



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE
SAN NICOLÁS DE HIDALGO



INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN METALURGIA Y MATERIALES

MAESTRÍA EN METALURGIA Y CIENCIAS DE LOS MATERIALES

Síntesis de nanopartículas de oro (AuNPs) a partir del extracto acuoso de *Plectranthus hadiensis*, funcionalización y evaluación en distintas líneas celulares de cáncer

Tesis que para obtener el Grado de
Maestro en Metalurgia y Ciencias de los Materiales presenta:

IBQ. Emma Zicaru Reyes Monroy

Director de Tesis
D. en C. Gerardo Antonio Rosas Trejo

Morelia, Michoacán, Marzo del 2025



INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN METALURGIA Y MATERIALES
Of. Núm.IIMM-006-2025

Morelia Michoacán 21 de enero de 2025

**I.B.Q. EMMA ZICARU REYES MONROY
PRESENTE**

Por medio de la presente, esta dirección del Instituto de Investigación en Metalurgia y Materiales de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, tiene a bien informarle que para presentar su examen de grado de Maestría en Metalurgia y Ciencias de los Materiales con la tesis titulada **"Síntesis de Nanopartículas de oro a partir del extracto acuoso de Plectranthus Hadlensis"**, le ha sido asignada la siguiente mesa sinodal:

91002524	Dr. Gerardo Antonio Rosas Trejo	Presidente
93002670	Dr. Ignacio Mejía Granados	Vocal
99002370	Dr. Ramiro Escudero García	Vocal
04003187	Dr. Ricardo Morales Estrella	Vocal
98004719	Dr. Joel Edmundo López Meza	Vocal
01000489	Dr. Jorge Alejandro Verduzco Martínez	Suplente

Agradeciendo de antemano las atenciones que se sirva prestar a la presente, aprovecho para enviarle un cordial saludo.

UMSNH
ATENTAMENTE



Instituto de Investigación
en Metalurgia y Materiales

DR. ARIOSTO MEDINA
DIRECCIÓN

INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN METALURGIA
Y MATERIALES DE LA UMSNH

C.c. p.- Archivo/AMF/iag

CONTENIDO

ÍNDICE DE FIGURAS	vi
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
CAPÍTULO 1 INTRODUCCIÓN	10
1.1. Introducción	11
1.2. Justificación	12
1.3. Objetivos.....	13
1.3.1. Objetivo general	13
1.3.2. Objetivos específicos.....	13
1.4. Hipótesis	13
1.5. Metas científicas	14
CAPÍTULO 2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1. Revisión bibliográfica.....	16
2.1.1. Nanociencia y nanotecnología.....	16
2.1.2. Nanomateriales	16
2.1.3. Nanopartículas de oro (AuNPs).....	17
2.1.4. Métodos de síntesis.....	18
2.1.5. Síntesis verde	18
2.1.6. Caracterización de nanomateriales	20
2.1.7. Propiedades.....	20
2.1.7.1. Agentes terapéuticos.....	20
2.1.7.2. Biocompatibilidad	20
2.1.7.3. Biocompatibilidad y citotoxicidad.....	21
2.1.7.4. Funcionalización de las AuNPs	22
2.1.8. ¿Qué es el cáncer?	22
2.1.8.1. Melanoma	24
2.1.8.2. Leucemia mieloide crónica.....	26
2.1.9. Líneas celulares	27
2.1.10. Mecanismos de acción de las AuNPs	28
2.1.11. Características de <i>Plectranthus hadiensis</i> (vaporub).....	29
2.2. Estado del arte	31
CAPÍTULO 3 DESARROLLO EXPERIMENTAL.....	42
3.1. Metodología experimental.....	43

3.1.1. Preparación del extracto acuoso	44
3.1.2. Síntesis verde de AuNPs y funcionalización	44
3.1.3. Cuantificación de polifenoles por el ensayo de Folin-Ciocalteu.....	45
3.1.4. Caracterización de las nanopartículas de oro	45
3.1.4.1. Uv-vis	45
3.1.4.2. MEB-EDS.....	46
3.1.4.3. DRX.....	46
3.1.4.4. FT-IR.....	47
3.1.5. Actividad biológica.....	47
3.1.5.1. Cultivo de las líneas celulares B16-F0 y K562	47
3.1.5.2. Ensayo de viabilidad celular, exclusión del colorante azul tripano.....	47
3.3.5.3. Hemólisis	49
3.3.5.4 Citometría de flujo.....	49
CAPÍTULO 4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	51
4.1. Síntesis y caracterización de AuNPs	52
4.1.1 Cuantificación de polifenoles	52
5.1.2. Síntesis verde de AuNPs.....	53
5.1.3. Espectroscopía UV-vis.....	54
4.1.4. Microscopía electrónica de barrido	56
4.1.5. Difracción de rayos-X	59
4.1.6. Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier.....	59
4.2. Propiedades de las AuNPs sintetizadas	61
4.2.1. Viabilidad celular.....	61
4.2.2 Hemólisis	63
4.2.3. Modo de muerte activado por las AuNPs en células K562	64
CAPÍTULO 5 CONCLUSIONES.....	66
5.1 Conclusiones.....	67
5.2 Perspectivas	67
Referencias bibliográficas	69

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1 Síntesis verde de nanopartículas de oro a partir de extractos acuosos de plantas.....	19
Figura 2.2 Características del cáncer.....	23
Figura 2.3 Distribución de las células de la piel en la epidermis	25
Figura 2.4 Eventos biológicos en la progresión del melanoma.....	26
Figura 2.5 Maduración de una célula madre sanguínea	27
Figura 2.6 Mecanismos sugeridos sobre la actividad anticancerosa de la AuNPs.	29
Figura 2.7 Diterpeno 7 α -acetoxi-6 β -hidroxiroileanona (Roy).	30
Figura 2.8 Espectros de absorción UV-vis de PCSP, PCSP-AuNPs y AuNPs..	31
Figura 2.9 Efectos antitumorales de PCSP y PCSP-AuNPs en ratones portadores de tumores H22.	32
Figura 2.10 Caracterización de AuNPs sintetizadas por CPE..	33
Figura 2.11 Imágenes de microscopía electrónica de transmisión de alta resolución de nanopartículas de oro.....	34
Figura 2.12 Tamaño de partícula de Do-AuNPs.....	35
Figura 2.13 Imágenes HR-TEM de MO-AuNPs	36
Figura 2.14 Microscopía electrónica de transmisión de AuNPs sintetizadas con un extracto acuoso de rizoma de <i>Z. officinale</i>	37
Figura 2.15 Imágenes MET de (A) Pi-AuNP y (B) Pa-AuNP.....	38
Figura 2.16 Mecanismo propuesto para la síntesis de <i>T. capensis</i> -AuNPs	39
Figura 2.17 Patrón de DRX de <i>T. capensis</i> -AuNPs	40
Figura 2.18 Comparación del espectro FTIR de AuNPs y extracto metanólico de semillas <i>R. communis</i>	41
Figura 3.1 Diagrama del procedimiento experimental.....	43
Figura 4.1 Cuantificación de polifenoles para el extracto acuoso de <i>P. hadiensis</i> y AuNPs.	52
Figura 4.2 Síntesis de nanopartículas de oro utilizando diferentes concentraciones de la sal precursora y el extracto acuoso de <i>P. hadiensis</i>	53
Figura 4.3 Espectro UV-vis de AuNPs con diferentes concentraciones de la sal precursora.....	55
Figura 4.4 Espectro UV-vis de AuNPs (HAuCl ₄ 3 mM) a diferentes tiempos.....	56
Figura 4.5 Espectro Uv-vis de AuNPs-cisplatino.....	56

Figura 4.6 Micrografías de AuNPs a diferentes ampliaciones..	57
Figura 4.7 Tamaño promedio de AuNPs.	58
Figura 4.8 Mapeo elemental por MEB de AuNPs.	58
Figura 4.9 Patrón de difracción de AuNPs sintetizadas a partir de <i>P. hadiensis</i>	59
Figura 4.10 Espectro FT-IR del extracto acuoso de <i>P. hadiensis</i> y AuNPs.	60
Figura 4.11 Análisis de viabilidad celular por exclusión del colorante azul tripano en la línea celular B16-F0 de melanoma de murino..	62
Figura 4.12 Análisis de viabilidad celular por exclusión del colorante azul tripano en la línea celular K562 de leucemia mieloide crónica.	63
Figura 4.13 Efecto hemolítico de AuNPs y AuNPs-cispt a diferentes concentraciones	64
Figura 4.14 Modo de muerte activado por las AuNPs células K562.	65
 Tabla 3.1 Concentraciones utilizadas en los ensayos de viabilidad celular.....	 48

RESUMEN

El aumento en la incidencia de enfermedades como el cáncer ha llevado a la nanotecnología a desarrollar nuevas técnicas en el tratamiento de esta enfermedad, generando agentes terapéuticos, los cuales se pretende sean económicos, de fácil obtención y citotóxicos a nivel celular. Uno de los materiales más estudiados con estas funciones y propiedades son las nanopartículas de oro (AuNPs) sintetizadas por métodos ecológicos a partir de plantas. Este proyecto de investigación se enfocó en la síntesis verde de nanopartículas de oro (AuNPs) a partir de un extracto acuoso de *Plectranthus hadiensis* (vaporub). El material obtenido fue caracterizado por espectroscopía UV-vis, MEB, DRX, FTIR, se demostró su aplicación *in vitro* en las líneas celulares B16-F0 de melanoma de murino y K562 de leucemia mieloide crónica humana, además de su funcionalización con el agente quimioterapéutico cisplatino y se determinó el modo de muerte activado. Se obtuvieron nanopartículas de forma y tamaño uniforme menor a 30 nm, con un plasmón de resonancia superficial en 540 nm, los planos obtenidos en DRX corresponden a la estructura FCC característica del oro y mediante la ecuación Debye-Scherrer se obtuvo un tamaño de cristal de 14.9 nm. Se determinaron los grupos funcionales que participan en la síntesis y estabilización de las nanopartículas de oro a partir de un análisis FT-IR, el desplazamiento de la banda correspondiente a los grupos -OH (3289 cm^{-1}) demuestra la presencia de fenoles, que son atribuidos a la estabilidad de las AuNPs. Sumado a esto, se obtuvieron resultados de citotoxicidad cercanos al 50% en ambas líneas celulares con el material simple y superior al 60% con el material funcionalizado, además se determinó que el mecanismo de muerte inducido por las AuNPs es mediante apoptosis. Lo que puede garantizar su eficiencia y funcionalidad como agente terapéutico.

Palabras clave: nanotecnología, síntesis verde, nanopartículas de oro, cisplatino, cáncer, apoptosis.

ABSTRACT

The increase in the incidence of diseases such as cancer has led nanotechnology to develop new techniques for treating this disease, generating therapeutic agents that are intended to be inexpensive, easy to obtain, and cytotoxic at the cellular level. One of the most studied materials with these functions and properties is gold nanoparticles (AuNPs) synthesized by ecological methods from plants. This research project focuses on the green synthesis of gold nanoparticles (AuNPs) from the aqueous extract of *Plectranthus hadiensis* (vaporub). The material obtained was characterized by UV-vis spectroscopy, SEM, XRD, FTIR. Also, the in vitro effect on the murine melanoma B16-F0 cell lines and human chronic myeloid leukemia K562 and its functionalization with the chemotherapeutic agent cisplatin was evaluated. Likewise, the death mechanism was assessed. Nanoparticles of uniform shape and size less than 30 nm were obtained, with a surface plasmon resonance at 540 nm. The planes obtained in XRD correspond to the characteristic FCC structure of gold and, using the Debye-Scherrer equation, a crystal size of 14.9 nm was obtained. The functional groups involved in the synthesis and stabilization of gold nanoparticles were identified through FT-IR analysis. The shift of the band corresponding to the -OH groups (3289 cm^{-1}) indicate the presence of phenols, which contribute to the stability of the AuNPs. Cytotoxicity results showed approximately 50% cell death in both cell lines with the simple material and over 60% with the functionalized material. Furthermore, it was determined that the death mechanism induced by the AuNPs is apoptosis, which could support their potential efficiency and functionality as a therapeutic agent.

Keywords: nanotechnology, green synthesis, gold nanoparticles, cisplatin, cancer, apoptosis.

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

1.1. Introducción

La nanomedicina y la nanotecnología se encargan del desarrollo de materiales a nanoescala que son empleados en la detección y tratamiento de diversas enfermedades. El alza en enfermedades neoplásicas como el cáncer ha permitido revolucionar esta área, demostrando superioridad en la utilización de estos agentes sobre los tratamientos convencionales [1].

El melanoma es una enfermedad por la que se forman células cancerosas en los melanocitos (células que dan color a la piel, que se encuentran en la parte profunda de la epidermis) y comienzan a crecer fuera de control. Para el 2023, las estimaciones de la American Cancer Society fueron de aproximadamente 97,610 nuevos casos de melanoma (alrededor de 57,120 en hombres y 39,490 en mujeres) y se estimó que morirán aproximadamente 7,990 personas (5,420 hombres y 2,570 mujeres). En comparación con otros tipos de cáncer, es más probable que invada y destruya tejidos cercanos, y que se disemine a otras partes del cuerpo [2–4].

La leucemia mieloide crónica (LMC) es otro tipo de cáncer, el cual si no se trata de manera adecuada en la etapa inicial (durante los primeros 5-7 años sin síntomas) puede progresar a una crisis blástica, donde más del 30% de las células de la sangre o la médula ósea son blastocitos. De acuerdo con los datos de la American Cancer Society en el 2023 se estimaron 8,930 nuevos casos de LMC (5,190 hombres y 3,740 mujeres) diagnosticados y alrededor de 1,310 muertes a causa de esta enfermedad (780 hombres y 530 mujeres). Es conocido que el 20% de los pacientes no alcanza la remisión tras los tratamientos de quimioterapia, y en caso de lograrlo, el 50% de estos mismos pacientes sufren reincidencia [5,6].

Uno de los materiales ampliamente utilizados en la nanomedicina por sus propiedades son las nanopartículas de oro (AuNPs). Las AuNPs tienen atractivas propiedades físicas, químicas y ópticas, además de tener interacciones controlables de moléculas orgánicas con grupos donantes de electrones, facilidad de síntesis, estabilidad química, son biocompatibles, no inmunogénicas y biodegradables [7]. Sumado a esto, la morfología y tamaño de las AuNPs pueden controlarse mediante parámetros físicos, lo que modifica sus propiedades [8]. Este material puede ser obtenido de manera eficiente por métodos sencillos, como la síntesis verde para AuNPs; que consiste en una reacción de reducción. Este tipo de síntesis tiene la ventaja de ser económica y respetuosa con el medio ambiente.

En esta investigación se resaltan las propiedades citotóxicas y la capacidad de funcionalizar a las AuNPs con fármacos. Para ello, se utilizó un extracto acuoso de la planta *Plectranthus hadiensis* (vaporub) como reductor y estabilizador de las nanopartículas de oro, además de ácido tetracloroáurico (HAuCl₄) como precursor. Se ajustaron los parámetros y condiciones de síntesis para efficientizar el proceso y obtener un tamaño óptimo de las nanopartículas, para posteriormente evaluar su citotoxicidad *in vitro* en la línea celular B16-F0 de melanoma de murino y K562 de leucemia mieloide crónica humana.

1.2. Justificación

El cáncer es un conjunto de enfermedades que se vincula con la multiplicación rápida de células anormales de algún órgano o sistema del cuerpo, que puede extenderse más allá de sus límites habituales y puede invadir otras partes del cuerpo en un proceso denominado metástasis. El aumento en la incidencia del cáncer ha llevado a disminuir estas cifras mediante nuevos agentes de terapia, como lo son las nanopartículas de oro, las cuales han demostrado su eficiencia en esta área de la medicina.

Este trabajo tiene el potencial de generar agentes terapéuticos económicos, fácilmente disponibles y no tóxicos, que en conjunto con otros tratamientos puede ayudar a mejorar las condiciones de terapia de los pacientes, generando un impacto científico en los avances y estudios de la nanomedicina. La utilización y estudio de estos materiales requiere métodos fáciles, escalables, seguros y rentables, por lo cual, en términos ecológicos, se ha propuesto una solución sencilla y eficiente para su síntesis a partir de extractos acuosos de plantas, como lo es *Plectranthus hadiensis*, mejor conocida como vaporub. La síntesis verde de AuNPs puede reducir el impacto medioambiental de la producción de nanomateriales que generan desechos tóxicos o no compatibles con diversos sistemas biológicos, ya que, al ser obtenidos a partir de plantas, se vuelven compuestos biodegradables.

En términos sociales, la investigación en nanotecnología y su aplicación en la lucha contra el cáncer tienen un impacto directo en la salud y el bienestar de las personas. La calidad de vida de los pacientes con cáncer podría mejorar considerablemente con el uso de nanopartículas de oro como agentes de tratamiento.

1.3. Objetivos

1.3.1. *Objetivo general*

Sintetizar nanopartículas de oro utilizando el extracto acuoso de *Plectranthus hadiensis*, funcionalizarlas con cisplatino y evaluar su actividad citotóxica en las líneas celulares B16-F0 y K562.

1.3.2. *Objetivos específicos*

- Sintetizar las AuNPs utilizando el extracto acuoso de *Plectranthus hadiensis* (vaporub).
- Estandarizar y eficientizar el proceso de síntesis de AuNPs mediante la variación de las concentraciones de la sal precursora y el extracto reductor.
- Caracterizar química y estructuralmente el material sintetizado mediante Uv-vis, DRX, FTIR, MEB.
- Funcionalizar las AuNPs con el agente quimioterapéutico cisplatino.
- Determinar la citotoxicidad de los materiales sintetizados en las líneas celulares B16-F0 y K562 mediante pruebas de viabilidad.

1.4. Hipótesis

Se ha demostrado la eficiencia de distintas plantas medicinales como reductores eficientes para la síntesis de nanopartículas de oro, además de su utilización como agentes citotóxicos en una amplia gama de líneas celulares de cáncer, es por esto que el extracto acuoso de *Plectranthus hadiensis* promueve la reacción de reducción de los iones de oro a partir de la sal precursora (HAuCl_4) para la formación de nanopartículas de oro; además, su funcionalización con el agente quimioterapéutico cisplatino mejora su uso como agentes citotóxicos en las líneas celulares B16-F0 y K562.

1.5. Metas científicas

- Obtener AuNPs de un tamaño uniforme entre 20-30 nm.
- Alcanzar un 50 % de muerte celular en las líneas K562 y B16-F0.
- Conseguir con las AuNPs funcionalizadas una tasa de citotoxicidad del 60%.

CAPÍTULO 2

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Revisión bibliográfica

2.1.1. Nanociencia y nanotecnología

La nanociencia se encarga del estudio de estructuras, materiales y moléculas que se encuentran en escalas nanométricas, entre un rango de 10 a 100 nm, mientras que la nanotecnología se refiere al diseño, desarrollo e implementación de la nanociencia, ambos son campos multidisciplinarios que abarcan la ingeniería, biología, química y física [9,10].

La nanotecnología es un área de rápido crecimiento que utiliza materiales a nanoescala para objetivos de diagnóstico y tratamiento. La terapia contra el cáncer es un área en la que los nanomateriales (NM) tienen una variedad de aplicaciones [11]. Por ejemplo, las AuNPs tienen un tiempo de permanencia en el torrente sanguíneo prolongado, permiten una fácil modificación de su superficie con ligandos, proteínas, medicamentos, entre otras y aumentan la absorción mediante endocitosis mediada por receptores [9,11]. El término nanomedicina ha sido acuñado para describir la aplicación de la nanociencia y la nanotecnología sobre la terapia, diagnóstico y prevención de enfermedades, para lo cual ya se ha demostrado la superioridad de esta especialidad sobre los tratamientos convencionales [1].

2.1.2. Nanomateriales

Por otro lado, un nanomaterial se denomina así si tiene al menos una dimensión en el rango de la nanoescala que comprende de 10 a 100 nm. Estos se pueden clasificar por dimensionalidad, morfología, estado y composición química. Según su dimensionalidad se pueden dividir en cuatro clases [12–14]:

- Dimensión 0 (0D): Todas sus dimensiones se encuentran a un tamaño inferior a 100 nm (nanopartículas y puntos cuánticos).
- Unidimensionales (1D): Una de sus dimensiones no se encuentra en la escala nanométrica, mientras que las otras dos sí lo están (nanovarillas, nanofibras, etc.).

- Bidimensionales (2D): Dos de sus dimensiones no se encuentran a nanoescala mientras que una sí (películas, recubrimientos, etc.).
- Tridimensionales (3D): Tienen sus dimensiones superiores a los 100 nm, formados por nanoestructuras 0D, 1D y 2D.

Por su morfología se puede basar en su planitud, esfericidad y relación de aspecto. De acuerdo con su estado podemos encontrarlos no homogéneos, en suspensión o aglomerados. Por su composición química pueden encontrarse como constituyentes simples, compuestos, orgánicos e inorgánicos. Dentro de esta última categoría se encuentran las nanopartículas metálicas, a partir de oro, plata, cobre, hierro, aluminio, zinc, entre otros. Estas se utilizan en una amplia gama de aplicaciones que incluyen productos farmacéuticos, cosméticos, agrícolas, dispositivos médicos, alimentos, ropa y debido a sus propiedades antimicrobianas en la purificación de agua, entre otros usos [14,15].

2.1.3. Nanopartículas de oro (AuNPs)

Las AuNPs se han convertido en un material prometedor por sus propiedades, diversidad de aplicaciones y síntesis rápida. Entre sus propiedades más importantes se encuentran: el control del tamaño y la forma de las AuNPs mediante la variación de la sal precursora, estos dos parámetros principales determinan funciones químicas y físicas del material. Las mejores dimensiones para la utilización en el transporte de medicamentos se encuentran en el rango de 10 a 100 nm, siendo el tamaño óptimo de alrededor de 20 nm, para garantizar la mayor permanencia en el torrente sanguíneo, la internalización en las células dañadas y mayor concentración [1,10]. Se han identificado varias características principales de las AuNPs esféricas, que incluyen capacidades optoelectrónicas relacionadas con el tamaño y la forma, una alta relación superficie-volumen, gran biocompatibilidad y toxicidad mínima. Las AuNPs exhiben varias características físicas, incluida la resonancia del plasmón superficial (SPR) y la capacidad de atenuar la fluorescencia. En solución acuosa, las AuNPs esféricas muestran un espectro de colores (por ejemplo, marrón, naranja, rojo y púrpura) a medida que el tamaño del núcleo crece de 1 a 100 nm y exhiben una absorción máxima relativa al tamaño

entre 500 y 550 nm [16]. Entre sus propiedades químicas se encuentran su alta biocompatibilidad para su aplicación en sistemas *in vivo*, direccionamiento y transporte de fármacos, catálisis, entre otras [17].

2.1.4. Métodos de síntesis

La síntesis de los nanomateriales se puede dar por tres rutas: física, química y biológica. Dentro de la síntesis por métodos físicos se encuentra la evaporación por láser, termólisis, pirólisis, entre otras. En las rutas de síntesis química se encuentran métodos como sonoquímica, hidrotermal, sol-gel, co-precipitación, etc. Por otro lado, dentro de la ruta biológica se pueden sintetizar por medio de microorganismos como algas, bacterias, hongos y levaduras; así como, por medio de materia vegetal [16]. Actualmente, esta es la técnica más utilizada por su eficiencia y su naturaleza respetuosa con el medio ambiente al ser un proceso ecológico, biocompatible y económico, que también es conocida como síntesis verde [13,18]. La nanotecnología trata de identificar formas más respetuosas con el medio ambiente para la síntesis de nuevos materiales. Las nanopartículas se sintetizan utilizando dos enfoques: de arriba hacia abajo (top-down) y de abajo hacia arriba (bottom-up) [10].

2.1.5. Síntesis verde

Convencionalmente, las AuNPs se sintetizan a partir de la reducción química del cloruro de oro con borohidruro de sodio o citrato de sodio. Sin embargo, estos métodos también generan desechos que son bastantes dañinos y costosos [19]. Por lo tanto, la síntesis verde de AuNPs se ha desarrollado y fomentado para reemplazar los métodos tradicionales para mayor eficiencia, respeto al medio ambiente y bajos costos [17]. La metodología de síntesis verde basada en plantas es una de las mejores opciones para la generación a gran escala de AuNPs con un tamaño y una morfología bien definidos. Las plantas son candidatas preferidas para la síntesis, sobre microorganismos, como hongos y bacterias, ya que las plantas no requieren el complejo proceso de mantener cultivos microbianos [10]. Para la síntesis verde de AuNPs

a partir de una planta se obtiene el extracto acuoso de esta y posteriormente se mezcla con una solución de la sal metálica HAuCl_4 (ácido tetracloroáurico). Después de eso, la solución resultante se centrifuga, lo que da como resultado la biorreducción de iones metálicos (Au^{+3}) a AuNPs. Los fitoquímicos actúan como agentes reductores, así como también estabilizadores en este proceso [10] (Figura 2.1).

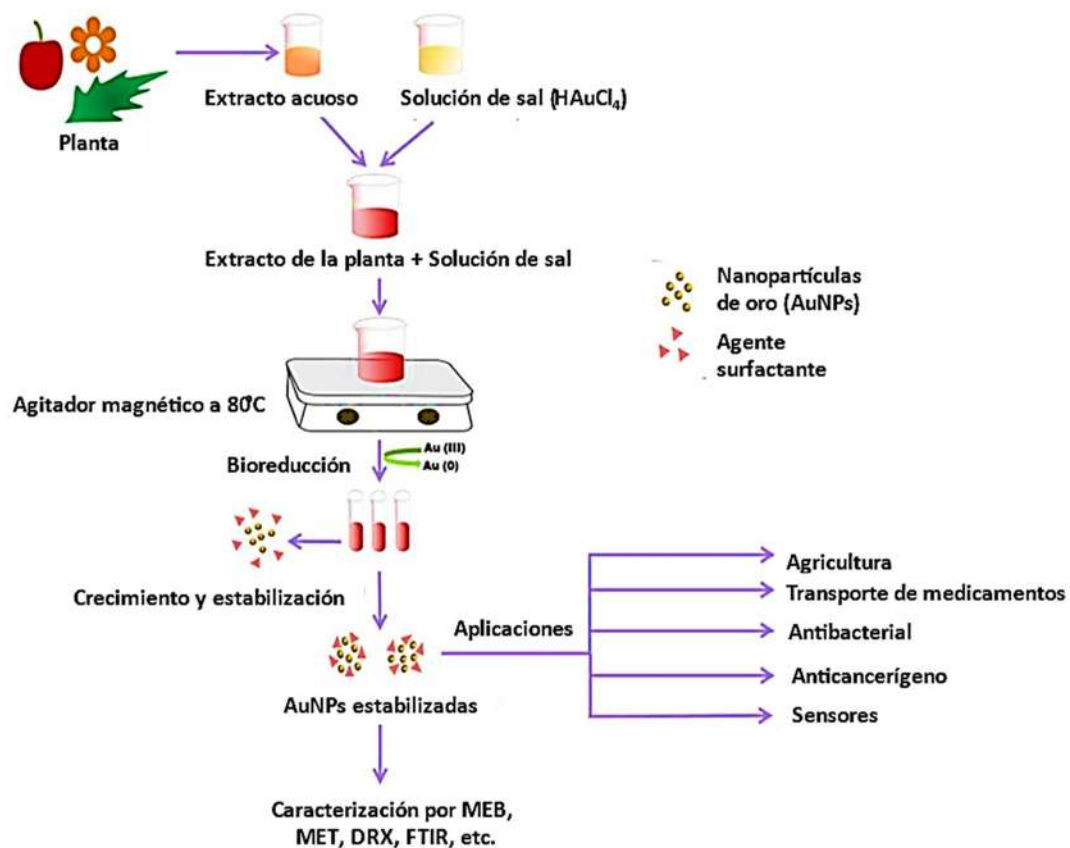


Figura 2.1 Síntesis verde de nanopartículas de oro a partir de extractos acuosos de plantas [10].

2.1.6. Caracterización de nanomateriales

Posterior a la síntesis del material de interés es necesario analizar las propiedades del material obtenido para garantizar su obtención exitosa, para esto, se analiza su morfología, estructura, características de unión y propiedades electromagnéticas. Se utilizan técnicas como: espectrofotometría UV-vis en un rango de 200-800 nm para demostrar la presencia del material; microscopía electrónica de transmisión (MET) y microscopía electrónica de barrido (MEB) para analizar la estructura y morfología; difracción de rayos-X (DRX) para el análisis de las propiedades estructurales y tamaño, microscopía de fuerza atómica (MFA), espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR) para la detección de grupos funcionales, espectroscopía de fotoelectrones por rayos-X (XPS), espectroscopía de absorción de rayos-X (XAS) para la determinación de las características estructurales y de unión de los materiales [12,13].

2.1.7. Propiedades

2.1.7.1. Agentes terapéuticos

Las AuNPs se han diseñado para la detección de tumores, administración de fármacos, mejoras en la inmunoterapia convencional, biosensores, aumento en el rendimiento de imágenes *in vivo*, reparación de tejidos, aunque también pueden actuar de manera simultánea como herramientas terapéuticas y de diagnóstico, denominados agentes teragnósticos [1].

2.1.7.2. Biocompatibilidad

Se basa en la interacción adecuada entre el material y su entorno biológico; es decir, la ausencia de respuesta tóxica o inmunitaria del biomaterial tratado (célula, tejido u organismo). Los nanomateriales utilizados para trasplantes, transporte de medicamentos y

otras interacciones con el cuerpo humano deben tener propiedades de biocompatibilidad. La toxicidad de los metales en el cuerpo se debe principalmente a su capacidad para formar cationes metálicos que dañan la membrana celular. Sin embargo, el oro es estable en el cuerpo debido a su alto potencial de reducción y es poco probable que se ionice en comparación a otros metales, es seguro tanto *in vitro* como *in vivo* [7,20].

2.1.7.3. Biocompatibilidad y citotoxicidad

Las AuNPs se han convertido en herramientas importantes dentro de nuevas aplicaciones biomédicas, pero su uso depende de la evaluación de su bioseguridad en el cuerpo humano, generando una creciente necesidad en evaluar el impacto en la salud de estos materiales; ampliando el conocimiento de su toxicidad y biocompatibilidad [17]. Por ejemplo, si se comparan AuNPs de 100 nm, aquellas de 15 nm pueden circular *in vivo* por más tiempo, algunas más pequeñas, de hasta 6 nm pueden ser rápidamente excretadas por los riñones, mientras que de un tamaño más grande (200 nm) son eliminadas por el hígado [1].

Cuando surge un nuevo nanomaterial, su efecto citotóxico (posibilidad de alterar las funciones celulares básicas), debe evaluarse en primer lugar. Sin embargo, la falta de citotoxicidad no confiere a estos materiales una biocompatibilidad implícita. Esto debe evaluarse como un criterio separado. El concepto de biocompatibilidad se basa en la adecuada interacción entre el material y su entorno biológico (ausencia de respuesta tóxica o inmunitaria del biomaterial tratado). Con mucha frecuencia, la biocompatibilidad se ha descrito como la propiedad de un material específico de ser compatible con un tejido u organismo vivo [21]. En general, se obtiene biocompatibilidad cuando la interacción entre el nanomaterial y el hospedero no induce resultados adversos como estrés oxidante, daño en el ADN, mutagénesis o apoptosis. La citotoxicidad está relacionada con el impacto negativo en una línea celular específica. Por lo tanto, la citotoxicidad generalmente se evalúa primero mediante ensayos específicos realizados *in vitro* antes de las pruebas *in vivo*. La citotoxicidad y la biocompatibilidad se rigen por varios factores, que incluyen las propiedades fisicoquímicas de las AuNPs y cómo se administran en el cuerpo. Se ha encontrado una mayor toxicidad de las AuNPs cuando se realizó la administración oral e intraperitoneal en

comparación con una inyección intravenosa. La citotoxicidad de las nanopartículas también está fuertemente relacionada con características fisicoquímicas como el tamaño, la forma, la carga superficial y el estado de agregación. En conjunto, todos estos atributos resaltan que la biocompatibilidad de las nanopartículas depende estrechamente de varios factores, que van desde las propiedades intrínsecas de las partículas, la formulación, el objetivo biológico, la dosis e incluso la metodología empleada para evaluar su toxicidad [20].

2.1.7.4. Funcionalización de las AuNPs

La funcionalización se refiere a las modificaciones que se realizan intencionalmente a la superficie de las nanopartículas para conferirle alguna propiedad deseada. Este proceso se logra mediante adsorción física, uniones covalentes o interacciones electrostáticas [22]. Las AuNPs se pueden combinar con diferentes moléculas, tales como fármacos quimioterapéuticos, proteínas, anticuerpos, entre otros, esta propiedad sumada con su biocompatibilidad ha convertido este material en un tratamiento prometedor para terapias anticancerosas [17]. Por ejemplo, su funcionalización con fármacos permite una administración controlada de estos, lo que disminuye dosis y por ende los efectos secundarios [11].

2.1.8. ¿Qué es el cáncer?

El cáncer es un conjunto de enfermedades en la que su principal característica es que células anormales comienzan a dividirse sin control y se diseminan a otras partes del cuerpo. Estas células pueden llegar a formar tumores (neoplasia), los cuales en su mayoría invaden otras partes del cuerpo, en un proceso llamado metástasis [23].

En el 2022, Hanahan definió las características del cáncer (Figura 2.2), las cuales se proponen como un conjunto de capacidades funcionales adquiridas por las células humanas, a medida

que pasan de la normalidad a estados de crecimiento neoplásico. A continuación, se mencionan brevemente [24]:



Figura 2.2 Características del cáncer [24]

1. Evasión de supresores de crecimiento: Las células cancerosas pueden producir sus propias señales de crecimiento, lo que les permite crecer independientemente de las señales del entorno.
2. Reprogramación epigenética no mutacional: Los cambios en la expresión génica sin mutaciones en el ADN pueden conducir al cáncer.
3. Evitar la destrucción del sistema inmunológico: Las células del cáncer evitan su detección y destrucción por el sistema inmunológico.
4. Habilitar replicación inmortal: Superar la limitación de replicación celular.
5. Inflamación sostenida: Inflamación crónica y sostenida en el microambiente tumoral.
6. Cambios en el microbioma: Las células cancerosas pueden modificar su entorno para promover su supervivencia y crecimiento.
7. Invasión y metástasis: Las células cancerosas pueden invadir los tejidos circundantes y viajar a otras partes del cuerpo, donde pueden formar nuevos tumores.

8. Inducción de angiogénesis: Se estimula la formación de nuevos vasos sanguíneos.
9. Células senescentes: Son células que han dejado de dividirse, pero que aún pueden secretar factores que afectan a las células circundantes.
10. Inestabilidad genética y mutación: Presencia de mutaciones y variabilidad genética dentro de las células cancerosas.
11. Evitar la muerte celular programada: Evitar la activación de vías de muerte celular programada (apoptosis).
12. Desregulación del metabolismo celular: Se altera el metabolismo celular para satisfacer las demandas energéticas.
13. Plasticidad fenotípica: Las células cancerosas pueden cambiar su forma, función y comportamiento en respuesta a su entorno.
14. Sostener una señal de crecimiento proliferativa: Las células cancerosas pueden producir sus propias señales de crecimiento, lo que les permite crecer independientemente de las señales del entorno.

2.1.8.1. Melanoma

El cáncer de piel es un tipo de cáncer muy común y comienzan en la capa superior de la piel (Figura 2.3), la cual se clasifica en: carcinoma de células escamosas, carcinoma de células basales y melanoma [25].

- a) Células escamosas: células planas localizadas en la parte más externa de la epidermis, que se desprenden constantemente a medida que las nuevas células se forman en las capas más profundas.
- b) Células basales: estas células están en la parte inferior de la epidermis. Estas se dividen constantemente para reemplazar las células escamosas que se descaman de la superficie de la piel.
- c) Melanocitos: estas son las células que producen el pigmento marrón llamado melanina, lo que hace que la piel tenga su color. La melanina protege las capas más profundas de la piel contra los efectos nocivos del sol [25,26].

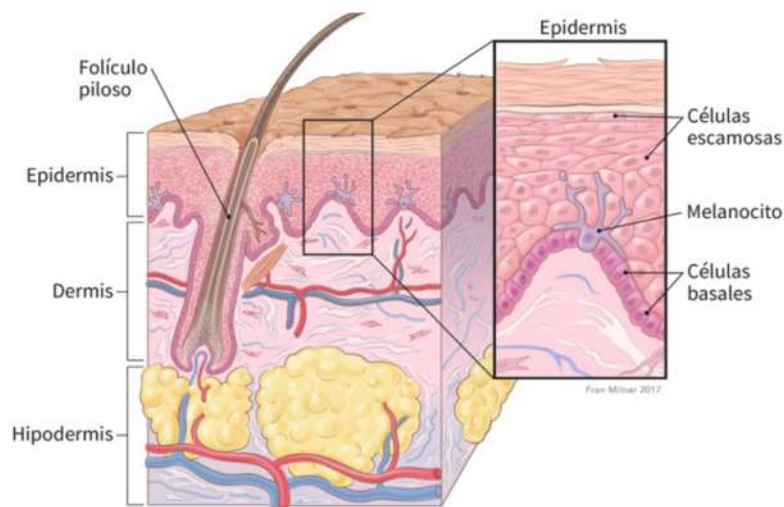


Figura 2.3 Distribución de las células de la piel en la epidermis [25]

Los dos primeros tipos rara vez provocan la muerte. Siendo el melanoma una enfermedad en la que los melanocitos comienzan a crecer fuera de control. En comparación con otros tipos de cáncer, este es más probable que invada y destruya tejidos cercanos, y que se disemine a otras partes del cuerpo. El desarrollo del melanoma (Figura 2.4) inicia con la aparición de un nevo, posteriormente ocurre hiperplasia y displasia. A continuación, se desarrolla una fase de crecimiento radial, seguido de un crecimiento vertical. Y como última etapa, las células del tumor primario llegan a la sangre e invaden tejidos de otras partes del cuerpo (metástasis) [26,27].

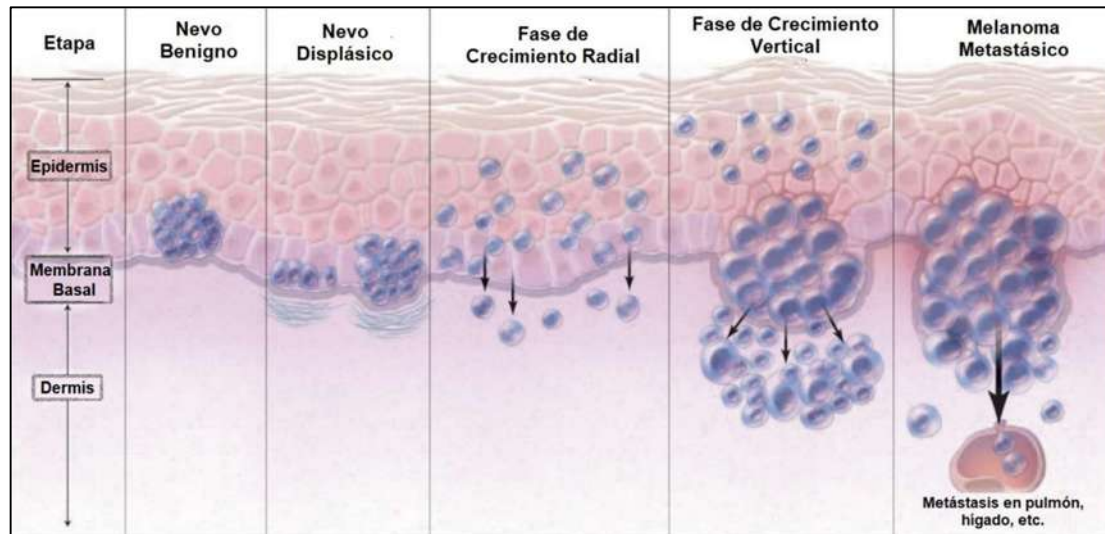


Figura 2.4 Eventos biológicos en la progresión del melanoma [26].

2.1.8.2. Leucemia mieloide crónica

La leucemia es un tipo de cáncer que se origina en las células productoras de sangre en la médula ósea, en específico, la leucemia mieloide crónica se define como una enfermedad por la que la médula ósea produce demasiados glóbulos blancos llamados granulocitos, los cuales son anormales y no se convierten en glóbulos blancos sanos, por ende, afecta glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas [29,30] (Figura 2.5). Cuando estas células cambian y se convierte en células de leucemia ya no maduran de manera correctamente y comienzan a multiplicarse de manera anormal, lo que provoca que comiencen a acumularse en la médula ósea [6].

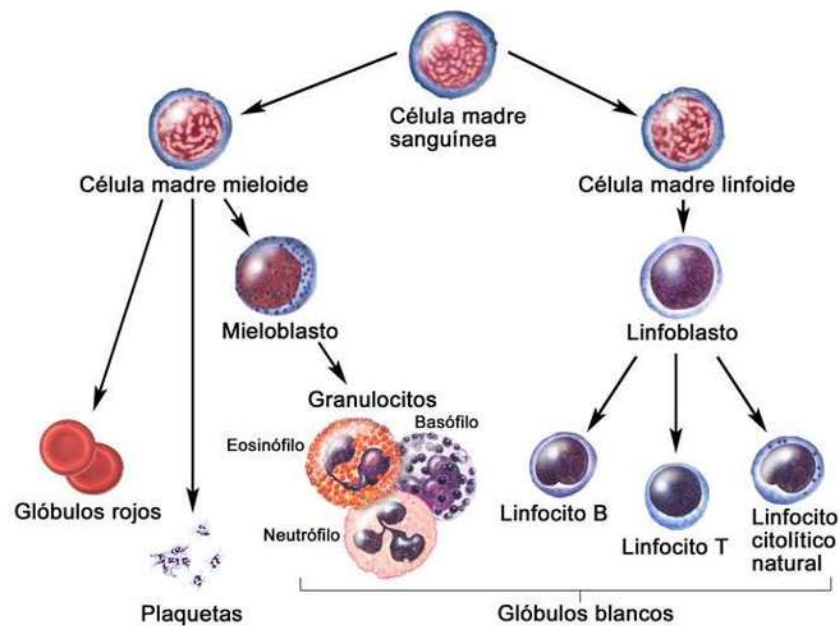


Figura 2.5 Maduración de una célula madre sanguínea [6].

Cuando hay una acumulación excesiva de granulocitos en la médula ósea, estas pueden escaparse al torrente sanguíneo lo que provoca un aumento de glóbulos blancos y puede propagarse a otros órganos afectando su funcionamiento.

2.1.9. Líneas celulares

La línea celular B16-F0 se estableció en 1987. Estas células se derivaron de ratones C57BL/6 que desarrollaron un tumor en la piel. Son células epiteliales productoras de melanina que tienen la capacidad de metastatizar diversos órganos [28,29].

Las características principales de esta línea celular son [28]:

- Células adherentes, que crecen en monocapas.
- Tienen una morfología epitelial.
- El tiempo de duplicación es de 24 h.

- El medio de cultivo adecuado para estas células es medio Dulbecco's modified Eagle's Medium/ nutrient F-12 Ham, el cual debe ser suplementado con 10% de suero fetal bovino, 1% penicilina/estreptomicina, 1 µg/mL anfotericina B y 10% suero de ternera, pH 7.4.
- Las células deben mantenerse con 5% de CO₂ a 37 °C.

La línea celular K562 fue establecida en 1970 y es derivada de la médula ósea de una mujer de 53 años con leucemia mieloide crónica en crisis blástica terminal [30].

Las características que presentan estas células son [30,31]:

- Células de morfología linfoblástica, no adherentes (en suspensión).
- El tiempo de duplicación es de 18 h.
- El medio de cultivo adecuado para estas células es medio RPMI, el cual debe ser suplementado con 12 % de suero fetal bovino, 1% penicilina/estreptomicina, 0.1 % Anfotericina B, 1 % glutamina y 0.5 % de piruvato, pH de 7.4.
- Las células deben mantenerse con 5% de CO₂ a 37°C.

2.1.10. Mecanismos de acción de las AuNPs

La citotoxicidad de las NPs metálicas depende principalmente del tamaño de las partículas, la reactividad de la superficie, área superficial, tipo celular, distribución y absorción en los tejidos, sumado a las características de los extractos de plantas que tienen un papel clave en la internalización de AuNPs junto con efectos citotóxicos sinérgicos [10,32].

Se han presentado algunos mecanismos responsables de la actividad anticancerosa de las AuNPs (Figura 2.6) como: (a) alteración en la permeabilidad celular que conduce a la disfunción mitocondrial, (b) la generación de especies reactivas de oxígeno que causan estrés oxidante y fragmentación del ADN, activando finalmente vías apoptóticas que pueden ser dependientes o independientes de caspasa, (c) alteración en la estructura química de las proteínas/ADN, y (d) la detención del ciclo celular [10,11].

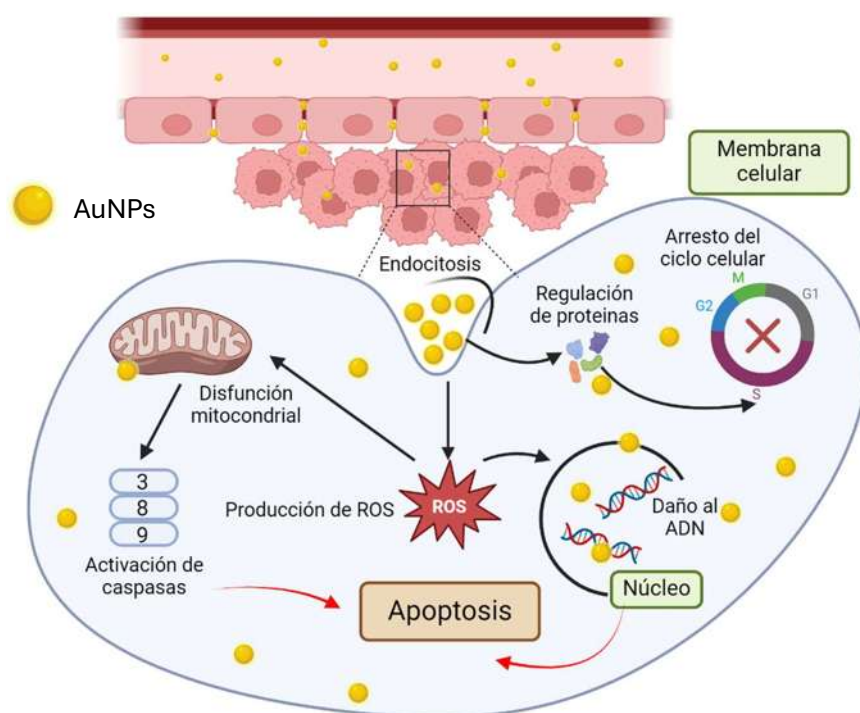


Figura 2.6 Mecanismos sugeridos sobre la actividad anticancerosa de la AuNPs [11].

2.1.11. Características de *Plectranthus hadiensis* (vaporub)

Las plantas medicinales son un grupo de plantas económicamente importantes al proporcionar productos autóctonos para la mejora, alivio y tratamiento de diversas enfermedades e infecciones. Sus propiedades curativas se deben en su mayoría a la presencia de metabolitos secundarios, los más importantes son los alcaloides, taninos, flavonoides y compuestos fenólicos [19]. El género *Plectranthus* pertenece a la familia *Lamiaceae* y se sabe que es rico en diterpenos de tipo abietano, que poseen actividad antitumoral. Específicamente, *P. hadiensis* (Forssk.) Schweinf. ex Sprenger ha sido documentado para el uso contra tumores cerebrales mediante la obtención del diterpeno 7α -acetoxi- 6β -hidroxiroileanona (Roy) (Figura 2.7). Se han resaltado los diversos usos medicinales que se han identificado para esta planta, contra dolor de garganta, tos, diarrea, vómito, náuseas, así como propiedades expectorantes y antisépticas. Es una planta de fácil cultivo, pese a eso,

debe pertenecer a un clima templado y fresco [33,34], la parte más utilizada en la herbolaria es la vegetativa, ya que su floración no es muy común y solo ocurre durante el verano [34].

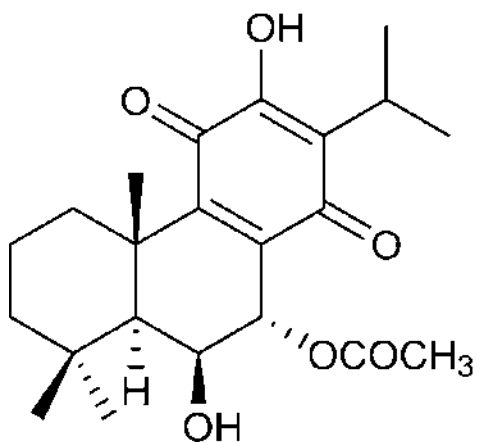


Figura 2.7 Diterpeno 7 α -acetoxi-6 β -hidroxiroileanona (Roy) [35].

2.2. Estado del arte

Zhu y col. [36] sintetizaron nanopartículas de oro a partir del extracto de *Pseudobulbus Cremastrae seu Pleiones* (PCSP) utilizando un procedimiento eficiente y ecológico. Las AuNPs sintetizadas que contenían PCSP (PCSP-AuNPs) se caracterizaron mediante espectroscopía UV-vis, MET, MFA, DLS, FT-IR. Una vez estabilizadas, se realizaron estudios para evaluar la regulación inmune de las PCSP-AuNPs usando un modelo de ratón con tumor H22. A través de espectroscopía UV-vis confirmaron la síntesis exitosa de PCSP-AuNPs. La banda característica de resonancia del plasmón superficial (SPR) fue alrededor de 540 nm, lo que indica la formación de AuNPs. Se observa (Figura 2.8a), la formación de dos bandas de absorción, una existente a ~540 nm para AuNPs y otra ubicada a ~260 nm, indicativa de la presencia del extracto PCSP, esto confirma la síntesis verde exitosa de AuNPs solo a partir de PCSP y sal de oro. La altura máxima de las bandas fue constante desde el día 1 hasta el día 28, y no se presentó diferencia aparente con el aumento del tiempo (Figura 2.8b).

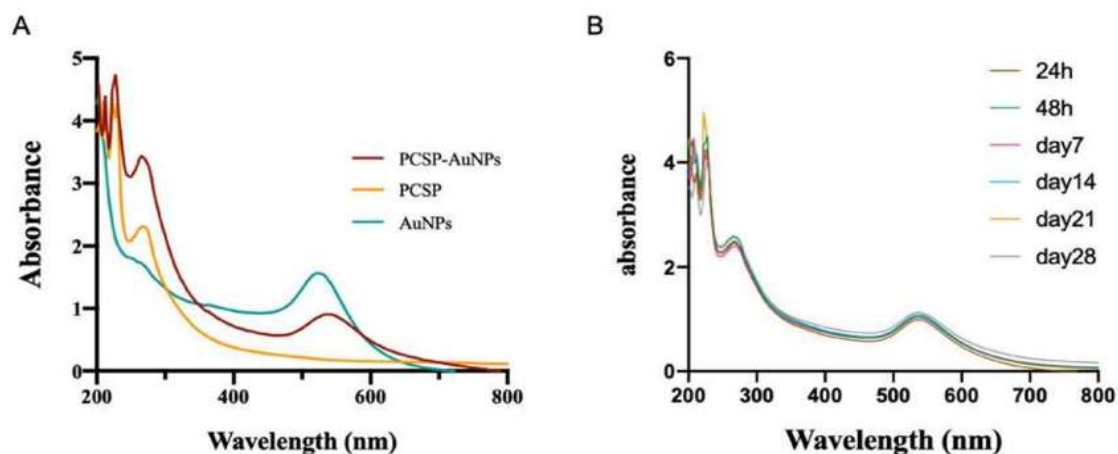


Figura 2.8 Espectros de absorción UV-vis de PCSP, PCSP-AuNPs y AuNPs (200-800 nm). (A) Espectros UV-vis para PCSP, PCSP-AuNPs y AuNPs. (B) Espectros UV-vis de PCSP-AuNPs en diferentes períodos de tiempo [36].

La actividad antitumoral de PCSP y PCSP-AuNPs se determinó utilizando ratones portadores de tumores H22. Se midieron los cambios del peso corporal en los ratones para evaluar su

estado de salud. La Figura 2.9a muestra que los pesos corporales de los ratones tratados con PCSP y PCSP-AuNPs no se vieron afectados e incluso aumentaron ligeramente en comparación con el grupo NS (solución salina), lo que implica que no hubo daños notables causados por PCSP y PCSP-AuNPs.

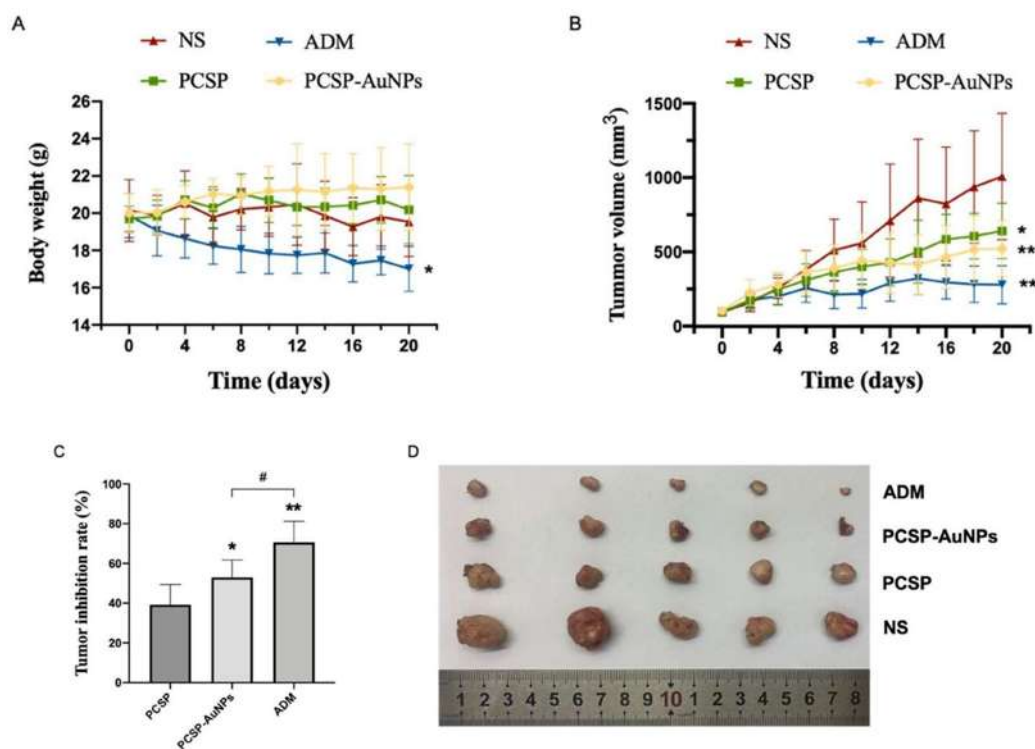


Figura 2.9 Efectos antitumorales de PCSP y PCSP-AuNPs en ratones portadores de tumores H22. (A) Pesos corporales de los ratones en función del tiempo. (B) Volumen tumoral de ratones durante los 20 días. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, en comparación con el grupo control; * $p < 0,05$, en comparación con el grupo PCSP. (C) Tasa de inhibición tumoral en diferentes tratamientos. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ en comparación con el grupo PCSP; * $p < 0,05$, en comparación con el grupo PCSP-AuNPs. (D) Fotografía de tumores de diferentes grupos [36].

La Figura 2.9b retrató la tendencia de cambio en el tamaño del tumor, comparable con la Figura 2.9d. El crecimiento del tumor en el grupo PCSP-AuNPs se suprimió notablemente y el peso del tumor también se redujo significativamente, debido a la capacidad de focalización de las nanopartículas de oro, lo que mejora la disponibilidad de las PCSP-AuNPs.

Gao y col. [37] determinaron las condiciones de síntesis de AuNPs obtenidas a partir del extracto acuoso de cascara de cítricos (CPE), mediante ultrasonido. Las AuNPs sintetizadas en condiciones con ultrasonido (AuNPs-U) o sin ultrasonido (AuNPs-NU) se caracterizaron mediante UV-Vis, DLS, MEB, MET, EDS, DRX y FT-IR. La Figura 2.10 muestra los espectros UV-Vis de CPE, AuNPs-U y AuNPs-NU. Se identificaron dos picos de absorción UV, alrededor de 280 y 330 nm en CPE, atribuidos a los picos de absorción característicos de los ácidos fenólicos y los flavonoides. En ambos sistemas de reacción, se encontró un pico de absorbancia característico de AuNPs a 551 nm (AuNPs-U) y 561 nm (AuNPs-NU), respectivamente. AuNPs-U tiene un ancho de pico más estrecho y una altura de pico superior en comparación con AuNPs-NU, lo que indica que el tratamiento con ultrasonido redujo el tamaño de partícula y aumentó el rendimiento de síntesis.

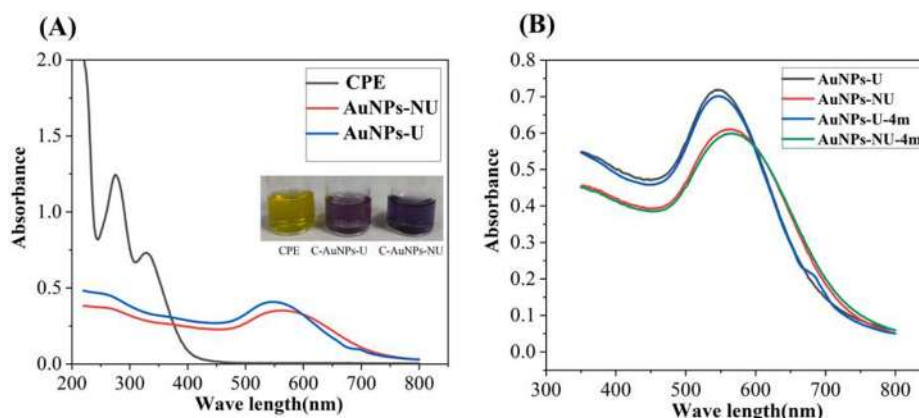


Figura 2.10 Caracterización de AuNPs sintetizadas por CPE. (A) Espectroscopía de absorción UV-Vis de CPE, AuNPs-U y AuNPs-NU, (B) espectroscopía de absorción UV-Vis de AuNPs después del almacenamiento durante cuatro meses [37].

Después de un almacenamiento de 4 meses a 4 °C, ambas AuNps presentan espectros UV-Vis similares a los de las partículas recién sintetizadas, con una ligera disminución en la longitud de onda de máxima absorción (Figura 2.10b), lo que sugiere que las AuNPs preparadas en ambos sistemas se mantuvieron estables.

Pitchai y col. [38] informaron sobre la síntesis de AuNPs utilizando un extracto de algas de *Caulerpa racemosa* en un método biogénico simple, rápido y respetuoso con el medio

ambiente. La formación de nanopartículas se demostró mediante espectroscopía UV-vis, MEB, MET de alta resolución, DRX y FTIR. Se utilizaron análisis MEB y MET de alta resolución para investigar el tamaño y la forma de las AuNPs (Figura 2.11). En su mayoría tenían forma cúbica y esférica, con algunos patrones irregulares. Además, la imagen de MET reveló que las nanopartículas de oro sintetizadas tenían un diámetro de 18.94 a 45.54 nm, con un tamaño de partícula promedio de alrededor de 35 nm.

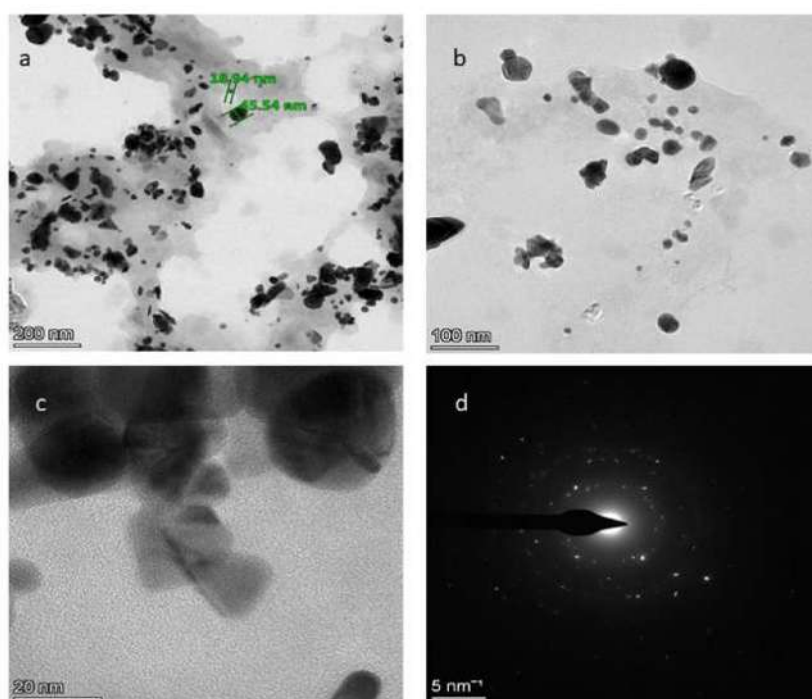


Figura 2.11 Imágenes de microscopía electrónica de transmisión de alta resolución de nanopartículas de oro: (a) escala de 200 nm, (b) escala de 100 nm, (c) escala de 20 nm y (d) patrón de difracción de área seleccionada [38].

Zhao y col. [39] sintetizaron nanopartículas de oro (DO-AuNPs) a partir del extracto acuoso de *Dendrobium officinale* (DO). Las propiedades fisicoquímicas de las DO-AuNPs se analizaron mediante MET, DLS, FTIR y MFA. La Figura 2.12a muestra las imágenes de MET de las DO-AuNPs, las cuales no presentan un tamaño uniforme, pero con una forma esférica definida; el tamaño promedio de las DO-AuNPs se midió en aproximadamente 30 nm, siendo más grandes en comparación con las nanopartículas de Au solas. El análisis de

dispersión de luz dinámica (DLS) de las DO-AuNPs confirmó que el tamaño era de 32.95 nm de diámetro, más grande que las nanopartículas de Au solas, Figura 2.12 b. Los resultados del análisis DLS corresponden con los de MET que indican que las DO-AuNPs tiene tamaños desiguales.

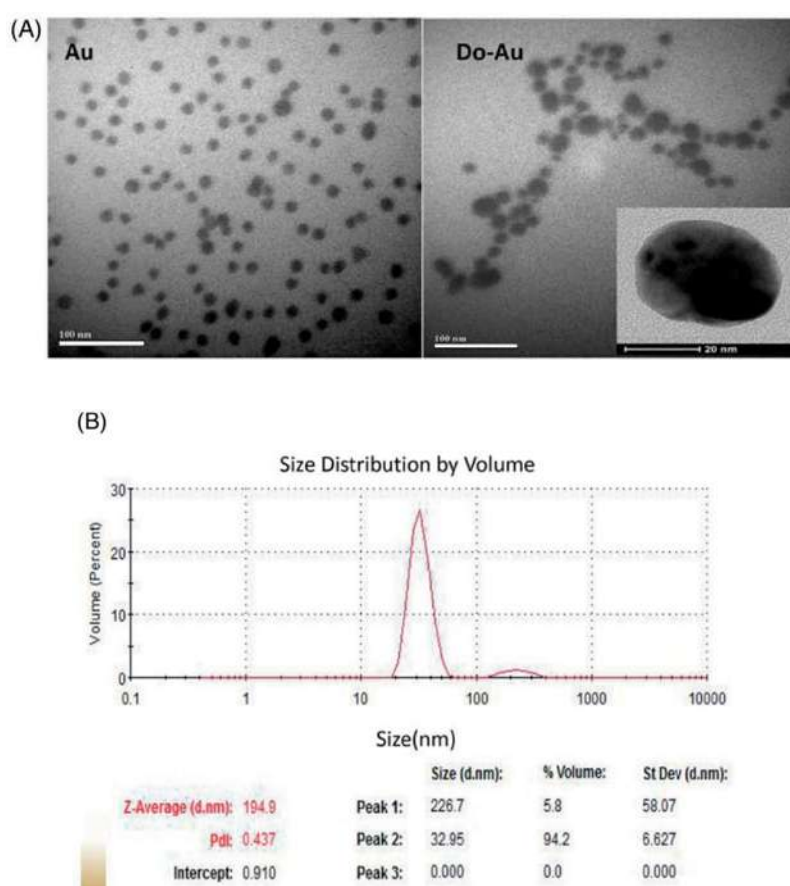


Figura 2.12 Tamaño de partícula de Do-AuNPs (A) fotografía de microscopía electrónica de transmisión de alta resolución (TEM)[39].

La distribución de tamaño no uniforme de las DO-AuNPs está en correlación con el hecho de que las partículas del extracto tienen una composición variable. En otras palabras, las AuNPs se recubrieron con diferentes partículas del extracto acuoso, formando partículas de tamaño desigual. A través del análisis DLS se obtuvo el volumen promedio de la mayoría de las partículas DO-AuNPs que se distribuyó alrededor de 32,95 nm.

Kiran y col. [40] utilizaron extracto de hojas de *Moringa oliefera* (MO) como biorreductor para sintetizar AuNPs. Se utilizaron técnicas analíticas que comprenden la espectroscopía UV-vis para confirmar las AuNPs en la solución y la naturaleza cristalina de las nanopartículas se confirmó mediante DRX. Se realizaron microscopía electrónica de transmisión de alta resolución (HR-MET) y MEB para identificar el tamaño y la morfología. Las imágenes HR-MET de MO-AuNPs mostraron que las partículas se encuentran en el rango nanométrico y son uniformes (Figura 2.13).

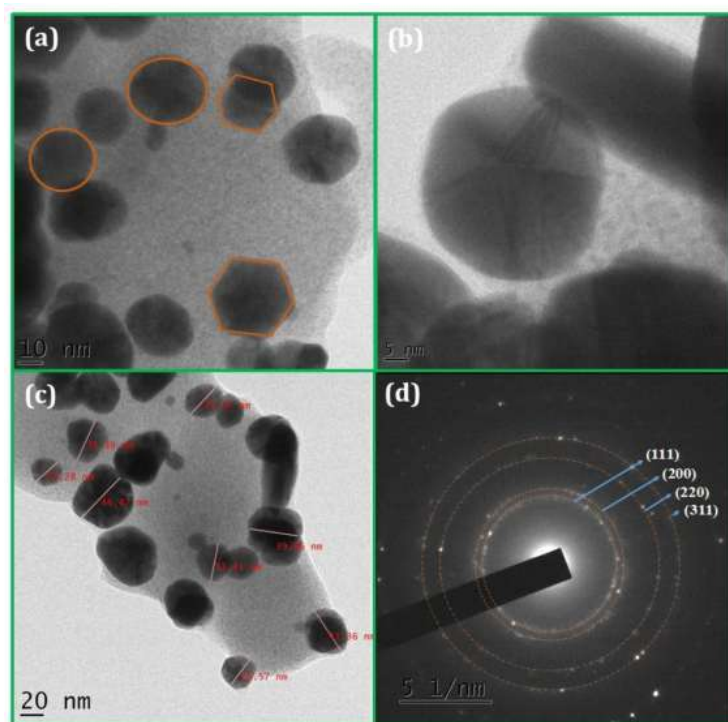


Figura 2.13 Imágenes HR-TEM de MO-AuNPs [40].

Los MO-AuNPs tienen forma esférica, ovalada y algunas partículas parecen hexagonales con un diámetro de 35 a 51 nm. Las imágenes representativas de MET-SAED, (Figura. 2.13d), se atribuyen a los planos (111), (200), (220) y (311); cúbico centrado en las caras compatible con información de DRX de MO-AuNPs.

Fouda y col.[41] sintetizaron AuNPs con un enfoque ecológico a través de la reducción del ácido tetracloroáurico (HAuCl_4) bajo el aprovechamiento de los metabolitos presentes en el extracto acuoso del rizoma de *Zingiber officinale*. Se utilizó espectroscopía UV-Vis, FT-IR,

DRX, MET, DLS para caracterizar las AuNPs. Mediante MET se obtuvo la forma, el tamaño y la agregación de AuNPs obtenidas de *Z. officinale*. Los metabolitos activos del extracto acuoso tienen el potencial de formar nanopartículas esféricas, con tamaño nanométrico dispersos en el rango de 5 a 53 nm (tamaño promedio: 15.11 ± 8.5 nm, Figura 2.14 a y b). La diferencia en el tamaño promedio de las partículas podría atribuirse a los metabolitos que variaron entre la planta como agentes reductores, protectores y estabilizadores. Las actividades biológicas de los nanomateriales sintetizados dependen de varios factores, como el tamaño, la agregación, la forma, el área y carga superficial.

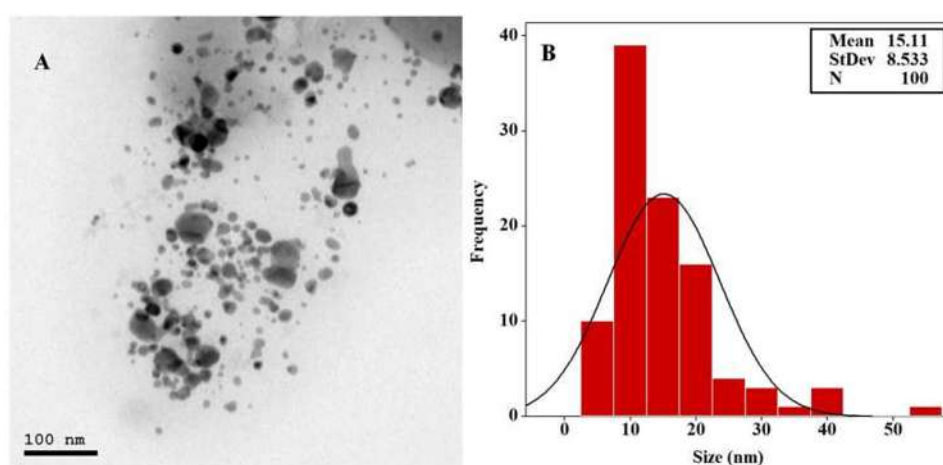


Figura 2.14 Microscopía electrónica de transmisión de AuNPs sintetizadas con un extracto acuoso de rizoma de *Z. officinale*. (A) Imagen MET (NPs esféricas y bien dispersas); (B): distribución de tamaños (determinación basada en análisis de imágenes de MET) [41].

La actividad de los nanomateriales suele depender del tamaño; (a) las partículas más pequeñas son más activas que las grandes, y (b) un área de superficie grande es más favorable para la reactividad biológica y química.

Pechyen y col. [42] presentaron el estudio de la síntesis de AuNPs utilizando desechos de cáscara de fruta de *Ananas comosus* (piña) y *Passiflora edulis* (maracuyá). Estas cáscaras de frutas contienen fitoquímicos que incluyen proteínas, minerales, lípidos, vitaminas, compuestos fenólicos, flavonoides y carotenoides, que actúan como reductores y estabilizadores de nanopartículas. Las AuNPs obtenidas utilizando extractos de cáscara de

piña (Pi-AuNPs) y maracuyá (Pa-AuNPs) fueron caracterizadas por UV-vis, imágenes de MET y patrones de DRX. Se aplicaron ensayos de viabilidad celular en las líneas Vero y MCF-7. Las imágenes de MET representativas de las AuNPs sintetizadas se observan en la Figura 2.15 a y b, junto con las distribuciones de tamaño de partículas.

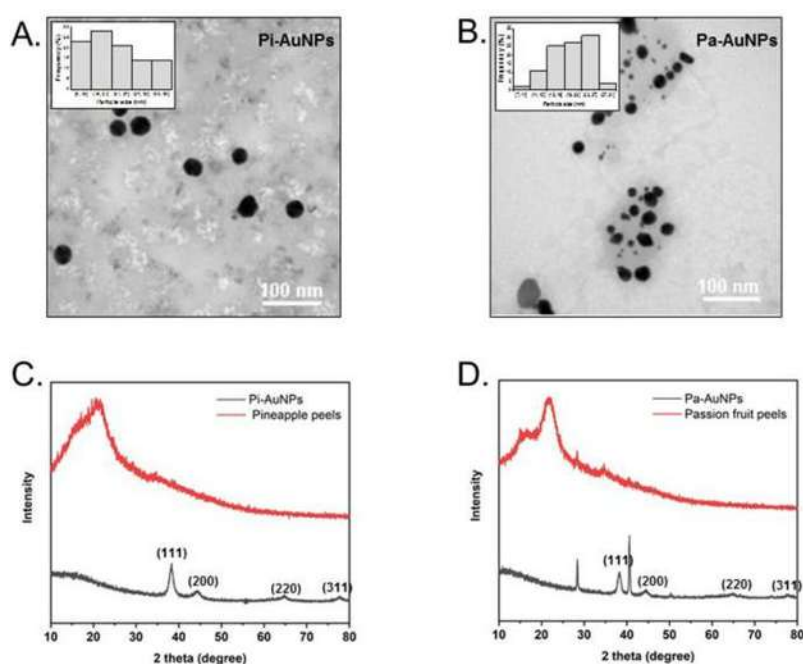


Figura 2.15 Imágenes MET de (A) Pi-AuNP y (B) Pa-AuNP. Las distribuciones de tamaño para los AuNPs biosintetizados se muestran en los recuadros. Los patrones de DRX de (C) Pi-AuNP y (D) Pa-AuNP en comparación con los de los extractos de cáscara de fruta correspondientes [42].

A partir de las imágenes, los tamaños promedio de Pi-AuNPs y Pa-AuNPs fueron 20.71 ± 7.44 nm y 18.68 ± 5.55 nm, respectivamente. Se realizaron estudios de DRX para evaluar la naturaleza cristalográfica de las nanopartículas sintetizadas a partir de los extractos de cáscara de fruta.

Como se muestra en la Figura 2.15 c y d, los picos de difracción característicos son evidentes en 38.12° , 44.34° , 64.28° y 77.63° tanto en Pi-AuNPs como en Pa-AuNPs. A través de la comparación con los datos JCPDS estándar, estos picos se asignaron a (111), (200), (220) y (311), que son reflexiones del oro cúbico centrado en las caras (FCC) (tarjeta JCPDS n.º 04-

0784). Sin embargo, se encontraron algunos picos no asignados en Pa-AuNPs (28.6° y 40.8°). Estos picos podrían haber resultado de algunos compuestos orgánicos en la nanopartícula durante la síntesis.

Hosny y col. [43] utilizaron distintos enfoques para la síntesis de AuNPs por medio de *T. capensis*. Demostrando que el extracto posee propiedades antiinflamatorias, antiulcerosas, anticancerosas, antioxidantes y antimicrobianas. El examen de la composición química de *T. capensis* reveló varios componentes bioactivos, incluidos alcaloides, flavonoides, glucósidos, terpenoides y taninos. La Figura 2.16 muestra un mecanismo para la síntesis de *T. capensis*-AuNPs utilizando constituyentes del extracto acuoso como la apigenina, flavonoide común que se encuentra en la mayoría de las plantas, y estos son responsables de reducir los iones de oro en AuNPs y contribuir aún más a la estabilidad de las nanopartículas resultantes, cubriéndolas junto con otros metabolitos secundarios en un acto sinérgico que condujo a la formación de *T. capensis*-AuNPs estabilizadas.

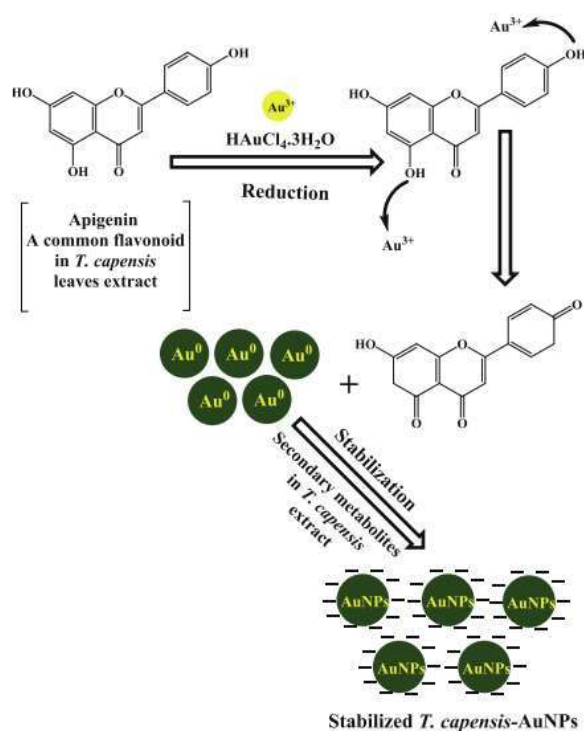


Figura 2.16 Mecanismo propuesto para la síntesis de *T. capensis*-AuNPs [43]

También confirmaron la estructura cristalina FCC de *T. capensis-AuNPs* mediante el patrón de DRX que se muestra en la Figura 2.17. Se determinaron cuatro picos característicos de AuNPs en 37.81°, 44.51°, 64.93° y 78.29° correspondientes a los planos (1 1 1), (2 0 0), (2 2 0) y (3 1 1). Además, se encontró que la orientación de crecimiento preferida de las *T. capensis-AuNPs* sintetizadas era el plano (1 1 1). Estos valores estaban en línea con los estándares reportados en el archivo JCPDS no. 04-0784 para oro cristalino. El tamaño medio de los cristallitos de *T. capensis-AuNPs* se calculó mediante la fórmula de Scherrer y fue de aproximadamente 15.42 nm según el resultado de DRX del pico principal (1 1 1). Este tamaño de cristallito está cerca del rango de tamaño (10-35 nm) medido por MET.

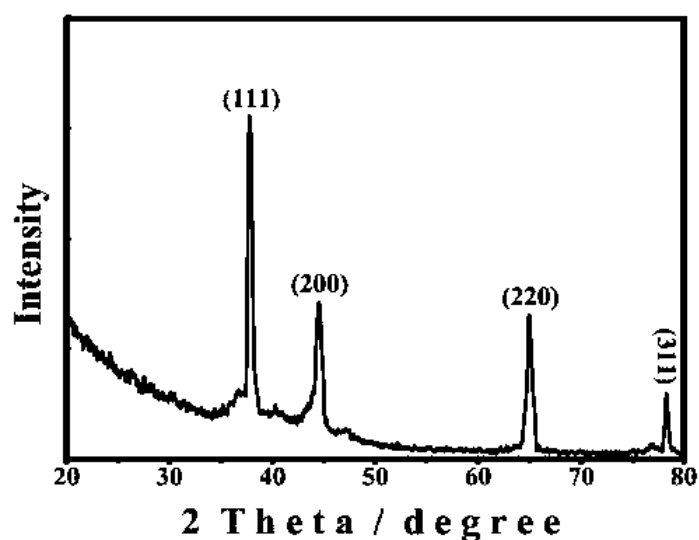


Figura 2.17 Patrón de DRX de *T. capensis-AuNPs* [43].

Rahman y col.[44] realizaron pruebas fitoquímicas del extracto metanólico de *Ricinus communis L.*, y detectaron la presencia de cumarina, azúcares reductores, emodinas, terpenoides, flavonoides y esteroides. El extracto metanólico se sometió a la síntesis AuNPs. Las AuNPs caracterizadas por UV-Vis, DLS, MET y FTIR se utilizó para conocer la composición química de los extractos de *R. comunis* y de las AuNPs sintetizadas (Figura 2.18). Tanto los extractos crudos de semillas como las nanopartículas sintetizadas en forma de polvo seco se analizaron en el rango de 4 000 a 400 cm^{-1} . El extracto metanólico de semillas de *R. communis L* mostró un pico amplio a 3,429.09 cm^{-1} que demuestra el estiramiento y la flexión del enlace OH en el grupo hidroxilo del alcohol o fenol, un pico

ancho a $2,927.27\text{ cm}^{-1}$ mostró un estiramiento débil en el enlace CH en olefina, el pico a $2,148.90\text{ cm}^{-1}$ mostró una amina secundaria y un pico a $1,643.98\text{ cm}^{-1}$ que se debe al estiramiento del grupo NH de la amida. El pico a $1,157.58\text{ cm}^{-1}$ mostró un grupo éter, en el caso de las AuNPs, la frecuencia de estiramiento de OH del grupo hidroxilo y la intensidad máxima de CH del grupo oleofinico y la frecuencia de estiramiento de NH de la amida con nanopartículas aumentan aún más, mientras que los picos que se encuentran en $2,148.90$; $1,157.18$; $1,081.16$; $1,021.52$; 929.10 cm^{-1} desaparecieron por completo, lo que demostró que los grupos oleofinicos OH, NH y CH están involucrados en la síntesis de AuNPs.

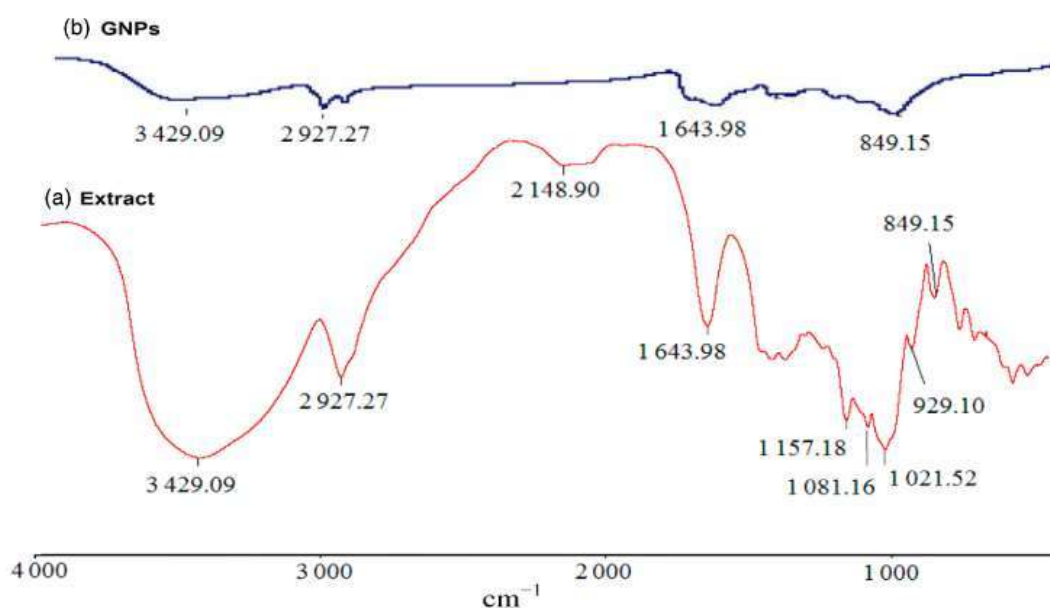


Figura 2.18 Comparación del espectro FTIR de AuNPs y extracto metanólico de semillas *R. communis* [44].

CAPÍTULO 3

DESARROLLO EXPERIMENTAL

3.1. Metodología experimental

La Figura 3.1 muestra el resumen de las actividades realizadas durante el presente trabajo.

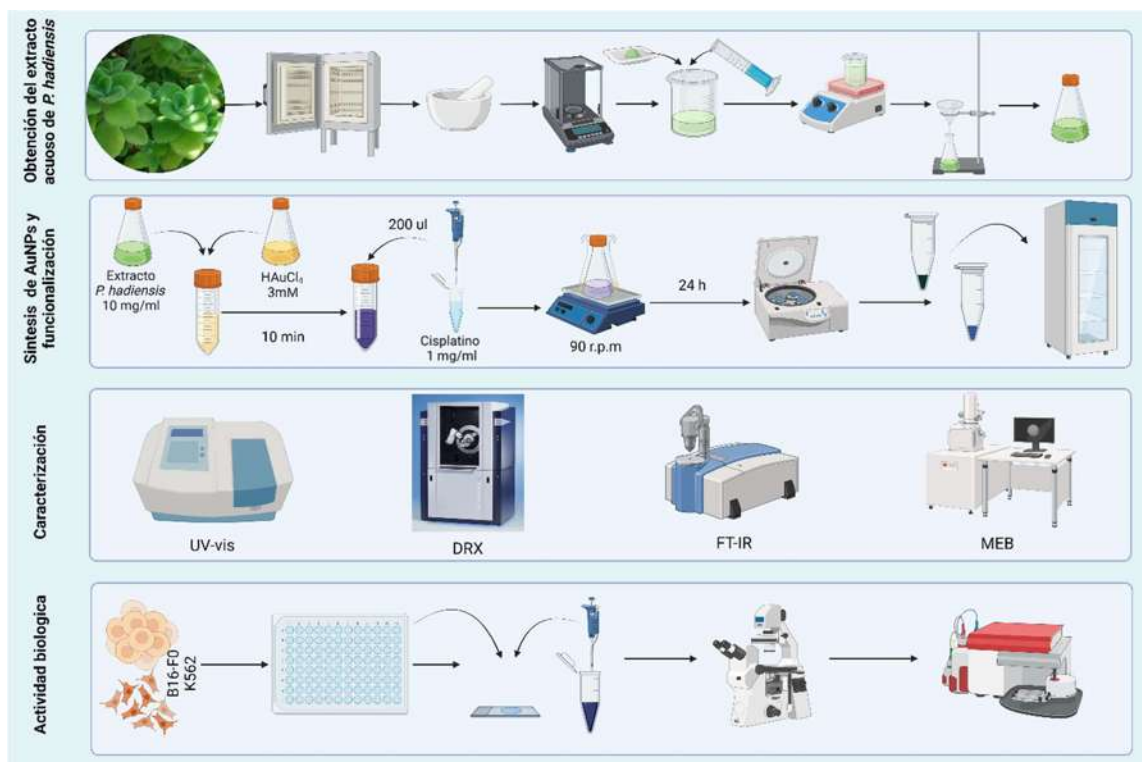


Figura 3.1 Diagrama del procedimiento experimental.

Se utilizaron diferentes concentraciones del extracto acuoso, 10, 20 y 40 mg/mL y de la sal precursora de 1, 2, 3, 4 y 5 mM, hasta determinar las concentraciones adecuadas, que permitieron obtener las nanopartículas del tamaño y morfología necesarias para su utilización en la experimentación biológica.

3.1.1. Preparación del extracto acuoso

Se realizó una colecta de hojas y tallos de *Plectranthus hadiensis*, el material verde fue lavado con agua destilada y secado en un horno a 50 °C durante 48 h. Posteriormente fue triturado en un mortero. En 50 mL de agua desionizada se adicionó 0.5 g del material polvo de la planta, la infusión se calentó a 50 °C con agitación durante 10 min, a continuación, se dejó enfriar y se filtró con papel filtro y se almacenó a 4 °C hasta su uso.

3.1.2. Síntesis verde de AuNPs y funcionalización

Se preparó una solución stock de ácido tetracloroáurico (HAuCl₄) a una concentración de 15 mM, partiendo de esta solución concentrada se realizaron los cálculos para las diluciones de acuerdo con la siguiente formula:

$$(C_1V_1) = (C_2V_2) \quad (\text{Ecuación 3.1})$$

Donde:

- C₁= Concentración inicial de la solución
- V₁= Volumen de la concentración inicial
- C₂= Concentración final
- V₂= Volumen de la concentración final

Para la síntesis de AuNPs se tomaron 10 mL de HAuCl₄ (3 mM) y se colocaron en un vial de cristal (evitando luz directa) y se añadieron 2 mL del extracto acuoso. El cambio de coloración de amarillo a morado o marrón, se utilizó como un indicador de la formación exitosa de las nanopartículas.

Para la funcionalización de las AuNPs con el fármaco cisplatino, se realizó lo mencionado anteriormente y 24 h después del cambio de coloración, se añadieron 200 µL de cisplatino (1 mg/mL) y se colocó en agitación a 90 rpm durante 24 h.

Ambos materiales fueron centrifugados a 12,000 rpm y se desechó el sobrenadante, y fueron conservados en refrigeración a 4°C hasta su uso.

3.1.3. Cuantificación de polifenoles por el ensayo de Folin-Ciocalteu

Los metabolitos secundarios presentes en los extractos de las plantas promueven la síntesis de las nanopartículas, así como ayudan a su estabilización. Dentro de los metabolitos que son participantes en la reducción de los iones de oro se encuentran los polifenoles. Por eso es importante su cuantificación antes y después de la síntesis de AuNPs.

Se prepararon soluciones de resveratrol y carbonato de sodio (Na_2CO_3) a una concentración de 0.1 mg/mL y 0.7 M, respectivamente. Primero, se realizó la curva de calibración del resveratrol, con objeto de obtener un patrón de referencia para la medida de compuestos fenólicos. Para la curva patrón de Folin-Ciocalteu, los volúmenes del resveratrol a emplear fueron 0, 25, 50, 100, 200 y 400 μL a una concentración de 0.1 mg/mL, aforándolos con agua desionizada hasta un volumen final de 500 μL , además se adicionaron 300 μL del reactivo Folin-Ciocalteu y 1,200 μL de Na_2CO_3 a concentraciones de 10% v/v y 0.7 M respectivamente. Las distintas soluciones fueron mezcladas en un vortex por 10 s, e incubadas en ausencia de luz por 2 h a temperatura ambiente, para finalmente ser analizadas por Uv-vis a 765 nm.

Posteriormente, se evaluó el extracto y las AuNPs para lo cual, se prepararon las soluciones como se menciona anteriormente, se incubaron en ausencia de luz a temperatura ambiente por un periodo de 2 h; y se analizaron por Uv-vis a 765 nm.

3.1.4. Caracterización de las nanopartículas de oro

3.1.4.1. Uv-vis

Las AuNPs, AuNPs/cispt, el extracto de *P. hadiensis* y la sal precursora (HAuCl_4) se sometieron a espectroscopía de UV-vis (espectrofotómetro Velab VE-5100UV) en el rango

de 200-800 nm para verificar su formación y funcionalización. Posteriormente, se realizó una cinética de reacción de las AuNPs y se analizaron los cambios en las curvas de absorción para determinar la estabilidad del material.

3.1.4.2. MEB-EDS

La morfología de las AuNPs fue observada por microscopía electrónica de barrido a diferentes ampliaciones (10,000x, 40,000x y 100,000x) utilizando un equipo JEOL modelo JSM-7600F FEG-SEM y el análisis de los elementos presentes se evaluó por espectroscopía de dispersión de energía (EDS) mediante EDS BRUKER acoplado al equipo de MEB. A partir de las micrografías obtenidas y con apoyo del software ImageJ se realizó un histograma de tamaño, para ello se midió el diámetro de 100 partículas.

3.1.4.3. DRX

Se utilizó difracción de rayos-X para identificar las fases cristalinas y determinar el tamaño de las AuNPs sintetizadas, mediante la ecuación de Debye-Scherrer (Ecuación 3.2) empleando un equipo de difracción de rayos-X, BRUKER D8 ADVANCE con radiación CuK α de longitud de onda $\lambda = 1.541874$ Å.

$$L = \frac{K\lambda}{\beta(\cos \theta)} \quad (\text{Ecuación 3.2})$$

Donde:

- L=tamaño de cristal (nm)
- K=constante de Scherrer, que para partículas esféricas corresponde a 0.89
- λ =longitud de onda de rayos-X
- β =ancho medio del pico
- θ posición angular del pico

3.1.4.4. FT-IR

Para el análisis de los grupos funcionales presentes en el extracto acuoso de *P. hadiensis* se utilizó espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR), posterior a la síntesis de las AuNPs se realizó el mismo análisis para determinar la interacción de estos grupos que reducen los iones metálicos y estabilizan las nanopartículas. Las muestras se prepararon por el método de pastilla usando bromuro de potasio, se utilizó un espectrofotómetro de infrarrojo con transformada de Fourier marca Bruker, modelo Tensor 27, dentro de un intervalo de 400 a 4000 cm^{-1} .

3.1.5. Actividad biológica

3.1.5.1. Cultivo de las líneas celulares B16-F0 y K562

Las células B16-F0 fueron cultivadas en placas de 10 mL para cultivo celular con medio Dulbecco's modified Eagle's Medium / nutrient F-12 Ham, el cual se suplementó con 10% de suero fetal bovino, 1% penicilina/estreptomicina, 1 $\mu\text{g/mL}$ anfotericina B y 10% suero de ternera, pH 7.4. Las células se mantuvieron con 5% de CO_2 y 37 °C.

Las células K562 fueron cultivadas en frascos de 25 cm^2 de cultivo celular con medio RPMI-1640, el cual se suplementó con 12 % de suero fetal bovino, 1% penicilina/estreptomicina, 0.1 % Anfotericina B, 1 % glutamina y 0.5 % de piruvato, a un pH de 7.4. Las células se mantuvieron con 5 % de CO_2 y 37 °C.

3.1.5.2. Ensayo de viabilidad celular, exclusión del colorante azul tripano

El azul tripano es un colorante utilizado en procedimientos de exclusión de colorantes con el fin de contar células viables, es soluble en agua donde sus grupos cargados amino y sulfonato

le impiden atravesar las membranas celulares intactas. El método se basa en el principio de que las células vivas no captan el colorante azul, mientras que las células muertas si lo hacen.

Para la evaluación de la citotoxicidad del material sintetizado en las líneas B16-F0 y K562 se cultivaron 3,000 y 20, 000 células/pozo, respectivamente, en un volumen de 100 μ L en medio suplementado para B16-F0 y no suplementado para K562, en placas de 96 pozos. En el caso de las células de melanoma, transcurridas 24 h se realizó el cambio de medio sin suplementos y 24 h más tarde, se añadieron los tratamientos. Para las células de leucemia, 18 h después del cultivo, se añadieron los tratamientos que se muestran en la Tabla 3.1. Como control de muerte celular se utilizó actinomicina D (2.5 μ M para B16-F0 y 120 μ M para K562):

Tabla 3.1 Concentraciones utilizadas en los ensayos de viabilidad celular

Concentración (μ g/ml)	
AuNPs	AuNPs-cispt
350	350
300	300
250	250
200	200
150	150
100	100

Transcurridas 24 h de colocar los tratamientos, se realizó una dilución 1:1 de la suspensión celular con azul tripano y se llevó un conteo en el microscopio. Posteriormente se analizaron los datos con el software GraphPad Prism, se realizó un análisis estadístico ANOVA, seguido de una prueba post-hoc Tukey para múltiples comparaciones. Todos los ensayos fueron realizados por triplicado.

3.3.5.3. Hemólisis

El ensayo de hemólisis evalúa el grado en que un compuesto induce la ruptura de la membrana de los eritrocitos (glóbulos rojos), provocando así la liberación del contenido celular. Para llevar a cabo este ensayo, se efectuó una toma de muestra de sangre humana en un tubo de 4 mL con EDTA, se colocó la muestra en un tubo falcón de 15 mL y se añadió en relación PBS (1:1) respecto al volumen de sangre. Se centrifugó a 800 gravedades por 10 min y se recuperó la capa eritrocitaria. Posteriormente, se lavó con 2 mL de PBS, se mezcló suave y nuevamente se centrifugó a 1,700 gravedades (se repitió 2 veces este lavado). Después, se preparó una mezcla de eritrocitos y PBS con una concentración al 1%. De esta mezcla se colocaron 50 µL por pozo en una placa de 96 pozos de fondo plano y se añadieron 50 µL de los tratamientos de AuNPs y AuNPs-cispt. Se incubó por 1 h a 37°C con 5% CO₂. Después del tiempo de incubación, se recuperaron 50 µL del sobrenadante de cada muestra y se colocaron en una placa nueva de 96 pozos de fondo redondo para efectuarse la lectura en el espectrofotómetro de UV-vis a las absorbancias de 405, 530 y 570 nm.

3.3.5.4 Citometría de flujo

Es posible determinar el modo de muerte inducido en las células por la aplicación de las AuNPs y AuNPs-cispt mediante los fluorocromos Anexina y 7AAD. A continuación, se describe brevemente:

En placas de 24 pozos se cultivaron 80,000 células por pozo en 400 µl de medio RPMI y se dejó durante 18 h de sincronización incubando a 37°C, 5% CO₂ y 95% O₂. Posteriormente, se colocaron los tratamientos de AuNPs, AuNPs-cispt y cisplatino a la concentración de 350 µg/ml y los controles de muerte, en este caso 120 µM de actinomicina D y p-formaldehído 4%. Transcurridas 24 h de haber colocado los tratamientos, se recuperaron las células en tubos eppendorf de 1.5 mL (nuevos y estériles), se centrifugaron a 1,300 rpm por 10 min a 4 °C, se retiró el sobrenadante y se añadió 1 mL de PBS frío. A continuación, se centrifugó de nuevo a las mismas condiciones y se añadieron 10 µl de la preparación de los fluorocromos

y se resuspendió cuidadosamente la pastilla celular, para colocarse en incubación con agitación a temperatura ambiente durante 15 min. Posteriormente, se agregaron 60 μ l de buffer de anexina (se completó el volumen a 80 μ l en total), una vez colocados los fluorocromos, las muestras deben estar en oscuridad y permanecer en hielo. Se procedió con la lectura de las muestras en un citómetro BD Accuri C6, recolectando 10,000 células por evento. Los datos fueron analizados con el programa FlowJo y el análisis estadístico se realizó en GraphPad Prism utilizando ANOVA de una vía, seguido de una prueba post-hoc de Tukey. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

CAPÍTULO 4

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Síntesis y caracterización de AuNPs

4.1.1 Cuantificación de polifenoles

Los metabolitos secundarios que se encuentran presentes en las plantas son esenciales para la formación de las nanopartículas de oro, ya que se encargan de la reducción y estabilización de este metal [41]. Uno de los fitoquímicos relevantes en esta interacción son los polifenoles, por ello se cuantificó su presencia en el extracto de *P. hadiensis*. En la Figura 4.1 se muestra la gráfica de reducción de polifenoles antes y después de la síntesis, estandarizada mediante resveratrol. Se observó que la formación de las nanopartículas requiere aproximadamente el 50% de los polifenoles presentes en la solución acuosa. Esto sugiere que los polifenoles actúan como agentes reductores, facilitando la conversión de los iones de oro (Au^{3+}) a oro metálico (Au^0), también contribuyen a la estabilización al adsorberse en la superficie de las AuNPs evitando su agregación.

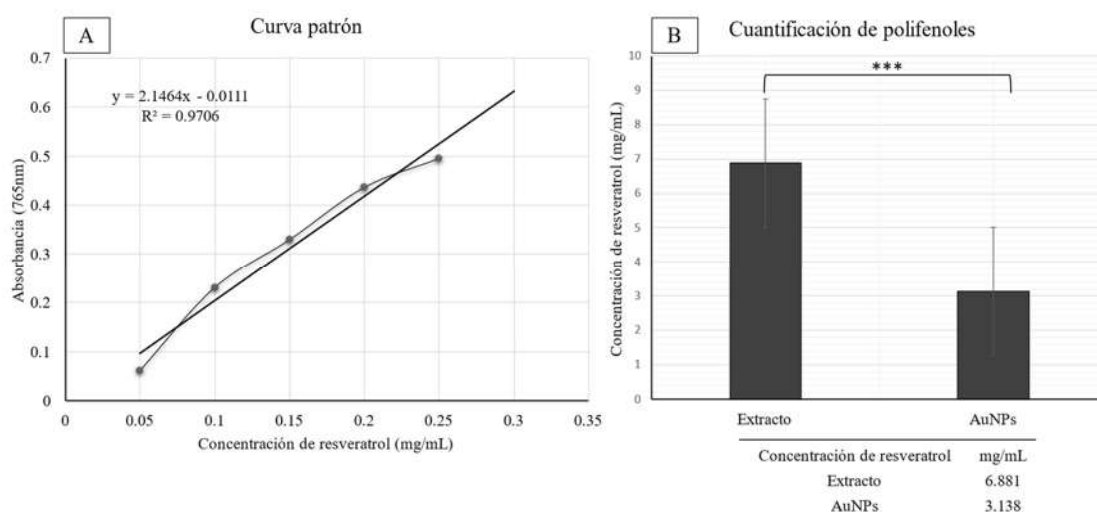


Figura 4.1 Cuantificación de polifenoles para el extracto acuoso de *P. hadiensis* y AuNPs. a) Curva de calibración. b) Concentración de polifenoles expresada como equivalentes de resveratrol. Los datos representan la media de tres replicas, prueba t de Student, $p < 0.0001$ (***), indicando una diferencia significativa entre ambos grupos, $t = 77.32$.

5.1.2. Síntesis verde de AuNPs

En la Figura 4.2, se presentan fotografías de las soluciones de AuNPs preparadas con el extracto acuoso de *P. hadiensis* (20 mg/mL) y HAuCl₄ a concentraciones de 1-5 mM registradas a diferentes tiempos de a) 0, b) 3, c) 5 y d) 10 min. Se obtuvieron distintos tonos de coloración desde morados hasta rojizos lo que indica que la reacción se produjo en forma exitosa para la generación de nanopartículas, el cambio de coloración es debido a la reducción de Au³⁺ a Au⁰ [45]. A un tiempo de cero minutos (Figura 4.2a) se observó que las soluciones mantienen su tonalidad amarilla característica, lo que sugiere que la reducción de los iones de oro no ha ocurrido. Transcurridos tres minutos (Figura 4.2b) las soluciones de 2-5 mM comenzaron con el cambio de coloración tomando coloraciones naranjas y rojizas, mostrando el inicio de la formación de AuNPs. A los cinco minutos (Figura 4.2c) la coloración de las soluciones fue más intensa, tomando tonos más oscuros para 3, 4 y 5 mM, esto indica el aumento en el tamaño de las AuNPs o formación de agregados. A 10 minutos (Figura 4.2d) se observó una intensificación de la coloración en todas las concentraciones (descartando 1 mM), lo que puede deberse a cambios de morfología y agregación de las estructuras de un tamaño superior a 100 nm. Para la concentración de 1 mM el cambio de coloración fue inexistente, lo que se atribuye a una síntesis más lenta. A medida que aumenta el tamaño de las nanopartículas el color vira desde los tonos rosas hacia los rojos, posteriormente hacia los azules y violetas [37].

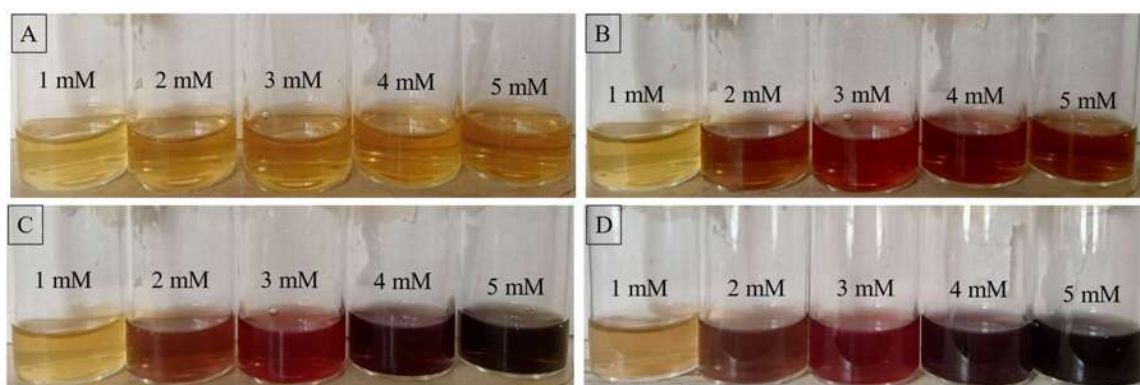


Figura 4.2 Síntesis de nanopartículas de oro utilizando diferentes concentraciones de la sal precursora y el extracto acuoso de *P. hadiensis*. Se muestran imágenes representativas del cambio de color a diferentes tiempos. A) 0 min, B) 3 min, C) 5 min y C) 10 min.

Estos cambios de coloración se deben a que, cuando las AuNPs son irradiadas con luz, los electrones de la superficie oscilan colectivamente en resonancia con la luz incidente, lo que da lugar a una absorción de luz en una determinada longitud de onda, fenómeno conocido como plasmón de resonancia superficial (SPR). Para AuNPs pequeñas (menores a 20 nm) el SPR se produce alrededor de 520-530 nm lo que da lugar a un color rojo; si el tamaño aumenta, el SPR se desplaza hacia longitudes de onda más largas, dando como resultado variaciones del rojo al violeta e incluso azules para nanopartículas más grandes [56]. Las coloraciones obtenidas han sido reportadas en nanopartículas que se encuentran entre 20 y 40 nm. De acuerdo con Pechyen y col. [42], la síntesis efectiva de AuNPs a partir de cascara de piña y cascara de maracuyá fue exitosa ya que se obtuvieron cambios de coloración rojo oscuro y morado para AuNPs de 29.71 nm y 18.68 nm, respectivamente.

5.1.3. Espectroscopía UV-vis

La técnica instrumental más utilizada para la confirmación de la formación de las nanopartículas de oro es la espectroscopía Uv-vis, ya que estas presentan un plasmón de resonancia superficial entre 500-600 nm por la oscilación colectiva de los electrones, mediante esta técnica es posible previsualizar la morfología o distribución de las AuNPs [46,47]. Si la banda se observa demasiado ancha es probable que no exista una distribución de tamaño uniforme, si se encuentra desplazado hacia el rojo el tamaño de las nanopartículas aumenta, cuando se presentan dos picos la morfología corresponde a nanorodillos [8]. En la Figura 4.3 se observan las bandas de absorción para las concentraciones de 1, 2, 3, 4 y 5 mM de la sal precursora, las lecturas se realizaron 10 minutos después de la preparación de la solución. Para la concentración de 1 mM el plasmón no se formó, lo que coincide con el nulo cambio de coloración. A una concentración de 3 mM, el pico máximo de absorción se localizó en 543 nm. Al mismo tiempo, a esta concentración el máximo de la banda indica los tamaños de nanopartícula más pequeños obteniéndose la distribución de tamaño más homogénea. A la concentración más alta de 5 mM el pico de absorción fue muy ancho, lo cual indica que las nanopartículas no tienen una distribución uniforme. Patil y col. [45] presentan resultados similares en la síntesis de AuNPs a partir de un extracto de *Capsicum annum*, donde obtuvieron nanopartículas con un tamaño de 25.92 nm y la banda de absorción se localizó a

540 nm, después de tres meses, se desplazó hacia 543 nm, lo que indica que las AuNPs aumentaron su tamaño.

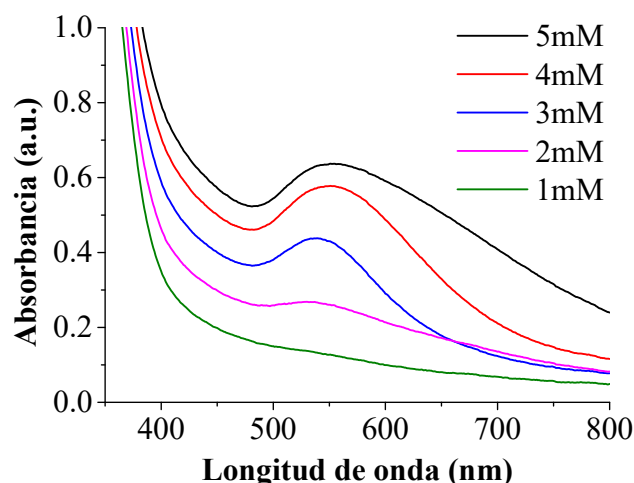


Figura 4.3 Espectro UV-vis de AuNPs con diferentes concentraciones de la sal precursora.

Posteriormente, se empleó la concentración de 3 mM de HAuCl_4 para evaluar la reacción en función del tiempo mediante espectroscopía de UV-vis (Figura 4.4). Se observó un aumento progresivo en la absorción en función del tiempo. Para un tiempo 0, no hay existencia de la banda de absorción; lo que indica que las AuNPs no se forman inmediatamente; sin embargo, al aumentar el tiempo inició la formación del plasmón ubicándose en una absorción máxima en 540 nm, el pico es esbelto, lo cual indica una distribución de tamaño y morfología uniforme. Transcurridos 40 minutos se registró la mayor absorbancia, la cual fue similar a la de 20 minutos, esta similitud sugiere que el proceso de reducción y la formación de nanopartículas se ha estabilizado. La posición de las bandas no presenta desplazamientos significativos hacia longitudes de onda mayor, lo que indica que el tamaño de las AuNPs se mantiene constante, en cambio, se encuentran ubicadas hacia el azul lo que representa un menor tamaño de nanopartícula.

En la Figura 4.5 se muestra el espectro Uv-vis para las AuNPs funcionalizadas con cisplatino, el ensanchamiento y corrimiento de la banda hacia los 550 nm es un indicativo del aumento

del tamaño de las nanopartículas, asociado a la interacción de la superficie con el medicamento.

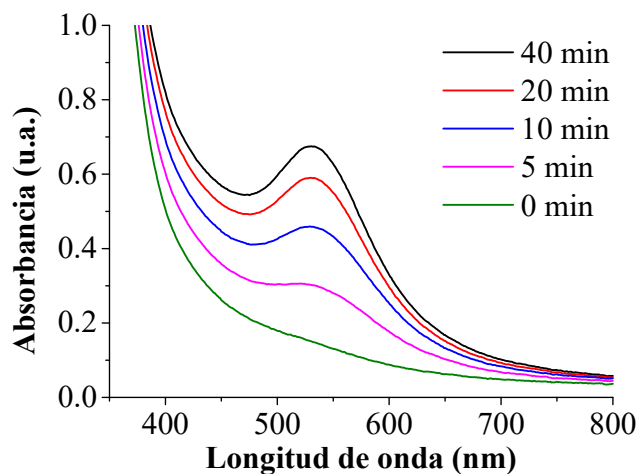


Figura 4.4 Espectro UV-vis de AuNPs (HAuCl_4 3 mM) a diferentes tiempos.

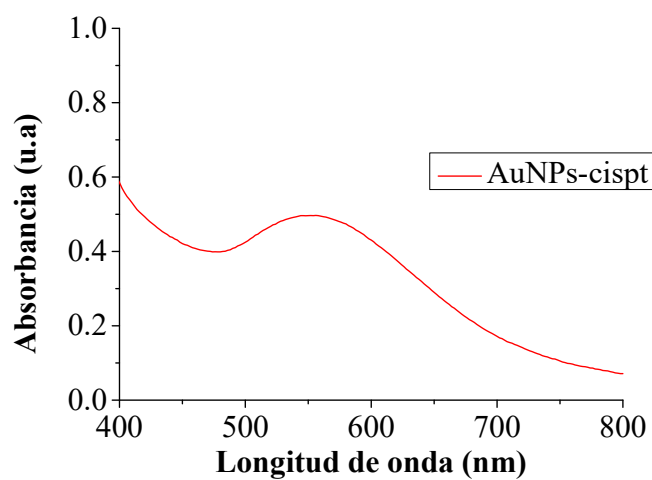


Figura 4. 5 Espectro Uv-vis de AuNPs-cisplatino

4.1.4. Microscopía electrónica de barrido

La morfología y tamaño de las nanopartículas puede ser apreciada mediante microscopía electrónica de barrido. La Figura 4.6a muestra nanopartículas dispersas con una aparente

forma esférica. Además, a mayores ampliificaciones (Figura 4.6b) se aprecia que las partículas en su mayoría son esféricas, siendo algunas de ellas de morfología triangular. Mientras que la Figura 4.7 muestra el histograma de tamaño, que indica un promedio de partícula de 17 nm; no obstante, las partículas varían en un rango de 11 a 25 nm.

En la Figura 4.8 se observa el análisis químico elemental (EDS) de los elementos presentes en las muestras, se puede apreciar que su composición mayoritaria es oro, sumando la presencia de oxígeno y carbono, los cuales son atribuidos a los elementos remanentes del extracto acuoso que les proporcionan estabilidad a las nanopartículas. Para complementar este estudio se realizó un mapeo químico de composición, por la misma técnica en donde claramente se observa la coincidencia de las señales de rayos-X entre la muestra en gris (Figura 4.8a) y las señales provenientes de la muestra (Figura 4.8b), lo que confirma la composición química de las nanopartículas. Otros autores han obtenido AuNPs por métodos verdes y han logrado obtener partículas en rangos parecidos, por ejemplo, a partir de un extracto acuoso de *Capsicum chinense* [48] se obtuvieron AuNPs de entre 10-25 nm con una frecuencia mayor de 16.76 nm.

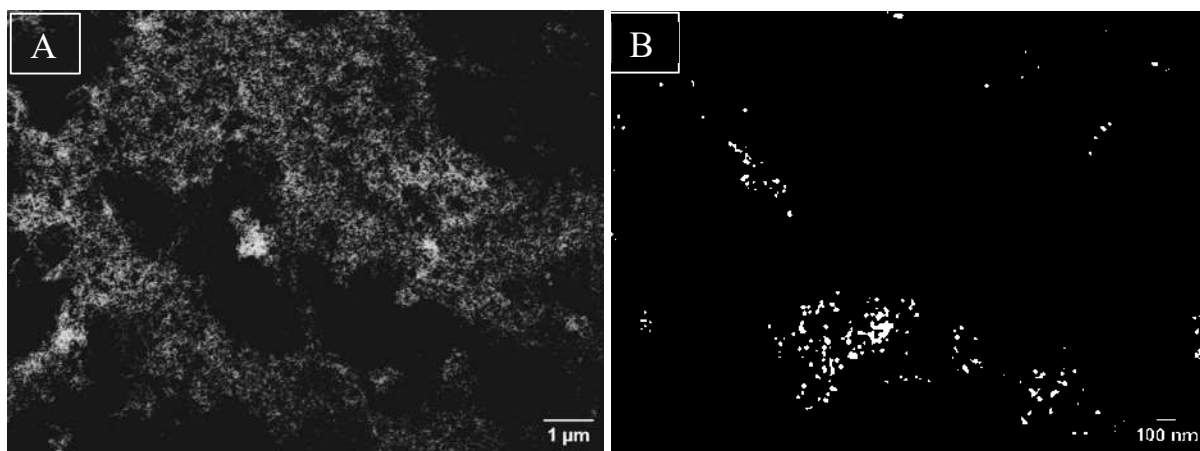


Figura 4.6 Micrografías de AuNPs a diferentes ampliificaciones. A) 10,000x, B) 100,000x.

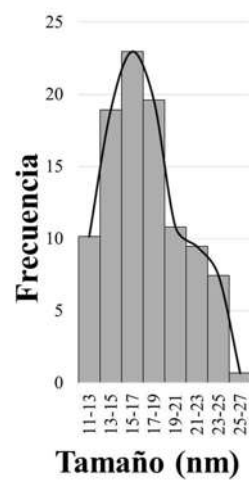


Figura 4.7 Tamaño promedio de AuNPs.

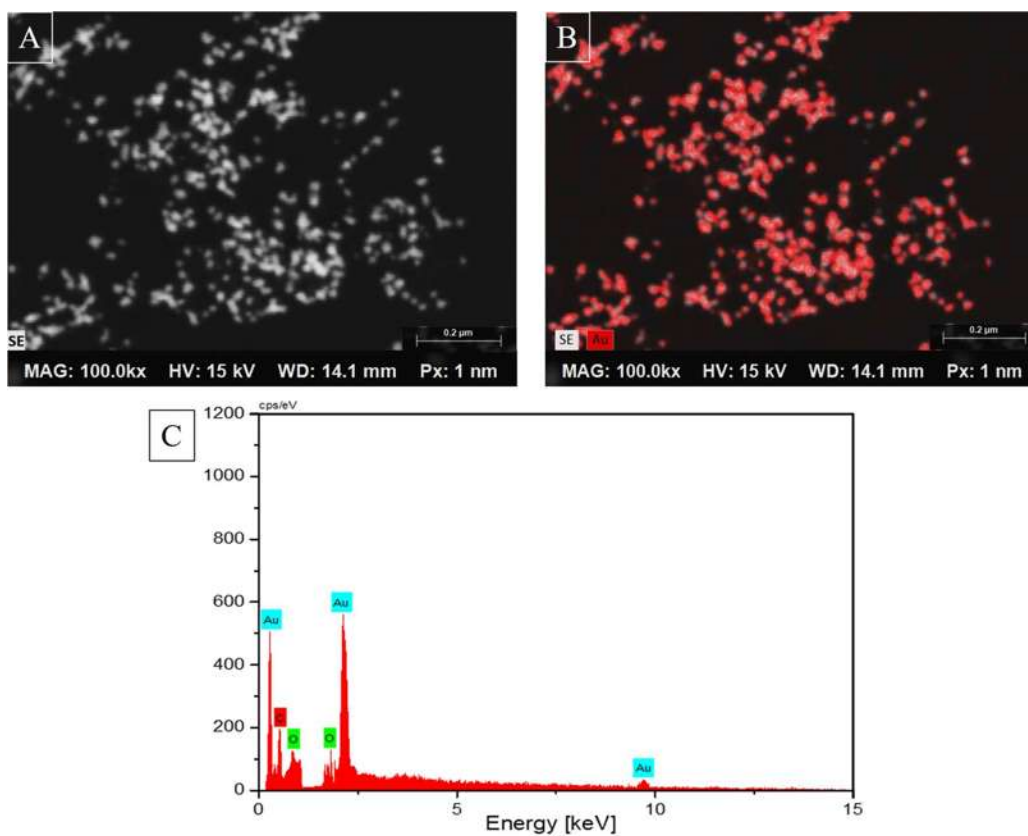


Figura 4.8 Mapeo elemental por MEB de AuNPs. A) Zona seleccionada de AuNPs B) Zona que contiene Au C) Análisis EDS.

4.1.5. Difracción de rayos-X

La estructura cristalina de las AuNPs fue confirmada mediante difracción de rayos-X. En la Figura 4.9 se presenta el patrón de difracción de AuNPs (3 mM HAuCl₄). Se pueden observar cuatro picos de difracción en 38.34, 44.51, 64.70 y 77.70°, los cuales corresponden al conjunto de planos (111), (200), (220), (311) y que se encuentran indexados para una estructura cúbica centrada en las caras (JCPDS 03-065-8601). También se determinó el tamaño aproximado de nanopartícula utilizando la ecuación Debye-Scherrer (Ec.1)

El resultado obtenido es de 14.9 nm, lo cual es consistente con los datos de MEB. De acuerdo con Fouda y col. [41] la ausencia de algún otro pico de difracción demuestra que las nanopartículas son completamente cristalinas.

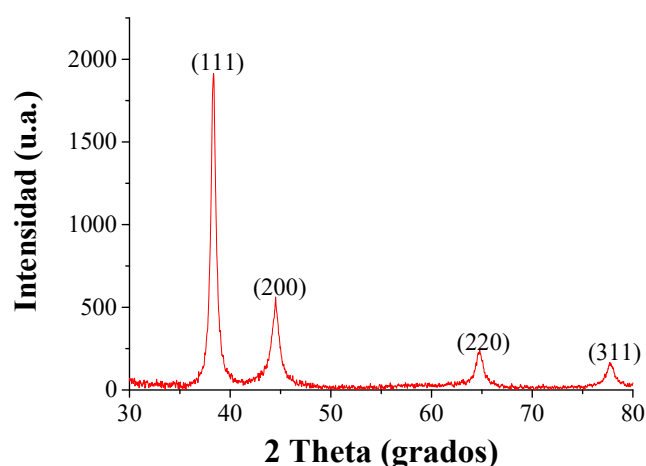


Figura 4.9 Patrón de difracción de AuNPs sintetizadas a partir de *P. hadiensis*.

4.1.6. Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier

El análisis FTIR permite identificar los grupos funcionales de los metabolitos secundarios de la planta que interactúan en la biosíntesis y estabilización de las AuNPs. En la Figura 4.10 se presenta el espectro FT-IR del extracto y las AuNPs sintetizadas. La banda presente en 3289

cm^{-1} corresponde al estiramiento de grupos -OH pertenecientes a fenoles y alcoholes [49,50] y es desplazada hacia 3196 cm^{-1} . Al relacionarlo con la cuantificación de polifenoles que se realizó se sugiere que estos son participes en la reducción de los iones de Au^{+3} . La presencia de un pico intenso alrededor de $1590\text{-}1560$ es atribuido al estiramiento NH en los grupos amina [51], para el extracto se localiza en 1570 cm^{-1} , mientras que para las AuNPs se encuentra a 1566 cm^{-1} . Para ambos espectros se puede observar una banda cercana a 1353 cm^{-1} , que corresponde a vibraciones de deformación de grupos C-H de compuestos aromáticos, la cual es representativa de terpenos atribuidos al olor característico de la planta [50] y que se encuentran involucrados en la estabilidad de las nanopartículas de oro. Las bandas ubicadas alrededor de 1072 cm^{-1} representan vibraciones de estiramiento de CO-O de ácidos carboxílicos [38], mientras que para las bandas que se encuentran entre 700 a 711 cm^{-1} corresponden a vibraciones de deformación fuera del plano para enlaces C-H de anillos aromáticos [41,45].

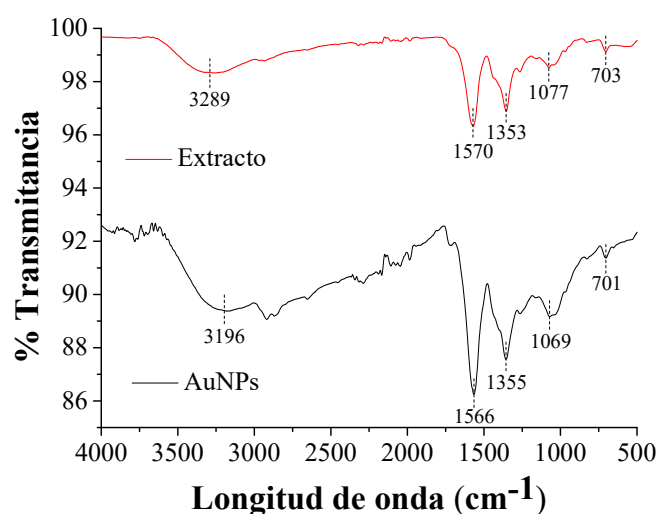


Figura 4.10 Espectro FT-IR del extracto acuoso de *P. hadiensis* y AuNPs.

4.2. Propiedades de las AuNPs sintetizadas

4.2.1. Viabilidad celular

Los avances en nanotecnología han llevado al desarrollo de nuevos materiales que mejoran la calidad de vida de los pacientes con cáncer. Entre los materiales más estudiados se encuentran las nanopartículas de oro [1]. Para evaluar la actividad anticancerosa de las AuNPs es fundamental analizar su citotoxicidad en diversas líneas celulares. En el presente trabajo se llevaron a cabo ensayos de viabilidad en dos líneas celulares, mediante la técnica de exclusión del colorante azul tripano, para determinar la citotoxicidad de diferentes concentraciones de los materiales sintetizados.

En la Figura 4.11 se presentan los resultados obtenidos para la línea celular B16-F0 de melanoma de murino, una línea no metastásica. La viabilidad de las células se ve afectada con el aumento de las concentraciones de ambos materiales. Es importante destacar que a una concentración de 350 $\mu\text{g/mL}$ de nanopartículas de oro se obtiene un porcentaje de viabilidad del 53.28%. Sin embargo, el material funcionalizado con el fármaco cisplatino muestra un notable aumento en la citotoxicidad de hasta un 20% más, ya que la viabilidad disminuyó hasta un 35.65%, con respecto a las nanopartículas de oro.

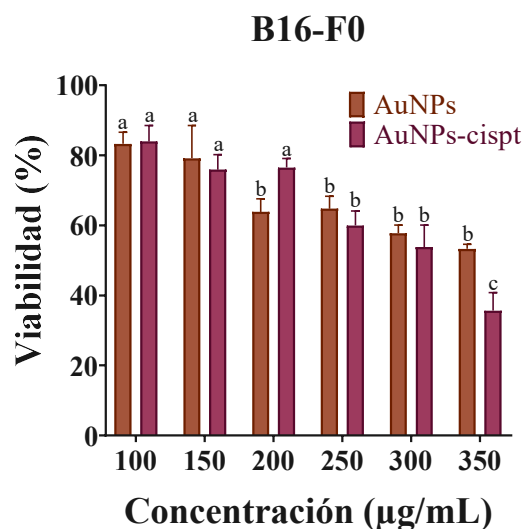


Figura 4.11 Análisis de viabilidad celular por exclusión del colorante azul tripano en la línea celular B16-F0 de melanoma de murino. Células tratadas con diferentes concentraciones de AuNPs y AuNPs-cispt durante 24 h. Las barras muestran la media de triplicados de tres experimentos independientes. Letras diferentes representan diferencias significativas dentro de los tratamientos ($p < 0.05$) ANOVA de una vía, prueba post-hoc de Tukey.

Hernández y col. [52] probaron nanopartículas de oro sintetizadas químicamente en la línea celular metastásica B16-F10 a diferentes concentraciones (1-64 µg/mL) y estas no demostraron una citotoxicidad significativa, posteriormente al funcionalizarlas con metotrexato (antimetabolito que inhibe la enzima dihidrofolato reductasa (DHFR)) mostraron un efecto superior, disminuyendo la viabilidad hasta un 70%. Estos resultados son prometedores, ya que se potencializa la actividad de los fármacos disminuyendo sus concentraciones, lo que podría tener como resultado una disminución de los efectos secundarios provocados por los quimioterapéuticos.

En la Figura 4.12 se presentan los resultados obtenidos en la línea celular K562 de leucemia mieloide crónica. El comportamiento es similar a los obtenidos en las células B16-F0, las AuNPs no mostraron cambios significativos con el aumento de las concentraciones. Sin embargo, las AuNPs-cispt con una concentración de 350 µg/mL tuvieron una disminución en la viabilidad celular, obteniendo un 32.11%.

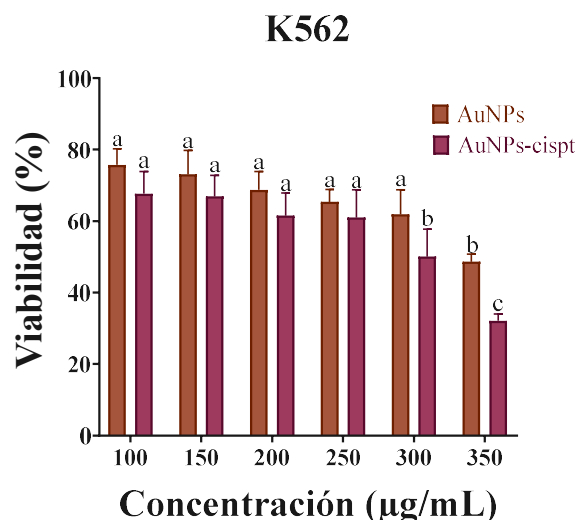


Figura 4.12 Análisis de viabilidad celular por exclusión del colorante azul tripano en la línea celular K562 de leucemia mieloide crónica. Células tratadas con diferentes concentraciones de AuNPs y AuNPs-cispt durante 24 h. Las barras muestran la media de triplicados de tres experimentos independientes. Letras diferentes representan diferencias significativas dentro de los tratamientos ($p < 0.05$) ANOVA de una vía, prueba post-hoc de Tukey.

Chang y col. [53] sintetizaron AuNPs a partir de *Cannabis sativa*, las cuales fueron probadas en líneas celulares MOLT-3 y TALL-104 de leucemia linfoblástica aguda; la viabilidad disminuyó dependiendo de las dosis. A una concentración de 329 y de 381 µg/ml para MOLT-3 y TALL-104 respectivamente, se obtuvo un efecto citotóxico del 50%. Estos datos permiten comparar la resistencia que existe en los distintos tipos de leucemia; sin embargo, las AuNPs-cispt que se obtuvieron en este trabajo tiene un efecto citotóxico superior.

4.2.2 Hemólisis

Para dilucidar la biocompatibilidad de los nanomateriales que se sintetizan es necesario realizar ensayos que evalúen este efecto, como lo es la hemólisis. En este caso, se determina el grado en el que un compuesto induce la ruptura de la membrana de los eritrocitos. En la

Figura 4.13 se observa que los materiales sintetizados no tienen ningún efecto hemolítico, incluso a las concentraciones más altas.

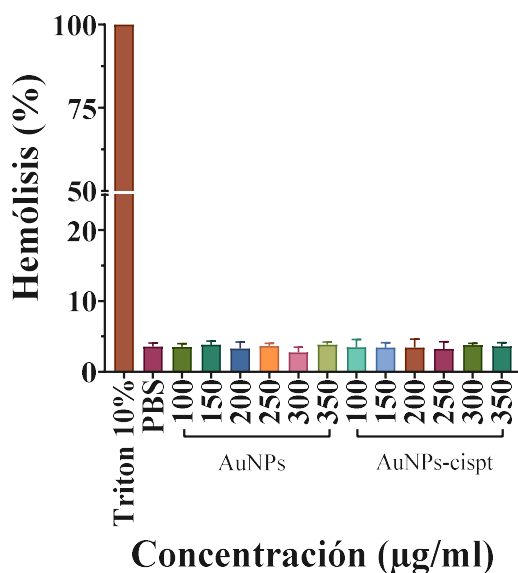


Figura 4.13 Efecto hemolítico de AuNPs y AuNPs-cispt a diferentes concentraciones

Resultados similares se han obtenido a concentraciones superiores de nanopartículas de oro, como es el caso de Pinilla y col. [54], donde sintetizaron AuNPs a partir del árbol de mezquite, donde se manejaron concentraciones desde 1-1000 µg/mL y no presentan comportamiento hemolítico. Estos resultados demuestran la biocompatibilidad de las AuNPs sintetizadas utilizando el extracto acuoso de *P. hadiensis*.

4.2.3. Modo de muerte activado por las AuNPs en células K562

Se determinó el modo de muerte inducido por las AuNPs y AuNPs-cispt sintetizados a partir del extracto acuoso de *P. hadiensis* en la línea celular K562 mediante citometría de flujo a partir de los fluorocromos Anexina V y 7AAD. En la Figura 4.14 se muestran los resultados obtenidos; en este caso los plots se dividen en cuatro cuadrantes: Q1, Q2, Q3 y Q4, los cuales

representan necrosis (fluorescencia con respecto a 7AAD), apoptosis tardía, apoptosis temprana (fluorescencia con respecto a Anexina V) y células viables, respectivamente.

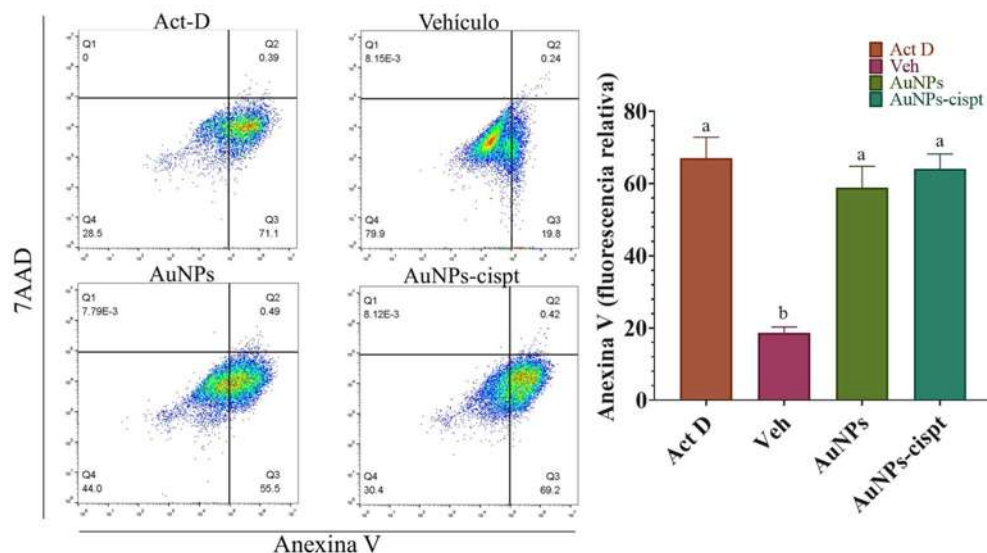


Figura 4.14 Modo de muerte activado por las AuNPs en células K562. A) Resultados representativos de citometría de flujo de AuNPs y AuNPs-cispt a concentraciones de 350 $\mu\text{g/ml}$ durante 24 h, 10,000 células recolectadas por evento. B) Análisis estadístico de los datos obtenidos. Las barras muestran la media de triplicados. Letras diferentes representan diferencias significativas dentro de los tratamientos ($p < 0.05$) ANOVA de una vía, prueba post-hoc de Tukey.

Las AuNPs y AuNPs-cispt inducen la muerte de las células por apoptosis y la tasa de apoptosis de ambos materiales es similar al control de actinomicina D (67%). En ambos tratamientos no se aprecian células necrosadas. De igual modo, es notable que las AuNPs-cispt tienen un efecto mayor en la activación de la muerte celular, lo que confirma los resultados obtenidos anteriormente. Estos datos coinciden con Liu y col. [55], quienes sintetizaron AuNPs a partir de *Curcuma wenyujin* y determinaron el efecto apoptótico de estas en células de carcinoma renal A498.

CAPÍTULO 5

CONCLUSIONES

5.1 Conclusiones

En el presente trabajo se obtuvieron AuNPs de manera exitosa mediante síntesis verde utilizando el extracto acuoso de *Plectranthus hadiensis*, las cuales fueron caracterizadas estructural y químicamente. Posteriormente, fueron funcionalizadas con cisplatino y se evaluó su efecto citotóxico en las líneas celulares B16-F0 y K562. Los principales hallazgos fueron los siguientes:

1. El plasmón de resonancia superficial característico de las AuNPs se ubicó en 540 nm y para las AuNPs-cisplatino a 550 nm.
2. La estructura cristalina del material corresponde a una estructura FCC y el tamaño de cristal se calculó mediante la ecuación Debye-Scherrer con un resultado de 14.9 nm.
3. La composición mayoritaria de las AuNPs era oro con baja presencia de oxígeno y carbono atribuidos a los remanentes del extracto acuoso.
4. En los grupos funcionales se observaron grupos -OH, correspondientes a fenoles y alcoholes, -NH de aminas y C-H de compuestos aromáticos. Corroborando que los fenoles son los de mayor importancia para la reducción y estabilidad de las AuNPs.
5. En la evaluación citotóxica, se obtuvo una disminución en la viabilidad celular dependiente de la concentración. Los resultados obtenidos fueron favorables, ya que las AuNPs-cispt demostraron una eficiencia superior del 20% con respecto a las AuNPs solas, con porcentajes de viabilidad celular de 53.28 y 35.65% de AuNPs y AuNPs-cispt en la línea B16-F0. En la línea K562, las AuNPs-cispt tuvieron un efecto citotóxico del 67.11%.
6. También se demostró la biocompatibilidad de ambos materiales a través de ensayos de hemólisis, y mediante citometría de flujo se determinó que el modo de muerte activado de las AuNPs es mediante apoptosis.

5.2 Perspectivas

Las principales propuestas para trabajo a futuro son:

1. Realizar la caracterización química y estructural de las AuNPs-cisplatino.

2. Analizar la influencia de parámetros como pH y temperatura en las síntesis de AuNPs para mejorar el control del tamaño.
3. Realizar estudios de espectroscopía de dispersión de luz dinámica (DLS) y potencial Z para evaluar la estabilidad coloidal de las AuNPs y AuNPs-cisplatino en medios biológicos.
4. Ampliar la evaluación de citotoxicidad en otras líneas celulares y en células no cancerosas para determinar la selectividad del tratamiento.
5. Implementar modelos *in vivo* para evaluar la distribución, acumulación en tejidos y potencial efecto antitumoral de las AuNPs-cisplatino.

Referencias bibliográficas

- [1] Medici S, Peana M, Coradduzza D. *Gold nanoparticles and cancer: Detection, diagnosis and therapy*. **Semin Cancer Biol**;76:27–37, 2021.
- [2] Instituto Nacional del Cáncer. *Tratamiento del melanoma (PDQ®)–Versión para pacientes*. <https://www.cancer.gov/espanol/tipos/piel/paciente/tratamiento-melanoma-pdq>. 2022.
- [3] American Cancer Society. *¿Qué es el cáncer de piel tipo melanoma?* <https://www.cancer.org/es/cancer/tipos/cancer-de-piel-tipo-melanoma.html>. 2023.
- [4] American Cancer Society. *Estadísticas importantes sobre el cáncer de piel tipo melanoma*. <https://www.cancer.org/es/cancer/tipos/cancer-de-piel-tipo-melanoma/acerca/estadisticas>. 2023.
- [5] American Cancer Society. *Acerca de la leucemia mieloide crónica*. <https://www.cancer.org/es/cancer/tipos/leucemia-mieloide-cronica/acerca.html>.
- [6] Instituto Nacional del Cáncer. *Tratamiento de la leucemia mielógena crónica (PDQ®)–Versión para pacientes*. <https://www.cancer.gov/espanol/tipos/leucemia/paciente/tratamiento-lmc-pdq>.
- [7] Kang MS, Lee SY, Kim KS. *State of the art biocompatible gold nanoparticles for cancer theragnosis*. **Pharmaceutics**. MDPI AG. p. 1–22, 2020.
- [8] Woźniak A, Malankowska A, Nowaczyk G. *Size and shape-dependent cytotoxicity profile of gold nanoparticles for biomedical applications*. **J Mater Sci Mater Med**; 28(6):92, 2017.
- [9] Bayda S, Adeel M, Tuccinardi T. *The history of nanoscience and nanotechnology: From chemical-physical applications to nanomedicine*. **Molecules**. MDPI AG; 2020.
- [10] Bharadwaj KK, Rabha B, Pati S. *Green synthesis of gold nanoparticles using plant extracts as beneficial prospect for cancer theranostics*. **Molecules**. MDPI; 2021.
- [11] Sargazi S, Laraib U, Er S. *Application of Green Gold Nanoparticles in Cancer Therapy and Diagnosis*. **Nanomaterials**. MDPI; 2022.
- [12] Kolahalam LA, Kasi Viswanath I V., Diwakar BS. *Review on nanomaterials: Synthesis and applications*. **Mater Today Proc**. Elsevier Ltd; p. 2182–2190. 2019
- [13] Kumar L, Ragunathan V, Chugh M. *Nanomaterials for remediation of contaminants: a review*. **Environ Chem Lett**. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH; p. 3139–3163, 2021.
- [14] Saleh TA. *Nanomaterials: Classification, properties, and environmental toxicities*. **Environ Technol Innov**. Elsevier B.V.; 2020.
- [15] Adeola AO, Fapohunda O, Jimoh AT. *Scientific applications and prospects of nanomaterials: A multidisciplinary review*. **Afr J Biotechnol**;18(30):946–961, 2019.

- [16] Hammami I, Alabdallah NM, Jomaa A Al. *Gold nanoparticles: Synthesis properties and applications*. **J King Saud Univ Sci**. Elsevier B.V.; 2021.
- [17] Bai X, Wang Y, Song Z. *The basic properties of gold nanoparticles and their applications in tumor diagnosis and treatment*. **Int J Mol Sci**. MDPI AG; 2020.
- [18] Ahmad S, Munir S, Zeb N. *Green nanotechnology: A review on green synthesis of silver nanoparticles — An ecofriendly approach*. **Int J Nanomedicine**. Dove Medical Press Ltd.; p. 5087–5107, 2019.
- [19] Cai F, Li S, Huang H. *Green synthesis of gold nanoparticles for immune response regulation: Mechanisms, applications, and perspectives*. **J Biomed Mater Res A**. John Wiley and Sons Inc; p. 424–442, 2022.
- [20] Kus-liśkiewicz M, Fickers P, Ben Tahar I. *Biocompatibility and cytotoxicity of gold nanoparticles: Recent advances in methodologies and regulations*. **Int J Mol Sci**. MDPI; 2021.
- [21] Özdemir O, Kopac T. *Cytotoxicity and biocompatibility of root canal sealers: A review on recent studies*. **J Appl Biomater Funct Mater**, 2022.
- [22] Arcos Rosero WA, Bueno Barbezán A, Daruich de Souza C. *Review of Advances in Coating and Functionalization of Gold Nanoparticles: From Theory to Biomedical Application*. **Pharmaceutics** ;16(2):255, 2024.
- [23] National Institutes of Health, National Cancer Institute. *What Is Cancer?* 2021.
- [24] Hanahan D. *Hallmarks of Cancer: New Dimensions*. **Cancer Discov**;12(1):31–46, 2022.
- [25] American Cancer Society. *Acerca del cáncer de piel tipo melanoma*. <https://www.cancer.org/es/cancer/tipos/cancer-de-piel-tipo-melanoma/acerca/estadisticas-clave.html>. 2023.
- [26] Bhatt H, Shah V, Shah K. *State-of-the-art machine learning techniques for melanoma skin cancer detection and classification: a comprehensive review*. **Intelligent Medicine**. Chinese Medical Association; p. 180–190, 2023.
- [27] Miller AJ, Mihm MC. *Melanoma*. **New England Journal of Medicine**; 355(1):51–65, 2006.
- [28] Cyton. *B16 cells*. <https://cytion.com/blog/b16-cells>. 2023.
- [29] Nakamura K, Yoshikawa N, Yamaguchi Y. *Characterization of mouse melanoma cell lines by their mortal malignancy using an experimental metastatic model*. **Life Sci**.;70(7):791–798, 2002.
- [30] Lozzio BB, Lozzio CB. *Properties and usefulness of the original K-562 human myelogenous leukemia cell line*. **Leuk Res**.;3(6):363–370, 1979.
- [31] Cyton. *K562 Cells*. <https://www.cytion.com/K562-Cells/300224>. 2024.

- [32] Siddique S, Chow JCL. *Gold nanoparticles for drug delivery and cancer therapy*. **Applied Sciences** (Switzerland). MDPI AG; 2020.
- [33] Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. *Plantas medicinales de México*. <https://www.gob.mx/semarnat/articulos/plantas-medicinales-de-mexico>. 2021.
- [34] Article R, Menon DB, Sasikumar JM. *Pharmacognostic study and phytochemical investigation of plectranthus hadiensis*.
- [35] Domínguez-Martín EM, Magalhães M, Díaz-Lanza AM. *Phytochemical Study and Antiglioblastoma Activity Assessment of Plectranthus hadiensis (Forssk.) Schweinf. ex Sprenger var. hadiensis Stems*. **Molecule**;27(12), 2022.
- [36] Zhu J, Liu Z, Pu Y. *Green synthesized gold nanoparticles from Pseudobulbus Cremastrae seu Pleiones show efficacy against hepatic carcinoma potentially through immunoregulation*. **Drug Deliv**; 29(1):1983–1993, 2022.
- [37] Gao L, Mei S, Ma H. *Ultrasound-assisted green synthesis of gold nanoparticles using citrus peel extract and their enhanced anti-inflammatory activity*. **Ultrason Sonochem**. 2022;83.
- [38] Pitchai P, Subramani P, Selvarajan R. *Green synthesis of gold nanoparticles (AuNPs) using Caulerpa racemosa and evaluation of its antibacterial and cytotoxic activity against human lung cancer cell line*. **Arab J Basic Appl Sci**; 29(1):351–362, 2022.
- [39] Zhao W, Li J, Zhong C. *Green synthesis of gold nanoparticles from Dendrobium officinale and its anticancer effect on liver cancer*. **Drug Deliv**; 28(1):985–994, 2021.
- [40] Kiran MS, Rajith Kumar CR, Shwetha UR. *Green synthesis and characterization of gold nanoparticles from Moringa oleifera leaves and assessment of antioxidant, antidiabetic and anticancer properties*. **Chemical Data Collections**. Elsevier B.V.; 2021.
- [41] Fouda A, Eid AM, Guibal. *Green Synthesis of Gold Nanoparticles by Aqueous Extract of Zingiber officinale: Characterization and Insight into Antimicrobial, Antioxidant, and In Vitro Cytotoxic Activities*. **Applied Sciences** (Switzerland); 12(24), 2022.
- [42] Pechyen C, Ponsanti K, Tangnorawich B. *Waste fruit peel – Mediated green synthesis of biocompatible gold nanoparticles*. **Journal of Materials Research and Technology**;14:2982–2991, 2021.
- [43] Hosny M, Fawzy M, El-Badry YA. *Plant-assisted synthesis of gold nanoparticles for photocatalytic, anticancer, and antioxidant applications*. **Journal of Saudi Chemical Society** ;26(2), 2022.
- [44] Rahman TU, Khan H, Liaqat W. *Phytochemical screening, green synthesis of gold nanoparticles, and antibacterial activity using seeds extract of Ricinus communis L*. **Microsc Res Tec**; 85(1):202–208, 2022.
- [45] Patil TP, Vibhute AA, Patil SL. *Green synthesis of gold nanoparticles via Capsicum annum fruit extract: Characterization, antiangiogenic, antioxidant and anti-inflammatory activities*. **Applied Surface Science Advances**; 2023.

- [46] Dehghani F, Mosleh-Shirazi S, Shafiee M. *Antiviral and antioxidant properties of green synthesized gold nanoparticles using Glaucium flavum leaf extract*. **Appl Nanosci**;13(6):4395–4405, 2023.
- [47] Cerra S, Matassa R, Beltrán AM. *Insights about the interaction of methotrexate loaded hydrophilic gold nanoparticles: Spectroscopic, morphological and structural characterizations*. **Materials Science and Engineering**; 117:111337, 2020.
- [48] Lomeli-Rosales DA, Zamudio-Ojeda A, Reyes-Maldonado OK. *Green Synthesis of Gold and Silver Nanoparticles Using Leaf Extract of Capsicum chinense Plant*. **Molecules**; 27(5):1692, 2022.
- [49] Ertas Onmaz N, Demirezen Yilmaz D, Imre K. *Green Synthesis of Gold Nanoflowers Using Rosmarinus officinalis and Helichrysum italicum Extracts: Comparative Studies of Their Antimicrobial and Antibiofilm Activities*. **Antibiotics**; 11(11):1466, 2022.
- [50] Vega-Hernández LC, Serrano-Niño JC, Velázquez-Carriles CA. *Improving Foodborne Pathogen Control Using Green Nanosized Emulsions of Plectranthus hadiensis Phytochemicals*. **Colloids and Interfaces**; 8(1):3, 2023.
- [51] Kim B, Song WC, Park SY. *Green Synthesis of Silver and Gold Nanoparticles via Sargassum serratifolium Extract for Catalytic Reduction of Organic Dyes*. **Catalysts**;11(3):347, 2021.
- [52] Hernández-Esparza MJ, Fratoddi I, Cerra S. *Hybrid AuNPs-3MPS-MTX nanosystem and its evaluation for treating cervical cancer and melanoma*. **Nanoscale Adv**; 5(24):7077–7085, 2023.
- [53] Chang Y, Zheng C, Chinnathambi A. *Cytotoxicity, anti-acute leukemia, and antioxidant properties of gold nanoparticles green-synthesized using Cannabis sativa L leaf aqueous extract*. **Arabian Journal of Chemistry**; 14(4):103060, 2021.
- [54] Pinilla-Torres AM, Sanchez-Dominguez CN, Basilio-Bernabe K. *Green Synthesis of Mesquite-Gum-Stabilized Gold Nanoparticles for Biomedical Applications: Physicochemical Properties and Biocompatibility Assessment*. **Polymers (Basel)**; 15(17):3533, 2023.
- [55] Liu R, Pei Q, Shou T. *Apoptotic effect of green synthesized gold nanoparticles from Curcuma wenyujin extract against human renal cell carcinoma A498 cells*. **Int J Nanomedicine**, volume 14:4091–4103, 2019.

Emma Zicarú Reyes Monroy

Síntesis de nanopartículas de oro (AuNPs) a partir del extracto acuoso de *Plectranthus hadiensis*, fu

 Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid::3117:436289788

Fecha de entrega

4 mar 2025, 1:31 p.m. GMT-6

Fecha de descarga

4 mar 2025, 1:39 p.m. GMT-6

Nombre de archivo

Síntesis de nanopartículas de oro (AuNPs) a partir del extracto acuoso de *Plectranthus hadiensis*,....pdf

Tamaño de archivo

2.9 MB

72 Páginas

14,625 Palabras

85,468 Caracteres

Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

Coordinación General de Estudios de Posgrado
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



A quien corresponda,

Por este medio, quien abajo firma, bajo protesta de decir verdad, declara lo siguiente:

- Que presenta para revisión de originalidad el manuscrito cuyos detalles se especifican abajo.
- Que todas las fuentes consultadas para la elaboración del manuscrito están debidamente identificadas dentro del cuerpo del texto, e incluidas en la lista de referencias.
- Que, en caso de haber usado un sistema de inteligencia artificial, en cualquier etapa del desarrollo de su trabajo, lo ha especificado en la tabla que se encuentra en este documento.
- Que conoce la normativa de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, en particular los Incisos IX y XII del artículo 85, y los artículos 88 y 101 del Estatuto Universitario de la UMSNH, además del transitorio tercero del Reglamento General para los Estudios de Posgrado de la UMSNH.

Datos del manuscrito que se presenta a revisión		
Programa educativo	Maestría en Metalurgia y Ciencias de los Materiales	
Título del trabajo	Síntesis de nanopartículas de oro (AuNPs) a partir del extracto acuoso de <i>Plectranthus hadiensis</i> , funcionalización y evaluación en distintas líneas celulares de cáncer	
	Nombre	Correo electrónico
Autor/es	Emma Zicarú Reyes Monroy	2224144a@umich.mx
Director	Gerardo Antonio Rosas Trejo	grtrejo@umich.mx
Codirector		
Coordinador del programa	Tzarara López Luke	tzarara@umich.mx

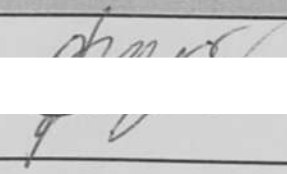
Uso de Inteligencia Artificial		
Rubro	Uso (sí/no)	Descripción
Asistencia en la redacción	SI	Mejora de redacción de párrafos

Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

Coordinación General de Estudios de Posgrado
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



Uso de Inteligencia Artificial		
Rubro	Uso (sí/no)	Descripción
Traducción al español	NO	Sin observaciones
Traducción a otra lengua	SI	Traducción del español al inglés
Revisión y corrección de estilo	NO	Sin observaciones
Análisis de datos	NO	Sin observaciones
Búsqueda y organización de información	SI	Búsqueda de ecuaciones y concepto
Formateo de las referencias bibliográficas	NO	Sin observaciones
Generación de contenido multimedia	NO	Sin observaciones
Otro	NO	Sin observaciones

Datos del solicitante		
Nombre y firma	Emma Zicarú Reyes Monroy	
Lugar y fecha	Morelia, Michoacán	04/03/2025