



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

**POSGRADO EN NANOCIENCIAS Y MATERIALES**

**Nanopartículas de sílice: síntesis, caracterización y aproximación  
*in-silico* en cáncer de piel**

**Tesis que presenta**

Nayeli Edith Navarro García

**Para obtener el grado de**

Maestra en Nanociencias y Materiales

**CODIRECTORES DE TESIS**

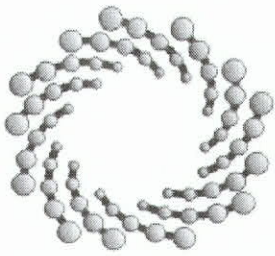
Dr. Vicente Rodríguez González

Dr. Erik Díaz Cervantes

**San Luis Potosí, S. L. P., Diciembre 2022**







**IPICYT**

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

## Acta de Examen de Grado

La Secretaría Académica del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., certifica que en el Acta 082 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 4 días del mes de enero del año 2023, se reunió a las 11:20 horas en las instalaciones del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., el Jurado integrado por:

<b>Dr. Horacio Flores Zúñiga</b>	<b>Presidente</b>	<b>IPICYT</b>
<b>Dra. Ma. del Rosario Abraham Juárez</b>	<b>Secretaria</b>	<b>UGto</b>
<b>Dr. Erik Díaz Cervantes</b>	<b>Sinodal externo</b>	<b>UGto</b>
<b>Dr. Vicente Rodríguez González</b>	<b>Sinodal</b>	<b>IPICYT</b>

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

**MAESTRA EN NANOCIENCIAS Y MATERIALES**

sustentó la C.

**Nayeli Edith Navarro García**

sobre la Tesis intitulada:

*Nanopartículas de sílice: síntesis, caracterización y aproximación in-silico en cáncer de piel*

que se desarrolló bajo la codirección de

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

El Jurado, después de deliberar, determinó

**APROBARLA**

Dándose por terminado el acto a las 13:05 horas, procediendo a la firma del Acta los integrantes del Jurado. Dando fe la Secretaria Académica del Instituto.

A petición de la interesada y para los fines que a la misma convengan, se extiende el presente documento en la ciudad de San Luis Potosí, S.L.P., México, a los 4 días del mes de enero de 2023.

  
**Dra. Lina Raquel Riego Ruiz**  
Secretaria Académica

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



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

## **DEDICATORIA**

*A mi familia porque gracias a ellos, su apoyo, consejos, regaños, soy la persona que ahora soy. Siempre han sido y serán mi fuente de inspiración.*

*A mis abuelos Ismael y Ma. del Refugio, que a pesar de ya no estar con nosotros, sé que están orgullosos de lo que he logrado y me cuidan siempre.*

## **AGRADECIMIENTOS**

### ***Institucionales***

Mis agradecimientos al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada (CVU: 1079856) y al proyecto de Ciencia Básica (SEP-CONACYT).

Agradezco al Instituto Potosino de Investigación científica y tecnológica A.C. (IPICYT) y al Laboratorio Nacional de Investigaciones en Nanociencias y Nanotecnología (LINAN) por las facilidades prestadas como el uso de instalaciones, equipos y recursos, así como a todo el personal por los servicios y atenciones prestadas.

### ***Personales***

Un agradecimiento a mis asesores, al Dr. Vicente Rodríguez González y al Dr. Erik Díaz Cervantes, por su codirección, apoyo y confianza durante la realización de este proyecto.

Agradezco también a mi Comité Tutoral por su contribución académica y apoyo en cada fase del proyecto.

A los técnicos de LINAN, M. en C. Ana Iris Peña Maldonado, Dr. Héctor Gabriel Silva Pereyra y al Dr. Ignacio G. Becerril Juárez por su apoyo en las distintas caracterizaciones. Un agradeciendo también para la Dra. Olga Araceli Patrón Soberano y la Biol. Mireya Guadalupe Sánchez Garza, por facilitarme el acceso a sus laboratorios, permitirme el uso de su equipo.

A mis amigos y compañeros de laboratorio, especialmente a Azu, Blanquita, Gaby, Angélica (quien me apoyo con sus conocimientos para poder llevar a cabo mi desarrollo experimental en este proyecto), por el apoyo, la compañía y diversión.

Un agradecimiento especial a mi familia, mis papas y el Danny's, por apoyarme siempre, ante todo y ante todos, por escucharme, motivarme, no dejarme sola nunca, por su amor incondicional durante todas las etapas de mi vida. A mis amigos de vida Fer, Abby, Cristian que a pesar de la distancia siempre están apoyándome.

## **GRACIAS INFINITAS**

## CONTENIDO

<b>DEDICATORIA</b> .....	5
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	6
<b>LISTA DE TABLAS</b> .....	9
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	10
<b>ABREVIATURAS</b> .....	12
<b>RESUMEN</b> .....	13
<b>ABSTRACT</b> .....	15
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	17
<b>HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</b> .....	20
<b>CAPÍTULO 1</b> .....	22
<b>MARCO TEÓRICO</b> .....	22
1.1 El cáncer.....	22
1.1.1 Tratamientos y fármacos contra el cáncer.....	24
1.2 Nanomateriales estudiados para su uso en tratamientos de cáncer.....	26
1.3 Materiales mesoporosos; nanopartículas a base de sílice.....	33
1.4 Método de síntesis para obtención de nanopartículas mesoporosas a base de sílice.....	35
1.5 Vías de administración de las nanopartículas.....	36
1.6 Simulación computacional en sistemas de liberación de fármacos.....	37
1.7 Perspectivas de aplicación: cáncer de piel.....	40
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	43
<b>SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN</b> .....	43
2.1 Síntesis de nanopartículas a base de sílice.....	43
2.2 Funcionalización de nanopartículas.....	45
2.3 Preparación de PBS (fluido corporal simulado).....	46
2.4 Obtención de curvas de calibración (Carvacrol, Rodamina-B, Cloroquina).....	46
2.5 Adsorción de fármacos.....	47
2.6 Pruebas de liberación.....	47
2.7 Pruebas de estabilidad coloidal.....	47
2.8 Simulación computacional.....	48
2.8.1 Optimización de moléculas.....	48

2.8.2 Reactividad química.....	48
2.8.3 Energías de reacción.....	49
2.8.4 Docking (acoplamiento) Molecular.....	49
2.9 Caracterización .....	50
2.9.1 Espectroscopia Ultravioleta Visible (UV-Vis) .....	50
2.9.2 Espectroscopia Infrarroja por Transformadas de Fourier (FTIR).....	50
2.9.3 Difracción de Rayos X (DRX).....	50
2.9.4 Fisisorción de nitrógeno (BET).....	50
2.9.5 Microscopia electrónica de barrido (SEM).....	51
2.9.6 Microscopia electrónica de transmisión (TEM).....	51
<b>CAPÍTULO 3.....</b>	<b>53</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>53</b>
3.1 Nanopartículas a base de sílice .....	53
3.1.1 Composición química de las nanopartículas a base de sílice.....	53
3.1.2 Análisis estructural de las nanopartículas a base de sílice .....	54
3.1.3 Análisis respecto a textura superficial de las nanopartículas a base de sílice ...	55
3.1.3 Análisis morfológico de las nanopartículas a base de sílice.....	57
3.2 Funciones condensadas de Fukui .....	61
3.3 Propiedades electrónicas de las moléculas.....	68
3.4 Energías de reacción .....	72
3.5 Pruebas de adsorción y liberación.....	76
3.6 Acoplamiento o Docking Molecular.....	81
3.7 Pruebas de estabilidad coloidal.....	85
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>88</b>
<b>PERSPECTIVAS.....</b>	<b>90</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>91</b>
ANEXO 1: CURVAS DE CALIBRACIÓN.....	91
Rodamina B (Rh-B).....	91
Carvacrol (CAR).....	91
Cloroquina .....	92
ANEXO 2: ETAPAS DEL DESARROLLO DE FÁRMACOS.....	93
ANEXO 3: CLASIFICACIÓN DE ISOTERMAS E HISTÉRESIS DE LA IUPAC.....	95
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>97</b>



## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1;</b> <i>nanomateriales estudiados para su uso como sistemas portadores y liberadores de fármacos.</i> .....	29
<b>Tabla 2;</b> <i>Reactivos empleados en la síntesis de nanopartículas a base de sílice.</i> 43	
<b>Tabla 3;</b> <i>Reactividad química y propiedades de Carvacrol, Cloroquina, Dacarbazina, Rodamina-B, TEA, APTES y Quitosano.</i> .....	63
<b>Tabla 4;</b> <i>Energía de reacción entre las nanopartículas, fármacos, medios de funcionalización y quitosano.</i> .....	72
<b>Tabla 5;</b> <i>cantidad y eficiencia de carga en el proceso de adsorción de fármacos.</i> 76	
<b>Tabla 6;</b> <i>valores obtenidos del ajuste Korsmeyer-Peppas para las pruebas de liberación.</i> .....	80
<b>Tabla 7;</b> <i>información obtenida de los dockings de Rh-B, CAR, CLQ, DAC y SiO<sub>2</sub> sobre la proteína codificada del gen BRAF.</i> .....	82

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1;</b> Grafico representativo de los casos nuevos de cáncer registrados en el año 2020 [2].	17
<b>Figura 2;</b> clasificación de los tipos de cáncer más comunes [11]	23
<b>Figura 3;</b> Desarrollo del cáncer de piel y método de aplicación del sistema SiO <sub>2</sub> +fármaco.	41
<b>Figura 4;</b> Diagrama representativo de la metodología implementada en la obtención de las nanopartículas a base de sílice [64].	44
<b>Figura 5;</b> a) Espectro FTIR correspondiente a nanopartículas a 45 °C, ~30 °C y 20 °C. b) Espectro FTIR (banda a) referencia de literatura [73].	53
<b>Figura 6;</b> Espectro UV-Vis correspondiente a las nanopartículas a 45 °C, ~30 °C y 20 °C.	54
<b>Figura 7;</b> Difractograma correspondiente a las nanopartículas a 45 °C, ~30 °C y 20 °C.	55
<b>Figura 8;</b> Isotermas correspondientes a análisis de fisisorción de N <sub>2</sub> para las nanopartículas; a) 45 °C, b) 30 °C y c) 20 °C.	56
<b>Figura 9;</b> Micrografías correspondientes a análisis SEM a 20000x magnificaciones (a, d, g), TEM a 100 nm aumentos (b, e,h) e Histogramas de tamaño promedio de partícula (c, f, i). a-b-c) a 45 °C, d-e-f) a ~30 °C y g-h-i) a 20 °C.	57
<b>Figura 10;</b> diagrama referente al funcionamiento del sistema portador y liberador de fármacos con las nanopartículas a base de sílice obtenidas a 20 °C	59
<b>Figura 11;</b> Moléculas optimizadas y modelos 3D de los orbitales HUMO y LUMO de Carvacrol, Cloroquina, Dacarbazina, Rodamina-B, Trietanolamina, APTES y Quitosano.	71
<b>Figura 12;</b> Gráficos de liberación de rodamina-b; a) Monitoreo de liberación por 24 hr con NPs b) Monitoreo de liberación durante 7 hr con NPs-FA.	77
<b>Figura 13;</b> Gráficos de liberación de Carvacrol; a) Monitoreo de liberación por 7 hr con NPs, b) Monitoreo de liberación durante 7 hr con NPs-FA.	78
<b>Figura 14;</b> Prueba de liberación correspondiente a la Cloroquina utilizando NPs.	79

<b>Figura 15;</b> a) estructura secundaria de la proteína codificada del gen BRAF, de color verde se muestran las 5 cavidades favorables donde puede darse la interacción ligando-proteína, b) estructura secundaria de las poses viables que tomarían los ligandos dentro de la interacción (color verde). .....	82
<b>Figura 16;</b> molécula de la dacarbazina.....	84
<b>Figura 17;</b> diagrama referente al funcionamiento del sistema portador y liberador de fármacos con las nanopartículas a base de sílice obtenidas a 20 °C sobre el cuerpo humano. ....	85
<b>Figura 18;</b> Curva de calibración correspondiente a la Rodamina-B .....	91
<b>Figura 19;</b> Curva de calibración correspondiente al Carvacrol.....	91
<b>Figura 20;</b> Curva de calibración correspondiente a la Cloroquina. ....	92
<b>Figura 21;</b> a) tipos de isothermas de adsorción y b) ciclos de histéresis de acuerdo a la clasificación IUPAC [109]. ....	95

## ABREVIATURAS

<i>SiO<sub>2</sub></i>	Sílice
<i>CAR</i>	Carvacrol
<i>Rh-B</i>	Rodamina-b
<i>TEA</i>	Trietanolamina
<i>APTES</i>	(3-Aminopropyl)triethoxysilane
<i>PBS</i>	Fluido Fisiológico Simulado
<i>NPs</i>	Nanopartículas a base de sílice sin funcionalizar
<i>NPs-FA</i>	Nanopartículas a base de sílice funcionalizadas con APTES
<i>NPs-FT</i>	Nanopartículas a base de sílice funcionalizadas con trietanolamina

## **RESUMEN**

El cáncer es una de las enfermedades con mayor índice de mortalidad a nivel mundial, uno de los problemas principales en el sector salud es la falta de especificidad y baja eficiencia de los medios portadores de fármacos empleados. Es por ello que con el transcurso del tiempo ha aumentado el interés respecto al desarrollo de nuevos transportadores de fármacos que a su vez tengan la capacidad de promover una liberación controlada del mismo, en este caso se destaca el uso de nanomateriales a base de sílice, debido a que es biocompatible, presenta elevada área superficial, exhibe porosidad ordenada, además de ser estable química, térmica y mecánicamente.

Es por ello que en este trabajo de investigación se plantea la síntesis mediante el método sol-gel de nanopartículas semiesféricas a base de sílice, con mesoporosidad ordenada y su evaluación como portador para liberación controlada de fármacos utilizados en cáncer (carvacrol, rodamina-b, cloroquina y dacarbazina), donde se utilizó como precursor tetraetil ortosilicato con trietanolamina y hexadeciltrimetilamonio en solución acuosa. De igual forma, se hicieron variaciones de temperatura, con el propósito de aumentar la velocidad de reacción y encontrar condiciones óptimas de síntesis (tamaño de partícula pequeño, porosidad homogénea y del orden mesoporosa).

El material obtenido se caracterizó mediante difracción de rayos X, espectroscopia infrarroja con transformadas de Fourier y espectroscopia UV-Vis para obtener información específica respecto a su estructura (grupos funcionales y modos vibracionales presentes, fase amorfa, etc). Con microscopia electrónica de barrido y microscopia electrónica de transmisión, se obtuvo información respecto a la morfología semiesférica porosa, así como, el tamaño promedio de partícula (de 25 nm a 33 nm). Tanto el área superficial, como el diámetro de poro y tipo de porosidad se determinaron mediante un análisis de fisisorción de N<sub>2</sub>. Posterior a la caracterización de las nanopartículas se evaluó la adsorción y mecanismo de liberación de moléculas modelo como: carvacrol, rodamina-b, cloroquina en una solución de PBS. De igual forma se diseñaron *in silico* los modelos referentes al SiO<sub>2</sub> y los fármacos, en seguida se realizó en acoplamiento molecular con la proteína codificada del gen *BRAF* (oncogén) para evaluar la interacción ligando-proteína. Las nanopartículas a base de sílice mesoporosas muestran potencial como material portador y liberador de fármacos, ya que presentan un área superficial de 706.74 m<sup>2</sup>/g, en cuanto a la liberación ocurre de

forma lenta y progresiva, además de que son estables coloidalmente. La dacarbazina presenta una buena interacción ligando-proteína con valores en eficiencia de ligando (LE) entre -6.8 a -7.0, seguido del carvacrol con valores entre -6.2 a -6.7, lo que indica que son potenciales para el uso en liberación de fármacos usados en tratamientos de cáncer de piel.

**Palabras clave:** dióxido de silicio, mesoporosidad ordenada, portador de fármacos, liberación controlada, nanopartículas semiesféricas, *in silico*, DFT.

## **ABSTRACT**

Cancer is one of the diseases with the highest mortality rate worldwide, one of the main problems in the health sector is the lack of specificity and low efficiency of the drug-carrying media used. That is why, over time, interest has increased in the development of new drug carriers that in turn have the ability to promote controlled drug release. In this case, the use of silica-based nanomaterials stands out, because it is biocompatible, it has a high surface area, it exhibits ordered porosity, in addition to being chemically, thermally and mechanically stable.

That is why this research work focuses on the sol-gel synthesis of silica-based hemispherical nanoparticles, with ordered mesoporosity, and their evaluation as a carrier for the controlled release of drugs used in cancer (carvacrol, rhodamine-b, chloroquine and dacarbazine), where tetraethyl orthosilicate with triethylamine and hexadecyltrimethylammonium in aqueous solution was used as precursor. Similarly, temperature variations were made in order to increase the reaction rate and find optimal synthesis conditions (small particle size, homogeneous porosity and mesoporous order).

The material obtained was characterized by X-ray diffraction, Fourier transform infrared spectroscopy and UV-Vis spectroscopy to obtain specific information regarding its structure (functional groups and vibrational modes present, amorphous phase, etc). With scanning electron microscopy and transmission electron microscopy, information was obtained regarding the hemispherical porous morphology, as well as the average particle size (from 25 nm to 33 nm). Surface area, pore diameter, and porosity type were determined by N<sub>2</sub> physisorption analysis. After the characterization of the nanoparticles, the adsorption and release mechanism of model molecules such as: carvacrol, rhodamine-b, chloroquine in a PBS solution were evaluated. In the same way, the models referring to SiO<sub>2</sub> and the drugs were designed *in silico*, followed by molecular coupling with the protein encoded by the BRAF gene (oncogene) to evaluate the ligand-protein interaction. Mesoporous silica-based nanoparticles show potential as carrier and drug-releasing material, since they have a surface area of 706.74 m<sup>2</sup>/g, in terms of release occurs slowly and progressively, in addition to being colloidally stable. Dacarbazine

presents a good ligand-protein interaction with ligand efficiency (LE) values between -6.8 to -7.0, followed by carvacrol with values between -6.2 to -6.7, which indicates that they are potential for use in drug delivery used in skin cancer treatments.

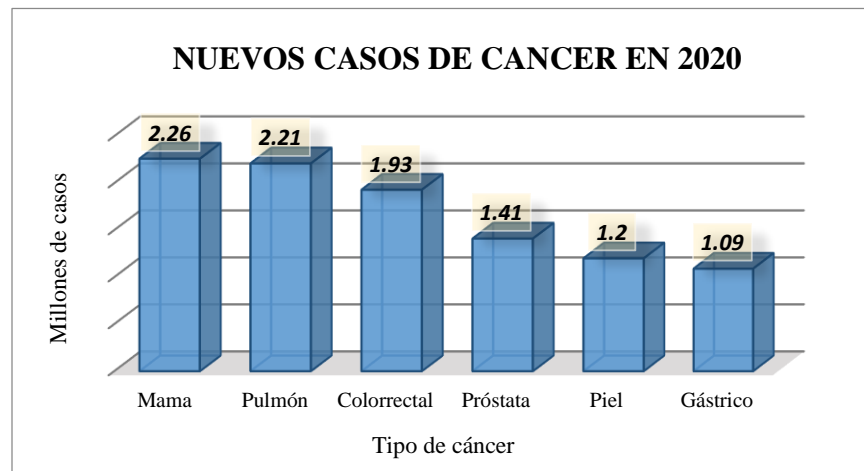
**Keywords:** silicon dioxide, ordered mesoporosity, drug carrier, controlled release, hemispherical nanoparticles, *in silico*, DFT.



## INTRODUCCIÓN

De acuerdo a la OMS el cáncer se define como la multiplicación acelerada de células anormales, estas tienen la capacidad de extenderse a distintas partes del cuerpo humano incluyendo cualquier órgano, a dicha acción se le conoce como metástasis [1]. El CIIC (Centro Internacional de Investigación sobre el Cáncer) atribuye que la causa de origen del cáncer es debido a alteraciones genéticas, aunado a factores externos como: exposición a radiaciones UV (físicos), arsénico contenido en aguas, exposición al tabaco y consumo elevado de alimentos procesados (químicos), virus, bacterias o parásitos (biológicos).

El cáncer se convirtió en la principal causa de muerte en el año 2020, provocando aproximadamente 10 millones de defunciones, además de registrarse más de 10 millones de casos nuevos, estos se presentan de forma esquemática en la figura 1 [2].



**Figura 1;** Grafico representativo de los casos nuevos de cáncer registrados en el año 2020 [2].

En la actualidad no existe un tratamiento o fármaco capaz de erradicar completamente el cáncer, sólo se ha logrado mantenerlo inactivado por periodos de tiempo indeterminados. Los tratamientos utilizados actualmente [3] desencadenan una elevada cantidad de efectos secundarios debido principalmente a su poca especificidad, donde no sólo actúan sobre las células cancerígenas sino que también afectan directamente a células sanas, aparte de presentar costos muy

elevados. Con base en dicha problemática surgió la necesidad de implementar nuevos materiales orgánicos e inorgánicos en escalas nanométricas ( $1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$ ), éstos se presentan como una solución óptima ya que la posibilidad de desencadenar efectos secundarios sobre el cuerpo humano es menor, debido a su eficiencia de captación celular y a que su tamaño es menor al de las bacterias, por ende el sistema inmune no los rechaza con facilidad. En referencia específica a materiales para portadores de fármacos, se sabe que al presentar dimensiones nanométricas tanto el área superficial como la disponibilidad de sitios activos para la posible adsorción de fármacos aumentan, además, de aumentar éstos con el uso de materiales mesoporosos [4].

Las nanopartículas de silicio son consideradas como un material poroso nanoestructurado versátil, ya que, su tamaño de partícula y morfología pueden variar (esferas, cubos, estructuras lamelares y nanotubos), debido a sus enlaces Si-O la resistencia mecánica que presenta es superior a la de liposomas u óxidos metálicos [5].

Para el uso de portadores de fármacos es necesario tener una superficie mesoporosa homogénea que favorezca los procesos de adsorción y liberación de los mismos, además este término será utilizado con frecuencia a lo largo de esta investigación, por ello, se considera necesario definir el concepto de porosidad. Un material poroso es un material con cavidades o canales en su superficie, pueden ser micro, meso o macroporosos, además se puede presentar porosidad ordenada, referente a la presencia de tamaño, forma y orientación de manera periódica, pero también se puede tener porosidad desordenada, es decir, la orientación y tamaño de los poros es aleatoria [5].

Actualmente el dióxido de silicio mesoporoso es uno de los materiales más investigados debido a su diversidad de aplicaciones, para este caso específico es de relevancia su estabilidad mecánica, térmica y química, elevada área superficial, biocompatibilidad, su capacidad de liberación controlada, su capacidad de carga, entre otras características que permiten usarlo como portador de fármacos [5].

En referencia a la problemática presentada se plantea como posible solución la síntesis y caracterización de nanopartículas semiesféricas mesoporosas a base de

sílice como posible portador/liberador de fármacos contra el cáncer (carvacrol, rodamina-b, cloroquina y dacarbazina), donde su comportamiento será estudiado con una aproximación *in silico* hacia cáncer de piel.

La presente tesis consta de los siguientes capítulos:

- ☑ *Capítulo 1:* se presenta el estado del arte referente a la problemática, además de información detallada respecto a la solución planteada.
- ☑ *Capítulo 2:* se presenta la metodología experimental utilizada, así como la metodología del método *in silico* empleado. Además se describen las técnicas de caracterización implementadas.
- ☑ *Capítulo 3:* se muestran los resultados y discusión sobre la síntesis y caracterización de nanopartículas mesoporosas a base de sílice, las pruebas de liberación y los resultados obtenidos mediante simulación computacional.
- ☑ *Capítulo 4:* se presentan las conclusiones generales derivadas del presente trabajo de investigación.

## **HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

### **Hipótesis**

El diseño racional, la síntesis, la caracterización *in silico* y experimental de nanopartículas mesoporosas a base de sílice, permite entender su estructura química y electrónica, para ser usadas como portadores y liberadores de fármacos, en el tratamiento de enfermedades crónico-degenerativas como el cáncer.

### **Objetivo general**

Diseñar, sintetizar, caracterizar *in silico* y experimentalmente, un material nanoestructurado, mesoporoso ordenado a base de sílice, el cual funcione como un sistema portador y liberador de fármacos, con potencial aplicación en el tratamiento de cáncer de piel.

### **Objetivos específicos**

- ⊕ Diseñar *in silico* un material mesoporoso de sílice.
- ⊕ Sintetizar un material a base de nanopartículas mesoporosas de sílice.
- ⊕ Caracterizar las nanopartículas mediante UV-Vis, FTIR, DRX, SEM, TEM y fisisorción de N<sub>2</sub>.
- ⊕ Realizar pruebas de adsorción SiO<sub>2</sub>/fármaco experimental (carvacrol, rodamina-b, cloroquina) y computacionalmente (dacarbazina).
- ⊕ Evaluar la liberación de los fármacos en solución fisiológica simulada (PBS) y estudiar su mecanismo de liberación.
- ⊕ Hacer pruebas *in silico*, es decir, simular el acoplamiento molecular en los sistemas sintetizados con blancos biológicos, involucrados en cáncer de piel.



**CAPÍTULO 1**

**MARCO TEÓRICO**

# **CAPÍTULO 1**

## **MARCO TEÓRICO**

### *1.1 El cáncer*

El cáncer es un padecimiento provocado por grupos celulares que comienzan a replicarse y crecer de forma autónoma y sin control aparente, debido a una inadecuada división celular, dando origen a células anormales con capacidad de infiltrarse en el tejido corporal normal y destruirlo, lo que da paso a una invasión de tejidos tanto de forma local como en distintas zonas del cuerpo. La historia de esta enfermedad se atribuye principalmente a factores poblacionales como; envejecimiento, cambios alimenticios (consumo elevado de productos procesados), hábitos, incremento poblacional, entre otros [6-9].

En referencia a reportes realizados por la ONU, en 2021 el cáncer alcanzó 19.3 millones de nuevos casos con personas afectadas por dicho padecimiento y provocó el deceso de 10 millones de vidas a nivel mundial, donde el 70% de los mismos ocurren en países cuya economía es de nivel bajo o medio. Convirtiéndolo así en la segunda causa de muerte [10].

Existen aproximadamente 200 tipos de cáncer y los síntomas varían para cada caso, los más comunes son; fatiga, bulto en la piel de la zona afectada, cambios frecuentes en el peso, cambios de coloración en la piel, tos, dificultad para respirar, dolor muscular/articulaciones, fiebre, hematomas, entre otros [9].

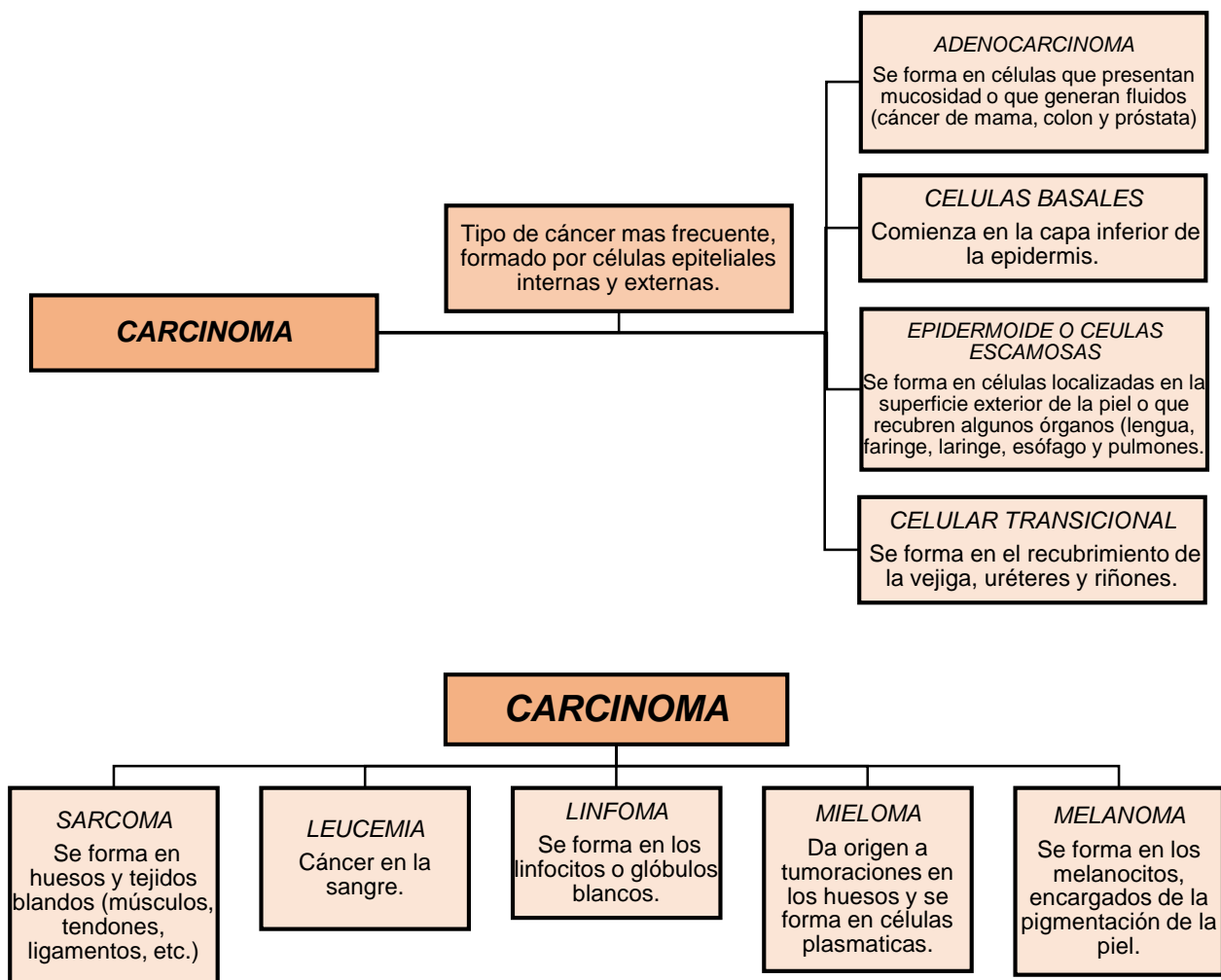
El cáncer aparece en diversas partes del cuerpo (órganos, tejidos o células), con base en la zona afectada es la clasificación o nombre que éste recibe, en la figura 2 se muestran algunos de los cánceres comunes, como primera aproximación en el desarrollo de este proyecto el enfoque será sobre el carcinoma de células basales y de células escamosas, es decir, cáncer de piel.

En ese orden una mutación provoca errores de funcionamiento en los genes que forman el ADN, por tanto daña las células [9]; estas mutaciones se conocen como “mutágenos” y existen dos tipos:

➔ **Iniciadores;** encargados de predisponer el desarrollo de tumores. Conocidos como la primera etapa del cáncer, donde los iniciadores sufren una alteración

mediante enzimas del cuerpo encargadas de la metabolización de fármacos, convirtiéndolos en electrofílicos, dándoles la capacidad de provocar cambios en el ADN mediante su unión covalente. La mayoría de los iniciadores deben ser metabolizados antes de ser activos y además presentan efectos de carácter irreversible [8].

➔ Promotores; compuestos no reactivos que estimulan el crecimiento del tumor. Conocidos como la segunda etapa del cáncer. Una vez que la célula ha sido mutada por el iniciador, se vuelve susceptible a los efectos del promotor, es decir, se inicia la proliferación celular, dando origen a varias células que contienen la mutación [8].



**Figura 2;** clasificación de los tipos de cáncer más comunes [11]

Cabe resaltar que no todos los cánceres presentan tumoración, es decir, una masa anormal de tejido corporal, tal es el caso de la leucemia, cáncer de médula ósea y sangre, además de que pueden ser tanto benignos como malignos. Un tumor benigno puede incrementar de tamaño, pero no tiene la capacidad de propagarse a una zona distinta del cuerpo, en cambio un tumor maligno crece, entra en contacto con el torrente sanguíneo y por consiguiente las células cancerosas se propagan a otras zonas del cuerpo. En relación a ello existe una tercera etapa conocida como progresión y se asocia al cambio de un tumor benigno a maligno, ocurre mediante mutaciones extras o espontáneas en los cromosomas de las células ya mutadas, aumentando el índice de crecimiento, invasión y metástasis [11].

La metástasis es la responsable de que las células cancerosas se propaguen por todo el cuerpo, generando la formación de nuevos tumores, este desplazamiento es posible debido a la reestructuración del citoesqueleto celular, lo que les permite unirse mediante proteínas a la matriz extracelular dilatando la parte frontal de la célula y liberando la parte final de la misma, provocando un deslizamiento que se detiene hasta que la célula colisiona con la membrana basal (capa que envuelve a los tejidos), una vez que las células llegan a esta posición, secretan un grupo de enzimas digestivas que degradan la membrana permitiendo que dichas células continúen su migración, posteriormente entran al torrente sanguíneo y viajan a través del sistema circulatorio, hasta encontrar un tejido nuevo, generando así el crecimiento de un nuevo tumor [12].

### *1.1.1 Tratamientos y fármacos contra el cáncer*

Actualmente no existe un tratamiento o fármaco que remedie de manera total esta afectación, generalmente sólo se controla o se logra una remisión de esta, en distintos periodos de tiempo. Es por ello, que ahondar en su investigación lo hace un tema de interés para el área de la salud.

Dentro de los tratamientos típicos para cáncer se encuentran [13]:

- ⊕ *Cirugía*: operación en la cual se corta y extirpa el tejido canceroso.
- ⊕ *Quimioterapia*: se usan medicamentos especializados para reducir o eliminar células cancerosas.



- ⊕ *Radioterapia*: uso de rayos con alta energía para eliminar células cancerosas.
- ⊕ *Terapia hormonal*: impide que células cancerosas obtengan hormonas necesarias para su crecimiento.
- ⊕ *Inmunoterapia*: tratamiento que actúa sobre el sistema inmunitario del cuerpo y lo ayuda a combatir las células cancerosas o bien ayuda a controlar efectos secundarios provocados por otros tratamientos contra el cáncer.
- ⊕ *Trasplante de células madre*: reemplaza células de la médula ósea que se pierden debido a dosis muy altas de quimioterapias o radioterapias.

En términos generales los fármacos empleados para el tratamiento del cáncer se clasifican de acuerdo a su mecanismo de funcionamiento, estructura química y las posibles interacciones que tienen con otros medicamentos, dentro de los principales se encuentran:

- ⊕ *Agentes alquilantes*: su función principal es impedir la reproducción de las células, dañando su ADN. Funcionan para tratar todas las fases del ciclo celular. Se usan para cánceres como; cáncer de pulmón, de mama, ovario, leucemia, linfomas, enfermedad de Hodgking, mieloma múltiple y sarcoma. Una de las desventajas es que pueden afectar las células de la médula ósea [14].
- ⊕ *Nitrosoureas*: tienen similitud a los agentes alquilantes con la especificación de poder llegar al cerebro, ya que tienen la capacidad de atravesar la barrera hematoencefálica. Por lo que regularmente se usa en tratamientos contra tumores cerebrales [14].
- ⊕ *Antimetabolitos*: interfieren en la correcta codificación de las bases que forman el ADN y ARN, evitando la generación de copias y por ende la reproducción celular. Funciona para cáncer de seno, de ovario, en el tracto intestinal y leucemias [14].
- ⊕ *Antibióticos antitumorales*: alteran el ADN de las células cancerígenas, interfiriendo en el funcionamiento de las enzimas involucradas, evitando así, que estas crezcan y se multipliquen. Su principal desventaja es la producción de daños permanentes e irreversibles en el corazón [14].

⊕ *Inhibidores de la mitosis*: alcaloides de origen vegetal, es decir productos naturales, derivados de plantas, estos detienen la división celular evitando la formación y multiplicación de nuevas células [14].

La mayoría de las alternativas enlistadas anteriormente desencadenan una serie de efectos secundarios que disminuyen ampliamente la calidad de vida para las personas que lo padecen, además de presentar un costo elevado, convirtiéndolos en un recurso poco accesible para todas las personas, debido a ello surge la necesidad de implementar el uso de materiales como vehículos portadores y liberadores prolongados de fármacos, con propiedades mejoradas que les permita ser más específicos, actuar sólo sobre las células dañadas logrando disminuir de manera significativa los efectos secundarios y mejorar la calidad de vida de las personas que padecen dicha afección, además de poder ser accesibles en un rango poblacional mayor.

Para el desarrollo de este proyecto se emplearan los fármacos, Rodamina-B, Carvacrol, Cloroquina y Dacarbazina, mismos que serán presentados a detalle en el capítulo 3.

### *1.2 Nanomateriales estudiados para su uso en tratamientos de cáncer*

Comenzando por la introducción del término "nanotecnología", que hace referencia a una tecnología con gran diversidad de aplicaciones, en rasgos generales permite trabajar, manipular o en su defecto modificar la materia a pequeñas escalas, específicamente a escalas nanométricas ( $1 \times 10^{-9}$  m) [15]. Por lo tanto un nanomaterial o sistema nanoestructurado es un material cuyas partículas no son mayores a 100 nm en al menos una de sus dimensiones y comienzan a implementarse en tratamientos de cáncer debido a su tamaño/propiedades (ópticas, eléctricas, biocompatibilidad, baja toxicidad, gran área superficial, especificidad elevada, etc.) que hacen más fácil la detección de marcadores de cáncer, incluso a bajas concentraciones, esto a su vez permite hacer una detección del mismo en el

sistema a etapas tempranas [16-20]. De igual manera su estado permeable y área superficial confiere la posibilidad de hacer encapsulaciones de diversos fármacos, con esto se evita su degradación y metabolización antes de llegar a la célula cancerosa/tumor, disminuyendo significativamente el ataque hacia las células sanas, por lo tanto, también reduce los efectos secundarios. La liberación del fármaco ocurre mediante cambios en el ambiente químico del sistema o ante la aplicación de estímulos como; temperatura, cambio de pH, radiación, etc. [16-20].

El objetivo principal de emplear sistemas nanoestructurados como portadores y liberadores de fármacos, es debido, a que se pueden ajustar más fácilmente las cinéticas de liberación, se permite controlar la biodistribución, por ende, minimizan los efectos secundarios mejorando la eficiencia del fármaco. Es importante recalcar que estos sistemas pretenden superar limitaciones como la vida media del medicamento empleado, baja estabilidad, inmunogenicidad, incrementando la actividad terapéutica de los fármacos y disminuyendo sus efectos tóxicos (mediante el uso de receptores para dianas moleculares específicas del cáncer).

Actualmente los sistemas de dosificación de fármacos presentan buena efectividad tanto de liberación controlada como de generación de concentraciones elevadas del mismo a nivel local, no obstante su alcance se ve disminuido ya que actúa sobre tejidos y no sobre células individuales [21].


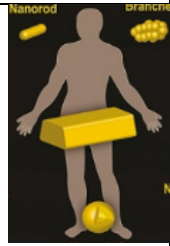
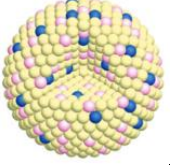
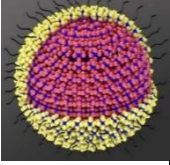
El tamaño nanométrico del material está directamente relacionado con la biodisponibilidad (cantidad y tiempo que tarda el material o fármaco en llegar a la diana terapéutica) y el tiempo que puede permanecer dentro del torrente sanguíneo. De forma general, se considera que partículas <10 nm son eliminadas del cuerpo humano con gran rapidez mediante vía renal, partículas >10 nm y <70 nm presentan la capacidad de penetración capilar y partículas >70 nm y <200 nm tienen mayor tiempo de circulación dentro del torrente sanguíneo [21]. A menor tamaño de partícula, más fácil será que se puedan pasar las membranas celulares, además se tiene una mayor permeabilidad de células diana, haciendo que la entrega de fármacos sea más eficiente y la probabilidad de eliminación temprana por el organismo sea baja [21].

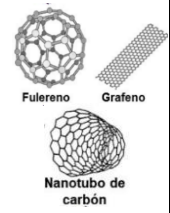


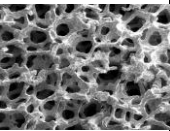
Algunos aspectos básicos a considerar para la liberación de fármacos son la estabilidad, distribución, mecanismo de liberación, biodegradación, relación costo/beneficio, reproducibilidad del mismo a grandes escalas, entre otros [18, 20].


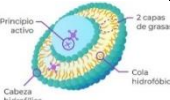
Según los reportes de la FDA, los primeros sistemas nanoestructurados fueron a base de liposomas, que básicamente consisten en lípidos con capacidad de almacenamiento y liberación de fármacos, tanto en el interior del mismo como en su capa lipídica. Su mecanismo de acción consiste en una especie de “diana terapéutica”, una vez que el liposoma detecta las células tumorales las partículas activadas se dirigen específicamente hacia el tumor. Presentan mejora tanto en la permeabilidad como la retención. Existen liposomas comerciales con moléculas activas como Doxil™ con paclitaxel o bien liposomas con un recubrimiento de polietilenglicol, estos son conocidos como “silenciosos” y tiene la ventaja principal de poseer buen tiempo de circulación, pero una vez que entran al torrente sanguíneo estos liposomas se degradan con rapidez [22].

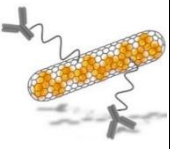

Debido a la inestabilidad de los liposomas fue necesario hacer modificaciones como la adición/implementación de otros materiales, tales como los ejemplificados a continuación en la tabla 1 [23].

**Tabla 1;** Nanomateriales estudiados para su uso como sistemas portadores y liberadores de fármacos.

MATERIAL	FIGURA REFERENTE	COMPOSICIÓN	MECANISMO DE ACCIÓN	BIOCOMPATIBLE	APLICACIÓN PRINCIPAL	ESPECIFICA	ÁREA SUPERFICIAL	TOXICIDAD	MORFOLOGÍA	TAMAÑO	PROPIEDADES	REFERENCIA	
<b>I N O R G Á N I C O S</b>	<b>NPs Magnéticas</b>		Materiales metálicos, recubiertos con polímeros u óxidos de hierro.	Sitio activo dirigido por un campo magnético a los tejidos. Se aplica calor y comienza la liberación del fármaco.	Si	Contraste en resonancias magnéticas	Si	11-140 m <sup>2</sup> /g	Media	---	1 μm -150 μm	Magnéticas, químicas, térmicas.	[24, 25]
	<b>NPs metales nobles</b>		Oro, plata y platino.	Se detecta la célula cancerosa mediante radiofrecuencia	Si	Diagnóstico de células cancerosas. Mejorar eficiencia de radioterapia.	Si	314-31400 nm <sup>2</sup>	Baja	Esferas, cubos, barras, shell, estrellas	10 nm - 100 nm	Ópticas, térmicas	[26, 27]
	<b>NPs de conversión ascendente</b>		Lantánidos	Se detectan las células tumorales mediante radiación infrarroja	Desconocido	Detección e imagen tumoral	No	---	Alta	Prismas hexagonales, esferas	800 nm - 1100 nm	Fluorescencia, térmicas	[28, 29]
	<b>Puntos cuánticos</b>		Semiconductores y materiales fluorescentes	---	Si	Monitoreo en tiempo real de la interacción fármaco-sistema biológico	No	---	Alta	Esférica	2 nm -10 nm	Ópticas	[30]

<b>Base de carbono</b>		Carbono	El fármaco es focalizado directamente a la célula cancerígena, distribuyéndose en los tejidos por periodos largos de tiempo destruyendo la célula.	No	En terapia y portadores de fármacos	Si	2500 m <sup>2</sup> /g	Alta	Nanotubos, fullerenos, puntos cuánticos, grafeno.	0.4 nm - 100 nm	Farmacocinéticas, focalización, producción de ROS	[31]
<b>Zeolitas</b>		Aluminosilicatos (Clinoptilolita y Heulandita)	El fármaco se almacena dentro de los poros, para después mediante cambios provocados en el ambiente (temperatura, pH) se libere en el tejido.	Si	Tamices moleculares	No	100 m <sup>2</sup> /g	Baja	Tubos, semiesférica, estrellas	---	Estructura microporosa, capacidad de intercambio iónico, estabilidad en ambientes ácidos	[32, 33]
<b>Arcillas</b>		Aluminosilicatos hidrofílicos (tierras de fuller o de batán, montmorillonita y paligorskita)	---	No	Portadores de fármacos	No	83-346 m <sup>2</sup> /g	Baja	Laminar	2 μm - 1 cm	Propiedades reológicas, inertes, intercambio catiónico	[34, 35]
<b>Material es porosos</b>		Sílice (mesoporosa), acetato de vinilo o etileno (macroporoso), polvos o espuma de	El fármaco se almacena dentro de los poros, para después mediante cambios	Si	Se utilizan para mejorar la biodisponibilidad de los fármacos y aumentar solubilidad	Si	>1000 m <sup>2</sup> /g	Baja	Esférica, semiesférica, barras	50 nm - 1 μm	Mecánicas, térmicas	[36, 37]

			polopropileno (microporoso), dióxido de titanio	provocados en el ambiente (temperatura, pH) se libere en el tejido.										
	<p><b>Microporos;</b> estos se forman debido a apilamientos o empaquetamientos estructurales. Se presentan en forma de hendidura, presentan adsorción reversible. Se subdividen en: ultramicroporo con diámetro &lt;0.5 nm, microporo con un diámetro de 0.5-1.4 nm y los supermicroporos con un tamaño entre 1.4-2 nm. Importantes en procesos de adsorción.</p> <p><b>Mesoporosos;</b> resultan debido a la formación de defectos en la superficie del sólido, sirven como sistema de transporte, ocurre el fenómeno de condensación capilar. Se cargan o llenan en forma de multicapas, el tamaño de poro va de 2-50 nm. Importantes en procesos de transporte.</p> <p><b>Macroporosidad;</b> se originan debido a defectos como fisuras, rejillas o canales dentro de la superficie del sólido, son conocidos como superficies abiertas, su tamaño es entre 50 nm - 2 mm.</p>													
ORGÁNICOS	NPs poliméricas		polietilenglicol, ácidos nucleicos, péptidos, proteínas, micelas, quitosano, poliestireno o ácido láctico-co-glicólico.	Los fármacos quedan encapsulados dentro de la estructura del polímero, manteniéndose inactivos, hasta que mediante vía enzimática sean liberados	Si	Liberación de fármacos para radioterapia y detección temprana de cáncer (mediante ultrasonido)	Si	300 m <sup>2</sup> /g	Nula	---	~ 100 nm	Velocidad de degradación, carga superficial.	[38, 39]	
	Liposomas		Doxil®, cisplatino, daunorrubicina y vincristina	Lípidos que se unen en forma de bicapas, cadenas hidrocarbonadas (-CH <sub>2</sub> -) o cadenas con presencia de enlaces dobles, que en su interior tienen un núcleo	Si	Portador de fármacos	No	100 m <sup>2</sup> /g	Nula	Capsulas, hojas	50 nm - 200 nm	Estabilidad química, alta eficiencia.	[40]	

			líquido donde se almacena y transporta el fármaco										
<b>Nano capsulas</b>		Nanocápsulas de cisplatino, con recubrimiento de polielectrolito y cápsulas de polímero reticulado con disulfuro.	El fármaco se encapsula en el interior del material, mediante alteraciones en el ambiente comienza a degradarse el recubrimiento y a liberarse el fármaco.	Si	Portadores de fármacos	No	---	Media	Capsulas	10 nm - 1000 nm	Estabilidad química, respuesta fisiológica.	[41-43]	
<b>Nanogel es</b>		Biopolímeros como (N-2-hidroxipropil metacrilamida, poliglutamato y polietilenglicol	El fármaco se ensambla covalentemente en el interior del material, mediante alteraciones en el ambiente comienza a degradarse la capa exterior del gel y a liberarse el fármaco.	Si	Portador y liberación de fármacos	No	800 m <sup>2</sup> /g	Baja	---	100 nm – 200 nm	Estables químicamente, capacidad de liberación continua, defensa ante degradación enzimática.	[41, 42]	



Con base en la información anterior se deduce que, para que un material sea considerado como portador/liberador eficiente de fármacos es necesario mejorar las siguientes propiedades; área superficial elevada ( $500 \pm 100 \text{ m}^2/\text{g}$ ), mesoporosidad ordenada (con un diámetro de poro aproximado de 0.5 nm), ya que la microporosidad sólo es eficiente en procesos de adsorción y los tamaños de macroporos son elevados para tener una eficiencia de carga de fármacos adecuada, debido principalmente a que se involucran moléculas pequeñas, se requiere además una morfología esférica o semiesférica, biocompatibilidad, baja toxicidad y capacidad de degradación efectiva, para ello, en el desarrollo de este proyecto se optó por sintetizar un sistema mesoporoso nanoestructurado a base de sílice (nanopartículas inorgánicas), cuyas propiedades son expuestas en la subsección siguiente.

### *1.3 Materiales mesoporosos; nanopartículas a base de sílice*

El ideal en un sistema portador de fármacos es brindar las cantidades terapéuticas adecuadas del medicamento en la zona afectada por cáncer, manteniendo su concentración. Dentro de los sistemas relevantes para esta aplicación se tienen los materiales porosos ordenados, debido a su estructura estable y homogénea, con elevado volumen de poro y alta área superficial [44].

Es necesario definir el concepto y recordar los tipos de porosidad; un poro se refiere a un hueco o espacio vacío que conforma la estructura de un material. Los hay del tipo; microporos ( $< 2 \text{ nm}$ ) se forma debido al apilamiento de las imperfecciones causadas por las moléculas constituyentes de un sistema. Mesoporos ( $> 2 \text{ nm} < 50 \text{ nm}$ ) se forma debido a la aparición de defectos mayores en la estructura. Por último se encuentran los macroporos ( $> 50 \text{ nm}$ ) se forman debido a la presencia de defectos como rejillas o fisuras dentro de la estructura del material [44].

Los materiales porosos más investigados son; zeolitas, hidroxiapatita, partículas de MgO, polipropileno microporoso, perlas de poliestireno, quitosano, carbonato de calcio poroso, dióxido de titanio, principalmente. Todos presentan estabilidad, permeabilidad selectiva, es decir, pueden entrar solo las partículas necesarias por

una célula, además la misma célula puede desechar las partículas que no le sean de utilidad y cuentan con capacidad adecuada para adsorber una gran diversidad de moléculas o elementos sobre su estructura, pero presentan desventajas como obtención complicada, equipos sofisticados para su síntesis, además la mayoría presentan un diámetro de poro pequeño (microporo) lo cual limita su aplicación como acarreador y liberador de fármacos. Es por ello, que con el objetivo de mejorar las capacidades de adsorción para moléculas con tamaño mayor se opta por utilizar materiales mesoporosos a base de dióxido de silicio [5, 44].

Haciendo referencia a la escala nanométrica, este tipo de material tiene una elevada área superficial ( $1000 \text{ m}^2/\text{g}$ ), es funcionalizable, se puede controlar su morfología, tiene porosidad ordenada y un volumen de poro elevado, presentan baja toxicidad para el organismo humano, ya que son nanopartículas inorgánicas estables (mecánica, química, térmicamente, en medios acuosos, etc.), biocompatibles, presenta capacidad de adsorción, pueden transportar masas o fluidos mediante su estructura porosa. Debido a la presencia de enlaces Si-O, la estructura del material es favorecida en cuanto a mayor resistencia ante la degradación mecánica, esto comparado con liposomas o dendrímeros. Respecto a otros óxidos metálicos, el  $\text{SiO}_2$  tiene mayor biocompatibilidad (ya que no causa reacciones adversas en los tejidos y se degrada en el cuerpo como ácido silícico  $\text{Si}(\text{OH})_4$ , el cual se elimina a través de los riñones). Su versatilidad en cuanto a morfología es amplia, ya que se han obtenido esferas, cubos y nanotubos, con diferente tamaño de partícula y poro, lo cual favorece una liberación controlada de algún fármaco [5, 45].

Se optó por sinterizar un compuesto nanoestructurado a base de sílice debido a la elevada área superficial que pueden presentar, propiedad que aumenta el total de sitios disponibles para que se lleve a cabo la adsorción de fármacos dentro del mismo, además tanto la captación celular como el transporte por el torrente sanguíneo se ven beneficiados. Si se consideran partículas de mayor tamaño la probabilidad de ser rechazadas o presentar respuesta inmune es alta, ya que a mayor tamaño el cuerpo puede confundirlas con alguna bacteria ( $0.1 \mu\text{m} - 1 \mu\text{m}$ ) y contra atacarla, promoviendo incluso un decrecimiento en cuanto a captación

celular. En este caso las nanopartículas de dióxido de silicio debido a sus enlaces (Si-O) presentan buena resistencia ante la degradación mecánica inmediata comparado con otros materiales formados por liposomas o dendrímetros, presentan porosidad ordenada, elevada área superficial y respecto a otros óxidos metálicos cuentan con mayor biocompatibilidad ya que no causa reacciones adversas en los tejidos y se degrada en el cuerpo como ácido silícico  $\text{Si(OH)}_4$  [5].

#### *1.4 Método de síntesis para obtención de nanopartículas mesoporosas a base de sílice*

En el mercado existen compuestos nanoestructurados a base de sílice, cuyas aplicaciones principales son portadores/liberadores de fármacos, en remoción de metales pesados, adsorción de  $\text{CO}_2$ , en el sector alimenticio para la generación de películas comestibles, en catálisis para degradación de colorantes/pesticidas, en petroquímica, como tamices moleculares, entre otros. En la mayoría de sus procesos utilizan una elevada cantidad de reactivos o métodos de síntesis que requieren el uso de equipos costosos, dentro de los más comunes se encuentra el método de Stöber modificado (incluye agua-etanol-tensoactivo) y microemulsiones, con ellos el tamaño de partícula obtenido es entre 50 nm – 500 nm con morfologías esféricas [5, 46-48]. Por tal motivo en el desarrollo de este proyecto se optó por seguir un método de síntesis Sol-Gel, que permite obtener nanopartículas pequeñas (~37 nm) con tamaño de poro elevado, además de ser un método reproducible, no se requiere el uso de equipo costoso, los reactivos empleados no presentan un costo elevado, por lo tanto, se convierte en una opción novedosa, con probabilidad para producirse en escalas mayores a ámbito laboratorio, además sería un producto accesible/costeable para las personas que padecen cáncer [5, 48-50].

El método Sol-Gel consiste básicamente en una reacción de hidrolisis, en este caso la interacción ocurre entre el TEOS (como precursor alcoxilano) y el n-hexano (líquido) generando grupos silanol, mismos que al condensarse generan puentes siloxano (Si-O-Si) [8]. La hidrolisis ocurre mediante ataques nucleofílicos proveniente de los átomos de oxígeno del agua presente en el sistema, en seguida los grupos R-O (alcoxi) se remplazan por O-H<sup>+</sup> (hidroxilos) y posteriormente en el

proceso de condensación se forman los enlaces Si-O-Si (siloxano) provenientes de la interacción entre los grupos SiOH (silanol) y Si-OR (alcoxilano) [5].

En adición a ello para formar una estructura porosa se requiere el uso de un tensoactivo (CTAB) el cual tiene como función direccionar la estructura mediante la formación de micelas globulares, reduciendo así la tensión superficial del sistema, por lo tanto, llevándolo a un estado de menor energía [5].

En la actualidad no se han logrado entender/explicar de forma concreta los mecanismos de acción que tiene un sistema a base de sílice ante la exposición a diversos ambientes, por ello se hará uso de simulación computacional a lo largo de esta investigación, lo cual permitirá interpretar el comportamiento del sistema ante la respuesta a diversos cambios, que se llevan a cabo durante un periodo de tiempo determinado, para posteriormente ser llevados a la práctica, es decir, mediante un algoritmo matemático se puede simular computacionalmente una respuesta de un sistema a las condiciones de aplicación, permitiendo estudiar su comportamiento así como obtener hipótesis de comportamientos futuros dentro del mismo sistema.

### *1.5 Vías de administración de las nanopartículas*

Las nanopartículas tienen una diversidad de aplicaciones tanto en tecnología, investigación y el área médica, en este caso se utilizan como medios de señalización, portadores o liberadores de fármacos, entre otros. Las principales vías de administración sobre el cuerpo humano son las siguientes [51];

- ⊕ *Oral:* medio de administración no invasivo, puede ser tóxico para el hígado ya que es donde ocurre la etapa de metabolización y requiere que la mucosa intestinal este en buen estado para que se dé una correcta absorción de los fármacos.
- ⊕ *Pulmonar:* medio de acción local no invasivo, la metabolización no ocurre en el hígado por lo que se evitan daños en el mismo, pero puede presentar toxicidad local e incluso entrar al torrente sanguíneo y causar daños cardiovasculares.

- ⊕ *Intravenoso*: liberación sistémica, es decir, afecta o actúa en todo el cuerpo humano, pero su primer paso metabólico ocurre en el hígado lo cual puede desencadenar toxicidad hepática.
- ⊕ *Transdérmica*: medio de administración local no invasivo, gran área superficial de aplicación, puede causar irritación local e igual que la aplicación pulmonar puede entrar en contacto con el sistema circulatorio.

Para fines de este proyecto la vía de administración del portador de fármacos sería mediante vía transdérmica, ya que se tiene como primera aproximación la aplicación de este portador de fármacos en cáncer de piel. De acuerdo a Yildirimer y colaboradores las partículas de sílice de tamaños 70 nm, 300 nm y 1000 nm expuestas a células epidérmicas presentan mayor captación celular a menor tamaño de partícula pero se atribuyó de igual manera una mayor toxicidad, es necesario realizar más pruebas citotóxicas para evaluar el comportamiento de las partículas de sílice a diferentes tamaños y concentraciones [51].

### 1.6 Simulación computacional en sistemas de liberación de fármacos

En general la química computacional consiste en estudiar y determinar propiedades moleculares mediante el uso de algoritmos de programación, utilizando modelos (aproximaciones) matemáticos fundamentados en física clásica o bien en ecuaciones como la de Schrödinger (basadas en mecánica cuántica), permitiendo describir de forma muy específica el comportamiento de una molécula [52, 53].

Debido a los factores expuestos con anterioridad referentes a los fármacos empelados en tratamientos de cáncer, se ha optado por utilizar métodos computacionales con el objetivo de estudiar e interpretar sistemas portadores y liberadores de fármacos, implementando técnicas que favorezcan los tratamientos ya existentes y a su vez minimicen los daños colaterales [53-55].

Estos métodos se conocen como "*in silico*" y consisten en obtener modelos teóricos, que ayudan a comprender los mecanismos de acción de los sistemas de estudio, es decir, se puede simular la interacción entre un fármaco y diferentes medios, permitiendo elegir la condición más estable del mismo y posteriormente

poder replicarlo de forma experimental, es decir; primero se hace un análisis detallado de los datos, en seguida se selecciona la o las moléculas con mejores propiedades y por último se diseña una hipótesis que describe la estructura e interacción del fármaco/sistema en distintos ambientes, esta incluye información respecto a la solubilidad, estabilidad química terapéutica, aumento de vida útil del fármaco, posibles reacciones y efectos secundarios mínimos [52, 54-56].

Los métodos computacionales más utilizados son: métodos de mecánica molecular (MM), semi-empíricos, DFT y Ab initio, cuyas diferencias principales se reflejan en la cantidad de átomos que se pueden utilizar para modelar un sistema, estas van desde decenas hasta miles de átomos, variando de igual forma la exactitud y el coste computacional que implican.

Para el desarrollo de este proyecto se utilizará DFT (Teoría de Funcionales de la Densidad), el cual es un modelo de mecánica cuántica que permite describir con exactitud sistemas moleculares a mayor costo computacional que el que involucra otros métodos como mecánica molecular y los semi-empíricos. Se puede describir de forma adecuada la estructura y propiedades de una molécula, por ejemplo; determinar si es antioxidante, información respecto a absorción (simulando espectros UV-Vis), incluso si se agrega la variante tiempo se obtiene información acerca de estados y energías de excitación. Además, se pueden aplicar campos eléctricos para evaluar el comportamiento del sistema, información respecto a vectores de transición, potenciales de ionización, afinidad electrónica por lo tanto la reactividad de la misma, la tolerancia que tiene el sistema a la exposición de diferentes ambientes externos, momentos dipolares, dureza química, entre otras. En DFT el software usado comúnmente es Gaussian [54, 55].

Un aspecto importante a considerar en el diseño de fármacos y nuevos vehículos de liberación es poder determinar la interacción existente entre la molécula, fármaco o sistema y su objetivo, estas pueden ser mediante enlaces covalentes, interacciones dipolo-dipolo, ion-dipolo, enlaces iónicos, puentes de hidrogeno, interacciones de hidrofobicidad, transferencias de carga, entre otras, las cuales son las responsables de proveer estabilidad al sistema fármaco-receptor. El uso de DFT

es vital para comprender el mecanismo de interacción de las moléculas involucradas en el sistema [57].

Se utiliza de forma frecuente también el “*Docking molecular*”, que permite obtener una configuración adecuada de una molécula en una diana o blanco molecular. Consta de dos etapas básicas, la primera “acoplamiento” sirve para determinar la distribución y ubicación de diferentes elementos presentes en el sistema (molécula-diana). Y la segunda conocida como “*scoring*”, en la que se evalúa mediante puntajes la interacción más adecuada entre ambos, prediciendo energías y tipos de enlace entre sistemas ligando-proteína [52, 54, 56].

Se tienen reportes sobre el posible mecanismo de interacción de fármacos utilizados en tratamientos de cáncer como; pemetrexed, irinotecan, tamoxifeno, gemcitabina, topotecán y temozolomida los cuales interactúan principalmente con el ADN, en estos estudios se exhibe una fuerte interacción mostrando mayor fuerza de unión y estabilidad la irinotecán (-9.7 kcal/mol) respecto a los otros complejos ligando-ADN. Dentro de esta plataforma uno de los cánceres más estudiados es el cáncer de mama ya que los fármacos frecuentemente utilizados llegan a presentar resistencia en el paciente, mediante una interacción proteína-ligando el xantotoxol presenta una mayor acoplamiento, por tanto, funge como potencial fármaco para tratamiento de este padecimiento [58, 59]. En otro estudio respecto a cáncer de piel se logró determinar que los metabolitos secundarios extraídos de un hongo marino fungen como potencial activo anticancerígeno, se probó la interacción fármaco-ligando mediante el uso de proteínas Hsp90 (típicas del cáncer de piel), donde se obtuvo un valor para dicho acoplamiento de -11.45 kcal/mol mostrando una mayor interacción que con el fármaco comercial diclonina [60, 61].

Tanto el desarrollo de nuevos fármacos, como la implementación de materiales utilizados como portadores y medios de dosificación de los mismos, requieren un tiempo de producción de 10 a 12 años aproximadamente, los costos de producción durante este periodo son muy elevados debido a los posibles inconvenientes o fracasos que pueden surgir, por ello es importante predecirlos y minimizarlos antes de lanzarlos al mercado o bien antes de llegar al periodo de prueba clínica, es por

eso que se utilizan métodos “*in silico*” para lograr una eficiencia en cuanto tiempos, costos y producción [57, 60].

### *1.7 Perspectivas de aplicación: cáncer de piel*

Cabe recalcar que la aplicación que puede tener el material propuesto para el desarrollo de este proyecto tiene potencial para tratamiento en distintos tipos de cáncer. En este caso se optó por evaluar la interacción de las nanopartículas a base de sílice en proteínas específicas para cáncer de piel, debido a que es una enfermedad superficial y su estudio requiere un menor control de parámetros, aunado al alcance que se puede tener con los tiempos comprendidos para el desarrollo de una investigación a nivel maestría.

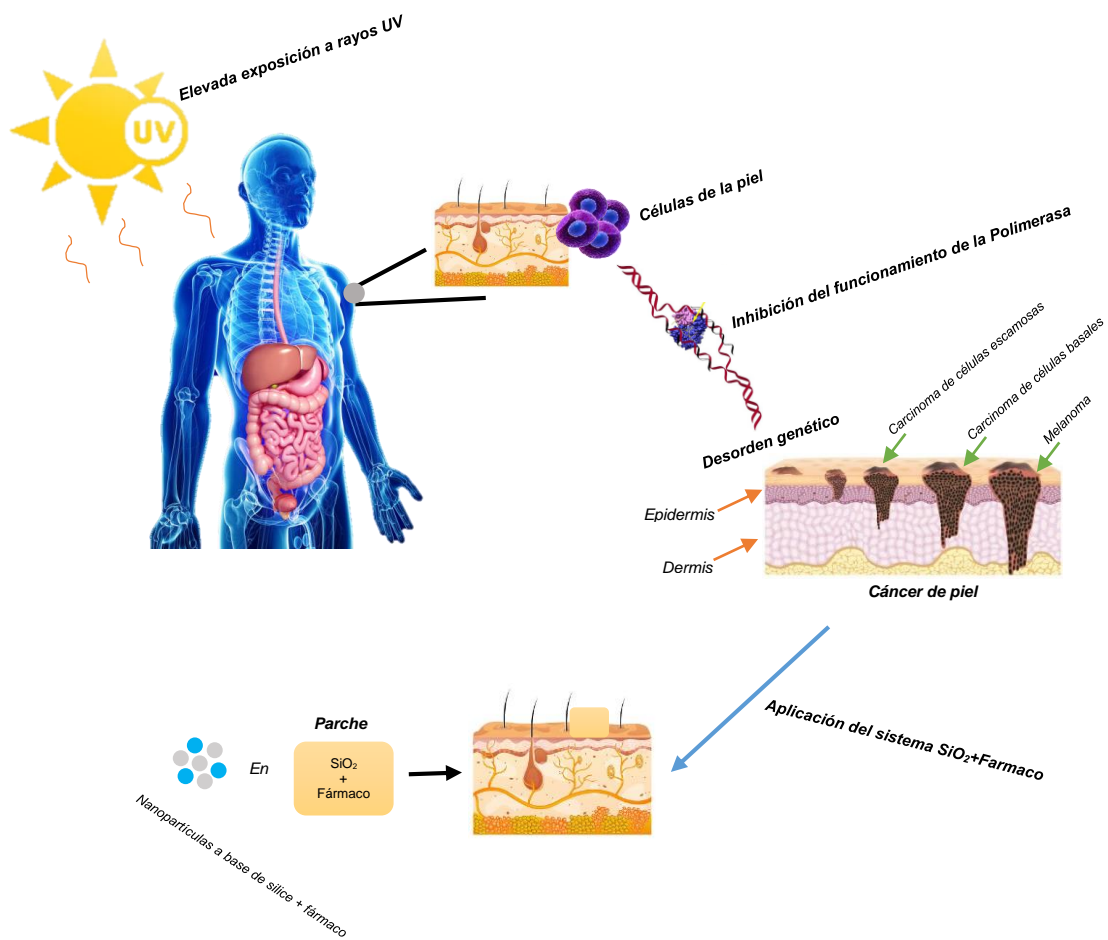
De forma general el cáncer de piel es causado por un desorden celular, el cual está relacionado a antecedentes genéticos, mutaciones celulares debido a la exposición elevada ante agentes tóxicos, rayos UV, consumo elevado de alimentos procesados o enlatados, tabaco, consumo excesivo de alcohol, entre otros factores. De acuerdo al Instituto Nacional de Cáncer (NIH) el cáncer de piel ocupa el quinto lugar en los tipos de cáncer más comunes a los que se enfrenta la población. Las zonas más vulnerables van en dependencia a la facilidad que tienen para ser expuestas a los rayos UV, para este tipo de cáncer son; la cara, los labios, el cuello, los brazos y el cuero cabelludo [16, 17, 62].

Algunas investigaciones hasta el momento plantean que el cáncer de piel ocurre debido a la exposición prolongada a los rayos UV del sol (figura 4), ya que esto puede provocar mutaciones genéticas, inmunosupresión, estrés oxidativo y formación de dímeros ciclobutano pirimidina. Esto se refiere a los daños moleculares que surgen debido a reacciones fotoquímicas en las bases timina o citosina del ADN, la luz UV favorece la unión de enlaces covalentes entre este tipo de bases, a su vez provoca una descomposición tanto en la unión como en la estructura que forman las mismas. Una producción elevada de pirimidinas inhiben el funcionamiento de la polimerasa generando errores en la transcripción y

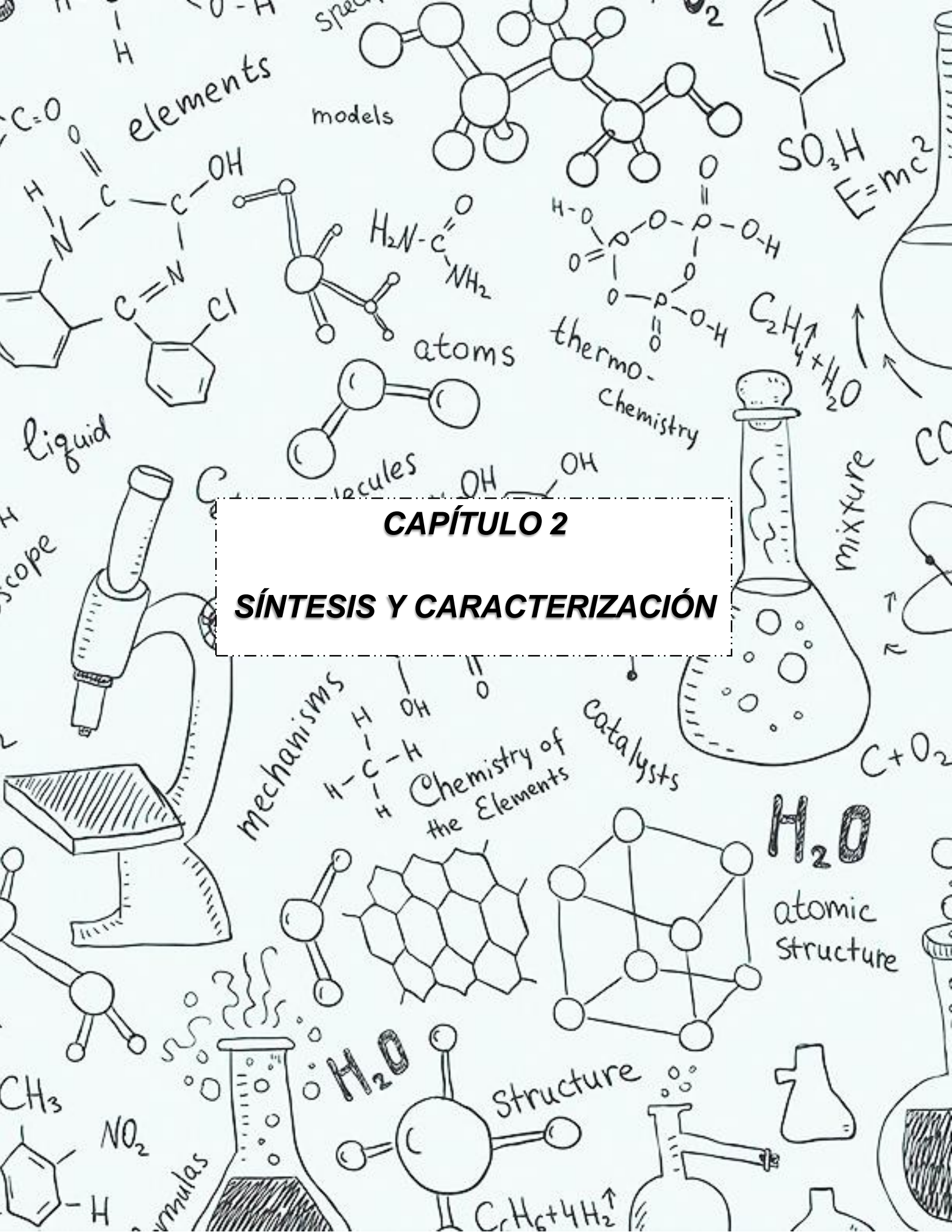


replicación del ADN, por tanto, hay mutaciones que dan inicio a diversas formas de cáncer de piel [18, 19, 62, 63].

La forma de aplicación del sistema planteado en este proyecto sería mediante el uso de parches (figura 3) que pueden ser colocados de forma fácil sobre la zona de piel afectada.



**Figura 3;** Desarrollo del cáncer de piel y método de aplicación del sistema SiO<sub>2</sub>+fármaco.



**CAPÍTULO 2**  
**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN**

elements  
models  
atoms  
molecules  
thermo-chemistry  
liquid  
microscope  
mechanisms  
Catalysts  
Chemistry of the Elements  
atomic structure  
structure  
mixture  
C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> + H<sub>2</sub>O  
E=mc<sup>2</sup>  
C<sub>2</sub>H<sub>6</sub> + 4H<sub>2</sub>↑  
CH<sub>3</sub>  
NO<sub>2</sub>  
H<sub>2</sub>O  
H<sub>2</sub>O  
C + O<sub>2</sub>

## CAPÍTULO 2

### SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN

#### 2.1 Síntesis de nanopartículas a base de sílice

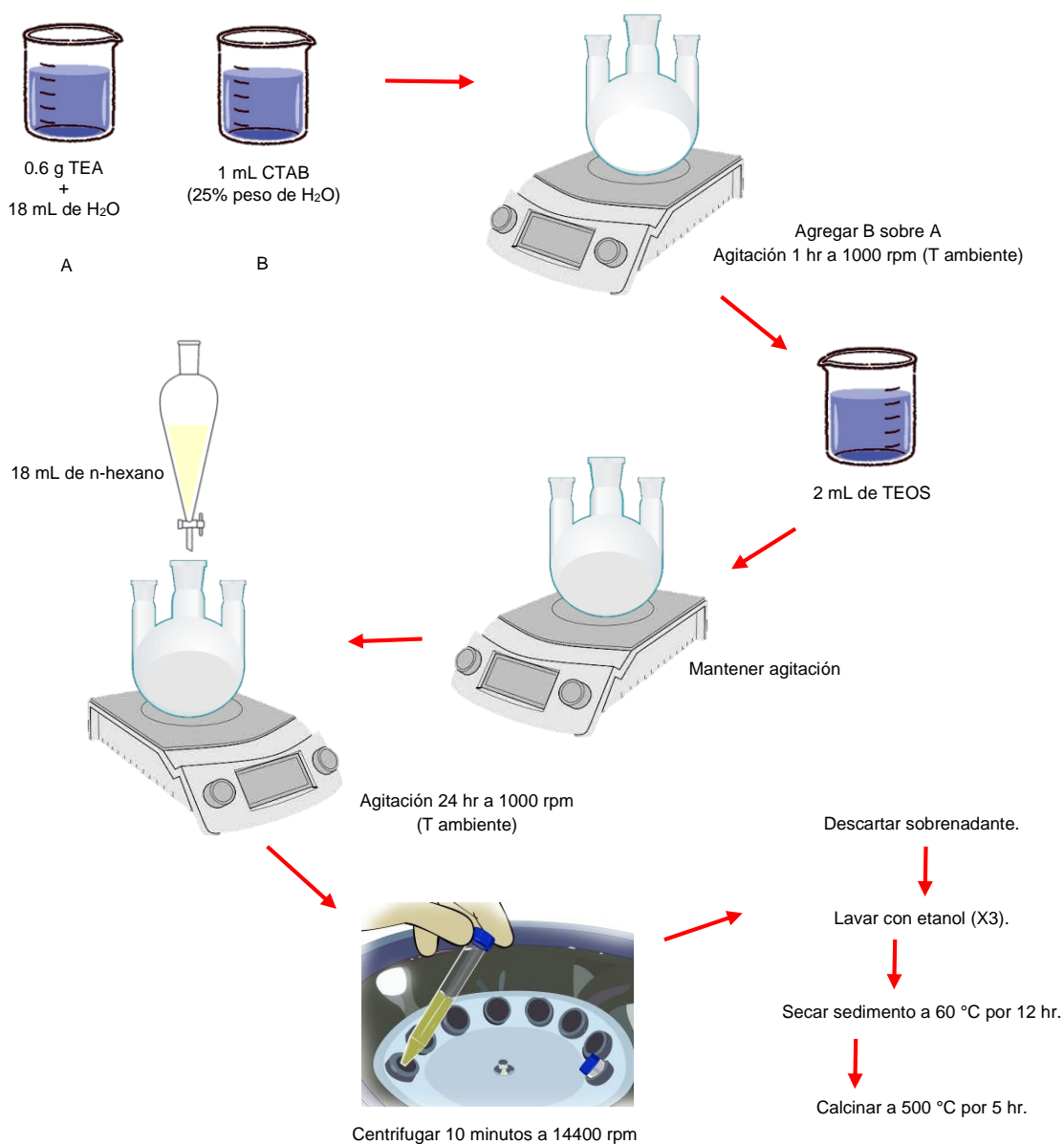
En la tabla 2 se enlistan los reactivos utilizados para la síntesis.

**Tabla 2:** Reactivos empleados en la síntesis de nanopartículas a base de sílice.

NOMBRE	FORMULA QUÍMICA	ESPECIFICACIONES
TEA (Trietanolamina)	$C_6H_{15}NO_3$	CTR SCIENTIFIC (99.97 %)
APTES ((3-Aminopropyl)triethoxysilane)	$H_2N(CH_2)_3Si(OC_2H_5)_3$	SIGMA-ALDRICH (99 %)
CTAB (Bromuro de hexadeciltrimetilamonio)	$C_{19}H_{42}BrN$	SIGMA Life Science (99 %)
TEOS (Tetraetil ortosilicato)	$C_8H_{20}O_4Si$	ALDRICH Chemistry (98 %)
n-hexano	$C_6H_{14}$	Karal (98.5 %)
Alcohol Etilico	$CH_3CH_2OH$	Karal (95.0 %)
Cloruro de sodio	$NaCl$	SIGMA-ALDRICH (99.5 %)
Cloruro de potasio	$KCl$	SIGMA-ALDRICH (99.0 %)
Fosfato de sodio dibásico	$HNa_2O_4P$	SIGMA-ALDRICH (99.0%)
Fosfato monopotásico	$KH_2PO_4$	SIGMA-ALDRICH
Rodamina-B	$C_{28}H_{31}ClN_2O_3$	SIGMA-ALDRICH
Carvacrol	$C_{10}H_{14}O$	ALDRICH (98 %)
Cloroquina	$C_{18}H_{26}ClN_3 \cdot 2H_3PO_4$	SIGMA-ALDRICH (Pharmaceutical Secondary Standard)
Agua destilada	$H_2O$	----

La síntesis de las nanopartículas a base de sílice se realizó mediante el método sol-gel, que de acuerdo a Iqbal et al., (2021) permite obtener nanopartículas

mesoporosas a base de sílice de tamaño nanométrico con un diámetro de poro mayor a 3 nm, en adición a ello, se hizo una variación en la temperatura donde se eligieron 45 °C, 30 °C y 20 °C con el propósito de aumentar la velocidad de reacción y encontrar condiciones óptimas de síntesis como; tamaño pequeño de partícula (~30 nm), tamaño de poro en el rango de mesoporos y superficie con porosidad homogénea. En la figura 4 se muestra esquemáticamente la metodología implementada para la obtención de las nanopartículas mesoporosas a base de SiO<sub>2</sub>.



**Figura 4;** Diagrama representativo de la metodología implementada en la obtención de las nanopartículas a base de sílice [64].

El método de síntesis consiste en la adición de CTAB (Bromuro de hexadeciltrimetilamonio) sobre trietanolamina (TEA) disuelta en agua destilada, se mantienen en agitación durante 1 hora a 1000 rpm, posteriormente se adiciona el TEOS (tetraetil ortosilicato) y el n-hexano dejando en agitación durante 24 horas a 1000 rpm, una vez transcurrido el tiempo, se centrifuga a 14000 rpm durante 10 minutos y se realizan 3 lavados con etanol, en seguida, el sedimento se seca a 60 °C durante 12 horas y finalmente se aplica un tratamiento térmico durante 5 horas a 500 °C, para este caso se utilizan rampas de calentamiento de 2 °C/minuto.

## *2.2 Funcionalización de nanopartículas*

Con la finalidad de aumentar los sitios activos (zonas del sustrato, a las cuales puede unirse el fármaco) en la superficie de las nanopartículas e incrementar/facilitar la adsorción de los distintos fármacos se optó por funcionalizarlas con grupos amino (3-Aminopropyl triethoxysilane) y grupos hidroxilo (trietanolamina), para posteriormente hacer una comparación y determinar cuál presenta mayor eficiencia.

### *Funcionalización con APTES (3-Aminopropyl)triethoxysilane)*

Para la funcionalización con APTES se siguieron los siguientes pasos [65];

1. Se dispersa 1 gr de las nanopartículas a base de sílice en 175 mL de isopropanol.
2. Por separado en 25 mL de isopropanol se mezclan 200 µL de APTES.
3. Mezclar la solución de APTES sobre la solución de nanopartículas, manteniendo una temperatura de 80 °C y agitación de 350 rpm durante 2 hr.
4. Enfriar a temperatura ambiente.
5. Lavar con etanol por triplicado.
6. Secar a temperatura ambiente (25 °C por 12 hr).
7. Secar a 100 °C durante 5 hr.

### *Funcionalización con TEA (Trietanolamina)*

Para la funcionalización con Trietanolamina se siguieron los siguientes pasos [66];

1. Adicionar 0.5 g de las nanopartículas a base de sílice en 100 mL de agua desionizada.
2. Agregar a la solución anterior 5 mL de TEA.
3. Agitar durante 2 hr a 350 rpm, manteniendo una temperatura de 90 °C.
4. Lavar con agua desionizada.
5. Lavar con etanol por triplicado.
6. Secar a 60 °C durante 12 hr.

### *2.3 Preparación de PBS (fluido corporal simulado)*

En un vaso de precipitados se colocan 800 mL de agua destilada, posteriormente se disuelven 8 g de NaCl, 0.2 g de KCl, 1.44 g de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> y 0.24 g de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, se dejan a una agitación de 350 rpm hasta disolución completa, se afora a 1 L y se almacena en refrigeración para su posterior uso.

### *2.4 Obtención de curvas de calibración (Carvacrol, Rodamina-B, Cloroquina)*

La obtención de las curvas de calibración se realizó de la siguiente forma:

- Carvacrol*: se preparó una solución madre de 50 ppm en 500 mL de PBS, posterior a ello se prepararon las disoluciones correspondientes 0.1 ppm, 0.3 ppm 0.5 ppm, 1 ppm, 3 ppm, 5 ppm y 10 ppm.
- Rodamina-B*: se preparó una solución madre de 30 ppm en 250 mL de PBS, posterior a ello se prepararon las disoluciones correspondientes 0.1 ppm, 0.3 ppm 0.5 ppm, 1 ppm, 3 ppm, 5 ppm y 10 ppm.
- Cloroquina*: se preparó una solución madre de 30 ppm en 250 mL de PBS, posterior a ello se prepararon las disoluciones correspondientes 0.1 ppm, 0.3 ppm 0.5 ppm, 1 ppm, 3 ppm, 5 ppm y 10 ppm.

### *2.5 Adsorción de fármacos*

Para realizar la carga de Carvacrol/Cloroquina/Rodamina sobre las nanopartículas se empleó el siguiente método: se comienza secando las nanopartículas a 60 °C durante 24 hr, posteriormente en un tubo cónico se colocan dichas nanopartículas suspendidas en una solución de fármaco/PBS (relación 1:1 o bien 2:1 mg/mL, en referencia a la relación entre las nanopartículas y la solución de las ppm del fármaco suspendidas en PBS). Se mantiene en incubación durante 48 hr con agitación constante de 60 rpm a 25 °C, por último se seca a temperatura ambiente.

Para cada una de las adsorciones una vez transcurridas las 48 horas se toma una alícuota de 1 mL, se centrifuga a 13000 rpm durante 15 minutos, para determinar mediante las curvas de calibración las ppm adsorbidas por las nanopartículas a base de sílice.

### *2.6 Pruebas de liberación*

La liberación se lleva a cabo mediante el uso de un fluido corporal simulado (PBS). Manteniendo una relación 1:1 (mg/mL) las nanopartículas se re-suspenden en PBS, se mantienen en agitación de 60 rpm dentro de un sistema de baño maría para tener una temperatura constante de 37 °C, posteriormente se monitorean los tiempos; 15 min, 30 min, 1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 5 h, 6 h y 7 horas (tomando una alícuota de 1 mL para cada tiempo), se centrifugan a 13000 rpm durante 15 minutos y se analizan mediante UV-Vis para determinar la cantidad de ppm liberadas en cada tiempo.

### *2.7 Pruebas de estabilidad coloidal*

Para la prueba de estabilidad coloidal se tomaron 12 mg de las nanopartículas y se suspendieron en 12 mL de PBS, la solución se agito durante 30 segundos, posteriormente se dejó en reposo, las nanopartículas se sedimentaron totalmente en 10 minutos.

## 2.8 Simulación computacional

### 2.8.1 Optimización de moléculas

Se implementó el software Gaussian 09, utilizando el método de funcionales de la densidad m06L [67, 68] (método utilizado para el cálculo de la estructura electrónica en el estado base de átomos o moléculas, es decir poder interpretar y predecir el comportamiento de sistemas complejos) con el conjunto de bases 6-31(d,p) [67, 68] (la representación matemática de los orbitales moleculares dentro de una molécula está basada en una combinación de funciones gaussianas, por lo tanto un conjunto de bases asigna un grupo de funciones a cada átomo de la molécula para aproximar su orbital).

### 2.8.2 Reactividad química

Un átomo es definido como la unidad elemental que conforma un elemento químico y por ende a la materia, contiene electrones en su núcleo, estos son partículas cargadas negativamente, mediante interacciones electromagnéticas y cuánticas logran mantener unida a la materia. El estudio de los electrones representa un problema físico teórico importante, ya que se busca desarrollar aproximaciones teóricas y métodos computacionales que puedan describir de manera precisa sistemas donde interactúen entre sí un número  $N$  de electrones [69, 70]. DFT (Teoría de Funcionales de la Densidad), describe un sistema formado por  $N$  cuerpos correlacionados, permitiendo modelar sistemas de miles de átomos, es decir, parte de la suposición de un sistema de  $N$  electrones como un problema de un solo electrón, buscando resolverlo a partir de suposiciones a la ecuación de Schrödinger, está a su vez describe las posibles interacciones de los  $N$  electrones. DFT tiene como principio fundamental que cualquier sistema de  $N$  partículas puede interpretarse a partir de la densidad electrónica [69, 70].

La energía de un sistema puede determinarse a partir de un número de electrones  $N$  y un potencial químico externo. Permitiendo obtener propiedades globales o propiedades locales, es decir, la variación de energía que sufre el sistema con respecto al potencial químico, en dependencia de la posición electrónica, conocido generalmente como índice de selectividad o funciones de Fukui [71].



Mediante las funciones condensadas de Fukui es posible determinar propiedades como reactividad química presente en un sistema. En este caso a la molécula optimizada se le quita un electrón para dejarla deficiente de densidad electrónica y de esa forma ver como se reorganizan todos los electrones e interpretar la zona de la molécula donde es más susceptible que ocurra un ataque nucleófilico. Por el contrario para el caso electrófilico se le agrega un electrón a la molécula para dejarla con un exceso de ellos y poder interpretar la zona susceptible a un ataque de este tipo [68].

### 2.8.3 Energías de reacción

La energía de reacción es igual a;  $E_{\text{reacción}} = E_{\text{productos}} - E_{\text{reactivos}}$  si dicha energía es;  $E_{\text{reacción}} > 0$ ; energía de reacción positiva tiende a los reactivos.

$E_{\text{reacción}} < 0$ ; energía de reacción negativa tiende a los productos por tanto es una reacción espontánea lo que indicaría que ocurre interacción entre las especies involucradas en el sistema.

Si dicha energía tiene un valor igual a 0 significa que el sistema tiende al equilibrio.

### 2.8.4 Docking (acoplamiento) Molecular

El acoplamiento molecular es un método computacional usado para estudiar el comportamiento entre dos moléculas y poder interpretar como ocurre su unión. En el caso de este proyecto para portadores de fármacos el Docking se utilizó para determinar el comportamiento entre una macromolécula (gen codificado de la proteína BRAF: oncogén encargado de activar la reproducción celular en base a las necesidades corporales) y una molécula pequeña (carvacrol, rodamina-B, cloroquina, dacarbazina y un sistema que simula las nanopartículas a base de sílice). Se realizó un Docking ciego para determinar las poses del gen donde sería más favorable que se de la unión entre gen-fármaco y posteriormente se realizó un docking específico sobre cada una de las poses obtenidas. El programa utilizado fue Molegro Virtual Docker [72].

## 2.9 Caracterización

### 2.9.1 Espectroscopia Ultravioleta Visible (UV-Vis)

La absorbancia de las nanopartículas se determinó mediante un espectrofotómetro Cary 5000 en el rango de 220-800nm con accesorio para sólidos. En el caso de las pruebas de liberación la lectura se realizó de 200-800 nm con accesorio para líquidos. Todas las mediciones fueron realizadas a temperatura ambiente.

### 2.9.2 Espectroscopia Infrarroja por Transformadas de Fourier (FTIR)

Los espectros de infrarrojo (FTIR) se obtuvieron en un rango de 4000-400  $\text{cm}^{-1}$  y 50 escaneos, con la ayuda de un espectrómetro Shimadzu IR-Tracer con accesorio de ATR, permitieron determinar la presencia de enlaces característicos de las nanopartículas de  $\text{SiO}_2$  como; enlaces Si-OH (silanol) y Si-O-Si (siloxano) presentes en la estructura, así como la correcta adsorción de los fármacos (Carvacrol, Rodamina-B y Cloroquina). Las mediciones se realizaron a temperatura ambiente.

### 2.9.3 Difracción de Rayos X (DRX)

La determinación de la fase característica del  $\text{SiO}_2$  se confirmó mediante análisis de DRX llevado a cabo en un Difractómetro D8 Advance de marca BRUKER, con un intervalo de barrido en  $2\theta$  de  $5^\circ$  a  $80^\circ$ , una radiación con lámpara de Cobre con  $\lambda=1.45$  y una velocidad angular estándar de  $0.04^\circ/\text{s}$ . El porta muestras utilizado fue de aluminio.

### 2.9.4 Fisisorción de nitrógeno (BET)

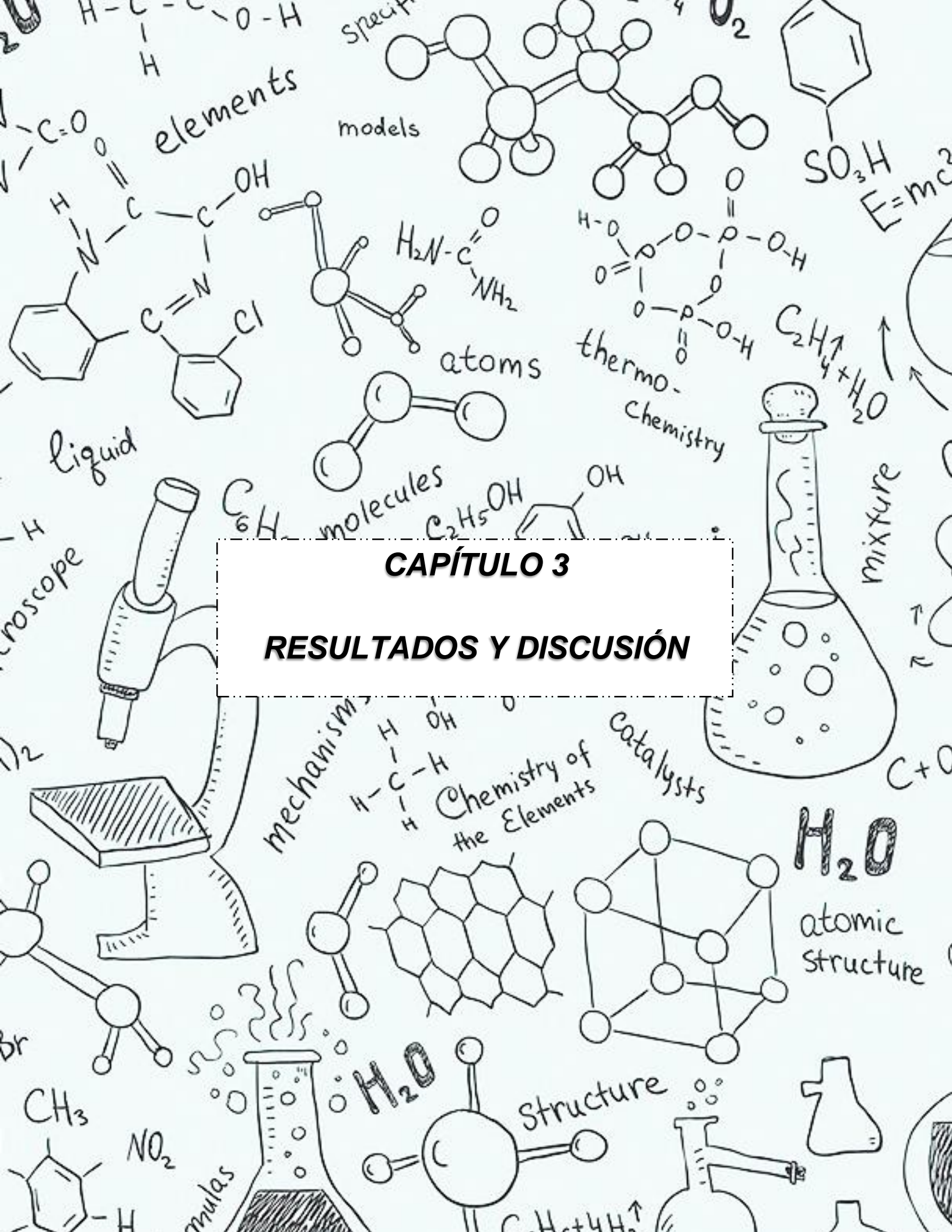
La obtención de propiedades texturales de las nanopartículas (área superficial, tamaño y volumen de poro) se realizó mediante un equipo NOVA-3200e, con un tiempo de desgasificación de 18 hr y una temperatura de  $120^\circ\text{C}$ , un rango de  $P/P_0$  de 0.005-0.095 con 30 puntos de adsorción y desorción.

#### *2.9.5 Microscopia electrónica de barrido (SEM)*

La caracterización respecto a la morfología semiesférica de las nanopartículas, el tamaño de partícula y la composición química puntual de las mismas se llevó a cabo en un Microscopio Electrónico de Barrido Dual Beam (FIB/SEM) FEI-Helios Nanolab 600, con una aceleración de 15 kV, así mismo, se realizó un análisis químico elemental por EDS (espectroscopia de energía dispersiva) mediante electrones secundarios.

#### *2.9.6 Microscopia electrónica de transmisión (TEM)*

La porosidad de las nanopartículas a base de sílice se corroboró mediante análisis TEM en un microscopio HR-TEM FEI Tecnai F30 (300 keV), la información obtenida se analizó mediante el software Digital Micrograph.



**CAPÍTULO 3**  
**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

## CAPÍTULO 3

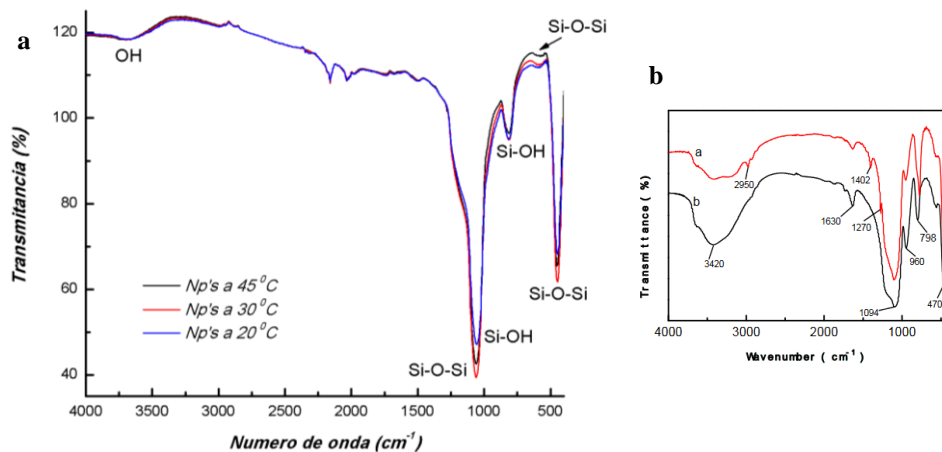
### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1 Nanopartículas a base de sílice

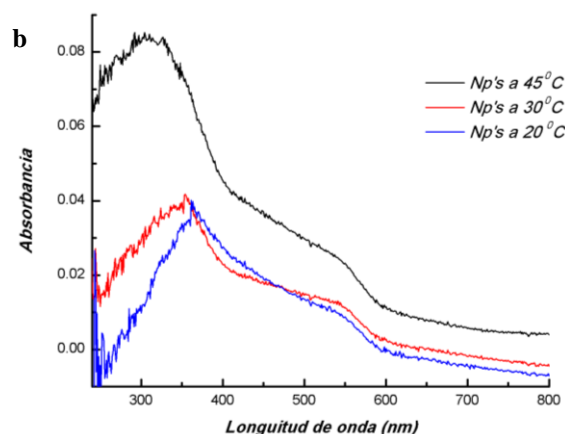
##### 3.1.1 Composición química de las nanopartículas a base de sílice

La síntesis se realizó a diferentes temperaturas, 45 °C, T ambiente (entre 27 °C y 30 °C) y 20 °C, con la finalidad de poder determinar las condiciones óptimas de síntesis así como la variación en cuanto a morfología, tamaño de partícula y área superficial.

Las nanopartículas se caracterizaron mediante FTIR (figura 5a), en las tres muestras se presentan las mismas bandas vibracionales que de acuerdo a Gui-Long y colaboradores (figura 5b) corresponden a los grupos de tipo Si-O-Si, en 447  $\text{cm}^{-1}$  y 582  $\text{cm}^{-1}$  debidos a estiramientos o flexiones simétricas y en 1060  $\text{cm}^{-1}$  debidos vibraciones asimétricas. Aparecen las bandas correspondientes a grupos de tipo Si-OH en 820  $\text{cm}^{-1}$  y 1060  $\text{cm}^{-1}$ . Por último la banda en 3690  $\text{cm}^{-1}$  corresponde a la presencia de grupos OH absorbidos, debidos a la presencia de grupos Si-OH superficiales.



**Figura 5;** a) Espectro FTIR correspondiente a nanopartículas a 45 °C, ~30 °C y 20 °C. b) Espectro FTIR (banda a) referencia de literatura [73].

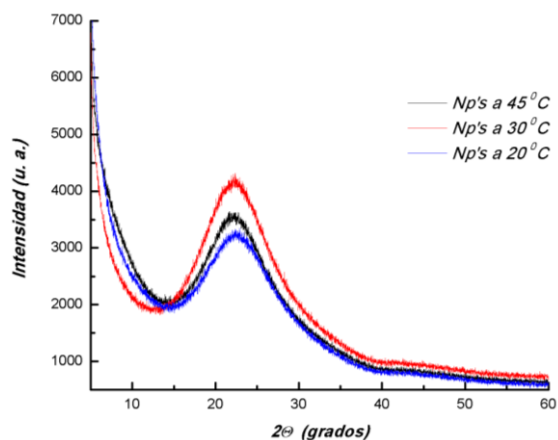


**Figura 6;** Espectro UV-Vis correspondiente a las nanopartículas a 45 °C, ~30 °C y 20 °C.

En el caso del UV-Vis (figura 6) la banda característica de mayor absorbancia se muestra entre 300 nm y 350 nm para las tres muestras, corresponde al grupo siloxano (Si-O-Si) [74, 75]. El SiO<sub>2</sub> tiene como característica una baja absorción de la luz, debido a su elevado índice de refracción (1.46), este describe que tan rápido puede viajar la luz a través del material. La disminución en la curva de absorción representa la reflexión de luz presente en el material. El ruido (pequeñas bandas después de los 450 nm) presente en el espectro puede atribuirse a que el blanco usado como referencia para el análisis, en esa zona fue absorbiendo más luz que las propias muestras de SiO<sub>2</sub> [74, 75].

### 3.1.2 Análisis estructural de las nanopartículas a base de sílice

La figura 7 corresponde al patrón de difracción de rayos X de las nanopartículas, pertenece a la fase cristobalita de la sílice [76], hace referencia a la sílice amorfa, es decir, la disposición de sus moléculas se distribuye de forma aleatoria, lo cual se ve reflejado con la presencia de un pico ancho en 22° respecto 2θ. El ancho de los picos está relacionado a la presencia de mesoporos en el material debido al uso de CTAB como surfactante [76].

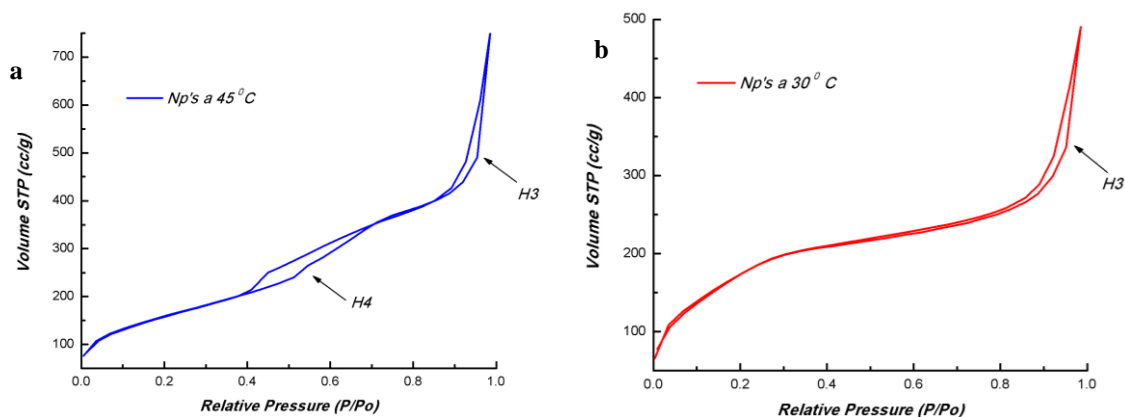


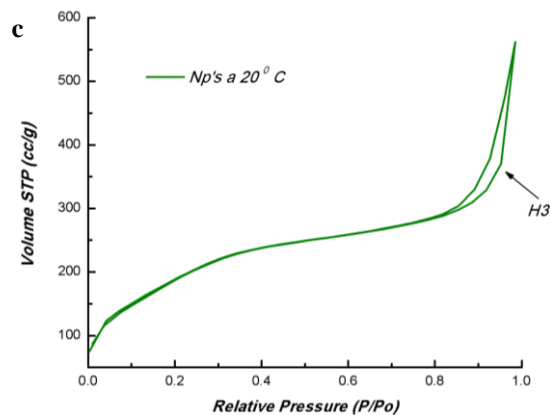
**Figura 7;** Difractograma correspondiente a las nanopartículas a 45 °C, ~30 °C y 20 °C.

De igual forma se puede corroborar que las variaciones de temperatura no generaron cambios estructurales en las nanopartículas, ya que no hay presencia de picos extra al mencionado. Pero si refleja un cambio en la intensidad de los picos, que puede relacionarse a la variación de tamaño de partícula, para poder afirmarlo es necesario realizar un análisis SEM o TEM.

### 3.1.3 Análisis respecto a textura superficial de las nanopartículas a base de sílice

Se realizaron pruebas de fisisorción de nitrógeno para obtener información textural de las nanopartículas y poder determinar tanto su porosidad como su área superficial, los resultados obtenidos se muestran en la figura 8.





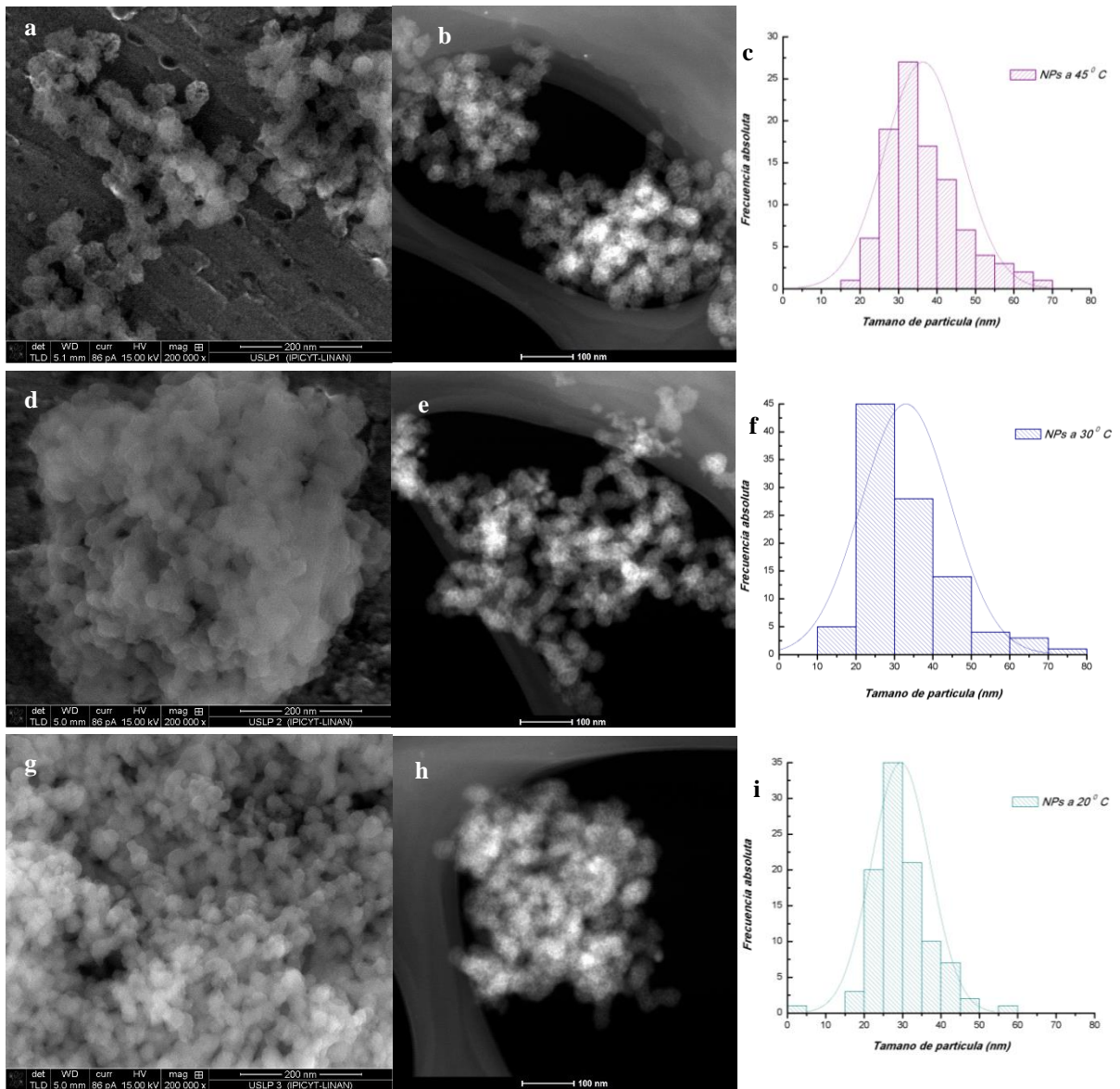
**Figura 8;** *Isotermas correspondientes a análisis de fisisorción de N<sub>2</sub> para las nanopartículas; a) 45 °C, b) 30 °C y c) 20 °C.*

De acuerdo a la IUPAC las nanopartículas presentan una isoterma del tipo IV, la cual es característica de los sólidos mesoporosos (tamaño de poro entre 2 nm a 50 nm), se produce adsorción en multicapas, en este tipo de isotermas es común que se desarrollen ciclos de histéresis, ya que la curva de adsorción y desorción no coinciden. En cuanto al tipo de histéresis que presentan las nanopartículas a 45 °C (figura 8a) se tiene el tipo H3 y H4 relacionado a la presencia de adsorbentes micro y mesoporosos, con un tipo de poro en forma de lámina, tiene un volumen de poro de 1.16 cc/g, un diámetro de poro de 3.45 nm y un área superficial de 570.92 m<sup>2</sup>/g. Para las nanopartículas a ~30 °C (figura 8b) y a 20 °C (figura 8c) la histéresis corresponde al tipo H3, referente a la presencia de poros en forma de lámina con una estructura desordenada, para este caso. Respecto al volumen de poro para las nanopartículas a ~30 °C es de 0.75 cc/g, diámetro de poro de 3.43 nm y un área de 634.47 m<sup>2</sup>/g, para las nanopartículas a 20 °C el volumen de poro correspondiente es de 0.86 cc/g, diámetro de poro de 3.19 nm y área respectiva de 706.74 m<sup>2</sup>/g. Los resultados obtenidos son comparables con los reportados en la literatura, ya que con materiales a base de sílice sintetizados mediante sol-gel, puede obtenerse un área superficial de 300 a 700 m<sup>2</sup>/g y un volumen de poro entre 0.2 y 0.7 cc/g [77, 78]. Las diferencias presentadas en el área superficial de las muestras puede relacionarse con el tamaño de partícula, a mayor tamaño de partícula, menor es el área superficial que presentan.



### 3.1.3 Análisis morfológico de las nanopartículas a base de sílice

Para determinar la morfología y tamaño de partícula, se caracterizaron las nanopartículas mediante microscopia electrónica de barrido (figura 9 a, d, g) y microscopia electrónica de transmisión (figura 9 b, e, h).



**Figura 9;** Micrografías correspondientes a análisis SEM a 20000x magnificaciones (a, d, g), TEM a 100 nm aumentos (b, e, h) e Histogramas de tamaño promedio de partícula (c, f, i). a-b-c) a 45 °C, d-e-f) a ~30 °C y g-h-i) a 20 °C.

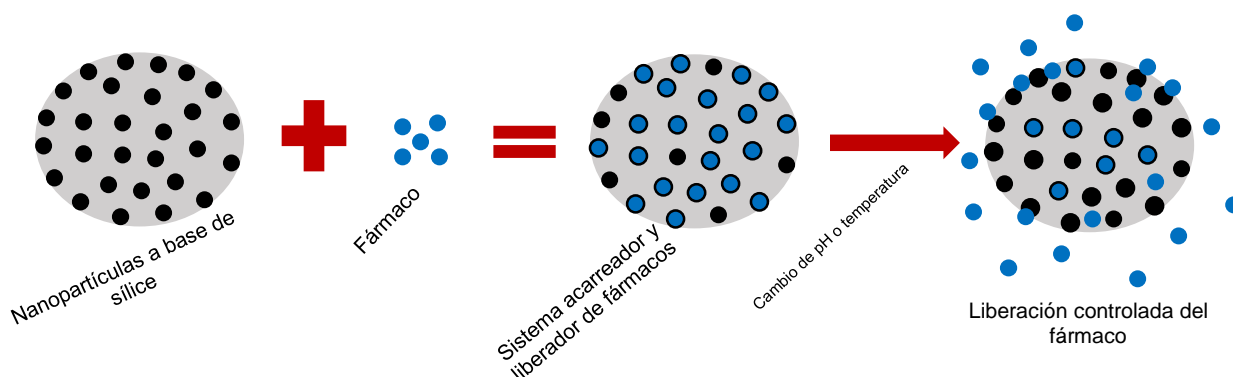
Se puede determinar que en los tres casos las nanopartículas a base de sílice se presentan en forma de cúmulo, con morfología cuasi-esférica, se aprecia una alta porosidad homogénea en la superficie, lo cual se confirma con microscopia de transmisión y el análisis de fisisorción de N<sub>2</sub>, cualidad que es indispensable para la funcionalidad del material como potencial acarreador de fármacos. De acuerdo a la literatura estas semi-esferas tienen similitud de crecimiento comparable con las dentritas [64].

El tamaño promedio de partícula se determinó mediante un análisis estadístico, es decir el conteo de 100 nanopartículas para cada caso (se hizo uso del software ImageJ), en referencia a las nanopartículas a 45 °C (figura 9c) el tamaño es de 33 nm, con una desviación estándar de 9.9, para las nanopartículas a ~30 °C (figura 9f) se cuenta con un tamaño predominante de 25 nm, con una desviación estándar de 11.6 y para el último caso nanopartículas a 20 °C (figura 9i) el tamaño promedio es de 28 nm, con una desviación estándar de 7.5, lo que refleja que a menor velocidad de reacción se obtiene un tamaño de partícula menor. Esto está relacionado directamente con la variación de temperatura y la velocidad de adición de los precursores empleados en el proceso de sol-gel, si bien, la metodología fue la misma, puede considerarse la posibilidad de una variación debido a las propiedades de los materiales de cristal empleados.

De acuerdo a reportes de la literatura, las nanopartículas obtenidas están dentro del rango reportado, ya que en dependencia a la variación de parámetros, pueden obtenerse partículas desde 5 nm hasta 2 μm [79].

El método de síntesis por sol-gel para la obtención de nanopartículas a base de sílice, resultó exitoso para las tres variaciones de temperatura, pero debido a que se necesita un área superficial elevada para que tenga potencial como liberador de fármacos, se optó por utilizar las nanopartículas cuasi-esféricas obtenidas a 20 °C para las pruebas de absorción y liberación posteriores de fármacos. Se obtuvo una fase para la sílice perteneciente a la cristobalita, con mesoporosidad ordenada y homogénea, un área superficial de 706.74 m<sup>2</sup>/g y un diámetro de poro de 3.19 nm. De acuerdo al análisis FTIR realizado se presentan los grupos funcionales Si-O-Si

y Si-OH, que dan propiedades como estabilidad química y mecánica, además de que permiten la unión del fármaco a su superficie mediante enlaces fuertes de unión. Por lo tanto las nanopartículas obtenidas presentan potencial para utilizarse en sistemas de portación y liberación de fármacos. El sistema actuará de la siguiente manera (figura 10): se parte de las nanopartículas las cuales serán cargadas con los fármacos carvacrol, cloroquina y rodamina, permitiendo obtener un sistema portador, en seguida mediante cambios de temperatura o pH se comenzarán a romper los enlaces fármaco-nanopartícula que dará inicio a la liberación controlada del fármaco respectivo.



**Figura 10;** diagrama referente al funcionamiento del sistema portador y liberador de fármacos con las nanopartículas a base de sílice obtenidas a 20 °C

Una vez sintetizadas y caracterizadas las nanopartículas, conociendo los grupos funcionales y enlaces involucrados, se empleó el uso de simulación computacional para determinar cómo se llevaría a cabo la interacción entre moléculas, es decir, nanopartículas-fármaco y poder determinar si es viable que se lleve a cabo el proceso de adsorción y liberación de los respectivos fármacos en un medio fisiológico simulado.

Es importante mencionar que se evaluó el comportamiento del quitosano *in silico*, ya que, una alternativa planteada para investigaciones posteriores es adicionar dentro del sistema un polímero (quitosano, alginato) con la finalidad de evaluar los

cambios en su estabilidad de forma experimental, provocando cambios en las interfaces presentes [80].

Además el polímero actuará como una especie de válvula, que al ser sometida a un cambio de pH menor a 6 o temperatura comenzará a degradarse liberando el fármaco de forma controlada [5, 45]. Dentro de las nanopartículas orgánicas (polímeros) se encuentra el quitosano, el cual presenta grupos amino dándole una naturaleza catiónica al mismo, lo que genera la propiedad de mucoadhesividad, convirtiéndolo en un prometedor portador de fármacos dentro de un sistema de liberación. Es soluble en soluciones ácidas, pero insoluble en agua. Su naturaleza es protonada y policationica, es biodegradable, biocompatible, no tóxico [81].

La membrana mucosa está formada por glicoproteínas de mucina con funciones aniónicas (ácido sulfónico y siálico) los cuales pueden interaccionar con el grupo catiónico del quitosano, creando interacciones iónicas entre los mismos, lo que a su vez, origina mucoadhesividad en el quitosano, esto permite retener el portador del fármaco por periodos prolongados dentro del cuerpo humano, logrando tener una liberación más controlada del mismo, es decir, el quitosano forma entrecruzamientos iónicos que forman complejos estables por lo tanto el fármaco se liberará de forma controlada por mayor tiempo, debido a dicha propiedad se puede ampliar la forma de administración del fármaco ya no sólo podría ser por vía tópica sino que podría administrarse de forma oral, evitando la degradación metabólica del mismo, generando mayor eficiencia en el tratamiento del paciente.

La carga positiva del quitosano ejerce acción sobre las membranas rompiendo las uniones entre las células, especialmente las uniones estrechas, minimizando la resistencia eléctrica epitelial optimizando la penetración del fármaco. Tiene una alta biocompatibilidad ya que estructural y funcionalmente se parece a los glicosaminoglicanos presentes en la matriz extracelular del cuerpo humano. Es de fácil degradación mediante lisosimas y bacterias presentes en el cuerpo humano (en el colón principalmente). El uso de quitosano es debido a que puede prolongarse el tiempo de circulación del fármaco en el sistema humano [81].

Se cuenta también con un polímero natural de carácter aniónico, conocido como alginato, dentro de sus propiedades más relevantes destacan; baja toxicidad, biocompatibilidad y bajo costo de producción. Su viscosidad está relacionada directamente con el pH, a menor valor de pH la viscosidad es mayor, alcanzando un valor máximo en 3-3.5 ya que ocurre la protonación completa de los grupos carboxilato mediante enlaces de Hidrógeno. En este caso no es conveniente usar un alginato de alto peso molecular, ya que puede dar paso a soluciones con alta viscosidad, por ende aumentan las fuerzas de cizallamiento (estrés resultante de las fuerzas aplicadas sobre un cuerpo, lo que origina deslizamientos en dirección paralela a un área de contacto) al entrar en contacto con el cuerpo humano, lo que puede provocar daño al fármaco adsorbido [82, 83].

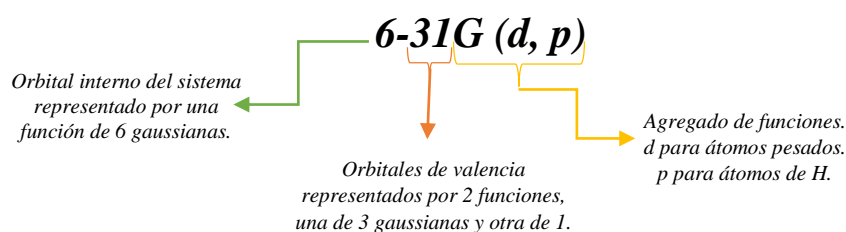
Dentro de las aplicaciones más relevantes del alginato se tiene como agente espesante, estabilizador, formador de geles en liberación controlada de fármacos. Y sus vías de administración son mediante dosificación oral, pero se puede hacer uso de hidrogeles y tener una administración localizada en los tejidos. Generalmente se emplean geles de alginato para usos terapéuticos como la administración de fármacos de bajo peso molecular (se pueden producir enlaces primarios o secundarios entre alginato-fármaco lo cual favorece la cinética de liberación), estos geles presentan poros de 5 nm aproximadamente. Incluso se tienen reportes sobre el implemento de alginato-quitosano cuyo desempeño se vio muy favorable debido a la formación de complejos iónicos principalmente para la localización dérmica, por ende una buena liberación de fármaco en la piel [82, 83].

### *3.2 Funciones condensadas de Fukui*

La teoría de funcionales de la densidad (DFT) es un método empleado para calcular la estructura electrónica respecto al estado base de los átomos y moléculas, dicho de otro modo permite interpretar y predecir el comportamiento de un sistema complejo a escala atómica. Es muy utilizado debido a que proporciona una buena calidad de resultados involucrando menor tiempo computacional, es conocido además como método de correlación-intercambio debido a que se pueden incluir

parámetros de ajuste con base a datos experimentales. En DFT no se conocen funciones exactas de intercambio y correlación a excepción de los gases con electrones libres, por ello es necesario el uso de bases que permiten hacer una representación matemática de los orbitales moleculares presentes en el interior de una molécula dando ciertas restricciones a cada uno de los electrones en una determinada región del espacio asignando un grupo de funcionales base a cada átomo para obtener una aproximación de sus orbitales. Existen diferentes tipos de bases; mínimas, valencia desdoblada, doble zeta, polarizadas, entre otras.

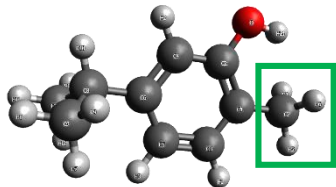
En este caso para la obtención de la información siguiente se utilizó el funcional m06L [68-70] y la base 6-31G (d, p). Donde el funcional es de tipo local, rápido y compatible con una gran variedad de software, diseñado para su uso sobre elementos de los grupos p y s y metales de transición, muy utilizado en termoquímica, cinética, interacciones no covalentes. En este funcional el intercambio ocurre con base a densidades, intercambios exactos (energía de Hartree-Fock que considera electrones independientes, mismos que generan funciones de onda) y funciones de peso parametrizadas. Por su parte la base 6-31G (d, p) involucra funciones correspondientes al momento angular, por lo tanto permite describir los cambios de densidad electrónica correspondientes a un átomo dentro de su ambiente molecular, es decir, le da libertad a los orbitales moleculares para cambiar de forma [69, 70].

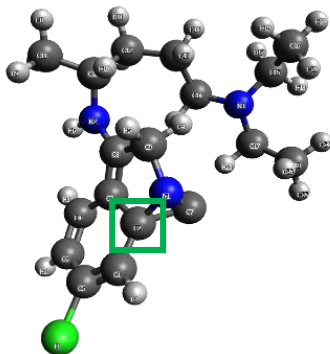


DFT permite obtener información respecto a las funciones condensadas de Fukui que a su vez permiten determinar la reactividad química presente en un sistema, con las cuales se predice el sitio de una molécula que reaccionaría o interactuaría

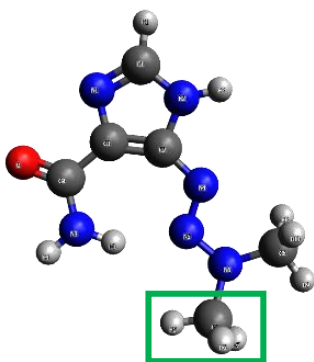
de forma más rápida ante otra molécula, sustancia o sistema. Para ello se plantearon los sistemas descritos en la tabla 3 [22-24, 26, 28, 31, 32]:

**Tabla 3;** Reactividad química y propiedades de Carvacrol, Cloroquina, Dacarbazina, Rodamina-B, TEA, APTES y Quitosano.

MOLÉCULA	FORMULA QUÍMICA	REACTIVIDAD			PROPIEDADES
		F+ (nucleófilo)	F- (electrófilo)	F0 (radical libre)	
	<b>Carvacrol</b> C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	0.051 C9	0.110 C7	0.109 C7	<p>Metabolito secundario, cuya estructura química es un monoterpenoide fenólico, actúa sobre distintas dianas farmacológicas, tiene propiedades antiinflamatorias ya que disminuye la producción de prostanoïdes (ácidos grasos con 20 carbonos). Tiene efecto antitumoral ya que induce la apoptosis a través de la supresión de proteína quinasa (regula el crecimiento celular), el aumento de estrés oxidativo, además de desactivar mitógenos (encargados de la proliferación celular) [84]. Tienen diversos mecanismos de acción como, detención del ciclo celular, reparación de ADN e inhibición de la angiogénesis, además, reduce la resistencia a diversos medicamentos. De acuerdo a Páez-Hernández G. y colaboradores el carvacrol es citotóxico para las células cancerígenas, pero induce la proliferación de células sanas [85]. Presenta baja solubilidad en agua y es muy soluble en alcohol y acetona. Exhibe bajo coste comercial.</p>
	<b>Cloroquina</b> C <sub>18</sub> H <sub>26</sub> ClN <sub>3</sub>	0.186 C9	0.260 C2	0.061 C9	<p>Fármaco perteneciente a la familia de las 4-Aminoquinolinas, es usada en radioterapia y quimioterapia debido a sus propiedades antitumorales y antiinflamatorias. Inhibe la</p>



replicación del ADN, además actúa directamente en las mitocondrias alterando el metabolismo del ácido tricarbólico, este es uno de los encargados de mediar la respiración celular. Tiene propiedades antineoplásicas atribuidas a su mecanismo de inhibición de autofagia (proceso celular encargado de degradar orgánulos dañados presentes en la estructura celular, promoviendo la metástasis). Evita la resistencia celular a quimioterapias [86]. Es soluble en agua e insoluble en alcohol [87, 88].



**Dacarbazina**  
C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>N<sub>6</sub>O

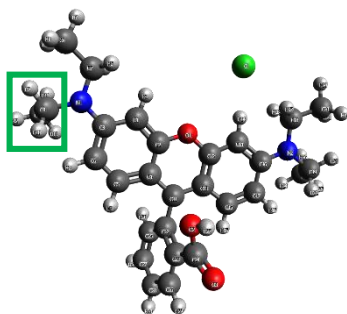
0.077  
C6

0.057  
C5

0.116  
C5

Derivado de triazeno (compuesto inorgánico N<sub>3</sub>H<sub>3</sub>) con actividad antineoplásica (impide crecimientos que pueden volverse cancerosos), una vez activado se convierte en un catión metildiazonio que alquila el ADN en todas las fases del ciclo celular provocando la apoptosis, es decir, interactúa en el proceso de síntesis ADN, ARN y proteínas, impidiendo la proliferación de células cancerígenas [89]. Utilizado para tratamientos de cáncer de piel (melanoma maligno metastatizado), sarcomas de tejido blando y enfermedades de Hodgkin [90]. Tiene una vida media entre 19 minutos a 5 horas. Se metaboliza vía hepática. Comparado con otros fármacos comerciales por ejemplo, doxorubicina, ciclofosfamida, pentostatina, paclitaxel, tiene un costo menor. Soluble en agua, etanol, PBS y DMSO [89].





**Rodamina**

**B**

$C_{28}H_{31}ClN_2O_3$

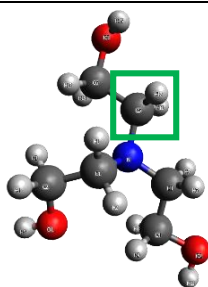
0.047  
C18

0.079  
C8

0.057  
C19

Es una sal formada por cloruros orgánicos con grupos amino como contraión, pertenece a los colorantes anfóteros (puede reaccionar como ácido o como base), usada como colorante histológico, es un colorante catiónico fluorescente cuya tinción será sobre los núcleos celulares o bien en carbohidratos ácidos, esto ocurre una vez que se excitan mediante radiación.

Es un agente terapéutico prometedor para la detección temprana de diversos tipos de cáncer, tiene capacidad de conjugarse covalentemente con fármacos aromáticos nitrogenados usados en quimioterapia, permitiendo su administración de forma dirigida hacia las mitocondrias celulares, puede fungir como marcador en la obtención de imágenes de fluorescencia, para detección de tumoraciones o células cancerígenas [91]. Puede detectarse con facilidad mediante el uso de técnicas de bajo costo [90, 91]. Soluble en agua [92].



**TEA**

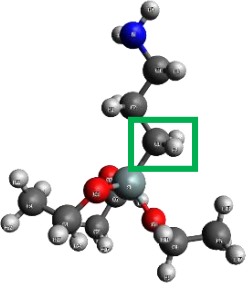
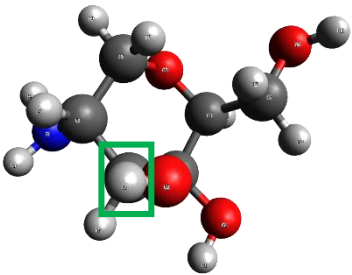
$C_6H_{15}NO_3$

0.074  
O1

0.108  
C5

0.125  
C1

Compuesto orgánico conocido como amina terciaria, soluble en agua, no es volátil ni higroscópico [93].

	<p><b>APTES</b> C<sub>9</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>3</sub>Si</p>	<p>0.136 C1</p>	<p>0.081 C3</p>	<p>0.160 C1</p>	<p>Es considerado como agente de acoplamiento cuya función es proveer enlaces entre sustratos inorgánicos y orgánicos, el Si presente en la molécula brinda una unión fuerte para los sustratos [94]. Soluble en solventes orgánicos y agua.</p>
	<p><b>Quitosano</b></p>	<p>0.116 C2</p>	<p>0.064 C4</p>	<p>0.162 C4</p>	<p>Polímero (polisacárido alcalino) natural derivado de la quitina, esta es obtenida de los crustáceos. Tiene baja toxicidad, es biodegradable (mediante azúcares absorbidos por el cuerpo), biocompatible, biofuncional, tiene buena permeabilidad, sensible a exposiciones en medios ácidos (generalmente las tumoraciones presentan ambientes ácidos) lo cual favorece la liberación de moléculas activas. El quitosano puede actuar como una especie de válvula, que al ser sometida a un cambio de pH (ácido menor a 6) o temperatura comenzará a degradarse y de esa forma el fármaco comenzará a liberarse controladamente. Es un material poroso, su área superficial depende de la morfología (esferas presentan un área de 250-800 m<sup>2</sup>/g, por el contrario las escamas presentan un área de 1-2 m<sup>2</sup>/g [82, 83].</p>

De forma concreta los sitios más susceptibles para que las moléculas mostradas acepten electrones o bien los sitios donde puede ocurrir una interacción ante otro sistema son;

→ **Carvacrol:** el carbono 7 (marcado por un recuadro verde en la tabla 3) se va a unir o tener reactividad con un sistema que presente carácter electofílico, es decir que tenga una deficiencia de electrones, debido a que este tiene un exceso

de ellos. En otros términos el carbono 7 ( $\text{CH}_3$ ) se va a unir de forma generalmente covalente a otro sistema.

- **Cloroquina:** el comportamiento es similar al del carvacrol pero en esta ocasión ocurre en el carbono 2 (grupo  $\text{C}_3\text{-C-N}$ ) (marcado por un recuadro verde en la tabla 3).
- **Dacarbazina:** en este caso el carbono 5 (marcado por un recuadro verde en la tabla 3) es susceptible a tener un ataque radicalario, pero debido a que en el sistema de síntesis no se provén las condiciones adecuadas para que ocurra dicha reacción (producción de radicales libres mediante adición de iniciadores o propagadores como peróxidos), el carbono 5 presentará reactividad hacia grupos nucleofílicos, es decir, el grupo  $\text{N-CH}_3$  se unirá mediante un enlace covalente hacia otro sistema.
- **Rodamina-B:** el carbono 8 (marcado por un recuadro verde en la tabla 3) se va a unir o tener reactividad con un sistema que presente carácter electrofílico. En términos generales el carbono 8 ( $-\text{CH}_2\text{-CH}_3$ ) se va a unir de forma covalente a otro sistema, mismo comportamiento que presenta el carvacrol.
- **Trietanolamina (TEA):** en este caso el carbono 5 (marcado por un recuadro verde en la tabla 3) es susceptible a tener un ataque radicalario, pero debido a que en el sistema de síntesis no se provén las condiciones adecuadas para que ocurra dicha reacción (producción de radicales libres mediante adición de iniciadores o propagadores como peróxidos), el carbono 5 presentará reactividad hacia grupos electrofílicos, es decir, el grupo  $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-N}$  dona electrones.
- **3-Aminopropiltriétoxisilano (APTES):** caso similar que para el TEA, en el desarrollo práctico no se dan las condiciones necesarias para que pueda ocurrir una reacción de radicales libres, por lo que el carbono 1 recibirá un ataque nucleofílico, en este caso hay deficiencia de electrones por lo cual se sentirá atraído por un sistema con exceso de ellos. Al grupo  $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-Si}$  (marcado por un recuadro verde en la tabla 3) le donan un par de electrones provenientes de otro sistema, se unen mediante enlaces covalentes.
- **Quitosano:** el comportamiento es igual que en el caso del APTES, sólo que en este caso cambia la posición al carbono 2 ( $\text{C-OH}$ ) (marcado por un recuadro

verde en la tabla 3) se unirá o reaccionará mediante enlace covalente a un nucleófilo.

Una vez conocidas las zonas reactivas de los sistemas involucrados, es importante determinar la energía de sus orbitales moleculares, para saber si dicha interacción es viable y si la unión será fuerte o no.

### *3.3 Propiedades electrónicas de las moléculas*

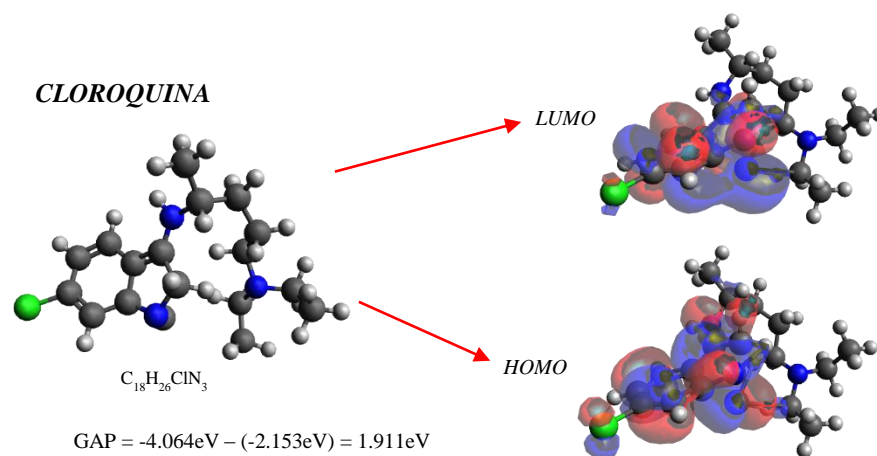
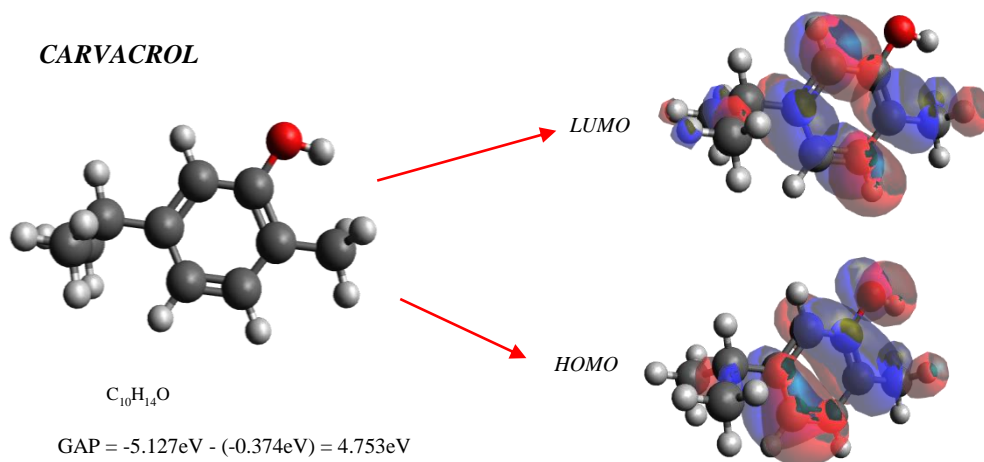
Los orbitales moleculares son importantes debido a que son los encargados del tránsito de electrones que da paso a los procesos químicos. Una reacción ocurre mediante el solapamiento de los orbitales vacíos de un sistema y los orbitales llenos de otro sistema y viceversa, una interacción más fuerte ocurre si la energía entre orbitales moleculares es menor, dichas interacciones se producen entre los orbitales de frontera (HOMO y LUMO) [95].

HOMO es el Orbital Molecular más alto ocupado (Highest Occupied Molecular Orbital), el cual es el último de los orbitales que se encuentra doblemente ocupado y muestra donde se encuentra el par de electrones que la molécula puede perder o ceder con mayor facilidad. Y el LUMO que es el Orbital Molecular vacante más bajo (Lowest Unoccupied Molecular Orbital) refleja el sitio de la molécula que puede aceptar un par de electrones con mayor facilidad. En la figura 11 se presentan los orbitales HOMO y LUMO de cada molécula, así como su energía GAP.

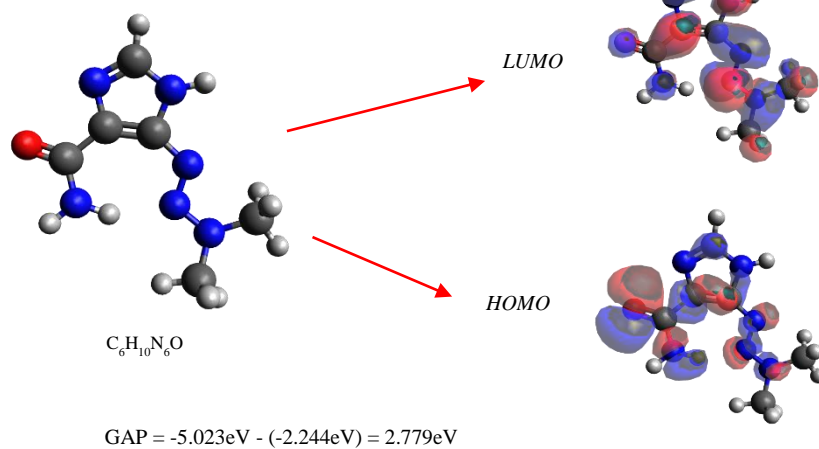
Cabe recalcar que las moléculas se modelaron con ayuda del software Avogadro [62-64] y se mandaron optimizar en Gaussian 09 [68-72], con la finalidad de encontrar la estructura más estable y funcional posible para cada caso. La determinación de la energía de banda prohibida, (mediante la diferencia de energías HOMO-LUMO) permite justificar la energía necesaria para que se lleve a cabo una reacción.

Los resultados obtenidos son los mostrados de igual forma en la figura 11, donde se plasman las moléculas optimizadas y los modelos 3D de la distribución de orbitales de frontera HOMO y LUMO. El valor de GAP para cada caso es el

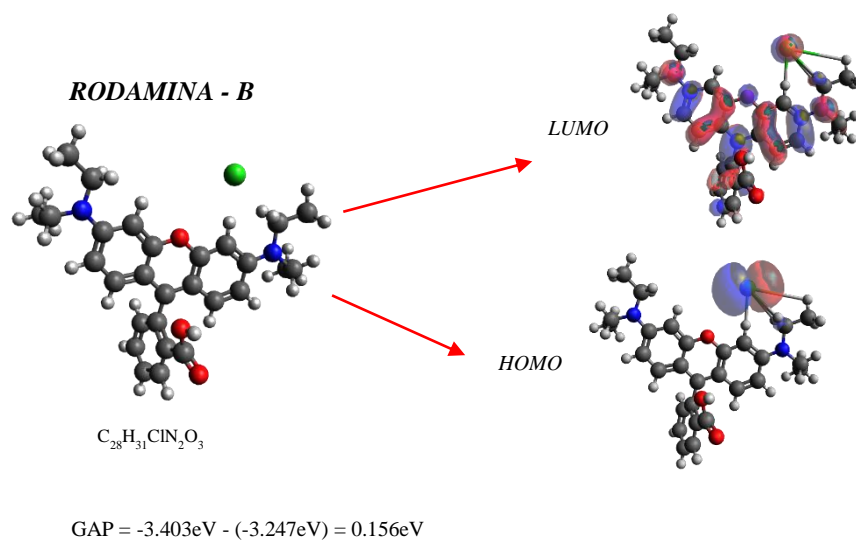
siguiente; CAR = 4.753 eV, Cloroquina = 1.911 eV, Dacarbazina = 2.779 eV, TEA = 6.863 eV, APTES = 6.997 eV, Rh-B = 0.156 eV y Qt = 7.006 eV.



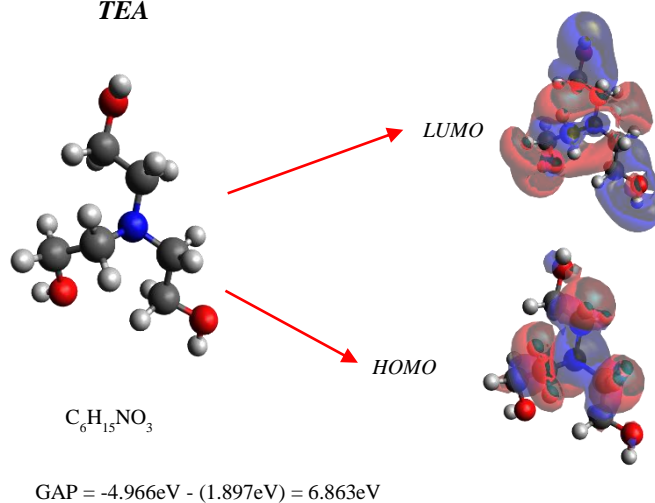
**DACARBAZINA**

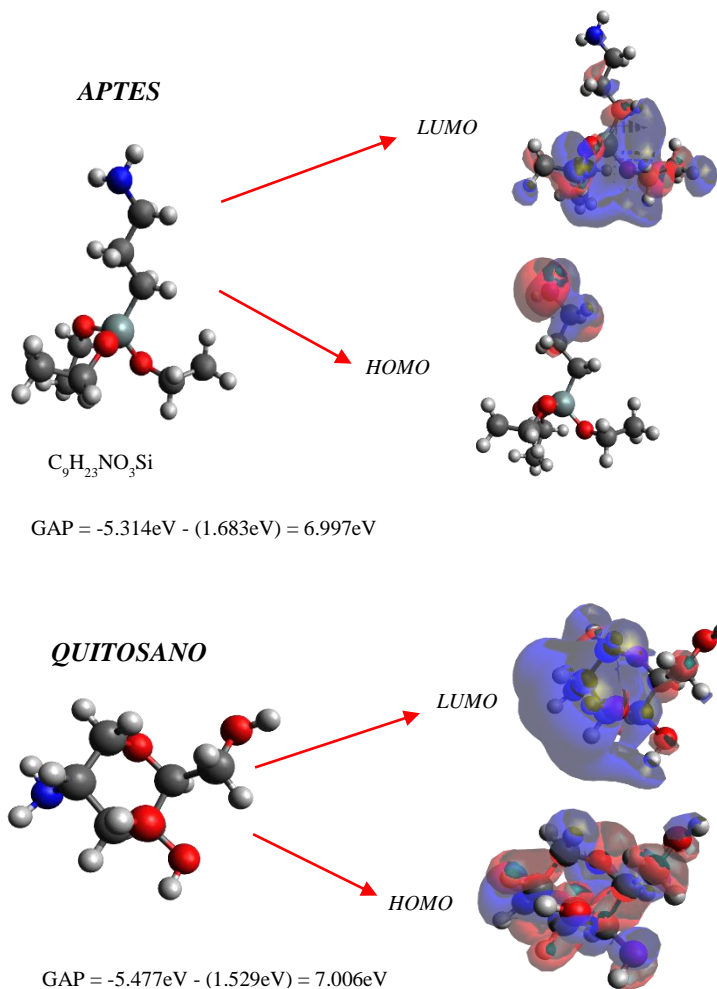


**RODAMINA - B**



**TEA**





**Figura 11;** Moléculas optimizadas y modelos 3D de los orbitales HOMO y LUMO de Carvacrol, Cloroquina, Dacarbazina, Rodamina-B, Trietanolamina, APTES y Quitosano.

Con esto y la predicción de los sitios reactivos de la molécula, se puede determinar, por ejemplo; como un nucleófilo ataca un orbital HOMO y al mismo tiempo coloca sus electrones excedentes en el LUMO, es decir, se pueden predecir los sitios de la molécula donde se hacen las uniones hacia otras moléculas y por lo tanto ocurren las reacciones.

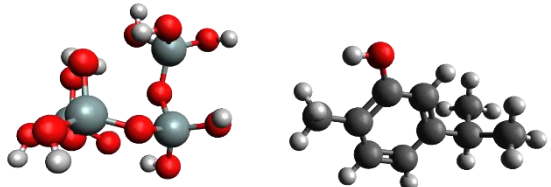
El paso siguiente es conocer si dichas reacciones se llevarán a cabo de forma espontánea o si será necesario el uso de energía extra dentro del sistema.

### 3.4 Energías de reacción

En referencia a los resultados anteriores se plantearon los siguientes sistemas (tabla 4) para conocer su energía de reacción. Se sabe que  $E_{\text{reacción}} = E_{\text{productos}} - E_{\text{reactivos}}$  si dicha energía es  $E_{\text{reacción}} > 0$  la energía de reacción es positiva por tanto tiende a los reactivos, si  $E_{\text{reacción}} < 0$  la energía de reacción es negativa tiende a los productos, por tanto, es una reacción espontánea lo que indicaría que ocurre interacción entre las especies involucradas en el sistema. Si dicha energía tiene un valor igual a 0 significa que el sistema tiende al equilibrio.

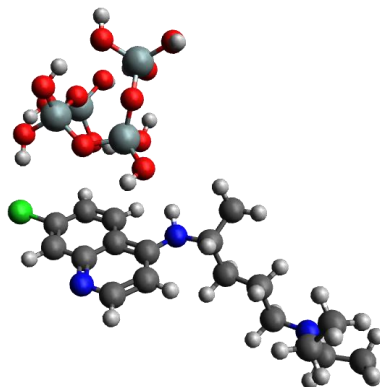
Siempre ocurre un intercambio de energía en una reacción o sistema ya sea que se absorba o genere calor, o bien se libere energía por el rompimiento de un enlace o se absorba debido a la formación de enlaces nuevos. En este caso la energía libre de Gibbs en un sistema representa la cantidad de energía que puede utilizar dicho sistema para realizar un trabajo, permite predecir si la reacción se llevará a cabo de forma espontánea o es necesario suministrarle energía extra para que pueda llevarse a cabo. Esta energía va de un estado inicial, es decir, los reactivos, a un estado final conocido como los productos.

**Tabla 4;** Energía de reacción entre las nanopartículas, fármacos, medios de funcionalización y quitosano.

COMPUESTO	ESTRUCTURA	ENERGÍA DE REACCIÓN
$SiO_2 + CAR$		$\Delta G = -118.507$ kcal/mol

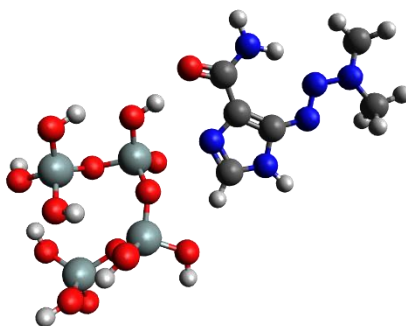


*SiO<sub>2</sub>+Cloroquina*



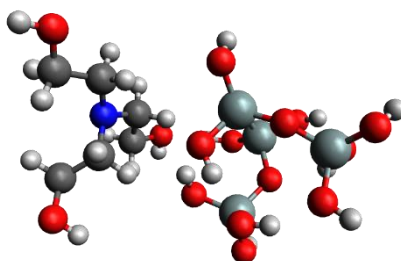
$\Delta G = -41.375$   
*kcal/mol*

*SiO<sub>2</sub>+Dacarbazina*



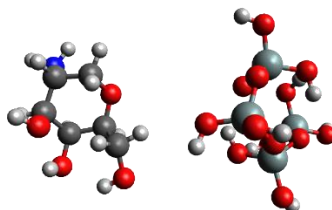
$\Delta G = -94.994$   
*kcal/mol*

*SiO<sub>2</sub>+TEA*



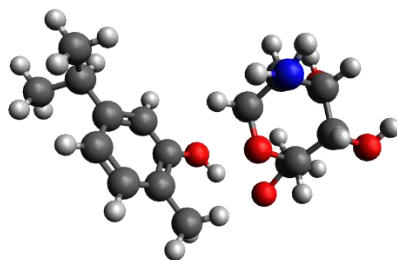
$\Delta G = 71.661$   
*kcal/mol*

*SiO<sub>2</sub>+Quitosano*



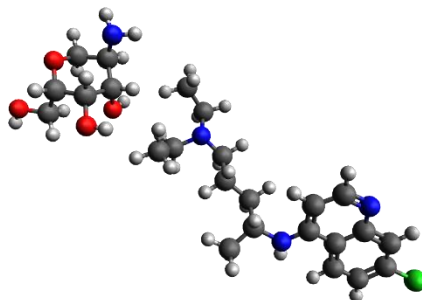
$\Delta G = -112.409$   
*kcal/mol*

*Quitosano+Carvacrol*



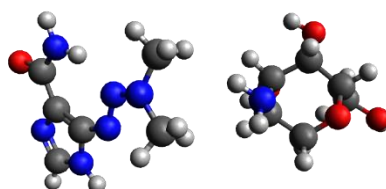
$$\Delta G = -0.621 \text{ kcal/mol}$$

*Quitosano+Cloroquina*



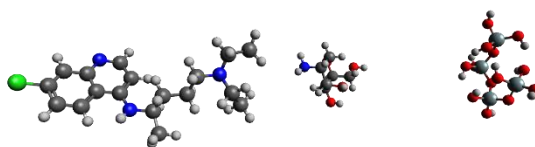
$$\Delta G = -108.005 \text{ kcal/mol}$$

*Quitosano+Dacarbazina*



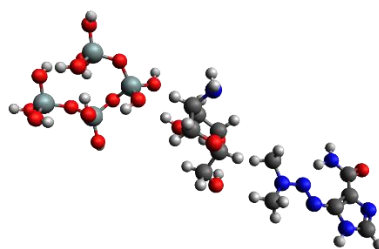
$$\Delta G = -194.149 \text{ kcal/mol}$$

*SiO<sub>2</sub>+Quitosano+Cloroquina*



$$\Delta G = -455.652 \text{ kcal/mol}$$

*SiO<sub>2</sub>+Quitosano+Dacarbazina*



$$\Delta G = -201.224 \text{ kcal/mol}$$

Con base en lo anterior se deduce que los sistemas, SiO<sub>2</sub>+CAR ( $\Delta G = -118.507$  kcal/mol), SiO<sub>2</sub>+Cloroquina ( $\Delta G = -41.375$  kcal/mol), SiO<sub>2</sub>+Dacarbazina ( $\Delta G = -94.994$  kcal/mol), SiO<sub>2</sub>+Quitosano ( $\Delta G = -112.409$  kcal/mol), Quitosano+Carvacrol ( $\Delta G = -0.621$  kcal/mol), Quitosano+Cloroquina ( $\Delta G = -108.005$  kcal/mol), Quitosano+Dacarbazina ( $\Delta G = -194.149$  kcal/mol), SiO<sub>2</sub>+Quitosano+Cloroquina ( $\Delta G = -455.652$  kcal/mol), SiO<sub>2</sub>+Quitosano+Dacarbazina ( $\Delta G = -201.224$  kcal/mol), reaccionarán de forma espontánea, es decir son sistemas viables para que interaccionen entre sí, dando potencial en su aplicación como portadores y liberadores de los respectivos fármacos. Respecto al sistema SiO<sub>2</sub>+TEA ( $\Delta G = 71.661$  kcal/mol) se obtuvo un  $\Delta G$  positivo por lo que las reacciones no son espontáneas y necesitan un aporte de energía extra para que se lleven a cabo. En este caso no quiere decir que la reacción no pueda ocurrir de forma espontánea por ningún medio, sería necesario girar las moléculas de SiO<sub>2</sub> y TEA eligiendo zonas con más grados de libertad o bien donde los grupos funcionales involucrados estén más libres y evaluar sus cambios de energía. Debido a fallas ocurridas en la supercomputadora utilizada para los cálculos los resultados de dichas variaciones energéticas no pudieron ser reportados en este proyecto, pero se tienen contemplados para investigaciones posteriores.

El uso de DFT resultó viable para determinar que las nanopartículas a base de sílice son candidatas para utilizarse como un portador de fármacos, ya que, los grupos funcionales y zonas susceptibles donde se dará la unión entre nanopartícula-fármaco mediante ataques nucleofílicos o electrofílicos, que se traduce a la formación de enlaces covalentes, ocurrirán de forma espontánea, lo que permite que el proceso de adsorción y liberación puedan llevarse a cabo de forma experimental.

### 3.5 Pruebas de adsorción y liberación

La capacidad de adsorción de las nanopartículas se probó con las moléculas modelo Rodamina-B, Carvacrol y Cloroquina. Mediante espectroscopia UV-Vis se determinó la cantidad adsorbida del fármaco después de 48 horas. Los valores obtenidos se muestran en la tabla 5.

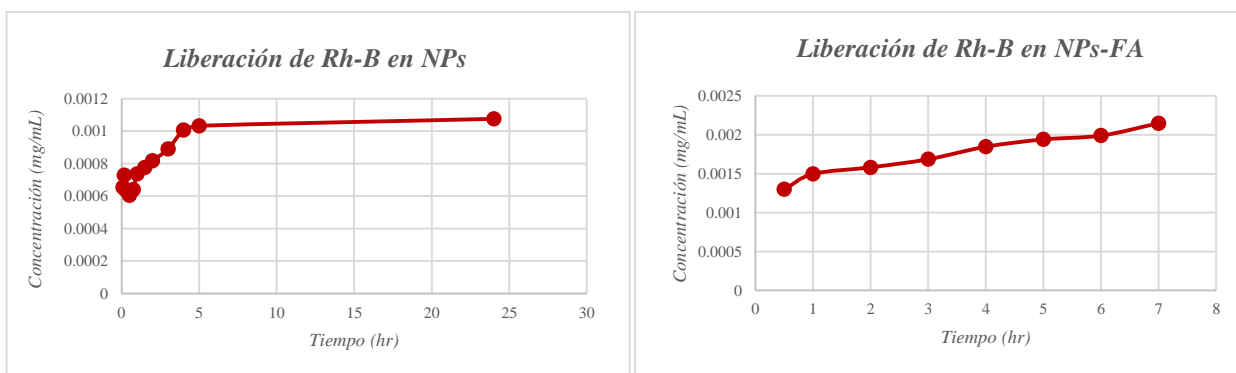
**Tabla 5;** cantidad y eficiencia de carga en el proceso de adsorción de fármacos.

<b>MOLÉCULA</b>		<b>Rodamina-B</b>	<b>Cravacrol</b>	<b>Cloroquina</b>
<b>ABSORBANCIA (nm)</b>		527	273	221
<b>NPs</b>	<i>mg utilizados</i>	30	30	30
	<i>ppm a adsorber</i>	8.4	16.4	14.0
	<i>ppm adsorbidas</i>	7.8	1.8	13.5
	<i>Eficiencia de carga (%)</i>	92.8	11.3	96.5
<b>NPs-FT</b>	<i>mg utilizados</i>	---	30	---
	<i>ppm a adsorber</i>	---	22.5	---
	<i>ppm adsorbidas</i>	---	1.8	---
	<i>Eficiencia de carga (%)</i>	---	8.3	---
<b>NPs-FA</b>	<i>mg utilizados</i>	15	15	15
	<i>ppm a adsorber</i>	12.8	23.2	18.4
	<i>ppm adsorbidas</i>	1.7	1.5	3.2
	<i>Eficiencia de carga (%)</i>	13.2	6.7	17.6

Considerando las cantidades de fármaco adsorbidas se evaluó su liberación. Comenzado con la rodamina-b (figura 12), usando NPs y NPsFA, en el primer caso para la adsorción se suspendieron 30 mg de nanopartículas en 15 mL de solución Rh-B en PBS (8.4 ppm) de las cuales se adsorbieron 7.8 ppm, lo que quiere decir que se tiene una eficiencia de carga en el material de 92.8%. En el caso de las NPsFA se usaron 15 mg en 15 mL de solución Rh-B/PBS (12.8 ppm), de las cuales se adsorbieron 1.7 ppm, dando una eficiencia de carga de 13.29%.

Una vez que se funcionalizan las nanopartículas podemos observar que la eficiencia de carga decreció en gran medida, lo cual de acuerdo a la literatura [96] puede atribuirse a que la superficie del material puede sufrir cambios tanto en área

superficial como en volumen de poro, debido a que hay un aumento de grupos funcionales presentes en la misma.

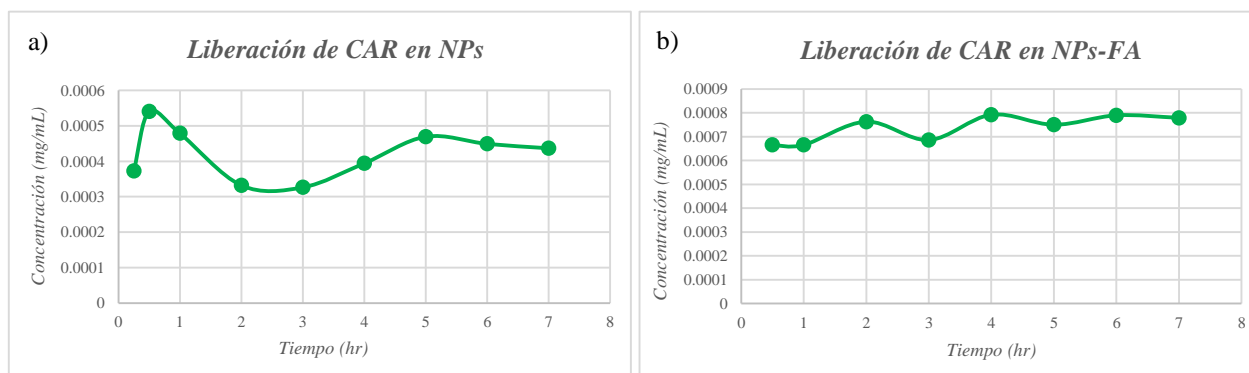


**Figura 12;** Gráficos de liberación de rodamina-b; a) Monitoreo de liberación por 24 hr con NPs b) Monitoreo de liberación durante 7 hr con NPs-FA.

Respecto a la cantidad de Rodamina-B adsorbida, su liberación en el PBS (fluido fisiológico simulado) ocurre de forma lenta y progresiva, por lo tanto el material tiene potencial para actuar como acarreador y liberador de este fármaco.

En el caso del Carvacrol se evaluó la eficiencia de carga con NPs, NPs-FA y NPs-FT. En el primer caso para la adsorción, se suspendieron 30 mg de NPs en 15 mL de solución CAR en PBS (16.4 ppm) de las cuales se adsorbieron 1.8 ppm, lo que quiere decir que se tiene una eficiencia de carga en el material de 11.35%. En el caso de las NPs-FA, se suspendieron 15 mg de NPs en 15 mL de solución CAR en PBS (23.2 ppm) de las cuales se adsorbieron 1.5 ppm, lo que quiere decir que se tiene una eficiencia de carga en el material de 6.72%. Para el tercer caso se suspendieron 30 mg de NPs-FT en 30 mL de solución CAR en PBS (22.5 ppm) de las cuales se adsorbieron 1.8 ppm, lo que quiere decir que se tiene una eficiencia de carga en el material de 8.30%. Se realizaron variaciones en las relaciones de adsorción con el propósito de determinar si incrementaba la eficiencia de carga o se mantenía constante. Las eficiencias de carga presentan un decremento una vez que se evalúan las nanopartículas funcionalizadas.

Debido a las eficiencias de carga presentadas se optó sólo por evaluar la liberación de carvacrol en NPs (figura 13a) y las NPs-FA (figura 13b), ya que fueron las que presentaron la mayor y menor eficiencia respectivamente.

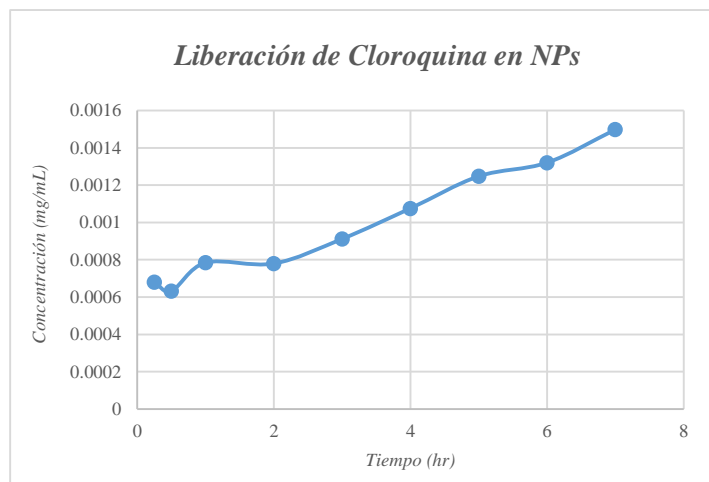


**Figura 13;** Gráficos de liberación de Carvacrol; a) Monitoreo de liberación por 7 hr con NPs, b) Monitoreo de liberación durante 7 hr con NPs-FA.

La cantidad de carvacrol liberada ocurre de forma lenta en ambos casos, la mayor cantidad de CAR es liberada dentro de 0.5 hr y 2 hr para cada caso respectivamente, en seguida se mantiene una liberación de forma gradual.

Posteriormente se evaluó la eficiencia de carga de Cloroquina con NPs y NPs-FA. En el primer caso para la adsorción, se suspendieron 30 mg de NPs en 15 mL de solución de cloroquina en PBS (14 ppm) de las cuales se adsorbieron 13.5 ppm, lo que quiere decir que se tiene una eficiencia de carga en el material de 96.58%. En el caso de las NPs-FA se suspendieron 15 mg en 15 mL de solución de cloroquina en PBS (18.4 ppm) de las cuales se adsorbieron 3.2 ppm, lo que quiere decir que se tiene una eficiencia de carga en el material de 17.69%. Las eficiencias de carga presentan un decremento una vez que se evalúan las nanopartículas funcionalizadas por ello y debido a los casos anteriores se optó por evaluar la liberación únicamente en las nanopartículas sin funcionalizar que fueron las que presentaron mayor porcentaje de carga (figura 14).

La liberación de cloroquina ocurre de forma lenta y progresiva durante las 7 hr de evaluación, por lo tanto el material se considera con potencial para actuar como acarreador y liberador de fármacos.



**Figura 14;** Prueba de liberación correspondiente a la Cloroquina utilizando NPs.

Actualmente en la literatura no se tienen reportes de la eficiencia que tiene el uso de nanopartículas a base de sílice en combinación con los fármacos evaluados en este proyecto, ni de las cantidades liberadas del fármaco respecto a un tiempo determinado. Hay reportes basados en la liberación de fármacos como naproxeno, para el cual su pico máximo ocurre entre 8-10 horas, después de 24 horas aún hay presencia de fármaco en el torrente sanguíneo [97]. Reportes para sustancias como la nicotina liberadas con este tipo de nanopartículas indican que ocurre de forma inmediata y no es controlada [98]. Las nanopartículas obtenidas en este caso permiten la liberación de fármacos de forma lenta y progresiva.

Se sabe que la rodamina-b tiene un tiempo de vida eficiente dentro de las 3 primeras horas en las que ha sido activado, en el caso de la liberación probada, el pico máximo se da entre 2 y 5 horas, lo cual permite que la Rh-B sea transportada al lugar deseado antes de comenzar a degradarse [99]. Para el carvacrol se tienen reportes sobre su cinética de liberación, la cual tiene mayor eficiencia después de 24 horas, en este caso el 50% del fármaco adsorbido es liberado dentro de la 1ra y 2da hora del proceso, lo cual puede disminuir el tiempo de espera para que comience a hacer efecto sobre el sistema humano [100]. La cloroquina presenta

mayor biodisponibilidad entre 2-5 horas en el caso del uso de las NPs después de las 3 horas se tiene el 15% del fármaco adsorbido indicando que la liberación es lenta por lo que el efecto de la cloroquina en el sistema puede durar más tiempo disminuyendo la cantidad de dosis requeridas.

Las nanopartículas no sólo pueden emplearse para liberación de fármacos, sino que también para degradación de contaminantes, en cultivos para proveer nutrientes, entre otros.

El tipo de liberación que ocurre con el uso de este sistema es controlada, ya que, el fármaco se va liberando de forma escalonada a través del transcurso del tiempo, además de ser sostenida, es decir, la liberación se da de forma constante después de 7 horas de liberación [101].

Se hizo un ajuste al modelo de Korsmeyer-Peppas para todos los gráficos de liberación, los resultados se muestran en la tabla 6.

**Tabla 6;** valores obtenidos del ajuste Korsmeyer-Peppas para las pruebas de liberación.

FÁRMACO	CONSTANTE DE LIBERACIÓN (k)			EXPONENTE (n)			MECANISMO DE LIBERACIÓN		
	NPs	NPs-FT	NPs-FA	NPs	NPs-FT	NPs-FA	NPs	NPs-FT	NPs-FA
Rodamina-B	0.7	---	1.4	0.11	---	0.18	No Fiksiana		
Carvacrol	0.5	---	0.7	0	---	0			
Cloroquina	0.7	---	---	0.2	---	---			

El exponente (n) ayuda a determinar el mecanismo mediante el cual ocurre la liberación, cuando el valor de n es menor a 0.5 se considera del tipo no Fiksiana, en este caso sería de tipo anómala, es decir, existen procesos simultáneos al fenómeno de difusión [102-104].

Se pueden atribuir fenómenos como estrés en el material, es decir, el material puede hidratarse, hincharse, compactarse, por lo tanto necesita un tiempo de relajación debido a la presión osmótica ocasionada en el sistema, una vez transcurrido dicho tiempo las cadenas que conforman el material se relajan y tienen la capacidad de expulsar el fármaco disponible en su interior [102-104].



Con base en la información anterior podemos destacar que el proceso de liberación más adecuado ocurre con la cloroquina, ya que ocurre de forma progresiva al transcurso del tiempo, seguido de la rodamina-b, por último se encuentra el carvacrol.

### *3.6 Acoplamiento o Docking Molecular*

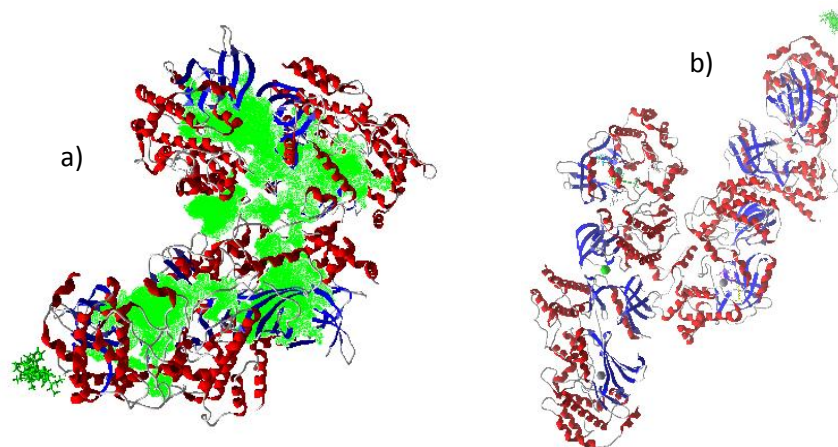
El acoplamiento molecular tiene como objetivo principal proponer un modelo de interacción entre dos moléculas. El Docking se basa en mecánica molecular y el uso de física clásica, se utilizan parámetros como ángulos de torsión, geometrías y cargas, para disminuir la diferencia entre dichas predicciones y los resultados experimentales mediante el uso de ecuaciones parametrizadas con cálculos *ab initio* o semiempíricos.

El proceso de Docking molecular se divide en dos etapas: inicialmente se prepara el ligando y la macromolécula (proteína de interés), con ello se pueden determinar las posibles cavidades donde los ligandos (en este caso los fármacos) pueden interactuar con la macromolécula. En seguida se determina si el acoplamiento es rígido o flexible y por último se establece una búsqueda estratégica de las interacciones de los ligandos [105].

En este proyecto de investigación la macromolécula utilizada fue la proteína codificada del gen BRAF (PD 4mnf), es un oncogén con una mutación que induce la aparición de cáncer, debido a que tiene como función básica la inducción de la reproducción celular estrechamente relacionado con el factor de crecimiento epidérmico que da origen al desarrollo tumoral. Las mutaciones BRAF son encontradas en más del 50% de los casos de melanoma, además es común en cáncer de colon, tiroides y ovarios [106].

Se obtuvieron las 5 posibles cavidades (figura 15) donde podía darse la interacción ligando proteína, en seguida se realizó un docking ciego sobre toda la superficie de la macromolécula para determinar en cuál de las cinco cavidades se anclaban los ligandos (carvacrol, cloroquina, rodamina-b, dacarbazina y SiO<sub>2</sub>), es decir, donde es más favorable que ocurra la interacción ligando-proteína, en seguida

se obtuvieron las poses más favorables donde se unirían los ligandos, posterior a ello se hizo un nuevo docking ciego sobre las dos cavidades en donde se distribuían dichos ligandos, que en este caso fueron las cavidades 1 y 3.



**Figura 15;** a) estructura secundaria de la proteína codificada del gen BRAF, de color verde se muestran las 5 cavidades favorables donde puede darse la interacción ligando-proteína, b) estructura secundaria de las poses viables que tomarían los ligandos dentro de la interacción (color verde).

En la tabla 7 se muestra la información obtenida en los dockings realizados.

**Tabla 7;** información obtenida de los dockings de Rh-B, CAR, CLQ, DAC y SiO<sub>2</sub> sobre la proteína codificada del gen BRAF.

<b>DOCKING GENERAL</b>					
<b>MOLECULA</b>	<b>E</b>	<b>LE</b>	<b>HBOND</b>	<b>ELECTRO</b>	<b>VdW</b>
Rh-B	-145.451	-4.407	-1.492	0.958	-41.646
CAR	-74.701	-6.791	-2.427	0.666	-27.476
CLQ	-103.107	-4.686	-0.450	0.240	-14.370
DAC	-89.500	-6.884	-5.396	-0.835	-20.610
SIO <sub>2</sub>	-108.592	-6.387	-19.996	0	-18.016
<b>CAVIDAD #1</b>					
Rh-B	-131.374	-3.981	-1.743	-1.280	-41.646
CAR	-72.992	-6.635	-3.663	0.147	-27.476
CLQ	-121.633	-5.528	-0.638	-0.376	-14.370
DAC	-89.776	-6.905	-4.276	-0.074	-24.346
SIO <sub>2</sub>	-83.492	-4.911	-11.851	0	-18.016

CAVIDAD #3					
<i>Rh-B</i>	-129.647	-3.928	-4.969	0.010	-15.517
<i>CAR</i>	-69.057	-6.277	-2.159	0.171	-23.039
<i>CLQ</i>	-105.849	-4.811	0	0.182	-39.044
<i>DAC</i>	-92.220	-7.093	-1.768	0.707	-27.820
<i>SIO<sub>2</sub></i>	-112.756	-6.632	-26.305	0	-15.150

Respecto a la eficiencia de ligando (LE), que corresponde a la energía que aporta cada átomo del ligando a la interacción en los tres casos, es decir, para el docking general y el docking en las dos cavidades posteriores el valor más negativo corresponde a la dacarbazina (DAC) seguido del carvacrol (CAR), este valor negativo indica cuál de los ligandos es el que se acopla mejor dentro de la interacción proteína-ligando, por ello la cavidad más favorable es la #3 con la dacarbazina ya que tiene un valor de -7.093 kcal/mol. El aporte de la energía de enlace de hidrogeno y la energía electrostática no es muy relevante, por tanto no son las que determinan que la dacarbazina es el mejor ligando. El aporte de la energía de Van der Waals ocupa el segundo lugar en dicha cavidad, con un valor de -27.8203, lo que da paso a elegir como mejor ligando a la dacarbazina. En referencia a la información anterior se puede determinar que no todos los aportes energéticos son los mejores para este ligando, por lo que el valor de LE se atribuye al tamaño de la molécula, ya que es pequeña y la energía aunque es poca se divide de igual forma entre pocos átomos, convirtiéndolo en el ligando más eficiente.

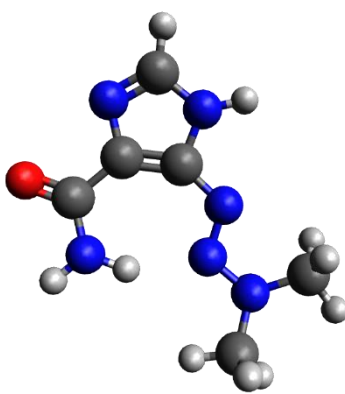
Las reglas de Lipinski formuladas en 1997 [107] establecen que para que una molécula tenga una absorción adecuada y buena permeación en el sistema biológico para poder considerarse como fármaco candidato se debe cumplir lo siguiente [107];

1. Peso molecular menor a 500 umas.
2. Tener máximo 10 átomos aceptores de enlaces de hidrogeno.
3. Máximo 5 átomos donadores de enlace de hidrógeno.
4. Tener un coeficiente de partición octanol-agua (log P) inferior a 5. Predice la biodisponibilidad de las moléculas así como el balance hidrofóbico (para ser

soluble en la sangre) e hidrofílico (para transportarse a través de las membranas celulares).

5. Tener máximo 5 enlaces rotables.

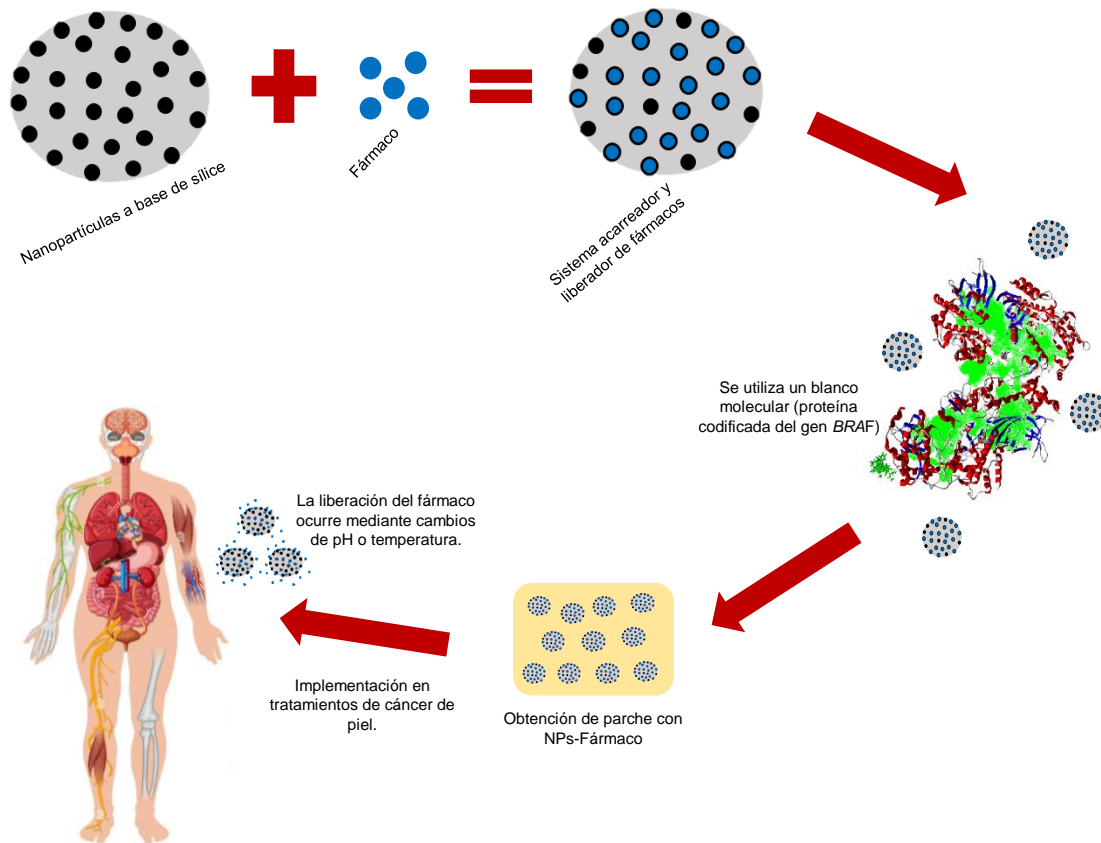
Con base en dichas reglas se puede determinar que la dacarbazina (figura 16) es un buen candidato para ser usado en liberación para tratamientos de cáncer de piel, debido a que cumple con 3 de las reglas plasmadas anteriormente, es una molécula pequeña, tiene 7 aceptores y 5 donadores de hidrógenos.



**Figura 16;** molécula de la dacarbazina.

El fármaco que ocupa el segundo lugar en cuanto a mayor eficiencia de ligando sería el carvacrol, el cual fue evaluado experimentalmente.

Podemos concluir que las nanopartículas a base de sílice tienen potencial como sistemas portadores y liberadores de fármacos, ya que, la interacción ligando-proteína es viable. Los fármacos ideales para utilizar en base a los resultados experimentales y de simulación son la cloroquina y el carvacrol, ya que tienen un proceso de liberación más controlado y presentan mayor interacción con la proteína codificada del gen *BRAF*. El sistema nanopartícula-fármaco después de pasar por pruebas de toxicidad, pruebas *in vitro* e *in vivo*, se pretende que sean depositadas sobre un parche, el cual, pueda ser colocado sobre la piel afectada por células cancerígenas (figura 17).



**Figura 17;** diagrama referente al funcionamiento del sistema portador y liberador de fármacos con las nanopartículas a base de sílice obtenidas a 20 °C sobre el cuerpo humano.

### 3.7 Pruebas de estabilidad coloidal

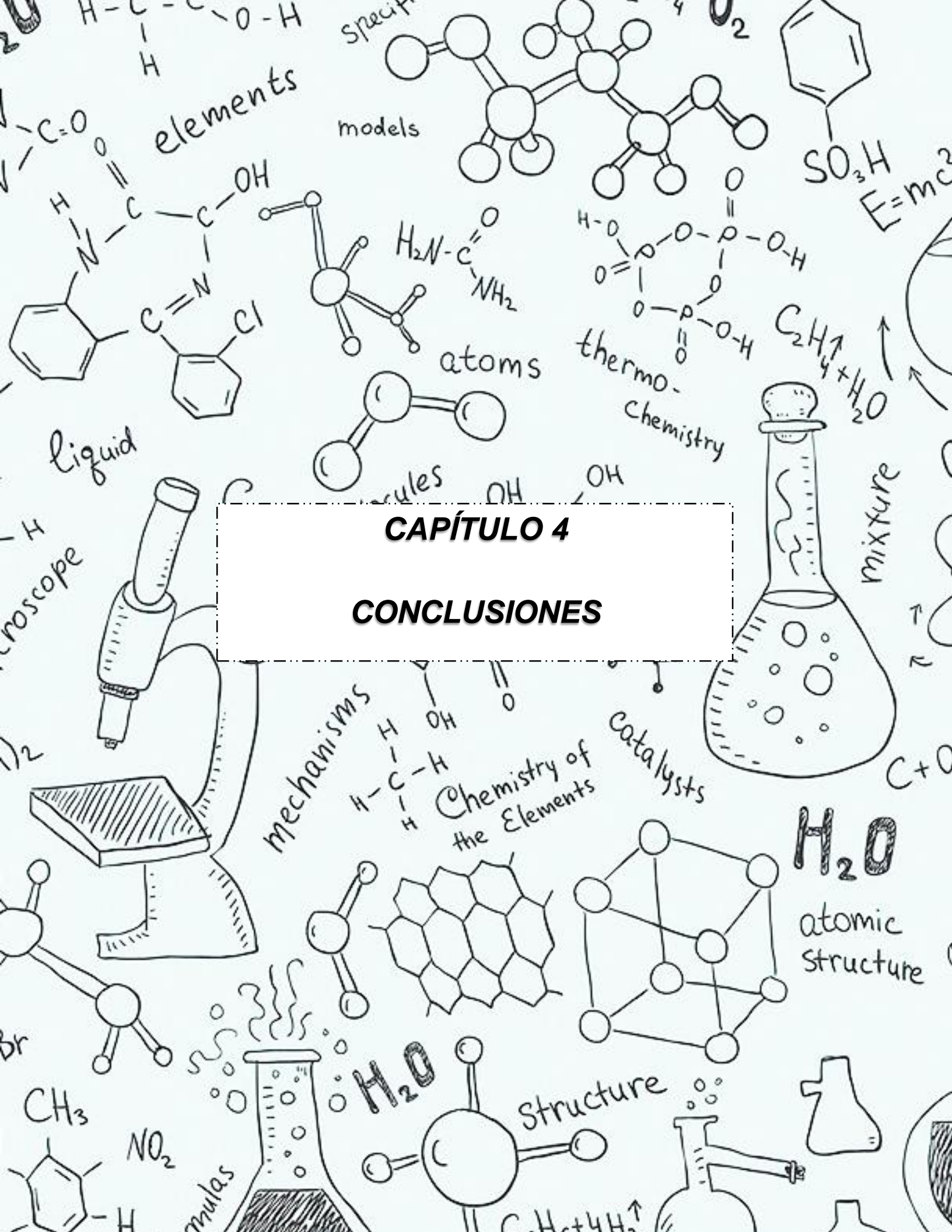
Debido a que los coloides se utilizan para producir una gran cantidad de productos como bebidas, alimentos, fármacos, entre otros, es importante asegurarse que estos sean estables, en estos sistemas se presentan dos fases, generalmente una en estado líquido y otra dispersa en estado sólido, conocidas como fase continua y fase dispersa respectivamente, debido a que se consideran como una mezcla homogénea de varias sustancias no presentan estabilidad con el tiempo, donde la fase dispersa se precipita, provocando una separación de fases que a su vez pueden causar cambios o influir en las propiedades del sistema.

Existen dos categorías generales de estabilidad que son; estabilidad coloidal relacionada al cambios de tamaño en las partículas, va en dependencia a las posibles interacciones que ocurren dentro de un sistema (de tipo Van der Waals, electrostáticas, estéricas, hidrofobicidad, etc) y la estabilidad gravitatoria está relacionada a la capacidad que tienen las partículas para sedimentarse, va en dependencia de las propiedades reológicas del sistema (viscosidad, tamaño, densidad de las partículas, carga molecular, punto isoeléctrico, etc.)

En este caso se realizó una prueba de estabilidad coloidal para las nanopartículas a base de sílice, se utilizaron 12 mg de las mismas y se suspendieron en 12 mL de PBS, transcurridos 10 minutos se sedimentaron, cabe recalcar que no sufrieron un cambio aparente, por lo que puede considerarse como un sistema estable coloidalmente pero inestable gravitacionalmente, ya que las partículas descienden a la superficie debido a la diferencia de densidades. Es por ello que como se mencionó anteriormente, se tiene como perspectiva posterior el adicionar un polímero al sistema de NPs.

**CAPÍTULO 4**

**CONCLUSIONES**



## CONCLUSIONES

- ⊕ El método sol-gel resultó adecuado para la síntesis de nanopartículas a base de sílice semiesféricas con mesoporosidad ordenada.
- ⊕ La variación de temperatura (20-45 °C) permitió optimizar la síntesis y obtener nanopartículas de 33 nm, 25 nm y 28 nm con mesoporosidad ordenada de entre 3.1-3.4 nm y una elevada área superficial de 570.92 m<sup>2</sup>/g, 634.47 m<sup>2</sup>/g y 706.74 m<sup>2</sup>/g.
- ⊕ El tamaño de nanopartícula obtenido (28 nm con una desviación estándar de 7.5) se considera adecuado para tener una correcta interacción con las células, ya que a mayor tamaño las nanopartículas estarían en el rango de tamaño de virus y bacterias lo cual aumentaría la posibilidad de rechazo en el cuerpo humano. Aunque es necesario hacer pruebas de toxicidad/viabilidad celular.
- ⊕ Se consideran como centros de adsorción de los fármacos a los grupos siloxano y silanol presentes en las nanopartículas.
- ⊕ Se logró la adsorción directa de los fármacos sobre la superficie de las nanopartículas, con eficiencias de carga de; carvarol 11.3%, 8.3% y 6.7%. Cloroquina con 96.5% y 17.6%. Rodamina-B con 92.8% y 13.2%.
- ⊕ El fármaco más favorable para que ocurra una adecuada interacción ligando-proteína es la dacarbazina seguida por el carvacrol. Con valores en eficiencia de ligando (LE) entre -6.8 kcal/mol a -7.0 y entre -6.2 a -6.7 kcal/mol, respectivamente.





**PERSPECTIVAS**  
**Y ANEXOS**

## **PERSPECTIVAS**

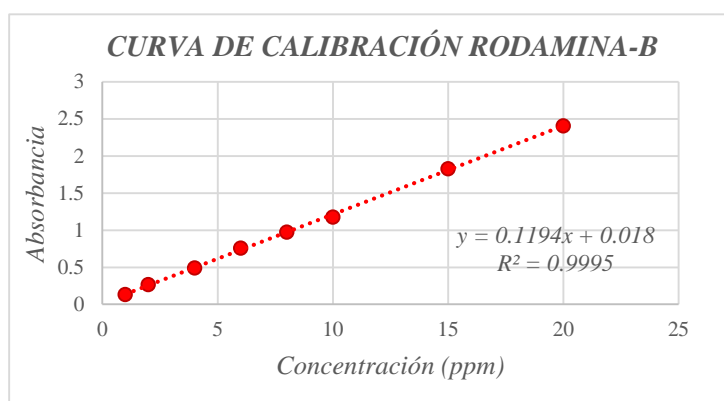
- ☑ Sinterizar un compósito nanoestructurado con nanopartículas a base de sílice y un polímero (quitosano, alginato) colocado como recubrimiento o coraza.
- ☑ Realizar pruebas de liberación con dacarbazina.
- ☑ Determinar velocidades para las pruebas de liberación.
- ☑ Determinar *in silico* el pKa y pKb de los sistemas.
- ☑ Realizar pruebas de adsorción y liberación en un medio ácido y uno básico.
- ☑ Hacer variaciones de concentración de los fármacos en las pruebas de adsorción y liberación.
- ☑ Realizar pruebas de citotoxicidad.
- ☑ Obtener acoplamientos moleculares con proteínas correspondientes a diversos tipos de cáncer.

## ANEXOS

### ANEXO 1: CURVAS DE CALIBRACIÓN

#### Rodamina B (Rh-B)

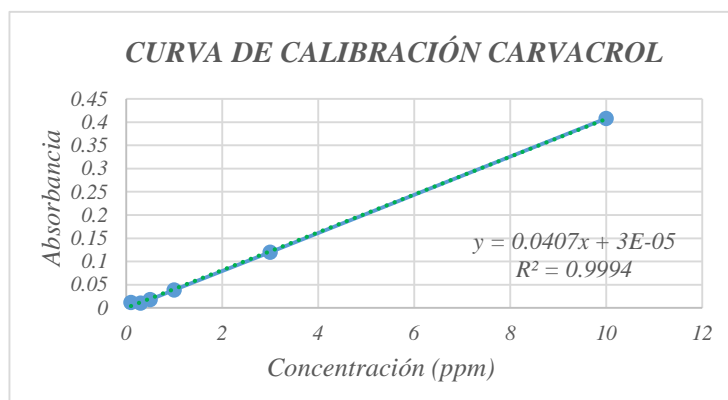
Se determinó la curva de calibración de Rh-B (figura 18) a partir de una solución madre de 30 ppm, posterior a ello se realizaron una serie de diluciones 1 ppm, 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, 15 ppm y 20 ppm. La mayor absorbancia se presentó en 527 nm, así mismo el coeficiente de correlación obtenido fue de 0.9995.



**Figura 18;** Curva de calibración correspondiente a la Rodamina-B

#### Carvacrol (CAR)

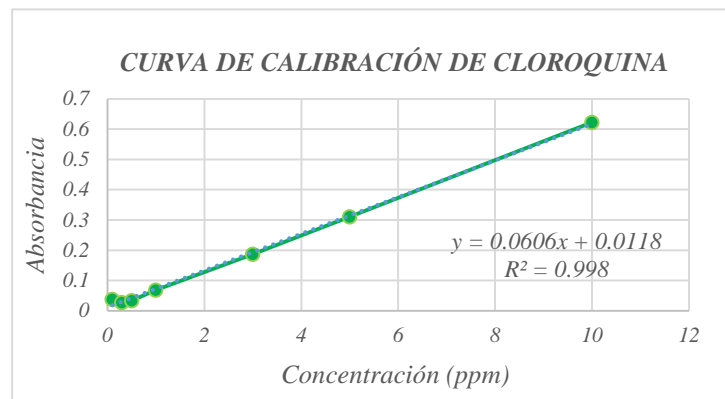
Se determinó la curva de calibración de CAR (figura 19) a partir de una solución madre de 50 ppm, posterior a ello se realizaron una serie de diluciones a 0.1 ppm, 0.3 ppm, 0.5 ppm, 1 ppm, 3 ppm y 10 ppm. La mayor absorbancia se presentó en 273 nm, así mismo el coeficiente de correlación obtenido fue de 0.9994.



**Figura 19;** Curva de calibración correspondiente al Carvacrol

## Cloroquina

Se determinó la curva de calibración de Cloroquina (figura 20) a partir de una solución madre de 30 ppm, posterior a ello se realizaron una serie de diluciones a 0.1 ppm, 0.3 ppm, 0.5 ppm, 1 ppm, 3 ppm, 5 ppm y 10 ppm. La mayor absorbancia se presentó en 221 nm, así mismo el coeficiente de correlación fue 0.998.



**Figura 20;** Curva de calibración correspondiente a la Cloroquina.

## ANEXO 2: ETAPAS DEL DESARROLLO DE FÁRMACOS

Es necesario realizar una evaluación de los fármacos para poder determinar sus beneficios y riesgos ante su uso en cualquier intervención terapéutica. Para ello las compañías farmacéuticas hacen una serie de pruebas exigidas por autoridades sanitarias investigando tanto la eficiencia como la seguridad de los nuevos fármacos. México se rige por las normas de la FDA (Food and Drug Administration), las fases de desarrollo que se exigen son las siguientes [108]:

*Primera: fase de obtención*, donde debe explicarse el método empleado para desarrollar el fármaco, si se trata de una extracción de un principio activo, si fue modificación de alguna molécula conocida, si se trata de una síntesis química nueva o bien el diseño racional de un fármaco, entre otros.

*Segunda: fase preclínica*, deben conocerse todas las propiedades fisicoquímicas de la molécula (estructura, peso molecular, solubilidad, puntos de fusión y ebullición, espectros UV, entre otros). Y fase biológica, donde se debe tener una aproximación del perfil farmacocinético y farmacodinámico del fármaco en dos especies animales diferentes incluyendo pruebas de toxicidad a corto y largo plazo.

*Tercera: estudios clínicos*, consiste en los procesos de evaluación del fármaco en el ser humano con la finalidad de determinar la eficacia y poder determinar las dosis terapéuticas adecuadas, además de poder investigar sus reacciones adversas para poder establecer los medios de seguridad adecuados. Las primeras pruebas se llevan a cabo en personas sanas, se suministran distintas concentraciones que permiten determinar las dosis terapéuticas adecuadas sin producir efectos adversos, de igual manera se determina la biodisponibilidad, el mecanismo de absorción, su distribución, metabolismo y mecanismo de expulsión del cuerpo humano, participan únicamente entre 20-50 personas.

En seguida se determina la eficacia terapéutica como dosis útiles, tolerabilidad y seguridad del fármaco, por lo que participan pacientes que padecen la enfermedad para la cual será usado el fármaco, el grupo de personas va entre 50 a 500 pacientes. Después se hacen pruebas con grupos de hasta 40,000 voluntarios.

*Cuarta:* una vez que el fármaco es aceptado por la FDA se hace un proceso de farmacovigilancia que consiste en establecer aspectos importantes como posibilidad de nuevas vías de administración del fármaco, establecer seguridad y efectividad en los diferentes grupos poblacionales (niños, embarazadas, personas con insuficiencia renal o hepática, etc.).

### ANEXO 3: CLASIFICACIÓN DE ISOTERMAS E HISTÉRESIS DE LA IUPAC

La Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC) clasifica las isotermas de adsorción en 6 tipos (figura 21) [109]:

I: conocida como isoterma de Langmuir, característica de sólidos microporosos.

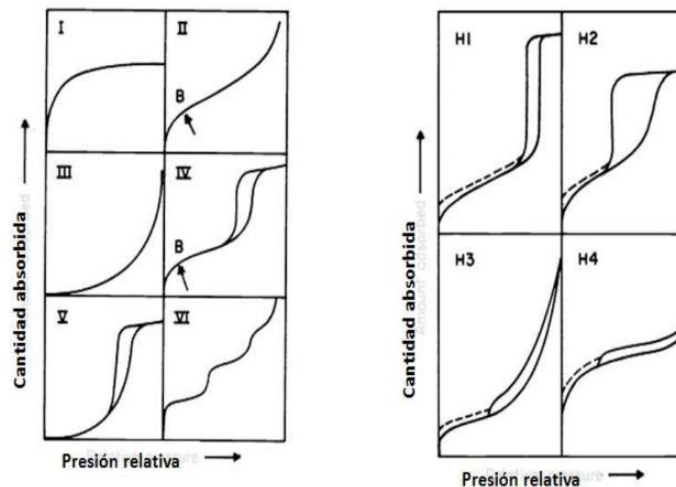
II: característica en la adsorción de sólidos no porosos o macroporosos.

III: característica de los sistemas con interacción débil entre adsorbente-adsorbato, por lo que los valores de adsorción son despreciables.

IV: característica de materiales mesoporosos, la adsorción comienza con la formación lineal de una monocapa y conforme aumenta la presión se producen multicapas. En este caso generalmente se presenta un ciclo de histéresis, es decir, el proceso de adsorción no coincide con el proceso de desorción, fenómeno relacionado al llenado y vaciado de los mesoporos.

V: isoterma poco común, donde la interacción adsorbente-adsorbato es débil e indica la presencia de adsorbentes porosos.

VI: característica en una adsorción por multicapas y refleja una superficie porosa uniforme.



**Figura 21;** a) tipos de isotermas de adsorción y b) ciclos de histéresis de acuerdo a la clasificación IUPAC [109].

La histéresis se presenta cuando ocurre una adsorción en multicapas y su forma describe la estructura de los poros. Se clasifican como (figura 21) [109]:

H1: poros cilíndricos, relacionado a aglomerados de forma esférica, ordenados con distribución de poro estrecha.

H2: poros en forma de cuello de botella.

H3: poros en forma de láminas.

H4: poros en forma de láminas estrechos, indicando además la presencia de microporos.



## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- [1] Organización Mundial de la Salud. Cáncer; Datos y cifras. 2022, de OMS Sitio web: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer>.
- [2] International Agency for Research on Cancer. (2020). CANCER TODAY. 2022, de World Health Organization Sitio web: <https://gco.iarc.fr/today/home>.
- [3] CDC. (Mayo 2021). Tratamientos contra el cáncer. Agosto 2021, de División de Prevención y Control del Cáncer, Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. Sitio web: <https://www.cdc.gov/spanish/cancer/survivors/patients/treatments.htm>
- [4] S. Kwon, R. Singh, R. Pérez, E. Abou, H. Kim, W. Chrzanowski. Silica-based mesoporous nanoparticles for controlled drug delivery. J Tissue Eng Regen M. 2013, 4, 1 -18
- [5] Claudia Verónica Espinoza Silva. (Noviembre 2015). Síntesis de nanopartículas de SiO<sub>2</sub> como potenciales vehículos para administración de fármacos. INSTITUTO POTOSINO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA, A.C.
- [6] Jaime G. de la Garza Salazar Paula Juárez Sánchez. (2014). El Cáncer. Monterrey, México: LA CIENCIA A TU ALCANCE.
- [7] Alejandro Graña. (Julio 2015). Breve evolución histórica del cáncer. Carcinomas, 5, 26-31.
- [8] Campbell Biology. (Junio 2021). Desarrollo del Cáncer, 11, 1-30.
- [9] MAYO CLINIC. (Mayo 2022). Cáncer. Agosto 2021, de Foundation for Medical Education and Research (MFMER) Sitio web: <https://www.mayoclinic.org/es-es/diseases-conditions/cancer/symptoms-causes/syc-20370588>
- [10] ONU. (Febrero 202). El cáncer mató a diez millones de personas en 2020, la mayoría en países de renta baja y media. Diciembre 2021, de Naciones Unidas. Sitio web: <https://news.un.org/es/story/2021/02/1487492>
- [11] Roche. (2015). CÁNCER. American Cancer Society, 1-5.
- [12] CancerQuest. (2008). Cómo se Propaga el Cáncer (Metástasis). Julio 2021, de EMORY WINSHIP CANCER INSTITUTE. Sitio web: <https://www.cancerquest.org/es/biologia-del-cancer/metastasis>

- [13] CDC. (Mayo 2021). Tratamientos contra el cáncer. Agosto 2021, de División de Prevención y Control del Cáncer, Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. Sitio web: <https://www.cdc.gov/spanish/cancer/survivors/patients/treatments.htm>
- [14] American Cancer Society. (Noviembre 2019). Cómo funcionan los medicamentos de quimioterapia. Noviembre 2021. Sitio web: <https://www.cancer.org/es/tratamiento/tratamientos-y-efectos-secundarios/tipos-de-tratamiento/quimioterapia/como-funcionan-los-medicamentos-de-quimioterapia.html>
- [15] ECHA. Uso de la nanotecnología para combatir el cáncer. Septiembre 2021, de EUROPEAN CHEMICALS AGENCY. Sitio web: <https://chemicalsinourlife.echa.europa.eu/es/fighting-cancer-using-nanotechnology>.
- [16] M.C.F.Simões, J.J.S.Sousa, A.A.C.C. Pais. (1 February 2015). Skin cancer and new treatment perspectives: A review. ELSEVIER, Cancer Letters, 357, 8-34.
- [17] Tawona N. Chinembiri, Lissinda H. du Plessis, Minja Gerber, Josias H. Hamman and Jeanetta du Plessis. (2014). Review of Natural Compounds for Potential Skin Cancer Treatment. Molecules, 19, 11659-11685.
- [18] DR. PEDRO LOBOS B., ANDREA LOBOS S. (2011). CÁNCER DE PIEL NO-MELANOMA. Elsevier, 22, 737-747.
- [19] NATIONAL CANCER INSTITUTE. 09-2021, de - Sitio web: <https://www.cancer.gov/>.
- [20] American Cancer Society. (2019). Nutrición para la persona durante su tratamiento contra el cáncer. American Cancer Society, 11/19, <https://www.cancer.org/content/dam/cancer-org/cancer-control/es/booklets-flyers/nutrition-for-the-patient-with-cancer-during-treatment-spanish.pdf>.
- [21] MICHAEL GOLDBERG, ROBERT LANGER and XINQIAO JIA. (2007). Nanostructured materials for applications in drug delivery and tissue engineering. J Biomater Sci Polym, 18, 241-268.
- [22] Guillermo Gutiérrez López. (Junio 2018). NANOMEDICINAS CONTRA EL CÁNCER. FACULTAD DE FARMACIA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE, 1-20.

- [23] Roy van der Meel, Einar Sulheim, Yang Shi, Fabian Kiessling, Willem J. M. Mulder and Twan Lammers. (Noviembre 2019). Smart cancer nanomedicine. *nature nanotechnology*, 14, 1007-1017.
- [24] Manuel Arruebo Rodrigo Fernández-Pacheco M. Ricardo IbarraJesús Santamaría. (Junio 2007). Magnetic nanoparticles for drug delivery. *nanotoday*, 2, 22-32.
- [25] Nayagam Lenin, Arumugam Karthik, Mathu Sridharpanday, Mohanraj Selvam, Saturappan Ravisekaran Srither, Sundarmoorthy Arunmetha, Palanisamy Paramasivam, Venkatachalam Rajendran. (2015). Electrical and magnetic behavior of iron doped nickel titanate ( $\text{Fe}_3\text{p}/\text{NiTiO}_3$ ) magnetic nanoparticles. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. 397, 281-286.
- [26] João Conde, Gonçalo Doria and Pedro Baptista. (Agosto 2011). Noble Metal Nanoparticles Applications in Cancer. *Journal of Drug Delivery*, 2012, 1-12.
- [27] NanoComposix. (2020). Gold Nanoparticles: Physical Properties. Fortis Life Sciences Company. <https://nanocomposix.com/pages/gold-nanoparticles-physical-properties>.
- [28] Chao Wang Liang Cheng Zhuang Liu. (Febrero 2011). Drug delivery with upconversion nanoparticles for multi-functional targeted cancer cell imaging and therapy. *Biomaterials*, ELSEVIER, 32, 1110-1120.
- [29] Nikita A. Bogachev, Anna A. Betina, Tatyana S. Bulatova, Viktor G. Nosov, Stefaniia S. Kolesnik, Ilya I. Tumkin, Mikhail N. Ryazantsev, Mikhail Yu. Skripkin and Andrey S. Mereshchenko. (2022). Lanthanide-Ion-Doping Effect on the Morphology and the Structure of  $\text{NaYF}_4:\text{Ln}^{3+}$  Nanoparticles. *Nanomaterials*. 12, 1-12.
- [30] Christine E. Probst Pavel Zrazhevskiy Vaishali Bagalkot Xiaohu Gao. (Mayo 2013). Quantum dots as a platform for nanoparticle drug delivery vehicle design. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 65, 703-718.
- [31] Mehdi Jaymanda Yasamin Davatgaran Taghipourbc Aram Rezaeia Hossein Derakhshankahd Mohammad Foad Abazarie Hadi Samadiana Michael R.Hamblin. (Agosto 2021). Radiolabeled carbon-based nanostructures: New radiopharmaceuticals for cancer therapy?. *Coordination Chemistry Reviews*, 440.

- [32] MSc. Tania Farías Piñeira. (Marzo 2010). Materiales Compuestos Zeolita-Surfactante-Fármaco con Uso Potencial en la Industria Farmacéutica. Laboratorio de Ingeniería de Zeolitas Instituto de Ciencia y Tecnología de Materiales Universidad de La Habana, 4-22.
- [33] Sumari, Fauziatul Fajaroh, Aman Santoso, Riski Kusuma Wardani. (2018). Performance of Activated Natural Zeolite/Cubas a catalyst on Degradation of Glycerol into Ethanol Assisted by Ultrasonic. *Journal of Physics: Conf. Series.* 1093, 1-7.
- [34] Héctor Ariel Lobato Aguilar. (Septiembre 2017). Síntesis, caracterización y estudios de liberación de clorhexidina a partir de organoarcillas de montmorillonita o paligorskita, y sus nanocompuestos, para aplicaciones antibacteriales. Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. Posgrado en Materiales Poliméricos, 3-19.
- [35] Felix Macht, Karin Eusterhues, Geertje Johanna Pronk and Kai Uwe Totsche. (2011). Specific surface area of clay minerals: Comparison between atomic force microscopy measurements and bulk-gas (N<sub>2</sub>) and liquid (EGME) adsorption methods. *Applied Clay Science.* 53, 20-26.
- [36] Sinc La ciencia es noticia. (2015). Un nuevo método logra materiales metálicos con una porosidad del 90%. 2022, de - Sitio web: <https://www.agenciasinc.es/Noticias/Un-nuevo-metodo-logra-materiales-metalicos-con-una-porosidad-del-90>.
- [37] H.A. Santos, J. Salonen, L.M. Bimbo, V.-P. Lehto, L. Peltonen, J. Hirvonen. (2011). Mesoporous materials as controlled drug delivery formulations. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 21, 139-155.
- [38] Shikha Indoriaa Vickramjeet Singhb Ming-Fa Hsieh. (Mayo 2020). Recent advances in theranostic polymeric nanoparticles for cancer treatment: A review. *International Journal of Pharmaceutics*, 582.
- [39] Luiz D. Marestoni, Ademar Wong, Gustavo T. Feliciano, Mary R. R. Marchi, César R. T. Tarley and Maria D. P. T. Sotomayor. (2015). Semi-Empirical Quantum Chemistry Method for Pre-Polymerization Rational Design of Ciprofloxacin Imprinted Polymer and Adsorption Studies. *Journal of the Brazilian Chemical Society.* 1-10.

- [40] Seyedeh Alia Moosaviana Amirhossein Sahebkar. (Abril 2019). Aptamer-functionalized liposomes for targeted cancer therapy. *Cancer Letters*, 448, 144-154.
- [41] Anton Ficai and Alexandru Mihai Grumezescu. (2017). *NANOSTRUCTURES FOR CANCER THERAPY*. Amsterdam: Elsevier.
- [42] Domenico Lombardo, Mikhail A. Kiselev and Maria Teresa Caccamo. (Febrero 2019). Smart Nanoparticles for Drug Delivery Application: Development of Versatile Nanocarrier Platforms in Biotechnology and Nanomedicine. *Journal of Nanomaterial* Hindawi, 2019, 1-27.
- [43] Pavankumar Kothamasu, Hemanth Kanumur, Niranjan Ravur, Chiranjeevi Maddu, Radhika Parasuramrajam and Sivakumar Thangavel. (2012). Nanocapsules: The Weapons for Novel Drug Delivery Systems. *Bioimpacts*. 2, 71-81.
- [44] G. AHUJA AND K. PATHAK. (Diciembre 2009). Porous Carriers for Controlled/Modulated Drug Delivery. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 71, 599-607.
- [45] Llinàs M. C. Sánchez D. Nanopartículas de sílice: preparación y aplicaciones en biomedicina. *Revistes Catalanes amb*. 2014; 20-19.
- [46] Sayyid Mahdi Rafigh Orcid and Amir Heydarinasab. (2017). Mesoporous Chitosan–SiO<sub>2</sub> Nanoparticles: Synthesis, Characterization, and CO<sub>2</sub> Adsorption Capacity. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 11, 1-7.
- [47] Mohaddeseh Kariminejad, Rezvan Zibaei, Azin Kolahdouz-Nasiri, Reza Mohammadi, Amir M. Mortazavian, Sara Sohrabvandi, Elham Khanniri, Nasim Khorshidian. (2022). Chitosan/Polyvinyl Alcohol/SiO<sub>2</sub> Nanocomposite Films: Physicochemical and Structural Characterization. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 12, 1-8.
- [48] A Saravanakumar and M Dharmendirakumar. (2018). Synthesis and characterization of SiO<sub>2</sub>-Chitosan supported AgNPs and its catalytic application for reduction of malachite green. *Indian Journal of Chemical Technology*, 25, 546-552.
- [49] Daniela J. Hernández-Castillo, Erick Natividad de la Cruz Hernández, Dora M. Frías Márquez, Richard D. Tilley, Lucy Gloag, Patricia Quintana Owen, Rosendo López González and Mayra A. Alvarez Lemus. (May 2021). Albendazole Release

from Silica-Chitosan Nanospheres. In Vitro Study on Cervix Cancer Cell Lines. *Polymers*, 13, 1-14.

[50] Jumin Houa Xiaoxia Yan. (October 2021). Preparation of chitosan-SiO<sub>2</sub> nanoparticles by ultrasonic treatment and its effect on the properties of starch film. *International Journal of Biological Macromolecules*, 189, 271-278.

[51] Lara Yildirimer, Nguyen T.K. Thanh, Marilena Loizidou, Alexander M. Seifalian. (October 2011). Toxicological considerations of clinically applicable nanoparticles. *Nano Today*, 6, 585—607.

[52] Amina Tariq, Sidra Nazir, Ahmad Wahab Arshad, Faisal Nawaz, Khurshid Ayub and Javed Iqbal. (Julio 2019). DFT study of the therapeutic potential of phosphorene as a new drug-delivery system to treat cancer. *ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY*, 9, 24325-24332.

[53] Mohammad Dahriab Samira Sadat Abolmaaliac Mozghan Abedanzadeha Mohsen Salmanpoura Reza Maleki. (2021). Composition and surface chemistry engineering of graphene grafting chitosan for stimuli-responsive cancer therapy: An in-silico study. *Informatics in Medicine Unlocked*, 24, 1-8.

[54] A. Sarala P. Sudhab S. Muthucd Ahmad Irfan. (Enero 2022). Computational, spectroscopic and molecular docking investigation on a bioactive anti-cancer drug: 2-Methyl-8-nitro quinoline. *Journal of Molecular Structure*, 1247.

[55] Fernanda Saldívar-González Fernando D. Prieto-Martínez José L. Medina-Franco. (Enero 2017). Descubrimiento y desarrollo de fármacos: un enfoque computacional Drug discovery and development: A computational approach. *Educación Química*, 28, 51-58.

[56] P. Ajmala Shireenab, V. M. Abdul, Mujeeba K. Muraleedharan. (Mayo 2017). Theoretical insights on flavanones as antioxidants and UV filters: A TDDFT and NLMO study. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 170, 286-294.

[57] Hiteshi Tandon, Tanmoy Chakraborty and Vandana Suhag. (2019). A Brief Review on Importance of DFT In Drug Design. *Medical & Engineering Science*, 7, 791-795.

- [58] A. Demet DEMIRAG<sup>1</sup>, Sefa CELIK, Sevim AKYUZ, Aysen E. OZEL. (2021). Molecular Docking Analysis of Used Drugs for the Treatment of Cancer. *Journal of Natural and Applied Sciences*, 12, 539-547.
- [59] Reetuparna Acharya, Shinuchacko, Pritha Bose, Antonio Lapenna and Shakti Prasad Pattanayak. (2019). Structure Based Multitargeted Molecular Docking Analysis of Selected furanocoumarins against Breast cancer. *SCIENTIFIC REPORTS*, 9, 1-13.
- [60] Saravana kumar Kandasamy, Sunil Kumar Sahu and Kathiresan Kandasamy. (Agosto 2012). In Silico Studies on Fungal Metabolite against Skin Cancer Protein (4,5-Diarylisoxazole HSP90 Chaperone). *ISRN Dermatology*, 2012, 1-5.
- [61] Abdullahi Bello Umar, Adamu Uzairu, Gideon Adamu Shallangwa, Sani Uba. (2020). QSAR modelling and molecular docking studies for anti-cancer compounds against melanoma cell line SK-MEL-2. *Heliyon*, 6, 1-11.
- [62] Taobo Hu, Yogesh Kumar, Iram Shazia, Shen-Jia Duan, Yi Li, Lei Chen, Jin-Fei Chen, Rong Yin, Ava Kwong, Gilberto Ka-Kit Leung, Wai-Kin Mat, Zhenggang Wu, Xi Long, Cheuk-Hin Chan, Si Chen, Peggy Lee, Siu-Kin Ng, Timothy Y. C. Ho, Jianfeng Yang, Xiaofan Ding, Shui-Ying Tsang, Xuqing Zhou, Dan-Hua Zhang, The International Cancer Genome Consortium, En-Xiang Zhou, Lin Xu, Wai-Sang Poon, Hong-Yang Wang and Hong Xu. (2018). Forward and reverse mutations in stages of cancer development. *Human Genomics*, 1-19
- [63] Development Assaf C. Bester, Maayan Roniger, Yifat S. Oren, Michael M. Im, Dan Sarni, Malka Chaoat, Aaron Bensimon, Gideon Zamir, Donna S. Shewach, and Batsheva Kerem. (April 29, 2011). Nucleotide Deficiency Promotes Genomic Instability in Early Stages of Cancer Development. Elsevier Inc., *Cell* 145, 435-445.
- [64] Taskeen Iqbal Janjua, Aria Ahmed-Cox, Anand Kumar Meka, Friederike M. Mansfeld, Helen Forgham, Rosa Mistica C. Ignacio, Yuxue Cao, a Joshua A. McCarroll, Roberta Mazzieri, Maria Kavallaris and Amirali Popat. (2021). Facile synthesis of lactoferrin conjugated ultra small large pore silica nanoparticles for the treatment of glioblastoma. *Nanoscale*, 13, 16909-16923.

- [65] Yuchen Pei, Chaoxian Xiao, Tian-Wei Goh, Qianhui Zhang, Shannon Goes, Weijun Sun, Wenyu Huang. (2022). Tuning surface properties of amino-functionalized silica for metal nanoparticle loading: the vital role of an annealing process. Department of Chemistry, Iowa State University, 1 -17.
- [66] Xiaowen Su, Zehua Wang, Yuan Huang, Zhenyu Miao, Shuhua Wang, Jianjun Wang, Xiao Li Zhang, Xiaomin Sun, Hong Liu, and Yuanhua Sang. (2021). Triethanolamine interface modification of crystallized ZnO nanospheres enabling fast photocatalytic hazard - free treatment of Cr(VI) ions. Nanotechnology Review, 10, 847-856.
- [67] Dr. Vicente Rodríguez González, Dr. Erik Díaz Cervantes. (Abril 2022). Notas de clase: Caracterización de Materiales Teoría y Práctica.
- [68] Dr. Erik Díaz Cervantes. (Diciembre 2022). Notas de clase: Simulación computacional.
- [69] Ing. Alberto Moncada Alvarado, Dra. María Teresa Romero de la Cruz, Dra. Antonia Martínez Luévanos. (Abril 2021). La Teoría del Funcional de la Densidad y sus aplicaciones en la Ciencia de Materiales Density Functional Theory and its applications in Materials Science. CienciAcierta, 67, 52-63.
- [70] Debdutta Chakraborty a and Pratim Kumar Chattaraj. (2021). Conceptual density functional theory based electronic structure principles. ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY, 12, 6264-6279.
- [71] José Luis Moncada, Guillermo Salgado Morán. (2008). CARACTERIZACIÓN DE LA REACTIVIDAD INTRÍNSECA DE LOS HALOBENCENOS EN EL MODELO CONCEPTUAL DE LA TEORÍA DE FUNCIONALES DE LA DENSIDAD (TFD). Quim. Nova, 31, 255-1258.
- [72] Fernando D. Prieto-Martínez, Marcelino Arciniega and José L. Medina-Franco. (2018). Molecular docking: current advances and challenges. TIP Rev.Esp.Cienc.Quím.Biol., 21, 65-87.



- [73] Xu Gui-Long, Deng Changyun, Liang Yun, Pi Pi-hui, Hu Jian and Yang Zhuoru. INTECH, Nanomaterials and Nanotechnology. Preparation and Characterization of Raspberry-like SiO<sub>2</sub> Particles by the Sol-gel Method. 2011, 1, 79-83.
- [74] Indrek Alberg. ESTONIAN UNIVERSITY OF LIFE SCIENCES Institute of Technology. ABSORPTION SPECTROSCOPY STUDIES OF SILICON DIOXIDE NANOPARTICLES AND THEIR APPLICATIONS IN SOLAR CELLS. 2021, 10-19.
- [75] Apostol, N. Hurduc and V. Damian. Polymer Thin Films. Tridimensional surface relief modulation of polymeric films. 2010, 129-142.
- [76] B Purnawira, H Purwaningsih, Y Ervianto, V M Pratiwi, D Susanti, R Rochiem, A Purniawan. Materials Science and Engineering. Synthesis and characterization of mesoporous silica nanoparticles (MSNp) MCM 41 from natural waste rice husk. 2019, 541, 2-7.
- [77] Nizar Bchellaoui, Zain Hayat, Mohamed Mami, Rachida Dorbez-Sridi2 & Abdel Illah El Abed. Nature. Microfluidic-assisted Formation of Highly Monodisperse and Mesoporous Silica Soft Microcapsules. 2017, 1-11.
- [78] Yasir Mehmood, Ikram Ullah Khan, Yasser Shahzad, Syed Haroon Khalid, Sajid Asghar, Muhammad Irfan, Muhammad Asif, Ikrima Khalid, Abid Mehmood Yousaf and Talib Hussain. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences. Facile synthesis of mesoporous silica nanoparticles using modified sol- gel method: Optimization and in vitro cytotoxicity studies. 2019, 1805-1812.
- [79] Ismail Ab Rahman and Vejayakumaran Padavettan. Journal of Nanomaterials. Synthesis of Silica Nanoparticles by Sol-Gel: Size -Dependent Properties, Surface Modification, and Applications i n Silica-Polymer Nanocomposites—A Review. 2012, 1-16.
- [80] Jakub Matusiak and Elżbieta Grządka. (2017). Stability of colloidal systems – a review of the stability measurements methods. ANNALES UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA LUBLIN – POLONIA, LXXII, 33-45.
- [81] Jhanvi Jhaveri, Zarna Raichura, Tabassum Khan, Munira Momin and Abdelwahab Omri. (2021). Chitosan Nanoparticles-Insight into Properties,

Functionalization and Applications in Drug Delivery and Theranostics. *Molecules*, 26, 1-29.

[82] Kuen Yong Lee<sup>1</sup> and David J. Mooney. (Enero 2012). Alginate: properties and biomedical applications. *National Institutes of Health*, 37, 1-18.

[83] Gheorghe Adrian Mart, Mihaela Mihai and Dan Cristian Vodnar. (2019). The Use of Chitosan, Alginate, and Pectin in the Biomedical and Food Sector- Biocompatibility, Bioadhesiveness, and Biodegradability. *polymers*, 11, 1-17.

[84] Mohammedi Z. (2017). Carvacrol: An Update of Biological Activities and Mechanism of Action. *SRYAHWA PUBLICATIONS*, 1, 53-62.

[85] VIOLETA ACOSTA ARRIOLA. (Marzo 2011). VARIACIÓN EN LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Lippia graveolens*, EN POBLACIONES SILVESTRES DE YUCATÁN, Y SU RELACIÓN CON FACTORES EDAFOCLIMÁTICOS. Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., 11-23.

[85] Páez-Hernández G., Espinosa-Andrews H., Castillo-Herrera G. A., Herrera-Rodríguez S. E. (2019). Uso de aceites esenciales como agentes quimiopreventivos contra el cáncer colorrectal. *SALUDJALISCO*, 3, 199-206.

[86] Claudia ORALLO LUNA, Rogelio GÓNZALEZ SARMIENTO. (2016). *FarmaJournal*, EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA CLOROQUINA SOBRE LA AUTOFAGIA EN CÉLULAS TUMORALES DE MAMA Y SU POSIBLE UTILIDAD COMO FÁRMACO ANTINEOPLÁSICO. *FarmaJournal*, 1, 41-51.

[87] Leticia Amésquita, María Nimia Cruz-Briceño, Zulita Prieto. (2018). DAÑO EN EL ADN DE LINFOCITOS HUMANOS POR EFECTO DE CLOROQUINA. 471, *Rev Peru Med Exp Salud Publica*, 35, 471-475.

[88] RACIM. (Mayo 2020). HIDROXICLOROQUINA, SULFATO DE, 1-14.

[89] Cayman CHEMICAL. (2022). Dacarbazina, 1.

[90] PubChem. (2022). Rhodamine B. National Library of Medicine.

[91] Atlas de histología vegetal y animal. (2022). TABLA de COLORANTES.

[91] Xiaofang Qua Fuming Yuana Zhiquan Heb Yuhan Maia Jianmei Gaoa Xinmin Lia Dezhi Yanga Yaping Caoa Xiaofei Lic Zeli Yuan. (July 2019). A rhodamine-based single-molecular theranostic agent for multiple-functionality tumor therapy. *Dyes and Pigments*, 166, 72-83.

- [92] Laura Berenice Jiménez Bermúdez. (Septiembre de 2013). Estudio de la melanina como fotocatalizador para la degradación de colorantes: Rodamina B. INSTITUTO POTOSINO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA, A.C., 9-13.
- [93] Suministro de especialidades. (2022). Trietanolamina 99%, 1-2.
- [94] JESSICA CHEM. (2022). 3-Aminopropyltriethoxysilane (APTES) CAS NO 919-30-2.
- [95] Práctica 7: Análisis de resultados: Orbitales Moleculares, Densidad Electrónica y Potencial Electrostático. Sitio web: <http://www.qfa.uam.es/informatica/Informatica/practica7.pdf>
- [96] CLÍNICA UNIVERSIDAD DE NAVARRA. (2022). Dacarbazina. 2021, Sitio web: <https://www.cun.es/enfermedades-tratamientos/medicamentos/dacarbazina>
- [96] Shyhaidah Rahmam, Norani Muti Mohamed and Sufian Suriati. (2014). The Effect of Surface Area, Pore Volume, and Pore Size Distribution on the Modified Multiwalled Carbon Nanotubes. Applied Mechanics and Materials, 625, 148-151.
- [97] Miroslav Almáši, Anna Alexovič Matiašová, Monika Šuleková, Eva Beňová, Juraj Ševc, Lucia Váhovská, Maksym Lisnichuk, Vladimír Girman, Adriana Zeleňáková, Alexander Hudák & Vladimír Zeleňák. Nature. In vivo study of light-driven naproxen release from gated mesoporous silica drug delivery system. 2021, 1-12.
- [98] Jennifer C. Iwenofu. Georgia Southern University. The Use of Silica Nanoparticles for Controlled Drug Delivery of Nicotine. 2022, 1-22.
- [99] M.C. DANIEL SÁNCHEZ MARTÍNEZ. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN. SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE WO<sub>3</sub> PARA LA EVALUACIÓN DE SU ACTIVIDAD FOTOCATALÍTICA EN LA DEGRADACIÓN DE CONTAMINANTES ORGÁNICOS POR ACCIÓN DE LUZ VISIBLE. 2010, 1-162.
- [100] María Isabel Zamora González, Ana Gabriela López Villa, Dr. César Ricardo Cortez Álvarez, Dra. Jazmín del Rocío Soltero Sánchez, Dra. Adriana Velarde Avalos, M.Q.C. María Virgen Montelongo, Dr. Edgar Benjamín Figueroa Ochoa. Revista de la Realidad Global. Evaluación del perfil cinético de liberación del carvacrol solubilizado en el sistema gelificado del Pluronic F-127 en disolución acuosa. 2019, 8, 226-233.

- [101] DICCIONARIO DEL CATALOGO SECTORIAL DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS MAYO DE 2014. TIPOS DE LIBERACIÓN. 1-2. [http://www.digemid.minsa.gob.pe/UpLoad/UpLoaded/pdf/Catalogacion/digemid/Productos\\_Farmacuticos/Diccionarios/D\\_Tipo\\_Liberacion.pdf](http://www.digemid.minsa.gob.pe/UpLoad/UpLoaded/pdf/Catalogacion/digemid/Productos_Farmacuticos/Diccionarios/D_Tipo_Liberacion.pdf)
- [102] Javier Aragón Fernández, Ramón González Santos y Gastón Fuentes Esteves. (2010). Estudio in vitro de liberación de fármacos desde un biomaterial compuesto Study in vitro of delivery drug from a compound biomaterial. Revista CENIC. Ciencias Químicas, 41, 1-8.
- [103] Virginia Sáez, Estibaliz Hernáez y Lucio Sanz Angulo. (Marzo 2004). MECANISMOS DE LIBERACIÓN DE FÁRMACOS DESDE MATERIALES POLÍMEROS. Revista Iberoamericana de Polímeros, 5, 1-16.
- [104] Héctor A. ANDREETTA. (Junio 2003). Fármacos de Acción Prolongada: Mecanismos de Liberación. Usos de Distintos Modelos. Unidad de Producción de Medicamentos, Facultad de Ciencias Exactas, 22, 355-364.
- [105] Fernando D. Prieto-Martínez, Marcelino Arciniega and José L. Medina-Franco. (2018). Molecular docking: current advances and challenges. TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, 21, 65-87.
- [106] Sergio Delgado. (Julio 2021). Mutaciones del gen BRAF: qué es y cómo se trata. 2022, de EuropaColon España Sitio web: <https://europacoln.es/2021/07/06/mutaciones-del-gen-braf-que-es-y-como-se-trata/>
- [107] Oscar Cobar Pinto. (Marzo 2014). DISEÑO DE FÁRMACOS ASISTIDO POR COMPUTADORA -la Regla de Lipinski-. 2022, de USAC Sitio web: <https://prezi.com/vsn-ypdge3mg/la-regla-de-lipinski/>
- [108] Dr. CARLOS BUSTAMANTE ROJAS. FASES DEL DESARROLLO DE UN NUEVO MEDICAMENTO. UNIVERSIDAD DE LA SABANA COLOMBIA, 1-4.
- [109] Daniel Cristopher Obregón Valencia. (Diciembre 2012). ESTUDIO COMPARATIVO DE LA CAPACIDAD DE ADSORCIÓN DE CADMIO UTILIZANDO CARBONES ACTIVADOS PREPARADOS A PARTIR DE SEMILLAS DE AGUAJE Y DE ACEITUNA. PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL PERÚ, 6-7.

*To be continue...*