Desarrollo de apósitos adhesivos con nanopatículas metálicas y/o óxidos metálicos para tratamiento de heridas graves

Responsable Técnico: Dra. Rebeca Betancourt Galindo
Institución: Centro de Investigación en Química Aplicada
Convocatoria: PDCPN2013-01
Propuesta: 000000000215723

Reporte final

1. RESUMEN

En este proyecto se reporta la síntesis de nanopartículas de óxido de zinc (NPs de ZnO) semiesféricas, las cuales fueron caracterizadas mediante difracción de rayos X (XRD) y microscopía electrónica de barrido (SEM), donde se obtuvo un tamaño promedio de 26 nm mediante SEM y 12.6 nm por XRD. Posteriormente las NPs de ZnO fueron modificadas con dos diferentes agentes: 3-aminopropiltrietoxisilano (APTES) y dimetilsulfóxido (DMSO), comprobando su funcionalización mediante espectroscopía infrarroja por transformada de fourier (FT-IR) y microscopía electrónica de barrido (SEM).

Las propiedades antimicrobianas de las NPs de ZnO, ZnO-APTES y ZnO-DMSO sintetizadas, fueron evaluadas frente a diferentes bacterias: *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Klebsiella Oxytoca* ATCC 8724, *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 y *Streptococcus Pyogenes* ATCC 19615, mediante métodos cualitativos y cuantitativos: Método de difusión en agar y método de microdilución en caldo, respectivamente. Los resultados obtenidos demuestran que las NPs de ZnO con y sin modificación poseen actividad antimicrobiana a diferente nivel, dependiendo de la bacteria contra la cual son evaluadas. La concentración mínima inhibitoria (CMI) y mínima bactericida (CMB) para cada una de las bacterias analizadas fue determinada para cada nanopartícula en estudio. Destacándose que a las concentraciones probadas, estas, no poseen actividad bactericida frente que *p. aeruginosa*, únicamente actividad bacteriostática.

Aunado a este estudio, también se evaluó la actividad citotóxica de las partículas nanométricas antes mencionadas, en las cuales se determinó la viabilidad celular mediante método colorimétrico MTT, utilizando células HeLa y NCI-H460 para este estudio, además del método de xCELLIGENCE para determinar la dosis letal media (LD 50), usando células NCI-H460. Los resultados obtenidos muestran que a concentraciones altas las NPs de ZnO resultan ser las más tóxicas, mientras que a concentraciones bajas, las NPs ZnO-DMSO tuvieron una mayor disminución en la viabilidad celular. Otro estudio incluido en la determinación de la toxicidad celular, fue la capacidad de activación del complemento, la cual fue determinada mediante western-blot. Los resultados muestran que al incrementar la concentración de NPs, hay una mayor activación del complemento. Sin embargo, la activación del mismo no fue significativa para ninguno de los casos. También se determinó la cantidad de citocinas proinflamatorias (IFN-γ, IL-6, IL-8, IL-10, IL-1b y TNF-α) producidas, mediante citometría con un kit FlowCytomix. Los resultados obtenidos señalan que existe

producción de todas las citocinas, excepto INF-γ e IL-10 y que además también existe un comportamiento dosis-dependiente.

Posteriormente se utilizaron NPs de plata (Ag) comerciales y NPs de ZnO con y sin modificación para la preparación de nanocompuestos adhesivos sensibles a la presión base acrílico (PSA), en concentraciones de 0.1, 0.2, 0.3 % en peso. Se determinó la conversión de cada uno de los nanocompuestos, y se encontró que al incrementar la concentración de NPs la conversión disminuye. El análisis mediante H^1RMN mostró la composición heterogénea de los copolímeros. Además los nanocompuestos fueron evaluados mediante DSC, para observar el comportamiento de la temperatura de transición vítrea. Los resultados arrojaron que al incorporar NPs a los PSA la Tg se incrementa. También se evaluó la actividad antimicrobiana de los nanocompuestos obtenidos frente a *E. aerogenes* ATCC 13048, *E. coli* ATCC 35218, *K. Oxytoca* ATCC 8724, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* ATCC 29213 y *S. Pyogenes* ATCC 19615, por el método de difusión en agar. Las películas obtenidas mostraron actividad antimicrobiana frente a los microorganismos gram positivos únicamente.

Finalmente a los nanocompuestos que resultaron con mayor actividad antimicrobiana frente a las bacterias probadas, fueron evaluados mediante la prueba de adhesión (peel), los resultados expusieron que factores como la composición de los nanocompuestos y la transición vítrea, así como factores reológicos afectan la adhesión de los nanocompuestos.

Es importante mencionar que de acuerdo con los resultados obtenidos de las pruebas antimicrobianas y de citotoxicidad adhesivos sintetizados con ambas nanopartículas metálicas se encontró que son aptos para ser utilizados en humanos dedibo a que no fueron tóxicos en las diferentes lineas celulares probados y en los modelos animales.

Nanopartículas de óxido de zinc

- Se obtuvieron NPs de ZnO de 26 nm (SEM) y 16 nm (XRD), por el método de precipitación y fueron exitosamente recubiertas con DMSO y APTES.
- Las NPs de ZnO con y sin modificación poseen, actividad antimicrobiana frente a E. aerogenes, *E. coli, K. oxytoca, S. aureus, S. pyogenes* y *P. aeruginosa*, en esta última solo se obtuvo actividad bacteriostática, a las concentraciones evaluadas, sin embargo se obtuvieron resultados diferentes para cada bacteria, atribuido a las diferencias morfológicas de las bacterias, así como de las NPs.
- El porciento de viabilidad celular, depende de la concentración de las NPs, de la línea celular evaluada y la naturaleza química de las mismas. A bajas concentraciones, las NPs de ZnO sin modificar resultaron ser las menos tóxicas, mientras que a altas concentraciones resultaron las de mayor toxicidad para las células (HeLa y NCI).
- La técnica para la determinación del complemento, demostró que las NPs de ZnO con y sin modificación poseen un comportamiento dosis-dependiente. Sin embargo comparado con el control positivo, la activación del complemento fue mínima, lo que indica que las nps no desencadenan la cascada del mismo, ocasionando muerte celular.

- La producción de citocinas proinflamatorias tuvieron un comportamiento dosis-dependiente. Las NPs desencadenaron la producción de citocinas IL-6, IL-8, IL-1b y TNF-α y ausencia de citocinas INF-γ e IL-10. Se demostró que la producción de citocinas, se encuentra por debajo de la concentración en la cual pueden causar daño al ser humano.

Nanocompuestos

- La incorporación de NPs ZnO, a la matriz polimérica, incrementa la Tg del polímero, atribuido a las diferencias en composición de los copolímeros.
- Al incrementar la concentración de NPs, para todos los nanocompuestos obtenidos, la conversión total disminuye, debido a que la reactividad de los radicales es menor en la presencia de partículas inorgánicas.
- Los nanocompuestos PSA acrílicos-ZnO mostraron actividad antimicrobiana frente a microorganismos gram positivos, *S. aureus* y *S. pyogenes*, no observándose así la misma actividad para bacterias tipo gram negativas.
- Los nanocompuestos a base de NPs de ZnO modificadas con APTES y DMSO, presentaron menor adhesión (peel) entre nanocompuesto-sustrato.
- El uso de AgNP para la preparación de materiales nanocompuestos, ha originado que estos puedan ser utilizados como materiales de uso médico, debido a las propiedades antimicrobianas que se obtuvieron en este trabajo de investigación.
- El incremento de la concentración de AgNP en el nanocompuesto sintetizado, generó valores de conversión altas en la reacción de polimerización, lo que quiere decir que la presencia de estas NP en el Nanocompuesto, no influyó para la cinética de polimerización.
- De igual manera el nanocompuesto sintetizado a base de AgNP, presentó mayores valores en las propiedades mecánicas, como fueron la fuerza de adhesión (pelaje) y fuerza de cohesión (corte) con respecto al PSA obtenido sin nanopartículas.
- El nanocompuesto PSA/AgNP obtenido en este trabajo, presentó actividad antimicrobiana frente a microorganismos *E.coli* (*Gram negativo*) y *S.aureus* (*Gram positivo*), a las concentraciones evaluadas, obteniéndose resultados ligeramente diferentes entre cada bacteria, por lo que este nanocompuesto puede ser utilizado en la preparación de apósitos adhesivos sensibles a la presión, para una posible mejoría en la cicatrización de heridas.

2. Productos Proyecto 215723

Entre los principales resultados obtenidos durante la ejecución del proyecto fue encontar las condiciones adecuadas para el desarrollo de un apósito adhesivo con la incorporación de nanopartículas metálicas y/o óxidos metálicos, tomando en consideración las propiedades y características que debe exhibir el producto final, principalmente su efecto antimicrobiano y citotóxico.

Las principales propiedades que se consideraron para la obtención de un apósito adhesivo son: capacidad antimicrobiana, morfología adecuada, características químicas, características fisico-mecánicas, no tóxicas entre otras.

Se graduaron 3 estudiantes a nivel técnico univeristario, de licenciatura 3, de maestría 4 y 1 de doctorado. Además una estudiante a nivel doctorado, presentó dos avances de dicho proyecto.
Por otra parte se fortalecieron las relaciones de intercambio científico y tecnológico con la Unidad Médica Ojo Caliente y la Facultad de Medicina Unidad Saltillo de la UAdeC.
También se logró la publicación de dos artículos en revistas indexadas en el JCR.

Tesis
Síntesis y evaluación antimicrobiana de nanopartículas de óxido de zinc para determinar su posible aplicación en dispositivos de uso médico.
Técnico Superior Universitario
Arleth Alejandra Cisneros Herrera
Septiembre 2014

Preparación de una matriz polimérica de poli(ácido acrílico-co-ácido itacónico) e incorporación de AgNps sintetizadas y comerciales con propiedades antibacterianas
Técnico Superior Universitario
José Daniel Rodríguez Almendarez
Agosto 2015

Preparation of poly(acrilic acid-co-itaconic acid) hidrogel/silver nanoparticles with antibacterial properties.
Técnico Superior Universitario
Nataly De la Cruz Padilla
Diciembre 2015

Análisis antimicrobiano de nanopartículas de óxido de zinc sin dopar y dopadas de cobre
Químico Farmacobiólogo
Nadia Denise Cerda Cejudo
Diciembre 2015

Modificación de gasas de uso médico con poli(ácido metacrílico) para el desarrollo de nuevos apósitos.
Ingeniro Químico
Angélica Thalía Lumbreras Aguayo
Enero 2017

Estudio de la incorporación y dispersión de nanopartículas de plata en adhesivos de uso médico y su efecto en sus propiedades antimicrobianas contra bacterias (Gram positivas y Gram negativas).
María Cristina Álvarez Cancino
Maestría
Junio 2015

Desarrollo de una resina acrílica nanoestructurada y comparación de módulo flexural y sorción de agua con una resina acrílica de uso común en odontología
José Gilberto Roque Márquez

Maestría
Mayo 2016

Eficacia del apósito de alginato de calcio con y sin nanopartículas de óxido de zinc en úlceras de pie diabético.
Ana Karen Medina Lira
Maestría
Octubre 2016

Síntesis de nanopartículas de óxido de zinc por el método de microemulsión bicontinua, su modificación superficial y su recubrimiento con PMMA y quitosán.
Liliana Romo Mendoza
Doctorado
Diciembre 2016

Capítulo en libro
Enfermedad cardiometabílicas. Un enfoque global Tomo II
Futuro de la nanotecnología en el tartamiento de las enfermedades cardiometabólicas.
Libros en Red 2015

Congresos
Nanocomposite with potential therapeutic applications
Rebeca Betancourt Galindo
Multifunctional, hybrid and Nanomaterials
Marzo 2015

Efecto del $Ca(OH)_2$ puro y en nanopartículas sobre cultivos celulares.
Octubre 2015
4 Simposio Nacional de Ingeniería Química y Bioquímica Aplicada.

Preparation of a poly(acrylic acid-co-itaconic acid) hydrogel with ZnO nanoparticles with antimicrobial properties
International conference on polymers and advanced materials/Polymat 2015
Octubre 2015

Nanotecnología aplicada a la medicina
Rebeca Betancourt Galindo
1er Congreso de Materiales Poliméricos
Junio 2016

Zinc Oxide nanoparticles control skin infection and improve dermal wound healing in humans
Rebeca Betancourt Galindo, Juan Bernal Martínez, Antonio Camacho Manrique, Carlos Ävila Orta and B Puente Urbina
3rd International Conference and Exhibition on Biopolymers and Bioplastics
September 12-14 2016, San Antonio USA.

Modified zinc nanoparticles encapsulated in a polymeric matrix.
IX International Conference on Surfaces, Materials and Vacuum September 26th to 30 th, 2016. Mazatlán México.

Trabajos en extenso

Preparación de acrílicos dentales a partir de la incorporación de nanopartículas de ZnO
Nayeli Martínez Huerta, Berta Puente y Rebeca Betancourt
7 Verano de la ciencia Región Centro 2015

Desarrollo de apósitos adhesivos con nanopartículas metálicas y/u Óxidos metálicos para tratamiento de heridas graves
Andrea Servín Rivera, Rebeca Betancourt Galindo y Bertha Puente
7 Verano de la ciencia Región Centro 2015

Desarrollo de apósitos adhesivos con nanopartículas metálicas y/o óxidos metálicos para tratamiento de heridas graves.
Angelica Thalia Lumbreras Aguayo y Rebeca Betancourt Galindo, Héctor Iván Meléndez Ortiz
7 Verano de la ciencia Región Centro 2015

Patente

Proceso de formulación tópica a base de nanopartículas metálicas y sus óxidos para su aplicación como agente antimicrobiano y regeneración de tejido.
Diciembre 2015

Artículos publicados

Composite base don Poly(Acrylic-co-Itaconic Acid) Hydrogel With Antibacterial Performance. Juan Carlos Carrillo-Rodríguez, Héctor Iván Meléndez-Ortiz, Bertha Puente-Urbina, Gabriela Padrón, Antonio Ledezma, Rebeca Betancourt-Galindo*. Polymer Composites (2016).

Effects of different surface modifying agents on the cytotoxic and antimicrobial properties of ZnO nanoparticles. S.C. Esparza-González c, S. Sánchez-Valdés a, S.N. Ramírez-Barrón a, M.J. Loera-Arias d, A. González-Fernández e, J. Bernal b, H. Iván Meléndez-Ortiz a, R. Betancourt- Galindo *a. Toxicology in Vitro 37, 13 (2016).