



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

POSGRADO EN NANOCIENCIAS Y MATERIALES

**Desarrollo del sistema nanoestructurado de SiO₂/M
NPs/Sulfametoxazol con propiedad antimicrobiana**

Tesis que presenta

José Domingo Trujillo Casarreal

Para obtener el grado de

Maestro en Nanociencias y Materiales

Director de la Tesis:

Dr. Vicente Rodríguez González

San Luis Potosí, SLP., Noviembre de 2021.



Constancia de aprobación de la tesis

La tesis “**Desarrollo del sistema nanoestructurado de SiO₂/M NPs/Sulfametoxazol con propiedad antimicrobiana**” presentada para obtener el Grado de Maestro en Nanociencias y Materiales fue elaborada por **José Domingo Trujillo Casarreal** y aprobada el 11 de **Noviembre de 2021** 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
Director de la tesis



Dra. Olga Araceli Patrón Soberano
Comité tutorial



Dr. Francisco Elihú Bautista Redonda
Comité tutorial

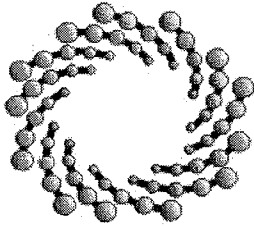


Créditos Institucionales

Esta tesis fue elaborada en el Laboratorio de Nuevos Materiales y Catálisis Heterogénea Ambiental de la División de Materiales Avanzados del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., bajo la dirección del Dr. Vicente Rodríguez González.

Parte del trabajo se llevó a cabo gracias a los servicios e instalaciones otorgadas por los técnicos del Laboratorio Nacional de Investigaciones en Nanociencias y Nanotecnología (LINAN).

Durante la realización del trabajo el autor recibió una beca académica del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (No. De registro: 900449) y del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A. C. Así como 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 076 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 17 días del mes de noviembre del año 2021, se reunió a las 12:00 horas en las instalaciones del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., el Jurado integrado por:

Dr. Haret-Codratian Rosu Barbus	Presidente	IPICYT
Dr. Jorge Roberto Oliva Uc	Secretario	IPICYT
Dr. Erick Díaz Cervantes	Sinodal externo	UGto.
Dr. Vicente Rodríguez González	Sinodal	IPICYT

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

MAESTRO EN NANOCIENCIAS Y MATERIALES

sustentó el C.

José Domingo Trujillo Casarreal

sobre la Tesis intitulada:

Desarrollo del sistema nanoestructurado de SiO₂/MNPs/Sulfametoxazol con propiedad antimicrobiana

que se desarrolló bajo la dirección de

Dr. Vicente Rodríguez González

El Jurado, después de deliberar, determinó

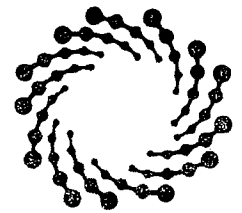
APROBARLO

Dándose por terminado el acto a las 13:55 horas, procediendo a la firma del Acta los integrantes del Jurado. Dando fe el Secretario Académico del Instituto.

A petición del interesado y para los fines que al mismo convengan, se extiende el presente documento en la ciudad de San Luis Potosí, S.L.P., México, a los 17 días del mes de noviembre de 2021.

Mtra. Ivonne Lizette Cuevas Vélez
Jefa del Departamento del Posgrado

Dr. Marcial Bonilla Marín
Secretario Académico



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

Dedicatorias

A mis padres, quienes han estado siempre conmigo apoyándome incondicionalmente pese a todo. Son por los que me esfuerzo para tratar de devolverles un poco de lo mucho que me han dado, muchas gracias.

A todos mis amigos con los que he pasado buenos momentos, por sus muestras y palabras de apoyo cuando lo necesitaba. Gracias, ya que en cierta forma se han convertido en los hermanos que nunca tuve.

Agradecimientos

Agradezco al Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A. C. por las facilidades prestadas, instalación e infraestructura, para la realización de este trabajo de tesis. Así también un agradecimiento a todo el personal de esta institución por todos los servicios proporcionados.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca No. 900449 otorgada para realización de mis estudios de Maestría.

Al proyecto Ciencia de Frontera CONACyT 101703 “Nanomateriales activos en aplicaciones de agricultura sustentable”, por su apoyo parcial.

Al Dr. Vicente Rodríguez González por el apoyo y dirección brindada para la realización de esta tesis, así como todo el conocimiento compartido en este proceso. Le agradezco también el haberme facilitado los medios suficientes para el desarrollo de esta tesis.

A mi comité tutorial, Dra. Olga Araceli Patrón Soberano y Dr. Francisco Elihu Bautista redonda por el tiempo, observaciones y consejos dados durante la presentación de los avances. Así como su apoyo en la recta final del proceso de titulación.

A los integrantes del jurado evaluador: Dr. Haret Codratu Rosu Barbus, Dr. Jorge Roberto Oliva Uc, Dr. Erick Díaz Cervantes y Dra. Tzipatly Angelica Esquivel Castro; por haber aceptado formar parte de este jurado y apoyar también en la revisión de la presente tesis, aportar comentarios y correcciones.

Al Dr. Jesús Israel Morales Jiménez del Consorcio de Investigación, Innovación y Desarrollo para las Zonas Áridas (CIIDZA) del IPICYT por su apoyo, conocimiento compartido y haber facilitado los recursos suficientes para la realización de los ensayos biológicos de esta tesis.

A la Biol. Mireya Guadalupe Sánchez Garza de la División de Biología Molecular y a la técnica Verónica Zárate Chávez del Laboratorio Nacional de Biotecnología Agrícola, Médica y Ambiental (LANBAMA) por haber facilitado equipos y recursos que apoyaron en la síntesis de los materiales.

Al Laboratorio Nacional de Investigación de Nanociencias y Nanotecnología (LINAN) por permitirme el uso de su infraestructura para la caracterización de los materiales. Especialmente a los técnicos del LINAN, Dr. Héctor Gabriel Silva Pereira, Dra. Gladis Judith Labrada Delgado, M. C. Beatriz Adriana Rivera Escoto y M.C. Ana Iris Peña Maldonado por el apoyo brindado en la caracterización.

Contenido

Constancia de aprobación de la tesis	i
Créditos institucionales	ii
Acta de examen	iii
Dedicatorias	iv
Agradecimientos	v
Abreviaturas	ix
Resumen	xi
Abstract	xii
Introducción	1
Hipótesis y objetivos	2
Capítulo 1. Marco Teórico	
1. Antecedentes	3
1.1. Resistencia antimicrobiana	3
1.1.1. Acciones tomadas ante la RAM	4
1.1.2. Alternativas de tratamiento ante la RAM	6
1.2. Usos terapéuticos de nanomateriales	7
1.2.1. Uso de nanomateriales contra bacterias	9
1.3. Óxido de silicio	11
1.3.1. Nanopartículas mesoporosas de SiO ₂ (MSN)	12
1.3.2. Síntesis de MSNs	13
1.4. Nanopartículas mesoporosas de silicio como sistemas antimicrobianos	15
2. Capítulo 2. Desarrollo experimental	18

2.1. Síntesis de materiales	
2.1.1. Síntesis de partículas porosas de SiO ₂ (MSN)	18
2.1.2. Síntesis de nanopartículas de plata (AgNPs)	19
2.1.3. Funcionalización de las MSN con nanopartículas de plata (MSN/AgNPs)	19
2.1.4. Síntesis de nanopartículas de cobre (CuNPs)	19
2.1.5. Funcionalización de las MSN con nanopartículas de cobre (MSN/CuNPs)	20
2.1.6. Síntesis de nanopartículas de sulfuro de cobre (CuS)	20
2.1.7. Funcionalización de las MSN con nanopartículas de sulfuro de cobre (MSN/CuS)	20
2.2. Caracterización de los materiales	
2.2.1. Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier	21
2.2.2. Espectroscopia Raman	21
2.2.3. Difracción de rayos X (DRX)	21
2.2.4. Microscopia electrónica de barrido (MEB)	22
2.2.5. Microscopia electrónica de transmisión (MET)	22
2.2.6. Fisorción de nitrógeno	22
2.2.7. Espectro ultravioleta-visible (UV-Vis)	23
2.3. Adsorción de sulfametoxazol (SMX)	
2.3.1. Curva de calibración de SMX	23
2.3.2. Adsorción	23
2.4. Evaluación de la actividad antimicrobiana	
2.4.1. Preparación de materiales para la prueba	24
2.4.1.1. Diluciones de SMX	23
2.4.1.2. Esterilización de los materiales	24
2.4.1.3. Diluciones de los materiales	24
2.4.1.4. Preparación del inóculo	25
2.4.2. Determinación de concentración mínima inhibitoria (CMI)	25

2.4.3. Cuenta viable por microdilución	26
3. CAPITULO 3. Resultados y Discusión	
3.1. Nanopartículas mesoporosas de silicio (MSN)	27
3.1.1. Microscopia electrónica de barrido	27
3.1.2. Difracción de rayos X	28
3.1.3. Espectroscopia IR-TF	29
3.1.4. Fisorción de N ₂	30
3.2. Nanopartículas mesoporosas de silicio y plata (MSN/AgNPs)	
3.2.1. Espectrofotometría UV-Vis y espectroscopia Raman	32
3.2.2. Microscopia electrónica de transmisión	32
3.3. Nanopartículas mesoporosas de silicio y cobre (MSN/CuNPs)	34
3.3.1. Espectro UV-Vis y DRX	34
3.3.2. Microscopia electrónica de transmisión	34
3.4. Nanopartículas mesoporosas de silicio y sulfuro de cobre (MSN/CuSNPs)	
3.4.1. Espectro UV-Vis y DRX	35
3.4.2. Microscopia electrónica de transmisión	38
3.5. Fisorción de nitrógeno de los tres nanocompositos	40
3.6. Adsorción de sulfametoxazol	42
3.7. Pruebas antimicrobianas	45
3.7.1. Determinación de concentración mínima inhibitoria de SMX	45
3.7.2. Determinación de concentración mínima inhibitoria de MSN/MNPs	46
3.7.3. Determinación de concentración mínima inhibitoria de MSN/MNPs/SMX	49
4. Conclusiones	55
5. Bibliografía	57

Abreviaturas

Ag⁺	Catión Plata 1+
AgNPs	Nanopartículas de plata
CMI	Concentración mínima inhibitoria
CuNPs	Nanopartículas de cobre
CuS NPs	Nanopartículas de sulfuro de cobre
CTAB	<i>Cetyltrimethylammonium bromide</i> , Bromuro de hexadeciltrimetilamonio
DRX	Difracción de rayos X
EDS/EDX	<i>Energy Dispersive X ray Spectroscopy</i> , Espectroscopia de rayos X de energía dispersiva.
Et-OH	Etanol
HAADF	<i>High-angle annular dark field detector</i> , Detector de campo oscuro anular de gran ángulo
IR-TF	Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
MEB	Microscopia electrónica de barrido
MET	Microscopia electrónica de transmisión
MNPs	Nanopartículas metálicas
MSN	<i>Mesoporous silica nanoparticles</i> , nanopartículas mesoporosas de silicio
NM	Nanomateriales
NPs	Nanopartículas
SAXS	<i>Small Angle X ray Scattering</i> , dispersión de rayos X a bajo ángulo
SBA	<i>Santa Barbara Amorphus</i>
SiO₂	Óxido de silicio
SiO₂ NPs	Nanopartículas de óxido de silicio

SMX

Sulfametoxazol

TEOS

Tetraetil ortosilicato

UV-Vis

Ultravioleta-visible

Resumen

Los materiales porosos a base de óxido de silicio (SiO_2) han adquirido atención relevante en diversas áreas entre las que destaca la medicina para su uso como vehículos de administración de fármacos en aquellos casos en los que la administración del fármaco sea difícil. En particular aquellos materiales de SiO_2 con porosidad ordenada denominados mesoporosos con un tamaño de poro entre 2-50 nm, esto se debe a que estos materiales presentan alta área superficial y tamaño de poro controlable, superficie funcionalizable y biocompatibilidad. En el caso de la terapia con antibióticos es preciso que estos al ingresar al organismo se mantengan por un largo periodo de tiempo, a la concentración adecuada y de preferencia lleguen principalmente al sitio de infección con el fin de evitar daños a tejidos y órganos sanos. Si le sumamos a nuestro vehículo una actividad antimicrobiana, favoreceríamos una acción conjunta denominada sinergismo entre el antibiótico y el vehículo. Por ello, el presente trabajo propone un sistema de nanopartículas mesoporosas de SiO_2 (MSN) como soporte de nanopartículas metálicas (MNPs) y el antibiótico sulfametoxazol (SMX). Se sintetizó por el método de Stöber modificado partículas de SiO_2 porosas y se caracterizaron por diferentes técnicas. Por IR-TF se detectó la presencia de los grupos funcionales silanol (Si-OH) y siloxano (Si-O-Si), así como agua adsorbida. Con MEB se observaron partículas esféricas de 154 nm de diámetro promedio. A través de fisisorción de N_2 se determinó que las partículas sintetizadas son mesoporosas con tamaño de poro de 3 nm, área superficial de $404 \text{ m}^2/\text{g}$ y volumen de poro de $0.42 \text{ cm}^3/\text{g}$. A partir de estas partículas, se crearon tres diferentes nanoestructuras, usando la superficie como soporte de AgNPs, CuNPs y CuSNPs. La presencia de estas MNPs se evidenció al detectar las bandas de plasmón superficial características en el espectro UV-Vis. Posteriormente se adsorbió el antibiótico SMX en estos tres sistemas por agitación con una cantidad de entre 11-16 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de material. Se probó la actividad antimicrobiana en las bacterias *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, obteniendo inhibición de crecimiento en los sistemas MSN/MNPs y al adicionar el SMX la actividad se presentó a concentraciones más bajas de material. *S. aureus* fue más susceptible al efecto de inhibición en comparación con *E. coli*, lo que nos lleva a pensar en una aplicación para afecciones dadas por esta bacteria.

PALABRAS CLAVE: Antimicrobiano; Nanopartículas; Óxido de silicio; Plata; Cobre; Sulfametoxazol; Sulfuro de cobre.

Abstract

Porous materials based on silicon oxide (SiO_2) have gained relevant attention in several areas, among which medicine stands out for their use as drug delivery vehicles in those cases where drug delivery is difficult. In particular, those SiO_2 materials with ordered porosity called mesoporous with a pore size between 2-50 nm, this is because these materials have high surface area and controllable pore size, functionalizable surface and biocompatibility. In the case of antibiotic therapy, it is necessary that when antibiotics enter the organism they are maintained for a long period of time, at the appropriate concentration and preferably reach mainly the site of infection in order to avoid damage to healthy tissues and organs. If we add to our vehicle an antimicrobial activity, we will favor a joint action called synergism between the antibiotic and the vehicle. Therefore, the present work proposes a system of mesoporous SiO_2 nanoparticles (MSN) as a support for metal nanoparticles (MNPs) and the antibiotic sulfamethoxazole (SMX). Porous SiO_2 particles were synthesized by the modified Stöber method and characterized by different techniques. By FT-IR the presence of silanol (Si-OH) and siloxane (Si-O-Si) functional groups was detected, as well as adsorbed water. Spherical particles with an average diameter of 154 nm were observed by SEM. Through N_2 physisorption, it was determined that the synthesized particles are mesoporous with a pore size of 3 nm, surface area of 404 m^2/g and pore volume of 0.42 cm^3/g . From these particles, three different nanostructures were created, using the surface as a support for AgNPs, CuNPs and CuSNPs. The presence of these MNPs was evidenced by detecting characteristic surface plasmon bands in the UV-Vis spectrum. Subsequently, SMX antibiotic was adsorbed on these three systems by agitation with an amount between 11-16 $\mu\text{g}/\text{mg}$ of material. The antimicrobial activity was tested on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria, obtaining growth inhibition in the MSN/MNPs systems and when SMX was added, the activity was present at lower concentrations of material. *S. aureus* was more susceptible to the inhibition effect compared to *E. coli*, which leads us to think of an application for conditions caused by this bacterium.

KEYWORDS: Antimicrobial; Nanoparticles; Silicon oxide; Silver; Copper; Copper sulfide; Sulfamethoxazole; Copper sulfide.

INTRODUCCIÓN

A partir del descubrimiento de la penicilina en los años cuarenta, se han obtenido, comercializado y utilizado gran cantidad de antimicrobianos, sin embargo, pronto se descubrió que las bacterias eran capaces de desarrollar mecanismos de resistencia y así en los años 50 ya se conocían cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a penicilina. De manera práctica, la bacteria es sensible a un antibiótico mientras sea eficaz frente a ella y exista la eliminación de la infección, por el contrario, es resistente cuando su crecimiento sólo puede ser inhibido a concentraciones superiores a las que el fármaco puede alcanzar en el lugar de la infección [1].

En la actualidad se ha encontrado un aumento en la aparición de cepas con una amplia resistencia a antibióticos, es decir, una misma bacteria ha adquirido mecanismos que evaden la acción de más de un antibiótico. A raíz de esto se ha optado por la invención de nuevos compuestos antimicrobianos que ayuden en el tratamiento de dichas cepas. Sin embargo, la capacidad de las bacterias a generar resistencia a nuevos compuestos es latente por lo que se requiere generar alternativas donde se disminuya esta posibilidad. Una de dichas alternativas se ha encontrado en la nanotecnología, específicamente en el desarrollo de nanoestructuras con efecto antimicrobiano intrínseco o a través de la adición de otros agentes en su superficie[2], [3]. Los nanomateriales como las nanopartículas mesoporosas de silicio o MSN (*mesoporous silica nanoparticles*) al ser biocompatibles, presentar una alta área superficial(>300m²/g), una estructura porosa con volumen y diámetro de poro controlable, las hacen ideales para su uso como vehículo y liberador de fármacos [4], [5].

Como una posible acción ante la problemática de la resistencia antimicrobiana, en este trabajo se exhibe la síntesis y caracterización de MSN esféricas como base de un nanosistema con actividad antimicrobiana. Dicho nanosistema incluye Ag NPs, CuNPs o CuSNPs y el antibiótico sulfametoxazol. Las nanopartículas metálicas de plata o cobre, al liberar iones metálicos alterarían la permeabilidad de la pared o membrana bacteriana facilitando la entrada del sulfametoxazol, produciendo un ataque por dos agentes a la vez lo cual dificultaría la generación de una resistencia. El uso conjunto de nanopartículas metálicas y un agente antimicrobiano permitirá observar si existe un

efecto sinérgico entre estos dos y si es así, lograr reducir las concentraciones que se requieren de forma individual para ambos agentes para generar una actividad antimicrobiana.

HIPÓTESIS

El sistema MSN/MNPs/SMX tiene como base partículas de SiO₂ esféricas mesoporosas con una alta área superficial, que permite su uso como vehículo de agentes antimicrobianos como nanopartículas metálicas (MNPs) y un antibiótico como el sulfametoxazol (SMX). Este nanosistema MSN/MNPs/SMX posee actividad antibacteriana debido al efecto sinérgico (actividad conjunta) dado por la liberación de iones metálicos y el SMX.

OBJETIVO

Sintetizar un nanosistema de nanopartículas mesoporosas de silicio, nanopartículas metálicas y sulfametoxazol (MSN/MNPs/SMX) con propiedad antimicrobiana.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Sintetizar nanopartículas de óxido de silicio (SiO₂) esféricas y mesoporosas (MSN)
- Sintetizar y caracterizar los nanosistemas de MSN/AgNPs, MSN/CuNPs y MSN/CuSNPs
- Incorporar el sulfametoxazol en los diferentes sistemas y cuantificar la concentración de antibiótico adsorbido
- Caracterizar el nanosistema MSN/MNPs/SMX
- Demostrar la actividad antimicrobiana de los nanosistemas MSN/MNP/SMX en *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*

CAPÍTULO 1. MARCO TEÓRICO

1. ANTECEDENTES

1.1. RESISTENCIA ANTIMICROBIANA (RAM)

Durante décadas, las infecciones han sido combatidas con fármacos antiinfecciosos. Sin embargo, en la actualidad las infecciones y lesiones leves pueden volverse letales debido al desarrollo de la resistencia antimicrobiana. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) en su sitio web, un microorganismo se considera resistente cuando ya no se ve afectado por los tratamientos estándar de antimicrobianos y no hay una mejoría en el paciente, por lo tanto, la infección es muy difícil de tratar y detener su propagación [6].

Sin antibióticos útiles es impensable realizar trasplantes, implantes, cirugías, resecciones, administración de quimioterapias e inmunosupresores; incluso las infecciones producidas por pequeñas laceraciones volverían a ser responsables de daños importantes y de muerte. Las intervenciones terapéuticas actuales en todas las áreas médicas se sustentan en la capacidad de prevenir o tratar las infecciones.

La aparición de bacterias resistentes y multirresistentes es un verdadero reto para la salud pública. El tratamiento de infecciones por este tipo de bacterias requiere de frecuentes administraciones intravenosas de altas dosis de antibióticos, las cuales causan serios efectos adversos, como afectaciones renales, hepáticas y hematopoyéticas. Incluso con tratamiento antibiótico agresivo, la erradicación completa de la infección bajo dichas condiciones es difícil de lograr debido a la capacidad de las bacterias para formar biopelícula, es decir, una comunidad microbiana adherida a una superficie y embebida en una matriz polimérica a la cual hay una nula o lenta penetración del antibiótico dando tiempo para que se genere respuesta ya sea entrando en estado de latencia o generando resistencia al antibiótico y como resultado los tratamientos son costosos y requieren más tiempo para la recuperación del paciente [7]–[9].

1.1.1. ACCIONES TOMADAS ANTE LA RAM

Ante esta problemática como primera intervención la OMS, organismos del sector salud y universidades en cada país han creado programas para educar y concientizar a la población sobre el uso de antibióticos, simultáneamente recomiendan maximizar las intervenciones que eviten infecciones como higiene y vacunación[10]. La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación y la Organización Mundial de Sanidad Animal, también se han sumado a este tipo de programas para limitar el uso de antibióticos en animales solo en caso de infección y no como un promotor de crecimiento, lo mismo se recomienda en el caso de la agricultura [11], [12].

Otro aspecto importante es la vigilancia de la resistencia para informar de tendencias de RAM en los microorganismos identificados. Un ejemplo de ello es el sistema de vigilancia global de la RAM que creó la OMS denominado GLASS (*Global AMR Surveillance System*) en el que hasta el año 2019 se tenían 91 países participantes contribuyendo [13]. Los objetivos de GLASS son:

- Fomentar los sistemas nacionales de vigilancia y las normas mundiales;
- Estimar el alcance y la carga de la RAM a nivel mundial mediante indicadores seleccionados;
- Analizar y notificar datos mundiales sobre la resistencia a los antimicrobianos de forma periódica;
- Detectar resistencias emergentes y su propagación internacional;
- Informar la implementación de programas específicos de prevención y control;
- Evaluar el impacto de las intervenciones

Aunque México no figura entre los países que integran el sistema GLASS, sí tiene programas para hacer frente a la RAM en el país. Uno de ellos es la Estrategia Nacional de Acción contra la Resistencia a los Antimicrobianos en México, publicado en el Diario Oficial de la Federación el 5 de junio de 2018 y cuya misión es propiciar el trabajo de colaboración con el fin de que en el país se haga un uso racional de antimicrobianos para la salud humana, salud animal y en los cultivos con el objeto de

reducir la diseminación de la RAM en los diferentes sectores de salud pública, agricultura y medio ambiente[14]. Además, la Universidad Autónoma de México (UNAM) tiene el Plan UCRA (Plan Universitario de Control de la Resistencia Antimicrobiana) el cual es un plan de acción para controlar la resistencia a los antimicrobianos en el país [15].

Finalmente, se han hecho esfuerzos en la investigación y el desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos para lo cual la OMS en colaboración con la División de Enfermedades Infecciosas de la Universidad de Tübingen (Alemania) ha elaborado una lista para guiar y promover la investigación y desarrollo de nuevos antibióticos, como parte de sus actividades para combatir el creciente problema mundial de la RAM [1]. La lista se divide en tres categorías:

1. Prioridad Crítica. Incluye bacterias multirresistentes especialmente peligrosas en hospitales, residencias de ancianos y entre pacientes que necesitan dispositivos como ventiladores y catéteres intravenosos. Las bacterias en este grupo son causantes de infecciones graves y a menudo letales:
 - *Acinetobacter baumannii*
 - *Pseudomonas aeruginosa*
 - Enterobacterias: *Klebsiella*, *Escherichia coli*, *Serratia*, *Proteus*

Los siguientes niveles incluyen bacterias que exhiben una farmacorresistencia creciente y provocan enfermedades comunes como la gonorrea o intoxicaciones alimentarias.

2. Prioridad Alta:
 - *Enterococcus*
 - *Staphylococcus aureus*
 - *Helicobacter pylori*
 - *Campylobacter*
 - Salmonela
 - *Neisseria gonorrhoeae*

3. Prioridad Media:

- *Streptococcus pneumoniae*
- *Hemophilus influenzae*
- *Shigella*

1.1.2. ALTERNATIVAS DE TRATAMIENTO ANTE LA RAM

Ante la problemática, se ha vuelto necesario explorar caminos nuevos y más efectivos para el tratamiento de infecciones bacterianas. Se están realizando estudios para encontrar alternativas como el uso de bacterias depredadoras [16], bacteriófagos [17], bacteriocinas [18], probióticos y prebióticos [19], etc. Sin embargo, hasta ahora, ninguno de ellos ha demostrado eficacia que es comparable a la de los antibióticos.

Otra solución es el diseño de nuevos antibióticos para los cuales las bacterias aún no han desarrollado resistencia, sin embargo, el problema es que, sin un cambio de comportamiento con respecto al uso de antibióticos, después de un corto tiempo, estos medicamentos dejarán de ser efectivos y el círculo vicioso volvería a su comienzo. Por lo tanto, la solución no es diseñar nuevos medicamentos continuamente, sino aumentar la durabilidad y efectividad de los que se conocen. Esto se puede lograr mediante el sinergismo antimicrobiano, es decir, el uso de dos antimicrobianos juntos para potenciar la actividad que tendrían en forma individual; o el uso de nanomateriales (NM), que en los últimos años han demostrado ser una gran alternativa en el tratamiento de infecciones y otras enfermedades [20]

1.2. USOS TERAPÉUTICOS DE NANOMATERIALES

De acuerdo a la lista de términos y definiciones ISO, los nanomateriales (NM) son definidos como aquellos con cualquier dimensión externa, interna o en su superficie en la escala nanométrica o nanoescala, es decir, la milmillonésima (10^{-9}) parte de un metro como podemos observar con los ejemplos presentados en la figura 1 [21].

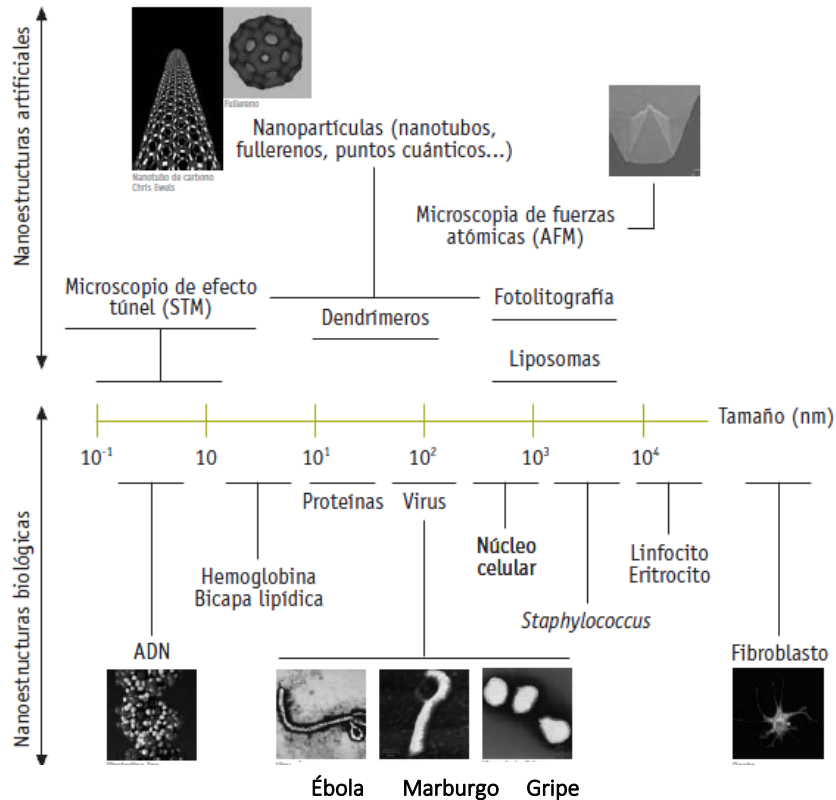


Figura 1. Ejemplos de nanoestructuras biológicas y sintéticas[22].

Los NM han sido aplicados en la medicina para crear nuevos métodos terapéuticos más rápidos, eficaces y específicos que los actuales, que además reduzcan al máximo los costos implicados en la administración de fármacos. (Yang et al., 2012). La oncología es la principal área de aplicaciones y la segunda área corresponde a las enfermedades infecciosas, aunque también se están realizando investigaciones en otras áreas terapéuticas tales como enfermedades del sistema nervioso central, cardiovasculares, patologías oculares, Alzheimer, entre otras [25]–[30].

Mediante la manipulación de fármacos y nanomateriales se puedan alterar las propiedades y la bioactividad de ambos. Esto puede permitir un control sobre las diferentes características de los fármacos o agentes: [31]

- Alteración de la solubilidad y del tiempo de retención de la acumulación en sangre
- Liberación controlada en períodos cortos o largos
- Liberación controlada desencadenada ambientalmente o entrega dirigida al sitio altamente específica

Lo anterior es gracias a que la relación superficie/volumen de las partículas se vuelve muy grande cuando el tamaño disminuye, de modo que las nanopartículas tienen una gran superficie adecuada para interacciones químicas con fármacos y biomoléculas, lo que implica el incremento de la cantidad de sitios de adsorción de un fármaco y sitios de interacción con el tejido o célula blanco favoreciendo la captación celular (Yang et al., 2012). También gracias al tamaño se favorece el transporte a través del torrente sanguíneo pudiendo llegar por circulación sanguínea hasta microcapilares, pueden llegar a atravesar el epitelio (por ejemplo, el tracto intestinal, el hígado y barrera hematoencefálica) produciendo una amplia distribución en el organismo para llegar a tumores [32].

Las diferentes formas de sistemas acarreadores a escala nanométrica o nanoacarreadores, incluyendo polímeros, dendrímeros, liposomas, puntos cuánticos o *quantum dots* (QDs) y nanopartículas inorgánicas, son sistemas de liberación de fármacos (SLF) prometedores [33]–[36]. Comparado con los tradicionales acarreadores de fármacos, las nanopartículas muestran mejor farmacocinética y biodistribución de los agentes terapéuticos, por lo tanto, se disminuye la toxicidad mediante el aumento de la concentración en el sitio blanco [37].

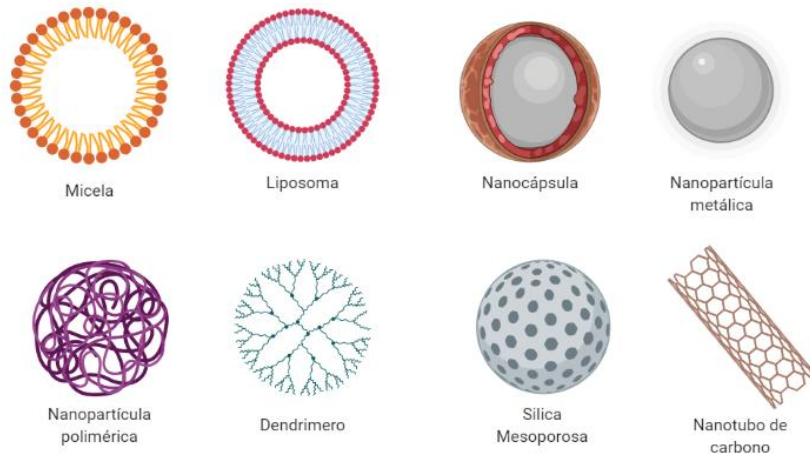


Figura 2. Representación de nanoestructuras usadas para el transporte y liberación de fármacos

1.2.1. USO DE NANOMATERIALES CONTRA BACTERIAS

La utilización de nanomateriales (NM) ha ganado terreno en el tratamiento de las infecciones bacterianas, sobre todo aprovechando los conocimientos generados por la investigación en nanomedicina relacionada con la oncología. Se ha informado que diferentes tipos de nanomateriales ofrecen ventajas en la reducción de la toxicidad aguda, la superación de la resistencia y la reducción del coste, en comparación con los antibióticos convencionales [38], [39].

La mayoría de los estudios realizados hasta la fecha se han centrado en las nanopartículas inorgánicas que contienen plata, oro, óxido de cobre, óxido de zinc, óxido de titanio y óxido de cerio como sistemas antibacterianos [4]. Estos materiales pueden ejercer intrínsecamente una actividad antibacteriana a través de múltiples modos de acción (figura 3), principalmente en su capacidad para liberar iones metálicos en el medio, generar especies reactivas de oxígeno (ERO) o producir algunos efectos fototérmicos [40]–[42]. Además, pueden ser utilizados como bloques de construcción en sistemas utilizados adicionalmente para la entrega eficiente de compuestos antibacterianos [43]. Estas estrategias permiten atacar a las bacterias en muchos frentes [44], lo que hace mucho más difícil que las bacterias desarrollen resistencia simultáneamente a todos los modos de acción. Además, también se tienen nanopartículas "punzantes" [45] o conjuntos moleculares en forma de estrella [46] para combatir la resistencia antibacteriana mediante métodos físicos, induciendo la

disrupción física de la pared celular bacteriana. Es importante destacar que estos nanomateriales que actúan físicamente pueden combinarse con estrategias químicas, es decir, cargar los fármacos en los mismos nanosistemas o utilizarlos en la terapia combinatoria, aumentando así su efecto de forma sinérgica [4].

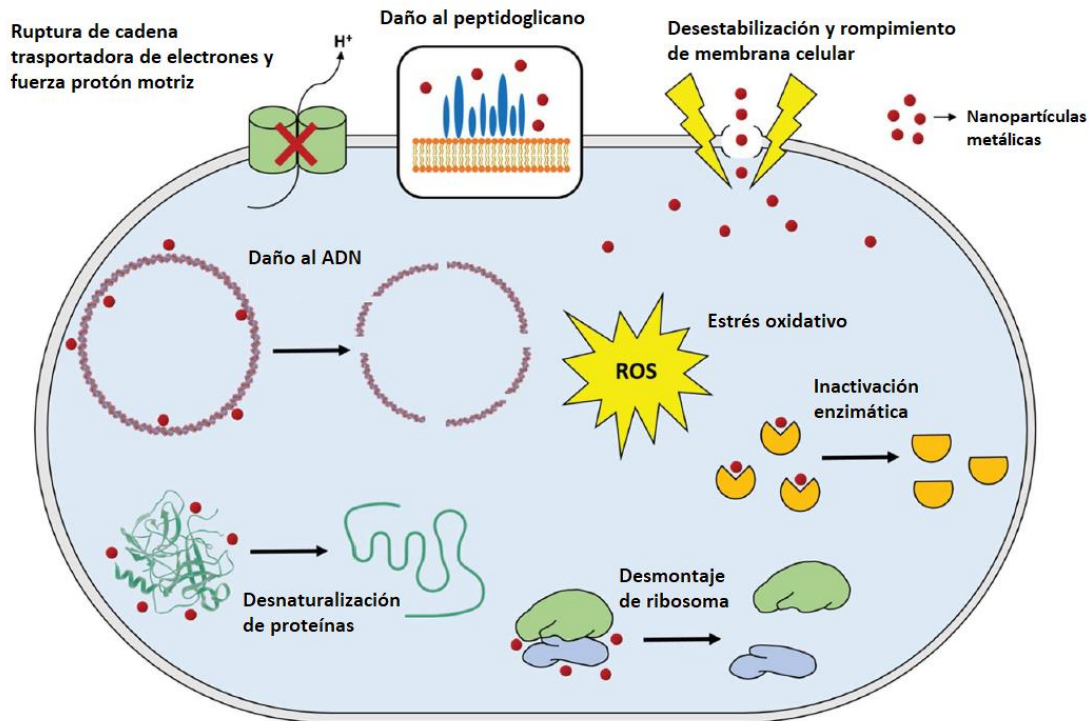


Figura 3. Mecanismos generales de acción antibacteriana de las nanopartículas metálicas.

Sin embargo, la forma en que cada tipo de NM destruye o afecta a las bacterias es dependiente de la composición del NM, así como de la cepa de la bacteria a tratar. Recientemente, se está dando cada vez más importancia al uso de diferentes nanomateriales para administración de fármacos y aunque pueden no tener un efecto antibacteriano *per se*, como en el caso de las nanopartículas metálicas, sí permiten la carga y liberación de antibióticos cuando sea necesario, mejorando su capacidad terapéutica [47], [48]. Los liposomas [49], las nanopartículas poliméricas [50] y los materiales de sílica mesoporosos (MSM) son algunos de los más comunes [51]. A pesar de su gran biocompatibilidad, los liposomas presentan poca estabilidad y baja capacidad de carga. Por otro lado, las nanopartículas poliméricas generalmente

presentan una liberación rápida de la carga, debido a la degradación de la cubierta del polímero, lo que dificulta su aplicación para tratamientos prolongados [52]. Ambos problemas pueden superarse mediante el uso de MSM, como las nanopartículas mesoporosas de silicio o MSNs (*mesoporous silica nanoparticles*) que son materiales que permanecen estables durante largos períodos y que tienen una gran área de superficie y un alto volumen de poro, lo que significa que tienen una gran capacidad de carga de diversas moléculas.

1.3. ÓXIDO DE SILICIO (SiO₂)

El óxido de silicio (SiO₂), comúnmente conocido como sílica, es uno de los materiales más abundantes en la tierra y existe en varias fases cristalinas (cuarzo, cristobalita, tridimita o asmanita) así como en la fase amorfa. Los compuestos cristalinos de sílica como el cuarzo, presentan patrones repetitivos de una unidad tetraédrica formada de silicio y oxígeno, mientras que, en los compuestos amorfos como el vidrio dicha unidad presenta un orden a corto alcance, es decir, la misma disposición no persiste en una distancia lo suficientemente larga como para permitir una predicción confiable de la ubicación de otro átomo [53], [54].

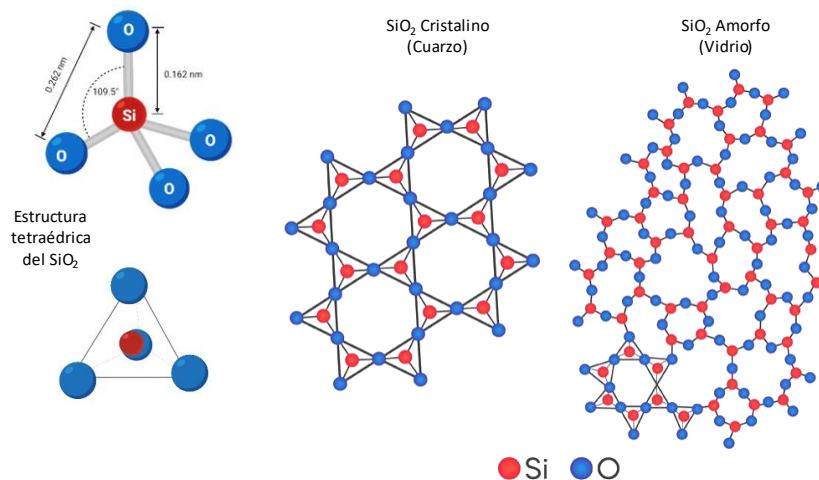


Figura 4. Representación de la estructura tetraédrica del SiO₂ y ejemplos de las fases cristalina y amorfa en la que puede presentarse.

Los materiales a base de silicio presentan diversas aplicaciones en particular en la industria alimentaria y farmacéutica [55], [56]. Estas áreas aprovechan la estabilidad mecánica, térmica y la química superficial de la sílica, la cual está determinada por la población de los grupos silanol (SiOH), siloxido (SiO^-) y siloxano (Si-O-Si) en la superficie (figura 4) y cuya población puede ser modificada mediante un proceso de calcinación sin alterar la estructura del material; o funcionalizar dicha superficie, es decir, agregar grupos funcionales para que la sílica presente estabilidad en ciertos medios o una interacción con moléculas de interés como por ejemplo un fármaco [57], [58]. Además, se ha demostrado la biocompatibilidad mediante diversos estudios de toxicidad, la FDA tiene considerada a la sílica amorfa como un material que no afecta la salud a diferencia de la sílica cristalina que si está incluida en la lista de sustancias peligrosas [59], [60].

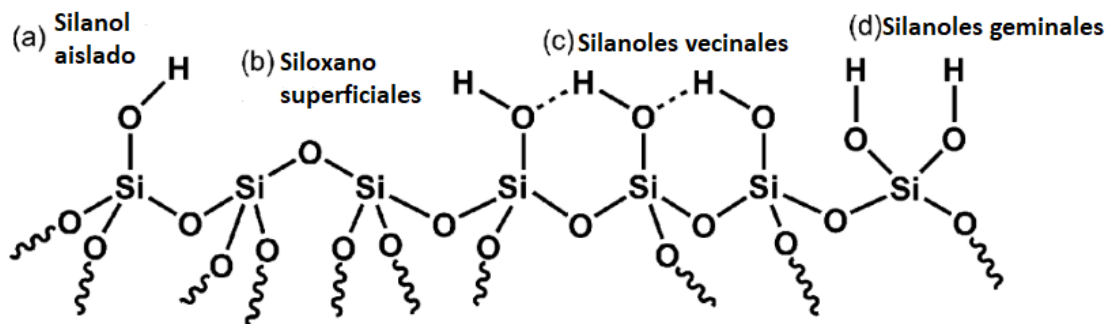


Figura 5. Tipos de grupos funcionales en la superficie de la sílica.

1.3.1. NANOPARTICULAS MESOPOROSAS DE SiO_2

De acuerdo a la IUPAC [61], los materiales porosos se clasifican en tres grupos dependiendo del tamaño de poro que presenten:

- Microporosos: <2 nm
 - Supermicroporo: 0.7-2 nm
 - Ultramicroporo: <0.7 nm
- Mesoporosos: 2-50 nm
- Macroporosos: >50 nm

Estos materiales pueden presentar disposición de poros ordenada, si existe tamaño, forma y orientación de poro bien definidas. Mientras que los materiales con porosidad

desordenada presentan una amplia distribución de tamaño, diferentes formas de poro y una orientación aleatoria de los mismos.

Actualmente las nanopartículas porosas de SiO₂ son un prometedor tipo de material con excelentes propiedades para la adsorción de diversas moléculas. Comparado con muchos materiales no porosos, las nanopartículas mesoporosas de silicio se caracterizan por tener una estructura rígida y estable, con poros homogéneos de tamaño ajustable durante la síntesis, un alto volumen de poro (>1 cm³/g), una alta área superficial (>300 m²/g) y fácil funcionalización de la superficie [56], [62]. Por estas características, son considerados excelentes candidatos como sistemas de entrega de fármacos, moléculas pequeñas e incluso proteínas o ácido desoxirribonucleico (ADN) [63]–[67].

Las nanopartículas mesoporosas de silicio o MSNs (*Mesoporous silica nanoparticles*) denominadas MCM (*Mobil Composition of Matter o Mobil Crystal Materials*), fueron producidas por primera vez en 1992 por los laboratorios de la Mobil Corporation [68]–[70]. Las partículas MCM-41 se prepararon usando una mejora del método de síntesis de Stöber [71]. Desde entonces, el estudio de las MSNs se ha incrementado rápidamente. En 2001, el material MCM-41 fue de los primeros MSNs propuestos como sistema de entrega de fármacos para la liberación prolongada de ibuprofeno [72].

1.3.2. SÍNTESIS DE MSNs

La morfología de los materiales mesoporosos de silicio puede ser modificada al controlar las condiciones de síntesis como la temperatura, pH, relación surfactante:silicio, tipo de surfactante y el tipo de fuente de silicio [73].

La síntesis de las MSNs se basa principalmente en el método de Stöber el cual comúnmente involucra hidrolisis y condensación de silanos en solución acuosa básica, ácida o neutra. La hidrolisis de los silanos (Si(OX)₄, donde X es típicamente orto etil u orto metil) y organosilanos ([X(O)₃Si]_n–R, donde R es un grupo orgánico, n≥1) en medio básico conduce a que especies reactivas de silanolatos (≡Si–O⁻) que condensan con

otros silanos para formar enlaces covalentes siloxano y progresivamente oligómeros más grandes [74]–[76].

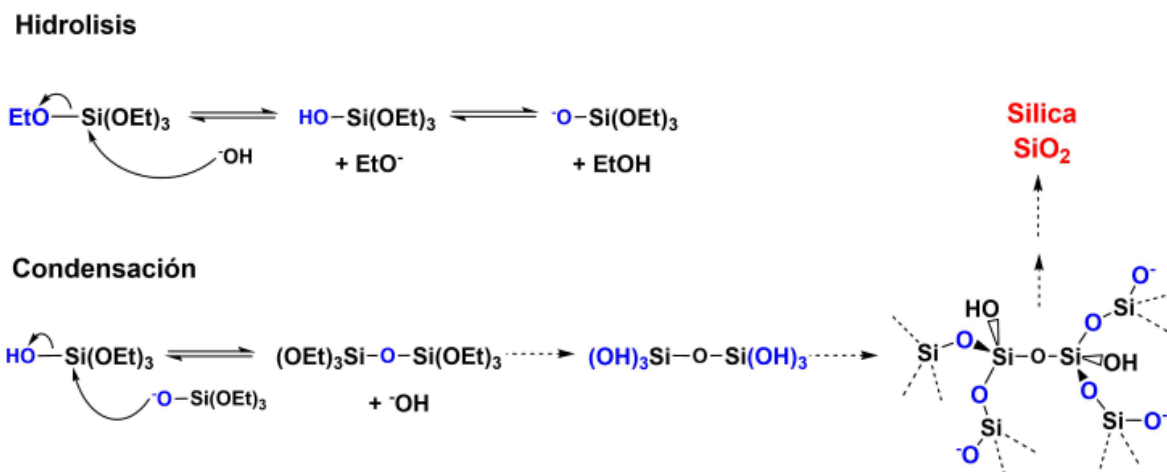


Figura 6. Reacciones de hidrolisis básica y condensación del tetraetilortosilicato que llevan a la formación de la sílica.

Para obtener un nanomaterial mesoporoso se usan surfactantes como el bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB), el cual, presenta una región polar conformada por el átomo de N y otra apolar perteneciente a la cadena hidrocarbonada (figura 7). En solución acuosa a una concentración por arriba de la concentración micelar crítica (CMC) de 0.9 mM [77], las moléculas de CTAB forman micelas con cargas positivas externas y con colas hidrófobas en el interior. Al seguir aumentando la concentración por arriba de la CMC las micelas esféricas se convierten en cilíndricas y al aumentar aún más la CMC se van formando empaquetamientos hexagonales de dichas micelas cilíndricas. Estas estructuras de surfactante actúan entonces como el soporte para las moléculas de silanolatos cargadas negativamente ($\equiv\text{Si}-\text{O}^-$) que son atraídas por la carga positiva ($-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), condensan más moléculas sobre estas primeras y lo mismo ocurre con el demás empaquetamiento de micelas en solución. La condensación del silicio produce la agregación de las micelas formando partículas más grandes que generan nanopartículas de silicio [78]–[80]. La eliminación de los restos de CTAB generalmente mediante calcinación, genera finalmente la partícula mesoporosa.

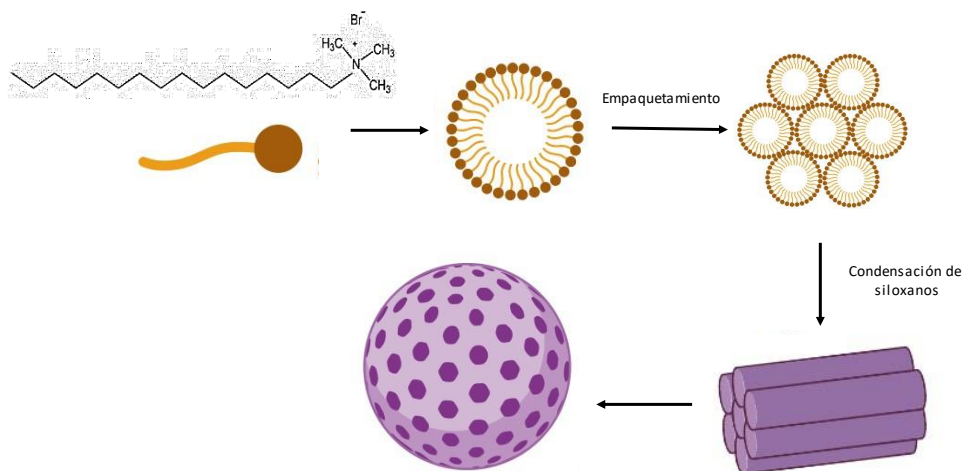


Figura 7. Proceso de formación de los poros de las MSN a partir de las micelas de CTAB.

1.4. NANOPARTÍCULAS MESOPOROSAS DE SILICIO (MSN) COMO SISTEMAS ANTIMICROBIANOS.

Las MSN pueden construirse como nanocompuestos antibacterianos para utilizarlos como nanopartículas antibacterianas inherentes y/o como sistemas de suministro de agentes antibacterianos. Dado que estas nanopartículas pueden atacar a los patógenos de múltiples maneras, incluyendo el daño físico a las membranas celulares, la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) y la actividad antimicrobiana inducida por la propia carga, la posibilidad para el desarrollo de resistencia antimicrobiana es bastante estrecha [81].

El tamaño y las funcionalidades de la superficie de las MSN pueden ajustarse para mejorar sus interacciones tanto con las bacterias planctónicas como con las de una biopelícula, así como para mejorar la penetración a través de la matriz de la biopelícula. Además, las MSN pueden interferir en la comunicación entre células bacterianas (*quorum sensing*) para evitar la formación de biopelículas [4]. Por consiguiente, las MSN pueden funcionar como una plataforma prometedora para superar los retos asociados a la lucha contra las infecciones bacterianas.

Metales tales como el cobre (Cu) y la plata (Ag) se han usado como agentes antiinfecciosos desde la antigüedad [82]–[84]. Sin embargo, solos, pueden presentar citotoxicidad en células y poseen pobres propiedades farmacocinéticas[85]. Las MSN se han usado en combinación con metales, para combinar la actividad antimicrobiana de estos con la biocompatibilidad y gran capacidad de carga de moléculas de las MSN [81], [86], [87]. Por lo tanto, los nanocompuestos antibacterianos basados en MSN se pueden diseñar ajustando la matriz de MSN para que ejerza propiedades antibacterianas depositando iones metálicos, nanopartículas ultrapequeñas (<10 nm) en la matriz de sílice o encapsulando nanopartículas de metal u óxido metálico en capas de sílice mesoporosa (Fig. 8) [4], [41].

La incorporación de Cu [88], [89] y Ag [44], [90] a las MSN ha probado su efectividad para aplicaciones antimicrobianas sin respuestas de toxicidad o proinflamatorias. Los estudios incluyen nanocompositos (nanomateriales formados por diferentes composiciones) de plata o cobre en los que el metal se encuentra como un núcleo metálico rodeado de una estructura porosa de SiO₂ o como MSN con iones o nanopartículas metálicas en la superficie. En estos casos se probó que la actividad antimicrobiana ejercida era gracias a mecanismos oxidativos y por liberación de iones metálicos y que la actividad era mayor en comparación con los nanomateriales metálicos solos.

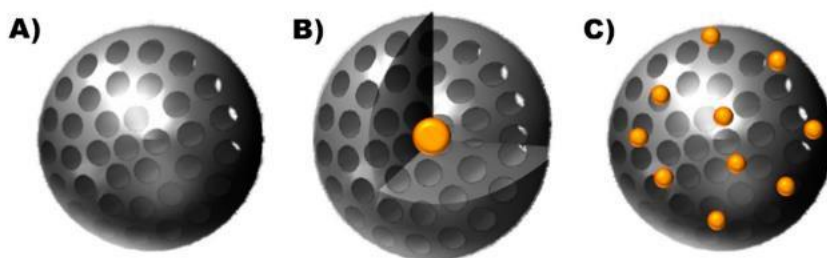


Figura 8. Formas de las MSN empleadas en aplicaciones antimicrobianas. A: MSN, B: núcleo metálico rodeada de sílice mesoporosa, C: nanopartículas metálicas en la superficie de la MSN. [41]

Por otro lado, una amplia variedad de antimicrobianos (antibióticos, péptidos y otras sustancias) pueden cargarse en las MSN dentro de los poros, en la matriz de la MSN

de forma covalente o no (interacciones electrostáticas o puentes de hidrogeno) e *in situ* durante la síntesis de las MSN quedando dentro de la matriz. Esto ofrece una solución a las preocupaciones asociadas con la resistencia, las barreras fisiológicas, como las enzimas o las proteínas séricas, y otras barreras funcionales, como la solubilidad o la toxicidad del fármaco [81], [91].

Dentro de los antibióticos que se han evaluado soportados en las MSN se encuentran: vancomicina [92], [93], gentamicina [94], [95], tetraciclina [96], polimixina B [97]; en los estudios en los que se emplearon dichas combinaciones se observó un incremento en la actividad antimicrobiana en comparación con las moléculas solas.

Por último, como se ha mencionado, la combinación de MSN con metales o antimicrobianos ha demostrado ser una alternativa prometedora para afrontar el problema de la resistencia antimicrobiana. Por ello recientemente también se han hecho algunos estudios sobre la combinación de los tres componentes en un solo nanocomposito o nanosistema para observar los efectos que tiene sobre diferentes bacterias [98]–[100] . Este último punto nos llevó a la investigación en esta tesis a probar los materiales sintetizados y observar si existe una actividad mejorada del antimicrobiano sulfametoxazol, el cual, por si solo solo tiene una actividad bacteriostática (detener crecimiento bacteriano) y necesita de la trimetoprima para que el conjunto sea bactericida (causar muerte bacteriana).

CAPÍTULO 2. DESARROLLO EXPERIMENTAL

A continuación, se presenta la lista de reactivos empleados en la síntesis de los diferentes materiales.

Tabla 1. Reactivos

Nombre	Fórmula	Especificaciones
Ácido etilendiaminotetraacético(EDTA)	$C_{10}H_{16}N_2O_8$	Sigma Aldrich
Agua desionizada	H_2O	-
Agua mili-Q	H_2O	-
Alcohol etílico absoluto	CH_3CH_2OH	
Borohidruro de potasio	KBH_4	Merck
Bromuro de hexadecil trimetilamonio (CTAB)	$C_{19}H_{42}BrN$	Sigma Aldrich (99%)
Citrato de sodio	$Na_3C_6H_5O_7$	Sigma Aldrich
Hidróxido de amonio	NH_4OH	Sigma Aldrich (28%)
Nitrato de cobre trihidratado	$Cu(NO_3)_2$ $*3H_2O$	Sigma Aldrich (98%)
Nitrato de plata	$AgNO_3$	Sigma Aldrich
Tetraetilortosilicato (TEOS)	$C_8H_{20}O_4Si$	Sigma Aldrich (98%)
Tioacetamida	C_2H_5NS	Sigma Aldrich

2.1. SÍNTESIS DE MATERIALES

2.1.1. SINTESIS DE PARTÍCULAS POROSAS DE SiO_2 (MSN).

Las MSN se obtuvieron por el método de Stöber modificado bajo un protocolo establecido previamente por el equipo de trabajo [101], donde se usó el tensoactivo bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB) para la formación de micelas en agua que participan como la base en donde se depositan las moléculas de Tetraetilortosilicato (TEOS) cuando se condensan al formar el enlace siloxano en medio básico. Tras eliminar el CTAB mediante una serie de pasos, se obtienen los poros dados por las

micelas de CTAB.

Se uso una solución acuosa de 400 mL de 4.4 mM de CTAB a pH básico (11) dado por la adición de 16 mL de NH_4OH . Se completo el volumen a 500 mL con H_2O y se agregó por goteo lento 17.14 mL de TEOS con agitación de 700 rpm subiendo la temperatura a 95°C durante el goteo, una vez alcanzada la temperatura dejar por 1 h para posteriormente centrifugar y lavar tres veces con $\text{EtOH-H}_2\text{O}$ (1:1). Se seco a $90^\circ\text{C}/12$ h y para eliminar el CTAB de la estructura de las nanopartículas se calcinó a $500^\circ\text{C}/4$ h con rampa de $1^\circ\text{C}/\text{min}$. Finalmente se filtró y lavó con $\text{EtOH-H}_2\text{O}$ con sistema de vacío para remover posibles remanentes de CTAB y se secó a $90^\circ\text{C}/12$ h.

2.1.2. SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA (Ag NPs)

La síntesis se realizó mediante la reducción química de nitrato de plata (AgNO_3) con citrato de sodio [102]. En un matraz bola de tres cuellos, se calentó hasta ebullición 100 mL de citrato de sodio 5mM en constante agitación de 650 rpm y se adicionó 1 mL de solución de AgNO_3 25 mM. Se dejó reaccionar hasta que la solución adquirió un color amarillo claro y se dejó enfriar.

2.1.3. FUNCIONALIZACIÓN DE LAS MSN CON NANOPARTÍCULAS DE PLATA (MSN/Ag NPs).

La síntesis de MSN/ Ag NPs se realizó con una síntesis asistida por luz ultravioleta (UV). Se hicieron los cálculos para tener un 0.5% de Ag en un total de 0.5 g de material. En 100 mL de EtOH se agregaron 4 mg de AgNO_3 , se llevó a sonicación por 1 min para ayudar a disolver y se adicionó 0.4996 g de las MSN para mantener la suspensión en agitación de 1000 rpm/2 h en total oscuridad y finalmente a 300 rpm/3 h bajo luz UV (264 nm). El material se recuperó filtrando con sistema de vacío y lavando con EtOH y después con $\text{EtOH-H}_2\text{O}$. Al final se secó a $90^\circ\text{C}/12$ h [103].

2.1.4. SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE COBRE (Cu NPs)

En 30 mL de agua se agregó 0.0625 g de sulfato de cobre y 0.025 g de polivinilpirrolidona (PVP-40) dejando en agitación magnética hasta completa disolución. Bajo constante agitación, agregar 20 mL de NaOH 0.15 M a temperatura

ambiente y dejar agitar por 10 min. Se agregó 0.002 g de EDTA y posteriormente 0.1 g de borohidruro de potasio, manteniendo en agitación de 600 rpm a 25°C/12h. Se centrifugó y se lavó con etanol absoluto, secando en estufa de vacío a 40°C/6h [104].

2.1.5. FUNCIONALIZACIÓN DE LAS MSN CON NANOPARTÍCULAS DE COBRE (MSN/Cu NPs).

La síntesis del compuesto de SiO₂/nanopartículas de cobre (Cu NPs) se realizó por impregnación. Se hicieron los cálculos para tener un 5% de Cu en un total de 0.2 g de material. Una solución de 10 mL de Cu(NO₃)₂*3H₂O (38 mg) y ácido cítrico (35.4 mg) ajustada a un pH de 9 con NH₄OH se agregó poco a poco a 0.2 g de SiO₂ agitando al finalizar la adición a 650 rpm/1h. Se deja secar a 120°C/12 h y se da tratamiento térmico a 400°C/4h.

2.1.6. SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE SULFURO DE COBRE (CuS)

En 100 mL de agua desionizada se agregaron 0.2126 g de Cu(NO₃)₂*3H₂O y se dejó en agitación a 400 rpm por 15 min, posteriormente se adiciono poco a poco 0.066 g de tioacetamida (C₂H₅NS) y se dejó en agitación por 30 min. Se paso la solución de color café claro a un tratamiento hidrotermal asistido por microondas a 180°C/2 h/400 rpm y 150 w de potencia. Al finalizar el baño hidrotermal, se dejó enfriar y se filtró la suspensión lavando varias veces con agua para finalmente poner a secar el precipitado a 90°C/12 h [105].

2.1.7. FUNCIONALIZACIÓN DE LAS MSN CON NANOPARTÍCULAS DE SULFURO DE COBRE (SiO₂/CuS NPs).

La síntesis del compuesto de SiO₂/nanopartículas de sulfuro de cobre (CuS NPs) se realizó por método hidrotermal asistido por microondas. Se hicieron los cálculos para tener un 5% de Cu en un total de 0.2 g de material. En 25 mL de agua se agregaron 38 mg de Cu(NO₃)₂*3H₂O y una vez disuelto se agregó poco a poco 11.8 mg de C₂H₅NS manteniendo la solución en 400 rpm de agitación por 15 min. Posteriormente se adicionó 0.2 g de SiO₂ previamente resuspendidos por sonicación en 25 mL de agua, se dejó agitar 15 min y se llevó al tratamiento hidrotermal a 180°C/ 2h/ 400 rpm/

150 w de potencia. El material se recuperó filtrando con sistema de vacío lavando con EtOH y posteriormente con EtOH-H₂O. Al final se secó a 90°C/12 h.

Tabla 2. Lista de materiales sintetizados y nomenclatura designada en el resto del texto.

MATERIAL	NOMENCLATURA
Nanopartículas mesoporosas de SiO ₂	MSN
Nanopartículas de plata	Ag NPs
Nanopartículas mesoporosas de SiO ₂ funcionalizadas con nanopartículas de plata	MSN/Ag NPs
Nanopartículas de cobre	Cu NPs
Nanopartículas de sulfuro de cobre	CuS NPs
Nanopartículas mesoporosas de SiO ₂ funcionalizadas con nanopartículas de cobre	MSN/Cu NPs
Nanopartículas mesoporosas de SiO ₂ funcionalizadas con nanopartículas de sulfuro de cobre	MSN/CuS NPs

2.2. CARACTERIZACIÓN DE LOS MATERIALES

Para la caracterización de los materiales se emplearon las siguientes técnicas:

2.2.1. Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (IR-TF).

Los materiales en polvo se secaron previamente en estufa a 90°C para posteriormente colocarlas en desecador. Cada material se analizó en un espectrómetro FT-IR Shimadzu con ATR, en un rango de 400-4000 cm⁻¹, 60 escaneos con una velocidad de barrido de 4 escaneos/s.

2.2.2. Espectroscopia Raman

En un portaobjetos se fijó un poco de material en polvo con la ayuda de cinta doble cara. Se llevo al microscopio óptico acoplado con el equipo Microraman-Renishaw y se hizo incidir un láser de 514 nm de longitud de onda, colectando las señales en un rango de 500-3500 de *Raman shift*.

2.2.3. Difracción de rayos X (DRX).

Los materiales en polvo se analizaron con el equipo XRD Smartlab de la marca

RIGAKU que emplea un tubo de Cu ($\lambda=1.54184$ nm), un detector de alta velocidad “D/teX Ultra” y un filtro para rayos CuK β . Se realizo la lectura con un intervalo de barrido de 10-90° en 2 θ , 40 kV y 44mA, la velocidad angular del goniómetro fue de 0.1°/s.

2.2.4. Microscopia electrónica de barrido (MEB)

Una pequeña cantidad de cada material fue suspendido en isopropanol y se sonicó hasta la completa dispersión, posteriormente una gota de la suspensión se colocó en un pin de aluminio para observarlo en el Microscopio Electrónico de Barrido Dual Beam (FIB/SEM) FEI-Helios Nanolab 600. Se observo la morfología y tamaño empleando un detector de electrones TLD y con el fin de hacer un análisis semicuantitativo elemental de los materiales se empleó el detector de electrones retrodispersados vCD. El tamaño de partícula promedio se determinó mediante un conteo de alrededor de 100 nanopartículas con el software ImageJ y un análisis estadístico posterior.

2.2.5. Microscopia electrónica de transmisión (MET).

Con esta técnica se buscó caracterizar la presencia y tamaño de las estructuras metálicas de Ag y Cu sobre las MSN. Un poco de muestra en polvo se colocó en un tubo de 1.5 mL y se sonicó para generar un polvo más fino. Después se puso en contacto una rejilla de cobre con este polvo y se llevó a observación en el microscopio electrónico de transmisión de alta resolución FEI-TECNAI F30 empleando campo oscuro (DAACO).

2.2.6. Fisisorción de nitrógeno.

Se realizo con el fin de determinar las propiedades texturales de los materiales. En el equipo de fisisorción Quantachrome modelo NOVAe 3200, las muestras fueron sometidas a desgasificación con una temperatura de 200°C por 18h. Posteriormente fueron analizadas usando nitrógeno a una temperatura de 77 K para obtener isotermas en un rango de P/P0 de 0.005-0.095 con 30 puntos de adsorción y 29 de desorción en modo He. El área superficial total, volumen total y tamaño promedio de poro se determinaron analizando los datos de la isoterma con un método basado en la Teoría Funcional de la Densidad o DFT (*Density Functional Theory*) usando el modelo de cálculo de N₂ a 77 K en silicio con poro cilíndrico y variante NLDFT.

2.2.7. Espectro Ultravioleta-Visible (UV-Vis)

En un espectrofotómetro de UV-Vis-NIR (Cary 5000 series, Agilent Technologies) las muestras en polvo o en solución se analizaron para evidenciar la presencia de Ag NPs, Cu NPs, CuS NPs y de SMX adsorbido en las MSN mediante la observación de las bandas del espectro UV-Vis características en un rango de longitud de onda de 250-800 nm.

2.3. ADSORCIÓN DE SULFAMETOXAZOL (SMX)

2.3.1. CURVA DE CALIBRACIÓN DE SMX

Se construyó una curva de calibración con el fin de determinar la cantidad de SMX presente en una solución para los experimentos de adsorción, para ello primero se obtuvo el espectro de absorción UV-Visible del SMX en solución etanólica para obtener la longitud de onda de absorción máxima ($\lambda_{\text{máx}}$), una vez obtenida se leyeron las absorbancias de diferentes soluciones con cantidades conocidas de SMX (33.00, 16.50, 8.25, 4.13, 2.06, 1.03, 0.52 y 0.0 $\mu\text{g/mL}$). A partir de estos datos con el programa Origin se construyó la gráfica y se obtuvo la ecuación de la recta formada por la tendencia lineal de los datos, esta ecuación sirvió para determinar la cantidad de SMX en los sobrenadantes obtenidos después de los experimentos de adsorción.

2.3.2. ADSORCIÓN

Con respecto a la adsorción de SMX se siguió una metodología de adsorción por agitación donde se colocó 21.4 mg de SMX en 5 mL de etanol (4280 $\mu\text{g/mL}$) y posteriormente se adicionó 40 mg de material, se llevó a sonicar 6 min y se dejó en agitación de 700 rpm/72 h tapando la boca del recipiente con papel parafilm para evitar evaporación. Una vez pasado este tiempo, la suspensión se centrifugó a 4000 rpm/15 min y se colectó el sobrenadante a partir del cual se hicieron diluciones para poder leer estas en el espectrofotómetro y determinar la cantidad de SMX adsorbido en el material de manera indirecta usando la ecuación de la recta de la curva de calibración y tomando en cuenta el factor de dilución acumulado. Por otro lado, el material se llevó a secar a 40°C/12 h en estufa de vacío.

2.4. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

Para determinar la concentración mínima inhibitoria de SMX y los diferentes materiales se emplearon como microorganismos de prueba la bacteria Gram negativa *Escherichia coli* ATCC 25922 y la Gram positiva *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

2.4.1. PREPARACIÓN DE MATERIALES PARA LA PRUEBA

2.4.1.1. DILUCIONES DE SMX

51.2 mg de SMX se disolvieron en 1 mL de dimetilsulfoxido (DMSO), se homogenizo con vortex y se filtró con membrana de politetrafluoroetileno (PTFE) de 0.2 μm de poro. A esta solución se le hicieron diluciones seriadas 1:2 para obtener las demás soluciones de trabajo.

2.4.1.2. ESTERILIZACIÓN DE LOS MATERIALES

Previo a realizar las pruebas de actividad antimicrobiana, los materiales se sometieron a un tratamiento con luz ultravioleta ($\lambda = 254 \text{ nm}$) por 2 h dentro de una campana de flujo laminar para eliminar posibles fuentes de contaminación presentes. Después de este tratamiento una pequeña cantidad de cada material se agregó a un tubo estéril de 1.5 mL con 400 μL de caldo Müller-Hinton (MH) y se incubo a 37°C por 48 h. Al pasar las 48 h, se tomaron 10 μL del medio con material y se inocularon por extensión en superficie en una caja de Agar Müller-Hinton y se incubaron a 37°C por 48h. Después de la incubación se busco la presencia de algún indicio de crecimiento microbiano (colonias), si no presenta ninguno quiere decir que el proceso de esterilización se llevó a cabo de forma exitosa.

2.4.1.3. DILUCIONES DE LOS MATERIALES

Se prepararon de la siguiente manera:

Se peso 20.5 mg de cada material, se suspendió en 1 mL de caldo MH y se dispersaron las nanopartículas con ayuda de vortex y posteriormente baño sónico, a partir de esta suspensión se realizó una dilución 1:10 obteniendo una concentración de 2050 $\mu\text{g/mL}$. A partir de aquí se realizaron diluciones 1:2 para tener la serie de concentraciones a

probar. El resto de la suspensión madre de cada material se guardó en refrigeración a -70°C .

2.4.1.4. PREPARACIÓN DEL INÓCULO

A partir de un crecimiento bacteriano en agar Müller-Hinton se prepararon los inóculos de cada bacteria. Para ello, se resuspendieron colonias en solución salina 0.9% hasta obtener una absorbancia de 0.1 a una longitud de onda de 600 nm lo cual equivale al tubo 0.5 del nefelómetro de McFarland, obteniendo una suspensión bacteriana del orden de 10^8 células o UFC/mL. A partir de esta suspensión se realizó una dilución 1:20 obteniendo el inóculo final [106], [107].

2.4.2. DETERMINACIÓN DE CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA (CMI)

Todos los experimentos se realizaron por triplicado. En el caso del SMX, en una placa de 96 pozos se colocaron 100 μL de caldo MH en cada pozo a emplear más 1 μL de las soluciones de SMX previamente preparadas, teniendo al final las siguientes concentraciones a analizar: 512, 256, 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0.5, 0.25, 0.12, 0.06 y 0.03 $\mu\text{g/mL}$. Por último, cada pozo se inoculó con 10 μL del inóculo final, como control negativo se dejó el medio sin inocular y como control positivo medio inoculado. Para los materiales, se colocó 50 μL de caldo MH y se adicionó 50 μL de la suspensión con material, las concentraciones finales a probar fueron de 1025, 512, 256, 128, 64, y 32 $\mu\text{g/mL}$. Cada pozo se inoculó con 10 μL del inóculo final, como control negativo se dejó el medio sin inocular y como control positivo medio inoculado. La placa se metió a incubar a $37^{\circ}\text{C}/24\text{h}$ con agitación constante de 160 rpm y pasado este tiempo se realizó la lectura visual y se realizó una cuenta viable a partir del pozo con la CMI. En el caso del SMX, al ser un agente bacteriostático, la CMI se tomó en el pozo que se tenga un crecimiento del 80% con respecto al control de crecimiento [106]–[108].

2.4.3. CUENTA VIABLE POR MICRODILUCIÓN

Del pozo determinado como la posible CMI y los controles de crecimiento, se homogenizo 8-10 veces con la micropipeta, se tomó una alícuota de 10 µL y se colocó en 90 µL de solución salina 0.9%. A partir de aquí se hicieron diluciones seriadas 1:10 dependiendo de la turbidez del pozo se llevaba hasta 10⁻⁶ o 10⁻⁷. En una placa de agar MH se inoculó por goteo 10 µL de las cuatro últimas diluciones de cada pozo, se dejó absorber la gota y se incubo. Después de la incubación a 37°C por 8h, se contaron las colonias y se realizaron los cálculos para determinar las UFC/mL [106]–[108].

$$UFC/mL = \text{No. de colonias} \times \frac{1}{\text{mL sembrados}} \times \text{Factor de dilución} *$$

*Factor de dilución acumulado de la suspensión de la que se tomo la muestra sembrada

$$\text{Ej.: } UFC/mL = 13 \times \frac{1}{0.01 \text{ mL}} \times 100 = 1.3 \times 10^5 \text{ UFC/mL}$$

100 es el factor de dil. acumulado de la suspensión 10⁻³, es decir 3 dil. seriadas de 1:10

CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. NANOPARTÍCULAS MESOPOROSAS DE SILICIO (MSN)

3.1.1. Microscopia electrónica de barrido

En la figura 9A se muestra una micrografía obtenida por MEB de electrones retrodispersados de las partículas de SiO₂ sintetizadas. Pude observarse la morfología esférica de las partículas con un valor de diámetro promedio de 154 nm con un rango de tamaños de 80 a 260 nm. Estos resultados concuerdan con los resultados obtenidos previamente en el grupo de trabajo [101], partículas esféricas con un diámetro similar. De acuerdo a la literatura, el tamaño es uno de los factores de toxicidad de las partículas de silicio, en particular, aquellas menores de 70 nm con mayor cantidad de efecto citotóxico por producción de especies reactivas de oxígeno en diferentes líneas celulares [109]. El tamaño obtenido se aleja de la posibilidad de causar daños por lo que se pueden emplear en sistemas biológicos.

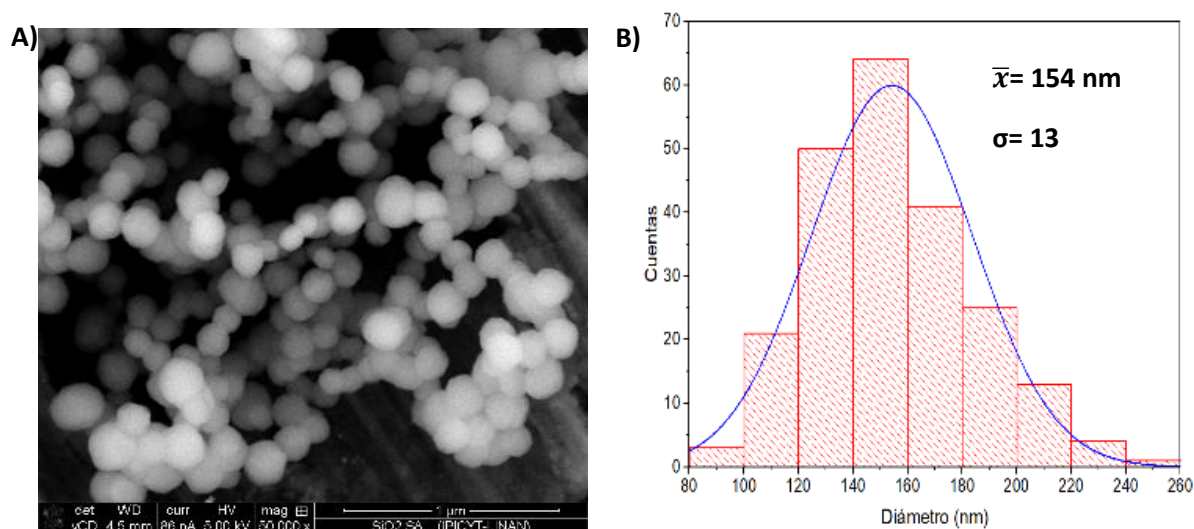


Figura 9. Morfología y diámetro de las MSN. A) Imagen de MEB (ER) de las MSN a un aumento de $\times 50,000$. B) Histograma de distribución de diámetro de las partículas; diámetro promedio de $154 \pm 13 \text{ nm}$ ($N=120$).

3.1.2. Difracción de rayos X

Mediante la técnica de DRX se obtuvo el difractograma de la figura 10 donde observamos una señal ancha con una intensidad máxima a 22° (2θ) que se corresponde a la carta cristalográfica JCPDS 00-029-0085 del SiO_2 , este difractograma nos confirma la ausencia de impurezas y la evidencia de tener un material con baja cristalinidad, es decir, con un orden a corto alcance de las moléculas que lo constituyen.

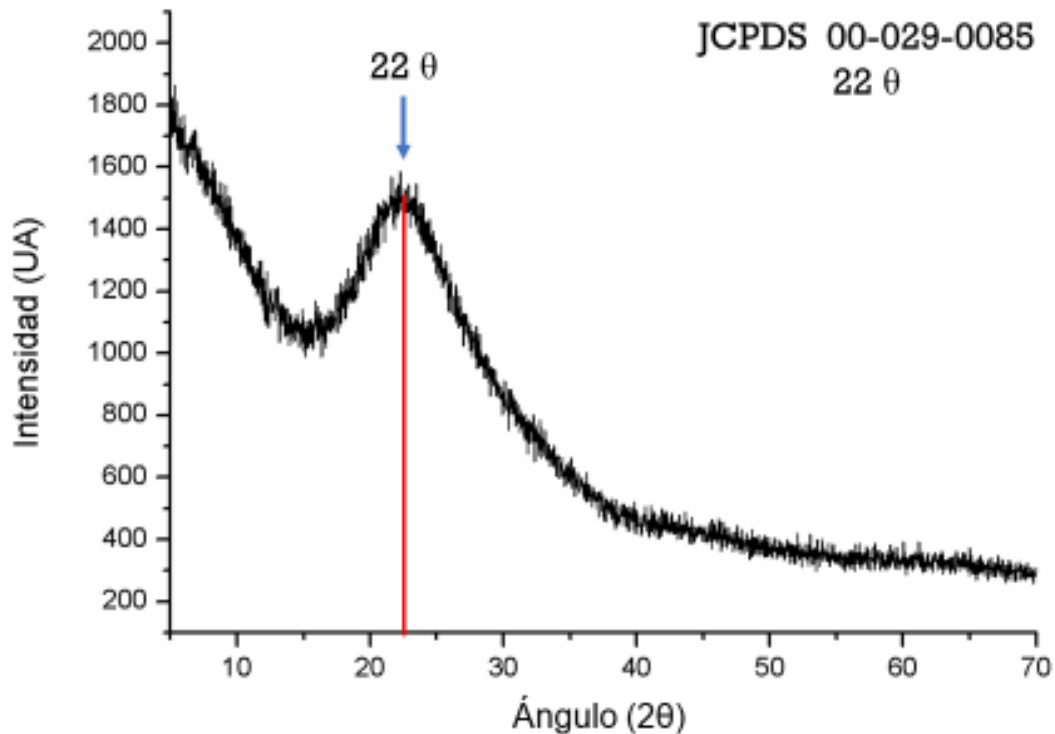


Figura 10. Difractograma de las partículas de SiO_2 sintetizadas. En rojo se marca la señal dada en la carta cristalográfica 00-029-0085 de la sílica.

En materiales cristalinos, el orden y periodicidad de sus átomos hace que al incidir los rayos X, estos sean desviados produciendo fenómenos de interferencia, tanto constructiva como destructiva. La mayoría de las dispersiones destructivas, cancelándose entre sí, pero debido a la periodicidad de los átomos, ciertas dispersiones se suman de forma constructiva en unas pocas direcciones específicas, generando un difractograma con señales angostas. Nuestro material no presenta esta periodicidad, por lo que hay una mayor cantidad de desviaciones de la radiación y una

mayor cantidad de interferencias constructivas por lo que se colecta mayor cantidad de señales dando una señal más ancha como observamos en el difractograma de nuestras partículas.

El ancho de la señal del difractograma se debe al tamaño de nuestra partícula (154 nm), ya que de acuerdo con la ecuación de Scherer, el ancho de la señal es inversamente proporcional al tamaño de partícula, es decir, conforme aumenta el tamaño de partícula o se aleja de lo nanométrico (>100 nm) la señal se ensancha.

Tener partículas de SiO₂ con baja cristalinidad es algo deseable ya que se ha observado que presenta baja toxicidad en sistemas vivos en comparación con las formas altamente cristalinas [110], [111].

3.1.3. Espectroscopia IR-TF

En la figura 11 se muestra el espectro infrarrojo de las MSN, con el cual se identificaron las vibraciones características de los grupos funcionales en la superficie del material sin la presencia de restos de CTAB. De acuerdo con la literatura, el espectro obtenido concuerda con el espectro que se obtiene para partículas de silicio. Se identificaron entre 455-466 cm⁻¹ vibraciones de balanceo del enlace Si-O de la red estructural de Si-O-Si. Vibraciones de estiramiento simétrico de enlaces siloxano Si-O-Si se identificaron en 800 cm⁻¹, en el rango de 1080-1100 cm⁻¹ y 1238 cm⁻¹ vibraciones de estiramiento antisimétrico transversal y longitudinal respectivamente. Por último los grupos silanol (Si-OH) se pueden identificar por las vibraciones de estiramiento del enlace Si-O en 950-960 cm⁻¹ y las vibraciones del grupo hidroxilo (O-H) en la zona de los 3000-3600 cm⁻¹ [112], [113]. Con respecto a los grupos silanol, se observa que las señales detectadas son menores en comparación con los siloxanos, lo cual se debe al proceso de calcinación para eliminar el CTAB, en este proceso a la temperatura empleada (500°C) se pierden silanoles de la estructura de la partícula. Además, se observa un pico a 1640 cm⁻¹ perteneciente al OH del agua esto debido a que el agua del ambiente tiende a ligarse fuertemente al material aun después de los secados.

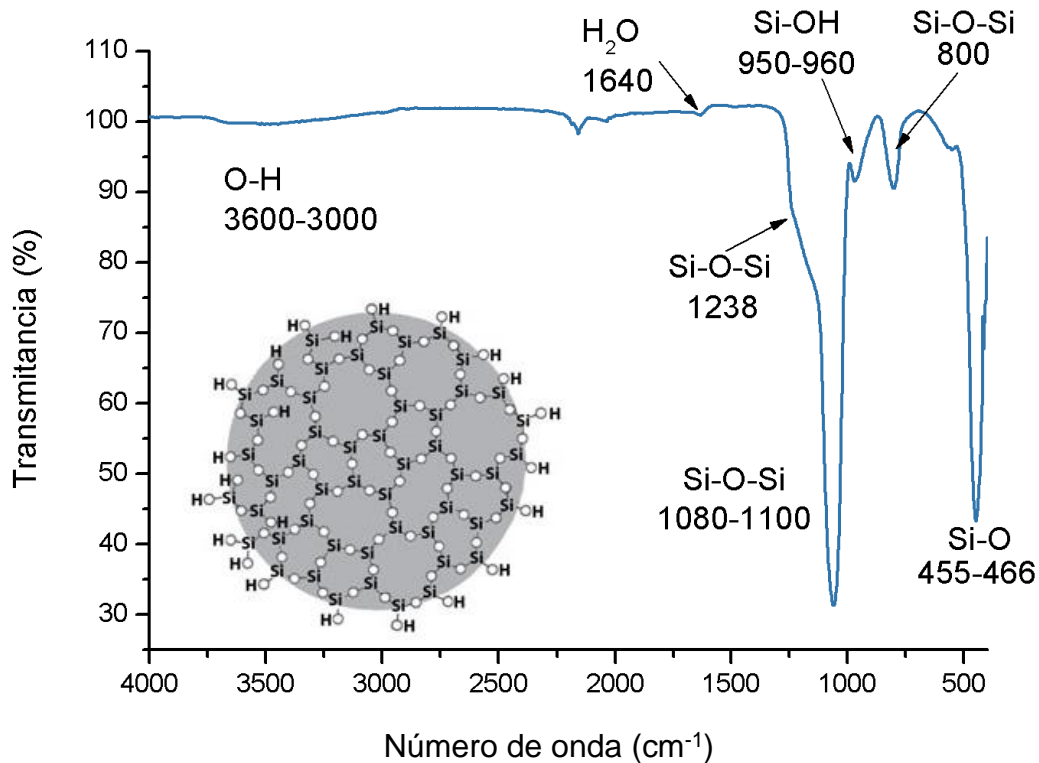


Figura 11. Espectro IR-TF de las partículas de SiO₂ sintetizadas.

3.1.4. FISISORCIÓN DE N₂

La isoterma de adsorción-desorción de 40 puntos (figura 12a) que tienen las partículas sintetizadas presentan una forma de isoterma del tipo IV que de acuerdo a la clasificación de la IUPAC [61] pertenece a materiales mesoporosos, es decir, con poros entre 2-50 nm. En la primera porción de la adsorción hasta una presión relativa de 0.3 se presenta la etapa de formación de la monocapa en la superficie del material y el cambio brusco se debe a una condensación del nitrógeno dentro de los poros y el comienzo de la multicapa. También se observa una histéresis de adsorción-desorción la cual ocurre porque la transición líquido-gas es un proceso termodinámico de mayor energía que lo que ocurre en la condensación del gas en la adsorción, por lo que la liberación del gas del interior del poro es más lenta y de tipo H1 que de acuerdo con la IUPAC se trata de materiales con poros cilíndricos y con un elevado grado de uniformidad del tamaño de poro [61]. Además, se sabe que este tipo de histéresis entre más cerca se presente en valores bajos de presión relativa, nos indica que podría

haber contribución de microporos. Los datos de la isoterma se analizaron por el modelo basado en DFT (*Density Functional Theory*), ya que con la teoría BET (Brunauer–Emmett–Teller) solo se contemplan mesoporos y en caso de microporosidad, los datos obtenidos por dicho análisis nos podrían arrojar errores significativos [61]. En el análisis basado en DFT, el modelo de calculo que mejor se ajustó al material describe un tipo de porosidad cilíndrica (NLDFT con N₂ a 77 K en silicio con poro cilíndrico). Después del análisis el área superficial específica fue de 404 m²/g. El diámetro promedio de poro de 3.8 nm con un intervalo de poros de 2-5 nm (figura 12) y un volumen de poro de 0.42 cm³/g. de acuerdo con la literatura, los materiales porosos de SiO₂ sintetizados por la misma ruta presentan características cercanas a las obtenidas con el material sintetizado[101], [114]. Lo que indica que la ruta de síntesis empleada en esta investigación es adecuada para sintetizar partículas mesoporosas.

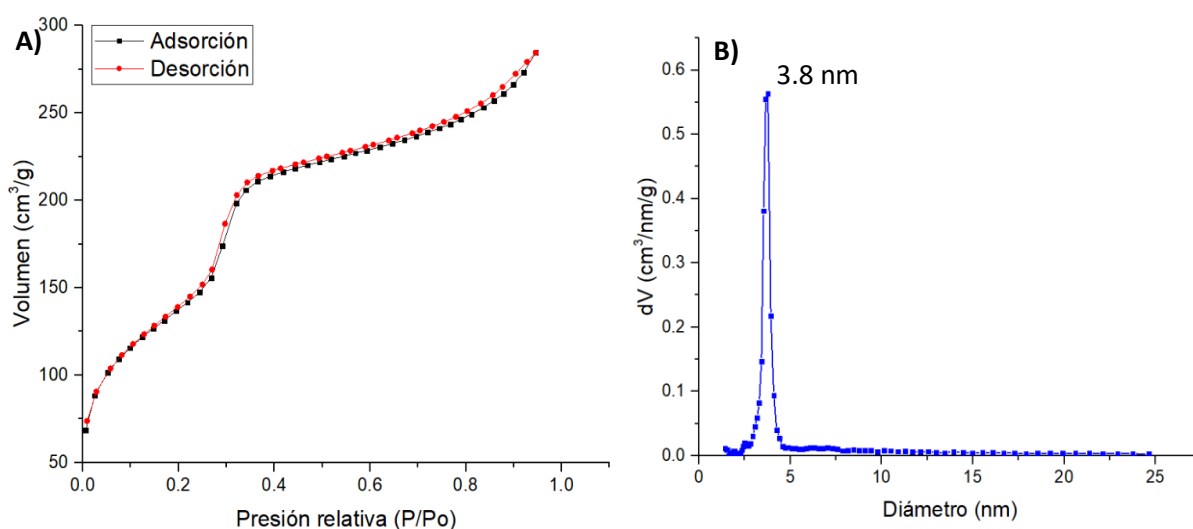


Figura 12. A) Isotherma de adsorción-desorción de N₂ de las partículas porosas de SiO₂ y B) grafico de diámetro de poro (DFT) (B).

Tabla 3. Resultados de la caracterización por fisisorción de N₂ de las MSN.

PARÁMETRO	RESULTADO
Área superficial	404 m ² /g
Diámetro de poro	3.8 nm
Volumen de poro	0.42 cm ³ /g
Modelo de análisis	N ₂ a 77 K en sílica con poros cilíndricos basado en NLDFT.
Error de ajuste del modelo	0.354%

3.2. NANOPARTÍCULAS MESOPOROSAS DE SILICIO Y PLATA (MSN/Ag NPs)

3.2.1. Espectrofotometría UV-Vis y Espectroscopia Raman

Con respecto a las MSN/Ag NPs, para evidenciar la presencia de nanopartículas de plata se llevó a cabo la obtención del espectro UV-Vis usando como blanco MSN para observar únicamente la banda de resonancia de plasmón correspondiente a las AgNPs. Dicha banda se produce por el movimiento de los electrones de conducción en las partículas como consecuencia de la incidencia del campo eléctrico de luz, que provoca un desplazamiento de las cargas negativa y positiva en el metal [115]. En el espectro UV-Vis (figura 13A) se obtuvo una banda de plasmón con una longitud de onda máxima a 390 nm lo cual se corresponde con el rango de 395-440 nm reportado para las AgNPs [115]. El valor de 390 nm se asemeja al teórico para nanopartículas de un tamaño de 1 nm. Además, se analizó por espectroscopia Raman (figura 13B) obteniendo una señal dada por la plata alrededor de los 1600 nm al hacer incidir el láser repetidamente en la misma área para excitar las nanopartículas de plata, demostrando una vez más la presencia de la plata.

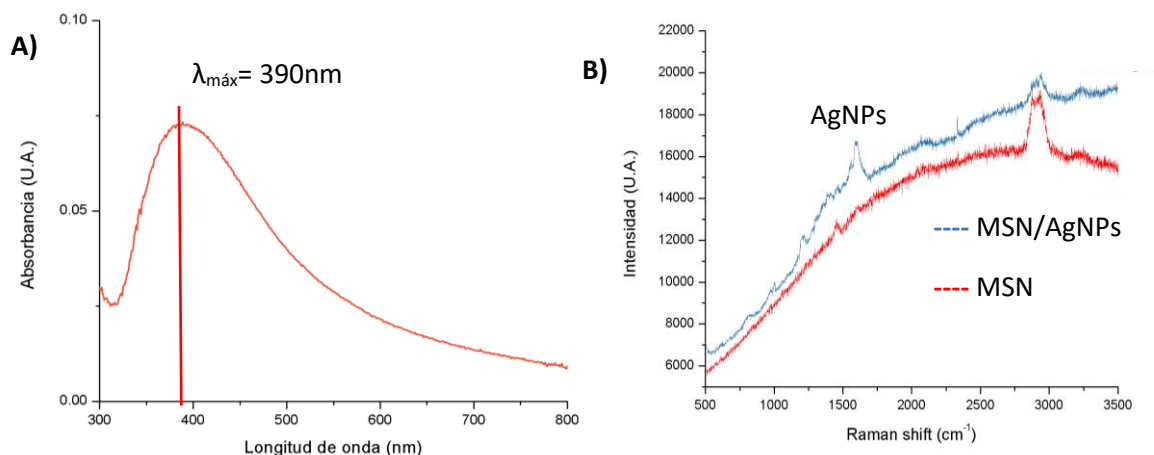


Figura 13. A) Espectro UV-Vis de las MSN/AgNPs y B) Espectro Raman de las MSN/Ag

3.2.2. Microscopia electr3nica de transmisi3n

Por MET usando la t3cnica de contraste Z se logr3 observar la porosidad de las part3culas de SiO₂. En la t3cnica de contraste Z se obtienen micrograf3as (en forma de un “negativo”) cuyas zonas m3s brillantes corresponden a una gran cantidad de materia (mayor densidad o mayor n3mero at3mico). Gracias a esto se pueden

distinguir AgNPs (encerradas en amarillo) debido a su mayor número atómico, con un tamaño aproximado de 1.6 nm y dispersas en la superficie de las MSN. Mediante un análisis semicuantitativo EDX se comprobó la incorporación de Ag NPs en las MSN.

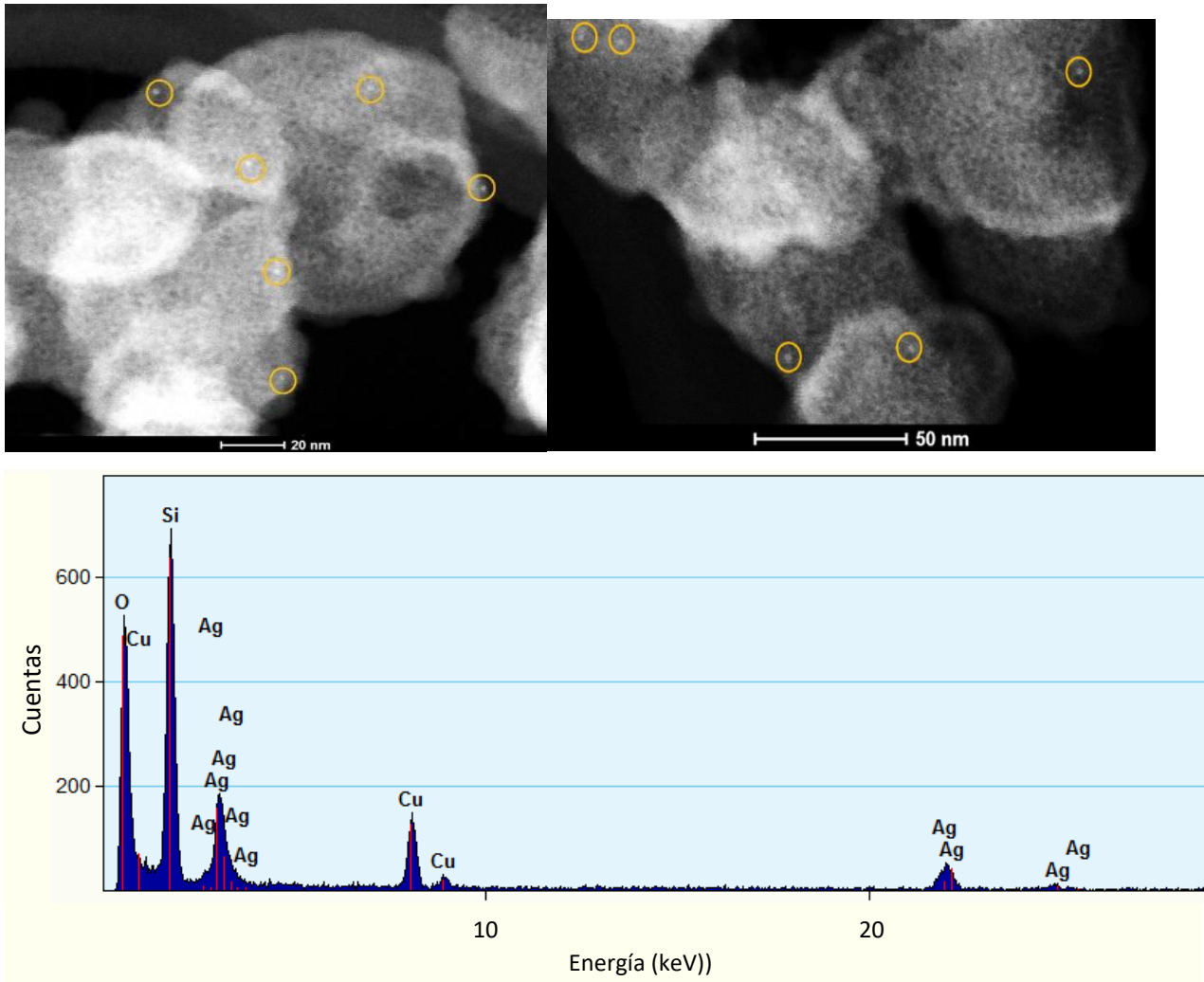


Figura 144. Micrografías de las MSN/Ag NPs obtenidas por contraste Z con detector HAADF y análisis EDX.

3.3. NANOPARTÍCULAS MESOPOROSAS DE SILICIO /COBRE (MSN/CuNPs).

3.3.1. Espectro UV-Vis y DRX

En la figura 7A se muestra el espectro de UV-Vis de la muestra sintetizada (rojo) y una muestra de referencia (azul), en ambos casos se presenta una señal a 226 nm que pertenece al óxido cuproso Cu_2O [116],[117] mientras que la señal que comienza a aparecer a los 600 nm se podría dar por el óxido cúprico CuO [118], con lo anterior demostramos que el Cu en el compósito está en forma de óxidos. En la figura 7B se presenta el difractograma del compósito con Cu, sin embargo, la única señal que se observa a simple vista es la dada por el SiO_2 , esto debido a que la cantidad de los compuestos de Cu en el material es baja (5% p/p) y por ello el equipo no es capaz de diferenciar las señales de estos y el SiO_2 .

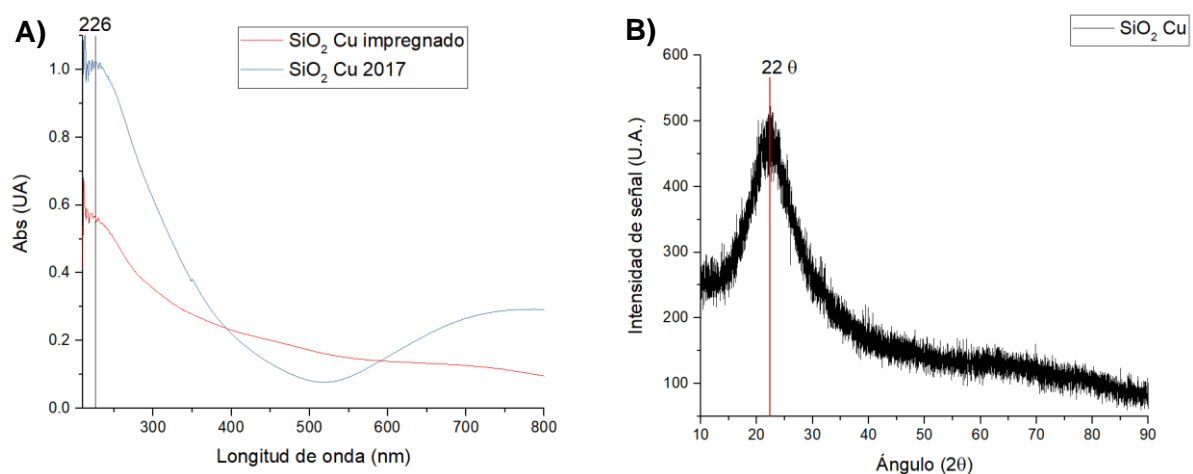


Figura 155. A) Espectro UV-Vis y B) difractograma de las MSN/CuNPs.

3.3.2. Microscopia electrónica de transmisión

El análisis elemental EDS del sistema SiO_2/CuNP (figura 16) nos demuestra la presencia de cobre y a través de la microscopia de barrido (figura 17) se pudieron observar nanopartículas de SiO_2 con nanopartículas de Cu aparentemente esféricas distribuidas uniformemente en la superficie, con un tamaño de partícula promedio de 3.7 nm.

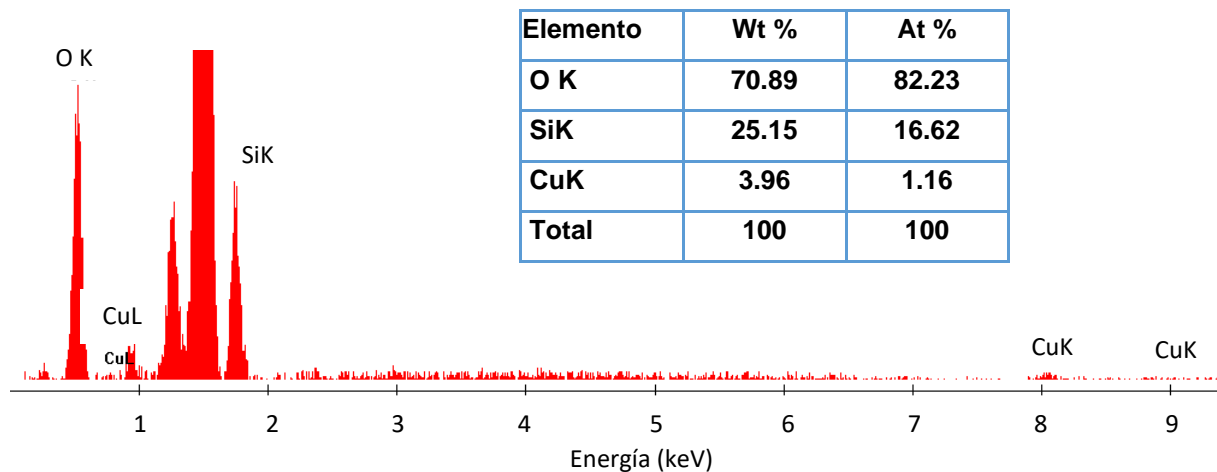


Figura 16. Análisis EDS de las MSN/CuNPs.

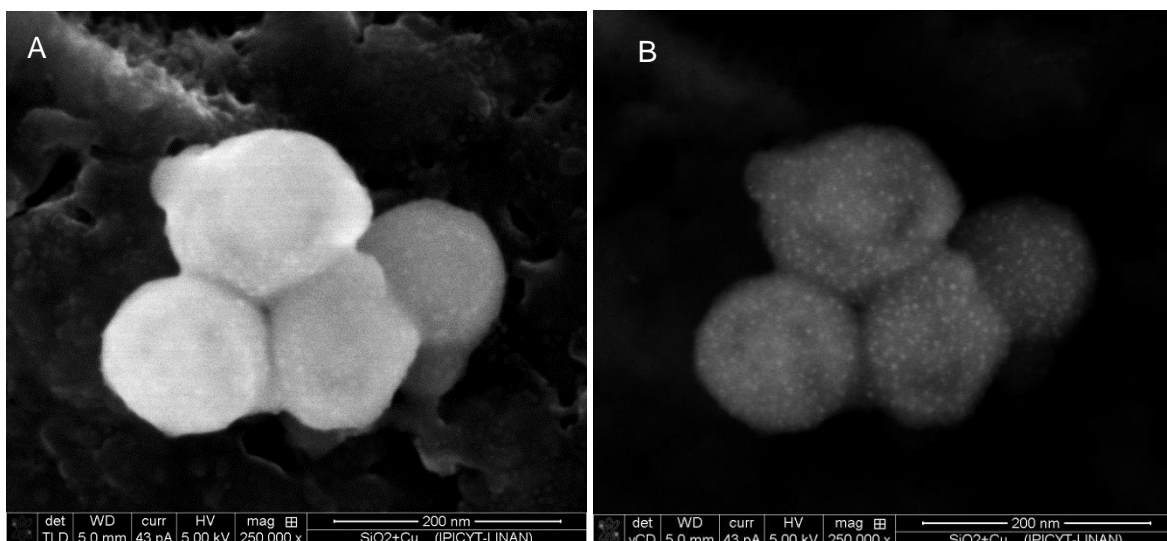


Figura 17. Imágenes de microscopía electrónica de barrido de las nanopartículas de SiO_2/Cu ; en electrones secundarios (A) y retrodispersados (B).

3.4. NANOPARTÍCULAS MESOPOROSAS DE SILICIO/SULFURO DE COBRE (MSN/CuSNPs)

3.4.1. Espectro UV-Vis y DRX

En la figura 18A se muestra el espectro UV-Vis de las CuS NP (rojo) y el compuesto SiO_2/CuS NP, mostrando similitud y presentando una señal de absorción máxima a 800 nm lo cual concuerda con el rango de 800-1200 nm descrita para nanopartículas

de CuS[119], [120]. En la figura 18B se muestra el difractograma el cual muestra claramente la señal dada por el SiO₂ y una señal muy débil en intensidad en un ángulo de 48 que posiblemente se deba a la señal con mayor intensidad que presenta el CuS en su difractograma mostrado en la figura 11. En dicho difractograma se demuestra que el compuesto sintetizado presenta una sola fase y concuerda con la carta cristalográfica con número 00-006-0464 perteneciente al CuS en la forma denominada covalita.

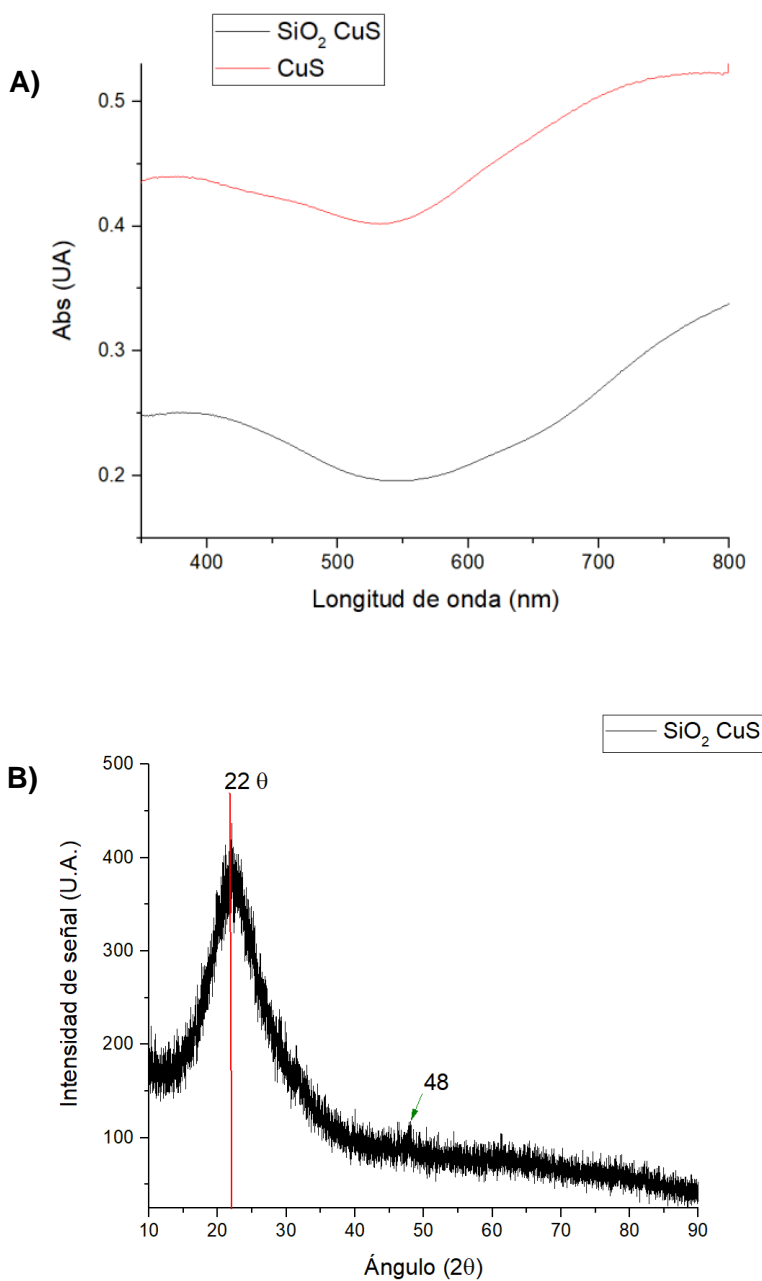


Figura 18. A) Espectro UV-Vis y B) difractograma de rayos X de las MSN/CuSNPs.

3.4.2. Microscopia electrónica de transmisión

En la figura 20 se muestra el análisis EDS del CuS sintetizado como referencia, se observa la presencia de Cu, S y una pequeña cantidad de O que nos podría estar indicando la presencia de óxido de cobre. A través de las imágenes de microscopia electrónica de barrido, el material se observa principalmente como un aglomerado de nanopartículas con una variedad de formas y tamaños.

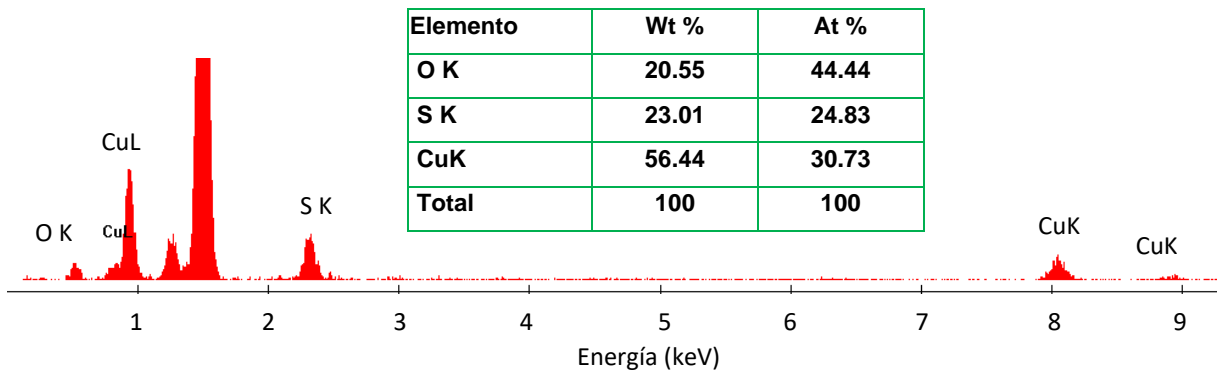


Figura 20. Análisis EDS de las CuSNPs.

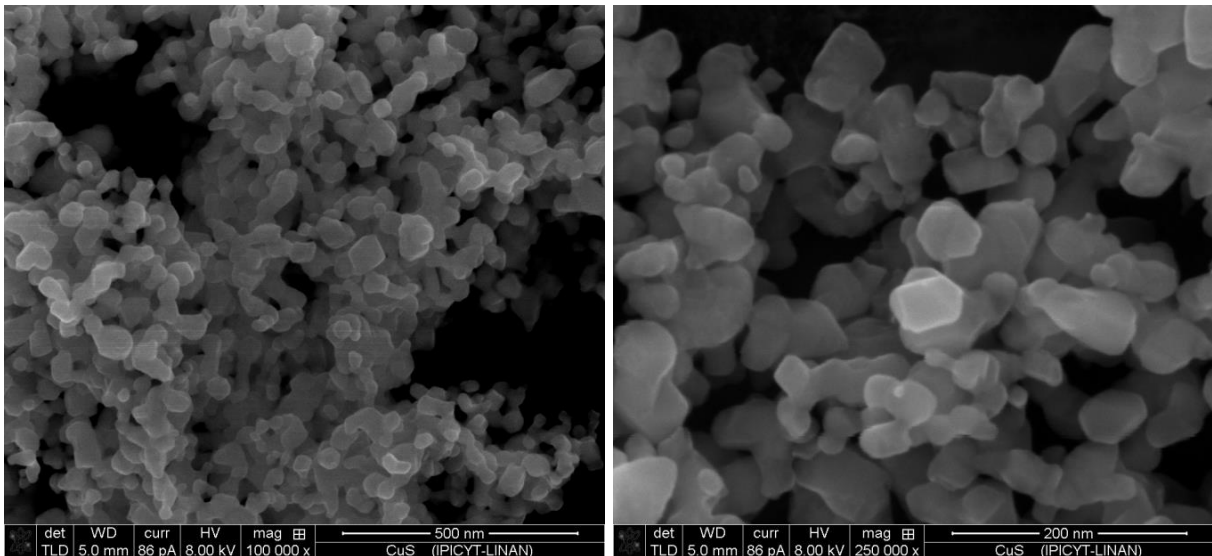


Figura 21. Imágenes de MEB de las CuSNPs.

En el caso del sistema MSN/CuSNPs, mediante análisis EDS se detecta la presencia del CuS y SiO₂. con las imágenes de microscopia a diferencia de los dos anteriores sistemas, observamos que las nanopartículas de CuS (figura 23) están en forma de aglomerados entre las nanopartículas de SiO₂ y no distribuidas en la superficie. Esta última observación se podría deber a que el método de síntesis por hidrotermal asistido por microondas este afectando a la unión a la superficie de las SiO₂ NPs además que el CuS tiende a generar aglomerados que precipitan durante la síntesis.

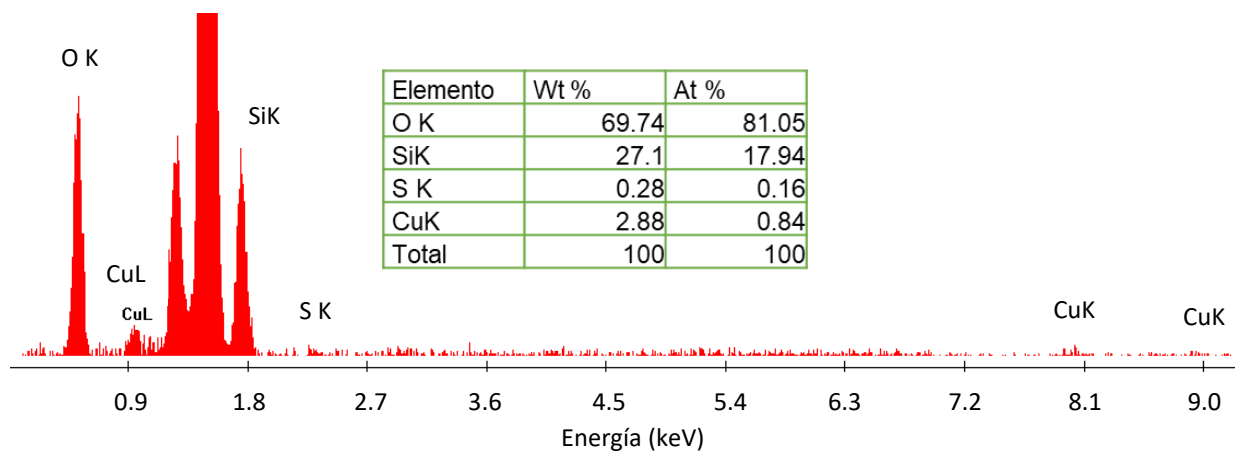


Figura 22. Análisis EDS de las MSN/CuSNPs.

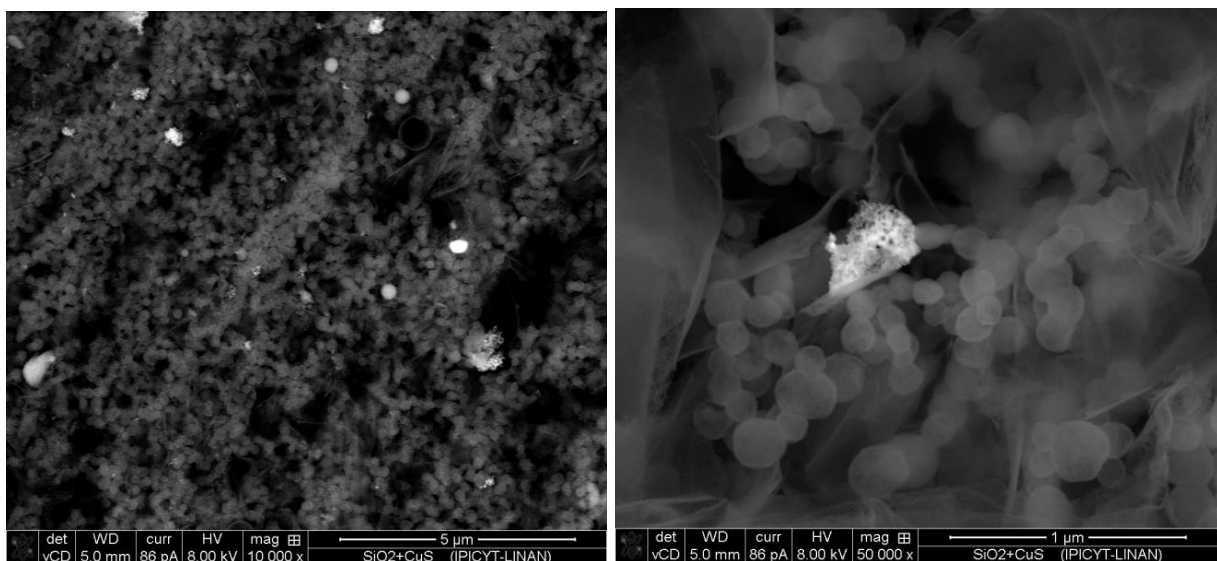


Figura 23. Imágenes de MEB (electrones retrodispersados) de las MSN/CuSNPs.

3.5. FISISORCIÓN DE NITRÓGENO DE LOS TRES NANOCOMPOSITOS

Para saber si la presencia de las diferentes nanopartículas metálicas en nuestra nanopartícula de SiO₂ afectaría su área superficial y con ello su capacidad de adsorción de antibiótico se realizó fisisorción de nitrógeno a los tres sistemas como se observa en la figura 14, a partir de las cuales se obtuvieron los resultados de la tabla 1 usando el modelo DFT.

En primer lugar, no se ve afectado en ninguno de los sistemas el diámetro de poro al estar presentes las nanopartículas metálicas, sin embargo, si hay cambios en otros datos como a continuación se explica. La combinación con AgNPs presenta un aumento del volumen adsorbido de nitrógeno con respecto al material base de SiO₂, además de incrementar de 406 a 450 m²/g el área superficial debido a que las AgNPs de un tamaño de 1.6 nm aportan área superficial extra al sistema. En el caso del sistema de Cu, debido a que las nanopartículas de Cu están en toda la superficie como se observó en la microscopia, es posible que este tapando algunos poros de la nanopartícula de SiO₂ lo que nos lleva a disminuir el área superficial y a su vez el volumen de nitrógeno adsorbido. Hasta este punto los sistemas anteriores conservan la forma de isoterma tipo IV de material mesoporoso y una histéresis tipo I, sin embargo se ve un poco modificada al pasar al sistema con CuS, esto es porque como se ha visto por microscopia el CuS está en forma de nanopartículas aglomeradas y así aportan posiblemente espacios entre estos aglomerados que nos producen un aumento en el volumen de poro y al momento de ocurrir la desorción en estos aglomerados es un proceso más lento que nos lleva a un ensanchamiento de la histéresis.

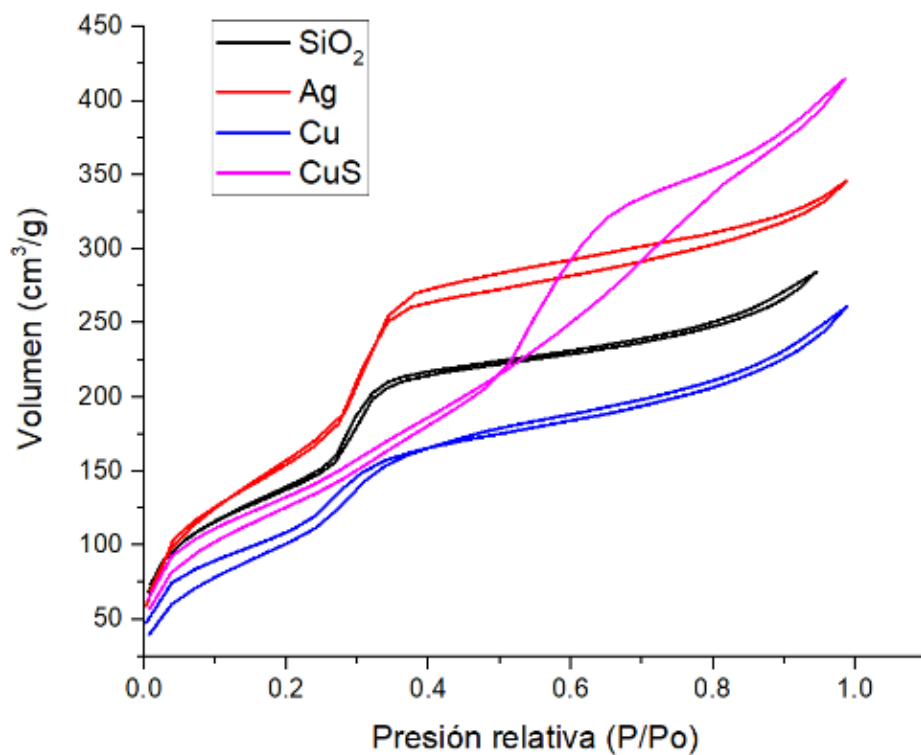


Figura 24. Isotermas de adsorción-desorción de nitrógeno de los diferentes sistemas sintetizados.

Tabla 4. Datos de área superficial, diámetro y volumen de poro de los diferentes materiales obtenidos.

	SiO ₂	SiO ₂ Ag 0.5%	SiO ₂ Cu 5%	SiO ₂ CuS 5%
Área Superficial	406 m ² /g	450 m ² /g	386 m ² /g	401 m ² /g
Diámetro de poro	3.8 nm	3.8 nm	3.6 nm	3.78 nm
Volumen de poro	0.39 cm ³ /g	0.51 cm ³ /g	0.39 cm ³ /g	0.62 m ³ /g

3.6. ADSORCIÓN DE SULFAMETOXAZOL

Con respecto a la adsorción de SMX, se determinó previamente el espectro de absorción de este obteniendo una $\lambda_{\text{máx}}$ a 270 nm, que es donde el SMX muestra su mayor punto de absorbancia en etanol (figura 25). Esta absorbancia es atribuida al anillo bencénico unido al $\text{SO}_2\text{-NH}_2$ de la molécula, que poseen varios enlaces $\pi\text{-}\pi$, por lo tanto, existen transiciones tipo $\pi\rightarrow\pi^*$ y $n\rightarrow\pi^*$ [121]. La absorbancia a 270 nm se empleó para obtener la curva de calibración y la ecuación de la recta con la cual se determinó la concentración de SMX no adsorbido de los sobrenadantes recuperados de los experimentos de adsorción por agitación.

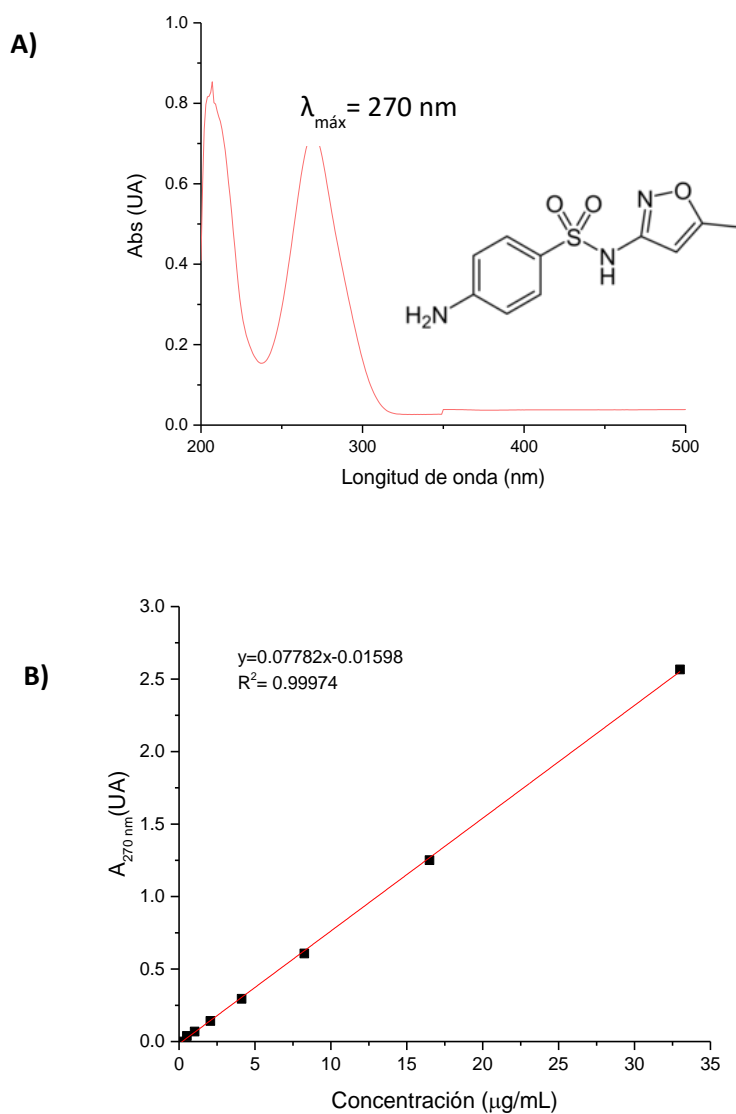


Figura 25. A) Espectro UV-Vis y B) curva de calibración de sulfametoxazol.

Como se puede ver en la tabla 5, cuando se realiza la adsorción del sulfametoxazol (SMX) en los diferentes compósitos, la cantidad cargada varió ligeramente dependiendo de las nanopartículas metálicas presentes. las cantidades adsorbidas de SMX a partir de una solución madre con cantidad inicial de 4280 $\mu\text{g/mL}$ fueron de 16.2 mg/g de material para el caso de las CuSNPs, seguida de las CuNPs (15.3 mg/g) y AgNPs (11.1 mg/g). Esto se debe a que en el primer caso de CuSNPs como ya se ha mencionado, no están sobre la superficie de las MSN, por lo que hay más interacción principalmente por grupos silanol disponibles en la superficie con los cuales interactúa el SMX a través del grupo amino, además este grupo funcional también podría interactuar con las CuSNPs. Con las CuNPs aunque están altamente distribuidas en la superficie de las MSN, los espacios ocupados se compensan con la superficie de las CuNPs depositadas, ya que estas también aportan área superficial donde puede interactuar el SMX. En el material que contiene Ag, posiblemente porque como vimos en las micrografías, las AgNPs tienen un tamaño de 1.7 nm, menor al tamaño de poro de nuestras MSN (3.8 nm), provocaría la obstrucción parcial de algunos poros provocando la disminución de la capacidad de adsorción.

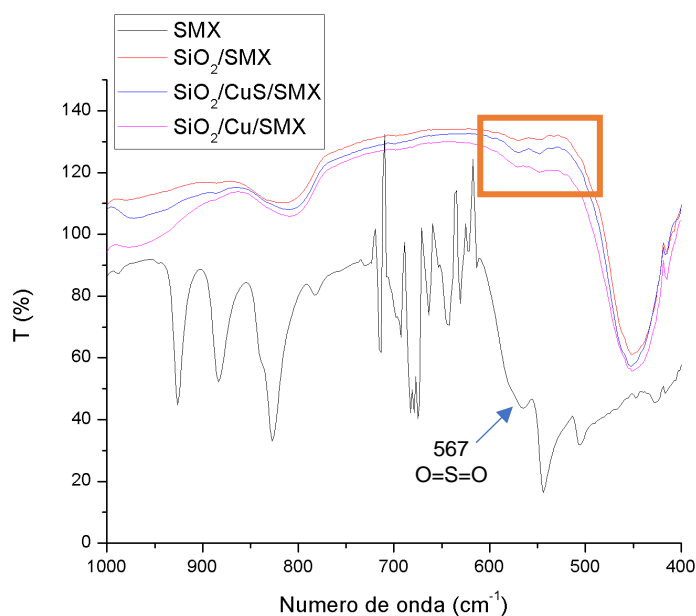
Tabla 5. Cantidades de SMX adsorbidas en los diferentes materiales obtenidos. Concentración inicial del crudo: 4280 $\mu\text{g/mL}$, con 40 mg de material.

Material	SMX Adsorbido ($\mu\text{g/mL}$)	% de SMX adsorbido	mg SMX/g de material
SiO ₂	622.1	14.5	15.6
SiO ₂ /AgNPs	452.5	10.6	11.1
SiO ₂ /CuNPs	609.4	14.2	15.3
SiO ₂ /CuSNPs	641.3	15.0	16.2

El porcentaje adsorbido de SMX va de entre 10% y 15%, los cuales son valores porcentuales bajos, lo que está indicando que la interacción entre el SMX y la silica es baja, posiblemente debido a que como vimos en el espectro IR-FT de las MSN (figura 11) los grupos silanoles son escasos. Los silanoles participan en la interacción con

diferentes fármacos por puente de hidrogeno [122] y aquí al tenerlos en baja cantidad se está viendo afectada la capacidad de adsorción, sin embargo, se compensa con otro tipo de interacciones como las electrostáticas o en el caso de los materiales con nanopartículas metálicas, estas pueden interactuar con el grupo amino del SMX [123]. Aunque los porcentajes de adsorción fueron bajos, la cantidad adsorbida por gramo de material es suficiente considerando que la CMI necesaria de SMX para inhibir el crecimiento de una población de un microorganismo (*E. coli* ATCC 10536) es de 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ [124] .

Una vez obtenidos los materiales con SMX adsorbido, estos fueron analizados por FT-IR y espectroscopia UV-Vis obteniendo los espectros de la figura 26. En el espectro infrarrojo se evidencia la presencia de SMX por las señales entre 500 y 600 cm^{-1} dadas por vibraciones del grupo sulfona y en el espectro UV-Vis se obtuvo una señal cercana a 270 nm en todos los materiales, valor de la absorbancia máxima de SMX con lo que se demuestra una vez más la presencia de SMX.



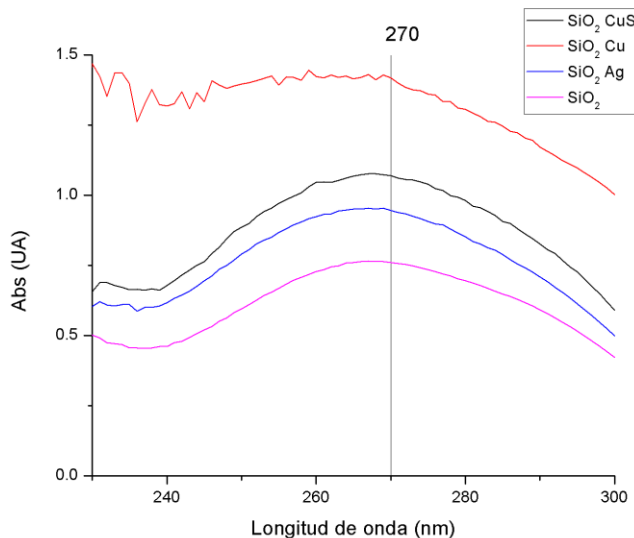


Figura 26. Espectros FT-IR y UV-Vis de los materiales con SMX adsorbidos.

3.7. PRUEBAS ANTIMICROBIANAS

3.7.1. DETERMINACIÓN DE CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DE SMX

En primer lugar, se determinó la CMI del sulfametoxazol en las dos bacterias de prueba, la Gram negativa *Escherichia coli* ATCC 25922 y Gram positiva *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. El valor de la CMI se registra de forma visual, es decir, de manera cualitativa comparando con el control de crecimiento, en el caso del SMX, al ser un antimicrobiano bacteriostático, el valor de CMI se debe tomar en donde se vea una inhibición de al menos el ochenta por ciento [106], [124]. En ambas bacterias, la posible CMI se encontró entre dos concentraciones, 32 y 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$, por lo que se llevó a cabo una cuenta viable la cual mostró (figura 28) que la concentración de 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ presenta un 80% de inhibición del crecimiento por lo que esta es la CMI de SMX para ambas bacterias. Esto concuerda con los valores encontrados en la bibliografía [124] para *E. coli* (ATCC 10536) y en el caso de *S. aureus* (ATCC 9144) resultado ser menor a los 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$ reportados.

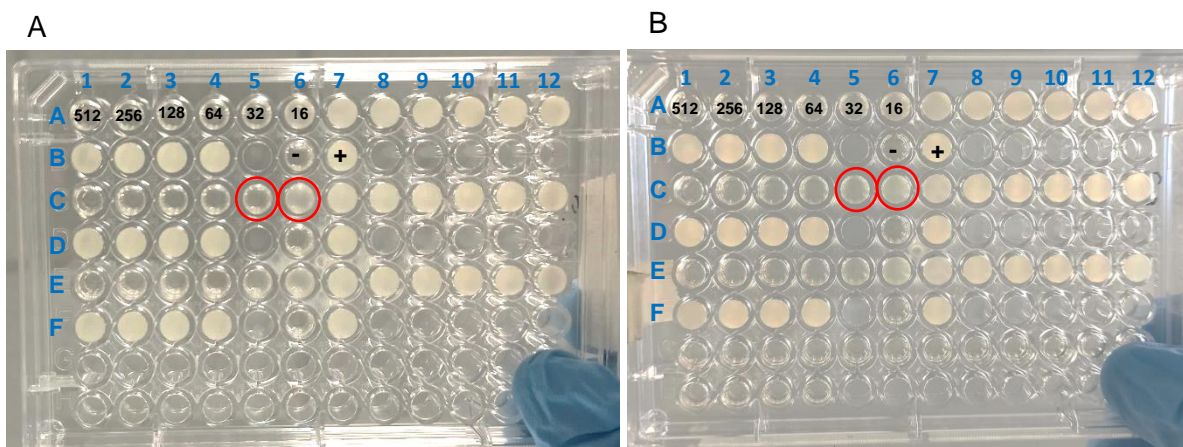


Figura 27. Resultados de prueba de determinación de CMI de SMX en *E. coli* (A) y *S. aureus* (B).

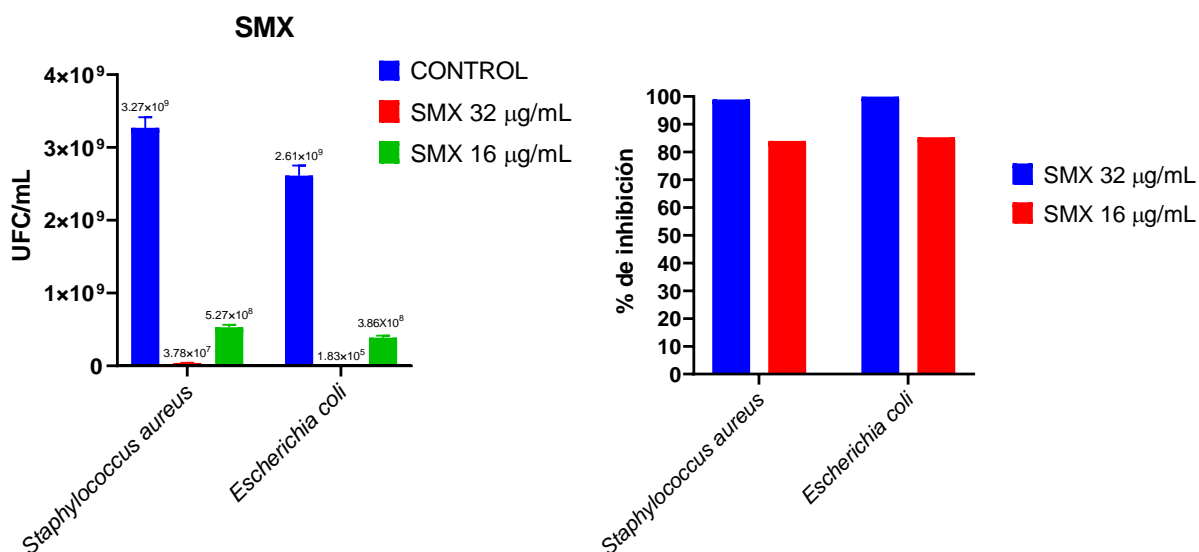


Figura 28. Cuenta viable y porcentajes de inhibición del crecimiento de *S. aureus* y *E. coli* con 32 y 16 µg/mL de SMX.

3.7.2. DETERMINACIÓN DE CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DE MSN/MNPs

En el caso de las SiO₂ NPs con AgNPs, CuNPs y CuSNPs, la prueba en *E. coli* no mostro una inhibición del crecimiento claramente visible al comparar con el control y en *S. aureus* se observó una ligera inhibición en 1024 µg/mL por lo que se eligió analizar por cuenta viable el pozo de 1024 µg/mL, la mayor concentración probada.

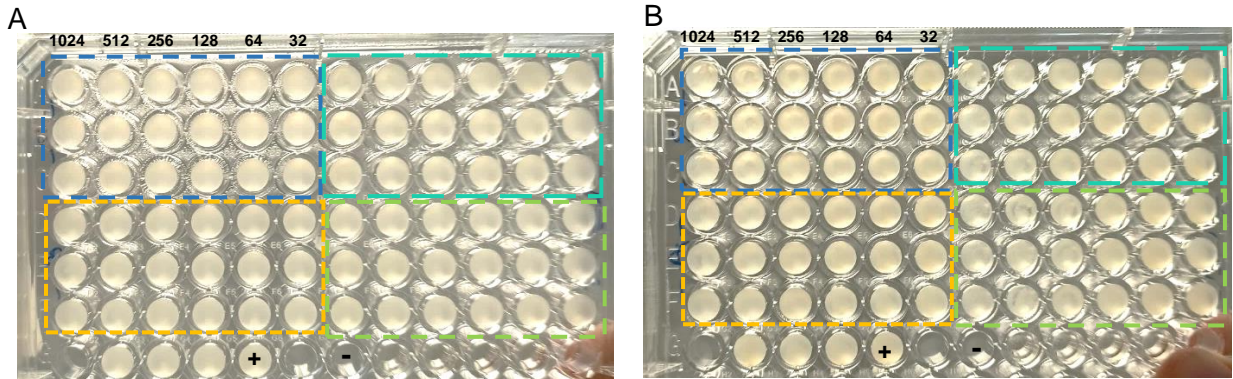


Figura 29. Resultados de prueba de determinación de CMI de SiO_2 (-), SiO_2/Ag (-), SiO_2/Cu (-) y SiO_2/CuS (-) en *E. coli* (A) y *S. aureus* (B).

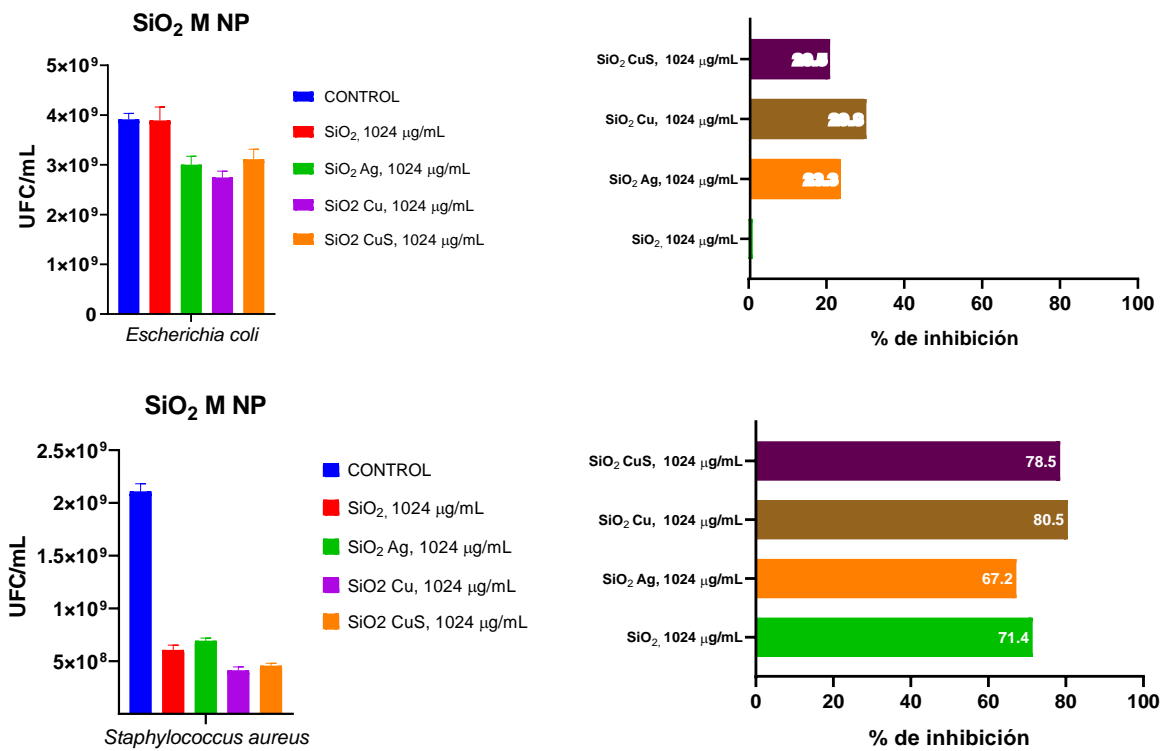


Figura 30. Resultados de cuenta viable y porcentajes de inhibición de crecimiento de las nanopartículas SiO_2 /MNPs.

En la figura 30 podemos observar que en *E. coli* las SiO_2 NPs no inhibieron el crecimiento mientras que en los compósitos con AgNPs, CuNPs y CuSNPs, esta

inhibición fue solo de alrededor del 20% para los tres sistemas lo que nos indica que la adición de los metales a las SiO₂NPs le da cierta actividad antibacteriana dada por interacción de esos metales con el peptidoglicano de la pared y otros componentes como el lipopolisacárido y proteínas como porinas generando una desestabilización que resulta en un daño en la célula [125], [126], sin embargo este efecto en nuestros materiales no es suficiente para desempeñar una actividad antimicrobiana aceptable.

En *S. aureus* la inhibición del crecimiento por parte de las nanopartículas esta entre el 60 y 70%, incluso en las SiO₂NPs sin nanopartículas metálicas en su superficie. Sobre esta última observación, a diferencia de *E. coli*, *S. aureus* presenta una pared celular de peptidoglicano más gruesa (20-50 nm) y por consiguiente, mayor cantidad de grupos hidroxilo y amino provenientes de los azúcares que lo componen (N-acetil murámico y N-acetil glucosamina) y del ácido teicoico presente solo en la pared de Gram positivos [125], [127]. Dichos grupos hidroxilo y amino, forman puentes de hidrogeno con los grupos silanol de las SiO₂ NPs desestabilizando la pared y generando daño por cambios osmóticos [128]. Al comparar los porcentajes de inhibición de crecimiento de los diferentes compósitos, observamos que es mayor en los compósitos con CuNPs y CuSNPs posiblemente a que las cantidades de metal son mayores (5% p/p) a diferencia de la cantidad de Ag (0.5% p/p).

3.7.3. DETERMINACIÓN DE CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DE MSN/MNPs CON SMX

En la figura 31 se puede apreciar que gracias a la adición del SMX, es posible ver una clara inhibición del crecimiento de *E. coli* en todos los materiales a una concentración de 1024 $\mu\text{g/mL}$ de material. En el caso de SiO_2 SMX y SiO_2/CuS SMX, se llegó a observar inhibición hasta 512 $\mu\text{g/mL}$ de material. En *S. aureus* también se nota el cambio del efecto en comparación con los materiales sin SMX, teniendo inhibición en la concentración de 512 $\mu\text{g/mL}$ para todos los compósitos y en el caso de SiO_2 SMX hasta en la concentración de 256 $\mu\text{g/mL}$.

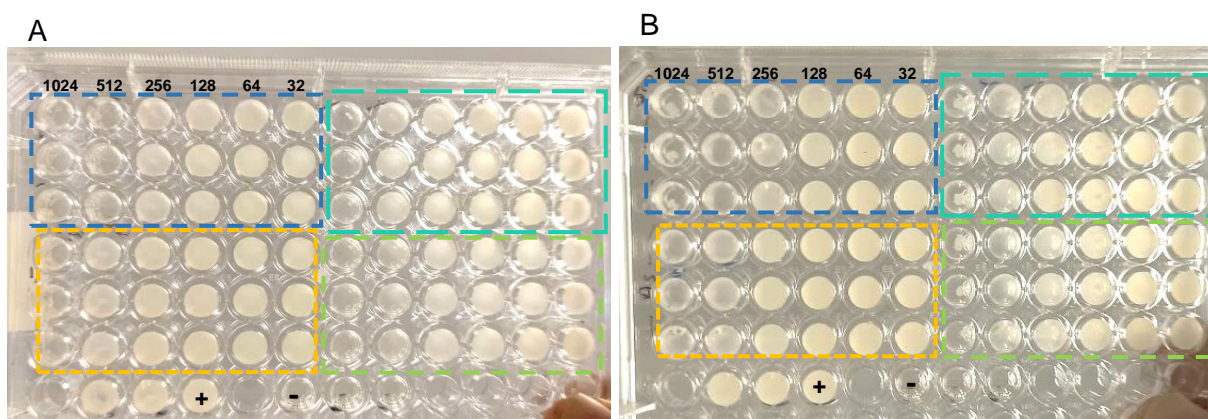


Figura 31. Resultados de prueba de determinación de CMI de SiO_2 SMX (-), SiO_2/Ag SMX (-), SiO_2/Cu SMX (-) y SiO_2/CuS SMX (-) en *E. coli* (A) y *S. aureus* (B).

En la figura 32 tenemos los gráficos de las cuentas viables realizadas para ambas bacterias. En *E. coli* se puede observar que en los compósitos con MNPs y SMX se tiene una CMI a una concentración de material de 1024 $\mu\text{g/mL}$ presentando inhibiciones de más del 90% con respecto al control. Mientras que la concentración de 512 $\mu\text{g/mL}$ de las SiO_2 NPs con SMX inhibe un porcentaje similar. Lo anterior se podría estar dando debido a que cuando las SiO_2 NPs tienen en la superficie MNPs, estas están ocupando sitios de posible interacción con la bacteria, también ya que el SMX es capaz de interactuar con las MNPs a través de su grupo amino [123], la liberación

del SMX en interacción con las MNPs se dé más lentamente que aquel SMX adsorbido en las SiO₂ NPs.

En *S. aureus* la actividad de nuestros materiales en la inhibición del crecimiento es mayor en comparación con *E. coli*, obteniendo CMI de 256 µg/mL para los compósitos con CuNPs y CuSNPs, y 512 µg/mL para las SiO₂ NPs y el compósito con AgNPs. Con estos resultados podemos inferir que esta bacteria es susceptible a la presencia de CuNPs y CuSNPs como se observó en los resultados de porcentaje de inhibición de la figura 30. En esta ocasión se pasó de una CMI de 1024 µg/mL de los sistemas SiO₂NPs/CuNPs y SiO₂NPs/CuSNPs, a una CMI de 256 µg/mL cuando los mismos sistemas presentan SMX. Es en estos sistemas y en esta bacteria donde llegamos a ver un aumento de la actividad antimicrobiana de los compósitos al disminuir la CMI de esos materiales, lo que nos podría estar sugiriendo un efecto sinérgico entre el SMX y las CuNPs/CuSNPs.

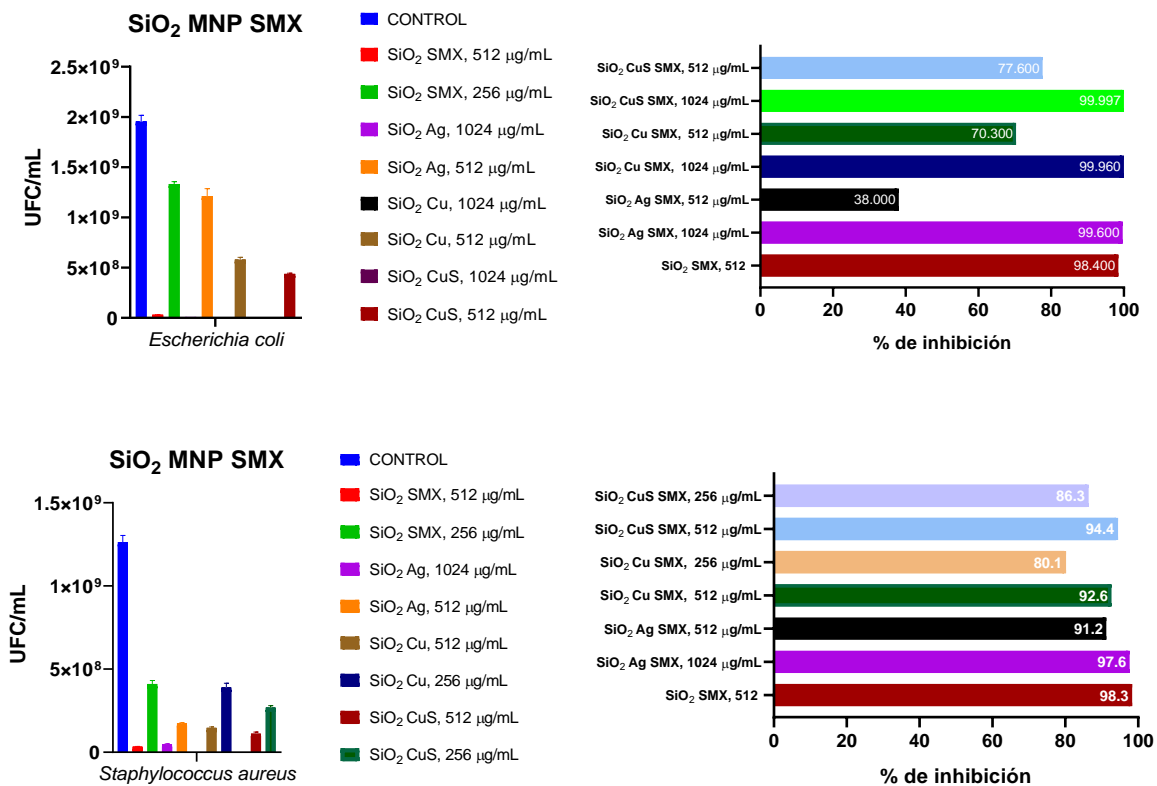


Figura 32. Resultados de cuenta viable y porcentajes de inhibición de crecimiento de las nanopartículas SiO₂/ MNPs y SMX.

En la tabla 6 se presentan los valores de CMI para cada material en ambas bacterias, en los compósitos con SMX se presenta la concentración de este antibiótico en la cantidad de material determinada como la CMI. Al centrarnos únicamente en este dato, observamos que la cantidad de SMX requerida para inhibir el crecimiento de *E. coli* paso de la CMI de 16 µg/mL a 8 µg de SMX en 512 µg/mL de SiO₂NPs, mientras que en los compósitos con MNPs la cantidad de SMX aún es cercana a los 16 µg. Comparando el efecto que ejercieron los compósitos sin y con SMX, en *E. coli* la inhibición se está dando principalmente por efecto del SMX y en segundo lugar por la adición de las nanopartículas metálicas en nuestras SiO₂NPs. La causa de que esta bacteria fue menos afectada que *S. aureus* podría deberse a que *E. coli* presenta en gran cantidad una molécula en su pared exterior llamada lipopolisacárido el cual contiene gran cantidad de grupos funcionales hidroxilo y fosfato que le dan una gran carga negativa [125], [127], nuestras esferas mesoporosas fueron sintetizadas bajo una metodología que produce partículas con una ligera carga negativa por la aportación de los silanoles [101], es por ello que como lo menciona la literatura [129] estas cargas negativas podrían estar generando cierta repulsión y dificultando la interacción de nuestros compósitos con la bacteria *E. coli*. En *S. aureus* no se presenta esta repulsión debido a que en su pared no presenta esta molécula y de acuerdo con la literatura la carga negativa que presenta es menor en comparación con la de *E. coli* [130], [131]. Para *S. aureus*, observamos que de una CMI de 16 µg/mL se disminuye a 8 µg (SiO₂/SMX) y 5.7 µg (SiO₂/AgNPs/SMX) de SMX en los compósitos para ejercer inhibición. Para los compósitos SiO₂/CuNPs/SMX y SiO₂/CuSNPs/SMX la cantidad de SMX disminuyó hasta 3.9 µg y 4.2 µg respectivamente, una cuarta parte de la CMI de 16 µg/mL. Estos dos últimos compósitos para esta bacteria funcionan efectivamente con una cantidad de SMX más baja de la requerida si se empleara en forma libre.

Tabla 6. Concentraciones mínimas inhibitorias determinadas para cada tratamiento.

TRATAMIENTO	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	
SMX	16 µg/mL		16 µg/mL	
SiO ₂	Sin inhibición		>1024 µg/mL	
SiO ₂ /AgNPs	>1024 µg/mL		>1024 µg/mL	
SiO ₂ /CuNPs	>1024 µg/mL		1024 µg/mL	
SiO ₂ /CuSNPs	>1024 µg/mL		>1024 µg/mL	
SiO ₂ SMX	SiO ₂	512 µg/mL	SiO ₂	512 µg/mL
	SMX adsorbido	8 µg	SMX adsorbido	8 µg
SiO ₂ /AgNPs/SMX	SiO ₂ /AgNPs	1024 µg/mL	SiO ₂ /AgNPs	512 µg/mL
	SMX adsorbido	11.4 µg	SMX adsorbido	5.7 µg
SiO ₂ /CuNPs/SMX	SiO ₂ /CuNPs	1024 µg	SiO ₂ /CuNPs	256 µg/mL
	SMX adsorbido	15.7 µg	SMX adsorbido	3.9 µg
SiO ₂ /CuSNPs/SMX	SiO ₂ /CuSNPs	1024 µg	SiO ₂ /CuSNPs	256 µg/mL
	SMX adsorbido	16.6 µg	SMX adsorbido	4.2 µg

Al comparar en la literatura los compósitos con SMX sintetizados, estos presentan valores de CMI para las bacterias empleadas muy similares a otros tipos de nanosistemas que incluyen SMX en su estructura como podemos ver en la tabla 7. En el compuesto de Mehrabi y cols.[132] tenemos un sistema microporoso formado a base de silicio y CuFe₂O₄. Ellos presentan un material con un área superficial mucho mayor (1620 m²/g) a la obtenida por nosotros, sin embargo, tienen microporos, lo que hace que la cantidad de SMX que coloquen pueda quedar atrapado al tener ese tamaño de poro y tener problemas al liberarlo, además presentan un tamaño de partícula de 586.1 nm, lo cual en cuestión de biocompatibilidad supondría un problema. En estudios realizados por Zhao y cols. [133] compararon el efecto de MSN de dos tamaños, observaron que aquella partícula de 514 nm inducía mayor distorsión de la membrana en eritrocitos, debido a una fuerte adsorción e internalización, lo que resulto en hemolisis. Por otro lado, la de un tamaño de 122 nm (similar a nuestros materiales), se

adsorbió en la superficie de los eritrocitos sin causar ninguna deformación. Con lo anterior, a pesar de que el material hecho por Mehrabi y cols. presenten CMI similares a las que obtuvimos nosotros, el tamaño de partícula y de poro no lo hacen apto para un futuro uso como potencial liberador de SMX.

Después tenemos partículas esféricas de $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2/\text{Ag}/\text{SMX}$, estas son no porosas, la matriz base es de silicio amorfo y está rodeado de Fe_3O_4 y Ag. Presentan valores de CMI similares a los nuestros observando que también hay una mayor inhibición en la bacteria *S. aureus*. El tamaño es de 35.1 nm, al igual que en el caso anterior al ser de este tamaño y no porosa puede llegar a presentar problemas de biocompatibilidad [134]. Por último, el sistema SMX-Metronidazol-Colesterol [135], es un sistema vesicular (niosoma) en el cual un complejo de moléculas de metronidazol modificadas y colesterol, encapsulan al SMX. Presenta una gran capacidad de encapsulación del antibiótico y un tamaño de 258.2 nm que es un tamaño común en este tipo de estructuras. Estas vesículas al contener colesterol hacen que sean un poco más estables que los liposomas, sin embargo, aun así en comparación con nuestros materiales, presentan mayor inestabilidad física, pueden agregarse y fusionarse[136]. Por todo lo anterior, aunque existen propuestas similares empleando SMX, nuestros resultados muestran que el uso de nuestros materiales $\text{SiO}_2/\text{CuNPs}/\text{SMX}$ y $\text{SiO}_2/\text{CuSNPs}/\text{SMX}$ funcionan como agente antimicrobiano principalmente sobre la bacteria *S. aureus*. Lo que nos indica que podrían ser útiles para la entrega de SMX, reducir la dosis que se emplea y reducir posibles efectos secundarios.

Tabla 7. Comparación de los nanosistemas con SMX obtenidos con materiales reportados en la literatura usados como agentes antimicrobianos con liberación de SMX. D: diámetro de partícula; A: área superficial; V: volumen de poro; Dp: diámetro de poro; Ca: capacidad de adsorción; Ce: capacidad de encapsulación.

MATERIAL	PROPIEDADES	CMI	REFERENCIA
$\text{SiO}_2/\text{AgNPs}/\text{SMX}$ (Esferas porosas con AgNPs superficiales)	D: 154 nm A: 450 m ² /g Dp: 3.8 nm V: 0.51 cm ³ /g Ca: 11.1 mg/g material	SMX: 16 µg/mL SMX en nanocomposito: <i>E. coli</i> : 11.4 µg/mL <i>S. aureus</i> : 5.7 µg/mL	Presente trabajo
$\text{SiO}_2/\text{CuNPs}/\text{SMX}$	D: 154 nm A: 386 m ² /g Dp: 3.6 nm	SMX: 16 µg/mL SMX en nanocomposito: <i>E. coli</i> : 15.7 µg/mL <i>S. aureus</i> : 3.9 µg/mL	

(Esferas porosas con CuNPs superficiales)	V: 0.39 cm ³ /g Ca: 15.3 mg/g material		
SiO ₂ /CuSNPs/SMX (Mezcla de esferas porosas de silicio y aglomerados de CuS)	D: 154 nm A: 401 m ² /g Dp: 3.8 nm V: 0.62 cm ³ /g Ca: 16.2 mg/g material	SMX: 16 µg/mL SMX en nanocomposito: <i>E. coli</i> : 16.6 µg/mL <i>S. aureus</i> : 4.2 µg/mL	
PVA/TEOS/APTES /CuFe ₂ O ₄ + SMX (partícula esférica porosa)	D: 586.1 nm A: 1620.7 m ² /g Dp: 1.66 nm V: 0.67 cm ³ /g	<i>E. coli</i> SMX: 10 µg/mL SMX en nanocompuesto: 4.5 µg/mL <i>S. aureus</i> SMX: 12 µg/mL SMX en nanocompuesto: 4 µg/mL	[132]
Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ /Ag/SMX (Partículas esféricas)	D: 35.1 nm Sin datos texturales	<i>E. coli</i> SMX: 12 µg/mL SMX en nanocompuesto: 4 µg/mL <i>S. aureus</i> SMX: 9 µg/mL SMX en nanocompuesto: 3 µg/mL	[129]
SMX/Metronidazol /Colesterol (Vesícula con SMX encapsulado)	D: 258.2 nm Ce:90.35%	<i>P. aeruginosa</i> : SMX: inhibición 80% SMX en vesícula: 90% <i>K. pneumoniae</i> SMX: 10% SMX vesícula: 60% <i>S. aureus</i> Meticilinaresistente: SMX: 50% SMX vesícula: 70%	[135]

4. CONCLUSIONES

Los materiales sintetizados por el método de Stöber modificado presentaron una morfología esférica con un diámetro promedio de 154 nm, una área superficial específica de 406 m²/g y diámetro de poro de 3.8 nm. Con una isoterma que indica que es un material mesoporoso y el difractograma nos demostró que el material presenta muy baja cristalinidad.

La esferas mesoporosas (MSN) fueron funcionalizadas con nanopartículas metálicas (MNPs): AgNPs, CuNPs, y CuSNPs. Las micrografías obtenidas por las técnicas de microscopia electrónica mostraron una monodispersión en la superficie de las MSN de CuNPs. En el caso de AgNPs se presentan de forma puntual una baja cantidad de nanopartículas sobre la superficie de las MSN. Por otro lado, las CuSNPs se detectaron en forma de aglomerados que no están sobre la superficie de las MSN.

Las propiedades antimicrobianas y porcentaje de inhibición fueron evaluadas en las bacterias *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, primeramente, en los nanosistemas de MSN/MNP se observó que la actividad antimicrobiana es baja y como agentes antimicrobianos requerirían una mayor cantidad de partículas metálicas para observar un aumento.

Cuando se realiza la adsorción del sulfametoxazol (SMX) en los diferentes compósitos, la actividad antimicrobiana fue visiblemente mayor. Para la actividad antimicrobiana contra *E. coli* las concentraciones mínimas inhibitorias de SMX fueron: 16.6 µg/mL para SiO₂/CuSNPs/SMX, 15.7 µg/mL para SiO₂/CuNPs/SMX y 11.4 µg/mL para SiO₂/AgNPs/SMX. En esta bacteria los porcentajes de inhibición fueron mayores en los compósitos que contienen CuS y Cu. Para la actividad antimicrobiana contra *S. aureus* las concentraciones mínimas inhibitorias de SMX fueron: 4.2 µg/mL para SiO₂/CuSNPs/SMX, 3.9 µg/mL para SiO₂/CuNPs/SMX y 5.7 µg/mL para SiO₂/AgNPs/SMX. En esta bacteria los tres nanocompositos ejercen una inhibición a una CMI menor a 16 µg/mL, que es el valor obtenido cuando el SMX se encuentra solo.

Comparados con estudios reportados en la literatura, el sistema estudiado es más efectivo ya que tiene, estabilidad, estructura química y tamaño de partícula biocompatible. En específico los compósitos SiO₂/CuSNPs/SMX y SiO₂/CuNPs/SMX

presentan una mayor acción, que es más evidente en la bacteria *S. aureus*, donde la concentración de SMX cargado en 256 $\mu\text{g/mL}$ de material es aproximadamente una cuarta parte de la CMI determinada (16 $\mu\text{g/mL}$) y esta actividad la realiza sin la necesidad de incluir trimetoprima que es comúnmente usada junto con el SMX. Esto nos lleva a pensar en que estos materiales obtenidos podrían ser útiles en prevención o tratamiento de afectaciones ocasionadas por *S. aureus*.

Como perspectivas:

- Se buscará una metodología para aumentar el tamaño de poro a más de 4 nm con el fin de ver si la capacidad de adsorción con ello aumenta.
- Se desea aumentar la densidad de grupos silanol en las MSN para aumentar el porcentaje de adsorción del SMX o de cualquier otra molécula que se desee emplear en experimentos de liberación, o bien agregar una molécula enlazante que modifique los grupos funcionales de la superficie de las MSN para mejorar las interacciones entre las MSN y el fármaco a emplear, por ejemplo como la molécula de APTES (aminopropiltriétoxosilano) que permite tener grupos amino en la superficie de las MSN y posteriormente se puede emplear una reacción de conjugación usando EDC (etildiaminopropilcarbodiimida) para unir este amino con un carboxilo de la molécula a unir.
- También, mejorar la síntesis del compuesto con CuS, para que las nanopartículas de CuS se encuentren en la superficie de las MSN.

5. BIBLIOGRAFÍA

- [1] E. Tacconelli, E. Carrara, A. Savoldi, D. Kattula, and F. Burkert, "GLOBAL PRIORITY LIST OF ANTIBIOTIC-RESISTANT BACTERIA TO GUIDE RESEARCH, DISCOVERY, AND DEVELOPMENT OF NEW ANTIBIOTICS," 2017. Accessed: Aug. 16, 2019. [Online]. Available: <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s23171en/s23171en.pdf>.
- [2] T. P. Makhalanyane, A. Valverde, E. Gunnigle, A. Frossard, J. B. Ramond, and D. A. Cowan, "Microbial ecology of hot desert edaphic systems," *FEMS Microbiology Reviews*, vol. 39, no. 2. Oxford University Press, pp. 203–221, Mar. 01, 2015, doi: 10.1093/femsre/fuu011.
- [3] N. M. Kulshreshtha, I. Jadhav, M. Dixit, N. Sinha, D. Shrivastava, and P. S. Bisen, "Nanostructures as Antimicrobial Therapeutics," in *Nanoantimicrobial Architectonics*, 2017, pp. 29–59.
- [4] D. Şen Karaman, S. Manner, and J. M. Rosenholm, "Mesoporous silica nanoparticles as diagnostic and therapeutic tools: how can they combat bacterial infection?," *Ther. Deliv.*, vol. 9, no. 4, pp. 241–244, Mar. 2018, doi: 10.4155/tde-2017-0111.
- [5] Y. Wang *et al.*, "Mesoporous silica nanoparticles in drug delivery and biomedical applications," *Nanomedicine Nanotechnology, Biol. Med.*, vol. 11, no. 2, pp. 313–327, Feb. 2015, doi: 10.1016/J.NANO.2014.09.014.
- [6] World Health Organization (WHO), "La resistencia antimicrobiana," 2017. <https://www.who.int/antimicrobial-resistance/es/> (accessed May 18, 2021).
- [7] M. Jamal *et al.*, "Bacterial biofilm and associated infections," *J. Chinese Med. Assoc.*, vol. 81, no. 1, pp. 7–11, Jan. 2018, doi: 10.1016/J.JCMA.2017.07.012.
- [8] A. J. Huh and Y. J. Kwon, "'Nanoantibiotics': A new paradigm for treating infectious diseases using nanomaterials in the antibiotics resistant era," *J. Control. Release*, vol. 156, no. 2, pp. 128–145, 2011, doi: 10.1016/j.jconrel.2011.07.002.
- [9] R. C. Founou, L. L. Founou, and S. Y. Essack, "Clinical and economic impact of antibiotic resistance in developing countries: A systematic review and meta-analysis," *PLoS One*, vol. 12, no. 12, p. e0189621, Dec. 2017, doi: 10.1371/journal.pone.0189621.

- [10] World Health Organization (WHO), “Global Action Plan on Antimicrobial Resistance,” Sep. 2015, [Online]. Available: <http://www.asmscience.org/content/journal/microbe/10.1128/microbe.10.354.1>.
- [11] World Health Organization (WHO), “The OIE Strategy on Antimicrobial Resistance and the Prudent Use of Antimicrobials,” *World Organ. Anim. Heal.*, no. November, pp. 1–61, 2016, [Online]. Available: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Media_Center/docs/pdf/PortailAMR/EN_OIE-AMRstrategy.pdfhttp://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Media_Center/docs/pdf/PortailAMR/EN_OIE-AMRstrategy.pdf<http://www.oie.int/antimicrobial-resistance><https://www.oie.int/file>.
- [12] Food and Agriculture Organization of the United Nations, “The FAO Action Plan on Antimicrobial Resistance.” Roma, 2019, [Online]. Available: <http://www.fao.org/3/a-i5996e.pdf>.
- [13] World Health Organization (WHO), “Global antimicrobial resistance surveillance system (GLASS) report: Early Implementation,” 2020. Accessed: Jan. 19, 2021. [Online]. Available: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/259744/9789241513449-eng.pdf?sequence=1>.
- [14] Diario Oficial de la Federación 5 de junio de 2018, “Estrategia Nacional de Acción Contra la Resistencia a los Antimicrobianos.” México, p. 22, 2018.
- [15] Programa Universitario de Investigación en Salud, “Plan-Universitario de Control de la Resistencia a los Antimicrobianos en Mexico.” Universidad Autónoma de México, Ciudad de México, p. 52, 2018.
- [16] K. Shatzkes, N. D. Connell, and D. E. Kadouri, “Predatory bacteria: A new therapeutic approach for a post-antibiotic era,” *Future Microbiology*, vol. 12, no. 6. Future Medicine Ltd., pp. 469–472, May 01, 2017, doi: 10.2217/fmb-2017-0021.
- [17] A. El-Shibiny and S. El-Sahhar, “Bacteriophages: The possible solution to treat infections caused by pathogenic bacteria,” *Canadian Journal of Microbiology*, vol. 63, no. 11. Canadian Science Publishing, pp. 865–879, Nov. 01, 2017, doi: 10.1139/cjm-2017-0030.
- [18] P. D. Cotter, R. P. Ross, and C. Hill, “Bacteriocins-a viable alternative to antibiotics?,”

Nature Reviews Microbiology, vol. 11, no. 2. pp. 95–105, Feb. 2013, doi:
10.1038/nrmicro2937.

- [19] L. Vitetta, G. Vitetta, and S. Hall, “Immunological tolerance and function: Associations between intestinal bacteria, probiotics, prebiotics, and phages,” *Frontiers in Immunology*, vol. 9, no. OCT. Frontiers Media S.A., Oct. 09, 2018, doi: 10.3389/fimmu.2018.02240.
- [20] X. Zhu, A. F. Radovic-Moreno, J. Wu, R. Langer, and J. Shi, “Nanomedicine in the management of microbial infection - Overview and perspectives,” *Nano Today*, vol. 9, no. 4. Elsevier B.V., pp. 478–498, Aug. 01, 2014, doi: 10.1016/j.nantod.2014.06.003.
- [21] ISO/TS 80004-1, “Nanotechnologies Vocabulary Part 1: core terms,” *Int. Organ. Stand.*, p. 3, 2015.
- [22] J. M. González, M. López, and G. Ruiz, *Informe de vigilancia tecnológica en nanomedicina*. 2007.
- [23] F. Yang *et al.*, “Emerging inorganic nanomaterials for pancreatic cancer diagnosis and treatment,” *Cancer Treat. Rev.*, vol. 38, no. 6, pp. 566–579, 2012, doi: 10.1016/j.ctrv.2012.02.003.
- [24] P. Boisseau and B. Loubaton, “Nanomedicine, nanotechnology in medicine,” *Comptes Rendus Phys.*, vol. 12, no. 7, pp. 620–636, 2011, doi: 10.1016/j.crhy.2011.06.001.
- [25] M. A. Lauzon, A. Daviau, B. Marcos, and N. Faucheux, “Nanoparticle-mediated growth factor delivery systems: A new way to treat Alzheimer’s disease,” *J. Control. Release*, vol. 206, pp. 187–205, 2015, doi: 10.1016/j.jconrel.2015.03.024.
- [26] C. S. S. R. Kumar, *Nanomaterials for cancer therapy and imaging*, 1st ed., vol. 6. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2006.
- [27] J. Bueno, *Antimicrobial Models in Nanotechnology: From the Selection to Application in the Control and Treatment of Infectious Diseases*. Elsevier Inc., 2015.
- [28] F. Tomiotto-Pellissier *et al.*, “Nanotechnology as a potential therapeutic alternative for schistosomiasis,” *Acta Tropica*, vol. 174. Elsevier B.V., pp. 64–71, 2017, doi: 10.1016/j.actatropica.2017.06.025.
- [29] I. N. Mavridis, M. Meliou, E. S. Pyrgelis, and E. Agapiou, *Nanotechnology and*

Parkinson's disease. Elsevier Inc., 2018.

- [30] M. Saeedi, M. Eslamifar, K. Khezri, and S. M. Dizaj, "Applications of nanotechnology in drug delivery to the central nervous system," *Biomedicine and Pharmacotherapy*, vol. 111, no. December 2018. Elsevier, pp. 666–675, 2019, doi: 10.1016/j.biopha.2018.12.133.
- [31] R. Saini, S. Saini, and S. Sharma, "Nanotechnology: The future medicine," *J. Cutan. Aesthet. Surg.*, vol. 3, no. 1, p. 32, 2010, doi: 10.4103/0974-2077.63301.
- [32] R. Oropesa and U. Jauregui, "Nanoparticles as drug carriers : characteristics and perspectives," *Rev. CENIC Ciencias Biológicas*, vol. 43, no. August 2016, pp. 1–20, 2012.
- [33] Y. Zhou *et al.*, "Mesoporous silica nanoparticles for drug and gene delivery," *Acta Pharmaceutica Sinica B*, vol. 8, no. 2. Chinese Academy of Medical Sciences, pp. 165–177, Mar. 01, 2018, doi: 10.1016/j.apsb.2018.01.007.
- [34] M. Vallet-Regí, M. Colilla, and I. Izquierdo-Barba, "Drug Delivery and Bone Infection," in *Enzymes*, 1st ed., vol. 44, Elsevier Inc., 2018, pp. 35–59.
- [35] A. M. Bodratti and P. Alexandridis, "Formulation of poloxamers for drug delivery," *Journal of Functional Biomaterials*, vol. 9, no. 1. MDPI AG, Jan. 18, 2018, doi: 10.3390/jfb9010011.
- [36] B. Mishra, B. B. Patel, and S. Tiwari, "Colloidal nanocarriers: a review on formulation technology, types and applications toward targeted drug delivery," *Nanomedicine Nanotechnology, Biol. Med.*, vol. 6, no. 1, pp. 9–24, 2010, doi: 10.1016/j.nano.2009.04.008.
- [37] F. Alexis, J. W. Rhee, J. P. Richie, A. F. Radovic-Moreno, R. Langer, and O. C. Farokhzad, "New frontiers in nanotechnology for cancer treatment," *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*, vol. 26, no. 1. Elsevier, pp. 74–85, Jan. 01, 2008, doi: 10.1016/j.urolonc.2007.03.017.
- [38] E. Weir, A. Lawlor, A. Whelan, and F. Regan, "The use of nanoparticles in anti-microbial materials and their characterization," *Analyst*, vol. 133, no. 7, pp. 835–845, 2008, doi: 10.1039/b715532h.
- [39] N. Beyth, Y. Hourri-Haddad, A. Domb, W. Khan, and R. Hazan, "Alternative

antimicrobial approach: Nano-antimicrobial materials,” *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2015. Hindawi Publishing Corporation, 2015, doi: 10.1155/2015/246012.

- [40] P. Yuan, X. Ding, Y. Y. Yang, and Q.-H. Xu, “Metal Nanoparticles for Diagnosis and Therapy of Bacterial Infection,” *Adv. Healthc. Mater.*, vol. 7, no. 13, p. 1701392, Jul. 2018, doi: 10.1002/adhm.201701392.
- [41] M. Martínez-Carmona, Y. K. Gun’ko, and M. Vallet-Regí, “Mesoporous silica materials as drug delivery: ‘the nightmare’ of bacterial infection,” *Pharmaceutics*, vol. 10, no. 4. MDPI AG, Dec. 01, 2018, doi: 10.3390/pharmaceutics10040279.
- [42] M. Martínez-Carmona, Y. Gun’Ko, and M. Vallet-Regí, “Zno nanostructures for drug delivery and theranostic applications,” *Nanomaterials*, vol. 8, no. 4. MDPI AG, Apr. 23, 2018, doi: 10.3390/nano8040268.
- [43] C. Sahlgren *et al.*, “Tailored Approaches in Drug Development and Diagnostics: From Molecular Design to Biological Model Systems,” *Adv. Healthc. Mater.*, vol. 6, no. 21, pp. 1–34, 2017, doi: 10.1002/adhm.201700258.
- [44] D. Şen Karaman *et al.*, “Shape engineering boosts antibacterial activity of chitosan coated mesoporous silica nanoparticle doped with silver: A mechanistic investigation,” *J. Mater. Chem. B*, vol. 4, no. 19, pp. 3292–3304, 2016, doi: 10.1039/c5tb02526e.
- [45] R. Wu *et al.*, “Spatio-Design of Multidimensional Prickly Zn-Doped CuO Nanoparticle for Efficient Bacterial Killing,” *Adv. Mater. Interfaces*, vol. 3, no. 18, pp. 1–11, 2016, doi: 10.1002/admi.201600472.
- [46] S. J. Lam *et al.*, “Combating multidrug-resistant Gram-negative bacteria with structurally nanoengineered antimicrobial peptide polymers,” *Nat. Microbiol.*, vol. 1, no. September, 2016, doi: 10.1038/nmicrobiol.2016.162.
- [47] A. Razei, Abdol M. Cheraghali, M. Saadati, M. F. S. H. Ramandi, and Y. Panahi, “Application of nanoparticles drug delivery systems in the treatment of intracellular bacterial infections,” *Minerva Biotechnologica*, vol. 29, no. 3. Edizioni Minerva Medica, pp. 156–165, Sep. 01, 2017, doi: 10.23736/S1120-4826.17.02221-2.
- [48] L. Wang, C. Hu, and L. Shao, “The antimicrobial activity of nanoparticles: Present situation and prospects for the future,” *International Journal of Nanomedicine*, vol. 12.

- Dove Medical Press Ltd., pp. 1227–1249, Feb. 14, 2017, doi: 10.2147/IJN.S121956.
- [49] O. A. Sammour and H. M. Hassan, “Enhancement of the antibacterial activity of ampicillin by liposome encapsulation,” *Drug Deliv. J. Deliv. Target. Ther. Agents*, vol. 3, no. 4, pp. 273–278, Oct. 1996, doi: 10.3109/10717549609029460.
- [50] W. S. Cheow and K. Hadinoto, “Antibiotic polymeric nanoparticles for biofilm-associated infection therapy,” *Methods Mol. Biol.*, vol. 1147, pp. 227–238, 2014, doi: 10.1007/978-1-4939-0467-9_16.
- [51] A. Bernardos *et al.*, “Mesoporous Silica-Based Materials with Bactericidal Properties,” *Small*, vol. 15, no. 24. Wiley-VCH Verlag, Jun. 14, 2019, doi: 10.1002/smll.201900669.
- [52] W. Huang, C. P. Tsui, C. Y. Tang, and L. Gu, “Effects of Compositional Tailoring on Drug Delivery Behaviours of Silica Xerogel/Polymer Core-shell Composite Nanoparticles,” *Sci. Rep.*, vol. 8, no. 1, Dec. 2018, doi: 10.1038/s41598-018-31070-9.
- [53] National Center for Biotechnology Information, “PubChem Compound Summary for CID 24261, Silicon dioxide,” 2021. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Silicon-dioxide> (accessed Feb. 02, 2021).
- [54] A. J. G. Lunt, P. Chater, and A. M. Korsunsky, “On the origins of strain inhomogeneity in amorphous materials,” *Sci. Rep.*, vol. 8, no. 1, pp. 1–9, 2018, doi: 10.1038/s41598-018-19900-2.
- [55] L. F. Giraldo, B. L. López, L. Pérez, S. Urrego, L. Sierra, and M. Mesa, “Mesoporous silica applications,” *Macromol. Symp.*, vol. 258, pp. 129–141, 2007, doi: 10.1002/masy.200751215.
- [56] M. Manzano and M. Vallet-Regí, “Mesoporous Silica Nanoparticles for Drug Delivery,” *Adv. Funct. Mater.*, vol. 30, no. 2, pp. 3–5, 2020, doi: 10.1002/adfm.201902634.
- [57] S. L. Warring, D. A. Beattie, and A. J. McQuillan, “Surficial Siloxane-to-Silanol Interconversion during Room-Temperature Hydration/Dehydration of Amorphous Silica Films Observed by ATR-IR and TIR-Raman Spectroscopy,” *Langmuir*, vol. 32, no. 6, pp. 1568–1576, 2016, doi: 10.1021/acs.langmuir.5b04506.
- [58] I. I. Slowing, J. L. Vivero-Escoto, C. W. Wu, and V. S. Y. Lin, “Mesoporous silica nanoparticles as controlled release drug delivery and gene transfection carriers,” *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 60, no. 11. pp. 1278–1288, Aug. 17, 2008, doi:

10.1016/j.addr.2008.03.012.

- [59] J. G. Croissant, K. S. Butler, J. I. Zink, and C. J. Brinker, "Synthetic amorphous silica nanoparticles: toxicity, biomedical and environmental implications," *Nat. Rev. Mater.*, vol. 5, no. 12, pp. 886–909, 2020, doi: 10.1038/s41578-020-0230-0.
- [60] D. Napierska, L. C. Thomassen, D. Lison, J. A. Martens, and P. H. Hoet, "The nanosilica hazard: Another variable entity," *Part. Fibre Toxicol.*, vol. 7, no. 1, p. 39, Dec. 2010, doi: 10.1186/1743-8977-7-39.
- [61] M. Thommes *et al.*, "Physisorption of gases, with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC Technical Report)," *Pure Appl. Chem.*, vol. 87, no. 9–10, pp. 1051–1069, 2015, doi: 10.1515/pac-2014-1117.
- [62] M. Vallet-Regí, M. Colilla, I. Izquierdo-Barba, and M. Manzano, "Mesoporous silica nanoparticles for drug delivery: Current insights," *Molecules*, vol. 23, no. 1. 2018, doi: 10.3390/molecules23010047.
- [63] G. Tiwari *et al.*, "Drug delivery systems: An updated review," *Int. J. Pharm. Investig.*, vol. 2, no. 1, p. 2, 2012, doi: 10.4103/2230-973x.96920.
- [64] I. I. Slowing, J. L. Vivero-Escoto, C. W. Wu, and V. S. Y. Lin, "Mesoporous silica nanoparticles as controlled release drug delivery and gene transfection carriers," *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 60, no. 11. Elsevier, pp. 1278–1288, Aug. 17, 2008, doi: 10.1016/j.addr.2008.03.012.
- [65] J. G. Croissant, Y. Fatieiev, A. Almalik, and N. M. Khashab, "Mesoporous Silica and Organosilica Nanoparticles: Physical Chemistry, Biosafety, Delivery Strategies, and Biomedical Applications," *Advanced Healthcare Materials*, vol. 7, no. 4. Wiley-VCH Verlag, Feb. 21, 2018, doi: 10.1002/adhm.201700831.
- [66] Z. Li, J. C. Barnes, A. Bosoy, J. F. Stoddart, and J. I. Zink, "Mesoporous silica nanoparticles in biomedical applications," *Chem. Soc. Rev.*, vol. 41, no. 7, pp. 2590–2605, 2012, doi: 10.1039/c1cs15246g.
- [67] W. Xu, P. Ge, B. Niu, X. Zhang, J. Liu, and J. Xie, "Macroporous silica nanoparticles for delivering Bcl2-function converting peptide to treat multidrug resistant-cancer cells," *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 527, pp. 141–150, Oct. 2018, doi: 10.1016/j.jcis.2018.05.033.

- [68] J. S. Beck *et al.*, "A New Family of Mesoporous Molecular Sieves Prepared with Liquid Crystal Templates," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 114, no. 27, pp. 10834–10843, Dec. 1992, doi: 10.1021/ja00053a020.
- [69] C. T. Kresge, M. E. Leonowicz, W. J. Roth, J. C. Vartuli, and J. S. Beck, "Ordered mesoporous molecular sieves synthesized by a liquid-crystal template mechanism," *Nature*, vol. 359, no. 22, pp. 710–712, 1992.
- [70] B. G. Trewyn, I. I. Slowing, S. Giri, H. T. Chen, and V. S. Y. Lin, "Synthesis and functionalization of a mesoporous silica nanoparticle based on the sol-gel process and applications in controlled release," *Accounts of Chemical Research*, vol. 40, no. 9. American Chemical Society, pp. 846–853, Sep. 2007, doi: 10.1021/ar600032u.
- [71] M. Grün, I. Lauer, and K. K. Unger, "The synthesis of micrometer- and submicrometer-size spheres of ordered mesoporous oxide MCM-41," *Adv. Mater.*, vol. 9, no. 3, pp. 254–257, Mar. 1997, doi: 10.1002/adma.19970090317.
- [72] M. Vallet-Regi, A. Rámila, R. P. Del Real, and J. Pérez-Pariente, "A new property of MCM-41: Drug delivery system," *Chem. Mater.*, vol. 13, no. 2, pp. 308–311, 2001, doi: 10.1021/cm0011559.
- [73] K. Ariga, A. Vinu, Y. Yamauchi, Q. Ji, and J. P. Hill, "Accounts Nanoarchitectonics for Mesoporous Materials," *Bull. Chem. Soc. Jpn*, vol. 85, no. 1, p. 1, 2012, doi: 10.1246/bcsj.20110162.
- [74] R. J. P. Corriu, D. Leclercq, P. Lefèvre, P. H. Mutin, and A. Vioux, "Preparation of monolithic metal oxide gels by a non-hydrolytic sol-gel process," *J. Mater. Chem.*, vol. 2, no. 6, pp. 673–674, 1992, doi: 10.1039/JM9920200673.
- [75] R. J. P. Corriu and D. Leclercq, "Recent developments of molecular chemistry for sol-gel processes," *Angew. Chemie (International Ed. English)*, vol. 35, no. 13–14, pp. 1420–1436, 1996, doi: 10.1002/anie.199614201.
- [76] C. J. Brinker and G. W. Scherer, "Hydrolysis and Condensation II," *Sol-Gel Sci.*, pp. 96–233, 1990, doi: 10.1016/b978-0-08-057103-4.50008-8.
- [77] J. M. Goronja, A. M. J. Ležaić, B. M. Dimitrijević, A. M. Malenović, D. R. Stanisavljev, and N. D. Pejić, "Određivanje kritične micelarne koncentracije cetiltrimetilamonijum bromida: Različite procedure analize eksperimentalnih podataka," *Hem. Ind.*, vol. 70,

no. 4, pp. 485–492, 2016, doi: 10.2298/HEMIND150622055G.

- [78] S. H. Wu and H. P. Lin, “Synthesis of mesoporous silica nanoparticles,” *Chem. Soc. Rev.*, vol. 42, no. 9, pp. 3862–3875, 2013, doi: 10.1039/c3cs35405a.
- [79] J. G. Croissant, Y. Fatieiev, A. Almalik, and N. M. Khashab, “Mesoporous Silica and Organosilica Nanoparticles: Physical Chemistry, Biosafety, Delivery Strategies, and Biomedical Applications,” *Advanced Healthcare Materials*, vol. 7, no. 4. Wiley-VCH Verlag, Feb. 21, 2018, doi: 10.1002/adhm.201700831.
- [80] J. L. Blin and M. Imp  rator-Clerc, “Mechanism of self-assembly in the synthesis of silica mesoporous materials: In situ studies by X-ray and neutron scattering,” *Chem. Soc. Rev.*, vol. 42, no. 9, pp. 4071–4082, 2013, doi: 10.1039/c2cs35362h.
- [81] V. Selvarajan, S. Obuobi, and P. L. R. Ee, “Silica Nanoparticles—A Versatile Tool for the Treatment of Bacterial Infections,” *Front. Chem.*, vol. 8, no. July, pp. 1–16, 2020, doi: 10.3389/fchem.2020.00602.
- [82] J. W. Alexander, “History of the Medical Use of Silver*.”
- [83] G. Borkow and J. Gabbay, “Copper, An Ancient Remedy Returning to Fight Microbial, Fungal and Viral Infections,” *Curr. Chem. Biol.*, vol. 3, no. 3, pp. 272–278, Aug. 2009, doi: 10.2174/187231309789054887.
- [84] S. Chernousova and M. Epple, “Silver as antibacterial agent: Ion, nanoparticle, and metal,” *Angew. Chemie - Int. Ed.*, vol. 52, no. 6, pp. 1636–1653, 2013, doi: 10.1002/anie.201205923.
- [85] C. F. Rodrigues, C. G. Alves, R. Lima-Sousa, A. F. Moreira, D. de Melo-Diogo, and I. J. Correia, *Inorganic-based drug delivery systems for cancer therapy*. 2020.
- [86] F. Tang, L. Li, and D. Chen, “Mesoporous silica nanoparticles: Synthesis, biocompatibility and drug delivery,” *Adv. Mater.*, vol. 24, no. 12, pp. 1504–1534, 2012, doi: 10.1002/adma.201104763.
- [87] R. R. Castillo and M. Vallet-Reg  , “Recent advances toward the use of mesoporous silica nanoparticles for the treatment of bacterial infections,” *Int. J. Nanomedicine*, vol. 16, pp. 4409–4430, 2021, doi: 10.2147/IJN.S273064.
- [88] P. ManiPrasad and S. Santra, “Novel copper (Cu) Loaded core-shell silica

- nanoparticles with improved Cu bioavailability: Synthesis, characterization and study of antibacterial properties," *J. Biomed. Nanotechnol.*, vol. 8, no. 4, pp. 558–566, 2012, doi: 10.1166/jbn.2012.1423.
- [89] Y. H. Kim, D. K. Lee, H. G. Cha, C. W. Kim, Y. C. Kang, and Y. S. Kang, "Preparation and characterization of the antibacterial Cu nanoparticle formed on the surface of SiO₂ nanoparticles," *J. Phys. Chem. B*, vol. 110, no. 49, pp. 24923–24928, 2006, doi: 10.1021/jp0656779.
- [90] M. Liong, B. France, K. A. Bradley, and J. I. Zink, "Antimicrobial activity of silver nanocrystals encapsulated in mesoporous silica nanoparticles," *Adv. Mater.*, vol. 21, no. 17, pp. 1684–1689, May 2009, doi: 10.1002/adma.200802646.
- [91] A. Maleki, H. Kettiger, A. Schoubben, J. M. Rosenholm, V. Ambrogi, and M. Hamidi, "Mesoporous silica materials: From physico-chemical properties to enhanced dissolution of poorly water-soluble drugs," *J. Control. Release*, vol. 262, no. June, pp. 329–347, 2017, doi: 10.1016/j.jconrel.2017.07.047.
- [92] G. Qi, L. Li, F. Yu, and H. Wang, "Vancomycin-modified mesoporous silica nanoparticles for selective recognition and killing of pathogenic gram-positive bacteria over macrophage-like cells," *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 5, no. 21, pp. 10874–10881, 2013, doi: 10.1021/am403940d.
- [93] L. B. Capeletti *et al.*, "Tailored silica-antibiotic nanoparticles: Overcoming bacterial resistance with low cytotoxicity," *Langmuir*, vol. 30, no. 25, pp. 7456–7464, 2014, doi: 10.1021/la4046435.
- [94] D. A. Mosselhy *et al.*, "Silica–gentamicin nanohybrids: Combating antibiotic resistance, bacterial biofilms, and in vivo toxicity," *Int. J. Nanomedicine*, vol. 13, pp. 7939–7957, 2018, doi: 10.2147/IJN.S182611.
- [95] S. Agnihotri *et al.*, "Synthesis and antimicrobial activity of aminoglycoside-conjugated silica nanoparticles against clinical and resistant bacteria," *New J. Chem.*, vol. 39, no. 9, pp. 6746–6755, 2015, doi: 10.1039/c5nj00007f.
- [96] B. Koneru *et al.*, "Tetracycline-containing MCM-41 mesoporous silica nanoparticles for the treatment of *Escherichia coli*," *Molecules*, vol. 20, no. 11, pp. 19690–19698, Oct. 2015, doi: 10.3390/molecules201119650.

- [97] Z. Gounani, M. A. Asadollahi, R. L. Meyer, and A. Arpanaei, "Loading of polymyxin B onto anionic mesoporous silica nanoparticles retains antibacterial activity and enhances biocompatibility," *Int. J. Pharm.*, vol. 537, no. 1–2, pp. 148–161, 2018, doi: 10.1016/j.ijpharm.2017.12.039.
- [98] M. M. Lu *et al.*, "Synergistic bactericidal activity of chlorhexidine-loaded, silver-decorated mesoporous silica nanoparticles," *Int. J. Nanomedicine*, vol. 12, pp. 3577–3589, 2017, doi: 10.2147/IJN.S133846.
- [99] M. Zavarshani, M. Ahmadi, H. D. Saei, A. A. Tehrani, and B. D. Naghadeh, "Comparison therapeutic effects of ciprofloxacin, silver nanoparticle and their combination in the treatment of pseudomonas keratitis in rabbit: An experimental study," *Iran. J. Pharm. Res.*, vol. 18, no. 1, pp. 320–327, 2019, doi: 10.22037/ijpr.2019.2328.
- [100] H. Al-Obaidi, R. Kalgudi, and M. G. Zariwala, "Fabrication of inhaled hybrid silver/ciprofloxacin nanoparticles with synergetic effect against *Pseudomonas aeruginosa*," *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, vol. 128, pp. 27–35, 2018, doi: 10.1016/j.ejpb.2018.04.006.
- [101] C. V. Espinoza Silva, "Síntesis de nanopartículas de SiO₂ como potenciales vehículos para administración de fármacos," Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, 2015.
- [102] N. G. Bastús, J. Comenge, and V. Puntès, "Kinetically controlled seeded growth synthesis of citrate-stabilized gold nanoparticles of up to 200 nm: Size focusing versus ostwald ripening," *Langmuir*, vol. 27, no. 17, pp. 11098–11105, 2011, doi: 10.1021/la201938u.
- [103] A. Patrón-Soberano, B. P. Núñez-Luna, S. Casas-Flores, A. De Las Peñas, R. B. Domínguez-Espíndola, and V. Rodríguez-González, "Photo-assisted inactivation of: *Escherichia coli* bacteria by silver functionalized titanate nanotubes, Ag/H₂Ti₂O₅·H₂O," *Photochem. Photobiol. Sci.*, vol. 16, no. 6, pp. 854–860, 2017, doi: 10.1039/c6pp00237d.
- [104] A. Gao, H. Zhang, L. Hu, A. Hou, and K. Xie, "Fabrication of silica nanoparticle-supported copper quantum dots and the efficient catalytic Ullmann coupling reaction," *Catal. Commun.*, vol. 102, no. September, pp. 118–122, 2017, doi:

10.1016/j.catcom.2017.09.005.

- [105] X. Yan, E. Michael, S. Komarneni, J. R. Brownson, and Z. F. Yan, "Microwave- and conventional-hydrothermal synthesis of CuS, SnS and ZnS: Optical properties," *Ceram. Int.*, vol. 39, no. 5, pp. 4757–4763, 2013, doi: 10.1016/j.ceramint.2012.11.062.
- [106] CLSI, *Methods for Determining Bactericidal Activity of antimicrobial Agents; CLSI document M26-A.*, vol. 19, no. 18. CLSI, 1999.
- [107] CLSI, *M07-A10: Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically*, vol. 35 No. 2, no. January. 2015.
- [108] I. Wiegand, K. Hilpert, and R. E. W. Hancock, "Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances," *Nat. Protoc.*, vol. 3, no. 2, pp. 163–175, Feb. 2008, doi: 10.1038/nprot.2007.521.
- [109] X. Dong *et al.*, "The Size-dependent Cytotoxicity of Amorphous Silica Nanoparticles: A Systematic Review of in vitro Studies," *Int. J. Nanomedicine*, vol. 15, pp. 9089–9113, 2020, doi: 10.2147/IJN.S276105.
- [110] Y. Antsiferova, N. Sotnikova, and E. Parfenyuk, "Different effects of the immunomodulatory drug GMDP immobilized onto aminopropyl modified and unmodified mesoporous silica nanoparticles upon peritoneal macrophages of women with endometriosis," *Biomed Res. Int.*, vol. 2013, no. December 2013, 2013, doi: 10.1155/2013/924362.
- [111] C. A. Barnes *et al.*, "Reproducible Comet Assay of Amorphous Silica Nanoparticles Detects No Genotoxicity," *Nano Lett.*, vol. 8, no. 9, pp. 3069–3074, Sep. 2008, doi: 10.1021/nl801661w.
- [112] S. K. Parida, S. Dash, S. Patel, and B. K. Mishra, "Adsorption of organic molecules on silica surface," *Advances in Colloid and Interface Science*, vol. 121, no. 1–3. pp. 77–110, Sep. 13, 2006, doi: 10.1016/j.cis.2006.05.028.
- [113] L. B. Capeletti, I. M. Baibich, I. S. Butler, and J. H. Z. Dos Santos, "Infrared and Raman spectroscopic characterization of some organic substituted hybrid silicas," *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 133, pp. 619–625, 2014, doi: 10.1016/j.saa.2014.05.072.
- [114] M. Yang, G. Wang, and Z. Yang, "Synthesis of hollow spheres with mesoporous silica

- nanoparticles shell," *Mater. Chem. Phys.*, vol. 111, no. 1, pp. 5–8, 2008, doi: 10.1016/j.matchemphys.2008.03.014.
- [115] A. R. Bijanzadeh, "A study of the surface plasmon absorption band for nanoparticles," *Int. J. Phys. Sci.*, vol. 7, no. 13, 2012, doi: 10.5897/ijps11.893.
- [116] R. Sivaraj, P. K. S. M. Rahman, P. Rajiv, S. Narendhran, and R. Venckatesh, "Biosynthesis and characterization of *Acalypha indica* mediated copper oxide nanoparticles and evaluation of its antimicrobial and anticancer activity Spectrochimica Acta Part A : Molecular and Biomolecular Spectroscopy Biosynthesis and characterization of ," *Spectrochim. ACTA PART A Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 129, no. September 2018, pp. 255–258, 2014, doi: 10.1016/j.saa.2014.03.027.
- [117] B. Dutta, E. Kar, N. Bose, and S. Mukherjee, "Significant enhancement of the electroactive β -phase of PVDF by incorporating hydrothermally synthesized copper oxide nanoparticles," *RSC Adv.*, vol. 5, no. 127, pp. 105422–405434, 2015, doi: 10.1039/c5ra21903e.
- [118] L. Mei Kei, "GREEN SYNTHESIS, CHARACTERIZATION OF COPPER(II) OXIDE NANOPARTICLES AND THEIR PHOTOCATALYTIC ACTIVITY," 2016.
- [119] K. Behlol, A. Ahmed, and V. Anbazhagan, "Synthesis of copper sulfide nanoparticles and evaluation of in vitro antibacterial activity and in vivo therapeutic effect in bacteria-infected zebrafish †," 2017, doi: 10.1039/c7ra05636b.
- [120] F. F. Castellón-Barraza *et al.*, "Synthesis and characterization of copper sulfide nanoparticles obtained by the polyol method," *Adv. Sci. Lett.*, vol. 4, no. 2, pp. 596–601, 2011, doi: 10.1166/asl.2011.1249.
- [121] W. Zhou and D. E. Moore, "Photosensitizing activity of the anti-bacterial drugs sulfamethoxazole and trimethoprim," *J. Photochem. Photobiol. B Biol.*, vol. 39, no. 1, pp. 63–72, 1997, doi: 10.1016/S1011-1344(96)07468-4.
- [122] E. C. Morais, G. G. Correa, R. Brambilla, C. Radtke, I. M. Baibich, and J. H. Z. do Santos, "The interaction of encapsulated pharmaceutical drugs with a silica matrix," *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 103, pp. 422–429, 2013, doi: 10.1016/j.colsurfb.2012.10.059.
- [123] M. Zienkiewicz-Strzałka, A. Deryło-Marczewska, Y. A. Skorik, V. A. Petrova, A.

Choma, and I. Komaniecka, "Silver nanoparticles on chitosan/silica nanofibers: Characterization and antibacterial activity," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 21, no. 1, 2020, doi: 10.3390/ijms21010166.

- [124] European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing, "Determination of minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibacterial agents by agar dilution," *Clin. Microbiol. Infect.*, vol. 6, no. 9, pp. 509–515, 2000, doi: 10.1046/j.1469-0691.2000.00142.x.
- [125] M. J. Hajipour *et al.*, "Antibacterial properties of nanoparticles," *Trends Biotechnol.*, vol. 30, no. 10, pp. 499–511, 2012, doi: 10.1016/j.tibtech.2012.06.004.
- [126] R. Y. Pelgrift and A. J. Friedman, "Nanotechnology as a therapeutic tool to combat microbial resistance ☆," *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 65, no. 13–14, pp. 1803–1815, 2013, doi: 10.1016/j.addr.2013.07.011.
- [127] J. R. Scott and T. C. Barnett, "Surface Proteins of Gram-Positive Bacteria and How They Get There," *Annu. Rev. Microbiol.*, vol. 60, no. 1, pp. 397–423, 2006, doi: 10.1146/annurev.micro.60.080805.142256.
- [128] B. Mustafa, "Preparation, Characterization and Antimicrobial Properties of Silica Based Nanocoatings," *J. Adv. Chem. Eng.*, vol. 08, no. 01, pp. 6–10, 2018, doi: 10.4172/2090-4568.1000184.
- [129] F. Mehrabi *et al.*, "Silver-coated magnetic nanoparticles as an efficient delivery system for the antibiotics trimethoprim and sulfamethoxazole against E. Coli and S. aureus: release kinetics and antimicrobial activity," *BioMetals*, vol. 5, 2021, doi: 10.1007/s10534-021-00338-5.
- [130] J. S. Dickson and M. Koochmaraie, "Cell Surface Charge Characteristics and Their Relationship to Bacterial Attachment to Meat Surfaces," pp. 832–836, 1989.
- [131] R. Sonohara, N. Muramatsu, H. Ohshima, and T. Kondo, "Difference in surface properties between Escherichia coli and Staphylococcus aureus as revealed by electrophoretic mobility measurements," vol. 4622, no. 95, pp. 4–6, 1995.
- [132] F. Mehrabi, T. Shamspur, A. Mostafavi, H. Hakimi, and M. Mohamadi, "Inclusion of sulfamethoxazole in a novel CuFe₂O₄ nanoparticles/mesoporous silica-based nanocomposite: Release kinetics and antibacterial activity," *Appl. Organomet. Chem.*,

vol. 35, no. 1, 2021, doi: 10.1002/aoc.6035.

- [133] Y. Zhao, X. Sun, G. Zhang, B. G. Trewyn, I. I. Slowing, and V. S. Y. Lin, "Interaction of mesoporous silica nanoparticles with human red blood cell membranes: Size and surface effects," *ACS Nano*, vol. 5, no. 2, pp. 1366–1375, 2011, doi: 10.1021/nn103077k.
- [134] R. Mohammadpour, M. Yazdimamaghani, D. L. Cheney, J. Jedrkiewicz, and H. Ghandehari, "Subchronic toxicity of silica nanoparticles as a function of size and porosity," *J. Control. Release*, vol. 304, no. April, pp. 216–232, 2019, doi: 10.1016/j.jconrel.2019.04.041.
- [135] N. Akbar, J. Gul, R. Siddiqui, M. R. Shah, and N. A. Khan, "Moxifloxacin and sulfamethoxazole-based nanocarriers exhibit potent antibacterial activities," *Antibiotics*, vol. 10, no. 8, 2021, doi: 10.3390/antibiotics10080964.
- [136] P. L. Yeo, C. L. Lim, S. M. Chye, A. P. K. Ling, and R. Y. Koh, "Niosomes: A review of their structure, properties, methods of preparation, and medical applications," *Asian Biomed.*, vol. 11, no. 4, pp. 301–313, 2017, doi: 10.1515/abm-2018-0002.
- [137] A. P. Richter *et al.*, "An environmentally benign antimicrobial nanoparticle based on a silver-infused lignin core," *Nat. Nanotechnol.*, vol. 10, no. 9, pp. 817–823, Sep. 2015, doi: 10.1038/nnano.2015.141.

TACATGGTCAACCAAATTCTTGCAAATTCTGCATTCTACTGT


#47

SILVER

Ag


47 107.868

CONDUCTIVE




Threads of silver are woven into gloves so that they can be used to operate touch-screen devices.

PHOTOGRAPHY



Light-sensitive silver halides are used in film photography, as well as in photochromic glasses.

ANTIBACTERIAL



Silver nanoparticles have antibacterial properties and are woven into clothes to prevent odours.

ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY | CELEBRATING IYPT 2019 | © 2019 Andy Brunning/Royal Society of Chemistry #IYPT2019

#14



SILICON

Si

14

28.085



GLASS



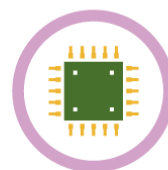
Most rocks are silicate minerals. Sand is silicon dioxide, and is the principal ingredient of glass.

LUBRICANTS



Silicone oils are lubricants which are sometimes added to cosmetics and personal care products.

CHIPS



Silicon is widely used in integrated circuits, or "chips", found in almost all electronic devices.



© 2019 Andy Brunning/Royal Society of Chemistry

#IYPT2019

[137][41]