V., ROCHA F.V., FRÉZARD F., LOPES M.T.P., FONTES A.P.S. *Novel Platinum(II) Complexes of Long Chain Aliphatic Diamine Ligands with Oxalato as the Leaving Group. Comparative Cytotoxic Activity Relative to Chloride Precursors*. *J. Braz. Chem. Soc.*, Vol. 21, 2010:101961–1967.

SUI L., YANG T., GAO P., MENG A., WANG P., WU Z., WANG J. *Incorporation of Cisplatin into PEG-wrapped ultrapurified large-*inner*-diameter MWCNTs for enhanced loading efficiency and release profile*. *International Journal of Pharmaceutics*. 2014;471:157–165.

SUN Y., FU K., LIN Y., HUANG W. *Functionalized Carbon Nanotubes: Properties and Applications*. *Accounts of Chemical Research*. Vol. 35. 2002;12.

TANG F., LI L., CHEN D. *Mesoporous Silica Nanoparticles: Synthesis, Biocompatibility and Drug Delivery*. *Advanced Materials*. 2012; 24:1504–1534.

TRISPICIANO C., COSTA S., KALENCZUK R. J., BOROWIAK-PALEN E. *Cisplatin filled multiwalled carbon nanotubes – a novel molecular hybrid of anticancer drug container*. *The European Physical Journal B*. 2010;72:141–146.

WYSOKINSKI R., HERNIK K., SZOSTAK R., MICHALSKA D. *Electronic structure and vibrational spectra of cis-diammine-(oxalato)platinum(II), a potential cisplatin analogue: DFT and experimental study*. *Chemical Physics* 2007;333:37–48.

YAKUBOV E., BUCHFELDER M., EYÜPOGLU I. Y., SAVASKAN N. E. *Selenium Action in Neuro-Oncology*. *Biol. Trace. Elem. Res*. 2014;1–9.

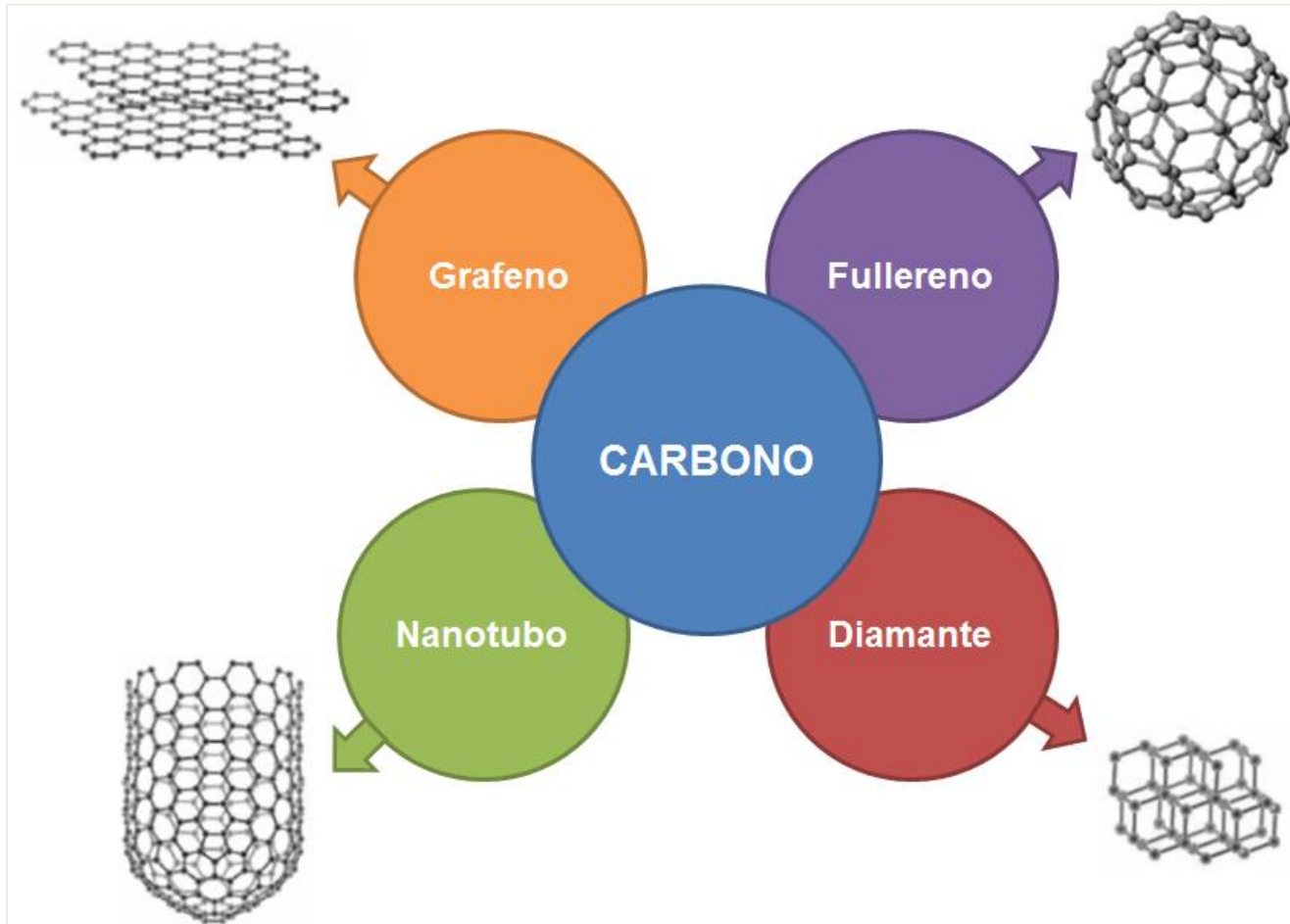
YANG Y., XIAN L. *The association between the ERCC1/2 polymorphisms and the clinical outcomes of the platinum-based chemotherapy in non-small cell lung cancer (NSCLC): a systematic review and meta-analysis.* Tumor boil. 2014;35:2905-2921.

ZDROJEK M., GEBICKI W., JASTRZEBSKI C., MELIN T., HUCZKO A. *Studies of multiwall carbon nanotubes using Raman spectroscopy and atomic force microscopy.* Solid State Phenomena. Vol. 99. 2004:265.

## **ANEXOS**

## ANEXO A. ESTRUCTURAS ELEMENTALES DEL CARBONO

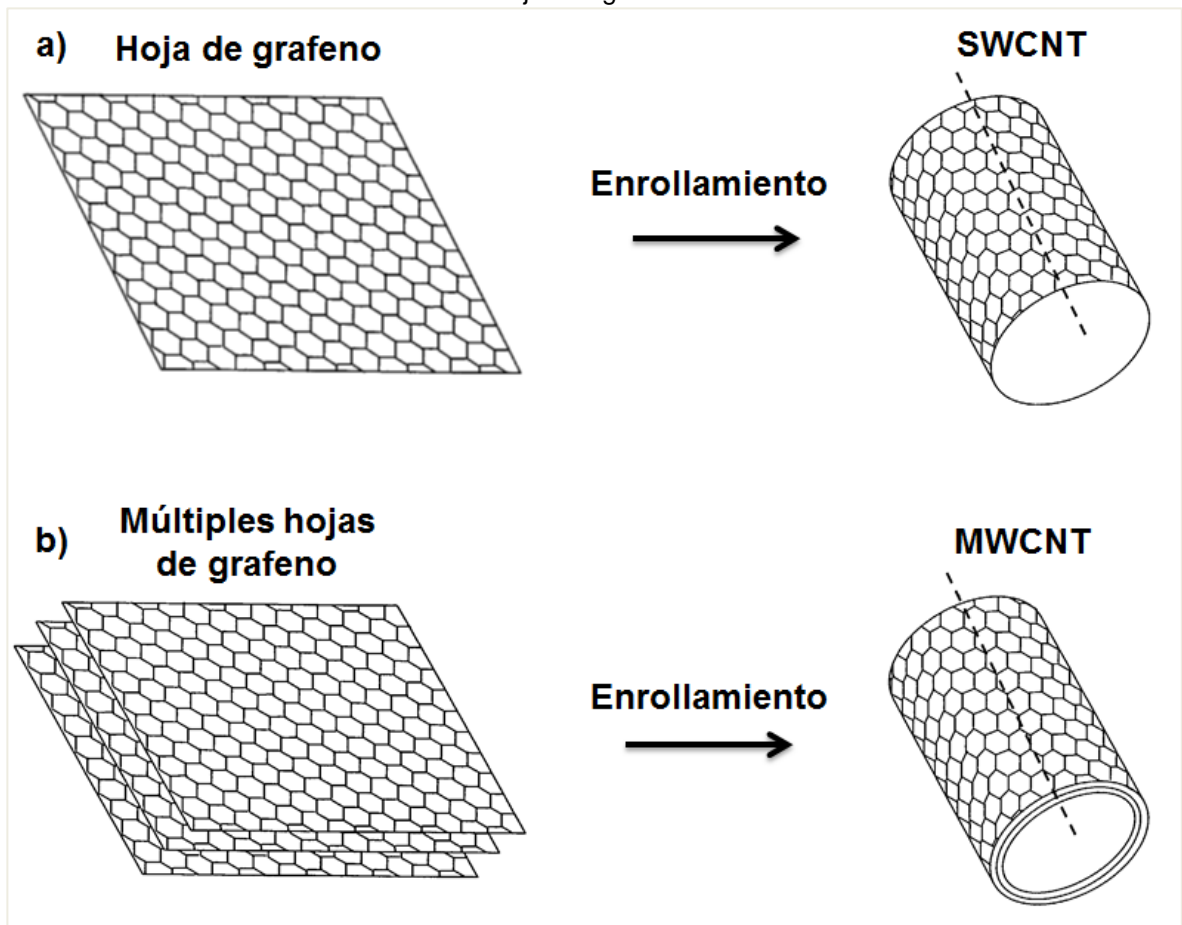
Figura A1. Esquema de estructuras elementales del Carbono



## ANEXO B. TIPOS Y PROPIEDADES DE NANOTUBOS DE CARBONO

En la Figura B1 se ilustran los tipos de CNTs y cómo se forman. Como se puede observar, los CNTs de tipo SWCNTs (Figura B1-a) se forman a partir del enrollamiento de una única hoja de grafeno, mientras que los CNTs de tipo MWCNTs (estudiados en este trabajo – Figura B1-b) se forman a partir del enrollamiento de múltiples hojas de grafeno. En la Tabla B1 se pueden observar algunas propiedades térmicas y de adsorción de ambos tipos de CNTs.

**Figura B1.** Esquema de tipos de nanotubos de carbono: a) SWCNT formados a partir del enrollamiento de una hoja de grafeno. b) MWCNT formados a partir del enrollamiento de múltiples hojas de grafeno



Fuente. Modificado de [37]

**Tabla B1.** Propiedades de adsorción y resistencia térmica de los nanotubos de carbono

Tipo de nanotubo	Porosidad ( $\text{cm}^3\text{g}^{-1}$ )	Área específica ( $\text{m}^2\text{g}^{-1}$ )	Resistencia térmica en aire ( $^{\circ}\text{C}$ )
SWCNT	Microporoso, $V_{\text{micro}}: 0,15-0,3$	400-900	~800
MWCNT	Mesoporoso, $V_{\text{meso}}: 0,5-2$	200-400	~650

**Fuente.** Modificado de [36]

## ANEXO C. VÍAS MÁS IMPORTANTES DE ENTREGA DE FÁRMACOS

**Figura C1.** Esquema de las vías de entrega de fármacos más importantes



## ANEXO D. SISTEMAS DE ENTREGA DE FÁRMACO A ESCALA NANO

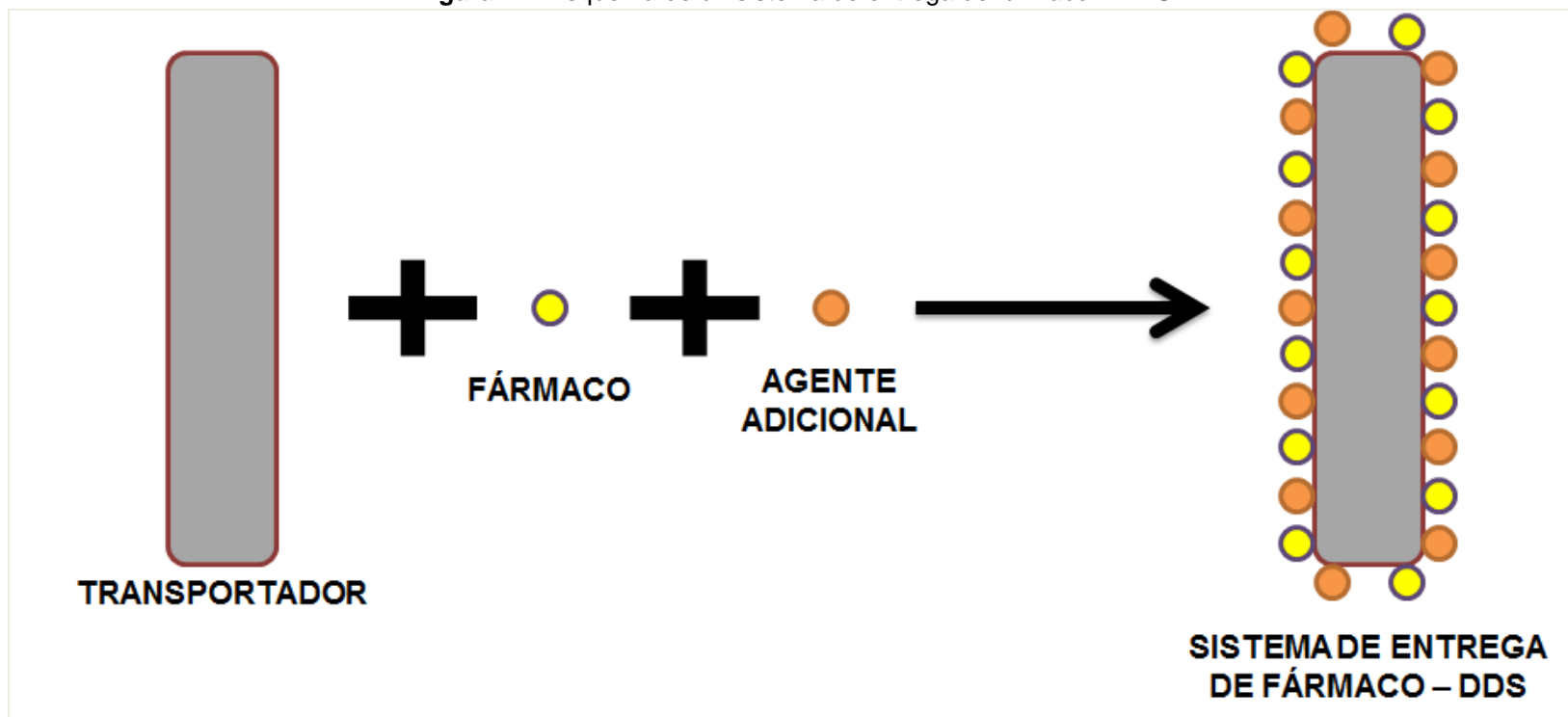
**Tabla D1.** DDS a escala nano comúnmente utilizados

Drug delivery systems	Stage of development	Limitations of use	Examples of application	Referen ces
Liposomes	Marketed	Preparation steps have to be carefully controlled to achieve reproducible properties such as size and entrapment efficiency	Amphotericin B Daunorubicin Doxorubicin	[82] [83] [84]
Micelles				
Phospholipid	Preclinical	Limited stability in aqueous medium compared to other micelle types	Paclitaxel Camptothecin Diazepam	[16] [9] [101]
PluronicR	Clinical Preclinical	Some monomers have not been tested in humans	Doxorubicin (SP1049C) Paclitaxel Tamoxifen Etoposide	[120] [15] [114] [115]
Poly (L-aminoacid)	Clinical In vitro	Immune response may increase with diversity in amino acids used. Biodegradability of poly(amino acids) requires validation	Doxorubicin (NK911) Antisense oligonucleotides	[128,129] [130]
Polyester	Preclinical	Polyester degrades by hydrolysis to produce acid metabolites that in excess may not be desirable	Paclitaxel Doxorubicin	[135] [136,137]
Nanoemulsions	Preclinical	High surfactant concentration of 20% and higher may be required in the formulation	Amphotericin B Paclitaxel Dexamethasone Benzathine penicillin G	[139] [140] [141] [142]
Nanoparticulate systems				
Drug nanocrystals	Preclinical	Polymers and surfactants covering nanocrystal surfaces are required to provide stabilization against aggregation	Amphotericin B Etoposide, camptothecin, paclitaxel	[147] [150]
Polymer-based nanoparticles	Preclinical	Polyester degrades by hydrolysis to produce acid metabolites that in excess may not be desirable	Tamoxifen Cyclosporin-A Theophylline	[159] [160] [161]

Lipid-based nanoparticles	Preclinical	Enzymatic degradation in vivo can lead to production of undesirable metabolites such as stearic acid	Doxorubicin Camptothecin	[167] [168]
Ceramic-based nanoparticles	In vitro	Release of encapsulated drugs may be problematic	2-devinyl-2-(1-hexyloxyethyl) pyropheophorbide	[171]
Albumin nanoparticles	Marketed In vitro	Validation of lack of immune reactivity maybe required	Paclitaxel DNA and antisense oligonucleotides	[14] [176,177]
Nanogels	Preclinical	Some polymers used may not yet be tested/used in humans	Oligonucleotides	[178]
Dendrimers	Preclinical In vitro	Positive charge on dendrimer surface may lead to toxicity and immunogenicity	Indometacin 5-fluorouracil Antisense oligonucleotides	[185] [192] [193]

**Fuente.** Tomado de [22]

Figura D1. Esquema de un sistema de entrega de fármaco – DDS



## ANEXO E. NANOPARTÍCULAS: USOS Y APLICACIONES EN BIOMEDICINA

**Tabla E1.** Diferentes tipos de nanopartículas orgánicas, sus usos y aplicaciones en biomedicina

<b>Organic nanoparticles</b>	<b>Composition</b>	<b>Applications</b>	<b>Advantages</b>
Peptide-based nanoparticles	Ferritin protein cage nanoparticles family of proteins, 10–500 nm	Chemically or genetically modified, multifunctional probes for tumor imaging; ferritin is pH dependent, nanoparticles (NPs) decorated with transferrin (Tf)	Used for nasopharyngeal cancer-specific therapy
Lipid-based nanoparticle	Cholesterol mediated cationic solid nanoparticles 10–400 nm	Used for delivery of proteins and peptides and used for immune-stimulatory RNA adjuvant, cancer therapy, anti-viral agents, brain tumors.	High drug entrapment efficiency and loading capacity
Solid lipid nanoparticles	Colloidal 10–700 nm	Solid lipid nanoparticles can be used as colloidal drug carriers for various therapeutics, pharmaceutical alternative of liposomes and emulsions	Used to deliver drug orally, topically, or by inhalation
SiRNA delivery systems	SiRNA 5–40 nm	Used in malignant melanomas and cancer therapy	Suppress effects of oncogenes effective vehicles for delivery of PrP
Colloidal drug carriers	10–400 nm diameters in size microemulsions	Cargo carriers in vaccine therapies of CNS pathogens.	High drug entrapment efficiency and loading capacity
Liposome drug carriers	Closed spherical assemblies of amphiphilic delivery vehicles 10–700 nm	For therapeutic agents/drugs minimize systemic exposure, gene transfer vector, and mode of delivery, biocompatible and biodegradable materials, applications in biomedicine and food industry; liposomes can increase the drug distribution, bioavailability and its targeted action, anticancer drugs	Nontoxic biodegradable, prolong circulation of drugs
Magneto-liposomes phospholipid bilayers	50–100 nontoxic biodegradable, nonantigenic, low systemic toxicity, prolong circulation of drugs, controlled	Drug release cause pseudoallergic inflammation, controlled delivery of drugs in aqueous space within liposome, intercalated in to lipid bilayers, gene delivery	Nontoxic biodegradable, low systematic toxicity, controlled drug release
Micelles	An aggregate of surfactant molecules dispersed in a liquid colloid, micellar	Micelles physically entrapped the drug and transport it to the target area and release required	Deliver large amount of drugs to cancer

	structures mainly core of block copolymer	concentrations, formed by two fatty acyl chains	cells
Polymeric micelles	An aggregate of surfactant molecules dispersed in a liquid colloid, 10–800 nm	New drug carrier systems stability in plasma, longevity, cancer chemotherapy obstruct tumor angiogenesis	Potential targets of anticancer drugs
Carbon nanotubes	Cylindrical graphite sheets 1.5–5000 length and 0.5–20 diameter, traverse cell membrane as nanoneedles, thermal	Conductivity, target tumors. Insoluble in aqueous media, cytotoxic, poor incorporation capacity, targeted delivery of drugs, genes, vaccines, antibodies, and thermotherapy of tumors	Traverse cell membrane, show thermal conductivity, and target tumors
Quantam dots	Colloidal graphic sheets rolled in to single or multiwalled tubes <10 nm, predict emission frequencies, brighter and stable signal intensity, conjugate to proteins for targeting, composed of cytotoxic heavy metals, unstable in UV radiation	Used in vitro labeling of liver cells, fluorescent assays to detect antigens on cells, used in vivo cancer detection and diagnosis	More stable signals than fluorescent molecules, brighter, can bind with proteins
Dendrimers	5–20 nm highly branched macromolecules synthesized through polymerization reaction, growing outward from a central core 5–10, branched structure allows high drug carriage	Cause dose and surface charge dependent hemolysis, cytotoxic in vitro, targeted delivery of drugs in aqueous space within liposome or intercalated in to lipid bilayers, used in gene delivery	Show polymerization, terminal groups can be modified for drug targeting, show high drug carriage
Fullerenes	1.5–5000 length and 0.5–20 diameter, very similar to carbon nanotubes an extended $\pi$ conjugated carbon skeletons Vaporization of graphites	Heterofullerenes, $^{13}\text{C}$ labeled fullerenes, azafullerenes	Higher drug delivery for brain tumors

Fuente. Tomado de [21]

**Tabla E2.** Diferentes tipos de nanopartículas inorgánicas, sus usos y aplicaciones en biomedicina

<b>Inorganic nanoparticles</b>	<b>Composition</b>	<b>Applications</b>	<b>Advantages</b>
Chitosan-nanoconjugated hormone nanoparticles	Chitosan and hormone	Deliver nontoxic, polynucleotide pharmaceuticals to neurocompartments	Show low immunogenicity
Insulin nanoparticles	Polymeric nanoparticle-cross-linked/beads	Oral delivery of insulin, imitates the production of insulin by pancreatic islet cells	Overcome cancer drug resistance, targeted treatment across barrier
Smrho protein loaded chitosan	Coated with sodium alginate or alginate	Oral vaccination, stable and fine target accessibility, and good immunization against <i>S. mansoni</i>	Great stability and ease of target accessibility, immunostimulatory
Chitosan-sodium lauryl sulfate nanoparticles	Anionic surfactant sodium lauryl sulfate	Oral delivery of insulin, biodegradable, stable in simulated gastric fluids, and bioavailability	Improve insulin oral bioavailability
Chitosan-Pluronic nanoparticles	Chitosan and Pluronic F-127	Efficient oral formulation for colon cancer treatment	Effective delivery system with few side effects
Chitosan-DNA nanoparticles	A complex coacervation of DNA, chitosan, and sodium sulfate	Protect the encapsulated plasmid and increase transfection efficiency	Better loading, release, and cell uptake
Lecithin/chitosan nanoparticles	Chitosan and lecithin colloidal suspension	Progesterone delivery, model lipophilic drug, and shows good encapsulation efficiencies	Transdermal delivery of melatonin, biocompatible
Chitosan-coated iron oxide nanoparticles	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> nanoparticles as cores and chitosan (CS)	Noncytotoxic, PEG-CS-Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> as a stable magnetic targeting drug carrier in cancer therapy	Anticancer effect against human ovarian cancer cells, target integrin rich tumor cells
FVIII-chitosan nanoparticles	DNA polyplexes composed of chitosan and factor VIII DNA	Oral delivery of a nonviral gene carrier, hemophilia A gene therapy	Nonviral delivery for gene medicine applications, delivery system practical for hemophilia A gene therapy
PEGylated chitosan-modified	Lipid-based poly(ethylene glycol) (PEG)	Nontoxic biodegradable, oral, and dermal applications, improve the efficiency of the drug	PEGylated chitosan prolonged the retention time of the nanoparticles in the circulatory system and improved the bioavailability of cyclosporin A
mPEG-PLA	Polymeric micelles based	Spatial distribution of the drug within the	Improve the oral bioavailability of

Cyclosporin A-loaded	on monomethoxy poly(ethylene glycol)-b-poly(d,l-lactic acid), (mPEG-PLA)	nanoparticles	poor immune response
mPEG-PLA Cyclosporin A-loaded	Water soluble cyclosporin A (CyA) affected the intestinal P-gp efflux pumps	Good candidate for oral delivery of poorly soluble drugs	Stable and monodisperse nanoparticles (NPs) in aqueous suspension
Chitosan PGA nanoparticles (PLGA NP)	Poly(lactic-co-glycolic acid) incorporated nanoparticles	Capacity in repairing and regenerating wounded and dysfunctional tissues	Targeted, highly effective and safe treatment of lung cancer.
Thiolated chitosan nanoparticles	A core of polymethyl methacrylate surrounded by a thiolated chitosan	Longer half-life, oral drug delivery system for anticancer drugs	Potential enhancer buccal delivery of insulin, tensile strength, and bioadhesion force
Beta cyclodextrin carries	Ammonium beta cyclodextrin, (Ch-GSH-pMMA)	Anticancer drug delivery vehicles	Biocompatible, less toxic
Quaternary ammonium $\beta$ -cyclodextrin (QA $\beta$ CD)	Ammonium $\beta$ -cyclodextrin	Carrier for doxorubicin (DOX), and hydrophobic anticancer drug, across the BBB	Great potential in safely and effectively delivering DOX and other therapeutic agents across the BBB.
$\beta$ -Cyclodextrin inclusion complexes	$\beta$ -Cyclodextrin ( $\beta$ -CD), encapsulation	Delivery of neuroprotective drug	Form inclusion complexes which are a promising formulation for melanoma treatment, transdermal delivery of drugs
Amoxicillin $\beta$ -cyclodextrin	Amoxicillin and $\beta$ -lactam cyclodextrins of different sizes	Low toxicity and low pharmacological activity, protect drug molecules from biodegradation, increased drug transport	Orally administered sustained release formulation for the treatment of peptic ulcers
PLGA nanoparticles poly(lactide-co-glycolide)	Poly(lactide-co-glycolide)(PLGA), a biodegradable polyester	Anticancer enhanced drug delivery to tumor cells, higher efficacy, and fewer side effects	Antibody conjugated ICG-DOX-PLGA nanoparticles have potential for combinatorial chemotherapy and hyperthermia
Lansoprazole-loaded nanoparticles	Lansoprazole-loaded Eudragit RS100 nanoparticles (ERSNP-LPZ) as well as poly(lactic-	Sustained and prolonged drug delivery	Novel lansoprazole-loaded nanoparticles for the treatment of gastric acid secretion-related ulcers

	co-glycolic acid)		
Nanocrystals	Aggregates of molecules, crystalline form of drug	Better biological distribution and bioavailability	Reduce toxic effect of drug
Magnetic nanoparticles	Super paramagnetic iron oxide particles display large magnetic moments in a magnetic field	Targeting tumor cells	Induction of maturation on dendritic cells, via NF- $\kappa$ B signaling pathway
Iron oxide nanoparticles	Ferromagnetic iron oxide nanoparticles and maghemite ( $\gamma$ - $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) and magnetite ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) nanoparticles	Sonochemical decomposition of iron pentacarbonyl, target integrin rich tumor cells	<i>In situ</i> forming hybrid iron oxide-hyaluronic acid hydrogel for magnetic resonance imaging and drug delivery
<i>Metallic</i>			
Silver nanoparticles	$\text{Ag}^+$ -NOM-Iron(II, III) systems	Antibacterial activity controlled release of drugs, proteins, and DNA	Silver nanoparticles crossing through and distribution in the blood brain barrier <i>in vitro</i> , glioma treatment
Gold nanoparticles	Gold solid nanoparticles	Good biocompatibility and easy surface modification utilize the GNPs as multifunctional probes tumor—specific targeting moieties, controlled release of drugs, proteins, and DNA, and used in photoacoustic tomography	Encapsulation, biosensing and imaging, when decorated with oligo(ethylene glycol) thiols show increase in surface charges and interactions with proteins in solution
<i>Nanoshells</i>			
Silica nanoparticles	Coexistence of hydrophilic surface silanol ( $-\text{Si}-\text{OH}$ ) and deprotonated silanol ( $-\text{Si}-\text{O}-$ ) groups photostable	Nontoxicity and good biocompatibility prepared by sol-gel method, 3-aminopropyltrimethoxysilane, allyltrimethoxysilane	Easily cross the blood brain barrier, show higher drug delivery, and show transferring conjugation
<i>Ceramic nanoparticles</i>			
Layered double hydroxide nanoparticles	Coprecipitation of mixed salts, 40–300 nm.	Low cytotoxicity, biocompatibility	Delivery of anticancer drug incorporated in double layer, enhanced anticancer therapeutic efficacy
Calcium phosphate nanoparticles	Hydroxyapatite	Excellent biocompatibility, limited aggregation	Biocompatible, less toxic

Polysorbate-coated nanoparticles	Polysorbate	Transported across the capillary wall, improve the action of drug or any other pharmaceutical across the barrier	Mimic low-density lipoprotein (LDL), enhance drug delivery
ATP binding cassettes	Proteins	Protect against neurotoxicants and limit drug delivery, reduce xenobiotic efflux, rapid transportation of drug across the cell membrane, neuroprotective agent	Cerebral clearance of endogenous neurotoxic compounds

**Fuente.** Tomado de [21]

**Tabla E3.** Nanopartículas usadas para propósitos de diagnóstico e imagen

<b>Nanomaterial</b>	<b>Characteristics, properties</b>	<b>Applications (examples)</b>
Nanocrystals Quantum Dots	Inorganic crystals of CdSe (cadmium selenide 200-10000 atoms wide), coated with ZnS (zinc sulphide). They emit fluorescent light when irradiated with low-energy light. The size of the dots (< 10 nm) determines the frequency of light emitted (i.e. colour). The dots usually have a polymer coating with multivalent bio-conjugate attached, or are embedded into microbeads. Collection of dots of different size embedded to a given microbead emits distinct spectrum of colours - spectral bar code specific for this bead. Detection technique with the use of 10 intensity levels and 6 colours could theoretically provide 10 <sup>6</sup> distinct codes. Quantum dots, for example CdSe-ZnS nanocrystals, do not emit in the near infrared, so they cannot be used for analysis in blood [58].	Multicolour optical coding for biological assays [59]. Labelling of the breast cancer marker Her2 on the surface of fixed and live cancer cells (quantum dots linked to immunoglobulin IgG and streptavidin). Stain actin and microtubule fibers in the cytoplasm. Detection of nuclear antigens in side nucleus [60]. Immunohistochemical analysis of paraffin-embedded tissue sections (fluorescent nanocrystals conjugated to antibodies) [61]. <i>In vivo</i> targeting [62].
Nanobarcodes	Freestanding, cylindrical nanoparticles with specific patterns of submicron stripes of noble metal ions, produced by alternating electrochemical reduction of the appropriate metals. They are between 12 nm and 15 µm in width and 1–50 µm in length. The striping patterns make them distinctive (like conventional barcodes) under light, or fluorescent microscopy, or mass spectrometry. Nanobarcodes are easy to make in a nearly unlimited number of uniquely identified 'flavors' (from 4 different metals and 8 stripes 32 896 distinct nanoparticles can be prepared) [63, 64].	SNP mapping. Coding in multiplexed assays for proteomics, population diagnostics and in point-of-care hand-held devices. Proteins detection by either mass spectrometry or fluorescence measure (after proteins immobilization on a metal surface).
Metallic nanobeads	Nanoparticles made of noble metals (gold or silver-enhanced gold) with diameters	Cancer diagnosis [67]. DNA detection assay [66].

	between 15 to 60 nm [42, 65-67]. They can be detected by the transmissive and reflective light measure, plasmon resonance, quartz crystal microbalance, and differential pulse voltametry.	DNA diagnostics [68].
Silica Nanoparticles	Synthesized using standard water-in-oil microemulsion method (60nm in diameter). They were silanised, and coated by oligonucleotide before use (DNA immobilization). They are observable by fluorescence measurements methods [69].	Efficient nucleic acid hybridization (oligonucleotide-modified nanoparticles). Detection of nanomolar range target DNA probes (DNA conjugated nanoparticles). Ultrasmall nano-biosensors for trace analysis [69].
Ferrofluid Magnetic Nanoparticles, Magnetic Beads	Ferrofluid (25-100 nm in radius) particles consist of a magnetic core surrounded by a polymeric layer (biological substrate) coated with affinity molecules, such as antibodies, for very sensitive cells or other tissue samples capture or separation. Macro magnetic beads are bigger in size. They might be coated with streptavidin to bind to biotin with a single-stranded DNA probes specific for a bioagent or sample DNA attached. They are detectable through amperometry or resistance measure. They can be also manipulated in a magnetic field [70].	Imaging specific molecular targets using nanoparticles as magnetic resonance (MR) contrast agents [71]. Isolation of cells (e.g. cancer or bacterial) and many important biological molecules (e.g., DNA, peptides) from complex mixtures, including blood, tissues and bodily fluids.
Carbon Nanotubes	Carbon cylinders rising in the process of folding graphitic layers. The cylinders have remarkable strength and unique electrical properties making them insulting, semiconducting or conducting depending on their structure. They may be composed of a single shell – single-walled nanotubes (SWNTs), or of several shells – multi-walled nanotubes (MWNTs) [72, 73]. They are produced by microwave plasma enhanced chemical vapour deposition. Deposition's parameters: pressure, substrate	Promotion of electron transfer reactions when used to fabricate electrodes for the oxidation of biomolecules including dopamine, protein and $\beta$ -nicotinamide adenine dinucleotide [77-80]. Extracellular analysis (glucose biosensor constructed by immobilization of enzyme on multi-walled carbon nanotubes [81, 82]). <i>In vivo</i> diagnostics (integration of vertically aligned carbon nanofibre with either absorbed or covalently-linked plasmid with the intracellular domains of viable cells for

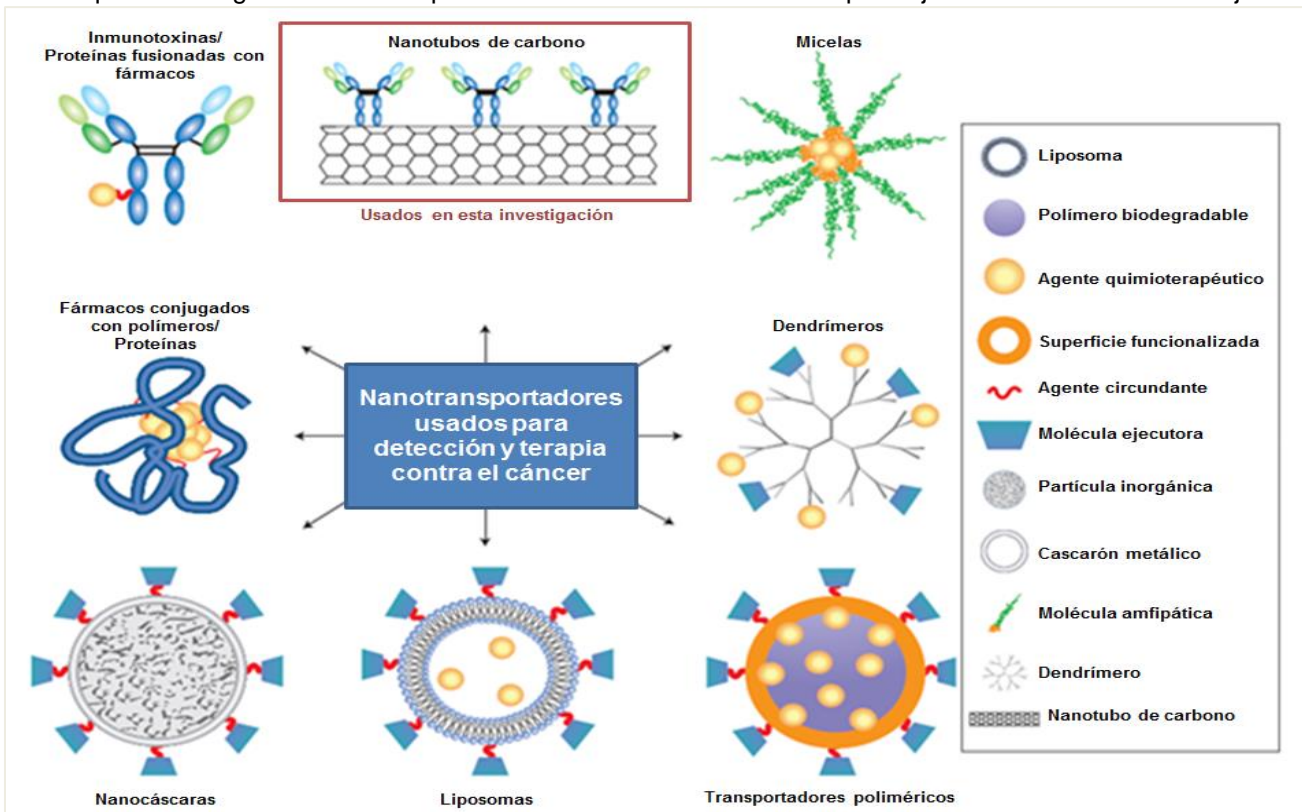
	<p>temperature, microwave power and gas flow ratio of CH<sub>4</sub>/ (CH<sub>4</sub>+H<sub>2</sub>) have influence on cylinders structure. Carbon nanotubes may be grown on a wide variety of substrates (including quartz and glass slides, platinum substrates) in the presence of catalyst (like nickel).</p> <p>Average length of these nanoparticles is of 25 μm order. Mean diameter may vary from 30 nm up to 150 nm. But with the use of super-lattice nanowire pattern transfer individual semiconductor nanowires can be created that are as little as 8 nm in diameter with the same distance between each wire (Jim Heath, California Institute of Technology, Pasadena) [74]. In most cases electrical properties of carbon nanotubes are utilized for measurement purposes. When used in biosensing, carbon nanotubes have specific biomolecules attached. There are some other materials (no carbon), which possess ability to perform the conformation of nanorings and nanotubes [75, 76].</p>	<p>controlled biochemical manipulation [83]).</p>
<p>Optical Fibres</p>	<p>Optical fibres pulled down to tips having distal end sizes of approximately 30–60 nm. Fabrication procedure involves pulling from a larger silica optical fibre using a special fibre-pulling device what yields fibre with submicron diameters. One end of such fibre is polished from 600-μm silica/silica to a 0.3 μm finish. The other end is pulled then to a submicron length using a fibre puller. Thus the distal end of the fibre reaches 60 nm size. To prevent light leakage of the excitation light on the tapered side of the fibre, the side wall of the tapered end can be coated with a thin layer of silver,</p>	<p><i>In situ</i> measurements of benzopyrene tetrol in single cells with the antibody-based nanoprobe (small size of optical fibres allows sensing intracellular/intercellular physiological and biological parameters in microenvironments) [14, 27].</p> <p>Specific detection of target DNA at zeptomole levels (in 10 μl of a 100 attomolar solution), in the presence of non-cDNA [86].</p> <p>Analysis of mRNA isoforms in human cancer cell lines in conjunction with a new enzymatic detection method termed RNA-based annealing, selection and ligation (RASL) [87].</p>

	<p>aluminium or gold (100–300 nm) leaving the distal end of the fibre free. These nanoparticles are not subject to electromagnetic interferences from static electricity, strong magnetic fields, or surface potentials. Fibreoptic nanoprobes can be covalently bound either with bioreceptors, such as antibodies, or with other, synthetic receptors, such as cyclodextrins [84, 85].</p>	
<p>Nanopores</p>	<p>Molecular-scale pores fabricated from variety solid-state materials (like silicon nitride) by ion-beam sculpting technique [88, 89]. The technique uses low-energy ion beams to slowly shape the surface of a material, while a feedback loop enables single-nanometre control over the pore dimension. Nanopores can be fabricated in two ways: they can be created from a cavity in the membrane under conditions where the sputtering erosion process dominates, or can be made by filling in larger pores under conditions where the lateral mass transport process dominates. The depth of nanopore fabricated in a membrane 5–10 nm thick is smaller than the molecule persistence length (50 nm for dsDNA), and a pore diameter 3-nm is slightly larger than the cross-sectional size of the molecule (~2 nm). In another attempt nanopores are created as an array of cylindrical gold nanotubes with as small as 1.6 nm inner diameter [90].</p>	<p>Manipulation and electronically registering of single DNA molecules in aqueous solution [91, 92]. Discrimination and characteristic of unlabeled DNA molecules at low copy number [52]. It has been suggested that the nucleic acid sequences could be determined at rates exciding 1000 bases per second [93].</p>

Fuente. Tomado de [13]

## ANEXO F. ILUSTRACIÓN DE NANOTRANSPORTADORES USADOS FRECUENTEMENTE EN DDS PARA TRATAMIENTOS CONTRA EL CÁNCER

**Figura F1.** Esquema de algunos nanotransportadores comúnmente utilizados para ejecución selectiva sobre tejidos malignos

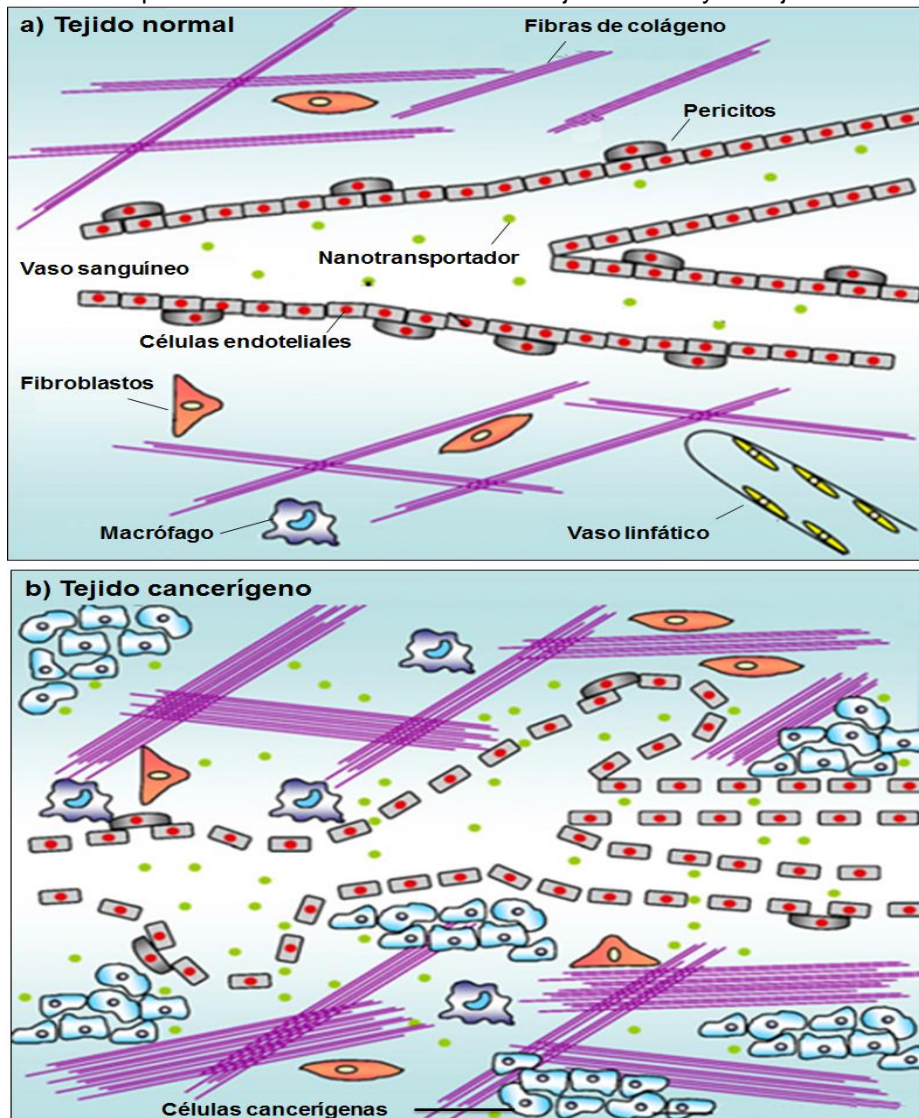


Fuente. Modificado de [11]

## ANEXO G. DIFERENCIAS ENTRE TEJIDO NORMAL Y TEJIDO CANCERÍGENO, Y TIPOS DE ENTREGA DE FÁRMACO

En la Figura G1 se ilustran las diferencias entre un tejido normal y uno tumoral con el fin de comprender mejor la entrega activa y pasiva de fármacos. a) Tejido normal con vasos sanguíneos lineales mantenidos por los pericitos, lo cual lleva a un funcionamiento normal del tejido. b) Tejido tumoral con vasos sanguíneos irregulares y defectuosos producto de la acumulación de células tumorales, lo cual lleva a un funcionamiento inestable del tejido.

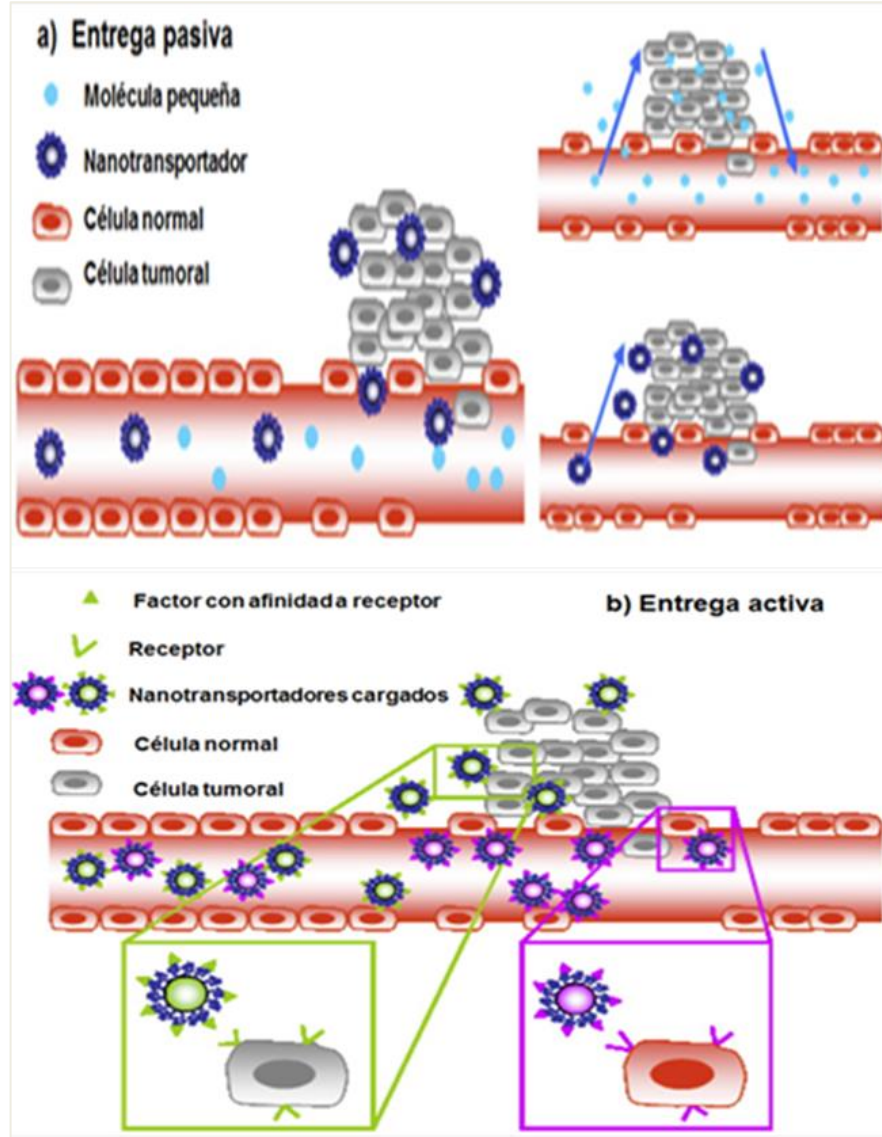
**Figura G1.** Esquema de las diferencias entre un tejido normal y un tejido cancerígeno



Fuente. Modificado de [29]

En la Figura G2 se ilustran los tipos de entrega de fármaco. a) Entrega Pasiva en donde se observa como los nanotransportadores se acumulan sobre las células tumorales en comparación a las normales por medio del efecto EPR que es la tendencia de las macromoléculas a acumularse más en tejidos malignos que en tejidos normales [28]. Las Moléculas de tamaño diminuto se difunden fácilmente por el tumor evidenciando la ausencia del efecto EPR. b) Entrega Activa en donde se utiliza un DDS que se ejecuta selectivamente sobre las células tumorales debido a algún factor presente en su superficie con afinidad por algún receptor sobreexpresado en estas células.

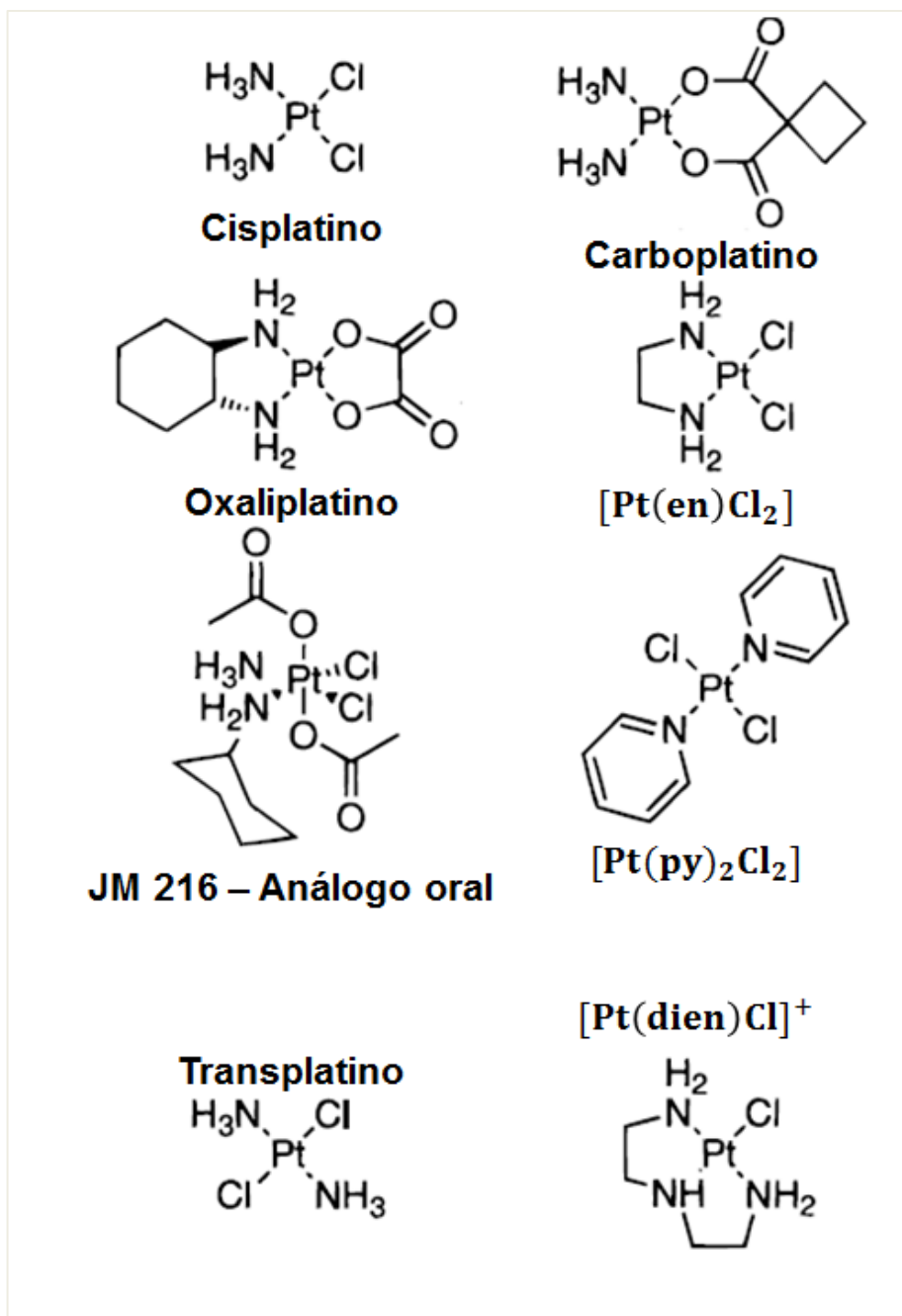
**Figura G2.** Tipos de entrega de fármaco. a) Entrega pasiva y b) Entrega activa



**Fuente.** Modificado de [29]

## ANEXO H. COMPUESTOS A BASE DE PLATINO USADOS PARA ACTIVIDADES BIOLÓGICAS

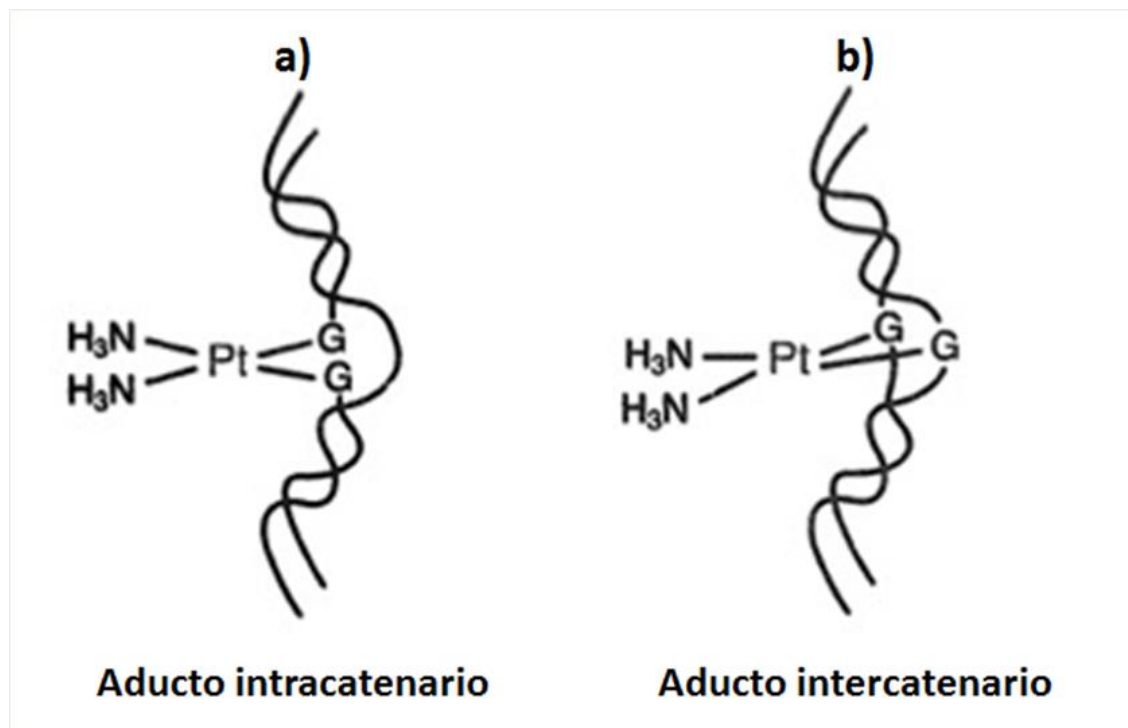
Figura H1. Esquema de compuestos a base de platino comúnmente usados como agentes biológicos



Fuente. Modificado de [52]

## ANEXO I. ADUCTOS FORMADOS ENTRE EL CISPLATINO Y EL DNA

**Figura I1.** Esquema de aductos formados entre el CDDP y el DNA de las células atacadas: a) de tipo intracatenario y b) de tipo intercatenario



Fuente. Modificado de [49]

# ANEXO J. HOJAS DE INFORMACIÓN DE CDDP SIGMA-ALDRICH®

Figura J1. Hoja de información de CDDP de Sigma-Aldrich® -1

## Product Information

[sigma-aldrich.com](http://sigma-aldrich.com)

3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103 USA  
Tel: (800) 521-8956 (314) 771-5765 Fax: (800) 325-5052 (314) 771-5757  
email: [techservice@sial.com](mailto:techservice@sial.com) [sigma-aldrich.com](http://sigma-aldrich.com)

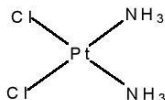
### cis-Diammineplatinum(II) dichloride

Product Number **P4394**  
Store at Room Temperature

CAS# 15663-27-1

Synonyms: Cisplatin; cis-DDP; CPDD; CDDP;  
NCI-C55776; Neoplatin; NK 801; NSC-119875;  
Peyrone's Chloride

#### Product Description



Appearance: Yellow to orange powder  
Molecular Formula:  $\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2$   
Molecular Weight: 300.0  
Melting Point: 270 °C (decomposes)<sup>1</sup>  
Extinction Coefficient: (0.1 N HCl):  
At 203 nm,  $E^{1\%}_{1\text{cm}} = 5.2 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ,  $E^{1\%} = 173$ ;  
301 nm,  $E^{1\%}_{1\text{cm}} = 0.130 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ,  $E^{1\%} = 4.33$ ;  
362 nm,  $E^{1\%}_{1\text{cm}} = 0.024 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ,  $E^{1\%} = 0.806$ .<sup>1</sup>

A method of preparation and physical properties including the  $\text{pK}_a$  of several species of cisplatin in water,<sup>2</sup> the UV and visible spectra, HPLC methods, and mass spectra have been reported.<sup>1</sup>

Cisplatin is a platinum-containing, broad activity antineoplastic and alkylating agent effective against solid tumors of testes, ovaries, and bladder; epithelial malignancies; and cancers of the esophagus, lung, head, and neck.<sup>1,3,4</sup> Cisplatin is effective against sarcoma and leukemia in mice.<sup>5</sup> Cisplatin enters cells by diffusion. Its chloride is replaced with water forming the active, positively charged species, which may react with DNA to form intra (between N7 atoms of adjacent pairs) and interstrand crosslinks, thereby, inhibiting DNA replication.<sup>4</sup> Inhibition of the *Bam*H I cleavage and unwinding of pBR322 DNA by cisplatin was reported.<sup>6</sup>

Cisplatin (12.5  $\mu\text{M}$ ) binds to free sulfhydryl groups in tubulin and causes a partial depolymerization of microtubules.<sup>7</sup> It changes microtubule assembly by

direct tubulin modification<sup>8</sup> and causes changes in the cytoskeletal pattern of tumor cells.<sup>9</sup> Cisplatin has induced apoptosis in cisplatin-sensitive and -resistant human ovarian cancer cells.<sup>10,11</sup> Cisplatin (5 mM) complexes with phosphatidylserine lipids in the membrane<sup>12</sup> and reportedly induces nephrotoxicity in the rat mainly by proximal tubular impairment.<sup>13</sup>

The mechanism of action,<sup>4,14,15</sup> pharmacokinetics,<sup>3,16</sup> and clinical and pharmacological properties<sup>15,17</sup> have been published. Cisplatin is a mutagenic and carcinogenic agent.<sup>18,19</sup>

#### Precautions and Disclaimer

This product is for laboratory research use only. Please consult the Material Safety Data Sheet for information regarding hazards and safe handling practices.

#### Storage/Stability

The product is soluble in water at 25 °C (0.253 g/100 g).<sup>15</sup> Apparent molar solubilities are: in water (after 24 hours),  $0.77 \times 10^{-2}$  in water (after 72 hours),  $0.83 \times 10^{-2}$  and in 0.9% sodium chloride (after 72 hours),  $0.50 \times 10^{-2}$ .<sup>1</sup>

Cisplatin is insoluble in alcohol.<sup>3</sup> Apparent molar solubilities of cisplatin in other organic solvents are (at 25 °C):

Dimethylformamide (DMF)  $6.67 \times 10^{-2}$   
Dimethylacetamide (DMA)  $6.00 \times 10^{-2}$   
and Dimethyl sulfoxide (DMSO)  $116.6 \times 10^{-2}$ .<sup>1</sup>

Cisplatin is soluble in DMF (approximately 16.6 mg/ml) with gentle heating.

The cis-trans isomerization of cisplatin occurs in aqueous solution (in the absence of catalysts) and is increased at elevated temperatures.<sup>15,20</sup> The reversible substitution of water for chloride ions in cisplatin may be the primary reason for its decomposition in aqueous solutions.<sup>3</sup>

Even though cis-platin is soluble in DMSO, the use of DMSO to dissolve *cis*- or *trans*-diamminedichloroplatinum (DDP) in biological studies is **strongly** discouraged. The DMSO inserts itself into the ligand.<sup>27</sup>

## Figura J2. Hoja de información de CDDP de Sigma-Aldrich®-2

Stability of cisplatin in aqueous solutions was enhanced by increasing the sodium chloride (NaCl) concentration to 0.9% and was adversely affected in alkaline solutions such as sodium bicarbonate solutions.<sup>3,21</sup> A solution of cisplatin in 0.9% NaCl was stable for 24 hours (after an initial loss of 3% in less than one hour) at room temperature protected from the light.<sup>3,22</sup> The increased stability in NaCl solutions may be due to the availability of excess chloride ions.<sup>3</sup> Solutions of <0.6 mg/ml in NaCl should be stored at 2-8 °C and protected from light to avoid precipitation.<sup>22</sup> In addition to isotonic saline solution, cisplatin was stable in isotonic saline containing 5% dextrose in lactated Ringers solution.<sup>21</sup> A 0.1% solution in 0.9% sodium chloride solution has a pH range of 4.5-6.0 immediately after preparation.<sup>3</sup> It is recommended to prepare all solutions fresh and protect from light.

Cisplatin is stable in the presence of mannitol, glucose, benzyl alcohol, and parabens.<sup>1,21,23</sup> Cisplatin reacts with nucleophiles such as bisulfite (an antioxidant),<sup>24,25</sup> methionine, methionine containing peptides, and other compounds containing divalent sulfur.<sup>1</sup> Cisplatin (1 mg/ml) also reacts with aluminum producing a gas and black precipitate.<sup>26</sup>

### References

1. Riley, C.M., and Sternson, L.A., "Cisplatin" Analytical Profiles of Drug Substances, **14**, 77, (1985).
2. Berners-Price, S.J. et al., J. Chem. Soc. Chem. Commun. **789**, 1992.
3. Martindale, The Extra Pharmacopoeia, 31st ed. p. 552.
4. Chabner, B.A. et al. "Antineoplastic Agents" Chapter 51, p. 1233 in Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 9th ed. Hardman, J.G. et al. Eds. McGraw-Hill, New York, 1996.
5. Rosenberg, B. et al., Nature, **222**, 385, (1969).
6. Ushay, H.M. et al., Biochem., **20**, 3744, (1981).
7. Peyrot, V. et al., Biochem. Pharmacol., **35**, 371, (1986).
8. Boekelheide, K. et al., Toxicol. Appl. Pharmacol., **116**, 146, (1992).
9. Kopf-Maier, P., and Muhlhausen, S.K., Chem. Biol. Interact., **82**, 295, (1992).
10. Zaffaroni, N. et al., Br. J. Cancer, **77**, 1378, (1998).
11. Henkels, K.M., and Turchi, J.J., Cancer Res., **57**, 4488, (1997).
12. Speelmans, G. et al., Biochem., **36**, 10545, (1997).
13. Daugaard, G. et al., J. Pharmacol. Exp. Ther., **244**, 1081, (1988).
14. Lippard, S.J., Science, **218**, 1075, (1982).
15. The Merck Index, 12<sup>th</sup> ed., Entry# 2378.
16. Benet, L.Z. et al. "Design and Optimization of Dosage Regimens: Pharmacokinetic Data" Appendix II, 1707, in Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 9th ed. Hardman, J.G. et al. Eds. McGraw-Hill, New York, 1996.
17. DeConti, R.C. et al., Cancer Res., **33**, 1310, (1973).
18. Chibber, R. et al., Eur. J. Cancer and Clin. Oncol., **25**, 27, (1989).
19. Burnouf, D. et al., Proc. Natl Acad. Sci., **87**, 6087, (1990).
20. Breusova-Baidala, Y. et al., Izv. Akad. Nauk SSSR, Ser. Khim., **6**, 1239, 1974 (in Russian). (Chemical Abstracts, 78, 987089).
21. Hincal, A.A. et al., J. Parenter. Drug Assoc., **33**, 107, (1979).
22. Greene, R.F. et al., Am. J. Hos. Pharm., **36**, 38, (1979).
23. LaFollette, J.M. et al., Am J. Hosp. Pharm., **42**, 2652, (1985).
24. Hussain, A.A. et al., J. Pharm. Sci., **69**, 364, (1980).
25. Garren, K.W., and Repta, A.J., Int'l J. Pharmaceutics, **24**, 91, (1985).
26. Ogawa, G.S. et al., Am. J. Hosp. Pharm., **42**, 1042, (1985).
27. Sundquist, W.I., et al., Solvolysis Reactions of *cis*->-and *trans*--Diamminedichloroplatinum(II) in Dimethyl Sulfoxide. Structural characterization and DNA binding of *trans*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(Me<sub>2</sub>SO)Cl]<sup>+</sup>. Inorg. Chem., **26**, 1524-1528 (1987).

ARO/MAM 5/07

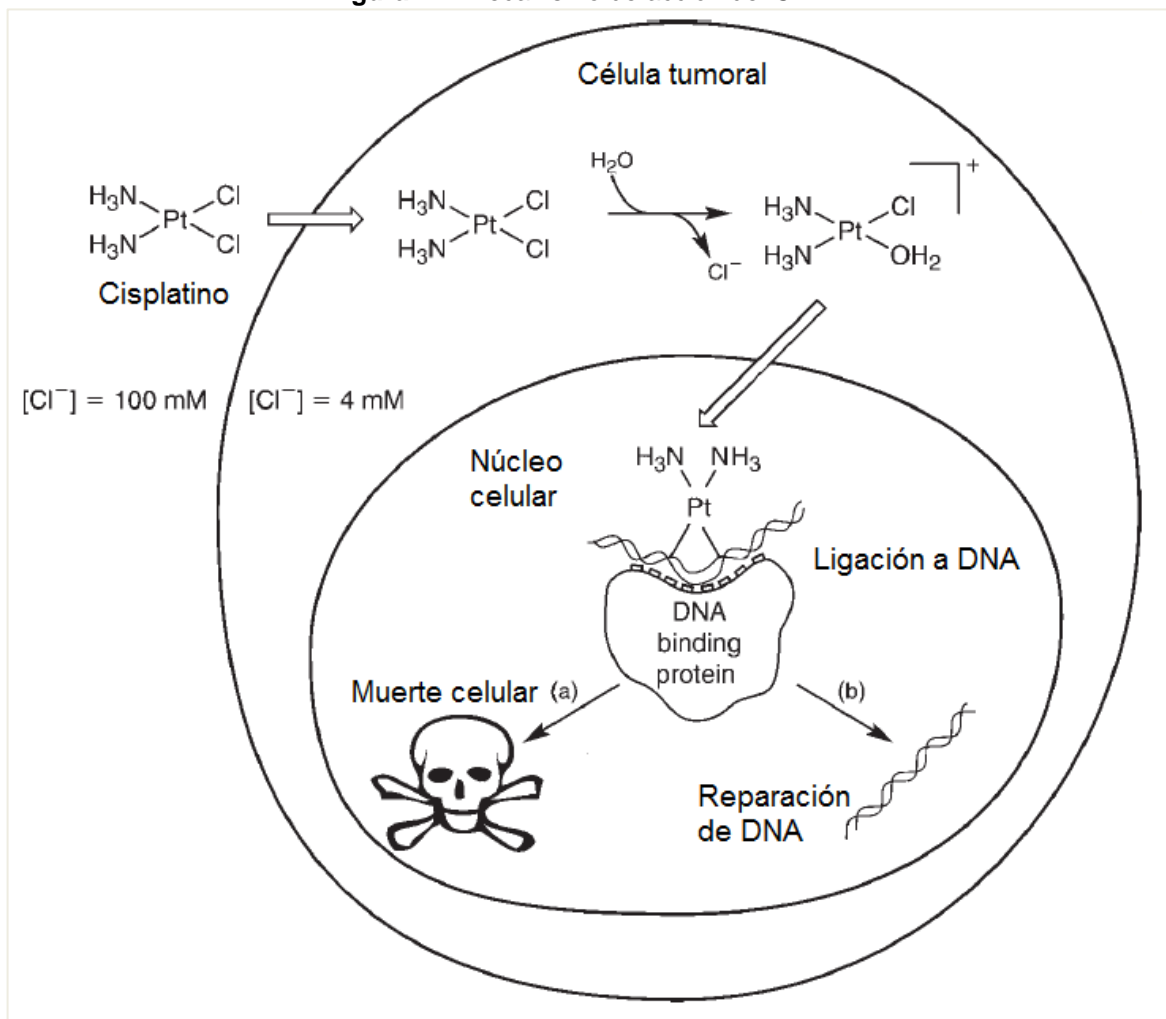
Sigma brand products are sold through Sigma-Aldrich, Inc.  
Sigma-Aldrich, Inc. warrants that its products conform to the information contained in this and other Sigma-Aldrich publications. Purchaser must determine the suitability of the product(s) for their particular use. Additional terms and conditions may apply. Please see reverse side of the invoice or packing slip.

Fuente. Tomado de [55]

## ANEXO K. MECANISMO DE ACCIÓN DE CDDP

En la Figura K1 se ilustra el mecanismo de acción del cisplatino sobre una célula tumoral. Una vez dentro de la célula, el agente quimioterapéutico se hidroliza y posteriormente interactúa de manera negativa con el DNA de la célula maligna generando lesiones en su cadena. Si la lesión no logra ser reparada a tiempo, la célula muere por apoptosis.

Figura K1. Mecanismo de acción del CDDP

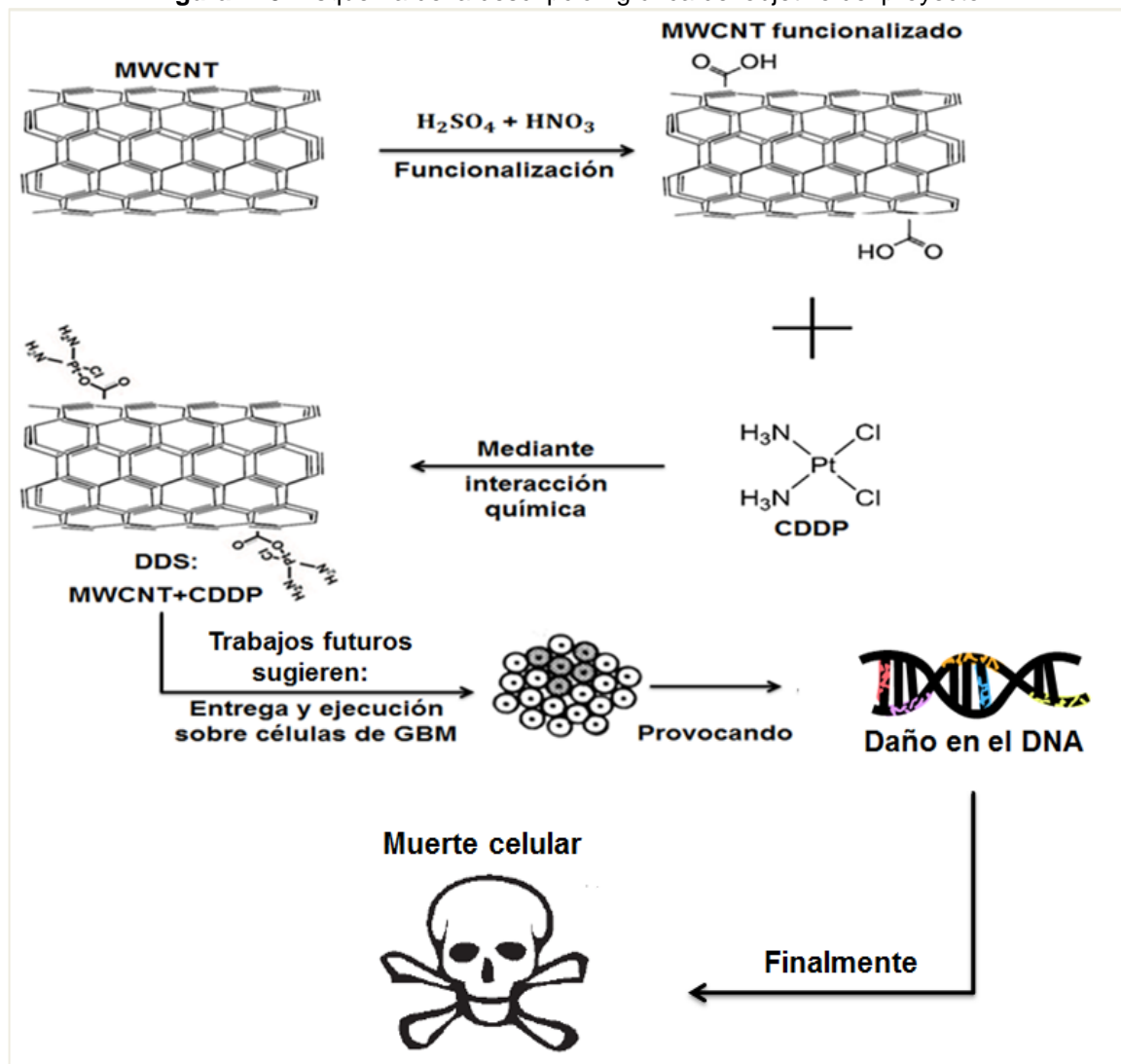


Fuente. Modificado de [51]

## ANEXO L. DESCRIPCIÓN GRÁFICA DEL OBJETIVO DEL PROYECTO REALIZADO

En la Figura L1 se ilustran los procesos generales que se siguieron durante este trabajo, desde la síntesis de MWCNT hasta el diseño del DDS. También se ilustran los pasos a seguir a futuro como alternativa para continuar con la investigación realizada, partiendo de la entrega y ejecución del DDS creado hasta la viabilidad celular de este, sobre líneas celulares de GBM.

Figura L15. Esquema de la descripción gráfica del objetivo del proyecto



## ANEXO M. MÉTODOS DE SÍNTESIS DE CNTs

**Figura M1.** Esquema de los diferentes métodos de síntesis para la producción de CNTs



## ANEXO N. INFORMACIÓN ADICIONAL DE LA SÍNTESIS DE LOS MWCNTs POR CVD

La síntesis de los MWCNTs se realizó utilizando el método de Deposición Química a través de Fase Vapor (Chemical Vapor Deposition - CVD) (Figura N1). Este método consistió en separar carbono e hidrógeno a partir de etileno en presencia de un catalizador a base de cobalto y hierro y soportado en óxido de magnesio a altas temperaturas. Una vez el carbono alcanzó el límite de solubilidad sobre el catalizador a 750 °C, se precipitó y cristalizó formando redes cilíndricas energéticamente estables (MWCNTs). La cristalización, que fue un proceso endotérmico, absorbió cierta cantidad de calor de los precipitados que se encuentran sobre el catalizador. El gradiente de temperatura que se forma producto de la descomposición del  $C_2H_4$  y la cristalización del carbono, es el encargado de mantener estable el proceso de producción de MWCNTs [39].

Posteriormente debido a que la síntesis por CVD dio como resultado CNTs de longitud muy grande ( $D_{ext} = 5$  a  $60$  nm y  $L = 5$  a  $30$   $\mu$ m), este procedimiento se debió complementar quebrando los nanotubos para poder disminuir su tamaño, mediante la agitación de estos en presencia de zirconia y etanol, en un arreglo de dos molinos en movimiento por un tiempo de 72 horas a 40 rpm (Figura N2). La función de la  $ZrO_2$  fue estar en constante contacto con los MWCNTs provocando que se quebraran y redujeran su tamaño, mientras que la función del  $C_2H_6O$  fue dispersar los MWCNTs.

En el proceso de síntesis, el tamaño de partícula del catalizador es la clave para garantizar la formación de MWCNTs y evitar la formación de SWCNTs y otras formas de carbono. Para la producción de nanotubos de tipo single-wall, el tamaño de partícula es por lo general de unos pocos nanómetros, mientras que para la formación de multi-wall el tamaño aumenta a unas decenas de nanómetros. Sin embargo, si el tamaño sobrepasa las decenas de nanómetros se corre el riesgo de producir carbono en formas indeseables.

**Figura N1.** Equipo de CVD usado para la síntesis de MWCNTs.



### **Nanotubos de carbono de paredes múltiples (MWCNT):**

Los MWCNTs presentan una mayor área superficial debido a sus múltiples hojas de grafeno enroscadas, lo cual favorece una mayor ligación de agentes y compuestos químicos (drogas, fármacos, proteínas, anticuerpos, surfactantes, entre otros) a su superficie. En este contexto, los MWCNTs favorecen el incremento de la citotoxicidad de un sistema de entrega droga. Por otro lado, la temperatura requerida para la CVD está entre 600 y 900 °C para MWCNTs, mientras que para SWCNTs está entre 900 y 1200 °C. El anterior rango de temperatura evidencia una energía de formación menor para los multi-wall y un

gasto energético menor debido presumiblemente a los diámetros de mayor tamaño y a la baja energía de deformación. Además, este rango de temperatura de deposición favorece el fácil crecimiento en la gran mayoría de los hidrocarburos a diferencia de los single-wall, que necesitan de hidrocarburos selectos para poder crecer.

**Figura N2.** Tratamiento pos-CVD: arreglo de molinos para agitación de MWCNTs.



### **Etileno (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>) como precursor:**

La estructura molecular del precursor juega un papel importante en la morfología de los nanotubos en crecimiento. Hidrocarburos lineales como por ejemplo metano (CH<sub>4</sub>), etileno (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>) o acetileno (C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>), se descomponen térmicamente en carbonos atómicos o en dímeros/trímeros lineales de carbono y generalmente producen nanotubos rectos y huecos, cumpliendo con las características morfológicas deseadas para este trabajo. Por otro lado, hidrocarburos cíclicos como benceno (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>), xileno (C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>), ciclohexano (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>) o fulerenos, producen nanotubos relativamente curvos y con paredes internas no huecas.

### **Catalizador a base de Co y Fe y soportado en MgO:**

Los metales más usados como catalizadores en el método CVD son los de transición cobalto e hierro básicamente por dos razones principales: la primera es porque el carbono presenta una gran solubilidad en estos dos metales (y en níquel también) a altas temperaturas y la segunda es la alta velocidad de difusión del carbono hacia estos metales. En este trabajo se evita el uso de níquel como catalizador debido principalmente a que representa un agente cancerígeno potencial y su manipulación podría generar efectos secundarios indeseados.

Además de las características mencionadas anteriormente sobre Co y Fe, un alto punto de fusión (1495 y 1538 °C respectivamente) y una baja presión de vapor, sustentan el uso de estos metales en amplios rangos de temperatura en presencia de numerosos precursores de carbono.

La función del soporte catalítico MgO es mantener separadas y dispersas las partículas metálicas de catalizador, evitando que se acumulen y en consecuencia, impidan el contacto directo con los átomos de carbono. En la Figura N3 se ilustra el catalizador utilizado en la síntesis por CVD.

El catalizador fue preparado y suministrado por el técnico del laboratorio de nanomateriales–UFMG, Sergio Oliveira.

**Figura N3.** Esquema del catalizador usado para la síntesis de MWCNTs por CVD.



## ANEXO O. INFORMACIÓN ADICIONAL DE LA FUNCIONALIZACIÓN DE LOS MWCNTs

Se hace necesario funcionalizar los MWCNTs para que obtengan potenciales aplicaciones. Un nanotubo de carbono sin funcionalizar prácticamente no tiene una aplicación útil. Una funcionalización con grupos reactivos carboxílicos (COOH) o aminas (NH<sub>2</sub>) mejora la biocompatibilidad de estos nanomateriales.

En este estudio se funcionalizaron MWCNTs en presencia de HNO<sub>3</sub> y H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (relación 1:1 en volumen) para generar grupos COOH reactivos en sus superficies, capaces de reaccionar e interactuar con agentes y compuestos químicos.

En la Figura O1 se observa en horno microondas Start Synth Microwave Synthesis Labstation usado para la funcionalización de los MWCNTs.

**Figura O1.** Horno microondas Start Synth Microwave Synthesis Labstation



En las Figuras O2 y O3 se ilustra la estufa usada para el secado de los MWCNTs en solución y una muestra de los MWCNTs funcionalizados, respectivamente.

**Figura O2.** Estufa al vacío Brasimet Heraeus



**Figura O3.** Muestra de MWCNTs funcionalizados



## ANEXO P. INFORMACIÓN ADICIONAL DE LA SOLUBILIZACIÓN DE LOS MWCNTs

Una vez los MWCNTs están funcionalizados se procede a solubilizarlos. La solubilización consiste en depositarlos en un solvente que puede ser de tipo orgánico o agua destilada y someterlos a un proceso de sonicación por un tiempo determinado. El objetivo de la solubilización es favorecer la ligación de agentes y compuestos a las superficies de los MWCNTs, en donde se encuentran los grupos reactivos COOH. En la Figura P1 se ilustra el equipo de sonicación usado.

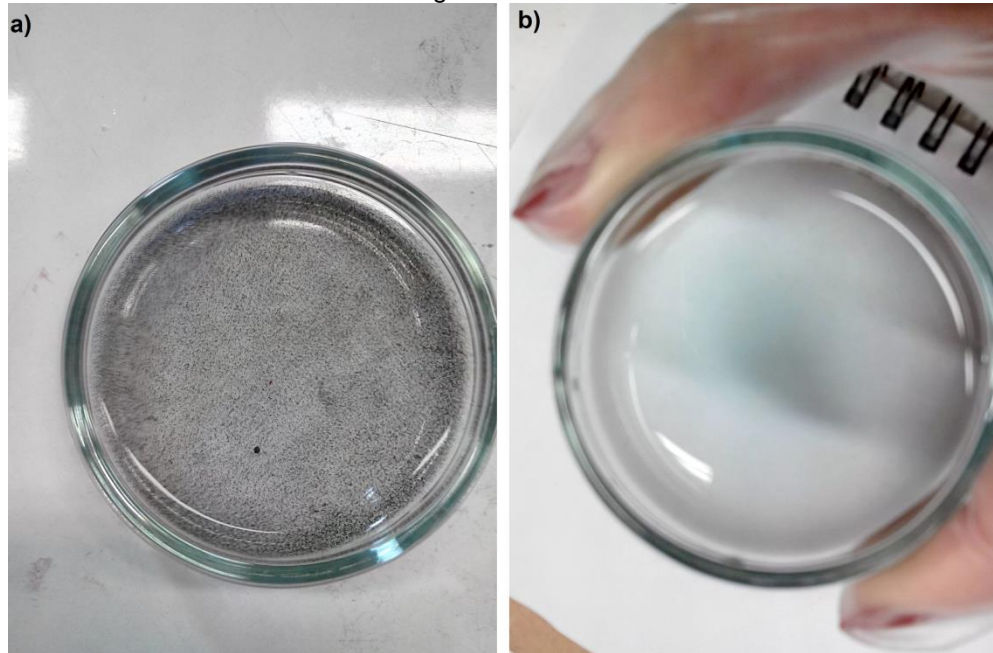
**Figura P1.** Equipo de sonicación SONICS VIBRA CELL



En la Figura P2 se ilustra dos muestras de MWCNTs. En la muestra a) se observan nanotubos de carbono dispersos debido a la ausencia del proceso de agitación por ultrasonido. Por otro lado, en la muestra b) se observan nanotubos de carbono solubilizados siguiendo el proceso de agitación descrito en 2.3. En la

muestra b) no se observan dispersiones ni acumulaciones de flóculos de MWCNTs, sugiriendo que el proceso de solubilización fue exitoso.

**Figura P2.** Muestras de MWCNTs: a) Dispersos en solución de agua destilada. b) Solubilizados en agua destilada



## ANEXO Q. CARACTERIZACIONES

### **Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)**

Esta técnica se usó con el fin de verificar la formación y morfología de los nanotubos de carbono puros y funcionalizados. Se empleó un microscopio electrónico de barrido JEOL JSM - 6360LV. Esta técnica se realizó en el Centro de Microscopía–UFMG. Se requirió de 2 mg de cada muestra (MWCNT y MWCNT–COOH).

### **Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM)**

Esta técnica se usó con el fin de identificar las propiedades físicas de los nanotubos de carbono puros y funcionalizados, como por ejemplo el diámetro externo e interno y el número de paredes. Se empleó un microscopio electrónico de transmisión SpiritBiotwin FEI – 120 kV. Esta técnica se realizó en el Centro de Microscopía–UFMG. 2 mg tanto de MWCNT como de MWCNT–COOH fueron sometidos a sonicación en presencia de agua destilada con el objetivo de preparar la muestra para la técnica.

### **Análisis Termogravimétrico (TGA)**

Esta técnica se usó con el objetivo de cuantificar las formas de carbono e impurezas presentes en las muestras (MWCNT, MWCNT–COOH y MWCNT–COOH–CDDP). Se empleó un DTG-60/60 Simultaneous Thermogravimetry/Differential Thermal Analyzer con un flujo de aire de 10 °C/min y una temperatura máxima de operación de 900 °C. Esta técnica se realizó en el Laboratorio de Nanomateriales–UFMG. Las cantidades tanto MWCNT como de MWCNT–COOH y MWCNT–COOH–CDDP que fueron usadas para poder hacer el análisis por TGA, se reportan en los ANEXOS R(1), R(2) Y R(3).

### **Espectroscopía Raman**

Esta técnica se usó con el objetivo de identificar la calidad de los nanotubos de carbono usados y comprobar la ligación del cisplatino a su superficie, usando un láser de Ar/CO<sub>2</sub> con una longitud de onda de excitación de 514,5 nm. Estas medidas se realizaron en el Laboratorio de Espectroscopía Raman del

Departamento de Física–UFMG. 2 mg de MWCNT–COOH y MWCNT–COOH–CDDP se depositaron en una cama de silicio de tal forma que la superficie superior tuviera secciones planas.

#### **2.6.6 Espectrometría Infrarroja (FTIR):**

Esta técnica se usó con el objetivo de identificar la ligación del CDDP a los MWCNT mediante el análisis de las frecuencias vibracionales de cada compuesto en alta frecuencia. Estas medidas se realizaron en el Departamento de Química–UFMG usando un equipo de espectroscopía de infrarrojo Perkim Elmer FTIR BX e Varian FTIR 660. Para la realización de la muestra fueron requeridos 4,3 mg de MWCNT–COOH, 4,5 mg de CDDP y 4,3 mg de MWCNT–COOH–CDDP.

## ANEXO R. CÁLCULOS Y RESULTADOS ADICIONALES

**ANEXO R(1):** Cálculo de rendimiento de nanotubos de carbono.

$$\% \text{ MWCNT} = \frac{\text{masa producida de nanotubos}}{\text{masa inicial de catalizador}} \times 100\%$$

$$\% \text{ MWCNT} = \frac{5023 \text{ mg de MWCNTs}}{207,4 \text{ mg de catalizador}} \times 100\%$$

$$\% \text{ MWCNT} = 2421,89\%$$

**ANEXO R(2):** Tabla de resultados obtenidos y ajustes usados para la técnica TGA de nanotubos sin funcionalizar.

Resultado – Ajuste	Valor	Resultado – Ajuste	Valor
Temperatura inicial de quema	385 °C	Masa inicial de MWCNT	1,855 mg
Temperatura final de quema	696 °C	Pérdida de masa	-1,819 mg
Temperatura de flujo de aire	900 °C		-98,059 %
Atmósfera	Aire	Flujo volumétrico de Aire	100 mL/min
Flujo térmico de aire	10 °C/min		

**ANEXO R(3):** Tabla de resultados obtenidos y ajustes usados para la técnica de TGA en nanotubos funcionalizados.

Ajustes Generales			
Ajuste		Valor	
Masa inicial de MWCNT–COOH		2,868 mg	
Atmósfera		Aire	
Flujo volumétrico de aire		100 ml/min	
Flujo térmico de aire		10 °C/min	
Temperatura de flujo de aire		900 °C	
Resultados – Grupos COOH		Resultados – MWCNT	
Temperatura inicial de quema	120 °C	Temperatura inicial de proceso	464 °C
Temperatura final de quema	440 °C	Temperatura final de proceso	716 °C
Pérdida de masa	-0,185 mg	Pérdida de masa	-2,497 mg
	-6,450 %		-87,064 %

**ANEXO R(4):** Tabla de resultados obtenidos y ajustes usados para la técnica TGA de la muestra CDDP–MWCNT.

<b>Ajustes Generales</b>	
<b>Ajuste</b>	<b>Valor</b>
Masa inicial de MWCNT–COOH–CDDP	3,2510 mg
Atmósfera	Aire
Flujo volumétrico de aire	100 ml/min
Flujo térmico de aire	10 °C/min
Temperatura de flujo de aire	900 °C
<b>Resultados – MWCNT–COOH–CDDP</b>	
Temperatura inicial de quema	198 °C
Temperatura final de quema	900 °C

**Anexo R(5):** Cálculo de la concentración de CDDP.

<b>CISPLATINO (CDDP)</b>	
Peso Molecular	300,05 g/mol
Masa de la muestra	21 mg = 0,021 g
Volumen de solución	100 mL = 0,1 L

- # de Moles:

$$n = \frac{m}{P.M.} \left[ \frac{g}{\frac{g}{mol}} \right] = \frac{0,021 g}{300,05 g/mol} = 6,9988 \times 10^{-5} \text{ mol CDDP}$$

m = masa de la muestra

P.M.= peso molecular

- Molaridad:

$$M = \frac{n}{V} \left[ \frac{mol}{L} \right] = \frac{6,9988 \times 10^{-5} \text{ mol CDDP}}{0,1 L} = 6,9988 \times 10^{-4} \frac{mol}{L} \text{ CDDP}$$

m = # de moles

V = volumen de solución

$$M = 699 \mu M = 0,699 mM$$