



Title: Desarrollo de puntos cuánticos de CdS/dextrina como forma innovadora de entrega de fármacos: estudio de biodisposición, biocompatibilidad, hemocompatibilidad y eficacia.

Authors: RODRIGUEZ-FRAGOSO, Lourdes, RODRÍGUEZ-LÓPEZ, Anahí, RODRIGUEZ-FRAGOSO, Patricia y REYES-ESPARZA, Jorge

Editorial label ECORFAN: 607-8695

BCIERMMI Control Number: 2020-04

BCIERMMI Classification (2020): 211020-0004

Pages: 23

RNA: 03-2010-032610115700-14

ECORFAN-México, S.C.

143 – 50 Itzopan Street

La Florida, Ecatepec Municipality

Mexico State, 55120 Zipcode

Phone: +52 1 55 6159 2296

Skype: ecorfan-mexico.s.c.

E-mail: contacto@ecorfan.org

Facebook: ECORFAN-México S. C.

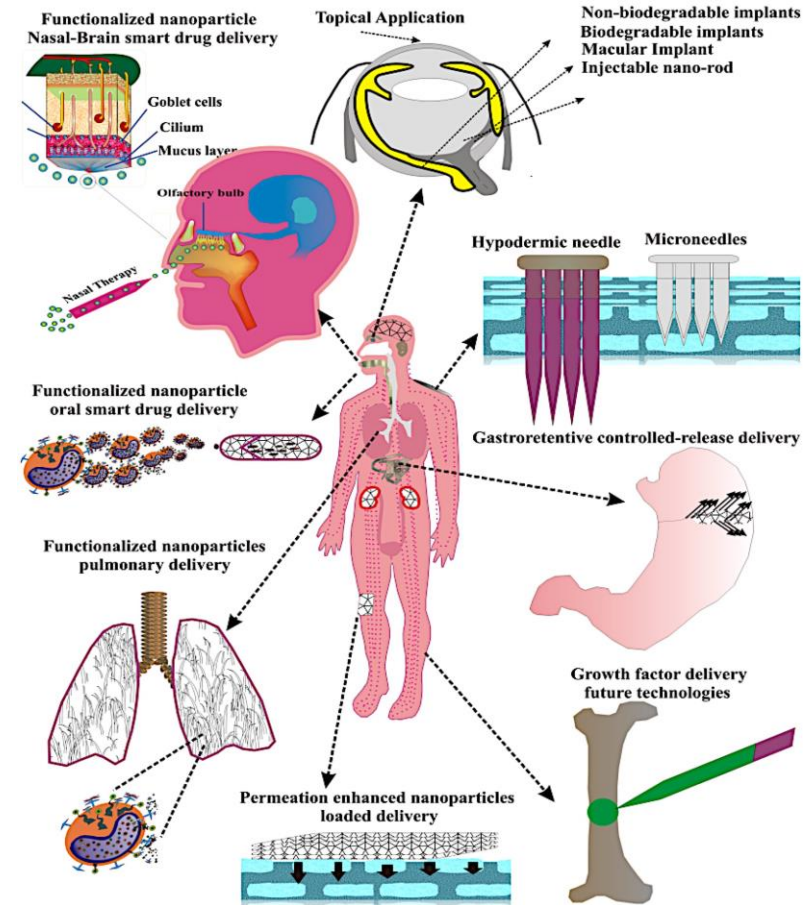
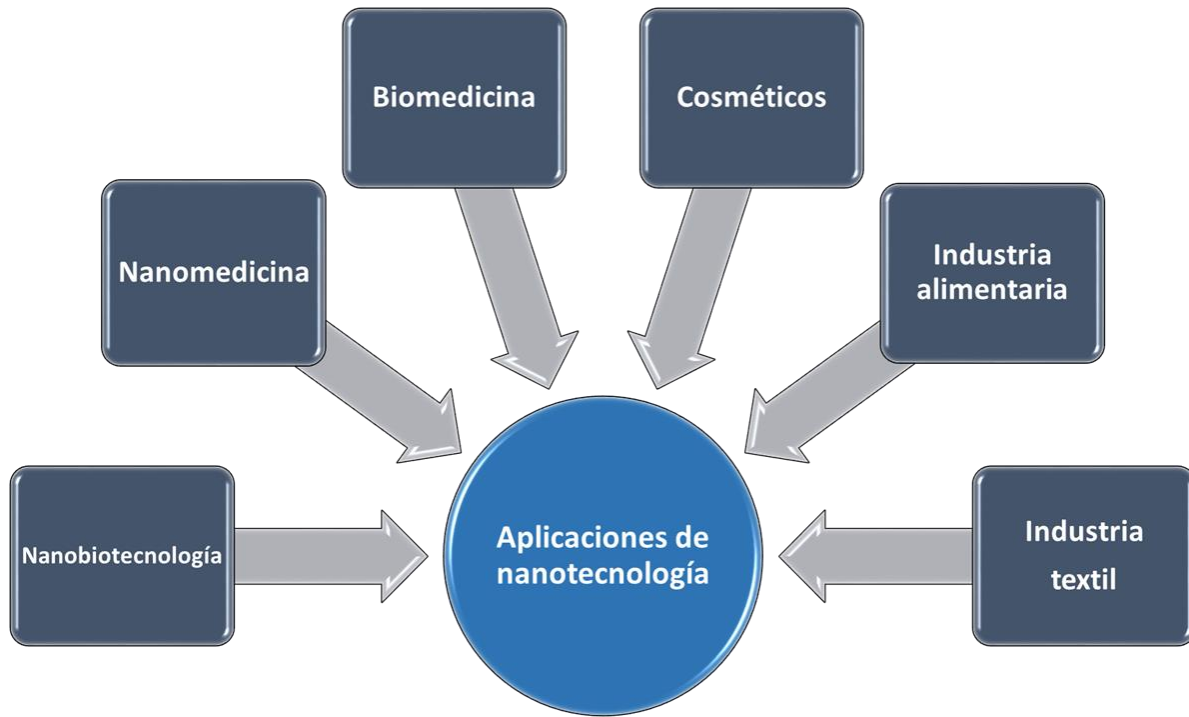
Twitter: @EcorfanC

www.ecorfan.org

Holdings

Mexico	Colombia	Guatemala
Bolivia	Cameroon	Democratic
Spain	El Salvador	Republic
Ecuador	Taiwan	of Congo
Peru	Paraguay	Nicaragua

Influencia de la nanotecnología y avances innovadores en biomedicina.



1. Entender los mecanismos que llevan a la enfermedad,
2. Reconocer y diagnosticar enfermedades tempranamente,
3. Selectividad y eficacia terapéutica y,
4. Monitorear la efectividad de los nanomateriales.

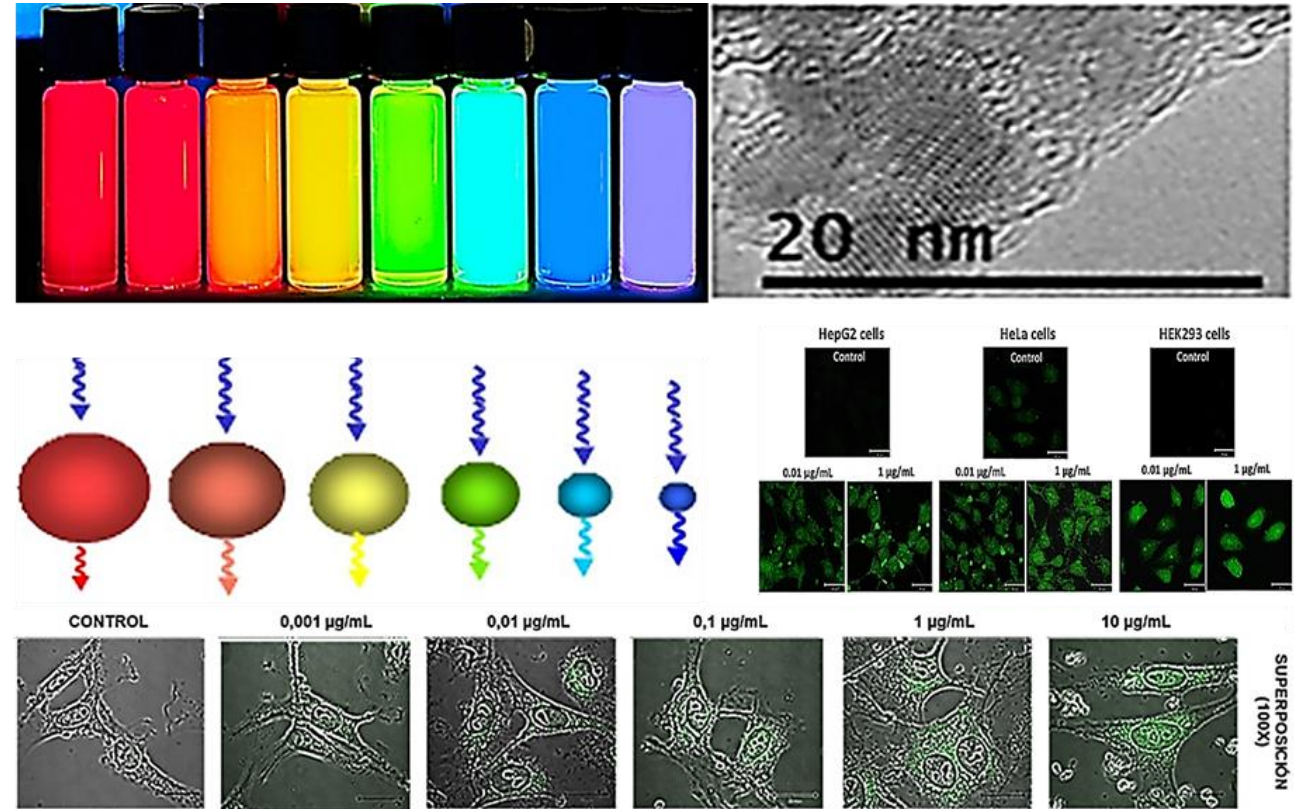
Mitragotri et al., ACS Nano (2015).

Reyes-Esparza et al., J. Nanobiotech (2015).

Quesada-González, Merkoçi, Chem Soci Rev(2018).

Nanopartículas semiconductoras o puntos cuánticos (PCs)

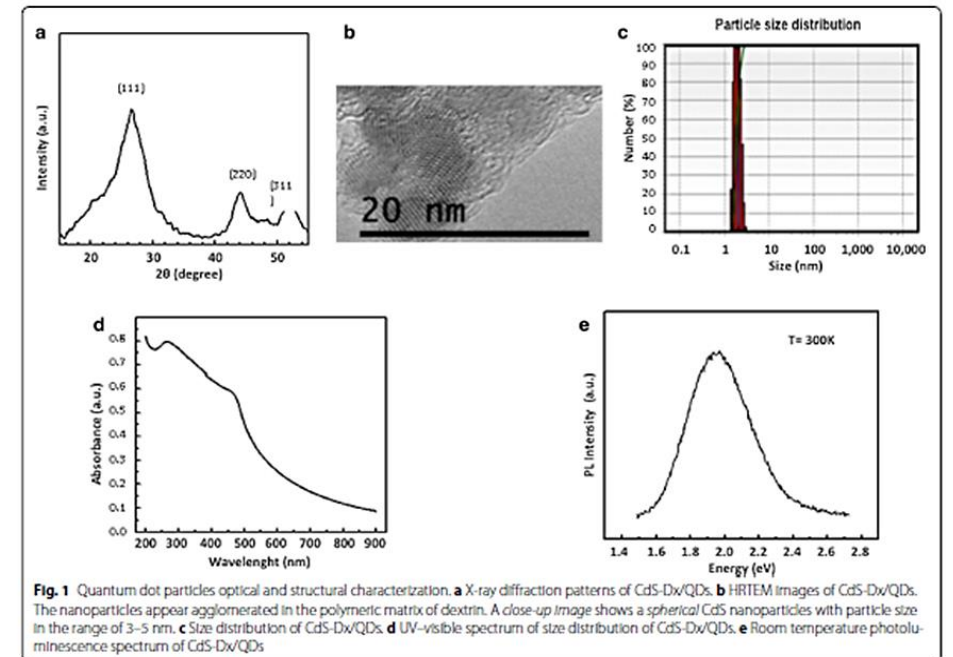
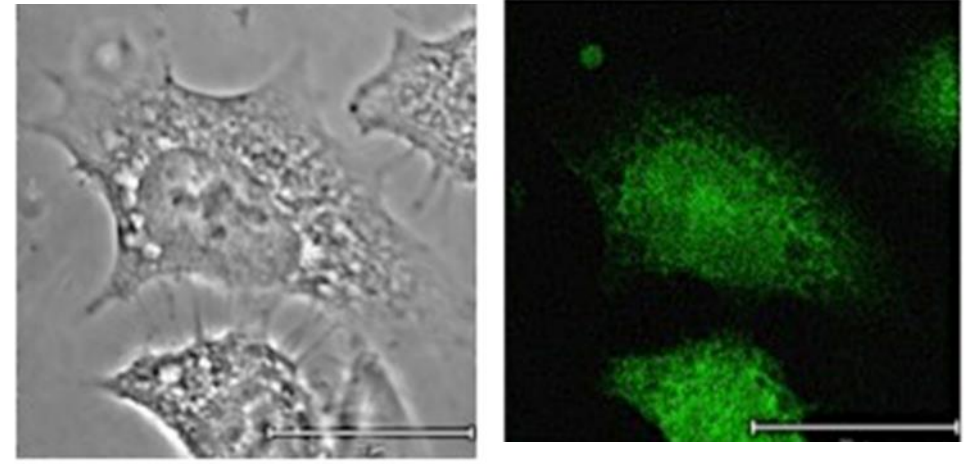
- Nanocristales semiconductores en la escala de 2 a 10 nm.
- Luminiscentes.
- Nueva clase de biomarcadores.
- Aplicaciones en bioimagen, biondiagnóstico y administración de fármacos.



Antecedentes de PCs de CdS-Dextrina.

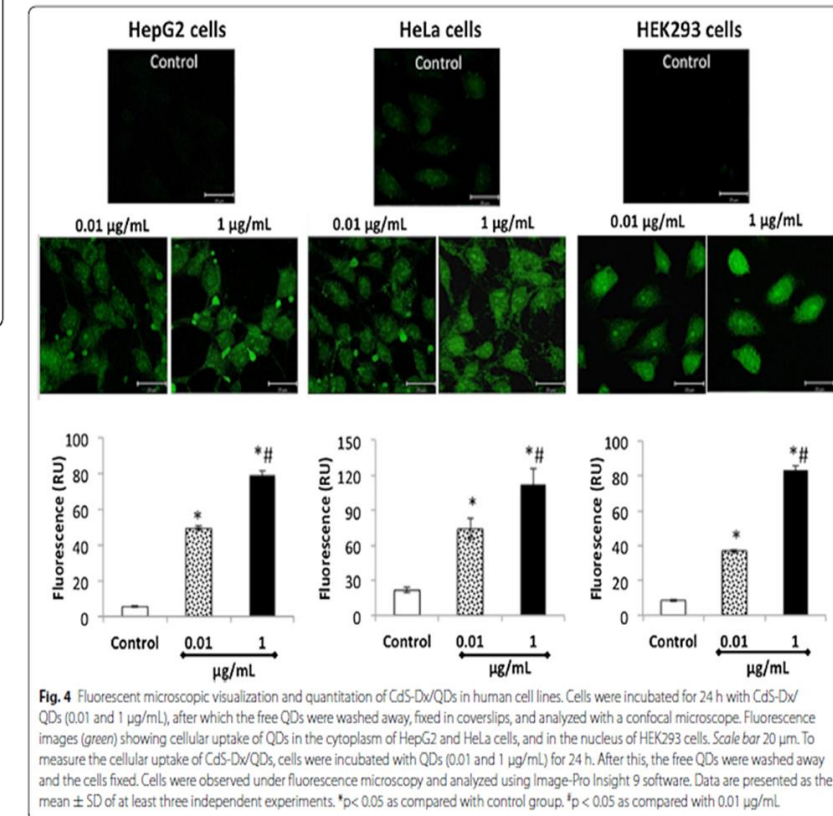
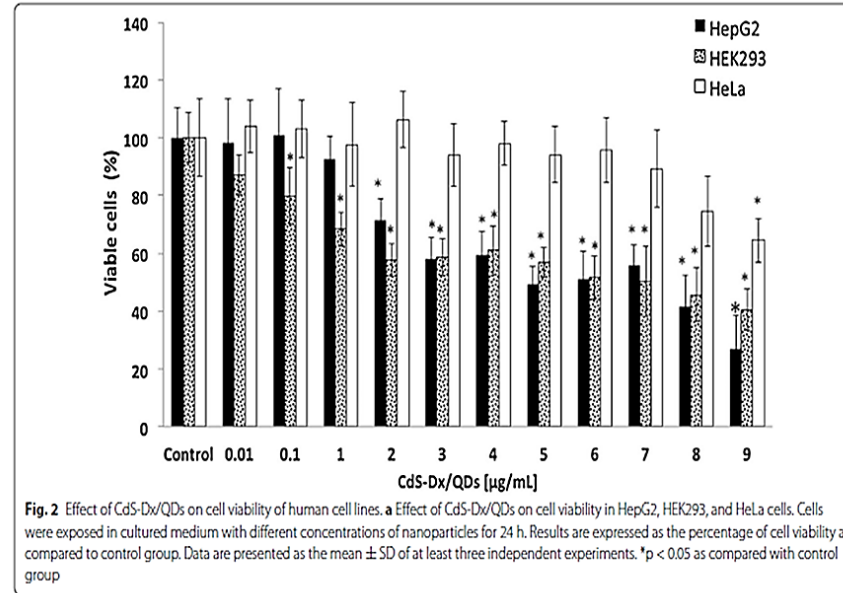
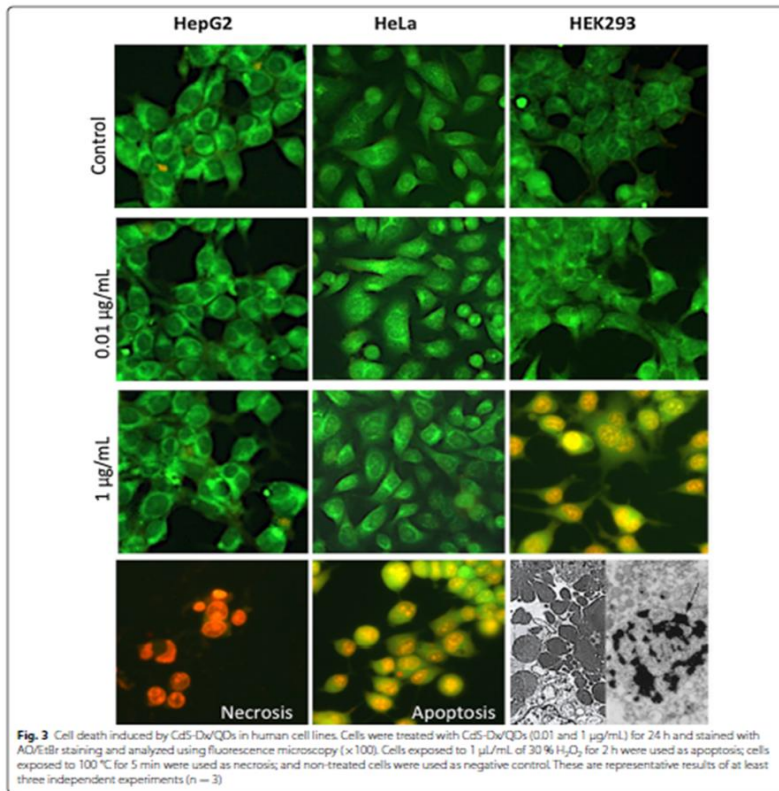
Nuestro equipo de trabajo de la Facultad de Farmacia de la UAEM, y en colaboración con el departamento de Física del CINVESTAV-IPN.

Tamaño nanométrico (~ 3 nm), tienen notables propiedades ópticas y electrónicas, por lo que tienen ventajas sobre los biomarcadores fluorescentes tradicionales.



Antecedentes de PCs de CdS-Dextrina.

Captación celular



Objetivo general

- Estudiar la disposición, biocompatibilidad, hemocompatibilidad de puntos cuánticos de CdS pasivados con dextrina, así como realizar la biosíntesis de un bioconjugado CdS-dextrina/doxorubicina para mostrar su uso como nanotransportador de fármacos.

Resultados mostrados en el capítulo:

1. La caracterización de la disposición de los PCs de CdS-Dextrina (CdS-Dex) tras la administración de una dosis única en ratas (parámetros farmacocinéticos)
2. Un estudio de biocompatibilidad de PCs de CdS-Dex después de administrar dosis múltiples, el estudio se extendió a 30, 60 y 90 días de exposición;
3. La evaluación de la hemocompatibilidad *in vitro*; y
4. El desarrollo, caracterización y eficacia de un bioconjugado de PCs de CdS-Dex con doxorubicina (Dox).

Metodología

Evaluación de PCs de CdS-Dextrina

Ratas (110-130 g)

Disposición

(1) grupo control (5 ratas).

- dosis única i.p. de PBS (200 µL)

(2) PCs de CdS-Dex (65 animales).

- dosis única i.p. de 100 µg/Kg de PCs preparadas en 200 µL de PBS.

Los animales se sacrificaron a 90 días.

- 3, 6, 12, 18, 24, 48, 72, 150, 300, 600, 960, 1440 y 2160 horas

-Se realizó un examen macroscópico post mortem.

-Se obtuvieron microfotografías bajo microscopio visible y de epifluorescencia.

- Órganos: hígado, riñón, pulmón, corazón, músculo estriado, bazo, timo, cerebro y testículo.

Biocompatibilidad

(1) Control (6 animales).

- dosis i.p. de PBS (200 µL) durante 90 días.

(2) PCs de CdS-Dex (18 animales).

- dosis de 100 µg/Kg de PCs de CdS-Dex i.p. durante 30, 60 o 90 días

Hemocompatibilidad

Ensayo de hemólisis*

- Los eritrocitos se separan por centrifugación.**

Análisis topográfico

Se colocaron 1×10^7 eritrocitos y se resuspendieron con una solución amortiguadora (KCl 150mM + Tris 3mM) por ensayo.

- Tratamiento de los eritrocitos: concentraciones de 0.1, 1, 10 y 100 µg/mL de PCs de CdS-Dex. (30 min)

La cantidad de hemoglobina se midió a una longitud de onda de 550 nm en un lector de placas.

- Se utilizó una solución de NaCl 35mM control positivo.

Metodología

Bioconjugado de PCs de CdS-Dex/Doxorrubicina

Síntesis

Dispersión.

- Se suspendieron 1 mg de PCs de CdS-Dex en 10 % de tetrahidrofurano (THF) y se mezclaron durante varios minutos.

Se incubaron la doxorubicina (0.1 μ M) y los PCs durante 4 horas; se centrifugó a 9900 g durante 30 minutos.

- Se realizaron lavados de sedimentos
- Secado de PCs bioconjugados (CdS-Dex/Dox) a 37 ° C durante 12 h.

Caracterización

Difracción de rayos X en polvo.

El tamaño de partícula y la morfología.

La distribución de diámetro hidrodinámico.

Eficacia farmacológica

Captación selectiva de los PCs de CdS-Dex y bioconjugado.

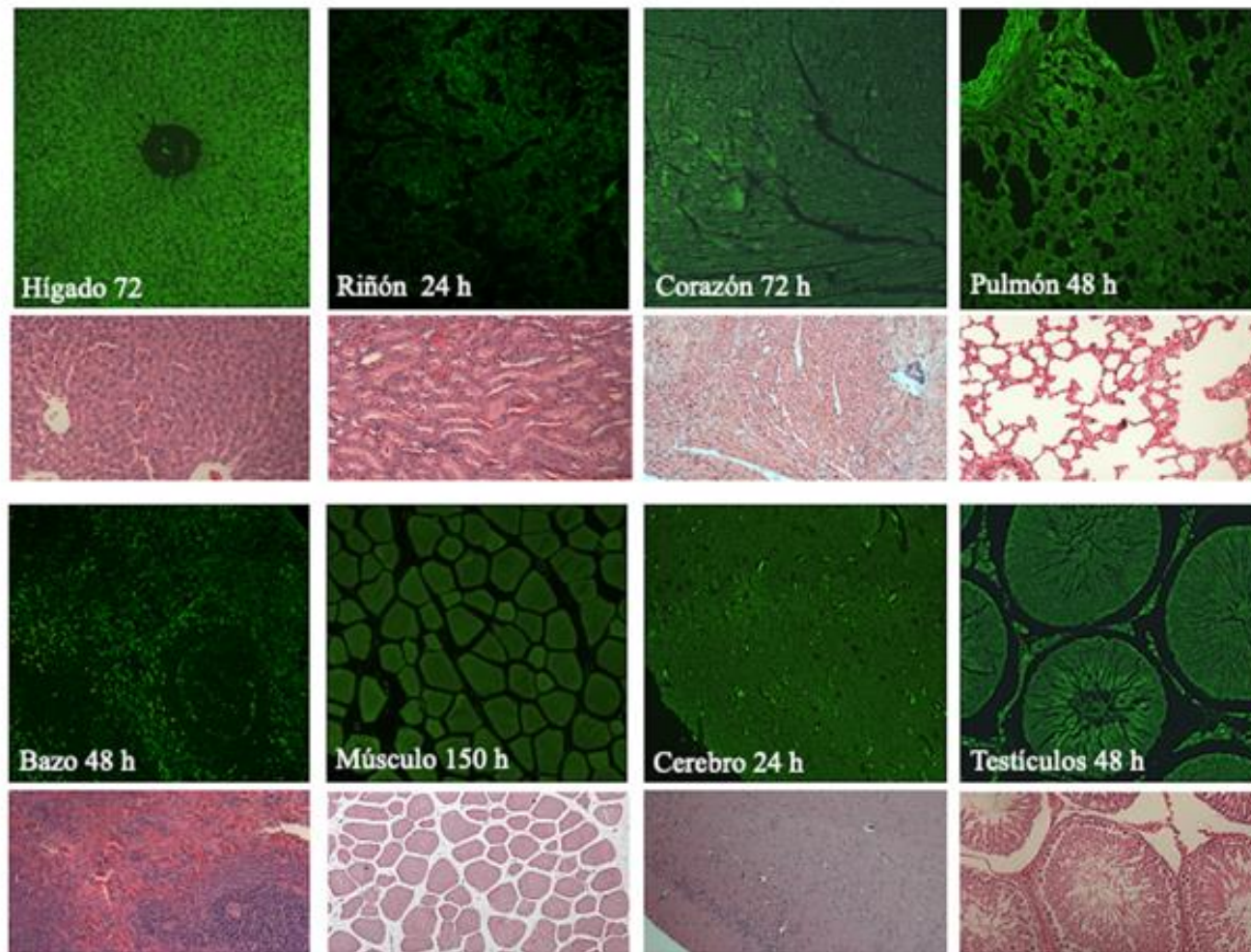
- Células HeLa (1×10^5) se sembraron en cubreobjetos estériles de 12 mm en una placa de 6 pozos. Tratamiento (0.01 y 1 μ g/ml) durante 24 h. Se observa en microscopio confocal/fluorescencia.

Viabilidad celular (Técnica de MTT)

- Células HeLa (10,000/pozo) tratadas con diferentes concentraciones de PCs de CdS-Dex y el bioconjugado (0.01, 0.1, 1 y 10 μ g/mL) y se incubó durante 24 h.
- Se determinó la densidad óptica en un lector de microplacas a una longitud de onda de 590 nm.

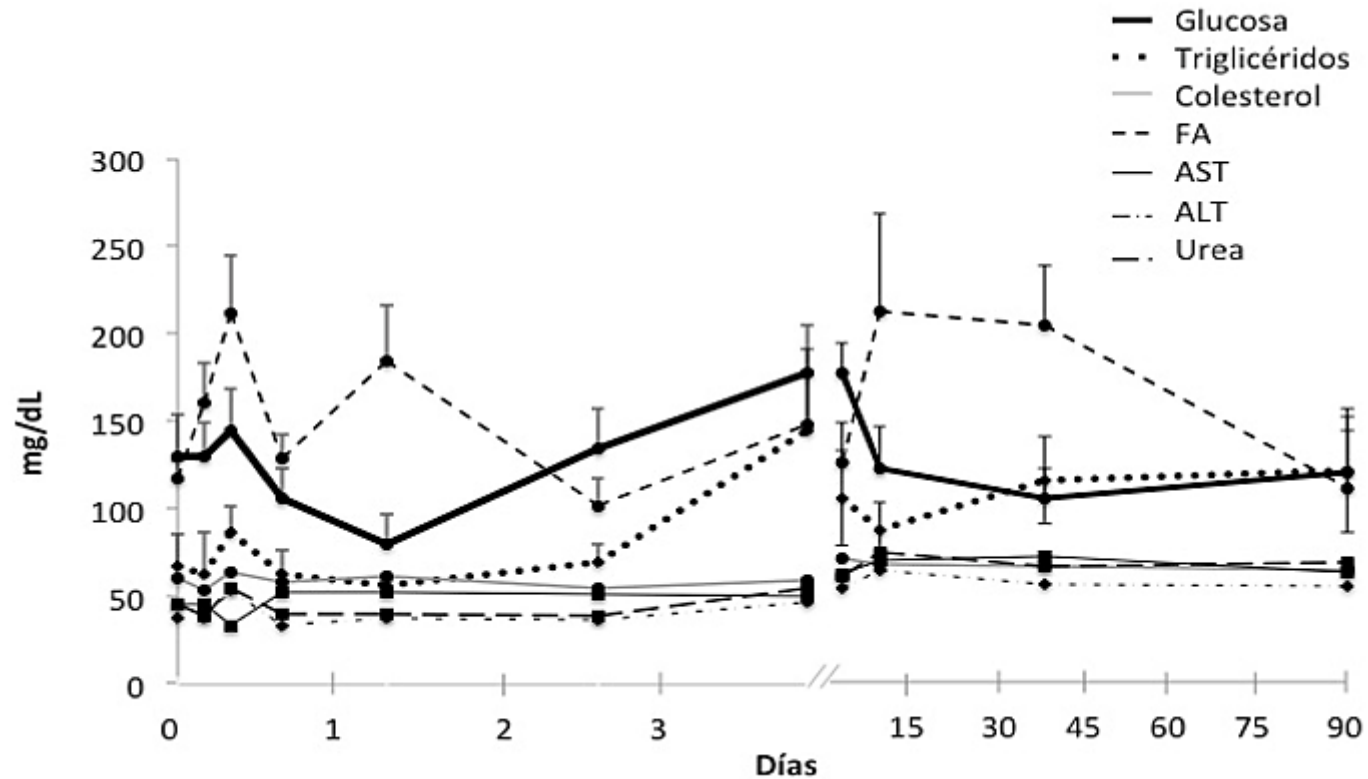
RESULTADOS

Análisis histológico para identificación de máxima fluorescencia ($T_{m\acute{a}x}$).



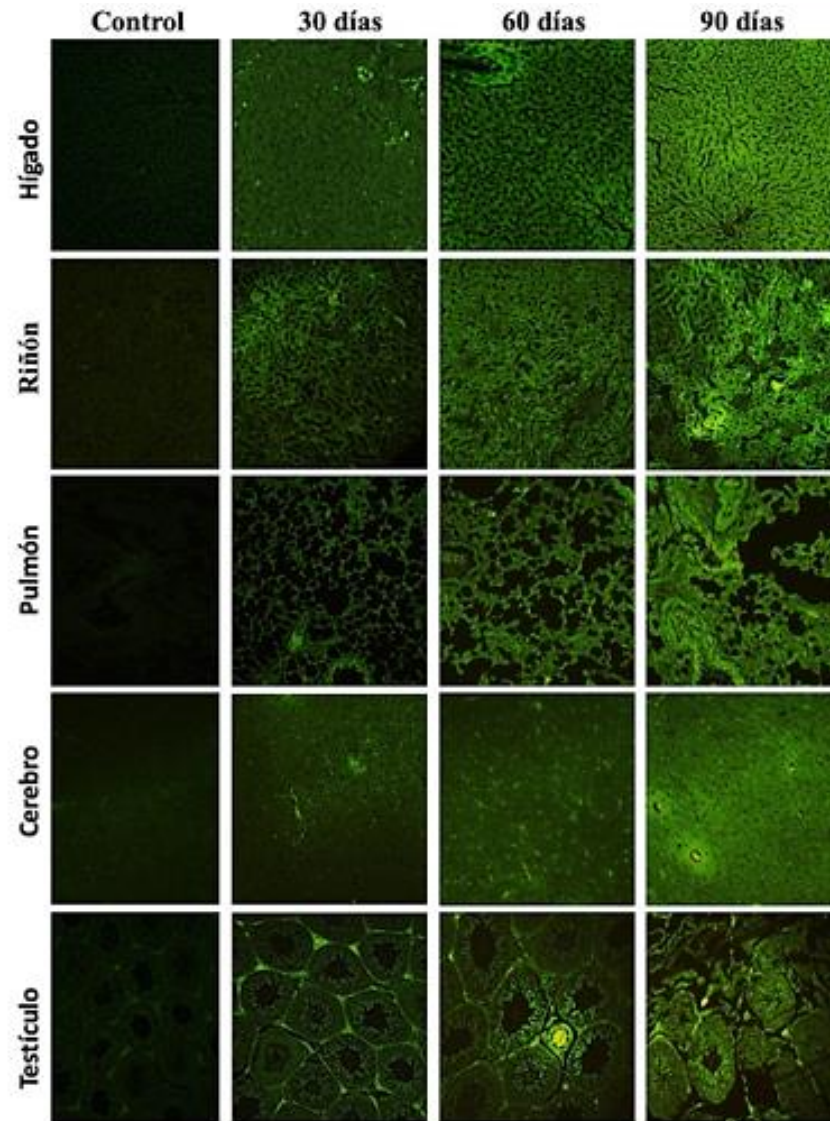
Administración única i.p. 100 $\mu\text{g}/\text{Kg}$.
Tejidos teñidos con H&E, amplificación 20X.

Variaciones en los parámetros bioquímico clínicos de los PCs de CdS-Dex en rata.



Administración única i.p. 100 µg/Kg.
90 días de estudio.

Análisis de la distribución homogénea de PCs de CdS-Dex en tejidos de rata.



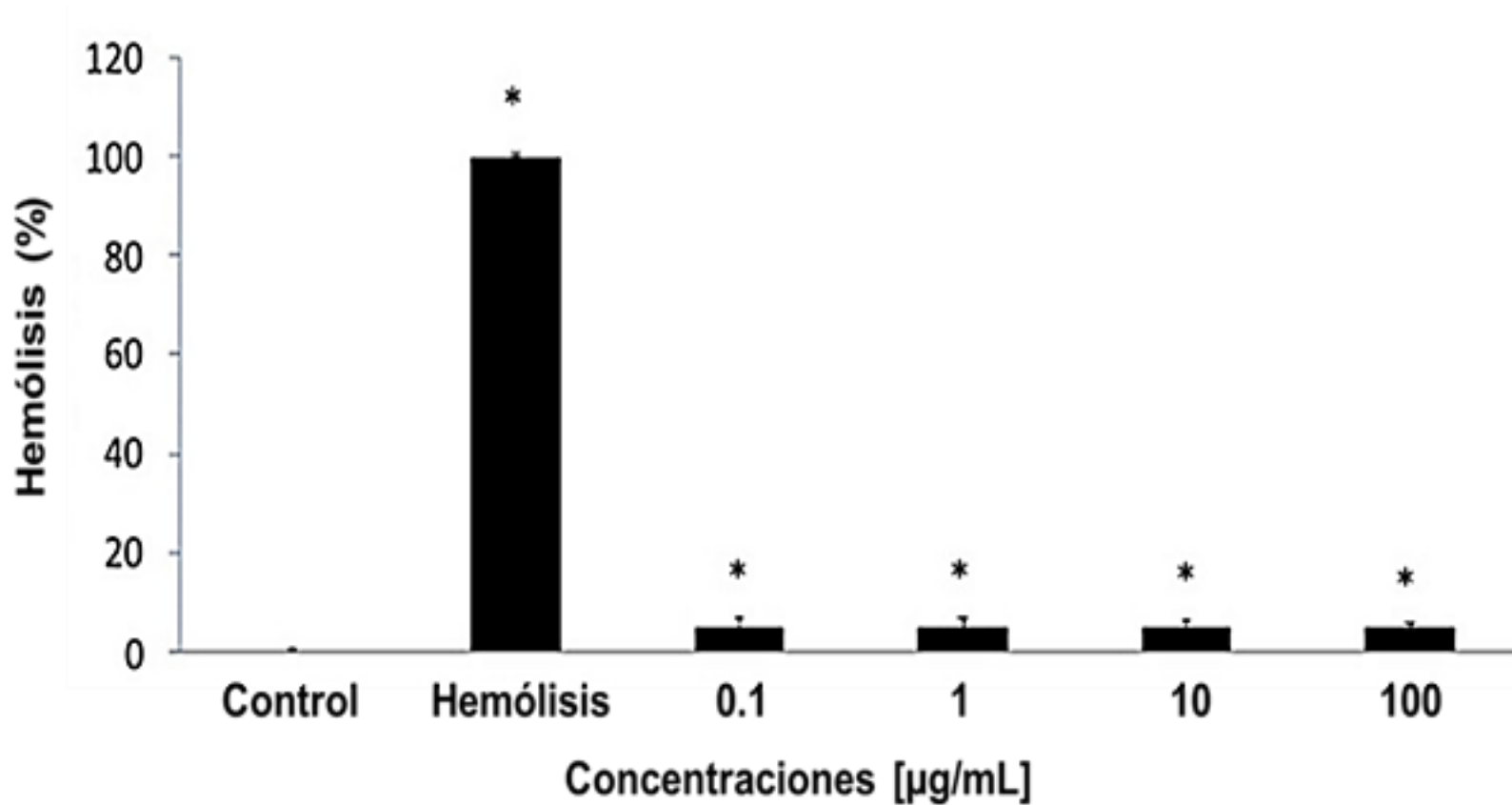
corte histológico representativo de los tejidos observados bajo microscopio de epifluorescencia tras la administración de dosis múltiples de PCs de CdS-Dex durante 30, 60 y 90 días.
Amplificación 20X

Efecto de PCs de CdS-Dex sobre los parámetros bioquímico-clínicos después de 30, 60 y 90 días.

Parámetro	Control	30 días	60 días	90 días
Glucosa	140.2 ± 19.4	120.5 ± 36.1	152.0 ± 43.3	159.9 ± 19.4
Triglicéridos	60.8 ± 13.7	112.3 ± 51.7	122.4 ± 34.4	187.0 ± 15.5
Colesterol	54.9 ± 8.9	59.4 ± 12.9	58.7 ± 3.3	64.9 ± 10.3
ALT	54.3 ± 8.6	54.5 ± 8.9	74.9 ± 25	57.5 ± 9.7
AST	160.2 ± 26	168.3 ± 20.1	146.5 ± 40.9	176.1 ± 29.0
FA	121.6 ± 33.7	156.9 ± 13	210 ± 31.4 *#&	113.8 ± 23.8
Urea	39.6 ± 8.4	35.8 ± 6.6	55.9 ± 8.3 *#	50.8 ± 2.0 #
Creatinina	0.6 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.7 ± 0.04
Ácido Úrico	5.2 ± 1.8	5.6 ± 1.7	10.6 ± 5.4	10.5 ± 3.4

Cada valor representa el promedio ± SD. * p<0.05 comparado con el grupo control; # p<0.05 comparado con el grupo de 30 días; **p<0.05 comparado con el grupo de 60 días; y & p<0.05 comparado con el grupo de 90 días.

Efecto de los PCs de CdS-dex sobre la integridad de los eritrocitos.



PCs de CdS-dex a 0.1, 1, 10 y 100 $\mu\text{g/mL}$ durante 30 min.

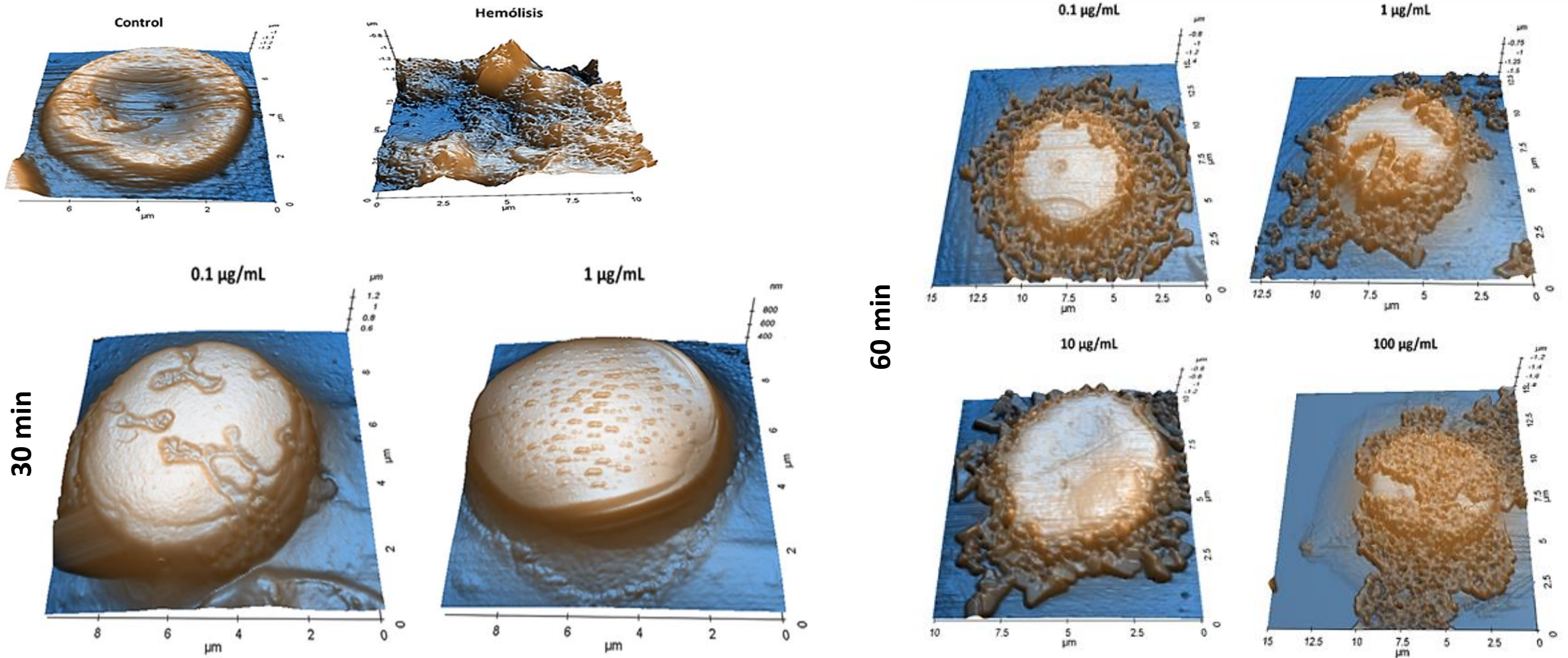
Eritrocitos control: se consideraron células sanas no expuestas a PCs

Hemólisis: células preincubadas con NaCl 35 mM.

Los datos se presentan como la media \pm DE de al menos tres experimentos independientes.

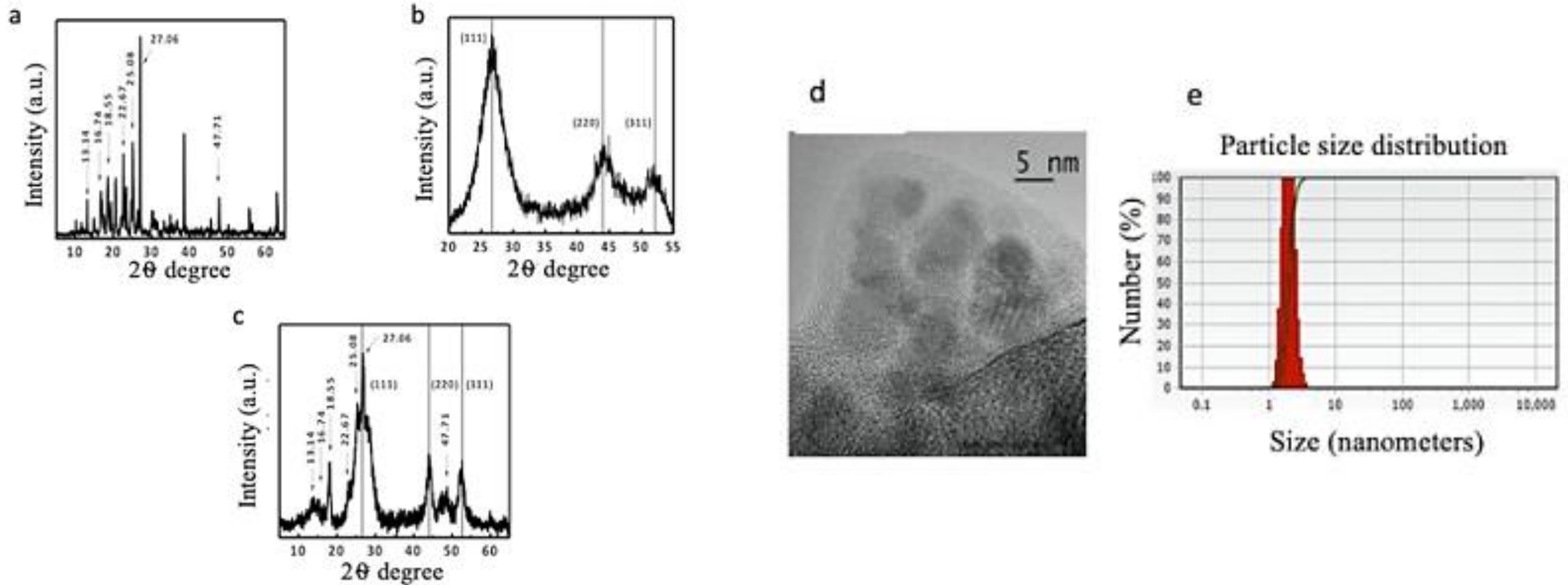
* $p < 0,05$ en comparación con el grupo de hemólisis.

Análisis topográfico de la morfología de la superficie de eritrocitos tratados con PCs CdS-Dex.



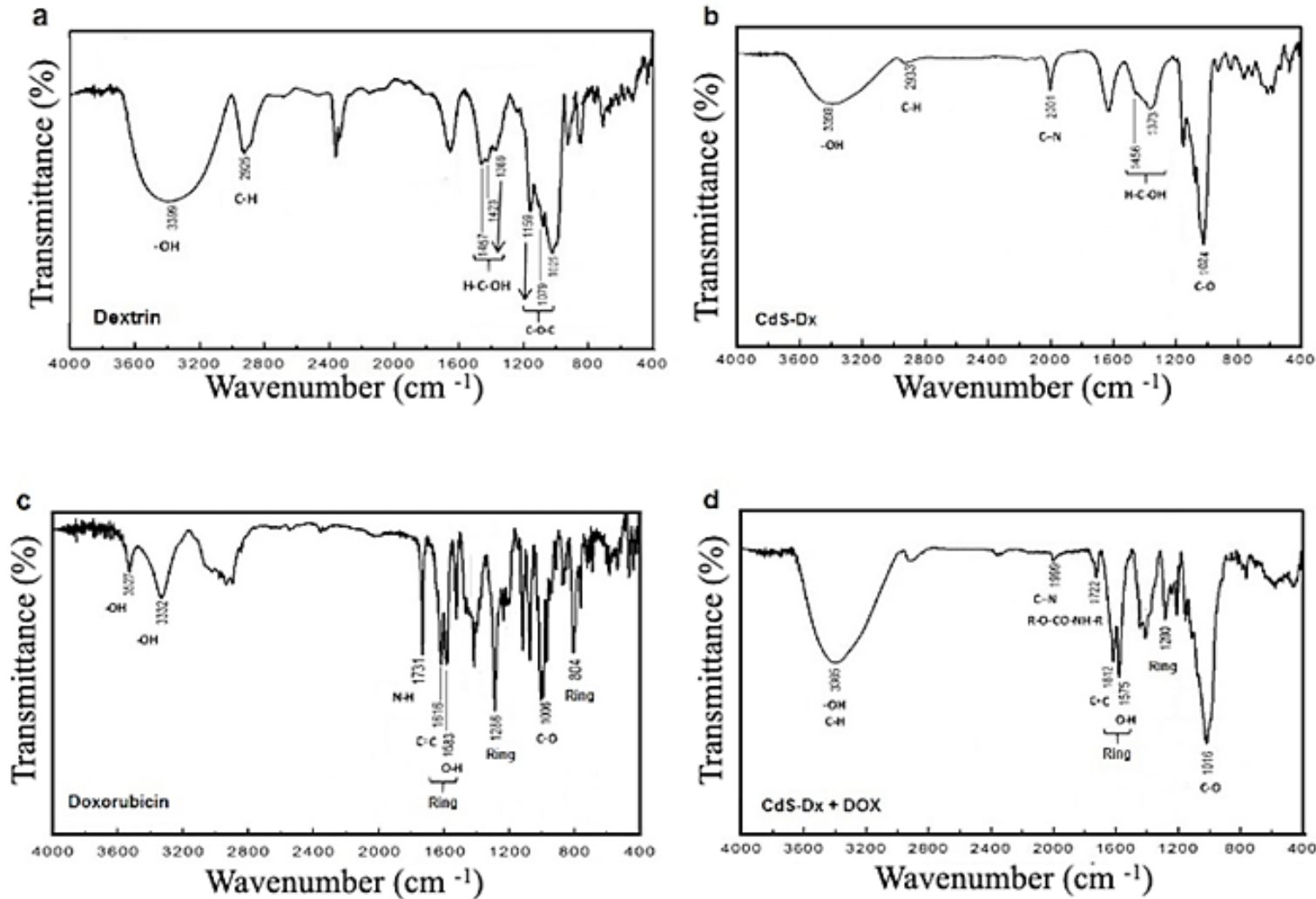
Eritrocitos control: se consideraron células sanas (bicóncavos circulares típicos) no expuestas a PCs. Hemólisis: células preincubadas con NaCl 35 mM (pérdida de morfología). Tiempo de tratamiento: 30 y 60 min. La imagen es representativa de dos experimentos.

Síntesis y caracterización de un bioconjugado de PCs de CdS-Dex/Doxorrubicina.



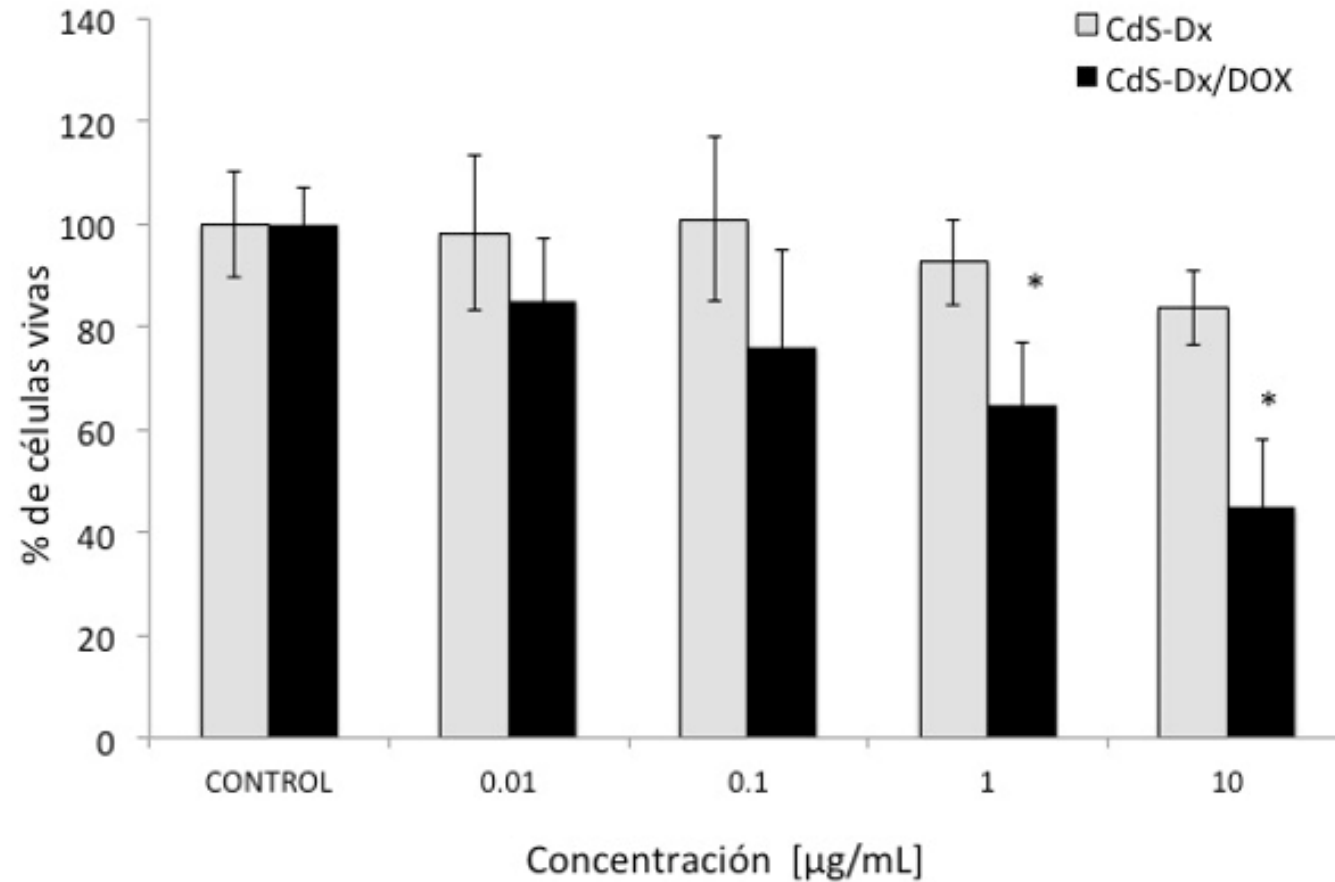
(a) planos típicos de fase cúbica de CdS (b) y de los PCs CdS-Dex bioconjugados con Dox (c). Imagen HRTEM de los PCs de CdS-Dex bioconjugados con Dox. (b) DLS muestra la distribución del tamaño de partícula de los PCs de CdS-Dex bioconjugados con Dox

Caracterización de un bioconjugado de PCs de CdS-Dex/Doxorrubicina.



Espectros FT-IR experimentales, bandas IR de (a) molécula de dextrina pura, (b) PCs de CdS-Dex, (c) molécula Dox pura, y (d) PCs de CdS-Dex bioconjugados con Dox.

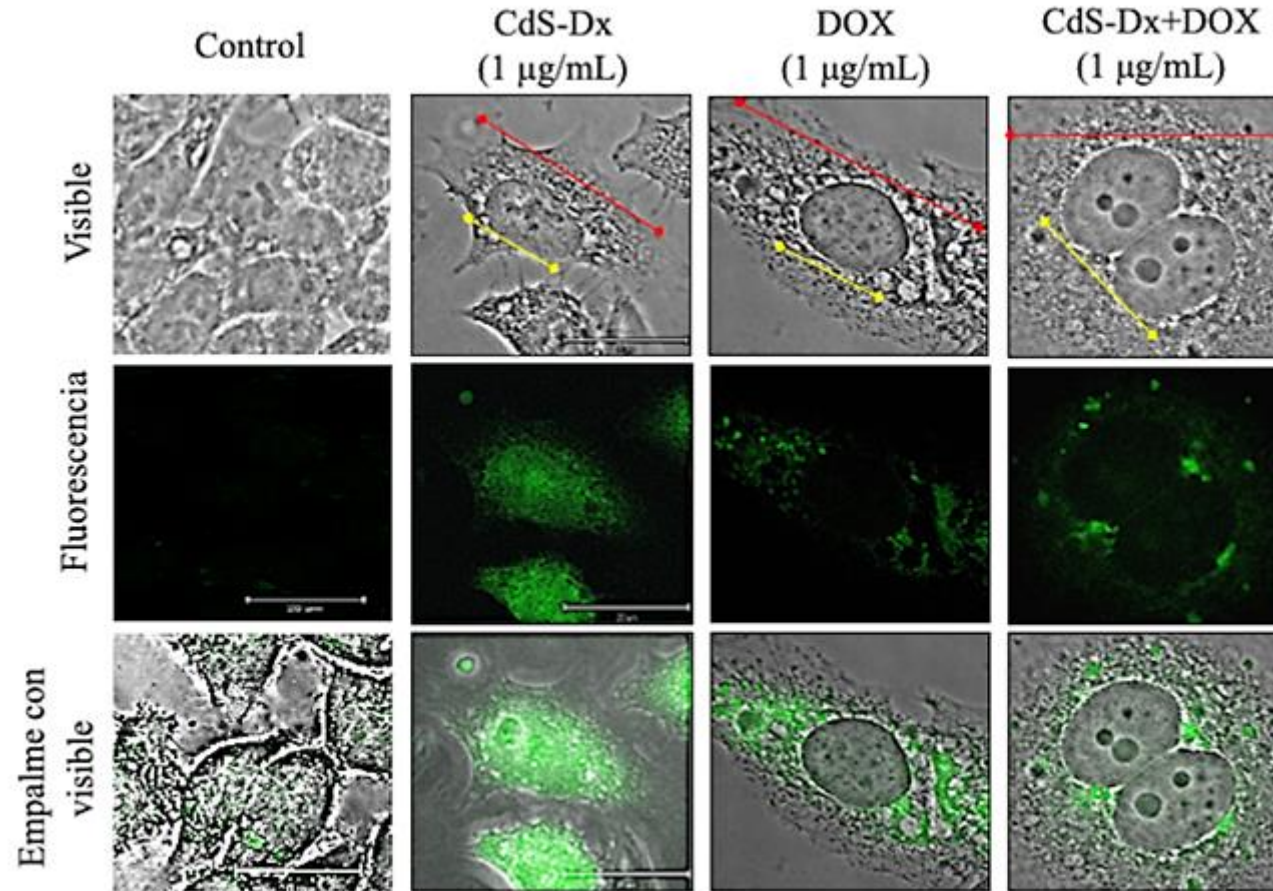
Efecto de un bioconjugado de PCs de CdS-Dex/Doxorrubicina sobre la viabilidad de células HeLa.



± DS de dos experimentos independientes

* $p < 0.05$ con respecto al grupo control.

Análisis de la localización intracelular de los PCs de CdS-Dex bioconjugados cn Doxorubicina en células HeLa.



Amplificación 100X

Conclusiones

- Evidencias de la buena distribución, biocompatibilidad y hemocompatibilidad de los PCs de CdS-Dex en rata y en células en dosis única, así como su tolerabilidad y biocompatibilidad a largo plazo.
- Evidencias de efectividad como nanotrasportadores de fármacos.

Conclusiones

- Los PCs de CdS-Dex conjugados con doxorubicina produjeron los típicos cambios morfológicos que produce la doxorubicina, aunque los PCs conjugados mostraron mayores efectos farmacológicos.
- Los PCs de CdS-Dex tienen el potencial de usarse en bioimagen y como nanovehículos para el transporte de fármacos, teniendo la ventaja de que puede ser distribuido a cualquier tejido, atravesar barreras fisiológicas, ser bien tolerados, y biocompatibles.

- En memoria de:

Dr. Jorge Alberto Reyes Esparza



Quien en vida fue director de nuestro laboratorio en la Facultad de Farmacia, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, mentor y amigo. Siempre compartiendo su entusiasmo y pasión por la ciencia, la innovación tecnológica y su enorme generosidad.



ECORFAN®

© ECORFAN-Mexico, S.C.

No part of this document covered by the Federal Copyright Law may be reproduced, transmitted or used in any form or medium, whether graphic, electronic or mechanical, including but not limited to the following: Citations in articles and comments Bibliographical, compilation of radio or electronic journalistic data. For the effects of articles 13, 162,163 fraction I, 164 fraction I, 168, 169,209 fraction III and other relative of the Federal Law of Copyright. Violations: Be forced to prosecute under Mexican copyright law. The use of general descriptive names, registered names, trademarks, in this publication do not imply, uniformly in the absence of a specific statement, that such names are exempt from the relevant protector in laws and regulations of Mexico and therefore free for General use of the international scientific community. BCIERMMI is part of the media of ECORFAN-Mexico, S.C., E: 94-443.F: 008- (www.ecorfan.org/ booklets)