



**INSTITUTO POTOSINO DE INVESTIGACIÓN  
CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA, A.C.**

**POSGRADO EN NANOCIENCIAS Y MATERIALES**

**Diseño *in silico* y síntesis de nanoestructuras  
con potencial antiviral contra SARS-CoV-2**

Tesis que presenta

**Verónica Castro Velázquez**

Para obtener el grado de

**Maestra en Nanociencias y Materiales**

**Directores de la Tesis:**

**Dr. Vicente Rodríguez González**

**Dr. Erik Díaz Cervantes**

San Luis Potosí, S.L.P., 14 de junio de 2021



---

***IPICYT***

## Constancia de aprobación de la tesis

La tesis “**Diseño *in silico* y síntesis de nanoestructuras con potencial antiviral contra SARS-CoV-2**” presentada para obtener el Grado de Maestra en Nanociencias y Materiales fue elaborada por **Verónica Castro Velázquez** y aprobada el **día de mes de año** por los suscritos, designados por el Colegio de Profesores de la División de Materiales Avanzados del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.

---

**Dr. Vicente Rodríguez González**  
Codirector de la tesis

---

**Dr. Erik Díaz Cervantes**  
Codirector de la tesis

---

**Dra. Paulina Lozano Sotomayor**  
Miembro del Comité Tutorial

---

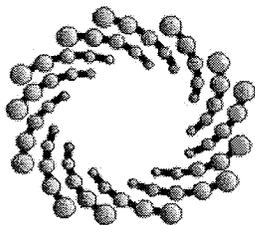
**Dr. Carlos Jesús Cortes García**  
Miembro del Comité Tutorial



## **Créditos Institucionales**

Esta tesis fue elaborada en el Laboratorio de Nuevos materiales y catálisis heterogénea de la División de Materiales Avanzados del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., en el Laboratorio de Caracterización Molecular de Biosistemas y Nanocompuestos (LACAMBION) y en el Laboratorio Nacional de Caracterización de Propiedades Fisicoquímicas y Estructura Molecular (LACAPFEM-UG-UAA-CONACYT) de la Universidad de Guanajuato, bajo la codirección del Dr. Vicente Rodríguez González y el Dr. Erik Díaz Cervantes.

Durante la realización del trabajo, el autor recibió una beca de ayudante de Investigador del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (No.951424) y una beca del comité de becas del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A. C.



**IPICYT**

# Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.

## Acta de Examen de Grado

El Secretario Académico del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., certifica que en el Acta 071 del Libro Primero de Actas de Exámenes de Grado del Programa de Maestría en Nanociencias y Materiales está asentado lo siguiente:

En la ciudad de San Luis Potosí a los 6 días del mes de agosto del año 2021, se reunió a las 11:00 horas en las instalaciones del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., el Jurado integrado por:

<b>Dr. Carlos Jesús Cortés García</b>	<b>Presidente</b>	<b>UMSNH</b>
<b>Dr. Haret-Codratian Rosu Barbus</b>	<b>Secretario</b>	<b>IPICYT</b>
<b>Dr. Erik Díaz Cervantes</b>	<b>Sinodal externo</b>	<b>UGto.</b>
<b>Dr. Vicente Rodríguez González</b>	<b>Sinodal</b>	<b>IPICYT</b>

a fin de efectuar el examen, que para obtener el Grado de:

**MAESTRA EN NANOCIENCIAS Y MATERIALES**

sustentó la C.

**Verónica Castro Velázquez**

sobre la Tesis intitulada:

*Diseño in silico y síntesis de nanoestructuras con potencial antiviral contra SARS-CoV-2*

que se desarrolló bajo la dirección de

**Dr. Vicente Rodríguez González**  
**Dr. Erik Díaz Cervantes (UGto.)**

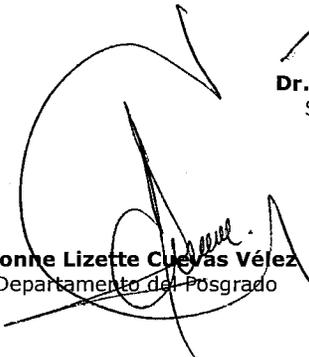
El Jurado, después de deliberar, determinó

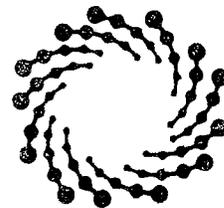
**APROBARLA**

Dándose por terminado el acto a las 14:06 horas, procediendo a la firma del Acta los integrantes del Jurado. Dando fe el Secretario Académico del Instituto.

A petición de la interesada y para los fines que a la misma convengan, se extiende el presente documento en la ciudad de San Luis Potosí, S.L.P., México, a los 6 días del mes de agosto de 2021.

  
**Dr. Marcial Bonilla Marín**  
Secretario Académico

  
**Mtra. Ivonne Lizette Cuevas Vélez**  
Jefa del Departamento del Posgrado



**IPICYT**  
SECRETARÍA ACADÉMICA  
INSTITUTO POTOSINO DE  
INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA  
Y TECNOLÓGICA. A.C.

## Dedicatorias

A mi padre

*Juventino Castro Torres*

Quien luchó hasta el último momento en su batalla contra la COVID-19, para hoy ser partícipe de este logro, qué como siempre, comparto con él. En esta vida no se pudo tú ya estabas listo para partir, pero yo no para dejarte ir. Hace tres años planeamos este día, calma y cabeza fría fueron los mejores consejos que me pudiste dar.

Agradezco su amor incondicional, sus grandes enseñanzas, su forma de hacerme ver la vida y las fortalezas que me enseñó a desarrollar para forjar mi carácter.

Aunque ahora él ya no lo puede ver, siempre seré su pequeño saltamontes esperando su almohada y su rincón.

A mi tía

*María Gertrudis Mora Adán*

Más que mi tía, mi segunda madre. Ya casi un año de tu partida que me causó gran dolor y pesar. Seguiré tus consejos como ley de vida, que como dijiste las recompensas tarde o temprano llegaran. No te imaginas cuanto te extraño y más en estos momentos tan difíciles de mi vida.

**Los recordaré con amor y añoranza, gracias por ser mis pilares de vida, los amé y amaré hoy, mañana y siempre.**

Q.E.P.D

## Agradecimientos

Agradezco a mi mamá Guadalupe Velázquez Aguilar, y a mis adoradas hermanas Beatriz, Guadalupe, Dulce, Angélica y Daniela (Castro Velázquez), por alentarme a terminar este proyecto que hace dos años inicie pese a las circunstancias. Gracias por ser mi orgullo y dejarme ser el suyo, espero en vida poder compensar todo su amor. En las buenas y en las malas siempre estaré para ustedes.

A mi amado Ernesto, quien dio todo de sí, para ayudarme a salir adelante económica y emocionalmente después de haber flaqueado. Gracias por no dejarme sola ni a mí ni a mi familia. Esta familia de dos que hemos creado es para siempre, te amo.

A mis asesores Dr. Vicente Rodríguez González y Dr. Erik Díaz Cervantes por compartir sus conocimientos en el desarrollo de esta tesis, por orientarme y alentarme a realizar mis metas planteadas.

A mis sinodales Dr. Carlos Jesús Cortes García y Dra. Paulina Lozano Sotomayor quienes se dieron el tiempo de orientarme, asesorarme y aconsejarme durante el desarrollo de mi proyecto de tesis, gracias por leerme y hacerme saber que si me lo propongo puedo mejorar.

Al Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., y El Laboratorio Nacional de Caracterización de Propiedades Fisicoquímicas y Estructura Molecular (LACAPFEM UG-UAA-CONACYT) de la Universidad de Guanajuato, por facilitarme los recursos e instalaciones para la realización de este proyecto de tesis. Al Laboratorio de Investigaciones en Nanociencias y Nanotecnología LINAN- IPICYT y las técnicas Beatriz Adriana Rivera y Ana Iris Peña Maldonado y al técnico Ignacio Guadalupe Becerril por el apoyo en la caracterización de mis materiales.

A todos mis compañeros Eva Monserrat, Pavel, Gaby, Domingo y Alberto del laboratorio de Nuevos Materiales y Catálisis Heterogénea, quienes se dieron el tiempo para resolver mis dudas, explicarme, aconsejarme y orientarme cuando más lo necesité.

A la familia Gómez Rojas, quienes a pesar de las circunstancias y la lejanía, me brindaron su apoyo y consuelo.

A mi compañero de maestría Alyabra Alejandro, quien hizo más ameno mi camino de estudiante de maestría. A mi amiga Marlen por darme la oportunidad de ser su fan, por ver en mí lo que soy, por apoyarme, escucharme y admirarse cuando le platico. A mis rome Vale por ser esa niña que me recuerda quien fui y adonde llegué. Y a todos mis amigos que siempre estuvieron ahí para darme palabras de apoyo y aliento, más en los últimos momentos.

# Contenido

Constancia de aprobación de la tesis	3
Créditos Institucionales	4
Acta de examen	5
Dedicatorias	6
Agradecimientos	7
Resumen	13
Abstract	15
1.INTRODUCCIÓN	17
1.1 Justificación	19
1.2 Hipótesis	21
1.3 Objetivo	21
1.3.1 Objetivo general	21
1.3.2 Objetivos específicos	21
2. CAPITULO 1: MARCO TEÓRICO	23
2.1 Antecedentes	23
2.2 Uso de cloroquina como tratamiento para la COVID-19	27
2.3 Análisis de fármacos con diseño in silico	28
2.4 Materiales para liberación de fármacos	31
2.4.1 Quitosano	31
2.4.2 TiO <sub>2</sub> en aplicaciones farmacéuticas	34
2.5 Conceptos básicos	36
2.5.1 Diseño in silico	36
2.5.1.1 Método mecánico clásico	38
2.5.1.2 Acoplamiento molecular (“docking” en inglés)	38
2.5.1.3 Métodos mecánico cuántico	41
2.5.2 Teoría de funcionales de la densidad (DFT)	41
2.6 Síntesis hidrotermal asistido por microondas	42
3. CAPITULO 2: DISEÑO, SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN.	43
3.1 Metodología in silico	44

3.1.1 Optimización	47
3.1.2 Docking molecular	47
3.1.3 Chimera	47
3.1.4 Pasos del docking	47
3.2.1 Procedimiento	53
3.2.2 Caracterización	53
3.2.2.1 Espectroscopía Infrarroja (IR)	53
3.2.2.2 Difracción de rayos X (XRD)	54
3.2.2.3 Microscopía electrónica de barrido (SEM)	55
3.2.2.4 Espectrometría de energía dispersiva de Rayos X (EDS)	55
3.2.2.5 Espectroscopía ultravioleta-visible (UV-Vis)	55
3.2.2.6 Medición de Porosidad y Área de Superficie (Método BET)	56
3.3 Pruebas de adsorción	57
CAPITULO 3: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	59
4.1 In silico	59
4.1.2 Optimización y energía libre de Gibbs	59
4.1.3 Orbitales moleculares	60
4.1.4 Espectros FTIR experimentales y teóricos	61
4.1.5 Ensayo de acoplamiento molecular	63
3.2 Experimental	68
4.2.1 Difracción de rayos X (DRX)	68
4.2.2 Microscopia electrónica de barrido (SEM)	71
4.2.3 Espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR)	77
4.2.4 Fisorción De N <sub>2</sub> (BET)	82
4.3 Pruebas de liberación y adsorción	86
5.CAPITULO4: CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.	89
5.1 Conclusiones	89
5.2 Perspectivas	90
6. REFERENCIAS	91
7.ANEXOS	97

## Índice de figuras

Figura 2.1 Estructura ejemplificada adaptada de [19] [20].	24
Figura 2.2 Imagen TEM de SARS-CoV-2 [20].	25
Figura 2.3 Forma estructural de a) cloroquina base, b) Fosfato de cloroquina y c) Sulfato de cloroquina.	27
Figura 2.4 Forma estructural de quitosano.	32
Figura 2.5 Métodos computacionales.	37
Figura 2.6 Representación esquemática de docking molecular.	40
Figura 3.1 Representación esquemática de <i>docking</i> molecular.	43
Figura 3.2 Metodología para diseño <i>in silico</i> .	44
Figura 3.3 Docking molecular procedimiento para correr calculo.	49
Figura 3.4 Metodología para diseño experimental.	50
Figura 3.5 Síntesis hidrotermal asistido por microondas.	52
Figura 3.6 Curva de calibración de la adsorbancia a 255 nm de la concentración de cloroquina.	57
Figura 4.1 Moléculas optimizadas QT, CQ, CQ-QT.	59
Figura 4.2 Moléculas optimizadas de NT.	60
Figura 4.3 Orbitales moleculares QT, CQ, CQ-QT.	60
Figura 4.4 espectros IR para QT, CQ y QT-CQ compuesto. A) Espectros FTIR Teórico-Experimental, B) Espectros IR teóricos QT, CQ y QT-CQ.	61
Figura 4.5 espectros experimentales FTIR en agua para QT-CQ (después de 24 horas de la adsorción).	62
Figura 4.6 Espectro experimental NT.	63
Figura 4.7 Acoplamiento molecular de CQ y en SARS-CoV-2 <sup>Mpro</sup> , considerando QT como cofactor.	64
Figura 4.8 Mapa de proteína ligando, a) MPro-CQ, b) MPro-QTNT-CQ y c) Mpro-QT-NT.	67
Figura 4.9 DRX de materiales sintetizados con NaOH. a) Compósito QT-NTNa, b) NTNa, c) Compósito NT-QTNa y d) QTNa.	69

Figura 4.10 DRX de materiales sintetizados con $N_2H_4$ . a) Compósito QT-NTHz, b) NTHz, c) Compósito NT-QTHz y d) QTHz.....	70
Figura 4.11 Imágenes SEM, a) QTNa y b) QTHz.....	71
Figura 4.12 Imágenes SEM de QTHz. ....	72
Figura 4.13 Imágenes SEM, a) NTNa y b) NTHz. ....	73
Figura 4.14 Imagen SEM de a) QT-NTHz y b) NT-QTHz.....	74
Figura 4.15 Imagen SEM de NTQTHz. ....	74
Figura 4.16 Imagen SEM de a) QT-NTNa y b) NT-QTNa. ....	75
Figura 4.17 FTIR de transmitancia de NT. ....	78
Figura 4.18 FTIR de transmitancia QT. ....	80
Figura 4.19 FTIR de transmitancia de compósito QTNTNa& QNTHz .....	82
Figura4.20 Isotermas correspondientes a la síntesis con NaOH.....	84
Figura4.21 Isotermas correspondientes a la síntesis con $N_2H_4$ .....	85
Figura 4.22 Porcentaje de liberación de CQ.....	87

## Índice de tablas

Tabla 2.1 Listado de fármacos autorizados previamente por FDA.	28
Tabla 3.1 Lista de herramientas computacionales.	42
Tabla 3.2 Muestreo computacional	44
Tabla 3.3 Muestreo experimental	49
Tabla 3.4 Lista de materiales para síntesis hidrotermal.	49
Tabla 3.3 Equipos utilizados	54
Tabla 4.1 Ligando-diana energías para las moléculas estudiadas en kcal/mol	63
Tabla 4.2 Tabla análisis BET	80
Tabla 4.4 Mecanismo de liberación	83
Tabla 4.3 Porcentaje de Adsorción	85

## Resumen

### **Diseño *in silico* y síntesis de nanoestructuras con potencial antiviral contra SARS-CoV-2**

La actual pandemia causada por virus SARS-CoV-2 ha ocasionado una emergencia de salud pública siendo las personas más susceptibles aquéllas con factores de riesgo como la hipertensión, obesidad, diabetes o con antecedentes de enfermedad cardiovascular, así como los mayores a 60 años. El uso de fármacos existentes para combatir este nuevo virus son una alternativa viable. La cloroquina (CQ) es uno de ellos, aunque es una sustancia antimalárica y ha sido empleada para el tratamiento de enfermedades autoinmunes, puede ser una alternativa para tratar el SARS-CoV.2, sin embargo, se sabe que requiere una administración en bajas dosis para evitar efectos colaterales.

En esta tesis se desarrolla el diseño químico computacional y síntesis de un sistema nanoestructurado biocompatible a base de quitosano (QT), y nanopartículas de titanato de hidrogeno (NT). El compósito poroso es utilizado para generar una perspectiva de dosificación del fármaco comercial cloroquina con objetivo de mejorar su administración en pacientes.

La primera etapa consiste en el modelado de un sistema molecular de partida QT-CQ, seguido del sistema QT-NT/CQ. Se emplean métodos de mecánica cuántica, concretamente se utiliza la teoría de funcionales de la densidad (DFT) con la cual, se evalúa la interacción molecular con el compósito. La evaluación del sistema como vehículo se realiza sobre la proteasa principal del virus SARS-CoV-2 (Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2, en inglés), empleando docking molecular, para conocer las principales interacciones compósito-ligando. La interpretación teórica del compósito formado y de la interacción de este como agente inhibidor del CoV2 resultó factible, procediendo a realizar la síntesis del compósito. Se realizó la síntesis hidrotermal, la caracterización y la evaluación del QT-NT/CQ en dos medios básicos con NaOH e hidracina ( $N_2H_4$ ). La obtención de nanopartículas

mesoporosas con fase cristalina de titanato de hidrógeno al utilizar NaOH (QT-NTNa) y ácido titánico con  $N_2H_4$  (QT-NTHz) presentando morfologías de nanotubos y de tipo nanocuboides, respectivamente.

La interacción entre QT y NT se observó mediante espectroscopia de IR por transformada de Fourier (FT-IR), la banda de vibración elástica de C=N en  $1363\text{ cm}^{-1}$  es formada entre grupos de aminas de quitosano y aldehído anclados a NT. Los resultados *in-silico* sugieren que QT tiene mayor beneficio como primer contacto con el blanco, debido a que promueve una mejor inhibición del SARS-CoV-2-M<sup>Pro</sup>, siendo interacciones electrostáticas factores clave en este proceso. La microscopia de barrido (SEM) muestra capas de QT sobre los NT y los cuboides que podría ser benéfico para el contacto antes de dosificar la CQ.

En las pruebas de adsorción la respuesta de los compósitos como adsorbentes está en función del área superficial de la muestra y la proporción de QT. Por lo que corroborando con los resultados *in-silico* la opción favorable es el sistema de QT recubriendo a NT/CQ.

**PALABRAS CLAVE.** *In silico*, SARS-CoV2, Cloroquina, Quitosano,  $TiO_2$ .

## Abstract

### ***In silico* design and synthesis of nanostructures with antiviral potential counter to SARS-CoV-2**

The current pandemic caused by the SARS-CoV-2 virus has led to a health emergency, in which the most vulnerable population are those with risk factors such as hypertension, obesity, diabetes or with a history of cardiovascular disease, as well as those over 60 years. The use of existing drugs to combat this new virus is a viable alternative. Chloroquine (CQ) is one of these drugs. CQ is a well known drug commonly used to treat malaria and other autoimmune diseases. Recently has been demonstrated the effectiveness of CQ in the treatment of SARS-CoV-2, however there are side effects related with an over-dose administration.

In this project, we performed the computational-chemical design and synthesis of a biocompatible nanostructured system, based on chitosan (QT), and hydrogen titanate nanotubes (NT).

The objective of this project is the development of a composite that could be used as a dosage mechanism to improve the CQ delivery in patients.

In the first stage we made the modeling of a molecular system with QT-CQ, followed by the QT-NT/CQ system. We evaluated the molecular interaction with the composite using Quantum mechanical methods, in particular the theory of functional density (DFT). The evaluation of the system as a vehicle is performed on the main protease of the SARS-CoV-2 virus (Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2), using molecular docking, to know the main interactions composite-ligand. The theoretical interpretation of the composite formed and the interaction with protease CoV2 was viable, proceeding to perform the synthesis of the composite. The Hydrothermal synthesis, characterization, and evaluation of QT-NT/CQ were performed in two basic media, with NaOH and hydrazine (N<sub>2</sub>H<sub>4</sub>). When we used NaOH (QT-NTNa) and titanate acid with N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> (QT-NTHz), we

obtained mesoporous nanoparticles with crystalline phase of hydrogen titanate. Nanotube and nanocuboides morphologies were observed, respectively.

The interaction between QT and NT was observed by IR spectroscopy by Fourier transform (FT-IR). An elastic vibration band to 1363 cm<sup>-1</sup> associated to C = N was formed, between groups amines of QT and aldehyde group of NT. The *in-silico* results suggest that QT has greater benefit as a first contact with the target, because it promotes better inhibition of SARS-CoV-2<sup>MPro</sup>. Electrostatic interactions were key factors in this process. Scanning microscopy (SEM) shows QT layers over the NT and cuboids that could be beneficial for contact before dosing the CQ.

In adsorption tests, the response of the compósitos as adsorbents was in function of the surface area of the sample and the proportion of QT. therefore, corroborating with the results in-silico, wich showed that the best option is the QT system coated in NT / CQ.

KEYWORDS. *In silico*, SARS-CoV2, Chloroquine, Chitosan, TiO<sub>2</sub>.

# 1.INTRODUCCIÓN

El panorama en el ámbito de la salud con relación a enfermedades originadas por virus es incierto. Afortunadamente, existen investigaciones dedicadas al desarrollo de tratamientos que inactivan o evitan la replicación de estos, además de metodologías que mitigan la propagación. Para los tratamientos se emplean fármacos que cumplen con características físicas y químicas que favorecen la inhibición del virus. Los materiales utilizados para fabricar estos fármacos deben subyugar, detener o prevenir enfermedades, por lo tanto, los materiales que interaccionen con estos virus están limitados a la composición química, tamaño y forma, debido a las consecuencias que pueda traer al organismo; como efectos secundarios u otras enfermedades.

Actualmente se desarrollan nuevos materiales, con características específicas, como las redes metal orgánicas, MOF por sus siglas en inglés (*metal organic framework*). Estas redes, son materiales que pueden ser regulados según la aplicación. Su diseño depende del centro metálico y el ligando orgánico (polímeros) que las componen, los cuales logran aportar características fisicoquímicas acordes al fármaco que se desee transportar, para luego ser liberado en el organismo. Sus propiedades pueden modularse desde la síntesis al insertar grupos funcionales que faciliten la incorporación de otras moléculas, estas características establecen ventajas que podrían superar a los materiales existentes [1].

El dióxido de titanio puede ser transformado por tratamiento alcalino en medio hidrotérmico generando estructuras nanotubulares, síntesis que ya ha sido ampliamente estudiada [2] [3] [4]. La morfología 1D generalmente presenta fases monoclinicas y ortorrómbicas conocidas como titanatos protonados [5]. Estos nanotubos debido al proceso de síntesis presentan vacancias o defectos estructurales resultantes del lavado con soluciones ácidas para evacuar y neutralizar el excedente del alcalino empleado en la síntesis [6].

Los titanatos de hidrogeno han sido evaluados como materiales biocidas y dosificadores de fármacos [7]. Por ejemplo, Jia y Kerr [8], reportan el perfil de liberación de fármacos utilizando titanatos y un biopolímero en interacción con dos tipos de fármacos en diferentes condiciones de pH. En dicho estudio, consiguieron la liberación de lidocaína y carprofeno en tampón pH 3.5, 7.4 y 10.5, demostrando que los titanatos muestran una excelente estabilidad química en ambientes acuosos, mientras que en los experimentos de liberación *in vitro* de nanotubos, la liberación del fármaco estaba determinada por la hinchazón y degradación del polímero utilizado, el cual era dependiente del pH. Por otro lado, Liu et al. [9], estudiaron la influencia de diferentes métodos de carga de fármacos y el pH en la liberación, con TNT y TNT modificados con Fe. Ellos reportan que, en el sistema de administración del fármaco, el alendronato (fármaco sensible al pH), se coordina a la superficie de los TNT, demostrando que el tiempo de liberación de la droga podría prolongarse a más de 15 días mediante el uso del sistema de coordinación Fe-TNT como portador y además el fármaco podría cargarse en los nanotubos por secado al vacío y métodos hidrotermales.

El quitosano como material orgánico, ya ha sido ampliamente utilizado por su carácter mucoadhesivo, permeabilidad y liberación controlada de fármacos. Las propiedades no tóxicas, biocompatibles y biodegradables lo convierten en un buen candidato para diseñar nuevos materiales para la administración de fármacos [3]. Por ejemplo, Wen et al. [10] reportaron que la combinación de trimetil-quitosano y un péptido, se puede utilizar para tratar el cáncer de seno por administración oral, demostrando que el conjugado realiza un mejor efecto terapéutico antitumoral en comparación con la solución farmacológica libre debido a la afinidad selectiva de este péptido con las células intestinales.

Los materiales antes mencionados, tienen propiedades y efectos diferentes a materiales similares en tamaños convencionales. No obstante, poseen la desventaja de plantear riesgos desconocidos para la salud del hombre y de otras especies.

Por esta razón se plantea realizar estudios previos *in silico*, como una medida de análisis que nos ayude a conocer teóricamente si es posible aplicarlos o descartarlos en el área de ciencias de la salud. Se propone desarrollar un vehículo administrador de CQ con estos materiales, para su aplicación como antivirales contra SARS-CoV-2, implementando el diseño de un sistema capaz de administrar la droga. De modo multidisciplinario, se propone implementar diseño *in silico* y experimental para formular materiales que puedan aplicarse para el control de la “enfermedad por coronavirus 2019”, COVID-19.

## **1.1 Justificación**

El uso de materiales nanoestructurados con aplicaciones biomédicas se encuentra en pleno auge y desarrollo. Tal es el caso de los nanomateriales, que, debido a su tamaño pueden ser empleados a través de un mecanismo de difusión en organismos vivos, favoreciendo el control de diversas enfermedades. Para el caso específico del virus SARS-CoV-2, existe poco conocimiento respecto a los tratamientos antivirales que puedan controlar dicha enfermedad, por ello este virus es objetivo de diversas investigaciones debido a su alta mortalidad global en pacientes con comorbilidades.

Los efectos adversos en el uso de fármacos, implementados de primera instancia para contrarrestar la COVID-19 fueron ignorados, como lo es el caso de los efectos causados por el fármaco CQ.

El fármaco antimalárico CQ, se ha utilizado como tratamiento de enfermedades autoinmunes y fue avalado como tratamiento inicial para controlar la COVID-19. No obstante, el pasado 15 de junio del 2020 dejó de ser usado como tratamiento para pacientes con SARS-CoV-2, al ser revocada la autorización concedida el 28 de marzo del 2020 por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA., por sus siglas en inglés) a causa de las evidencias con relación al bajo beneficio y grandes riesgos por dosificación [11].

La Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS), autorizó su uso solo en pacientes ambulatorios [12] y la Organización Mundial de Salud (WHO., por sus siglas en inglés) sugiere no usarlo [13], en vista de que no es clara su eficacia. Estas organizaciones coinciden en que, el principal riesgo es el aumento de arritmias cardiacas debido a la dosificación, contrarrestando con esto las ventajas que pueda tener su uso.

Con base a lo anterior, en este trabajo de investigación se plantea desarrollar el diseño *in silico*, síntesis y caracterización de un sistema nanoestructurado a base de QT y NT, para su uso como vehículo administrador de CQ. Se espera que de manera controlada puedan, en función de sus características, neutralizar la COVID-19, así como su replicación. Además, se analizará la afinidad *in silico* vinculante de los activos farmacéuticos que bloquean el proceso de infección mediante la inhibición de la proteasa principal del virus conocida como SARS-CoV-2-M<sup>PRO</sup> [14], con la finalidad de proponer un vehiculo transportador que tenga la capacidad de dosificar e inhibir de manera controlada.

## 1.2 Hipótesis

Las aproximaciones computacionales ayudarán a comprender (i) las interacciones resultantes de la síntesis hidrotérmica de un nuevo compósito a partir de quitosano de bajo peso molecular y dióxido de titanio, en dos medios alcalinos y (ii) la interacción(es) de la CQ con los compósitos resultantes y su potencial para el control de la COVID-19. El análisis de las interacciones de los sistemas estudiados con la proteasa principal del SARS-CoV-2, permitirá generar una perspectiva para la dosificación de dicho fármaco en el tratamiento de la COVID-19.

## 1.3 Objetivo

### 1.3.1 Objetivo general

Conocer el comportamiento físico y químico del fármaco cloroquina en interacción con el compósito quitosano-nanopartículas. Posteriormente evaluar las interacciones de dicho nanosistema con la proteasa principal del SARS-CoV-2 implementando estudios *in silico*, para finalmente sintetizar los nanosistemas planteados.

### 1.3.2 Objetivos específicos

- Modelar las moléculas de CQ, QT y NT mediante diseño *in silico*.
- Caracterizar de manera computacional CQ, QT y NT.
- Modelar y optimizar el sistema QT-NT
- Interpretar las interacciones químicas entre QT y CQ
- Evaluar la afinidad de QT>CQ con la proteína SARS-CoV-2-M<sup>PRO</sup>.
- Evaluar la efectividad de QT-NT>CQ como inhibidor de la proteína SARS-CoV-2-M<sup>PRO</sup>

- Sintetizar por método hidrotermal asistido por microondas los materiales de referencia NT, QT y compósitos QT-NT en dos medios alcalinos NaOH y  $N_2H_4$ , establecer la síntesis en cantidad de quitosano presente en el composito 2:1 y 1:2 de QT.
- Caracterizar con FITR, DRX, SEM y BET para interpretar las propiedades fisicoquímicas de los materiales obtenidos.

## 2. CAPITULO 1: MARCO TEÓRICO

### 2.1 Antecedentes

Las infecciones causadas por virus se han expandido debido a la capacidad de adaptación que estos poseen. En su búsqueda de nuevos huéspedes para sobrevivir, logran infectar tanto a aves, mamíferos hasta humanos, elevando la tasa de mortalidad de los organismos afectados. Al desconocer su mecanismo de acción es necesario analizar constantemente los efectos que logran causar al organismo.

Los hallazgos clínicos por la COVID-19 muestran respuestas inflamatorias exuberantes durante la infección, además de una inflamación pulmonar incontrolada. Los responsables de esta inflamación son la replicación viral rápida causando un daño celular, la regulación negativa y eliminación de ACE2 (conocido como la enzima convertidor de angiotensina 2, sus siglas en inglés) inducida por el virus y autodefensa dependiente de anticuerpos (ADE) [15].

El implementar tratamientos para controlar la COVID-19 es de vital importancia, sin embargo, no es fácil llegar a la solución óptima. Además, se debe prevenir daños colaterales al organismo en el proceso. Por ejemplo, en el caso de los tratamientos como el uso de fármacos Ivermectina [16], Remdesivir, Chloroquine, Lopinavir, Niclosamide, Proscillaridin, Penfluridol, Toremifene, Hexachlorophene, Salinomycin, Ciclesonide, Osimertinib, Gilteritinib, Ivacaftor, Dronedarone, Fluphenazine, Chlorpromazine, Simeprevir y Narlaprevir, entre otros [17] [18], a pesar de tener efectividad en inhibir al virus o su replicación, su uso ha implicado efectos secundarios, como son: descontrol en presión arterial, coagulación, limitación de compatibilidad de estos fármacos con los tratamientos ya utilizados en personas con comorbilidades adicionales, y otros efectos al organismo, teniendo que utilizar medicación secundaria para controlarlos. Es por ello, por lo que su uso como tratamiento, es valorado e incluso revocado por las instituciones reguladoras de fármacos.

El virus SARS-CoV-2, es miembro de la familia  $\beta$ -coronavirus que también incluyen al SARS-CoV-1 y MERS-CoV-2 (Síndrome Respiratorio de Oriente Medio) [15]. La forma estructural (ver figura 2.1) de este virus consiste en una nucleocápside (que protege al material genético viral) y en una envoltura externa. El genoma viral está asociado con la proteína de la nucleocápside (N), la cual, posee un grupo fosfato insertado dentro de la bicapa de fosfolípidos de la envoltura externa. En la envoltura externa, se encuentran proteínas estructurales denominadas: proteína Spike (S), proteína de membrana (M) y proteína de envoltura (E), además, de proteínas accesorias, tales como; la proteína hemaglutinina estereasa (HE) [19] [20]. La acción de infección al organismo comienza con una interacción entre la glicoproteína de pico viral (proteína S componente principal del ARN viral) y el receptor celular ACE2. Se encuentra en la superficie de las células ubicadas en el tracto respiratorio bajo, corazón, riñón, estómago, vejiga, esófago e intestino [19].

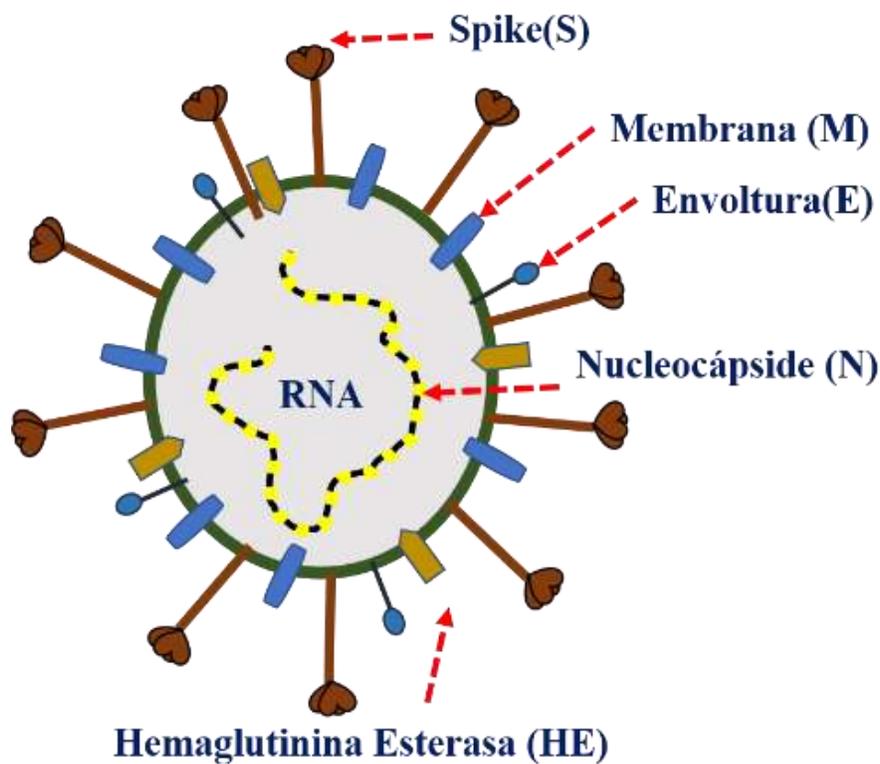


Figura 2.1 Estructura ejemplificada adaptada de [19] [20].

Los investigadores Chuang Liu et al. [20], reportan la arquitectura viral del SARS-CoV-2 (figura 2.2) la cual fue examinada por microscopía electrónica de transmisión (tanto tinción negativa como crio-EM) en donde muestran que las partículas virón (unidad estructural de los virus) tienen forma semiesférica y moderadamente pleomórficas (presenta diversas formas y variación), tienen picos en forma de uña de alrededor de 7 nm y la longitud de la espiga entera es de alrededor de 23 nm.

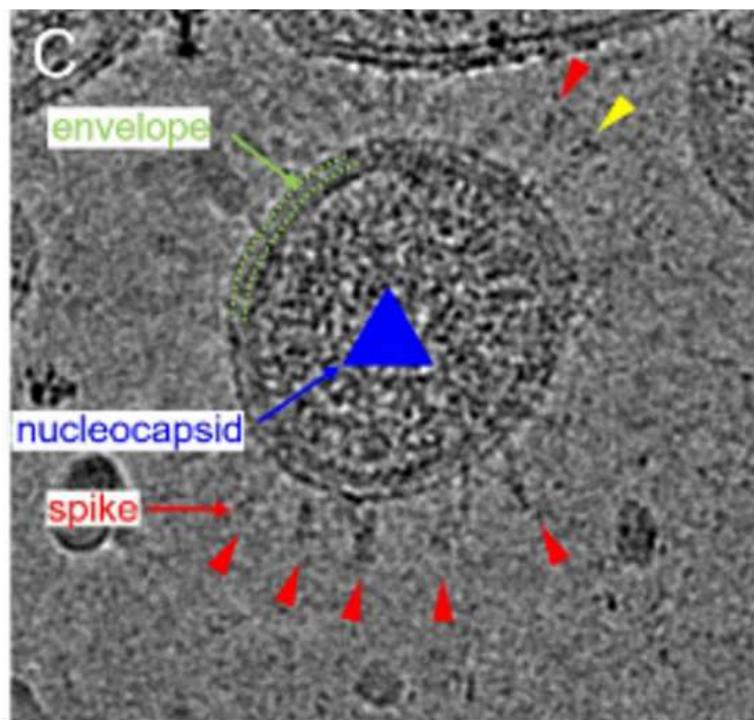


Figura 2.2 Imagen TEM de SARS-CoV-2 [20].

Las proteínas S, de SARS-CoV y SARS-COV-2 son filogenéticamente similares con una identidad de secuencia de aproximadamente 77%, ambas se acoplan a ACE2 quien regula los sistemas cardiovascular e inmunológico. Los estudios reportan que el RBD (Receptor-Binding Domain) de las dos variantes del SARS comparten una afinidad de unión similar hacia la ACE2 [21].

En general las investigaciones se han enfocado en estudiar los fármacos que no son específicos para la infección, pero que pudieran ser candidatos para contrarrestar los efectos causados por la enfermedad debido a su previo estudio con virus similares, sin embargo, es urgente la búsqueda de fármacos específicos para la infección, o en su caso mejorar la efectividad del principio activo del fármaco con la ayuda de sus excipientes, que son los que proveerán el mecanismo de acción final contra el virus.

Mediante métodos computacionales (*in silico*), se han identificado activos que bloquean el proceso de acción de las proteínas que conforman al virus, con el uso de moléculas análogas en su forma de péptidos antimicrobianos (AMPs) [22], o como activo farmacéutico de tratamientos ya utilizados con la finalidad de su reposicionamiento como inhibidores de la proteasa principal del virus (nucleocápside), también conocida como endopeptidasa 3C-Like (3CL) [23].

## 2.2 Uso de cloroquina como tratamiento para la COVID-19

La cloroquina, una droga antipalúdica usada en tratamientos de enfermedades autoinmune, se ha utilizado como droga antiviral con potencial de amplio espectro, debido a que bloquea la infección del virus aumentando el pH endosomal requerido para la fusión del virus-célula evitando su replicación [24]. Sus excipientes son el almidón de maíz (sin gluten), talco, estearato de magnesio, hipromelosa, macrogol 4.000, dióxido de titanio (E 171). Un comprimido contiene 250 mg de difosfato de cloroquina equivalentes a 155 mg de cloroquina base [25].

En la figura 2.3, se expone la forma estructural de sus presentaciones difosfato o sulfato de CQ. La ficha técnica del fármaco señala que la mayor parte de las reacciones adversas que se observan tras la administración de cloroquina son dependientes de la dosis y se producen sobre todo a concentraciones plasmáticas superiores a 250 µg/l [25].

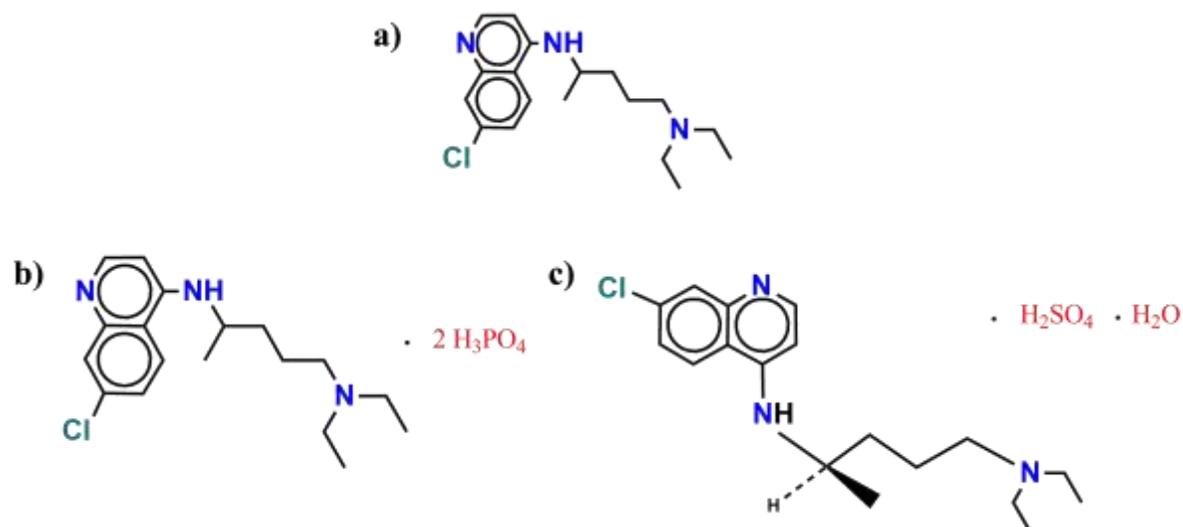


Figura 2.3 Forma estructural de a) cloroquina base, b) Fosfato de cloroquina y c) Sulfato de cloroquina.

En los estudios in vivo de Martin J Vincent et al. revelan que la droga interfiere con la glicoproteína glicosídica de receptores celulares de SARS-CoV previniendo la propagación del CoV en el cultivo celular. Ellos observaron la inhibición favorable de la propagación del virus cuando las células fueron tratadas con cloroquina, además sugieren que la cloroquina tiene la capacidad de disminuir la respuesta inmune, aumentando sinérgicamente su efecto antiviral in vivo [26].

Al inicio de la pandemia provocada por la COVID-19, uno de los principales tratamientos usados en Estados Unidos fue el uso de cloroquina y remdesivir debido a demostraciones previas de su efectividad en inhibir el SARS-CoV-2 in vitro [27].

A pesar de presentar ventaja en inhibir al virus, el uso de cloroquina fue revocado por la FDA, quien emitió un Comunicado de Seguridad de Medicamentos (DSC, por sus siglas en inglés) advirtiendo contra el uso de cloroquina para la COVID-19 fuera del entorno hospitalario o un ensayo clínico debido al riesgo de arritmias. El DSC describió informes de eventos cardíacos graves, incluida la prolongación del intervalo QT (medida del tiempo entre el comienzo de la onda Q y el final de la onda T en el electrocardiograma), en pacientes que recibieron cloroquina, a menudo en combinación con azitromicina y otros medicamentos que prolongan el intervalo QT [28].

### **2.3 Análisis de fármacos con diseño *in silico***

La pandemia causada por la COVID-19 fomentó la reutilización de los medicamentos existentes aprobados por la FDA como primera opción para su tratamiento. Anteriormente se mencionó que el agente viral comparte similitud de nucleótidos de la familia SARS-CoV. Por lo que, se espera estructuralmente que muchos de estos objetivos virales existentes sean similares al SARS-CoV-2 y que probablemente sean inhibidos por los mismos compuestos. Las líneas de investigación teóricas se han dado a la tarea de realizar simulaciones de interacción con el principio activo de fármacos conocidos y las proteínas estructurales del SARS-CoV-2.

Los análisis se basan en realizar estudios de acoplamiento con fármacos aprobados por la FDA contra la COVID-19, como cloroquina, remdesivir, hidroxiclороquina, arbidol, entre otros. La rápida propagación del virus SARS-CoV-2 ha generado que la comunidad científica tenga que hacerle frente. Por lo cual, es necesario comprender su epidemiología, estructura molecular, además de la comprensión de los mecanismos de sus dianas protéicas farmacológicas, para la identificación de agentes terapéuticos eficaces y el desarrollo de vacunas para prevenir la propagación del virus [29].

En la siguiente tabla 2.1, se muestran el listado de algunos fármacos actualmente analizados;

**Tabla 2.1 Listado de fármacos autorizados previamente por FDA**

Fármaco	Eficiencia (Kcal/mol)	Proteína (PBD)	Referencia
Derivados de tetrazol-1,2,3-triazoles 1,5-disustituidos	-5.4	CoV-2-M <sup>Pro</sup>	[30]
Hidroxiclороquina	-5.5	3C-like	[29]
Cloroquina	-4.5	3C-like	
Análogos CQ H-372 y H-368	-6.0	3C-like	
Cloroquina	-6.6; -6.4; -3.4	6LZG, 6NUR, y 6M71	[31]

Remdesivir	-4.5; -4.3	6LZG y 6NUR	
Arbidol	-7.9; -6.3	6LZG y 6NUR	
Ivermectin	-9.5; -10.0	SARS-CoV-2 M <sup>pro</sup> , SARS-CoV 3CL <sup>pro</sup>	[32]
Remdesivir	-8.1; -9.0		
Cloroquina	-6.0; -6.5		
Acetylsalicylic acid	-5.9; -6.1		

El diseño de fármacos asistidos por computadora ha sido una estrategia y un enfoque eficaces para descubrir, desarrollar, analizar, acelerar y economizar el diseño y el desarrollo de fármacos y moléculas biológicamente activas.

## **2.4 Materiales para liberación de fármacos**

En relación con la problemática expuesta se propone el estudio de la interacción del principio activo del fármaco con un material biocompatible que funja como un vehículo transportador.

El mecanismo por el cual se da la liberación del fármaco es influenciado por la composición, estructura, degradabilidad, el medio en el cual se da la liberación (pH, enzimas, fuerza iónica, temperatura) y el tipo de fármaco (hidrofobicidad, estabilidad e interacción con la matriz) [33].

Las nanoestructuras prometen ser capaces de evitar al sistema inmune y de pasar barreras como la hematoencefálica, así como la pared del tracto gastrointestinal que el cuerpo utiliza para evitar la penetración de sustancias desconocidas. Los compuestos farmacéuticos reformulados como nanopartículas también podrían ser biológicamente más activos, debido a su gran área superficial que podría aumentar su biodisponibilidad [34].

### **2.4.1 Quitosano**

Para mejorar la naturaleza química y propiedades fisicoquímicas de los polímeros, existen métodos de síntesis que además permiten la transformación de estos, durante o después su elaboración, proporcionando un rango de posibilidades para ser usados como nanotransportadores [35].

El polímero quitosano es conocido ampliamente por presentar baja toxicidad, no ser alérgico, tener cierta biocompatibilidad y biodegradabilidad, siendo candidato para aplicaciones en la industria farmacéutica y alimenticia [36]. Es un derivado de la quitina (polisacárido muy abundante en la naturaleza, principalmente en crustáceos, insectos y hongos), la cual es sometida a un proceso de desacetilación termoquímica en un medio alcalino.

Las condiciones de temperatura, presión, concentración y tiempo establecen el peso molecular del polímero y su grado de desacetilación [37] [38]. El contenido de nitrógeno en quitosano puro es aproximadamente del 6,89%. El grupo amino libre en la estructura del quitosano le proporciona un comportamiento marcadamente básico, además le confiere ciertas características fisicoquímicas de gran interés industrial [37]. La figura 2.4, muestra la estructura molecular de este polímero.

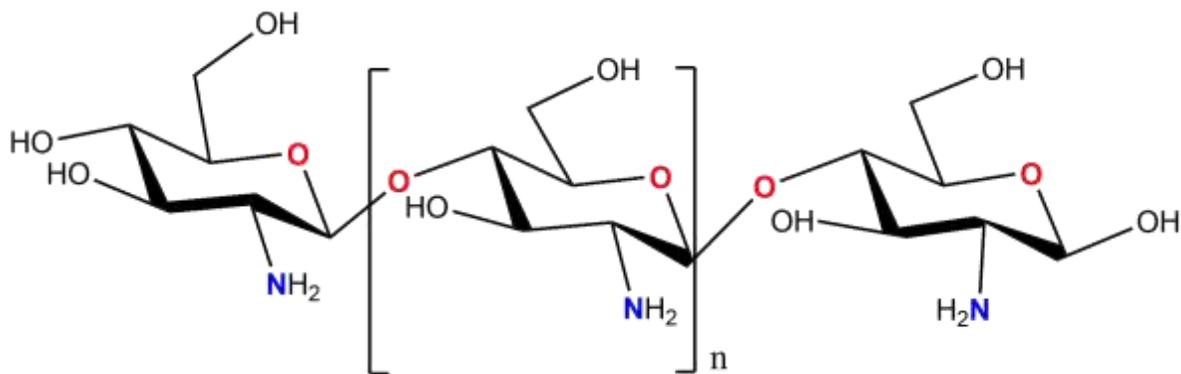


Figura 2.4 Forma estructural de quitosano.

Este polímero se ha utilizado ampliamente en la industria farmacéutica en sistemas de administración de fármacos en diferentes presentaciones. El uso principal del quitosano es como excipiente en la formulación de tabletas para medicamentos orales. Debido a su alto peso molecular retrasa la liberación del ingrediente activo, prolongando la duración de la actividad del fármaco, mejorando así, la eficacia terapéutica. Algunas investigaciones patentaron su mecanismo de acción, así como su estudio morfológico en Nanofibras [39], nanopartículas [40] o microesferas sin uso de disolvente [41], en las que la principal función es contener en su interior principios activos que son liberados de forma retardada al entorno exterior.

Es fundamental evaluar el mecanismo de acción del quitosano en la formulación de fármacos, su principal función como vehículo dosificador puede tener implicaciones sobre su biocompatibilidad por lo que es importante abordar y tratar de manera diferente la biocompatibilidad del quitosano ya sea como molécula o como vehículo.

Como molécula con carga positiva, el quitosano interacciona eficientemente con las membranas celulares, que están cargadas negativamente debido a los intercambios iónicos entre el medio intracelular y extracelular, por ello las células suelen absorber nanopartículas de quitosano [36] [39]. Al formular quitosano como un vehículo dosificador este se combina con un fármaco, en donde el número de grupos amino cargados positivamente que quedan disponibles disminuye comparativamente [42]. Controlar el número de grupos amino es primordial, debido a que su disponibilidad puede afectar su capacidad de interactuar con las membranas celulares y el ambiente circundante, disminuyendo potencialmente su adsorción y desencadenando posibles eventos de toxicidad [43].

## 2.4.2 TiO<sub>2</sub> en aplicaciones farmacéuticas

El uso de TiO<sub>2</sub> nanoestructurado tiene aplicaciones potenciales debido a sus características nanométricas. Diversos estudios reportan baja toxicidad, buena biocompatibilidad, propiedades intrínsecas según las técnicas de fabricación [44]. Las líneas de investigación enfocados en quimioterapias han demostrado que la administración selectiva de fármacos en agentes quimiotóxicos cargados con nanoestructuras basadas en TiO<sub>2</sub> podría aumentar la eficiencia terapéutica de los agentes en el tratamiento del cáncer [4].

Se ha demostrado que los titanatos son una vía prometedora para la administración local controlada de fármacos, sin embargo, la liberación con NT puros es muy rápida. Por lo tanto, se han empleado polímeros sensibles al pH para superar el problema de la liberación demasiado rápida de fármacos de NT. En el caso de la administración de fármacos sensibles a la temperatura, se han usado nanopartículas de TiO<sub>2</sub>, explorando polímeros y fármacos sensibles a la temperatura para mejorar sus propiedades al decorarlos con NT [44].

El TiO<sub>2</sub> tiene una atención considerable en sistemas eficientes de administración de fármacos, y las nanopartículas de TiO<sub>2</sub> se han fabricado en varias formas como fibras, esferas, cápsulas y formas porosas. Por lo tanto, el fármaco se puede combinar en la superficie o contenido en una matriz de TiO<sub>2</sub> modificado con hidrogeno, en su forma de titanato, realizando una actividad de liberación controlada sostenida. Además, cuando el sistema de administración de fármacos se modifica con moléculas específicas para dirigirlo a las células objetivo, se puede lograr una mayor eficiencia. Su uso promete obtener una tasa de liberación casi constante durante un largo período del tiempo, mejorando la eficiencia de la entrega al tener control de la dosis, ya sea por determinado tiempo o períodos prolongados (días, semanas o meses) para reducir la exposición a fármacos y reducción significativa de la toxicidad [45].

Para incrementar la eficiencia energética requerida para la interacción con la proteasa se plantea el uso de NT, para utilizarse como matriz de nanotubos anodizados electroquímicamente, facilitando su interacción con el entorno biológico [38]. Las nanoestructuras porosas de NT ofrecen esta propiedad debido a su alta superficie funcional y actividad fotocatalítica. Su principal característica es su gran área superficial, el extremo abierto, la estructura tubular y de pared en capas [46].

Los NT suelen ser utilizados para el recubrimiento superficial de implantes, debido a que tienen estabilidad contra la desintegración y la hinchazón. Algunas investigaciones plantean su uso en un sistema de administración inteligente para controlar la liberación de fármacos, al utilizar el radical hidroxilo (OH) expuesto, que se genera en la superficie del titanatos [47].

El titanato en capas tiene similitud estructural con el dióxido de titanio, ambas compuestas de unidades octaédricas conectadas, comparten esquinas y bordes. La disposición espacial de los bloques de construcción de unidades octaédricas proporciona características atractivas al titanato, como gran capacidad de intercambio iónico, alta área superficial, superficie hidroxilada y capas flexibles. Sus polimorfos son estructuras lineales y flexibles 1D (tubos, cables o correas), láminas 2D y estructuras 3D jerárquicas [4].

### 1.3.3 Compósitos Quitosano-Titanatos

Actualmente se han implementado matrices orgánicas-inorgánicas con el fin de aprovechar la reactividad química específica entre ambos, además de la flexibilidad de los materiales poliméricos con una buena estabilidad mecánica y térmica de los materiales inorgánicos.

En estudios de Liu et Al. [46], eligieron el quitosano como matriz polimérica por su propiedad formadora de película, así como por los grupos reactivo amino e hidroxilo, que pueden facilitar la sorción preferencial y la diferenciación de moléculas de agua a través de las membranas. Ellos sugieren que al incorporar nanotubos de titanato por su naturaleza polar de alta hidrofiliidad además de su estructura tubular puede dotar a la membrana de quitosano características estructurales más favorables y rendimiento de separación.

En la investigación de Sallem et al., realizaron injertos de nanotubos de titanato y quitosano, utilizando enlaces electrostáticos (un paso) y covalentes (método paso a paso). Ellos muestran que la liberación de materia orgánica para el quitosano ligado covalentemente ocurre a una temperatura más alta en comparación con la electroestáticamente, con esta información, corroboran la unión química de la molécula en la superficie de NT en interacciones comparables a electrostáticas [48].

Otros estudios revelan que la adición de  $TiO_2$  incrementa la capacidad de adsorción del polímero [49]. Por lo que además sugiere su uso para otras aplicaciones como descontaminación de aguas residuales por su propiedad fotocatalítica [50].

## **2.5 Conceptos básicos**

### **2.5.1 Diseño *in silico***

El diseño *in silico* se basa en la implementación de métodos computacionales para realizar simulaciones de estructuras moleculares que faciliten el análisis de procesos químicos y/o físicos, utilizando algoritmos de simulación y predicción computacional, para su aplicación como modelos experimentales. Se le ha dado el nombre *in silico* haciendo alusión a la estructura interna de la computadora que está hecho en un 90% de materiales de sílice [51].

La descripción de este método comprende el comportamiento de las partículas más pequeñas que contiene la materia como son átomos, protones, electrones; pasando de lo clásico a lo cuántico con el fin de explicar los fenómenos que se presentan. Se clasifican según sea su uso (ver figura 2.5), implicaciones de la física ya sean clásicas o cuánticas, tiempo y costo, además su rango de aplicación que va desde el número de átomos que pueden considerar para realizar los cálculos.

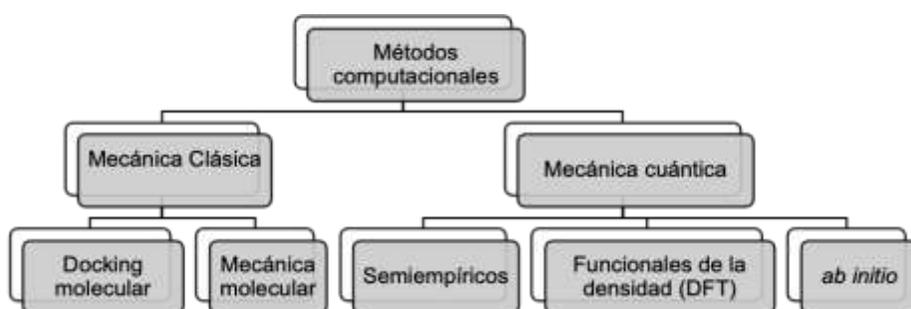


Figura 2.5 Métodos computacionales.

La ventaja de aplicación depende del recurso en potencia de la computadora que se utilice, exactitud o precisión, así como el tipo de moléculas o átomos que se estudie (orgánicas o inorgánicas). Por ejemplo, para estudiar moléculas orgánicas, su aplicación está limitada por el potencial del cálculo seleccionado además existen métodos más avanzados y complicados de usar, para el caso de los errores sistemáticos existen especies químicas que no son compatibles como los metales y a veces se requiere de datos experimentales [52].

Existe una interfaz que ayuda llevar a cabo la interacción entre usuario y ordenador como el UFF (Universal Forcefield), este es un campo de fuerza que interpreta la tabla periódica y se utiliza para calcular energías de un solo punto [53] para realizar optimizaciones de geometría principalmente aplicadas a la mecánica clásica.

#### **2.5.1.1 Método mecánico clásico**

Se basa principalmente en cálculos de mecánica clásica aplicados a la estructura molecular. No puede ser considerada como una aproximación exacta a la estructura química de una molécula, considera al oscilador, armónico o inarmónico para describir enlaces moleculares, aplicándolo en la distancia de enlaces y al ángulo de enlace. Contempla interacciones electrostáticas o de dipolo entre las cargas puntuales de los átomos que forman el enlace [54].

#### **2.5.1.2 Acoplamiento molecular (“docking” en inglés)**

Existen distintos receptores intracelulares conocidos por su importancia en mediar las respuestas toxicológicas. La toxicidad de los compuestos químicos se presenta al tener afinidad de unión hacia uno de estos receptores biológicos en específico. Esta unión resulta en una disfunción de procesos como biosíntesis, transducción de señales, transporte y metabolismo.

Estos estudios ayudan a determinar computacionalmente la conformación óptima y la orientación preferida por una molécula al unirse a uno de esos receptores y generar un complejo estable en el que la energía libre del sistema completo se ve minimizada. Este proceso tiene lugar al hacer interactuar los componentes principales conocidos como ligando (molécula pequeña que interactúa con un blanco molecular), blanco (molécula de gran tamaño) y pose (conformación estructural de una molécula (ligando), después de interactuar con el blanco).

El acoplamiento consiste en diseñar *in silico*, las estructuras de los ligando potenciales, seguido a ello, se realiza un muestreo conformacional para predeterminar conformaciones posibles de cada ligando. Los ligando deben centrarse en la cavidad conocida como “pocket”.

La unión a su receptor y diferentes movimientos de translación y rotación, son evaluados energéticamente, un “score” es asignado para cada una de ellas (ver figura 2.6), todo lo anterior con el fin de poder evaluar todas las posibilidades en función de las interacciones establecidas y su energía [29].

## DOCKING MOLECULAR

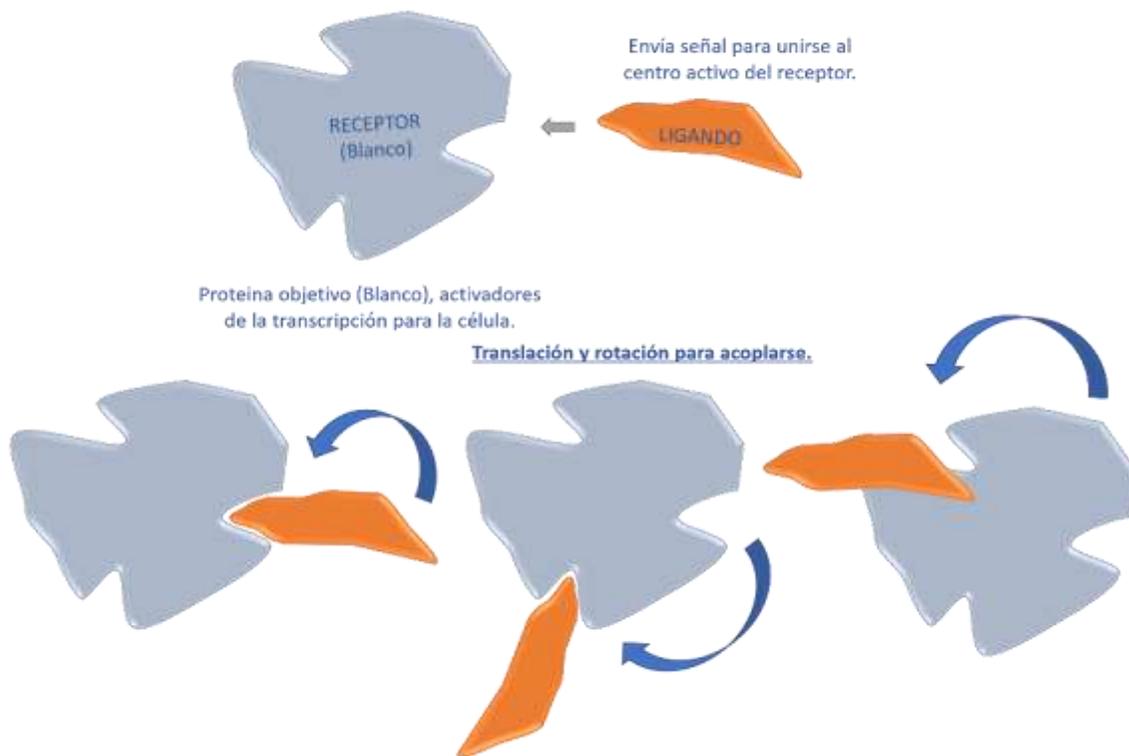


Figura 2.6 Representación esquemática de docking molecular.

### 2.5.1.3 Métodos mecánico cuántico

Se basan en la implementación de cálculos usando como base la solución de la ecuación de Schrödinger, calculando el valor energético de una molécula a partir de su estructura electrónica. Estos métodos visualizan las moléculas como un conjunto de átomos que se mantienen unidos por enlaces y expresa la energía molecular en términos de constantes de fuerzas de flexión y tensión de enlace [55]. Según los cálculos realizados se clasifican en métodos:

- *ab initio* (“desde el principio”): resuelven de modo aproximado la ecuación, para obtener la energía y función de onda electrónica del sistema de interés, se denominan “desde el principio” porque sólo utilizan información de las constantes físicas fundamentales.
- Semi-empíricos: emplean parámetros cuyos valores se ajustan para concordar con los datos experimentales de cálculos *ab initio*.
- Método de la teoría de funcionales de la densidad (DFT): calcula la densidad de probabilidad electrónica molecular y la energía electrónica molecular a partir de ella.

### 2.5.2 Teoría de funcionales de la densidad (DFT)

Las funciones que impliquen menos variables que la función de onda y que se puedan utilizar para calcular la energía y otras propiedades dan lugar a diferentes teoremas. Para realizar el cálculo es sustancial considerar la función de onda electrónica de una molécula de  $n$ -electrones. En donde se consideran 3 coordenadas espaciales ( $x$ ,  $y$ ,  $z$ ) y la coordenada correspondiente al espín. El operador hamiltoniano solamente contiene términos espaciales de uno y dos electrones, por ello se crean estos teoremas que parten de la densidad electrónica del estado fundamental de la molécula [56].

## 2.6 Síntesis hidrotérmal asistido por microondas

El método hidrotérmico se considera un enfoque sintético adecuado, ya que tiene varias ventajas, como: la temperatura de cristalización adecuada, menor daño al medio ambiente, controlar las condiciones de reacción, bajo consumo de energía y bajo costo. Se ha observado que la morfología puede ser influenciada por el precursor base utilizado en el proceso hidrotérmal y los solventes. La metodología consiste en someter a los precursores a temperatura y presión utilizando agua (o un disolvente en el método solvotérmal), para sobresaturar el material y crear condiciones que controlen la morfología. Los parámetros que se controlan son temperatura, solvente, pH [6].

La asistencia con microondas (MWA-H), reduce los tiempos de reacción debido a que utiliza mayor velocidad de reacción debido a las ondas electromagnéticas de alta frecuencia que tienen la capacidad de concentrar energía, disminuyendo el costo energético. Las moléculas dipolares tratan de orientarse o estar en fase con el campo electromagnético. Sin embargo, su movimiento es restringido por las fuerzas de resistencia generando calor [57] [58].

En esta síntesis se busca la modificación del material precursor, el cual debe ser mesoporoso con morfología tubular o tipo esfera, se espera obtener fases cristalinas homogéneas y que el quitosano recubra o se disperse homogéneamente en las nanopartículas resultantes al tratar hidro-térmicamente el  $\text{TiO}_2$ . Al terminar la síntesis se evacúan los restos de los precursores y solventes con lavados, secado, filtrado.

### 3. CAPITULO 2: DISEÑO, SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN.

La metodología se divide en dos etapas (ver figura 3.1), las cuales se llevaron a cabo simultáneamente.

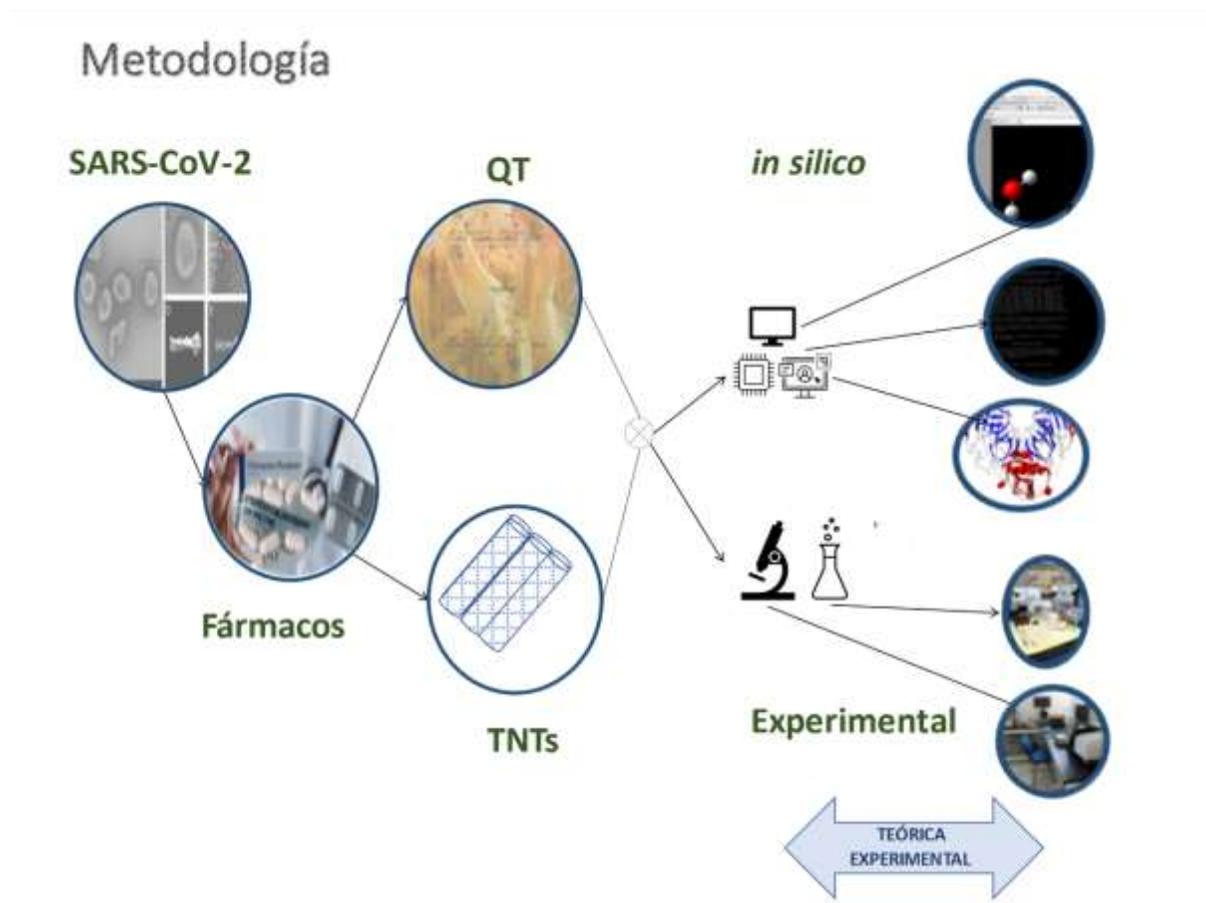


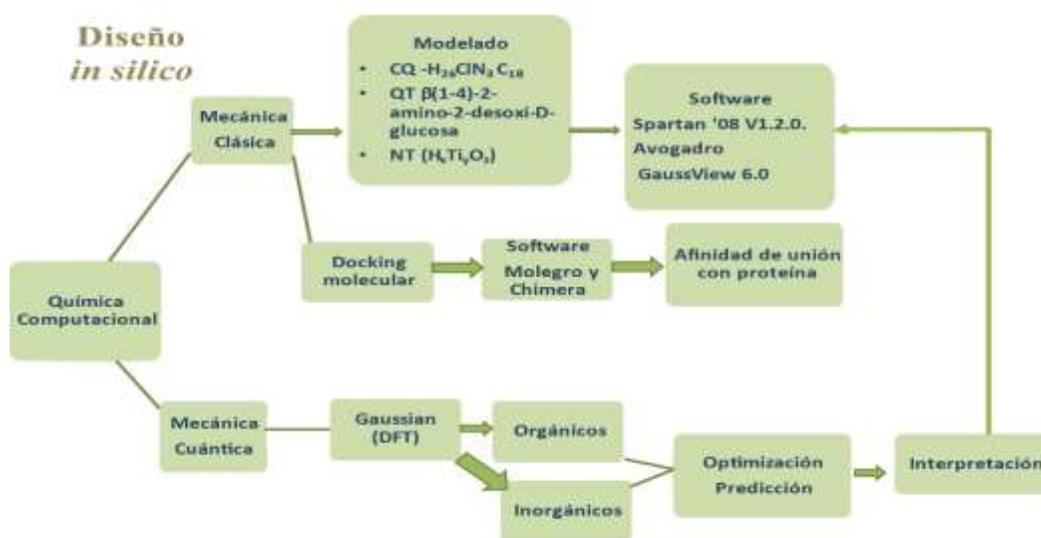
Figura 3.1 Representación esquemática de *docking* molecular.

### 3.1 Metodología *in silico*

Para el desarrollo del diseño *in silico*, en la tabla 3.1, se presenta la lista de software utilizados como recursos para implementar este proyecto. Los procesos que se realizaron se estructuran en la figura 3.2. Los materiales planteados QT, CQ y NT se considerarán como muestras en su calidad inicial. Los estudios de aproximación nos determinarán si es posible la conformación de moléculas como compuesto.

**Tabla 3.1 Lista de herramientas computacionales.**

<u>Software / Aplicación</u>	<u>R*</u>
Avogadro versión 1.2.0	[59]
Gauss View versión 6.0.16	[60]
Molegro Virtual Docker 5.0	[61]
Gaussian 09	[62]
Spartan 08 versión 1.2.0	[63]
Chimera 1.13	[64]



**Figura 3.2 Metodología para diseño *in silico***

Los procesos realizados fueron:

1. Modelado: Se modelaron las moléculas de los materiales planteados QT, CQ, y NT.
2. Optimización: Se optimizaron las moléculas para conocer su conformación y estructura más estable posible (el software considera ángulos y distancia de enlace posibles tomando como parámetro de evaluación la mínima energía).
3. Aproximación: Se colocaron las moléculas del compuesto planteado en un archivo con coordenadas cartesianas (. xyz) para que el software optimizara y realizara la predicción de la unión (se analizó su energía y enlaces de unión).
4. Interacción con la proteasa: Se hicieron correcciones de pH y solvente con software Chimera, posteriormente se realiza el acoplamiento de las moléculas en un sistema aislado (consideradas como ligandos) en donde inicialmente entrarán las moléculas por separado dejándolas como cofactores de la proteasa, después se realizará el acoplamiento del sistema (proteasa-cofactor) con las moléculas por separado.

El análisis implica conocer el comportamiento de inhibición según sea el orden de acomodo con la proteína.

En la tabla 3.2, se presenta el muestreo que se desarrolló, para el diseño y análisis computacional.

Para el análisis con la proteasa, se descargó del banco de datos la dina con el código PDB 6LU7 [65], correspondiente a SARS-CoV-2-M<sup>PRO</sup>.

**Tabla 3.2 Muestreo computacional**

Diseño in silico		
MOLÉCULA	PROCESO	RESULTADOS
CQ	Modelar y Optimizar	Interpretar resultados de frecuencias (IR), UV-Vis y orbitales moleculares.
QT		
NT	Optimizar y Aproximar	En <i>docking</i> molecular se requiere interpretar resultados obtenidos con el uso del software.
QT-NT		
QT-CQ-NT		
<i>Docking</i> molecular		
PROTEASA	COFACTOR	LIGANDO
6LU7	NO	CQ
		QT
		NT
	CQ	NT&QT
	QT	NT&CQ
	NT	CQ &QT

### **3.1.1 Optimización**

Se optimizaron las estructuras a nivel de DFT [64] [66], utilizando el software Gaussian (G09) [62], a través del funcional híbrido de aproximación de gradiente generalizado planteado por Truhlar et al. (M06-2x) [67] con una base de Pople con funciones de polarización y difusas (6-31+g (d, p)) [68]. Las frecuencias de todas las moléculas optimizadas se calcularon para verificar que fueran un mínimo en la superficie de energía (PES, por su acrónimo en inglés) y predecir los espectros IR.

### **3.1.2 Docking molecular**

Las coordenadas cartesianas de la proteasa objetivo SARS-CoV-2-M<sup>Pro</sup>, se obtuvieron del banco de datos de proteínas (código PDB: 6lu7) [65]. Cabe destacar que dicha estructura fue una de las primeras cristalizadas de la proteasa principal del virus SARS-CoV-2. Finalmente, se utilizó Chimera para añadir cargas, eliminar disolventes y corregir residuos de la estructura a analizar.

### **3.1.3 Chimera**

Se asignaron poblaciones a los átomos de las moléculas con el software chimera, siguiendo los siguientes pasos:

1. Exportar molécula previamente optimizada, al software en formato con extensión (. mol2).
2. Añadir cargas del menú Tools, seleccionar residuos estándar AMBERff99bsc0.
3. Guardar molécula cargada en formato mol2

### **3.1.4 Pasos del docking**

1. Abrir PDB en el software molegro, exportar ligando (molécula previamente cargada)

2. Seleccionar la opción preparación del menú de opciones previo a la exportación, modificar asignar cargas de siempre a nunca.
3. Para la preparación antes del *Docking*, es necesario realizar la detección de cavidades en Preparación>Detección de cavidades.
4. Se realiza el *Docking* molecular en la opción *Docking Wizard*
5. Se selecciona ligando>Elegir cavidad y asignar parámetros al score (Se seleccionó la cavidad 4 con volumen de 183.296), debido a que presenta aminoácidos con mayor diversidad.
6. Al darle en continuar se modifica la opción (energy threshold) la cual debe iniciar en 0.
7. En la siguiente ventana se asignan el número de poses que queremos conocer, dependiendo del tiempo de cálculo, para esta investigación se analizaron 3 poses y se eligió la mejor en eficiencia de ligando.
8. En la opción siguiente se selecciona la carpeta en donde se guardarán los archivos después del cálculo, es importante que esta carpeta sea única y exclusivamente para el *Docking* específico.
9. En la siguiente figura 3.3, se muestran la imagen del software y las opciones seleccionadas, por pasos. No se modificarán las ventanas que no se incluyan.

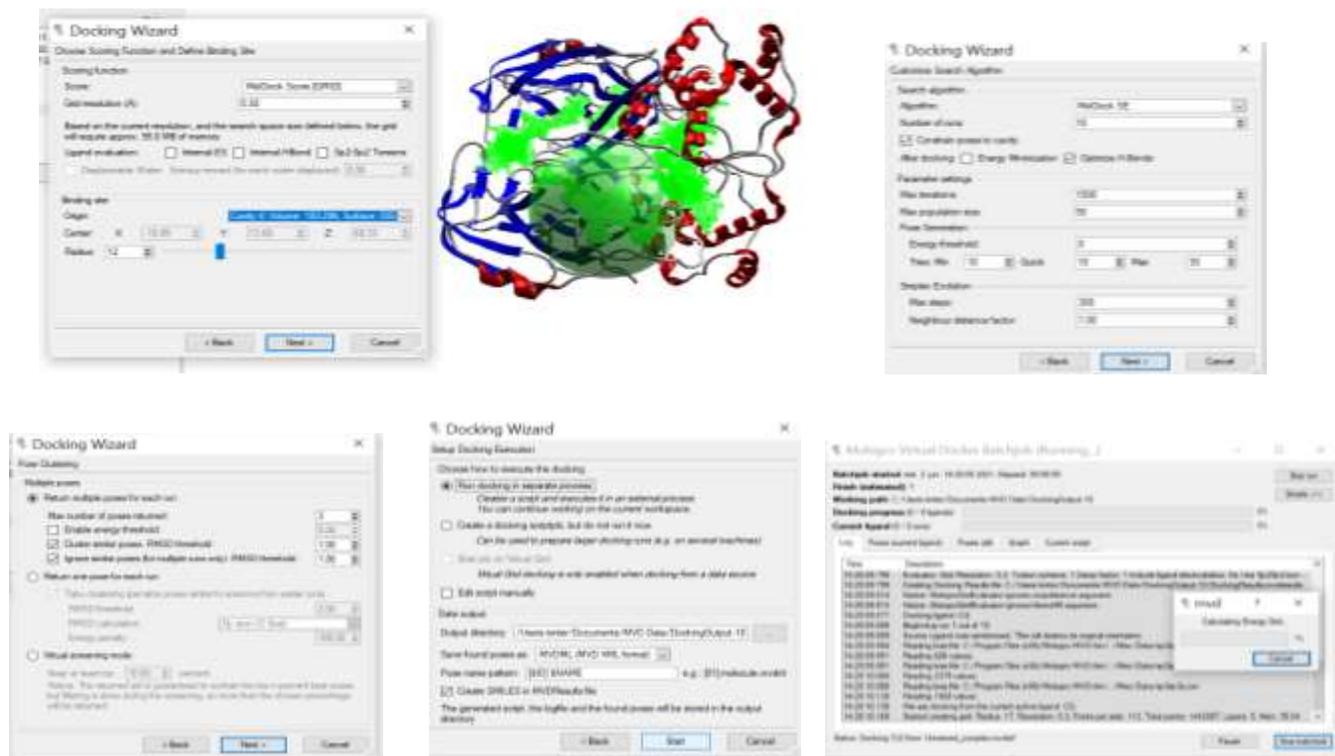


Figura 3.3 Docking molecular procedimiento para correr calculo.

### 3.2 Síntesis hidrotermal asistido por microondas

La síntesis experimental se llevó a cabo con el método Hidrotermal/Microondas, ya establecido por el grupo de investigación del Laboratorio de Nuevos Materiales Nanoestructurados y Catálisis Heterogénea (LANOCAT) y ampliamente desarrollado por otros investigadores. En la figura 3.4, se expone la metodología para la síntesis utilizando NaOH y N<sub>2</sub>H<sub>4</sub>, como disolventes.

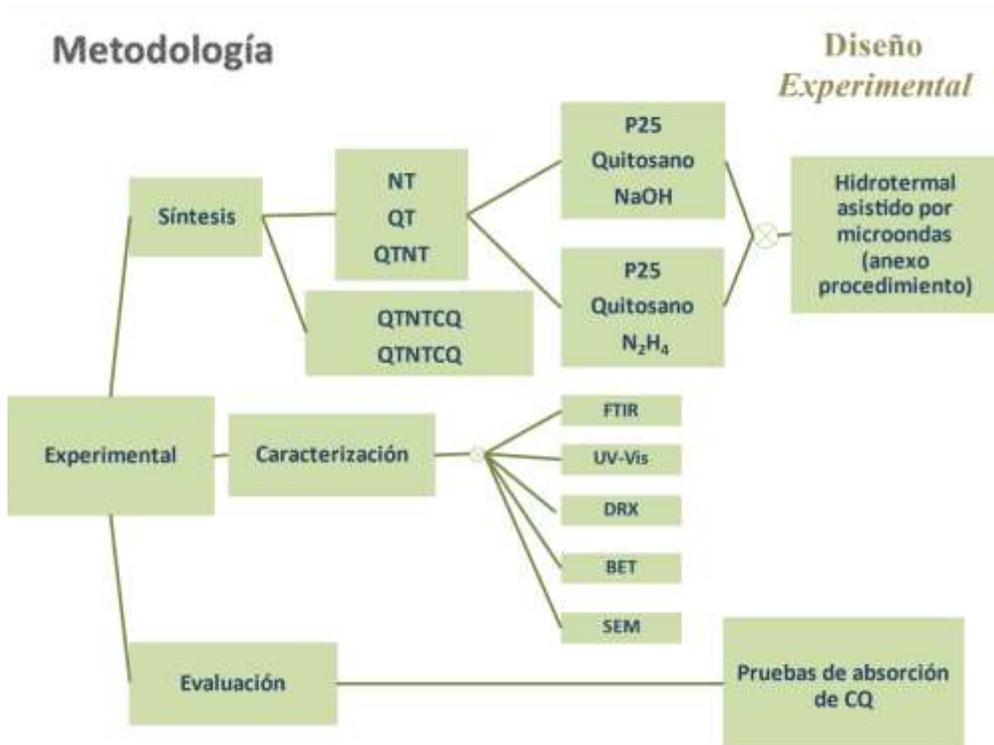


Figura 3.4 Metodología para diseño experimental.

La tabla 3.3, representa el muestreo que se desarrolló para la síntesis y caracterización de los materiales. El cual se estableció a partir de considerar la cantidad de QT con relación a la cantidad de NT presente 2:1 o 1:2 (QTNT o NTQT) en la muestra, además del tipo de solvente que se utilizó NaOH (Na) o hidracina (Hz). Para el desarrollo de la síntesis experimental se muestran los reactivos utilizados en la tabla 3.4.

**Tabla 3.3 Muestreo experimental**

SINTESIS	R(QT)	SOLVENTE	PROCESO
NT	1:1	N <sub>2</sub> H <sub>4</sub> - NaOH	-Síntesis hidrotermal asistido por microondas.
QT	1:1	N <sub>2</sub> H <sub>4</sub> - NaOH	
QTNT	2:1	N <sub>2</sub> H <sub>4</sub> - NaOH	-Interpretar resultados con FTIR, UV-Vis, SEM, DRX y BET.
NTQT	1:2	N <sub>2</sub> H <sub>4</sub> - NaOH	
Muestra		Evaluación	
QT-NTNa		Estudios de liberación de CQ	
NT-QTNa			
QT-NTHz			
NT-QTHz			

\*NT=P25, QT=Quitosano, CQ=Cloroquina, Hz=Hidracina y NaOH=Na.

### 3.4 Lista de materiales para síntesis hidrotermal.

Materiales	
Reactivo	Marca
P25 Degussa (Titanium (IV) oxide)	<b>Sigma-Aldrich</b>
Quitosano (bajo peso molecular)	<b>Sigma-Aldrich</b>
Hidróxido de sodio (Escamas)	<b>J.T. Baker</b>
Hidracina	<b>Sigma-Aldrich</b>
Agua desionizada	<b>IPICYT</b>
Chloroquine diphosphate salt	<b>Sigma-Aldrich</b>

El método consiste en colocar una suspensión de solvente/precursor en un reactor de microondas, la cual será sometida a condiciones de presión y temperatura. La figura 3.5, representa el procedimiento que se desarrolló para la síntesis de los materiales.

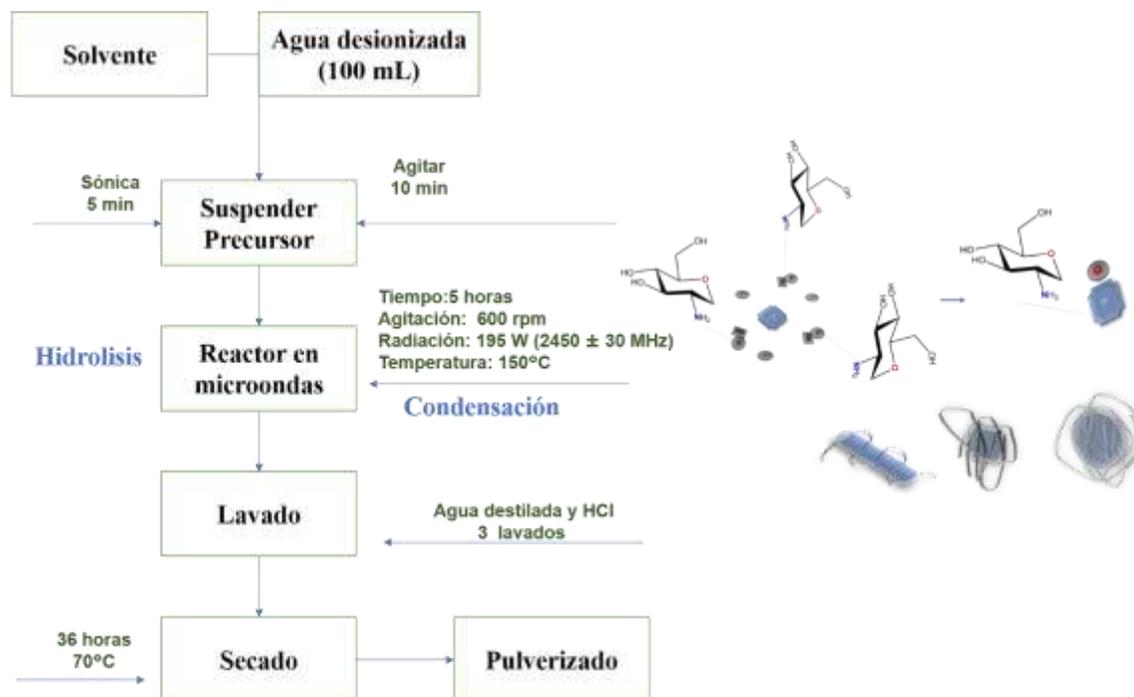


Figura 3.5 Síntesis hidrotermal asistido por microondas.

### **3.2.1 Procedimiento**

1. En 100 mL de solución básica a 10 M de NaOH en agitación magnética a 500 rpm. Se agrega el precursor, en una relación en peso de QT 1:1 o 2:1.
2. Se deja diluir en agitación magnética por 10 minutos. Para asegurar la dilución, la solución se somete a 5 minutos de baño ultrasónico.
3. En un vaso de teflón de 150mL se agrega la suspensión, se tapa y sella, con los componentes del reactor de microondas.
4. Se coloca el recipiente en microondas.
5. Las condiciones de síntesis son: 150°C, 600rpm, 195W por 5 horas.
6. Después de la síntesis se procede a neutralizar la solución a un pH 7, en donde se lavan los residuos de solvente y precursores que no intervinieron en la reacción, mediante la adición de HCl 1M.
7. Se realizan 3 lavados con agua destilada.
8. El secado se programa para un tiempo de 36 horas a 70°C.
9. Se pulveriza el material obtenido, sin hacer presión puntal, para evitar rotura en la estructura.

### **3.2.2 Caracterización**

Una de las etapas más importantes en el desarrollo de nuevos materiales es la caracterización de sus propiedades físicas y químicas. Por ello, a continuación, se describen brevemente las diferentes técnicas de caracterización utilizadas en la presente tesis.

#### **3.2.2.1 Espectroscopia Infrarroja (IR)**

La espectroscopia Infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) tiene su aplicación más inmediata en el análisis cualitativo y cuantitativo de los grupos funcionales presentes en el material.

La FTIR se fundamenta en que las moléculas tienen la posibilidad de rotar y vibrar a distintas frecuencias (modos vibracionales) cuando éstas son estimuladas con una fuente de energía, y dependen de las moléculas vecinas para establecer el modo en que se estimulan. Una molécula puede absorber la energía de fotones en el intervalo energético del infrarrojo, en el caso en que exista una diferencia en el momento dipolar de la molécula mientras ocurre un movimiento rotacional y cuando la frecuencia asociada con la radiación aumente con el movimiento.

El manual del equipo FTIR, en su modo ATR (Attenuated Total Reflectance), presenta una profundidad de detección de 1- 2  $\mu\text{m}$ . Una de las ventajas de ATR es que permite el análisis de muestras sólidas y líquidas prácticamente sin tener que realizar un tratamiento previo de las mismas.

La técnica se realizó en el espectrómetro IR-Tracer-100 Shimadzu con punta de diamante. Las condiciones de análisis son en un rango de 400-2000 y 2000-4000  $\text{cm}^{-1}$ , No. Escaneos 50 y una resolución de barrido en 4  $\text{cm}^{-1}$ .

### **3.2.2.2 Difracción de rayos X (XRD)**

La difracción de rayos X (XRD) proporciona información sobre estructuras, fases, orientaciones de cristal (textura) preferidas y otros parámetros estructurales, como el tamaño de grano promedio, la cristalinidad, la deformación y los defectos de los cristales. Los picos de difracción de rayos X se producen por la interferencia constructiva de un haz monocromático de rayos X dispersos en ángulos específicos de cada conjunto de planos de celosía en una muestra. Las intensidades máximas están determinadas por la distribución de los átomos dentro de la red. En consecuencia, el patrón de difracción de rayos X es la huella digital de los arreglos atómicos periódicos en un material dado.

El análisis se realizó con equipo RIGAKU- SmartLab, en un rango en  $2\theta$  de 5 a 90. La radiación de la lámpara de cobre es de  $\lambda=1.5448$ .

### **3.2.2.3 Microscopía electrónica de barrido (SEM)**

Una de las principales ventajas al utilizar esta técnica es determinar la morfología de la muestra. Según sea el carácter conductor de las muestras a analizar, éstas deberán ser recubiertas con un material conductor, o no, para aumentar la cantidad de electrones que lleguen a cualquiera de los detectores y con ello mejorar la imagen obtenida.

El análisis morfológico se llevó a cabo con el Microscopio Electrónico de Barrido Dual Beam (FIB/SEM) FEI-Helios Nanolab 600, en alto vacío y Microscopio Electrónico de Barrido Ambiental ESEM FEI-QUANTA 200 a bajo vacío con detectores de electrones secundarios (SE): y retrodispersados (BSE).

### **3.2.2.4 Espectrometría de energía dispersiva de Rayos X (EDS)**

Análisis químico puntual, en donde se localizan los elementos que se encuentran en la superficie del material, mediante una energía dispersiva de Rayos X (EDS): en esta técnica se detecta cualitativa y semi-cuantitativamente, los elementos químicos presentes en la superficie de la muestra.

### **3.2.2.5 Espectroscopia ultravioleta-visible (UV-Vis)**

La espectroscopia UV-Vis se basa en el análisis de la cantidad de radiación electromagnética (en el rango de longitudes de onda del espectro ultravioleta y visible) que puede absorber o transmitir una muestra en función de la cantidad de sustancia presente. Involucra la adsorción de radiación ultravioleta-visible por una molécula, causando la promoción de un electrón de un estado basal a un estado excitado, liberándose el exceso de energía en forma de calor, la longitud de onda comprende entre 190 y 800 nm.

Se utilizó el equipo UV-VIS-NIR Agilent Cary 5000, en un rango de 200-400 para las pruebas de adsorción. Se realiza una línea base con la solución buffer en donde se suspende el fármaco.

### 3.2.2.6 Medición de Porosidad y Área de Superficie (Método BET)

Para la determinación de áreas superficiales y distribución de tamaños de poros de sólidos, se utilizó el método BET. Las isothermas obtenidas es una representación del volumen de nitrógeno fisisorbido en el sólido respecto a la presión relativa de nitrógeno. Los sólidos se pueden clasificar en función del tipo de isothermas que presenten.

Se determinó el área superficial y el volumen de poro en equipo de fisisorción Quantachrome modelo NOVA. El tiempo de desgasificación para todas las muestras fue de 18 horas a 150°C. Se analizaron 30 puntos en un rango de .005-.99 en adsorción y .99 a.005 en desorción.

En la tabla 3.3, se presentan los equipos utilizados para la caracterización.

**Tabla 3.3 Equipos utilizados**

<b>Nombre</b>	<b>Modelo</b>	<b>Marca</b>	<b>Aplicación</b>
<b>SEM</b>	QUANTA 250&Helios Nanolab 600	FEI	Caracterización morfológica
<b>SEM</b>	HELIOS 600 NANOLAB	FIB DUAL BEAM	Caracterización morfológica
<b>DRX</b>	RIGAKU	SmartLab	Evaluación de huella dactilar
<b>FTIR</b>	IR-Tracer-100	Shimadzu	Identificar materiales
<b>BET</b>	NOVA	Quantachrome	Área superficial y porosidad
<b>UV-Vis</b>	Cary 5000	UV-VIS-NIR Agilent	Absorbancia y transmitancia

### 3.3 Pruebas de adsorción

Para el análisis de adsorción de CQ, se realizó una solución madre con tampón de fosfato de potasio (PBS) con pH 7.4 a 250 ppm de CQ. La solución de búfer de fosfato(B), se utilizó como blanco, para correr las mediciones espectrofotométricas de CQ con tampón (B-CQ).

Se realiza una curva de calibración por diluciones, para ello se diluyó en relación 1:1 de B-CQ y B, para 2mL. Este proceso se realizó 10 veces. Se obtuvo la curva que se muestra en la figura 3.6.

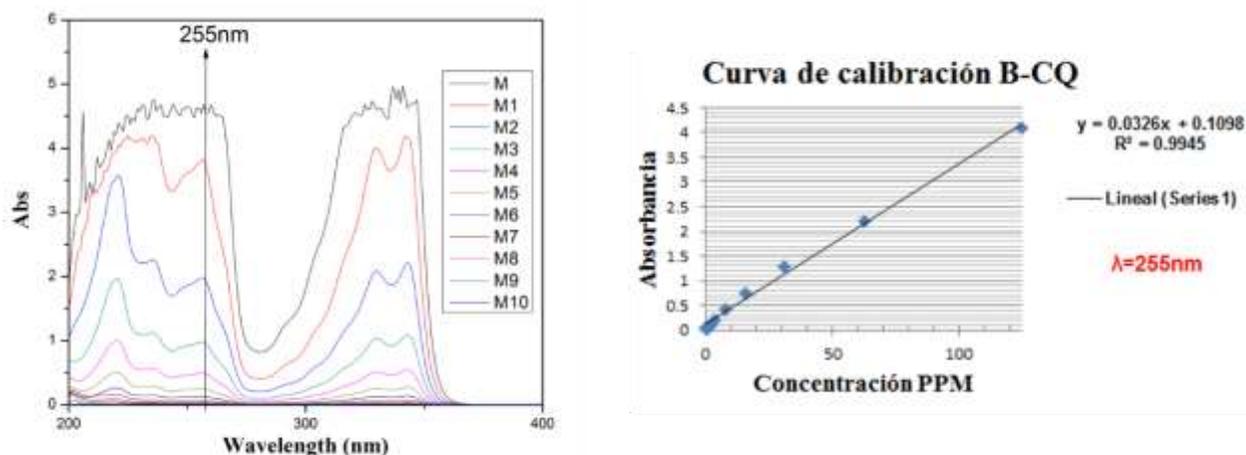


Figura 3.6 Curva de calibración de la adsorbancia a 255 nm de la concentración de cloroquina.

Para la adsorción de CQ, el compósito se disuelve en la solución PBS de CQ a 150 ppm a una concentración de 2mg/L. Dicha solución se agita en vortex durante 5min y se deja reposar 48 horas.

Después de 48 horas la solución se coloca bajo baño ultrasónico durante 30 min y se toma una alícuota de 4mL, la cual se centrifuga a 12,000rpm durante 5 min, se realizan 3 lavados con PBS para eliminar la CQ superficial y se suspenden en PBS para análisis de liberación.

Después de la adsorción se centrifuga y el primer sobrenadante, se analiza por UV-Vis a una longitud de onda de 255 nm para determinar la concentración de CQ adsorbida en comparación con la curva de calibración. Por otra parte, el compósito recuperado se suspende en PBS-EtOH1:1,30 minutos después se centrifugan a 12000 rpm durante 5 min y el sobrenadante se analiza en las mismas condiciones. Se hace muestreo cada 30 min por 2 horas.

# CAPITULO 3: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

## 4.1 *In silico*

### 4.1.2 Optimización y energía libre de Gibbs

Las moléculas optimizadas resultaron ser mínimos en la superficie de energía potencial (PES, por su acrónimo en inglés), lo cual se corrobora con la ausencia de frecuencias imaginarias. Además, se evaluó la energía libre de Gibbs de adsorción del sistema CQ-QT utilizando la ecuación (2), y el valor obtenido fue de -93,57 kcal/mol, lo cual demuestra que puede formarse dicho compuesto, mediante un proceso exérgico. Finalmente, las moléculas optimizadas se representan en la Figura 4.1 y 4.2.

$$\Delta\Delta G_{rx} = (\Delta G_{CQ-QT}) - (\Delta G_{QT} + \Delta G_{CQ}) \quad (2)$$

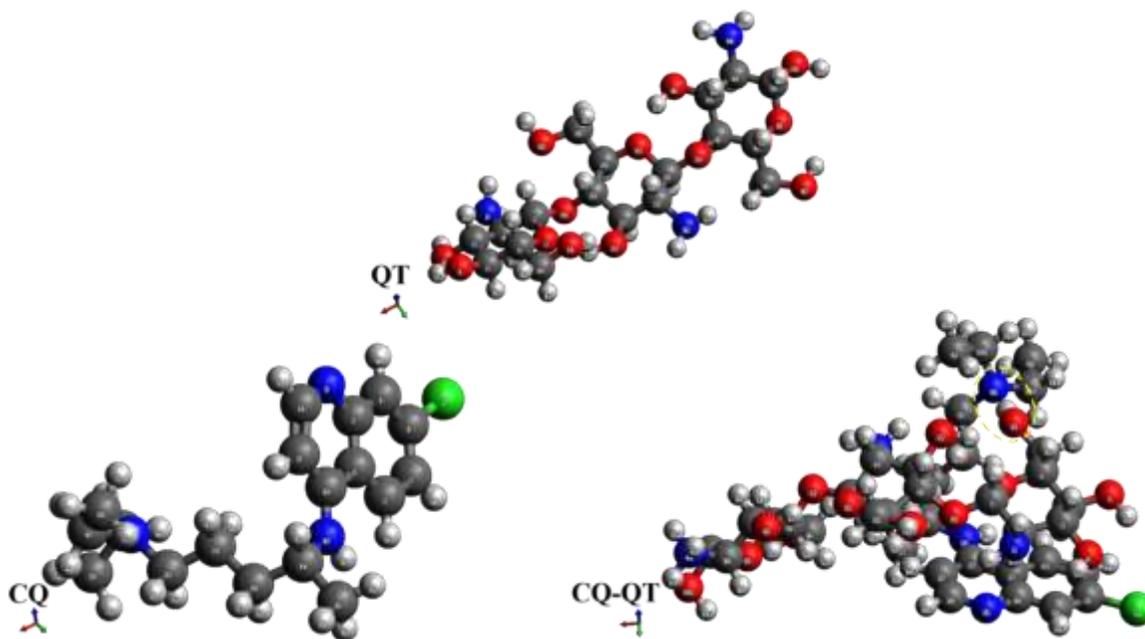


Figura 4.1 Moléculas optimizadas QT, CQ, CQ-QT.

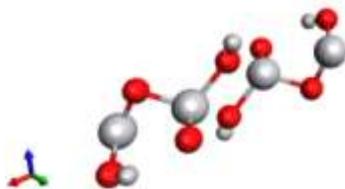


Figura 4.2 Moléculas optimizadas de NT.

### 4.1.3 Orbitales moleculares

Con las estructuras optimizadas, el orbital molecular ocupado de más energía (HOMO) y orbital molecular no ocupado de más baja energía (LUMO) fueron analizados y representados en la Figura 4.3; se confirma la superposición entre el orbital molecular del CQ y QT, corroborando la adsorción del fármaco.

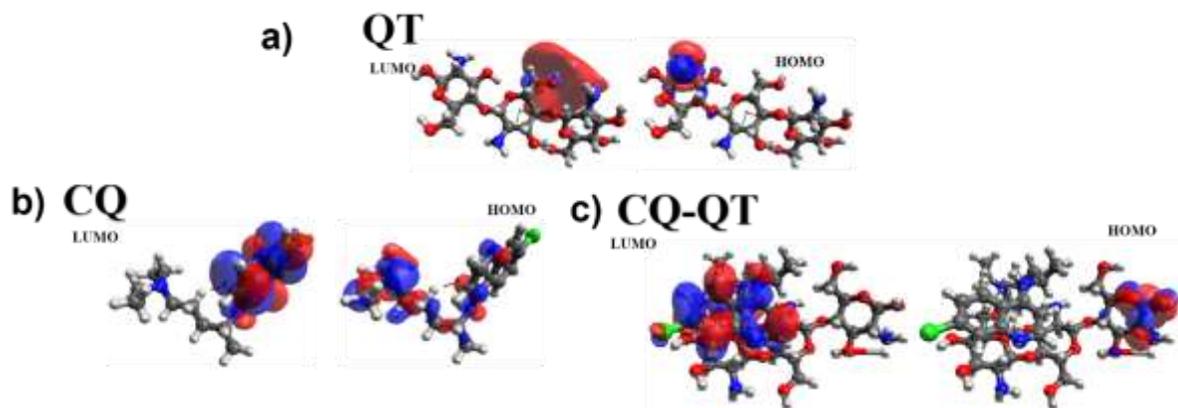


Figura 4.3 Orbitales moleculares QT, CQ, CQ-QT.

#### 4.1.4 Espectros FTIR experimentales y teóricos

Los datos IR pueden corroborar los enlaces formados. La Figura 4.4 muestra los espectros FTIR experimentales y teóricos (Figura 4.4 A) y las vibraciones específicas de CQ y su compuesto formado. La Figura 4.4 B muestra los espectros IR de 400 a 2000  $\text{cm}^{-1}$ , donde se exhiben bandas de los principales grupos funcionales de QT y CQ, además de las bandas formadas cuando QT interactúa con CQ.

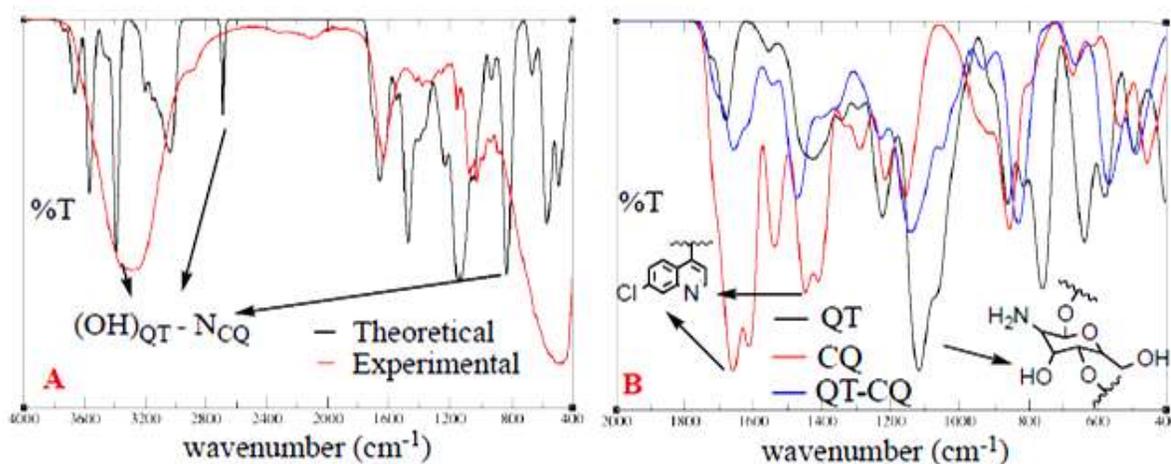


Figura 4.4 espectros IR para QT, CQ y QT-CQ compuesto. A) Espectros FTIR Teórico -Experimental, B) Espectros IR teóricos QT, CQ y QT-CQ.

Se aprecian bandas que representan las vibraciones de interacción entre QT y CQ, en 2724.86, 3392.39, y 833.50  $\text{cm}^{-1}$ . Estas vibraciones corresponden a la interacción entre el hidroxilo expuesto de QT y el radical amino de CQ, formando la interacción  $\text{OH}-\text{NH}_2$ . Las diferencias entre los espectros teórico-experimental se manifiestan debido a que, los análisis experimentales se hacen en solución acuosa, habiendo electrolitos y otros compuestos secundarios, caso contrario en el modelo teórico donde la interacción se plantea sin ningún otro componente. El cambio en las bandas de transmitancia es un efecto colateral de las soluciones acuosas.

Para comprender el efecto del agua en el compuesto QT-CQ, en la figura 4.5 se observan espectros de las muestras inmersas en agua en un rango de análisis de 2500 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ . Con este análisis se explica la diferencia entre la banda generada debido a la vibración de las moléculas de agua y la banda debido a la interacción entre QT y CQ.

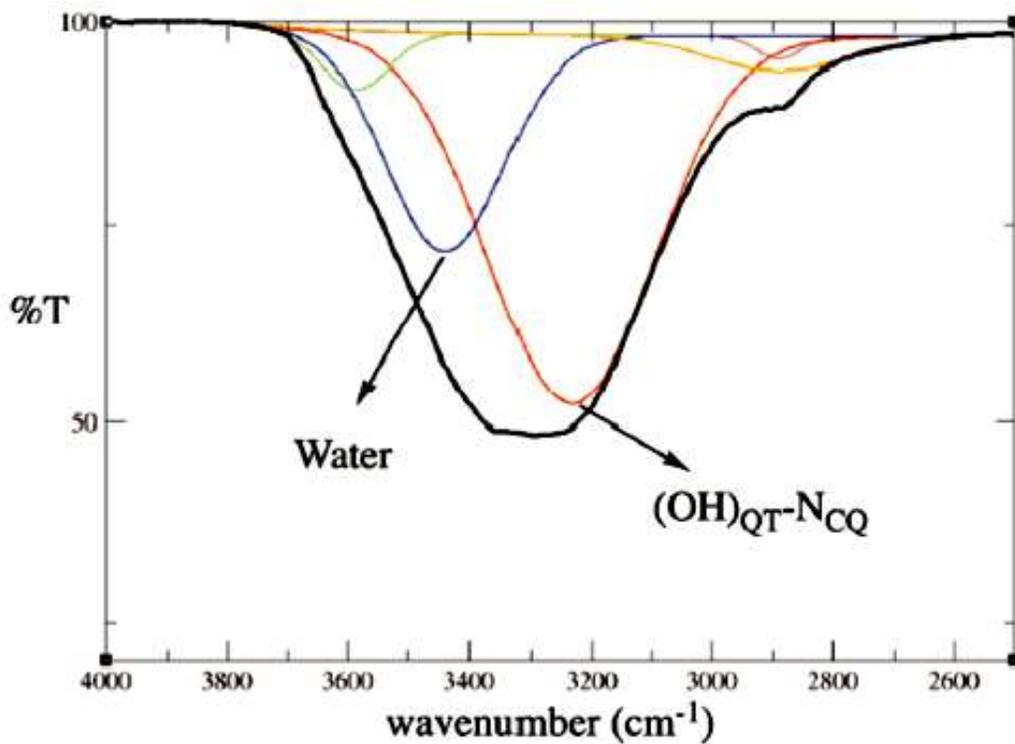


Figura 4.5 espectros experimentales FTIR en agua para QT-CQ (después de 24 horas de la adsorción)

En la figura 4.6, se muestran las vibraciones teóricas, correspondientes a los átomos que interactúan en una molécula de NT, QT y NT-QT. Estas señales se utilizan para la interpretación de los resultados experimentales.

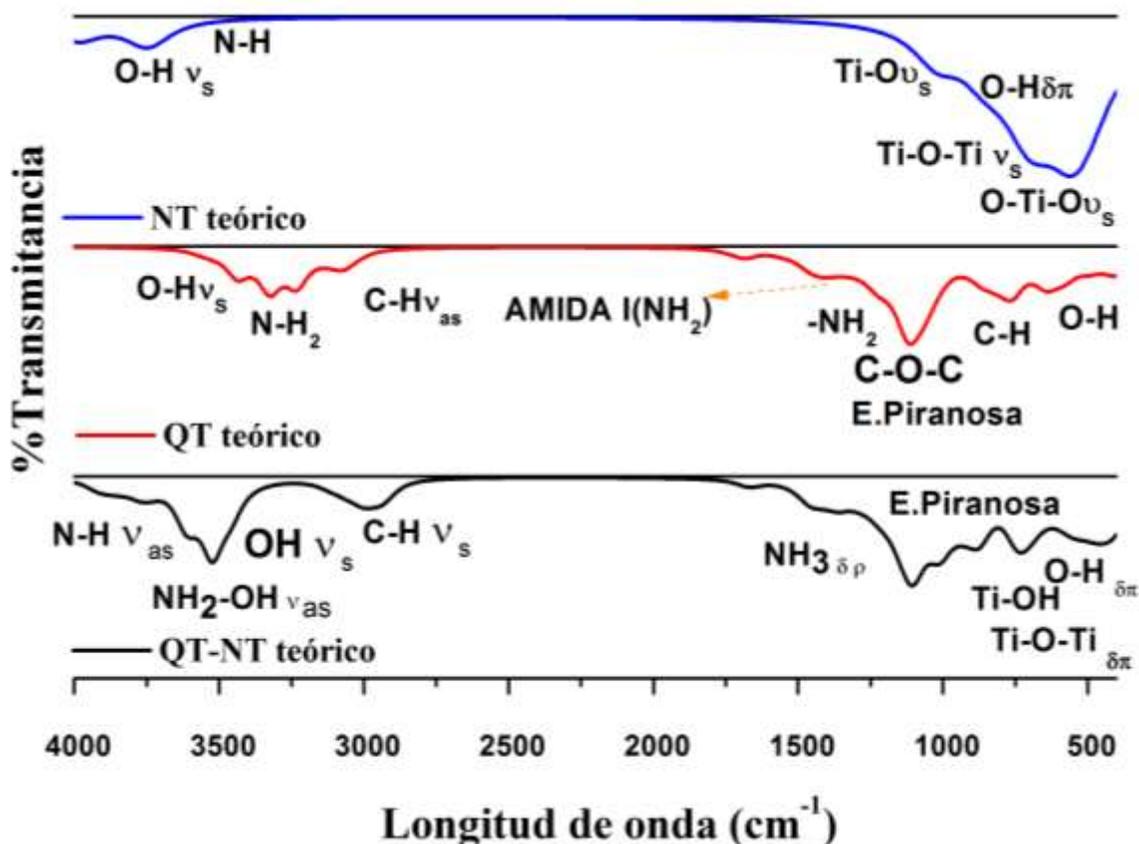


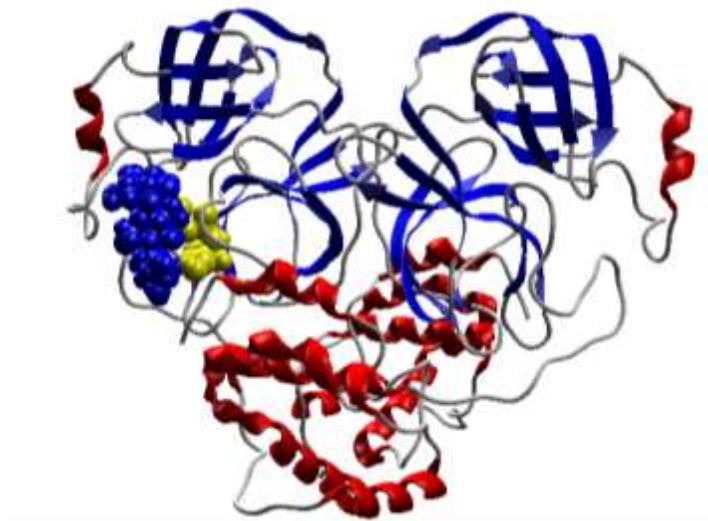
Figura 4.6 Espectro experimentales NT,QT y QT-NT.

#### 4.1.5 Ensayo de acoplamiento molecular

Las estructuras optimizadas de las moléculas estudiadas (QT, CQ, NT, así como sus compuestos) son considerados como ligandos para realizar un ensayo de acoplamiento molecular *in silico* con la proteasa principal del SARS-CoV-2, como tentativo tratamiento para la COVID-19. Los ligandos y los cofactores se trataron como se especifica en la sección de métodos computacionales para la evaluación de las formas de administrar CQ en la diana molecular. En primer lugar, QT se acopló a la SARS-CoV-2-M<sup>pro</sup>, seguido por el acoplamiento de CQ en este sistema; en otras palabras, una vez que QT se acopla al objetivo, se considera

como un cofactor de la proteína, ver Figura 4.7. La segunda forma fue invertir el proceso de la siguiente manera: primero, CQ se acopló a la diana, luego se considera como un cofactor de la proteína, y finalmente, QT se acopla al sistema CQ-proteína.

Este proceso se hizo para conocer las posibles combinaciones de las 3 moléculas estudiadas, por lo que, con el método explicado anteriormente se realizan las combinaciones correspondientes, además se ha añadido a la comparación QT, CQ, y NT libres. La Tabla 4.1, muestra los resultados de todas las conformaciones posibles.



**Figura 4.7 Acoplamiento molecular de CQ y en SARS-CoV-2<sup>Mpro</sup>, considerando QT como cofactor (color azul), y ligando NT(color amarillo).**

Analizando las energías que promueven el compuesto QT-CQ basada en la LE (Eficiencia de ligando) demuestran que CQ es el ligando con eficiencia más alta (-5,994 kcal/mol) en comparación de la interacción QT-CQ (-5,826 kcal/mol). Cuando se estudia solo la interacción de NT con la proteasa se puede apreciar que su eficiencia (-6.096 kcal/mol) es aún mayor que de CQ, por lo que incrementa sus propiedades como cofactor. Nótese que incrementa la eficiencia de la interacción cuando ingresa primero como cofactor de CQ o QT, para CQ

incrementa su eficiencia en (-0.921 kcal/mol) y para QT (-0.040 kcal/mol). A pesar de presentar influencia en el incremento de la eficiencia de CQ (-6.915 kcal/mol) y QT (-4.057 kcal/mol), cuando se completa el sistema NTCQ-QT o NTQT-CQ, la eficiencia (-3.367 y -3.932 kcal/mol) disminuye drásticamente casi en un 50%, tomando en cuenta la LE de NT por sí solo.

Se observan mejores beneficios cuando en la combinación, QT entra primero como cofactor y CQ o NT como ligandos. En el caso de CQ, modifica su eficiencia en un porcentaje relativamente bajo y en NT la incrementa en -2.155 kcal/mol. La influencia de NT como vector de unión entre QT y CQ, se aprecia al incrementar la eficiencia del fármaco en -1.118 kcal/mol.

**Tabla 4.1 Ligando-diana energías para las moléculas estudiadas en kcal/mol**

LIGANDO	VDW	Electro	Energy	H Bond	LE
CQ	-33.387	-0.318	-127.048	-2.747	-5.994
QT	-20.673	1.743	-141.177	-17.712	-4.017
NT	-0.971	-5.672	-73.158	-10.572	-6.096
<b>cofactor NT</b>					
CQ	75.370	0.252	-152.138	0.000	-6.915
<b>cofactor NT</b>					
QT	74.872	-0.208	-137.971	-11.971	-4.057
<b>cofactor NT-CQ</b>					
QT	88.178	0.000	-114.500	-15.544	-3.367
<b>cofactor NT-QT</b>					
CQ	34.083	-1.502	-133.69	-5.372	-3.932
<b>cofactor QT</b>					
NT	-1.009	-0.122	-99.016	-11.916	-8.251
<b>cofactor QT</b>					
CQ	-4.025	-0.399	-114.535	-1.208	-5.826
<b>cofactor QT-NT</b>					
CQ	60.717	-0.160	-156.461	-2.500	-7.111
<b>cofactor QT-CQ</b>					

<b>NT</b>	-0.589	0.000	-69.760	-8.867	-5.813
<b>cofactor CQ</b>					
<b>QT</b>	180.210	-0.172	-60.460	-11.266	-2.356
<b>cofactor CQ-QT</b>					
<b>NT</b>	-0.608	-3.978	-77.050	-9.223	-6.420
<b>cofactor CQ</b>					
<b>NT</b>	-0.591	-1.366	-59.479	-11.621	-4.956
<b>cofactor CQ-NT</b>					
<b>QT</b>	78.149	0.973	-116.718	-15.196	-3.432

\*E es el ligando-objetivo de la energía de interacción total, H-bond representa las interacciones del puente de hidrógeno, Electro se refiere a las interacciones electrostáticas, VdW describe las interacciones de Van der Waals y LE es la energía de interacción por átomo ( $LE = E/\#$  átomos pesados, cuando los átomos pesados son cualquier átomo excepto hidrógeno).

La influencia de las interacciones electrostáticas y de puente de hidrógeno se pueden apreciar en la figura 4.8. Se muestra las interacciones (figura 4.8a) propias de CQ con la proteasa, así mismo se exhibe la interacción de QT y NT como cofactores de la proteasa (figura 4.8 b) formando la combinación correspondiente al conformado QT-NT>CQ con una eficiencia del ligando de -7.111 kcal/mol. Las interacciones electrostáticas y de puente de hidrógeno, se incrementan al interaccionar CQ y NT (figura 4.8 c) con la proteasa, logrando una eficiencia de -8.251 kcal/mol. Esta conformación es incluso mejor que la interacción con CQ.

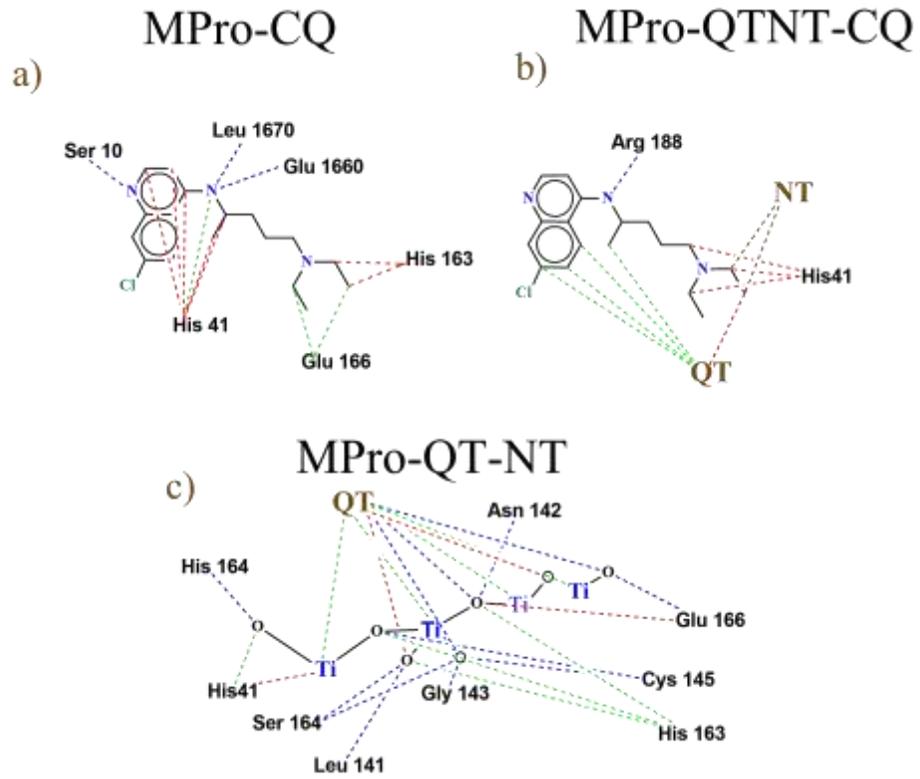


Figura 4.8 Mapa de proteína ligando, a) MPro-CQ, b) MPro-QTNT-CQ y c) Mpro-QT-NT

## 4.2 Experimental

### 4.2.1 Difracción de rayos X (DRX)

Las fases cristalinas de los materiales sintetizados fueron evaluadas por DRX. Los resultados obtenidos se grafican como un difractograma en el que se consideran las fases cristalinas existentes. La intensidad de los diferentes planos se grafica en función del ángulo  $2\theta$  mediante un proceso de normalización de [0, 1] para comparar con tarjetas cristalográficas.

En las figuras 4.9 y 4.10, se muestran patrones de difracción para los materiales sintetizados con NaOH y  $N_2H_4$ . Se indexaron con las tarjetas cristalográficas correspondientes a fases rutilo [69],  $H_2TiO_4$  [70],  $H_2TiO_7$  [71] y quitosano [72].

En la difracción (figura 4.9 a), se muestran las señales de la muestra 2:1 de QT-NTNa. Se observa la difracción correspondiente a la fase semi-amorfa de QT y en los picos en  $2\theta$  (9.92, 28.19, 35.02 y 38.61), correspondientes a la fase cristalina de NT (figura 4.9 b). Esta estructura ya fue obtenida por Guanxiao Liu et al. [46], quienes reportaron señales en  $2\theta$  (9.75, 24.44, 28.03, 48.52, 34.34 y 38.95), que corresponden a la fase cristalina ortorrómbica de titanato con forma de nanotubo. En el compuesto NT-QTNa (figura 4.9 c) se observa una disminución en el plano (110) y un aumento en el plano (020), esto sugiere un crecimiento preferencial en esa dirección del plano.

Para QT (figura 4.9 y 4.10 d), las señales correspondientes a 10.0 y 20.1 en  $2\theta$ , corresponden a la difracción de los planos (020) y (110). Estas señales en  $2\theta$  ya han sido reportadas [71] [73]. Para conocer el grado de des-acetilación a partir de quitina, el grupo J.G. Monter-Miranda et al. [74], estudia las difracciones de quitina comercial y quitosano, en donde concluyen que, para diferenciar el tipo de material, además de la reducción de la intensidad de estas señales se muestra la ausencia de las señales en  $2\theta$  ( $13^\circ$ ,  $23^\circ$ ,  $26.3^\circ$  y  $38.7^\circ$ ) correspondientes a la estructura de quitina. Los patrones correspondientes a  $2\theta = 9.1^\circ$ ,  $19.3^\circ$  y  $23^\circ$  forman una estructura ortorrómbica con los planos (020), (110) y (101), en similitud con NT.

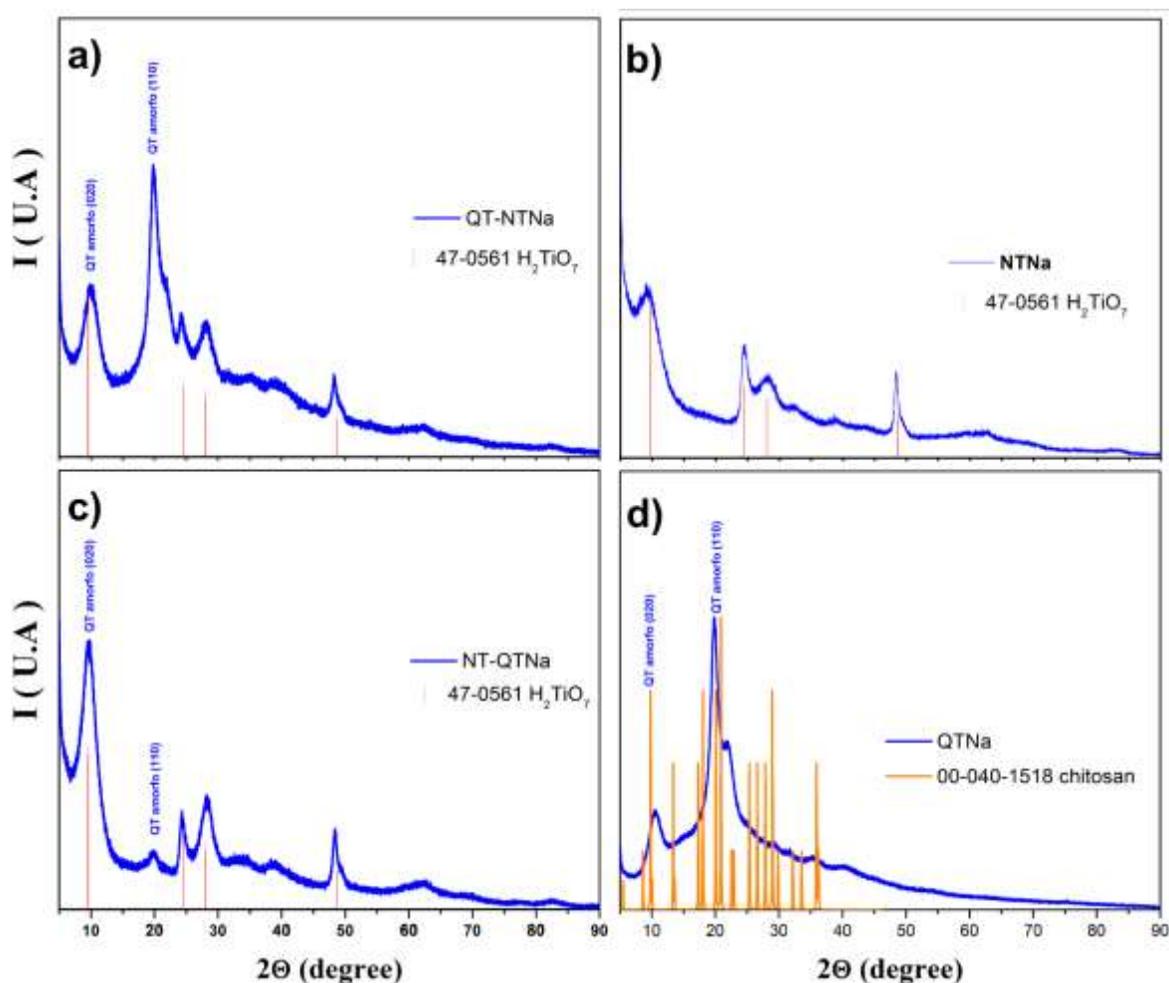


Figura 4.9 DRX de materiales sintetizados con NaOH. a) Compósito QT-NTNa, b) NTNa, c) Compósito NT-QTNa y d) QTNa

Los materiales sintetizados con hidracina presentan una difracción consistente con las tarjetas cristalográficas indexadas. En el compuesto QT-NTHz (figura 4.10a) al igual que NTHz (figura 4.10b) se expresa la difracción de ácido titánico  $H_2TiO_3$  y la fase rutilo, además se exhibe la presencia de la fase semi amorfa de quitosano. En el compuesto NT-QTHz (figura 4.10c) se observa que, la intensidad de los planos correspondientes a (020) y (100) es menor.

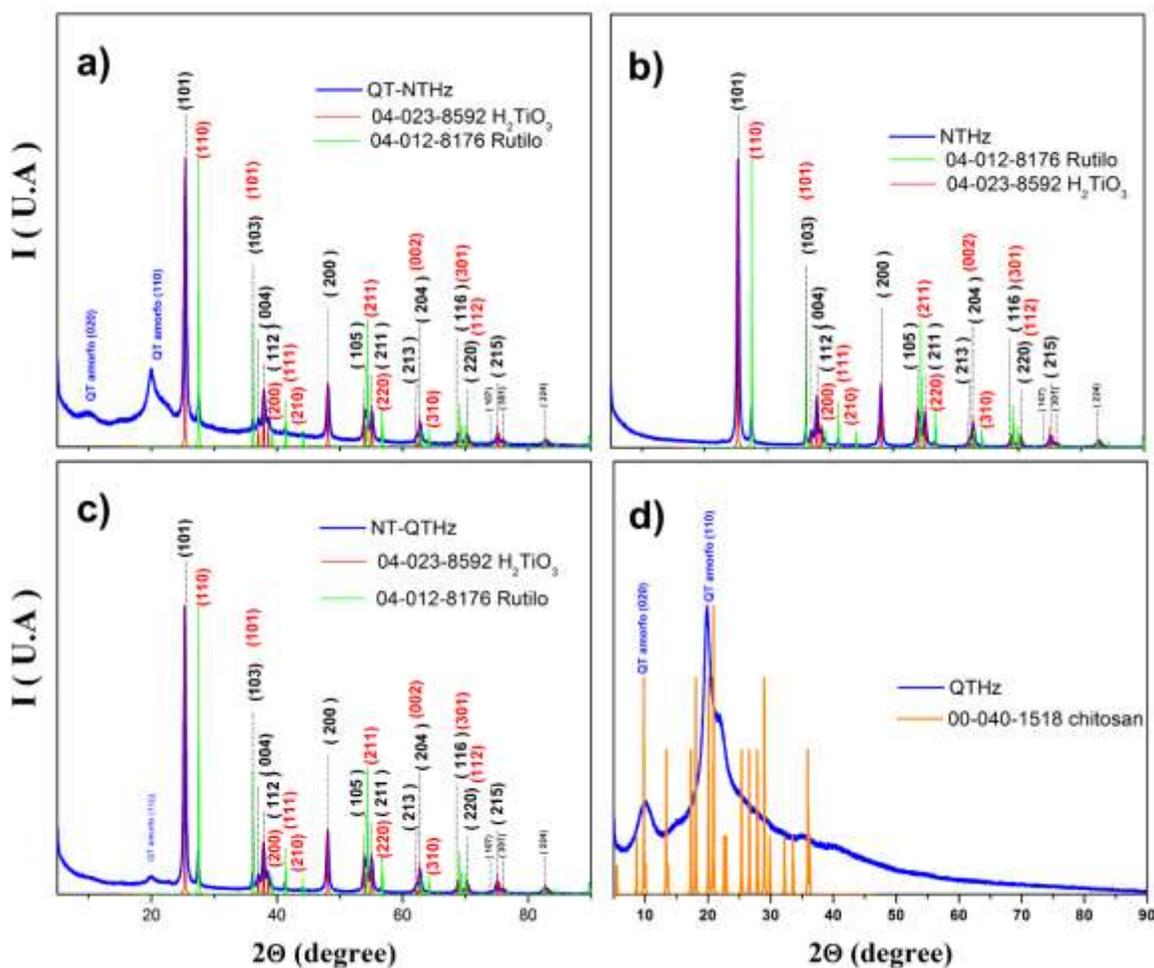


Figura 4.10 DRX de materiales sintetizados con  $N_2H_4$ . a) Compósito QT-NTHz, b) NTHz, c) Compósito NT-QTHz y d) QTHz

Con el análisis anterior se determina que el solvente NaOH produce nanotubos, con fase principal de titanato, se aprecia la estructura semi- amorfa de QT en la

posición de los planos correspondientes a la estructura ortorrómbica de NT. Para hidracina se tiene principalmente titania con fase notoria de rutilo.

#### 4.2.2 Microscopia electrónica de barrido (SEM)

La caracterización con SEM permite estudiar la morfología de los materiales obtenidos. Todos los materiales se sintetizaron en las mismas condiciones de temperatura y presión en microondas. La variante es el uso de solvente con pH básico de NaOH o  $N_2H_4$ .

La morfología de la síntesis de QT se puede apreciar en la figura 4.11. Se muestran imágenes SEM en magnificación de 10 000x en una escala de 5  $\mu m$  para CQNa (figura 4.11 a) y CQHz (figura 4.11 b) correspondientes a la síntesis con NaOH y  $N_2H_4$ , respectivamente. Los análisis EDS, nos revelan información semi cuantitativa de las muestras, en la síntesis con hidracina se observa un porcentaje en peso de C:62.77, N:10.93 y O:26.30, mientras que, en la síntesis con NaOH C:56.26, N:10.99 y O:32.74.

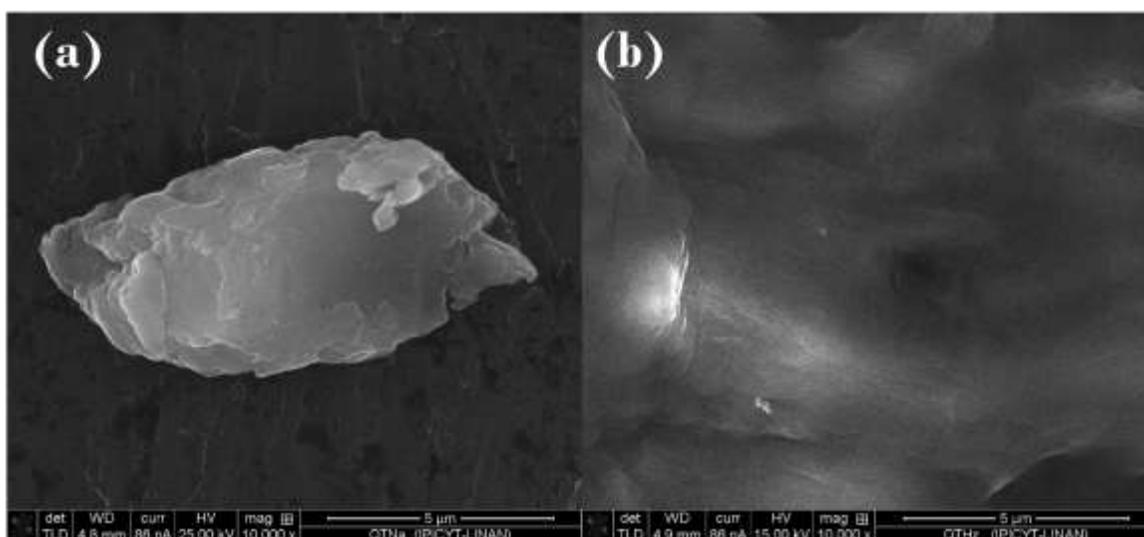


Figura 4.11 Imágenes SEM, a) QTNa y b) QTHz.

La partícula de QTNa que se observa en la figura tiene forma de aglomerado con morfología no definida. En QTHz, se observa una superficie densa. En una escala a 200  $\mu\text{m}$  (figura 4.12), se observa que el material con hidracina tiene una forma laminar.

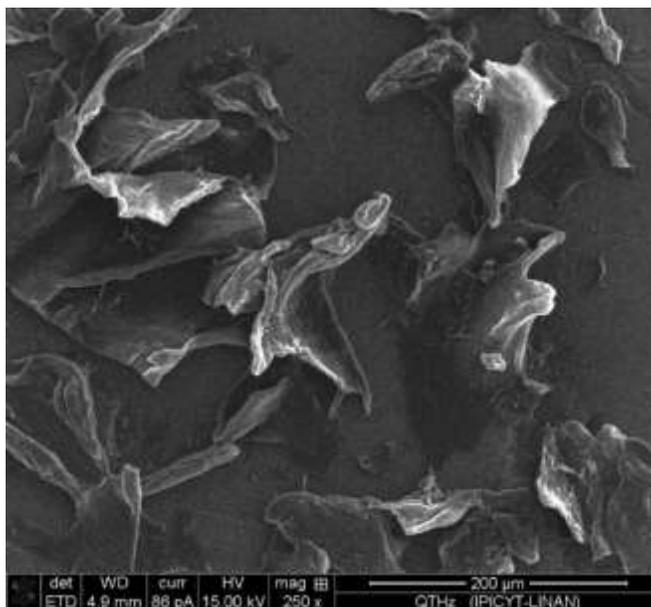


Figura 4.12 Imágenes SEM de QTHz.

En la figura 4.13 se muestran imágenes SEM a 250 000x en una escala de 200 nm para NT, con NaOH (figura 4.13 a) y  $\text{N}_2\text{H}_4$  (figura 4.13 b). Se observa que, cuando se sintetiza con solvente NaOH, se obtiene una morfología de tipo tubular, mientras que con hidracina la morfología cambia a partículas facetadas con forma de cuboides. En los análisis EDS, se obtiene una composición de C:3.01, O:44.75 y Ti:52.24 en % peso, en contraposición a NaOH donde C:9.45, O:49.49 y Ti:41.06 en %peso.

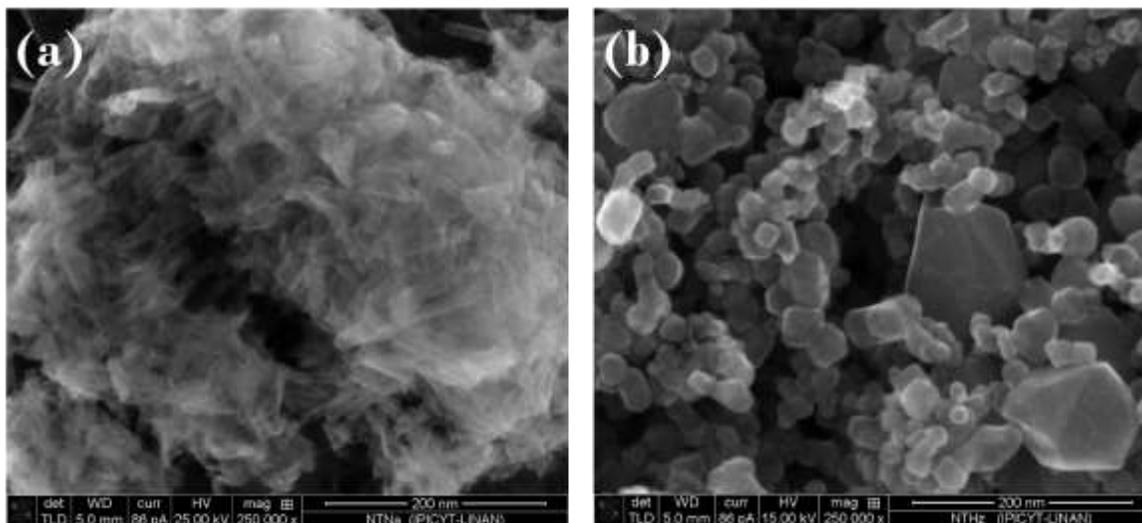


Figura 4.13 Imágenes SEM, a) NTNa y b) NTHz.

La figura 4.14, se muestran imágenes SEM a 250 000x magnificaciones en una escala de 200 nm del compuesto en relación 2:1 y 1:2 de QT con hidracina, QT-NTHz (figura 4.14 a) o NT-QTHz (figura 4.14 b). Se aprecia una morfología similar a NT con hidracina, la cantidad de quitosano en relación 2:1 o 1:2 no exhibe cambio consistente en la estructura del material. Sin embargo, con análisis EDS, se observa que, para C, O y Ti se obtienen valores de 51.37, 33.41 y 15.23 % en peso, respectivamente, correspondientes a QT 2:1, en donde existe mayor cantidad de carbono. Por otro lado, en relación 1:2 de QT la composición es de 2.44, 47.33 y 50.23 % en peso. Con esto se corrobora la presencia de quitosano en menor cantidad para la muestra 1:2.

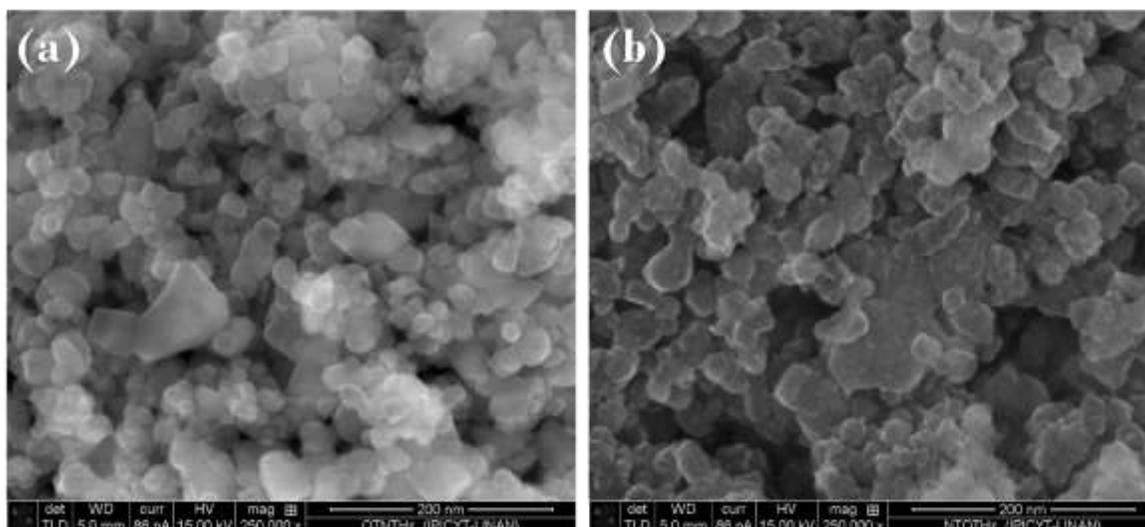


Figura 4.14 Imagen SEM de a) QT-NTHz y b) NT-QTHz.

Para tener un panorama general de la morfología del compuesto se presenta la siguiente imagen SEM (figura 4.15) de 25 000x magnificaciones en una escala de 2  $\mu\text{m}$ . Se aprecian partículas pequeñas aglomeradas en forma de capas, este comportamiento puede deberse al agente básico que se utilizó.

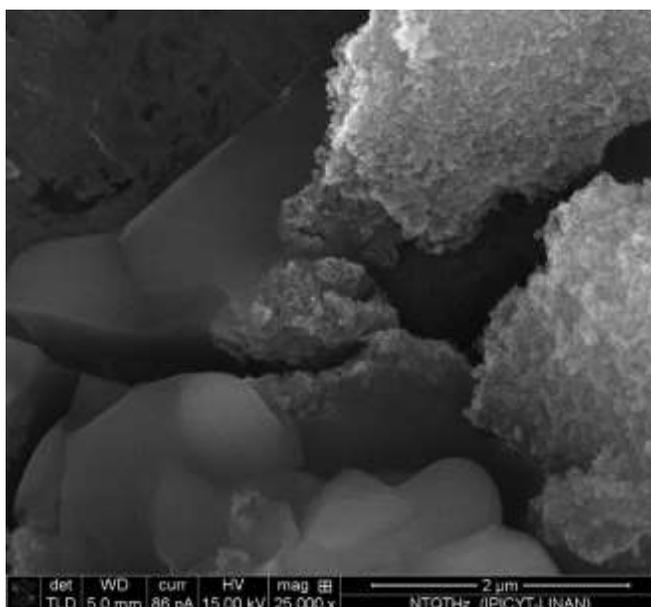


Figura 4.15 Imagen SEM de NTQTHz.

La figura 4.16, representa imágenes SEM a 250 000x magnificaciones en una escala de 2  $\mu\text{m}$  del compuesto en relación 2:1 de QT-NTNa (figura 4.16 a) y 1:2 de NT-QTNa (figura 4.16 b). Se aprecia una morfología similar a NT con NaOH, con la diferencia de que, cuando la relación es 2:1 de QT se presentan aglomerados tubulares con crecimiento tubular y en relación 1:2 en forma de red. En EDS se observa un porcentaje de carbono para QT-NTNa de 28.32 y 6.1 % en peso, para NT-QTNa.

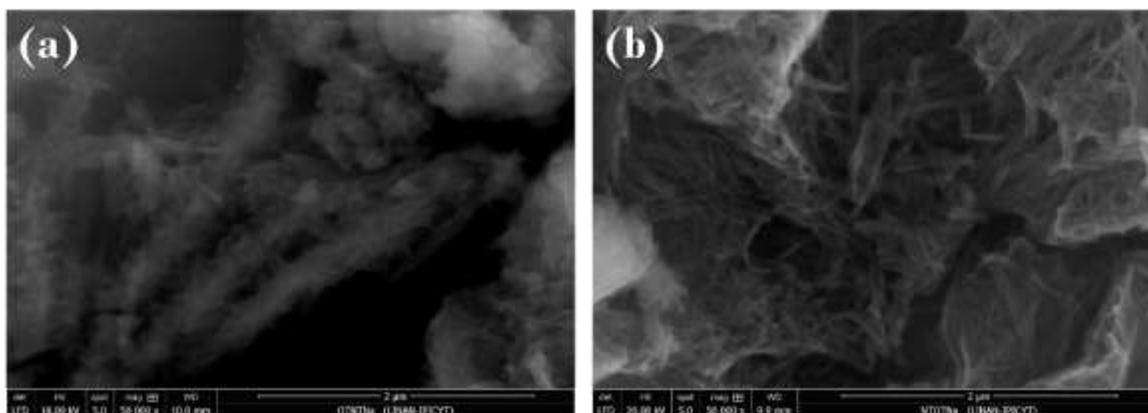


Figura 4.16 Imagen SEM de a) QT-NTNa y b) NT-QTNa.

Morfologías similares a nanotubos de tritanato de hidrógeno y partículas facetadas casi esféricas, fueron reportadas por Rodríguez et al. donde utilizaron como agente reactivo básico NaOH o Nitrato de plata en solución acuosa [3]. En otras investigaciones han estudiado la influencia de diferentes aminas (hidracina) en la superficie del material, así como el cambio en sus propiedades estructurales. Colón et al. [75], encontraron morfologías similares a las de nuestra investigación con hidracina, ellos concluyen que las diferentes cantidades de amina podrían actuar como una plantilla interesante tras el tratamiento hidrotérmal, al obtener partículas de tamaño y forma semi-homogéneas de aproximadamente 18 nm. Así mismo la morfología nano tubular es ampliamente reportada con el método hidrotérmal [5] [3].

La caracterización por SEM utilizando el detector de electrones secundarios nos muestra que la síntesis en medio alcalino propiciará la morfología dependiendo del tipo de solvente que se utilice y el precursor inorgánico. Usando hidracina se forman partículas cuboidales planas, que se aglomeran en forma de capas, esta coincide con la muestra de referencia con solo NT en hidracina y la muestra de referencia con solo quitosano en hidracina, pero de partículas de mayor tamaño.

Si comparamos con el uso del hidróxido de sodio como medio alcalino, se obtienen morfologías tubulares. La presencia del polímero no representa cambio estructural, pero si influye en la forma de aglomerarse. Las imágenes SEM, no permiten inferir que parte corresponde a QT, y cual, a NT, sin embargo, los resultados obtenidos DRX nos demuestran la formación del compuesto en donde QT comparte planos estructurales con NT debido a forma estructural ortorrómbica.

### 4.2.3 Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR)

Para la descripción de los resultados FTIR, se describen las vibraciones de los materiales de referencia (QT, NT y QT) y compósitos formados en comparación con resultados teóricos obtenidos.

En el espectro infrarrojo de NT que se muestra en la figura 4.17, se muestran los FTIR correspondientes a; A) Precursor P25, B) Resultado teórico, experimentales a CNPT C) NTNa y D) NTHz, y secos(s) a 90°C por 18 horas E) NTNa<sub>s</sub> y F) NTHz<sub>s</sub>.

La transmitancia en los valores de longitud de onda en 3749 cm<sup>-1</sup>, 3367 cm<sup>-1</sup>, 2336 cm<sup>-1</sup>, 1734 cm<sup>-1</sup>, 1633 cm<sup>-1</sup>, 1375 cm<sup>-1</sup>, 1211 cm<sup>-1</sup>, 891 cm<sup>-1</sup>, 688 cm<sup>-1</sup> y 470 cm<sup>-1</sup>, corresponden a las vibraciones O-H estiramiento simétrico y asimétrico, CO<sub>2</sub>, C=O por formación de aldehído por oxidación a ácido, H-O-H en deformación de balanceo, Ti-OH<sub>2</sub><sup>+</sup> debido a protonación de superficie, Ti-O en estiramiento simétrico, Ti-O-Ti, y O-H balanceo deformación. La descripción de estas vibraciones se realizó con un análisis teórico y de literatura [46] [48] [76]. En comparación cuando NT está seco al utilizar hidracina se observa la desaparición de la vibración correspondiente a OH lo que indica que la concentración de grupos hidroxilados de Ti disminuye después de la adsorción de N [77].

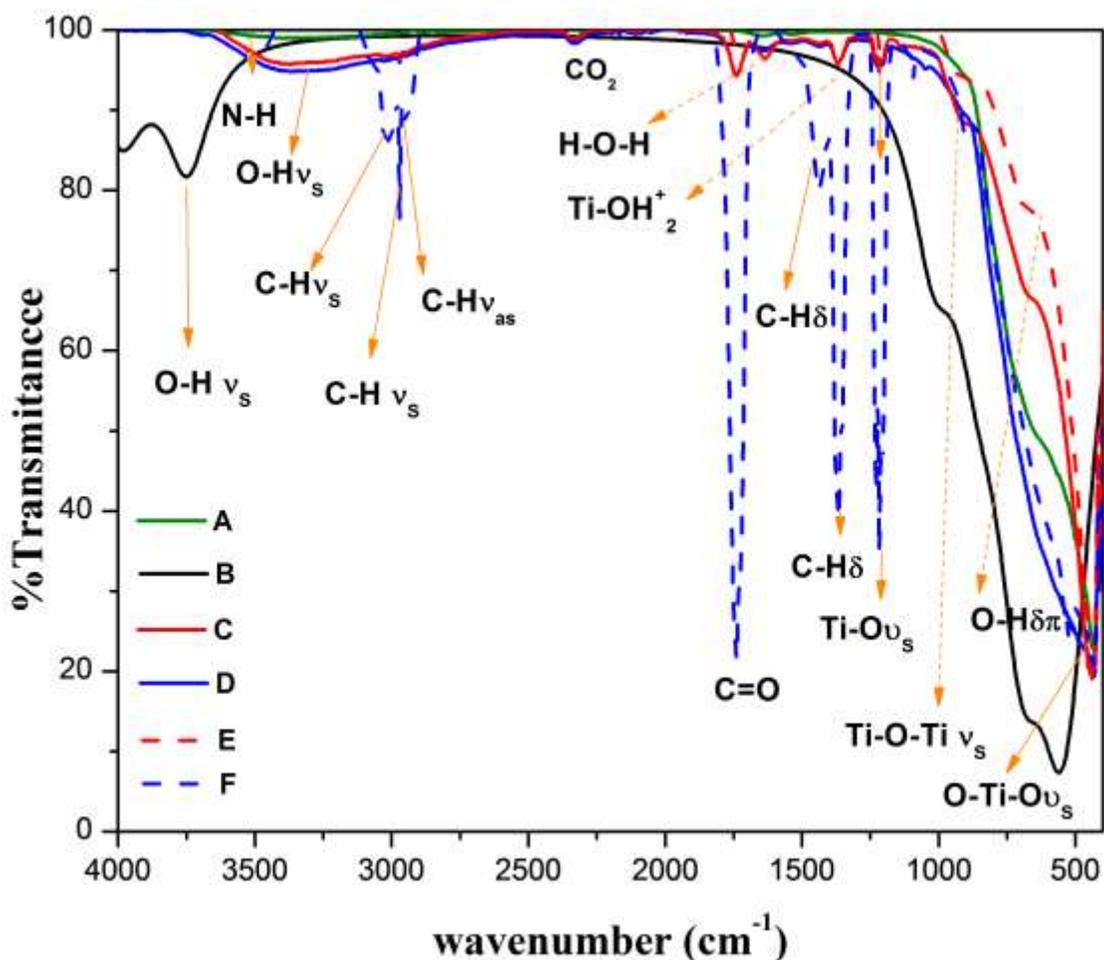


Figura 4.17 FTIR de transmitancia de NT.

Se observa la formación de superficies hidroxiladas, a diferencia del precursor, en donde la señal correspondiente a la vibración OH es de menor intensidad. Se intensifican las señales de las vibraciones Ti-O y formación de grupos C-H cuando se realiza secado al utiliza hidracina, lo que sugiere una superficie reactiva por exposición de hidrógenos, esto corrobora los resultados DRX en donde se presenta la fase cristalina de un ácido titánico H<sub>2</sub>TiO<sub>3</sub>. La formación de la fase H<sub>2</sub>TiO<sub>7</sub> propiciada por el solvente NaOH, le da mayor estabilidad a NT.

En el espectro infrarrojo de QT que se muestra en la figura 4.18, se muestran los FTIR correspondientes a; A) QT comercial, B) Resultado teórico, experimentales a CNPT C) QTNa y D) QTHz, y secos(s) a 90°C por 18 horas E) QTNa<sub>s</sub> y F) QTHz<sub>s</sub>.

Los espectros del quitosano presentaron una señal intensa a 1554 cm<sup>-1</sup> de NH<sub>2</sub>, lo cual indica la des acetilación de la quitina al pasar a quitosano. Esto fue confirmado por la disminución de la intensidad en la banda ubicada a 1626 cm<sup>-1</sup> como consecuencia de una eliminación de los grupos acetilo (COCH<sub>3</sub>) en el polímero, dejando más grupos amino (-NH<sub>2</sub>). Las señales en 3434 cm<sup>-1</sup>, 3200 cm<sup>-1</sup>, 2926 cm<sup>-1</sup>, 1648 cm<sup>-1</sup>, 1592 cm<sup>-1</sup>, 1447-1432cm<sup>-1</sup>, 1081 y 1034 cm<sup>-1</sup> y a 874-450 cm<sup>-1</sup>, corresponden a las vibraciones de O-H, N-H, C-H, Amida I, NH<sub>2</sub>, N-H, C-O-C de la estructura piranosa y bandas de la tensión de los grupos anoméricos. En similitud con la síntesis de la muestra de referencia de NT, se observa la aparición de la vibración correspondiente al grupo aldehído y una influencia reactiva al secar la muestra sintetizada con hidracina.

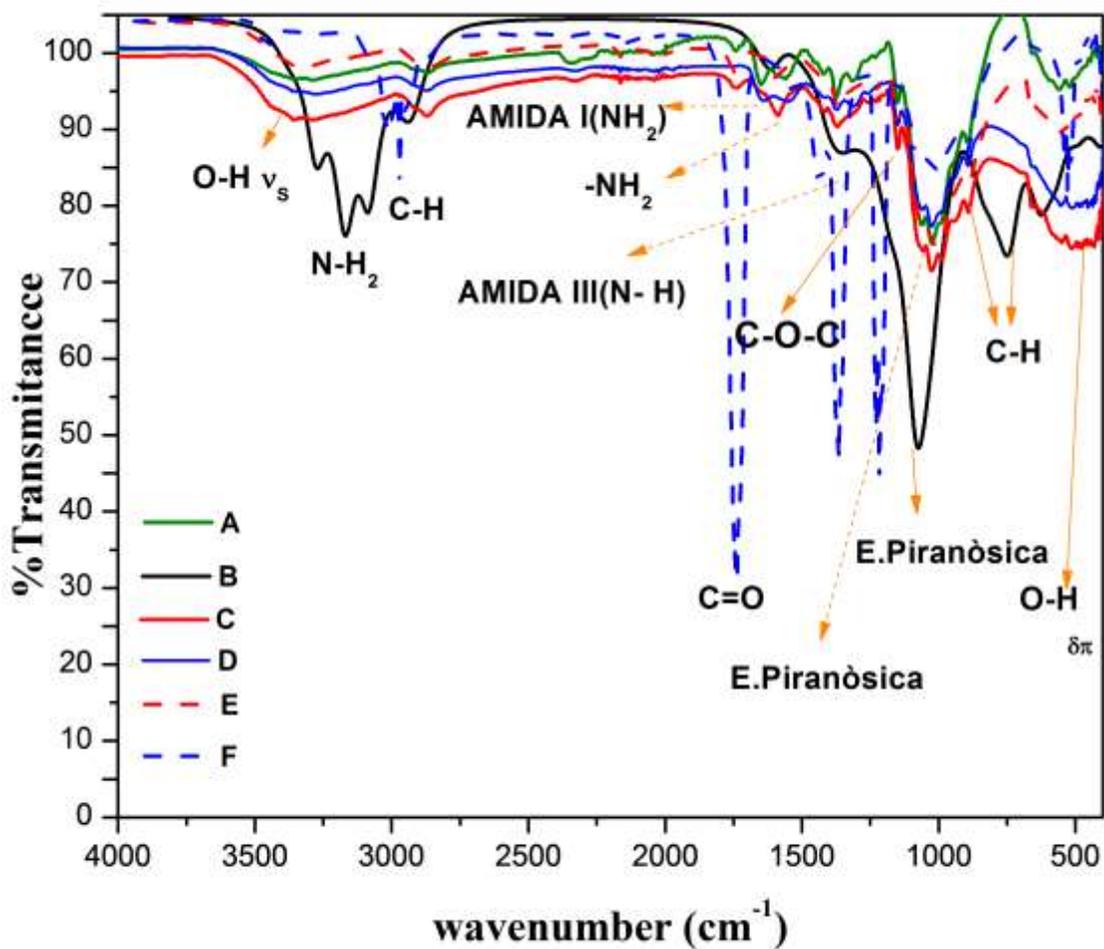


Figura 4.18 FTIR de transmittancia QT.

El espectro infrarrojo de QT-NT 1:2 y 2:1 se muestra en la figura 4.19. Donde A) Resultado teórico y experimentales B) QT-NTNa, C) NT-QTNa, D) QT-NTHz Y E) NT-QTHz.

Las bandas en 880 cm<sup>-1</sup> y 1045 cm<sup>-1</sup>, se asignan a las bandas de vibración elásticas Si-OH y Si-O-Si, respectivamente. Las bandas situadas a 1222 cm<sup>-1</sup>, 1590 cm<sup>-1</sup> y 3418 cm<sup>-1</sup>, corresponden a C-N de estiramiento, flexión NH<sub>2</sub> y estiramiento NH<sub>2</sub>, respectivamente. Con esto se revelan la presencia del grupo amina primario en la formación del compósito. Se observa la presencia de grupos aldehído con vibración elástica en 1738 cm<sup>-1</sup> y carbonilo en H-C-O a 1363 cm<sup>-1</sup>. La detección del grupo funcional carbonilo por espectroscopia IR demuestra que hay

muchos grupos de aldehídos unidos a la superficie de Ti-O-N. Se detectaron bandas de vibración de estiramiento de CH<sub>2</sub> a 1421 cm<sup>-1</sup> y 2870 cm<sup>-1</sup>, indicando la presencia de la cadena alifática de la estructura. La interacción de quitosano en la superficie de nanotubos se demuestra mediante la banda de vibración formada entre grupos de aminos de QT y funciones OH de NT en 3515 cm<sup>-1</sup> [46] , se observa la ausencia de grupo aldehidos para muestras sintetizadas con NaOH.

Las vibraciones correspondientes a la estructura piranosa de QT siguen presentes, pero con menor intensidad. Los picos característicos del quitosano en la superficie de los nanotubos: se observa con las bandas situadas en 1029 y 1070 cm<sup>-1</sup> que se asignan al hidroxilo primario C-OH y a la vibración de estiramiento C-O-C de la estructura piranosa de QT. La banda a 1152 cm<sup>-1</sup> corresponde a la vibración del enlace del C-O-C, las bandas en 1375 y 1426 cm<sup>-1</sup> se asignan a la flexión C, correspondientes a la formación de puentes de hidrógeno entre los grupos hidroxilo inorgánicos NT y los grupos hidroxilo o amina orgánicos del quitosano [5].

Respecto a los resultados teóricos, la influencia de la intensidad y desplazamiento de las bandas de vibración es debido a que el análisis *in silico*, a diferencia del experimental la interacción se plantea sin ningún otro componente.

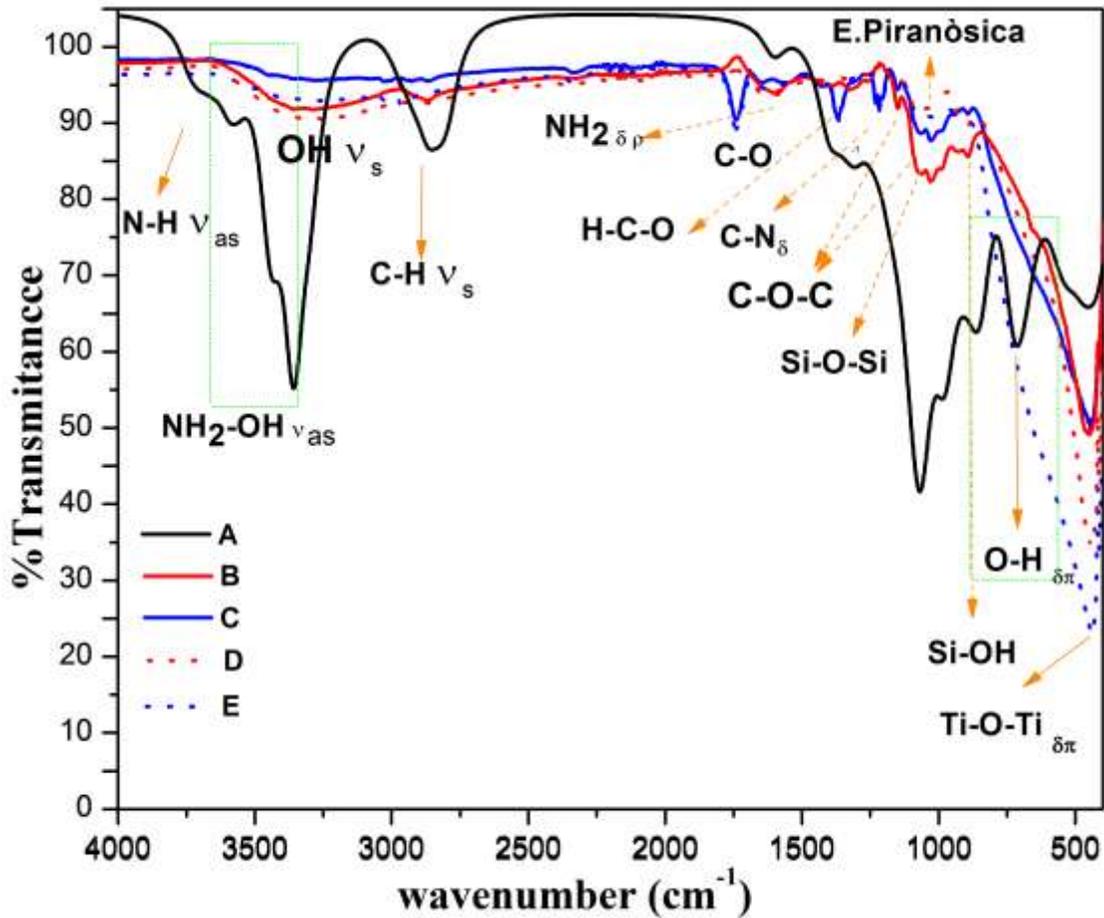


Figura 4.19 FTIR de transmitancia de compósito QTNTNa& QNTHz

#### 4.2.4 Fisisorción de N<sub>2</sub> (BET)

En este análisis se logra observar que el área superficial del material se ve influenciado por la presencia de NT en la matriz, por ejemplo, en el caso del compósito QT-NTNa con un área superficial de 47.602 m<sup>2</sup>/g, corresponde a aproximadamente la cuarta parte del área superficial cuando se forma el compósito NT-QTNa con área superficial de 178.077 m<sup>2</sup>/g. Los valores de volumen, área superficial y tamaño de poro se expresan en la tabla 4.2.

**Tabla 4.2 Tabla análisis BET**

Muestra	R	Área superficial (m <sup>2</sup> /g)	Volumen de poro (cc/g)	Tamaño de poro (nm)	Tipo y forma de poro (IUPAC) [78]
QT-NTNa	2:1	47.602	0.087	4.842	III-H3
NT-QTNa	1:2	178.077	0.252	4.842	III-H3
QT-NTHz	2:1	44.019	0.081	4.077	II -H3
NT-QTHz	1:2	157.451	0.252	2.049	II -H3
QTNa		12.963	0.023	4.842	III-H3
NTNa		168.762	0.370	4.842	III-H3
QTHz	--	10.902	0.020	4.678	VI-H3
NTHz		45.359	0.093	3.939	III -H3

\*R=Relación 2:1 o 1:2 de QT.

El tipo de isoterma III es característicos de los adsorbentes que son mesoporos (2-50 nm), corresponde a curvas convexas a lo largo del eje de la presión relativa, no es un tipo de adsorción muy usual y es altamente dependiente de las interacciones adsorbato-adsorbente. Los tipos II corresponde a materiales macroporosos (o no porosos), se distingue por presentar curvatura baja a presiones medias, representan adsorción sin restricciones entre mono o multicapa. Mientras que para el tipo VI, corresponde a un fenómeno de escalonado de adsorción en sólidos no porosos. La altura de cada paso representa la capacidad de adsorción en cada capa y de la temperatura [78] [79]. Los ciclos de histéresis tipo H3 se relacionan con sólidos agregados de partículas en forma de placas paralelas, lo que da lugar a poros en forma de rendijas. En esta forma de la isoterma, la adsorción se realiza en las paredes de los poros y es similar a la forma clásica que se observa en sólidos porosos reales o con estructuras donde predominan mesoporos [80].

Las isotermas para síntesis con NaOH se presentan en la figura 4.20. QT-NTNa (figura 4.20 a), NTNa (figura 4.20 b), NT-QTNa (figura 4.20 c) y QTNa (figura 4.20 d).

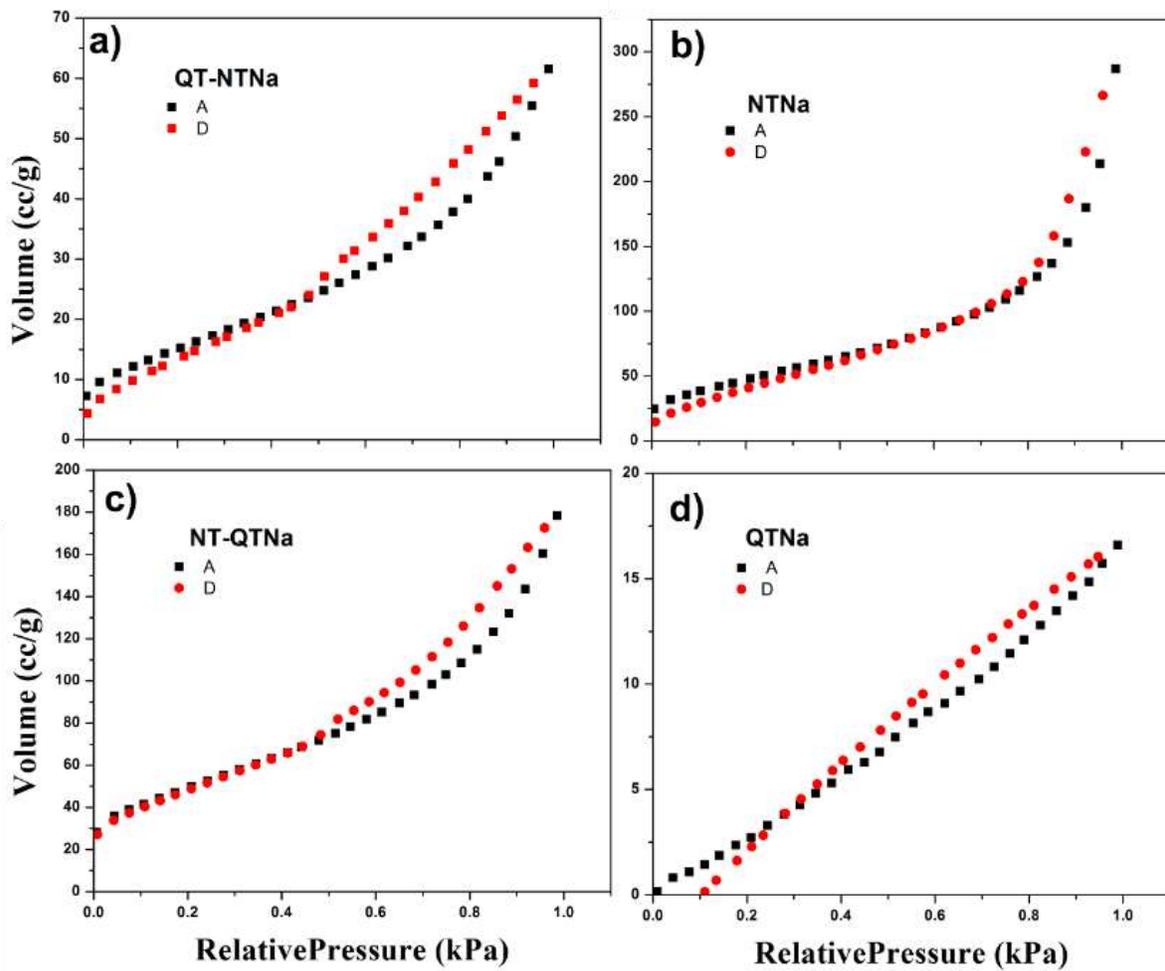


Figura 4.20 Isothermas correspondientes a la síntesis con NaOH.

Las isothermas para síntesis con hidracina se presentan en la figura 4.21. QT-NTNa (figura 4.21 a), NTNa (figura 4.21 b), NT-QTNa (figura 4.21 c) y QTNa (figura 4.21 d).

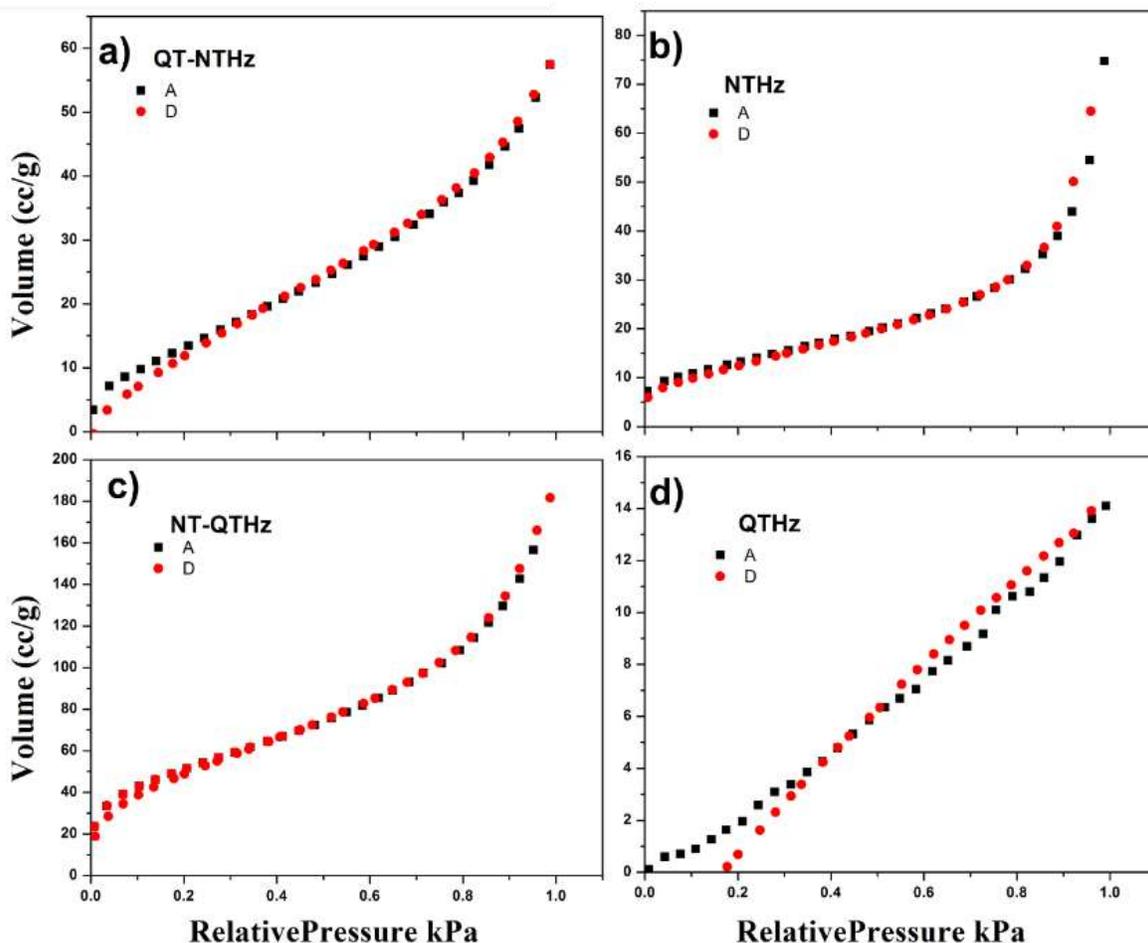


Figura 4.21 Isothermas correspondientes a la síntesis con  $N_2H_4$ .

Con la caracterización previa se describen materiales mesoporosos con morfología tubular y estructura cristalina en forma de titanato al utilizar NaOH. La estructura titánica con hidracina muestra una morfología de tipo cuboidal, el área superficial de QT aumenta cuando interacciona con NT. La interacción de quitosano en la superficie de nanotubos se demuestra mediante la banda de vibración elástica de C=N formada entre grupos de aminas de quitosano y OH de NT. Los materiales óptimos según el área superficial y morfología pueden ser los compuestos formados en relación 1:2 de QT, los cuales son NT-QTHz y NT-QTNa, estos se probarán en la liberación de CQ para el control de la COVID-19.

### 4.3 Pruebas de liberación y adsorción

Para estimar la capacidad de adsorción se sometieron a análisis los compósitos obtenidos de CQ-QT. La cantidad adsorbida se determinó a partir de la curva de calibración mediante el análisis UV-Visa 255nm. En la tabla 4.3, se presentan las cantidades adsorbidas después de 48 horas.

**Tabla 4.3 Porcentaje de Adsorción**

Muestra	ppm	Cantidad adsorbida ppm	% Ads
QT-NTNa	127.17	28.83	19%
NT-QTNa	116.77	33.23	22%
QT-NTHz	125.81	24.19	16%
NT-QTHz	127.26	22.74	15%

Con relación a la cantidad adsorbida del fármaco se observa que; el material que mejor adsorbe es NT-QTNa en donde la proporción 2:1 favorece a NT con un 22%. Por otra parte, el compósito QT-NTNa presenta un porcentaje de adsorción del 19%. Los compósitos obtenidos a partir de hidracina presentan un porcentaje de adsorción menor, se esperaba que el compósito NT-QTHz presentara adsorción similar a NT-QTNa debido a su área superficial, sin embargo, su adsorción es menor incluso a la muestra QT-NTHz, lo que sugiere que a pesar de tener un área superficial mayor al compósito QT-NTNa, su tamaño de poro de 2.4 nm, influye en su capacidad de adsorción. El tamaño de poro para QT-NTNa y NT-QTNa es de 4.8 nm.

La liberación en PBS, se realizó para un tiempo de 2 horas como primera aproximación. Con relación a la cantidad adsorbida, la liberación de CQ es lenta, esta cualidad favorece la dosificación del fármaco. En la figura 4.22, se observa el porcentaje de liberación de compósito 2:1 y 1:2 de CQ.

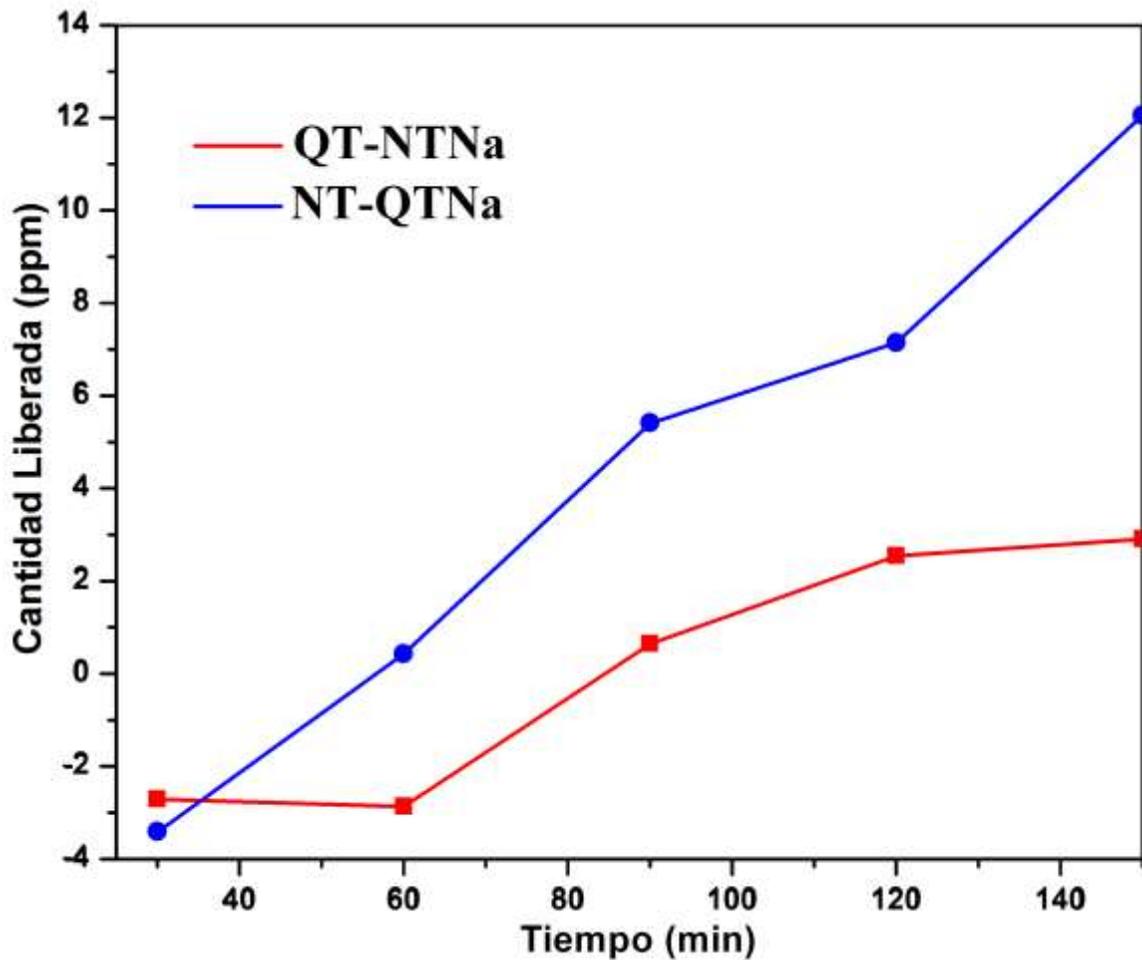


Figura 4.22 Porcentaje de liberación de CQ.

Se considera el modelo de Korsmeyer-Pepas [81] [82], para conocer el comportamiento de liberación con relación a la cantidad de fármaco liberado ( $f_t$ ) en las curvas obtenidas utilizando la ecuación (1). Este análisis se realiza para conocer la constante de liberación ( $k$ ), y determinar el exponente ( $n$ ) que indica el tipo de mecanismo mediante el cual ocurre en la liberación. Para valores de  $n=0.5$  rige el mecanismo de difusión de Fick, en cambio para valores entre  $.5-1$  rige el mecanismo de liberación por transferencia de masa. En la siguiente tabla 4.4, se expresan los valores de cuales se obtuvo este ajuste.

$$f_t = kt^n \quad (2)$$

**Tabla 4.4 Mecanismo de liberación**

Muestra	Ft	t(min)	k	Ln(Ft/k)	Ln (t)	n
QT-NTNa	2.90	150	.06	3.96	5.01	.79
NT-QTNa	12.05	150	2.03	1.78	5.01	.36
QT-NTHz	-1.64	150	.21	0.00	5.01	.00
NT-QTHz	-5.92	150	-2.54	.85	5.01	.17

Se observa un mecanismo de liberación por transferencia de masa para QT-NTNa, es decir una liberación sostenida. Mientras que para NT-QTNa presenta un mecanismo de difusión de Fick en donde la liberación de las moléculas de CQ es mediante diferencia de concentraciones [83] [81] [82]. Los compósitos a partir de hidracina no presentan comportamiento de liberación este comportamiento puede ser a razón del tipo de histéresis que presenta, la cual sugiere una débil atracción entre adsorbato y adsorbente. Mientras que para los compositos a partir de NaOH, es altamente dependiente de las interacciones adsorbato-adsorbente.

## 5.CAPITULO4: CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.

### 5.1 Conclusiones

A partir de los resultados obtenidos y su discusión, se puede concluir lo siguiente:

El diseño *in silico* nos permitió conocer el tipo de interacción de las moléculas de QT, NT, y CQ, que, a parte de la interacción covalente entre ellas, en su mayoría se reflejaron en interacciones electrostáticas y de puentes de H; el Docking molecular nos revela información interesante sobre la unión de los sistemas libres y compósitos con el blanco seleccionado. Al estudiar cual es la mejor combinación de acceso para inhibir el virus, se observó que la combinación QTNT-CQ es prometedora con una eficiencia de ligando de -7.11 kcal/mol. Además, abre la brecha para una investigación de esta conformación con el análisis de otros fármacos, debido a que el compósito por si solo refleja una eficiencia de -8.25 kcal/mol, lo cual puede ser indicio de una liberación controlada de dicho sistema nanoestructurado, pudiendo ser una perspectiva para el tratamiento de la COVID-19.

En la parte experimental se logró la síntesis de compósitos, donde la fase cristalina principal fue de titanatos cuando se sintetizó con NaOH y de acido titánico cuando se utilizó hidracina. En concordancia con el método *in silico* la caracterización favorece a QT-NTNa, en donde la estructura tubular de su morfología le confiere propiedades de adsorción debido a la influencia de NT en su estructura, permitiéndole formar estructuras tubulares de mayor tamaño al aglomerarse. Esto se confirma con los estudios de DRX, donde se muestran que ambos materiales favorecen la formación estructura ortorrómbica al compartir los planos (020) y (110).

Los resultados FTIR, revelan la presencia de los grupos OH en los compósitos, lo que corrobora la información obtenida *in silico* en la formación del compósito debido a sus grupos funcionales, además exhibe mejor estabilidad térmica al utilizar NaOH como solvente.

A pesar de no poseer una alta área superficial cuando se forman los compósitos en relación 2:1 de CQ, las propiedades mesoporosas y tamaño de poro del material le confiere características de adsorción-desorción que favorecen la dosificación controlada, por lo que se aprecia una sinergia estructural entre ambos materiales CQ y NT.

## **5.2 Perspectivas**

Con base en el conocimiento adquirido durante el desarrollo de la tesis, se plantean las siguientes recomendaciones, con la finalidad de aprovechar los conocimientos adquiridos respecto a la descripción del material.

- Realizar un estudio farmacológico de estos materiales con otras proteínas del virus y otros fármacos.
- Implementar pruebas de bioactividad para proliferación celular y descartar problemas de toxicidad.
- Realizar pruebas de liberación en tiempos prolongados.

## 6. REFERENCIAS

- [1] S. Loera Serna, J. Ruiz Angeles, J. Flores Moreno y L. Soto Portas, «Protegiendo fármacos con nanomateriales inteligentes,» *Mundo Nano*, vol. 5, n° 1, pp. 59-68, 2012.
- [2] V. Rodríguez-González, . R. Domínguez-Espíndola, S. CasasFlores, O. A. Patrón-Soberano, . R. Camposeco Solis y S. W. Lee, «Antifungal nanocomposites inspired by titanate nanotubes for complete inactivation of botrytis cinerea isolated from tomato infection,» *ACS Applied Materials and Interfaces*, vol. 8, n° 46, pp. 31625-31637, 2016.
- [3] V. Rodríguez-González, S. Obregón-Alfaro, L. M. Lozano-Sánchez y S. W. Lee, «Rapid microwave-assisted synthesis of one-dimensional silver-H 2Ti 3O 7 nanotubes,» *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, vol. 163, n° 170, pp. 353-354, 2012.
- [4] S. Jafari, B. Mahyad, . H. Hashemzadeh, S. Janfaza, T. Gholikhani y L. Tayebi, «Biomedical Applications of TiO<sub>2</sub> Nanostructures: Recent Advances,» *International Journal of Nanomedicine*, vol. 15, p. 3447—3470, 2020.
- [5] F. Sallem, R. Chassagnon, A. Megriche, M. El Maaoui y N. Millot, «Effect of mechanical stirring and temperature on dynamic hydrothermal synthesis of titanate nanotubes,» *Journal of Alloys and Compounds*, vol. 722, pp. 785-796, 2017.
- [6] T. Solaiyammal, . K. B. Gomathi Thanga, S. Muniyappan y P. Murugakoothan, «Hydrothermal synthesis and characterization of TiO<sub>2</sub> nanostructures prepared using different solvents,» *Materials Letters*, vol. 220, pp. 20-23, 2018.
- [7] G. J. Owens, R. K. Singh, F. Foroutan, M. Alqaysi, C. M. Han, C. Mahapatra, H. W. Kim y J. C. Knowles, «Sol-gel based materials for biomedical applications,» *ELSEVIER:Progress in Materials Science*, vol. 77, pp. 1-79, 2016.
- [8] H. Jia y L. L. Kerr, «Kinetics of drug release from drug carrier of polymer/ TiO<sub>2</sub> nanotubes composite-pH dependent study,» *J Appl Polym Sci.*, vol. 41750, p. 132, 2015.
- [9] Y. Liu, C. Xie, F. Zhang y . X. Xiao, «pH-Responsive TiO<sub>2</sub> Nanotube Drug Delivery System Based on Iron Coordination,» *Hindawi Journal of Nanomaterials*, p. 7.
- [10] S. D. L. W. Y. M. H. Y. W. J. Chen G., «N-trimethyl chitosan nanoparticles and CSKSSDYQC peptide: N-trimethyl chitosan conjugates enhance the oral bioavailability of gemcitabine to treat breast cancer.,» *J. Control. Release.*, vol. 277, p. 142–153, 2018.
- [11] Food and Drug Administration, «Actualización sobre el coronavirus (COVID-19): La FDA revoca la autorización de uso de emergencia para la cloroquina y la hidroxiclороquina,» *FDA NEWS RELEASE*, EUA, 2020.
- [12] Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS), *COMUNICADO AL PERSONAL DE SALUD*, Secretaría de Salud, 2020.
- [13] M. Harris y D. Bagozzi, *La OMS interrumpe los grupos de tratamiento de la COVID-19 con hidroxiclороquina y con la combinación lopinavir/ritonavir*, World health Organization, 2020.

- [14] L. X., B. Zhang, X. Liu, Z. Jin, H. Yang y Z. Rao, «Structure of Mpro from SARS-CoV-2 and discovery of its inhibitors,» pp. 582, pages289–293, 9 Abril 2020.
- [15] Y. Jin , H. Yang , W. Ji, W. Wu, S. Chen, W. Zhang y G. Duan, «Virology, Epidemiology, Pathogenesis, and Control of COVID-19,» *Novel Research in Microbiology Journal*, vol. 4, n° 5, pp. 955-967, 2020.
- [16] L. Calya, J. D. Drucea, M. G. Cattona, D. A. Jansb y K. M. Wagstaffb, «The FDA-approved drug ivermectin inhibits the replication of SARS-CoV-2 in vivo,» ELSEVIER, 2020.
- [17] Gobierno de México, «Recomendaciones para el tratamiento de la infección por SARS-CoV-2, agente causal de COVID-19.,» México, 2020.
- [18] K. Gao, D. D. Nguyen, . J. Chen y R. Wang, «Repositioning of 8565 Existing Drugs for COVID-19,» *The Journal of Physical Chemistry Letters*, vol. 11 (13), pp. 5373-5382, 2020.
- [19] G. Pastrian Soto, «Genetic and Molecular Basis of COVID-19 (SARS-CoV-2) Mechanisms of Pathogenesis and Immune,» *International journal of odontostomatology*, vol. 14(3), pp. 331-337, 2020.
- [20] . C. Liu, Y. Yang, Y. Gao, C. Shen, B. Ju, . X. Tang, . J. Wei, X. Ma, W. Liu, S. Xu, . Y. Liu, J. Yuan, J. Wu, . Z. Liu, Z. Zhang, P. Wang y L. Liu, «Viral Architecture of SARS-CoV-2 with Post-Fusion Spike Revealed by Cryo-EM,» *bioRxiv*, 2020.
- [21] R. A. Moreira, M. Chwastyk, J. L. Baker, H. V. Guzman y A. B. Poma, «Quantitative determination of mechanical stability in the novel coronavirus spike protein,» *Nanoscale*, vol. 12, pp. 16409-16413, 2020.
- [22] S. Elnagdy y M. AlKhazindar, «The Potential of Antimicrobial Peptides as an Antiviral Therapy against COVID-19,» *ACS Pharmacology & Translational Science*, pp. 10-12, 2020.
- [23] K. Kumar y T. J. Lupoli, «Exploiting Existing Molecular Scaffolds for Long-Term COVID Treatment,» *ACS Medical Chemistry Letters*, vol. 11, p. 1357–1360, 2020.
- [24] M. Wang, R. Cao, L. Zhang y X. Yang, «Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro,» *Cell Res*, vol. 30, p. 269–271, 2020.
- [25] Agencia Española de medicamentos y productos sanitarios, «FICHA TÉCNICA,» Ministerio de Sanidad, Marzo 2021. [En línea]. Available: [https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/15797/FichaTecnica\\_15797.html.pdf](https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/15797/FichaTecnica_15797.html.pdf). [Último acceso: 2021].
- [26] M. J. Vincent, . E. Bergeron, S. Benjannet, B. R. Erickson, P. E. Rollin, T. G. Ksiaz, N. G. Seidah y S. T. Nichol, «Chloroquine is a potent inhibitor of SARS coronavirus infection and spread,» *Virology Journal*, vol. 69, 2005.
- [27] R. Aragón Nogales, I. Vargas Almanza y M. G. Miranda Novales, «COVID-19 por SARS-CoV-2: La nueva emergencia de salud,» *Revista Mexicana de PEDIATRÍA*, vol. 86, n° 6, pp. 213-218, 2020.
- [28] Department of Health and Human Services, «Pharmacovigilance Memorandum,» Center for Drug Evaluation and Research, 2020.

- [29] . N. S. Yakubu, O. C. Poyi y E. O. Afolabi, «Design, Molecular Docking And In Silico Analysis Of Analogues Of Chloroquine And Hydroxychloroquine Against SARs-COV-2 Target,» Research Square, pp. 0-12, 2020.
- [30] C. J. Cortés-García, L. Chacón García, J. Mejía Benavides y E. Díaz Cervantes, «Tackling the SARS-CoV-2 main protease using hybrid derivatives of 1,5-disubstituted tetrazole-1,2,3-triazoles: an in silico assay,» PeerJ Physical Chemistry, p. e10, 2020.
- [31] A. Barik, G. Rai y G. Modi, Artists, Molecular docking and binding mode analysis of selected FDA approved drugs against COVID-19 selected key protein targets: An effort towards drug repurposing to identify the combination therapy to combat COVID-19. [Art]. Department of Molecular and Human Genetics, Institute of Science, Banaras Hindu University, Varanasi, 221005, India, 2020.
- [32] L. d. O. Micael Davi y T. d. O. Kelson Mota, «Comparative docking of SARS-CoV-2 receptors antagonists from repurposing drugs,» chemRxiv, pp. 0-24, 2020.
- [33] Y. Fu y . W. J. Kao, «Drug Release Kinetics and Transport Mechanisms of Non-degradable and Degradable Polymeric Delivery Systems,» Expert Opin Drug Deliv, vol. 7, n° 4, pp. 429-444, 2010.
- [34] L. Villafuerte Robles , «Nanotecnología Farmacéutica,» Razon y Palabra, n° 68, pp. 1-20, mayo-junio 2009.
- [35] C. F. Santa y B. L. López Osorio, «MATERIALES POLIMÉRICOS EN NANOMEDICINA: TRANSPORTE Y LIBERACIÓN CONTROLADA DE FÁRMACOS,» Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, vol. 37, n° 142, pp. 0370-3908, 2013.
- [36] Z. Mármol, G. Páez, M. Rincón, K. Araujo y C. Aiello, «Chitin and Chitosan friendly polymer . A review of their applications,» Revista Tecnocientífica URU, vol. 1, n° 2343 - 6360, pp. 53-58, 2011.
- [37] J. Giraldo, «PROPIDADES, OBTENCIÓN, CARACTERIZACIÓN Y APLICACIONES DEL QUITOSANO,» University of Concepcion, pp. 1-22, 2015.
- [38] . C. A. Ramírez, . E. Delgado y A. Andrade, «Determinación del grado de desacetilación de quitosana mediante titulación potenciométrica, FTIR y Raman,» Journal CIM, vol. 4, n° 1, pp. 769-776, 2016.
- [39] E. Zuñiga, P. Muñoz y O. Rubilar, «CHITOSAN NANOFIBRES CONTAINING BIOACTIVE COMPOUNDS». Santiago Patente WO 2016/191895 , 5 Junio 2015.
- [40] A. Fernández, M. J. Janes, Kevin y Csaba y N. , «Nanopartículas de quitosano y polietilenglicol como sistema de administración de moléculas bio lógicamente activas». Barcelona Patente 2 259 914, 16 06 2007.
- [41] P. J. Watts y L. Illum, «Composición de suministro medicamentoso que contiene quitosano o derivado del mismo con un potencial Z. definido.». España Patente 2 167 453, 16 05 2002.
- [42] «PROPIDADES, OBTENCIÓN, CARACTERIZACIÓN Y APLICACIONES DEL QUITOSANO,» University of Concepcion, 2015.
- [43] V. REYNA URRUTIA, EFECTO DE DIFERENTES MÉTODOS DE ENTRECruzAMIENTO SOBRE LAS PROPIEDADES, Yucatan: Centro de

- Investigación Científica de Yucatán, A.C. (CICY), 2019.
- [44] Q. Wang, J.-Y. Huang, H.-Q. Li, Z. Chen, Z.-J. Z. Allan, Y. Wang, K.-Q. Zhang, H.-T. Sun, S. S. Al-Deyab y Y.-K. Lai, «TiO<sub>2</sub> nanotube platforms for smart drug delivery: a review,» *Int J Nanomedicine*, vol. 11, p. 4819–4834, 2016.
- [45] Z. F. Yin, L. Wu, H. G. Yang y Y. H. Su, «Recent progress in biomedical applications of titanium dioxide,» *Phys. Chem. Chem. Phys.*, vol. 15, n° 4, p. 4844–, 2013.
- [46] G. Liu, D. Yang, Y. Zhu, J. Ma, M. Nie y Z. Jiang, «Titanate nanotubes-embedded chitosan nanocomposite membranes with high isopropanol dehydration performance,» *Chemical Engineering Science*, vol. 66, n° 18, pp. 4221-4228, 2011.
- [47] M. Benčina, A. glič, M. Mozetic y I. Junkar, «Crystallized TiO<sub>2</sub> Nanosurfaces in Biomedical Applications,» *Nanomaterials* , vol. 10, n° 6, p. 1121, 2020.
- [48] F. Sallem, J. Boudon, O. Heint, I. Séverin, A. Megriche y N. Millot, «Synthesis and characterization of chitosan-coated titanate nanotubes: towards a new safe nanocarrier,» *Dalton Transactions*, vol. 46, n° 44, pp. 15386-15398, 2017.
- [49] M. L. Peralta Ramos, J. A. González, S. G. Albornoz, C. J. Pérez, M. E. Villanueva, S. A. Giorgieri y G. J. Copello, «Chitin hydrogel reinforced with TiO<sub>2</sub> nanoparticles as an arsenic sorbent,» *Chemical Engineering Journal*, vol. 285, p. 581–587, 2016.
- [50] U. Nwankwo, R. Bucher, A. Ekwealor, M. Maaza y F. I. Ezema, «Synthesis and characterizations of rutile-TiO<sub>2</sub> nanoparticles derived from chitin for potential photocatalytic applications,» *Vacuum* , vol. 161, pp. 49-54 , 2019.
- [51] T. Scior, E. Martínez Morales y E. Salinas Stefanón, «Los modelos in silico, una herramienta para el conocimiento farmacológico,» *Elementos*, vol. 14, n° 68, pp. 45-48, 2007.
- [52] R. Gozales, J. V. de Julián-Ortiz y C. Fito López, «Métodos computacionales en toxicología predictiva: aplicación a la reducción de ensayos con animales en el contexto de la legislación comunitaria REACH,» *Revista de Toxicología*, vol. 31, n° 2, pp. 157-167, 2015.
- [53] A. M. Suite, Artist, UFF Manual. [Art]. Software for Chemistry & Materials, 2019.
- [54] F. San E., Artist, Calculos Computacionales de Estructuras Moleculares. [Art]. Universidad de Alicante, 2020.
- [55] A. Valles, L. Rosales, L. Serrato y L. Farías, «Computational Chemistry Methods and its Applications,» *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila Métodos*, vol. 6, n° 11, pp. 16-21, 2014.
- [56] I. N. Levine, *Química Cuántica*, New York: Prentice Hall, 2001.
- [57] W. H.-J. X. Z.-N. C. Yuan, «Advances in microwave assisted synthesis of ordered mesoporous materials,» *Transactions of Nonferrous Metal Society.*, vol. 19, pp. 656-664, 2009.
- [58] J.-Y. H. S. Shi, «Microwave-assisted wet chemical synthesis: advantages, significance, and steps to industrialization,» *Journal of Minerals & Materials Characterization & Engineering* , vol. 2, pp. 101-110, 2003.
- [59] Jekyll & Minimal Mistakes., «Avogadro Chemistry,» 2018 .
- [60] R. D. Dennington II, T. A. Keith y J. M. Millan, «GaussView,» Semichem, Inc., 2000-

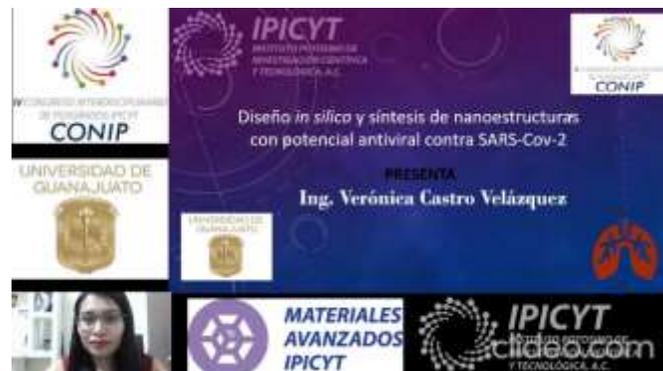
2016.

- [61] WordPress, «Molegro Virtual Docker,» 2021 .
- [62] G. W. T. H. B. S. G. E. S. M. A. R. J. R. C. G. S. V. B. G. A. P. H. N. X. L. M. C. A. M. J. B. B. G. J. R. G. B. M. H. P. H. J. V. O. M. J. Frisch, «Gaussian 09,» Revision A.02, 2016.
- [63] Wavefunction, «Spartan 08,» 2007-2021.
- [64] C. Zuckerman, «UCSF Chimera,» University of California, 2018.
- [65] X. Z. B. J. Z. Y. H. R. Z. Liu, «The crystal structure of COVID-19 main protease in complex with an inhibitor N3,» *Nature* , vol. 582, pp. 289-293, 2020.
- [66] R. Parr y W. Yang, *Density Functional Theory of atoms and molecules*, USA: Oxford, 989.
- [67] R. Parr y R. Pearson, «Absolute hardness: companion parameter to absolute electronegativity,» *J Am Chem Soc* , vol. 105, p. 7512–7516, 1983.
- [68] Y. Zhao y D. Truhlar, «The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: Two new functionals and systematic testing of four M06-class functionals and 12 other function,» *Theor Chem Acc* , vol. 120, p. 215–241, 2006.
- [69] S. J. L. A. Swope R.J., «H in rutile-type compounds: I. Single-crystal neutron and X-ray diffraction study of H in rutile,» *Am. Mineral.* , vol. 80, pp. 448-453, 1995.
- [70] K. S. K. P. X. Y. S. E. Singhal R.K., «Evidence of defect-induced ferromagnetism and its "switch" action in pristine bulk TiO<sub>2</sub>,» *Appl. Phys. Lett.* , vol. 98, n° 1, 2011.
- [71] Y. Wang, A. Pitto-Barry, A. Habtemariam, I. Romero-Canelon, P. J. Sadler y N. P. Barry, «Nanoparticles of chitosan conjugated to organo-ruthenium complexes,» *Inorganic Chemistry Frontiers*, vol. 3, n° 8, pp. 1058-1064, 2016.
- [72] K. I. S. Ogawa, «00-040-1518 Chitosan C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>NO<sub>5</sub>)<sub>n</sub>·x HNO<sub>3</sub>,» *Data*, International Centre for Diffraction, vol. 160, n° 425, 1987.
- [73] T. A. Phung Hai y R. Sugimoto, «Fluorescence control of chitin and chitosan fabricated via surface functionalization using direct oxidative polymerization,» *RSC Advances*, vol. 8, n° 13, pp. 7005-7013, 2018.
- [74] J. Monter-Miranda, J. Tirado-Gallegos, P. Zamudio-Flores, C. Rios-Velasco, J. d. J. Ornelas-Paz, R. Salgado-Delgado, V. Espinosa-Solis y F. Hernandez-Centeno, «Extraction and characterization of physicochemical, morphological, and structural properties of chitin and chitosan from *brachystola magna* (girard),» *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, vol. 15, n° 3, pp. 749-761, 2016.
- [75] G. Colón, M. Hidalgo, J. Navío, E. P. Pulido Melián, O. González Díaz y J. Doña, «Influence of amine template on the photoactivity of TiO<sub>2</sub> nanoparticles obtained by hydrothermal treatment,» *Applied Catalysis B: Environmental* , vol. 78 , p. 176–182, 2008.
- [76] A. Subramanian y H. W. Wang, «Effect of hydroxyl group attachment on TiO<sub>2</sub> films for dye-sensitized solar cells,» *Applied Surface Science*, vol. 258, n° 20, pp. 7833-7838, 2012.
- [77] C. C. Chuang, J. S. Shiu y J. L. Lin, «Interaction of hydrazine and ammonia with

- TiO<sub>2</sub>,» *Physical Chemistry Chemical Physics*, vol. 2, n° 11, pp. 2629-2633, 2000.
- [78] T. J. Barton, L. M. Bull, W. G. Klemperer, D. A. Loy, B. McEnaney, M. Misono, P. A. Monson, G. Pez, G. W. Schere, J. C. Vartuli y O. M. Yaghi, «Tailored porous materials,» *Chemistry of Materials*, vol. 11, n° 10, pp. 2633-2656, 1999.
- [79] B. D. Zdravkov, J. J. Čermák, M. Šefara y J. Janků, «Pore classification in the characterization of porous materials: A perspective,» *Central European Journal of Chemistry*, vol. 5, n° 2, pp. 385-395, 2007.
- [80] I. A. P. Martínez, *Artist, Síntesis de nanoestructuras a base de TiO<sub>2</sub> obtenidas por el método hidrotérmico asistido con microondas. [Art]. IPICYT:División de Materiales Avanzados*, 2015.
- [81] I. P. e. al, «Modelling of controlled drug release in gastrointestinal tract simulation,» *J. Phys.: Conf. Ser.*, vol. 1295 , n° 012063, 2019 .
- [82] «Mathematical models of drug release,» *Strategies to Modify the Drug Release from Pharmaceutical Systems*, p. 63–86, 2015.
- [83] G. Arora, K. Malik y I. Singh, «Formulation and evaluation of mucoadhesive matrix tablets of taro gum: optimization using response surface methodology,» *Article in Polimery w Medycynie*, 2011.
- [84] L. Chuang, Y. Yang, G. Yuanzhu, C. Shen, B. Ju, L. Congcong, X. Tang, J. Wei, X. Ma, W. Liu, S. Xu, Y. Liu, J. Yuan, . J. Wu, Z. Liu, . Z. Zhang, P. Wang y L. Liu, «Viral Architecture of SARS-CoV-2 with Post-Fusion Spike Revealed by Cryo-EM,» *bioRxiv*, Marzo 5 2020.
- [85] M. Benčina, A. Iglič, M. Mozetič y I. Junkar, «Crystallized tio<sub>2</sub> nanosurfaces in biomedical applications,» *Nanomaterials*, vol. 6, p. 10, 2020.
- [86] J. Pople, Ditchfield y W. Hehre, *J Chem Phys*, vol. 54, p. 724–728, 1971.
- [87] D. Y. Y. J. W. L. Y. K. L. F. J. R. Y. X. Y. T. L. X. Y. X. B. F. L. H. L. X. G. L. X. W. X. G. Q. C. S. Z. J. H. R. Z. Y. H. Peng C, «Structure of Mpro from SARS-CoV-2 and discovery of its inhibitors,» *Nature* , vol. 582, pp. 289-293, 2020.
- [88] T. E. K. C. R. N. U. Blanton, *Private Communication, USA*, 2013.
- [89] D. S. Duttgupta , V. M. Jadhav y V. J. Kadam, «Chitosan: a propitious biopolymer for drug delivery,» *Curr Drug Deliv*, vol. 12, n° 4, pp. 369-81, 2015.
- [90] M. Á. HERNÁNDEZ, J. A. VELASCO<sup>1</sup>, F. ROJAS, V. H. LARA, M. A. SALGADO y V. TAMARIZ, «EVALUACIÓN DE MESOPOROS Y CARACTERIZACIÓN DE ARCILLAS DEL ESTADO DE PUEBLA, MÉXICO,» *Rev. Int. Contam. Ambient.*, vol. 19, n° 4, pp. 183-190, 2003.

# 7.ANEXOS

## A. Concurso CONIP en la modalidad IPITESIS



## B. PARTICIPACIÓN EN CONGRESO LATIN X CHEMT EN WITTER

**IPICYT**  
CONICET

**UTEZ**

### Design of a dosing vehicle for drugs against SARS-CoV-2

Castro Melaquez A.<sup>1</sup>, Diaz-Cervantes E.<sup>2</sup>, Garcia Cabral E.<sup>3</sup>, Rodriguez-Gonzalez M.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>IPICYT, Unidad de Investigación en Física y Tecnología, Avda. de los Investigadores, Ciudad de Córdoba, Córdoba, Argentina; <sup>2</sup>CONICET, Unidad de Investigación en Física y Tecnología, Avda. de los Investigadores, Ciudad de Córdoba, Córdoba, Argentina; <sup>3</sup>IPICYT, Unidad de Investigación en Física y Tecnología, Avda. de los Investigadores, Ciudad de Córdoba, Córdoba, Argentina; <sup>4</sup>IPICYT, Unidad de Investigación en Física y Tecnología, Avda. de los Investigadores, Ciudad de Córdoba, Córdoba, Argentina

#### Summary

The *de silico* design allows us to know the physical and chemical behavior of the studied molecules, for this reason the modeling and optimization of chloroquine (CQ) and hydroxychloroquine (HCQ) in interaction with the chitinase biopolymer (QT) is proposed, which is expected use as a dosing vehicle.

**Keywords:** SARS-CoV-2, *de silico*, chloroquine, hydroxychloroquine, chitinase

#### Introduction

The COVID-19 pandemic has caused a global health crisis, with millions of people infected and thousands of deaths. The search for effective treatments is a priority. Chloroquine (CQ) and hydroxychloroquine (HCQ) have been studied as potential antiviral agents. However, their use is limited by side effects and drug resistance. The development of a dosing vehicle (QT) that improves the delivery and efficacy of these drugs is a promising strategy.

#### Method

The study was conducted using molecular modeling and simulation. The interaction between CQ and HCQ with the chitinase biopolymer (QT) was modeled using the force field method. The interaction energy was calculated using the equation:

$$\Delta G_{int} = (\Delta G_{CQ-QT}) - (\Delta G_{CQ} + \Delta G_{QT})$$

The interaction energy was calculated for CQ-QT and HCQ-QT complexes. The results are summarized in the following table:

Complex	Interaction Energy (kJ/mol)
CQ-QT	-43.57
HCQ-QT	-40.90

The interaction energy for CQ-QT is -43.57 kJ/mol, and for HCQ-QT is -40.90 kJ/mol.

#### Results

##### Interaction energy

The interaction energy was calculated for CQ-QT and HCQ-QT complexes. The results are summarized in the following table:

Complex	Interaction Energy (kJ/mol)
CQ-QT	-43.57
HCQ-QT	-40.90

##### Modeling

The molecular interaction between CQ and QT is shown in Figure 1. The interaction between HCQ and QT is shown in Figure 2. The interaction between CQ and QT is shown in Figure 3. The interaction between HCQ and QT is shown in Figure 4.

##### Composite

The molecular interaction between CQ and QT is shown in Figure 1. The interaction between HCQ and QT is shown in Figure 2. The interaction between CQ and QT is shown in Figure 3. The interaction between HCQ and QT is shown in Figure 4.

##### Characterization

The IR spectra of CQ-QT and HCQ-QT complexes are shown in Figure 5. The IR spectra of CQ-QT and HCQ-QT complexes are shown in Figure 6.

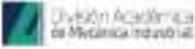
#### Conclusions

The CQ-QT and HCQ-QT composites were formed from an energetic receptor, which was obtained through the functional FHE and the biomimetic 6-24G (d, p), it was not considered BSSE. The spectra of bands formed can be corroborated from the IR and UV-Vis data obtained, and the proposed composite can be favorably formed, considering the greater force model. There is a greater interaction between QT and HCQ due to the hydroxyl group. As a perspective to the work, it is proposed to implement molecular docking [34] to know the absorption-desorption energies with a larger chitinase model considering pH conditions.

#### Acknowledgements

This work was supported by the Laboratory of Physical Chemistry, Faculty of Chemistry, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. The authors thank the support of the National Council of Scientific and Technical Research (CONICET) and the University of Córdoba, Argentina.

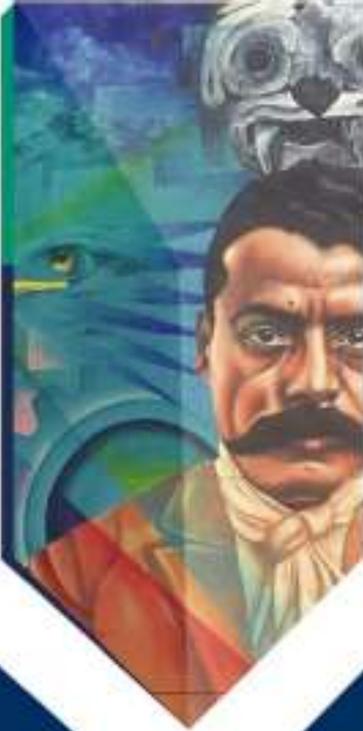
# ASESORÍA INSTITUCIONAL CON EL TEMA ESPECTROSCOPIA UV- VIS: ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.

**UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA EMILIANO  
ZAPATA DEL ESTADO DE MORELOS**

**DIVISIÓN ACADÉMICA DE MECÁNICA INDUSTRIAL**

**ESPECTROSCOPIA UV-VIS: ANÁLISIS E  
INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**



**REPORTE DE ESTADÍA**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:  
TÉCNICO SUPERIOR UNIVERSITARIO EN  
NANOTECNOLOGÍA ÁREA MATERIALES**

**PRESENTA:**  
**GARCÍA CABRAL ESMERALDA**

**ASESORA/ASESOR INSTITUCIONAL**  
**ING. VERÓNICA CASTRO  
VELÁZQUEZ**

**ASESORA/ASESOR ACADÉMICO**  
**DRA. ESTELA SARMIENTO  
BUSTOS**

## D. ARTÍCULO EN REVISIÓN CON EL TEMA “UNDERSTANDING THE MOLECULAR INTERACTIONS OF ONE DRUG TRANSPORT AGAINST SARS-COV-2 (COVID-19) BASED ON CHITOSAN MODELS”

### Theoretical Chemistry Accounts

Understanding the molecular interactions of one drug transport against SARS-CoV-2 (COVID-19) based on chitosan models  
–Manuscript Draft–

Manuscript Number:	
Full Title:	Understanding the molecular interactions of one drug transport against SARS-CoV-2 (COVID-19) based on chitosan models
Article Type:	Regular Article
Keywords:	COVID-19; SARS-CoV-2; chitosan; Chloroquine; DFT; Docking
Corresponding Author:	Erik Díaz-Cervantes Universidad de Guanajuato San Luis Potosí, MEXICO
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	Universidad de Guanajuato
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	Verónica Castro-Velázquez
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	Verónica Castro-Velázquez Erik Díaz-Cervantes Vicente Rodríguez-González
Order of Authors Secondary Information:	
Funding Information:	
Abstract:	<p>Finding an effective treatment for the coronavirus disease (COVID-19) is a priority for scientists and humanity; hence, in the present work, two drug transport-nanocomposites using two repurposed drugs, chloroquine (CQ) and hydroxychloroquine (HCQ), designed with one useful-biocompatible biopolymer, chitosan (QT), are studied. The computational chemistry results of these systems show that CQ and HCQ interact on the QT surface, which was confirmed by exergonic Gibbs free energy, being more spontaneous in forming the QT-CQ composite. The molecular orbital analysis corroborated the bond interaction in these designed composites, QT-CQ and QT-HCQ. The docking assays let to test two ways to promote the drug delivery process of the QT-CQ into the main protease and the spike of the SARS-CoV-2. Docking results suggest that the composites can be coupled at first via QT into the target. Adding drugs to the QT-target system can be delivered to boosted inhibition; in other words, QT promotes better inhibition of the SARS-CoV-2-MPro, being the higher interaction between the studied proteins. Finally, the composite QT-CQ was prepared and characterize by FTIR spectroscopy to be compared with the theoretical IR and demonstrate the formation of the composite (QT-CQ) that conceivably promotes the inhibition of the spike and main protease of SARS-CoV-2. The use of the biopolymer as a repurposed drug delivery nanoparticle or/and surface coating stand as a potential material to control the COVID-19 transmission.</p>
Suggested Reviewers:	<p>Sovann Khan Tokyo University of Science: Toiyo Rika Daigaku sovannkhan@gmail.com</p> <p>Eduardo Pino Universidad de Santiago de Chile eduardo.pino@usach.cl</p> <p>Faustino Aguilera-Granja</p>

Powered by Editorial Manager® and Production Manager® from Aries Systems Corporation