



TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE OAXACA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

DOCTORADO EN CIENCIAS EN DESARROLLO REGIONAL Y TECNOLÓGICO

TESIS

**DISEÑO Y EVALUACIÓN DE UN NANOTRANSPORTADOR
BIOQUÍMICO A BASE DE NANOTUBOS DE CARBONO, LECTINA Y
QUERCETINA**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

**DOCTORA EN CIENCIAS EN DESARROLLO REGIONAL Y
TECNOLÓGICO**

PRESENTA:

HOLANDA ISABEL CRUZ LUIS

DIRIGIDA POR:

DIRECTOR: DRA. ALMA DOLORES PÉREZ SANTIAGO
CO-DIRECTOR: DR. EDUARDO LORENZO PÉREZ CAMPOS

ASESORES:

**DRA. YADIRA GOCHI PONCE
DRA. MARÍA TERESA HERNÁNDEZ HUERTA
DR. MARCO ANTONIO SÁNCHEZ MEDINA
DRA. ITANDEHUI BELEM GALLEGOS VELASCO**

OAXACA DE JUÁREZ, OAXACA, 13 DE DICIEMBRE DEL 2023



Instituto Tecnológico de Oaxaca
División de Estudios de Posgrado e Investigación
Doctorado en Ciencias en Desarrollo Regional y Tecnológico

Oaxaca de Juárez; Oax, **25/octubre/2023**
OFICIO No.DEPI/997/2023
ASUNTO: Autorización de impresión de tesis

C. HOLANDA ISABEL CRUZ LUIS
ESTUDIANTE DEL PROGRAMA DE DOCTORADO EN
CIENCIAS EN DESARROLLO REGIONAL Y TECNOLÓGICO
PRESENTE.

De acuerdo con las disposiciones para la Operación de Estudios de Posgrado e Investigación del Tecnológico Nacional de México, dependiente de la Secretaría de Educación Pública, y habiendo cumplido con todas las indicaciones que la Comisión Revisora le hizo respecto a su tesis para obtener el grado de Doctora en Ciencias en Desarrollo Regional y Tecnológico, cuyo título es:

DISEÑO Y EVALUACIÓN DE UN NANOTRANSPORTADOR BIOQUÍMICO A BASE DE NANOTUBOS DE CARBONO, LECTINA Y QUERCETINA

La división a mi cargo le concede la autorización para que proceda a la impresión de la misma.

ATENTAMENTE
Excelencia en Educación Tecnológica®
"Tecnología Propia e Independencia Económica"

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE OAXACA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
E INVESTIGACIÓN
DR. MARCO ANTONIO SÁNCHEZ MEDINA
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE
POSGRADO E INVESTIGACIÓN

c.c.p. Expediente
MASM/FDHP/*cvbv





Oaxaca de Juárez; Oax, **25/OCTUBRE/2023**

OFICIO No.DEPI/0996/2023

ASUNTO: Autorización de impresión de tesis

**C. HOLANDA ISABEL CRUZ LUIS
ESTUDIANTE DEL PROGRAMA DE DOCTORADO EN
CIENCIAS EN DESARROLLO REGIONAL Y TECNOLÓGICO
PRESENTE.**

De acuerdo con las disposiciones para la Operación de Estudios de Posgrado e Investigación del Tecnológico Nacional de México, dependiente de la Secretaría de Educación Pública, y habiendo cumplido con todas las indicaciones que la Comisión Revisora le hizo respecto a su tesis para obtener el grado de Doctora en Ciencias en Desarrollo Regional y Tecnológico, cuyo título es:

DISEÑO Y EVALUACIÓN DE UN NANOTRANSPORTADOR BIOQUÍMICO A BASE DE NANOTUBOS DE CARBONO, LECTINA Y QUERCETINA

Los abajo firmantes del H. Comité Revisor le concedemos la autorización para que proceda a la impresión de la misma.

ATENTAMENTE

*Excelencia en Educación Tecnológica®
"Tecnología Propia e Independencia Económica"*



DRA. ALMA DÓLORES PÉREZ SANTIAGO
DIRECTORA



DR. EDUARDO LORENZO PÉREZ CAMPOS
CO-DIRECTOR



DRA. YADIRA GOCHI PONCE
ASESORA



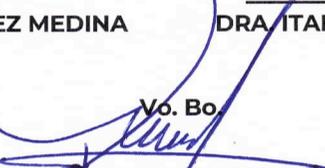
DRA. MARIA TERESA HERNÁNDEZ HUERTA
ASESORA



DR. MARCO ANTONIO SÁNCHEZ MEDINA
ASESOR



DRA. ITANDEHUI BELEM GALLEGOS VELASCO
ASESORA



DR. MARCO ANTONIO SÁNCHEZ MEDINA
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE
POSGRADO E INVESTIGACIÓN

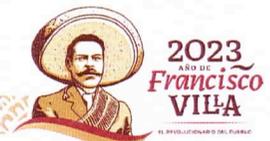

EDUCACIÓN SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE OAXACA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

c.c.p. Expediente
MASM/FDHP/cvbv



www.oaxaca.tecnm.mx

Avenida Ing. Víctor Bravo Ahuja No. 125 Esquina Calzada Tecnológico, C.P. 68030.
Tel. (951) 5015016 e-mail: correo@tecnm.mx | www.oaxaca.tecnm.mx





LICENCIA DE USO OTORGADA POR Holanda Isabel Cruz Luis, de nacionalidad Mexicana mayor de edad, con domicilio ubicado en Azucenas, Núm 105, Colonia Reforma, Oaxaca de Juárez, Oaxaca en mi calidad de titular de los derechos patrimoniales y morales y autor de la tesis denominada Diseño y Evaluación de un Nanotransportador bioquímico a base de nanotubos de carbono, lectina y quercetina en adelante “**LA OBRA**” quien para todos los fines del presente documento se denominará “**EL AUTOR Y/O EL TITULAR**”, a favor del Instituto Tecnológico de Oaxaca del Tecnológico Nacional de México, la cual se registrará por las cláusulas siguientes:

PRIMERA – OBJETO: “**EL AUTOR Y/O TITULAR**”, mediante el presente documento otorga al Instituto Tecnológico de Oaxaca del Tecnológico Nacional de México, licencia de uso gratuita e indefinida respecto de “**LA OBRA**”, para almacenar, preservar, publicar, reproducir y/o divulgar la misma, con fines académicos, por cualquier medio en forma física y a través del repositorio institucional y del repositorio nacional, éste último consultable en la página: (<https://repositorionacionalcti.mx>).

SEGUNDA - TERRITORIO: La presente licencia se otorga, de manera no exclusiva, sin limitación geográfica o territorial alguna, de manera gratuita e indefinida.

TERCERA - ALCANCE: La presente licencia contempla la autorización para formato uso de “**LA OBRA**” en cualquier formato o soporte material y se extiende a la utilización, de manera enunciativa más no limitativa a los siguientes medios: óptico, magnético, electrónico, virtual (red), mensaje de datos o similar conocido por conocerse. En medio óptico, magnético, electrónico, en red, mensajes de datos o similar, conocido o por conocerse.

CUARTA – EXCLUSIVIDAD: La presente licencia de uso aquí establecida no implica exclusividad en favor del Instituto Tecnológico de Oaxaca; por lo tanto, “**EL AUTOR Y/O TITULAR**” conserva los derechos patrimoniales y morales de “**LA OBRA**”, objeto del presente documento.

QUINTA – CRÉDITOS: El Instituto Tecnológico de Oaxaca y/o el Tecnológico Nacional de México reconoce que el “**AUTOR Y/O TITULAR**” es el único, primigenio y perpetuo titular de los derechos morales sobre “**LA OBRA**”; por lo tanto, siempre deberá otorgarle los créditos correspondientes por la autoría de la misma.

SEXTA – AUTORÍA: “**EL AUTOR Y/O TITULAR**” manifiesta ser el único titular de los derechos de autor que derivan de “**LA OBRA**” y declara que el material objeto del presente fue realizado por él, sin violentar o usurpar derechos de propiedad intelectual de terceros; por lo tanto, en caso de controversia sobre los mismos, se obliga a ser el único responsable.

Dado en la Ciudad de Oaxaca, Oaxaca, a los 25 días del mes de Octubre de 2023.

“**EL AUTOR Y/O TITULAR**”

“**EL INSTITUTO TECNOLÓGICO DE OAXACA**”

. Holanda Isabel Cruz Luis

Fernando Toledo Toledo



A mis padres, quienes me han tomado de la mano con amor y apoyo incondicional.

A Eduardo, por el amor, paciencia y siempre creer en mí.

AGRADECIMIENTOS

A mis asesores de tesis, por darme la oportunidad de continuar incursionando en lo que me apasiona, motivándome en el ámbito académico y profesional a lo largo de estos años.

Al Dr. Eduardo Pérez Campos, que con su conocimiento me guió a lo largo de este proyecto.

A la Dra. Teresa Hernández Huerta, quién durante la estancia me brindó un espacio en su laboratorio y con su experiencia me asesoró en todo momento.

Al Dr. Carlos Romero Díaz, quien con su experiencia y asesoría, se realizó parte fundamente de este trabajo.

Al M. C. Frank León, del CIIDIR y al Dr. Luis Robledo, del TecNM-ITO; por su apoyo con la caracterización de los materiales.

Al M. C. Luis Ángel Lagunas, por apoyarme en la realización de las pruebas in vitro.

A mis compañeros del Laboratorio de Mecanismos Celulares y Recursos Naturales: Itzel, Leticia y Carlos, por su apoyo, paciencia, compañía y risas.

A mis compañeros del Laboratorio de Glicobiología y Nanoestructuras: Baleria, Edibeth, Marymar, Yesenia, Iliana, por el soporte y apoyo emocional.

A mis hermanas, Xunashi y Olivia, por el -sí se puede- y las distracciones con frappé.

A todos ellos que de alguna manera formaron parte del proyecto, gracias.

A CONAHCYT, por el apoyo económico brindado para la realización de los estudios de Doctorado.

RESUMEN

En México cada año se reportan decenas de miles de casos de cáncer, sin embargo, aún con las investigaciones realizadas al día de hoy el cáncer de mama sigue ocupando el primer lugar por deceso por cáncer. Hay diferentes tipos de tratamiento para los pacientes que incluyen cirugía, quimioterapia, radioterapia, además de inmunoterapia y terapia dirigida siendo estos de uso menos frecuente.

En el área de estudio contra enfermedades cancerosas se encuentra en auge las nanoestructuras, útiles como nanotransportadores, en detección y tratamiento de estas; estas nanoestructuras son modificadas de tal manera que puedan ser útiles para tal fin, ejemplo de ello son las partículas de lípidos modificadas, los nanoliposomas, las nanocápsulas y nanoesferas poliméricas, las nanosuspensiones y nanoestructuras a base de carbono. Los nanotubos de carbono son materiales con gran auge en las aplicaciones biológicas y médicas, debido a las propiedades que presentan y el aprovechamiento de estas, gracias a la funcionalización, lo cual ha ayudado en su uso como nanotransportadores de fármacos y en las terapias de cáncer, debido a la facilidad con la que se pueden modificar.

Por consiguiente, el objetivo de este trabajo fue utilizar lectinas vegetales unidas a quercetina enlazadas a nanotubos de carbono, para obtener nanocompuestos con propiedades químicas y biológicas que permitan su aplicación en ensayos de líneas tumorales de cáncer. Estos nanocompuestos fueron diseñados por docking molecular seguido de una dinámica molecular, que nos permitió obtener los sitios de acoplamiento y determinar la estabilidad de la interacción, lo cual nos indicó que los sitios activos de la lectina no se comprometen y permiten mantener su actividad biológica. Posteriormente, se realizó la funcionalización covalente entre los NTC y las lectinas *Sambucus nigra* y *Phaseolus lunatus*, así como el acoplamiento lectina y quercetina. Los nanomateriales obtenidos fueron caracterizados por MEB, EDS, actividad antioxidante y actividad de lectina. Finalmente, los nanocompuestos fueron evaluados sobre la línea celular MCF-7 de cáncer de mama para determinar su efecto sobre las mismas mediante ensayos de MTT. Los resultados indicaron que la citotoxicidad que presentan las biomoléculas de manera individual no se incrementa después de la funcionalización.

ABSTRACT

In Mexico, tens of thousands of cases of cancer are reported every year; however, even with the research carried out to date, breast cancer continues to occupy first place in terms of cancer deaths. There are different types of treatment for patients that include surgery, chemotherapy, radiotherapy, immunotherapy and targeted therapy, these being less frequently used.

In the area of study against cancer diseases, nanostructures are on the rise, useful as nanocarriers, in their detection and treatment; these nanostructures are modified in such a way that they can be useful for this purpose, examples of this are modified lipid particles, nanoliposomes, polymeric nanocapsules and nanospheres, nanosuspensions and carbon-based nanostructures. Carbon nanotubes are materials with great popularity in biological and medical applications, due to the properties they present and the use of these, thanks to functionalization, which has helped in their use as drug nanocarriers and in cancer therapies, due to the ease with which they can be modified.

Therefore, the objective of this work was to use plant lectins linked to quercetin linked to carbon nanotubes, to obtain nanocomposites with chemical and biological properties that allow their application in cancer cell line trials. These nanocomposites were designed by molecular docking followed by molecular dynamics, which allowed us to obtain the docking sites and determine the stability of the interaction, which indicated that the active sites of the lectin were not compromised and allowed it to maintain its biological activity. Subsequently, covalent functionalization was carried out between CNTs and the lectins *Sambucus nigra* and *Phaseolus lunatus*, as well as lectin and quercetin coupling. The nanomaterials obtained were characterized by SEM, EDS, antioxidant activity and lectin activity. Finally, the nanocomposites were evaluated on the MCF-7 breast cancer cell line to determine their effect on them using MTT assays. The results indicated that the cytotoxicity presented by the biomolecules individually does not increase after functionalization.

CONTENIDO

ÍNDICE DE FIGURAS	12
ÍNDICE DE TABLAS	14
I. INTRODUCCIÓN	15
II. FUNDAMENTO TEÓRICO	16
2.1 NANOTUBOS DE CARBONO	16
2.1.1 TIPOS DE NANOTUBOS DE CARBONO	18
Nanotubos de Carbono de Pared Simple	18
Nanotubos de Carbono de Pared Múltiple.....	19
2.1.2 MÉTODOS DE OBTENCIÓN.....	20
Descarga de arco.....	20
Ablación Láser.....	20
Deposición Química de Vapor	21
Aspersión pirolítica.....	22
2.1.3 TOXICIDAD	23
2.1.4 FUNCIONALIZACIÓN	23
Funcionalización covalente	24
Funcionalización no covalente	25
2.1.5 APLICACIONES BIOLÓGICAS.....	26
2.2 CÁNCER	27
2.2.1 DEFINICIÓN Y ANTECEDENTES.....	27
2.2.2 CÁNCER DE MAMA.....	29
2.2.3 GLICOSILACIÓN Y SU ASOCIACIÓN EN CÁNCER.....	31
2.3 FLAVONOIDES	32
2.3.1 QUERCETINA.....	33
2.4 LECTINAS	34
2.4.1 <i>Phaseolus lunatus</i> (PHA).....	34
2.4.2 <i>Sambucus nigra</i> (SNA).....	35

2.5 DOCKING Y DINÁMICA MOLECULAR	36
III. ANTECEDENTES.....	38
IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	40
V. HIPÓTESIS.....	40
VI. JUSTIFICACIÓN.....	41
VII. OBJETIVOS	42
OBJETIVO GENERAL.....	42
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	42
VIII. METODOLOGÍA.....	43
8.1 DOCKING MOLECULAR	44
8.2 DINÁMICA MOLECULAR	44
8.3 ACOPLAMIENTO DE <i>PHASEOULUS LUNATUS</i> CON QUERCETINA (PHA-Q).....	45
8.4 ACOPLAMIENTO DE <i>SAMBUCUS NIGRA AGGLUTININ</i> CON QUERCETINA (SNA-Q) .	45
8.5 FUNCIONALIZACIÓN DE NANOTUBOS DE CARBONO CON COMPLEJO LECTINA-QUERCETINA (NTC-LEC-Q).....	45
8.6 ACTIVIDAD DE LECTINA	46
<i>Determinación de proteínas</i>	46
8.7 DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.....	47
8.8 EVALUACIÓN BIOLÓGICA DEL NANOCOMPUESTO	47
<i>ENSAYO MTT</i>	48
IX. RESULTADOS.....	49
9.1 DOCKING Y DINÁMICA MOLECULAR	49
9.1.1 <i>NTC-PHA-Q</i>	49
9.1.2 <i>NTC-SNA-Q</i>	50
9.2 CARACTERIZACIÓN DE NANOMATERIALES.....	52
9.2.1 <i>NANOTUBOS DE CARBONO</i>	52
9.2.2 <i>QUERCETINA</i>	54

9.2.3 NTC-PHA-Q	55
9.2.4 NTC-SNA-Q	56
9.3 ACTIVIDAD DE LECTINA	57
9.3.1 CUANTIFICACIÓN DE PROTEÍNA	57
9.4 DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE	58
9.5 EVALUACIÓN DE CITOTOXICIDAD	59
X. DISCUSIÓN	67
XI. CONCLUSIONES	69
XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71
ANEXOS A.....	87
CURVA ESTÁNDAR DE BSA	87
CURVA ESTÁNDAR DE ÁCIDO ASCÓRBICO.....	88
ANEXOS B.....	90

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura II-1. Clasificación de Materiales de Carbono..	16
Figura II-2. Diferentes conformaciones que llegan a presentar los NTC dependiendo del enrollamiento de la lámina de grafeno	18
Figura II-3. Clasificación de NTC por número de capas.	19
Figura II-4. Diagrama esquemático del método por descarga de arco.	20
Figura II-5. Diagrama esquemático del método por ablación láser.	21
Figura II-6. Diagrama esquemático del método de CVD.	22
Figura II-7. Diagrama esquemático del método de aspersión pirolítica.	22
Figura II-8. Características del cáncer.	28
Figura II-9. Número de nuevos casos en 2020 a nivel mundial, ambos sexos, todas las edades.	29
Figura II-10. Modelo conceptual del cáncer de mama.	30
Figura II-11. Estructura general de flavonoide.	32
Figura II-12. Estructura de la quercetina	33
Figura II-13. Estructura secundaria de la lectina <i>Phaseolus lunatus</i> .	35
Figura II-14. Estructura secundaria de la lectina <i>Sambucus nigra agglutinin</i> .	35
Figura II-15. Representación esquemática de la utilización de docking molecular.	37
Figura VIII-1. Diagrama de la metodología utilizada	43
Figura IX-1. Interacción NTC-PHA-Q obtenida por dinámica molecular.	49
Figura IX-2. Interacción NTC-SNA obtenida por dinámica molecular.	51
Figura IX-3. Caracterización de NTC sin funcionalizar.	52
Figura IX-4. Caracterización de NTC sin funcionalizar.	53
Figura IX-5. Análisis EDS por mapeo de NTC sin funcionalizar	53
Figura IX-6. Quercetina, micrografía por SEM	54
Figura IX-7. Análisis EDS por mapeo de quercetina	54
Figura IX-8. Micrografía de NTC-PHA-Q por SEM	55
Figura IX-9. Análisis EDS por mapeo de NTC-PHA-Q,	55
Figura IX-10. Micrografía de NTC-SNA-Q por SEM	56
Figura IX-11. Análisis EDS por mapeo de NTC-SNA-Q	56

Figura IX-12. Evaluación de citotoxicidad de <i>Phaseolus lunatus</i> sobre células MCF-7 a las 24 h.	60
Figura IX-13. Evaluación de citotoxicidad de <i>Phaseolus lunatus</i> sobre células MCF-7 a las 48 h.	61
Figura IX-14. Evaluación de citotoxicidad de <i>Sambucus nigra</i> sobre células MCF-7 a las 24 h.	62
Figura IX-15. Evaluación de citotoxicidad de <i>Sambucus nigra</i> sobre células MCF-7 a las 48 h.	63
Figura IX-16. Evaluación de citotoxicidad a las 24 h sobre células MCF-7	64
Figura IX-17. Evaluación de citotoxicidad a las 48 h sobre células MCF-7	65
Figura IX-18. Evaluación de citotoxicidad a las 48 h sobre células MCF-7	66
Figura A-XIII-1. Gráfico de la curva estándar obtenida con BSA.....	88
Figura A-XIII-2. Gráfico de la curva estándar obtenida con Ácido ascórbico.....	89

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla II-1. Métodos de funcionalización y efectos en las propiedades de NTC	24
Tabla VIII-1. Fuente de las moléculas utilizadas en acoplamiento y dinámica molecular	44
Tabla VIII-2. Concentraciones de los tratamientos con las células MCF-7	48
Tabla IX-1. Sitios y energías de interacción entre PHA y NTC de 40 Å de pared simple.....	50
Tabla IX-2. Sitios y energías de interacción entre SNA y NTC de 40 Å de pared simple.....	51
Tabla IX-3. Prueba de hemaglutinación de los diferentes compuestos y nanocompuestos evaluados	57
Tabla IX-4. Concentración de proteína de cada nanocompuesto evaluado, técnica de Bradford	58
Tabla IX-5. Capacidad antioxidante de cada nanocompuesto evaluado, determinación de DPPH.	58
Tabla IX-6. Promedio y desviación estándar de los porcentajes de citotoxicidad de los ensayos de la lectina <i>Phaseolus lunatus</i> sobre células de cáncer MCF-7 a las 24 h.	59
Tabla IX-7. Promedio y desviación estándar de los porcentajes de citotoxicidad de los ensayos de la lectina de <i>Phaseolus lunatus</i> sobre células de cáncer MCF-7 a las 48 h.	60
Tabla IX-8. Promedio y desviación estándar de los porcentajes de citotoxicidad de los ensayos de la lectina <i>Sambucus nigra</i> sobre células de cáncer MCF-7 a las 24 h.	61
Tabla IX-9. Promedio y desviación estándar de los porcentajes de citotoxicidad de los ensayos de la lectina <i>Sambucus nigra</i> sobre células de cáncer MCF-7 a las 48 h.	62
Tabla A-1. Elaboración de curva estándar de Bradford	87
Tabla A-2. Concentraciones de ácido ascórbico para curva estándar	88

I. INTRODUCCIÓN

El acoplamiento y la dinámica molecular es un proceso en donde se acoplan estructuras macromoleculares para predecir conformaciones de unión; siendo un área emergente por la utilidad de obtener mejores resultados y conclusiones tanto de manera teórica como experimental, así como una comparativa de los mismos.

Los nanotubos de carbono presentan gran área superficial, baja densidad, resistencia mecánica, térmica, entre otras; haciendo uso de la modificación de sus propiedades superficiales a través de la funcionalización con moléculas diversas, abriéndose paso cada vez más en el área biológica, sobre todo en el área médica por su facilidad de sintetización y poder suministrar eficazmente el medicamento.

Por otro lado, algunos flavonoides han presentado propiedades anticancerígenas, además de antivirales, antiinflamatorias y antioxidantes, siendo moléculas prometedoras para su utilización sobre líneas tumorales, dentro de las que podemos destacar la quercetina. La quercetina presenta propiedades antiinflamatorias y anticancerígenas, por ello se han realizado varios estudios donde se reporta como una molécula biológicamente activa como posible tratamiento ante una amplia gama de enfermedades, incluyendo el cáncer. De igual manera, las lectinas, glicoproteínas que han sido estudiadas recientemente en el campo de aplicación médica, por su reconocimiento a carbohidratos de manera específica y reversible presentes en la membrana celular de ciertas líneas celulares cancerosas, lo cuál las ha hecho útiles como herramientas de diagnóstico de cáncer.

La incidencia de casos de cáncer ha ido en aumento a causa de diversos factores, siendo el cáncer de mama el que presenta cifras más altas. Aunque actualmente la concientización sobre el diagnóstico temprano, así como las investigaciones y novedosos tratamientos acerca del mismo son cada vez más prometedores, aún queda una gran brecha por estudiar en el campo de tratamientos cada vez menos invasivos y más eficaces. Dentro de este marco se hace mención al uso de nanocompuestos para el transporte de fármacos, cómo se menciona en el presente trabajo utilizando nanotubos de carbono como nanotransportadores de lectina y quercetina con posible aplicación al tratamiento de cáncer de mama.

II. FUNDAMENTO TEÓRICO

2.1 NANOTUBOS DE CARBONO

Los materiales a base de carbono están compuestos de átomos de carbono, en una amplia diversidad de estructuras y propiedades, incluso dimensiones distintas. Estructuralmente los podemos dividir en diamante, grafito, fullerenos, carbino, etc (Figura II-1).

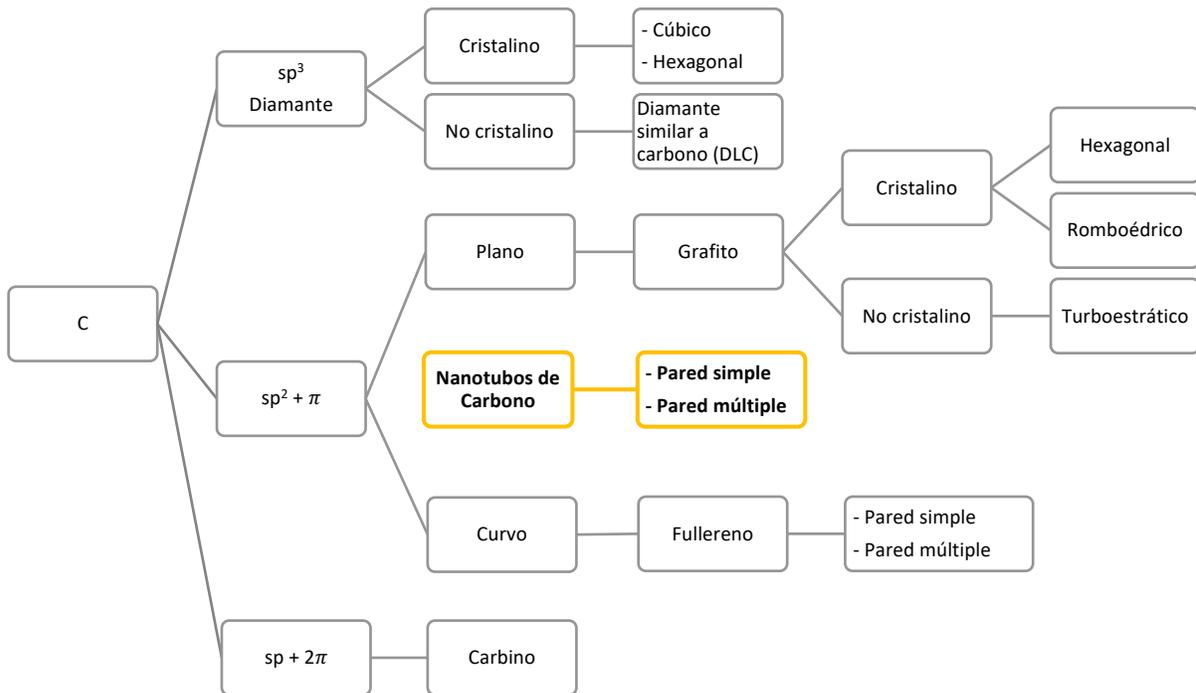


Figura II-1. Clasificación de Materiales de Carbono. Adaptación de (Inagaki et al., 2014).

Los nanomateriales a base de carbono (NMC) son usados ampliamente debido a las propiedades químicas, electrónicas y mecánicas dadas por su estructura tan particular, dentro de estos materiales podemos encontrar al grafeno, puntos de carbono (carbon dots) y nanotubos de carbono (NTC), siendo éstos últimos los de principal interés para el proyecto debido a la versatilidad que presentan además de las múltiples investigaciones actuales que se realizan en el campo biomédico.

Los NTC son hojas de grafeno enrolladas sobre sí mismas, formadas de enlaces puros de carbono por enlaces covalentes híbridos sp^2 . Estos materiales presentan amplias propiedades, las cuales dependen en gran medida por las capas concéntricas que posea, el grado de enrollamiento y diámetro del mismo. Dentro de sus propiedades más estudiadas han sido resistencia mecánica, dureza, conductividad eléctrica, conductividad térmica, amplia área superficial, cualidad de color y polarización, entre otras (Baladrán-Quintana et al., 2008; Kharissova et al., 2004; O'Connell, 2018; Peigney et al., 2001).

Estos nanomateriales pueden variar de diámetro (4 a 30 nm), al igual que de longitud, ($\approx 1 \mu\text{m}$); pudiendo diferir en su número de capas y quiralidad (Figura II-2. Diferentes conformaciones que llegan a presentar los NTC dependiendo del enrollamiento de la lámina de grafeno: a) armchair, b) zigzag, c) chiral) (Dai, 2002). Siendo estructuras cilíndricas, las podemos clasificar en dos grupos: nanotubos de carbono de pared simple (simple walled carbon nanotubes, SWCNT) y nanotubos de carbono de pared múltiple (multi-walled carbon nanotubes, MWCNT) (Iijima, 1991, 2002).

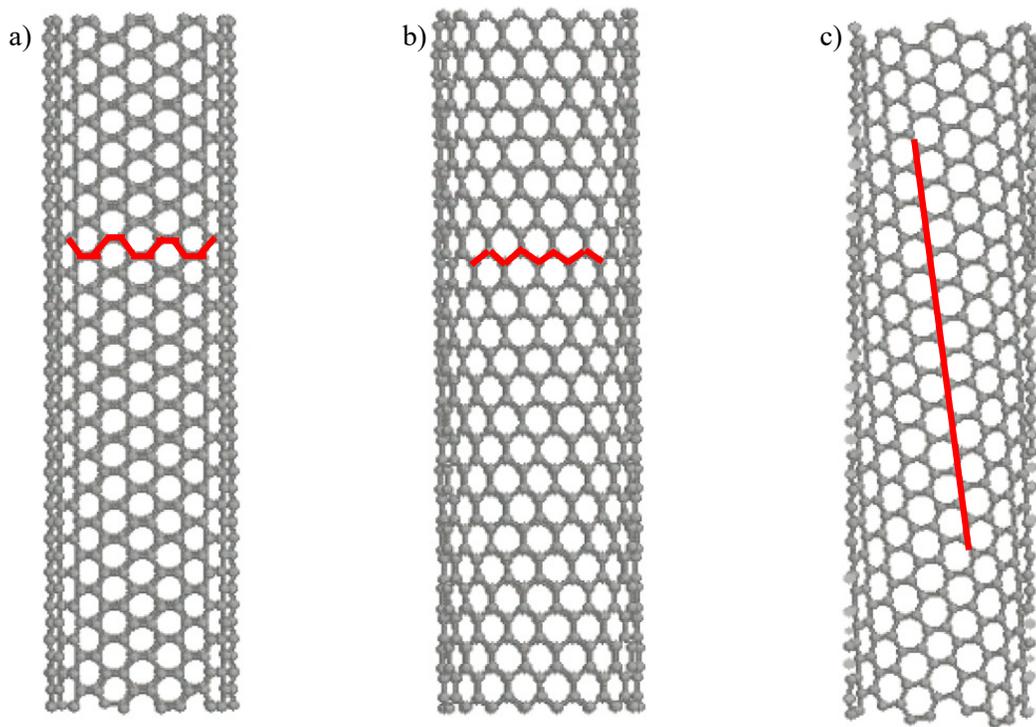


Figura II-2. Diferentes conformaciones que llegan a presentar los NTC dependiendo del enrollamiento de la lámina de grafeno: a) armchair, b) zigzag, c) chiral

2.1.1 TIPOS DE NANOTUBOS DE CARBONO

Nanotubos de Carbono de Pared Simple

Los NTC de pared simple o pared única (SWCNT, por sus siglas en inglés), están formados por una sola capa de grafeno enrollada, de longitud en el rango de nanómetros, con un diámetro de alrededor de los 2 nm (Figura II-3). Los SWCNT presentan una alta fuerza mecánica, una resistividad que va de 10^{-4} a $10^{-3} \Omega \cdot m$; poseen una estabilidad térmica a $1400 \text{ }^\circ\text{C}$ en el vacío, también son flexibles y más fáciles de caracterizar. Emiten electrones desde sus puntas cuando son expuestos a campos eléctricos bajos; por su escala nanométrica poseen una gran capacidad de adsorción, se ha reportado que a menor diámetro incrementa la conductividad eléctrica del material, al igual que la térmica (Aqel et al., 2012; Iijima, 2002; Kaur, 2018; Rao et al., 2018; Taib et al., 2021). Dadas sus propiedades la nanotecnología se ha centrado en sus aplicaciones en textiles inteligentes, transistores, circuitos y baterías; sin embargo, dado su tamaño presentan

mayor toxicidad comparado con los MWCNT, y llegan a ser más costosos para sintetizar por la dificultad de controlar las condiciones de crecimiento y atmosféricas en la que se sintetiza.

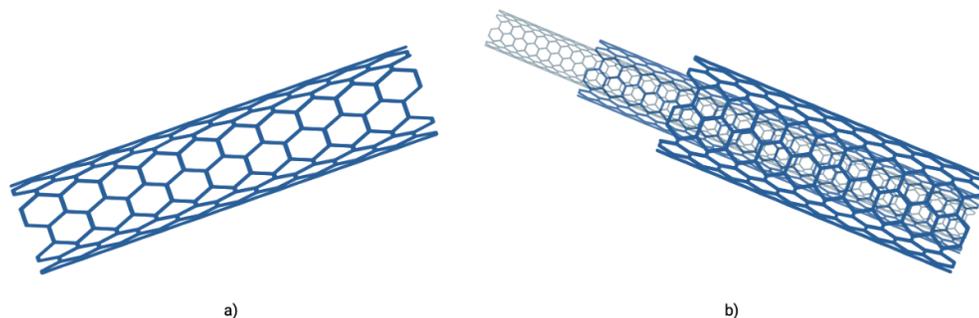


Figura II-3. Clasificación de NTC por número de capas: a) NTC de pared simple, b) NTC de pared múltiple.

Nanotubos de Carbono de Pared Múltiple

Los nanotubos de pared múltiple o multipared (MWCNT, por sus siglas en inglés), presentan diversas hojas de grafeno enrolladas de forma concéntrica (modelo de muñeca rusa, Figura II-3) ó de una sola hoja enrollada sobre sí misma (modelo de Parchment), con un diámetro promedio de 55 nm. Es una estructura compleja, por lo que presenta menor probabilidad de generar defectos durante la funcionalización. Otra ventaja frente a los SWCNT, es su capacidad de ser sintetizados fácilmente a nivel industrial. Presentan una resistividad de 1.8×10^{-5} a $6.1 \times 10^{-5} \Omega \cdot m$. La conductividad que presenta es superior a los $2000 \text{ W/m} \cdot \text{K}$, con una fuerza de tensión de $4.5 \times 10^{12} \text{ Pa}$; siendo su principal característica un área superficial elevada, $\sim 30 \text{ m}^2/\text{g}$, en donde pueden llevarse a cabo diferentes reacciones químicas o como almacenamiento de otras moléculas (Álvarez Méndez, 2016; Balandrán-Quintana et al., 2008; Deshpande & Mahendru, 2018; Díaz López, 2008; Saifuddin et al., 2013; Taib et al., 2021).

Al igual que los SWCNT los NTC de pared múltiple se han utilizado como electrocatalizadores, electrodos de batería, circuitos, adsorción, entre otras; siendo más recientemente explorado como biosensor y nanotransportador.

2.1.2 MÉTODOS DE OBTENCIÓN

Descarga de arco

El método de descarga de arco fue el primero en ser utilizado para la síntesis de NTC, en donde se obtienen NTC de pared simple y múltipared. Se basa en la producción de un arco eléctrico a lo largo de 1 mm entre dos electrodos de grafito, con un diámetro de 5 a 20 mm y un gas inerte (He, Ar) como atmósfera de la reacción, a una presión de 100 a 1000 torr, ocupando una fuente de voltaje ($\approx 12 - 25$ V) con una corriente de 12 a 120 A (Bacon, 2004; Grebenyukov et al., 2008) (Figura II-4).

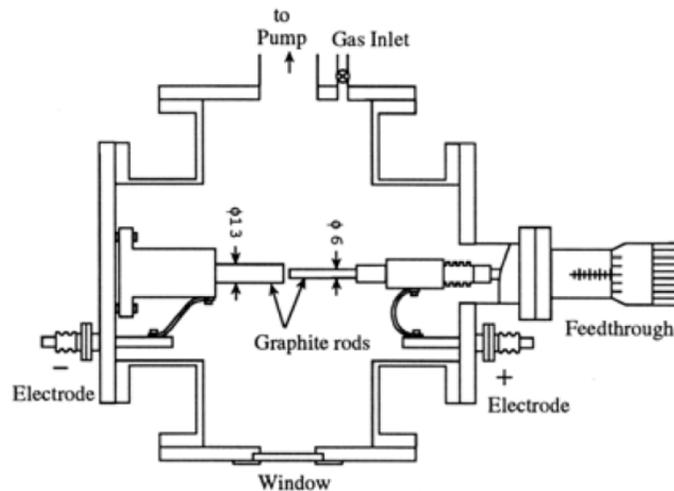


Figura II-4. Diagrama esquemático del método por descarga de arco (Grebenyukov et al., 2008).

Ablación Láser

En el interior de un horno en un tubo de cuarzo es colocado una mezcla de cobalto-níquel al emplear un blanco de grafito. Es vaporizado con un pulso láser en una atmósfera inerte de Ar ó He, a una presión de ~ 500 torr, a una temperatura de 1200 °C (Figura II-5). El producto final y el residual es rescolectado por condensación (Dai et al., 1996; Grebenyukov et al., 2008). Por ablación láser se obtienen NTC de pared simple, pudiendo variar el diámetro dependiendo de la temperatura utilizada, sin embargo, suele ser un método costoso.

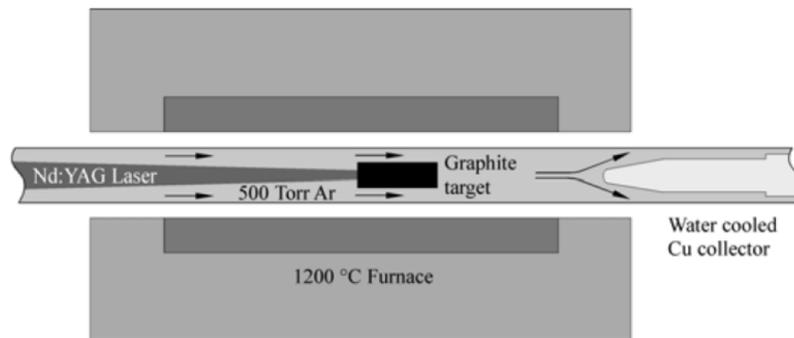


Figura II-5. Diagrama esquemático del método por ablación láser (Dai et al., 1996).

Deposición Química de Vapor

Por sus siglas en inglés CVD (Chemical Vapor Deposition), es el método más utilizado para la obtención de materiales a base de carbono por su bajo costo y fácil implementación.

Esta técnica promueve reacciones químicas dentro de una cámara de reacción y son activadas por altas temperaturas (entre 800 °C y 1000 °C); los precursores pueden ser líquidos, sólidos o gaseosos. Teniendo la cámara de reacción salida a los precursores y productos no involucrados en el producto final (Avouris & Dimitrakopoulos, 2012; Y. Dong et al., 2020; Ruiz Hernández et al., 2021).

Las configuraciones del equipo pueden ser en horizontal o vertical, siendo a nivel laboratorio utilizado en configuración horizontal, mientras que a nivel industrial se realiza en equipos verticales.

Generalmente se utiliza un tubo de cuarzo en un horno tubular eléctrico, en los extremos del tubo se colocan juntas de vidrio de borosilicato para el acoplamiento de las tuberías para los precursores con el flujo de un gas acarreador (argón, nitrógeno o hidrógeno) (Figura II-6). Los precursores utilizados comúnmente para la síntesis de nanoestructuras de carbono son hidrocarburos, aunque recientemente se ha explorado la obtención a partir de cualquier fuente de carbono (Choi & Rhee, 2001; Ruan et al., 2014; Teo et al., 2003).

Existen subprocesos derivados de CVD tales como: deposición química de vapor a presión ambiental (APCVD), a baja presión (LPCVD), asistida por aerosol (AACVD), activada por plasma (PECVD), asistida por microondas y activación por plasma (MW-PECVD) (Ruiz Hernández et al., 2021).

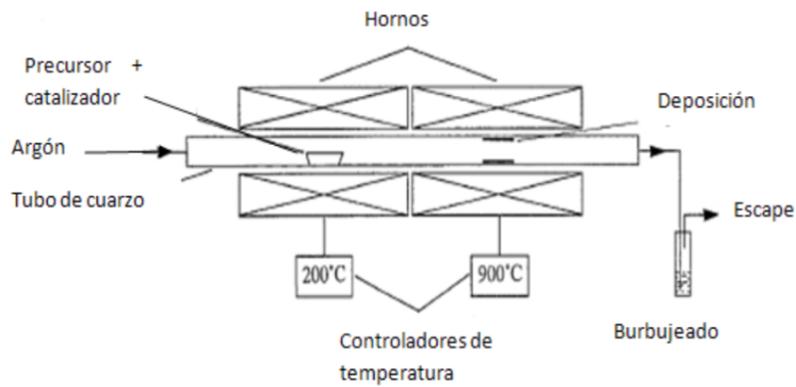


Figura II-6. Diagrama esquemático del método de CVD (Ruiz Hernández et al., 2021).

Aspersión pirolítica

El método de síntesis por aspersión pirolítica es derivado del sistema CVD; se puede controlar morfología y composición de las partículas a sintetizar, dado que se permite modificar variables para optimizar el proceso. Es un proceso continuo en donde se pueden obtener fácilmente NTC de pared múltiple.

Consiste en pulverizar y proyectar la solución acuosa (fuente de carbono), sobre un sustrato que se encuentra en un horno cilíndrico con un termostato. Una mezcla organometálica es bombardeada con una bomba peristáltica hacia un nebulizador, un flujo de gas inerte (Ar o He) lleva la solución pulverizada a través un tubo de cuarzo a temperatura elevada ($\sim 1000\text{ }^{\circ}\text{C}$) (Figura II-7) (Aguilar-Elguézabal et al., 2006; Bravo et al., 2007).

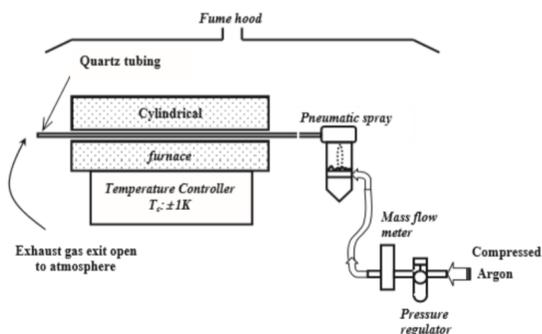


Figura II-7. Diagrama esquemático del método de aspersión pirolítica (Aguilar-Elguézabal et al., 2006).

2.1.3 TOXICIDAD

Siendo los NTC materiales que presentan propiedades superiores a otros materiales, se ha aplicado en diversas áreas de la ciencia de materiales y en las últimas décadas en medios biológicos; sin embargo, el principal obstáculo que se ha presentado es la toxicidad y biocompatibilidad de los NTC. Las variables que afectan son desde el tamaño y área de superficie, carga, funcionalización y quiralidad (Holmannova et al., 2022).

Los NTC pueden inducir muerte celular, después de ponerse en contacto con la membrana celular o internalización, dadas las dimensiones de los nanotubos, lo que provoca que interaccionan con el sistema inmune mediante reacciones inflamatorias al detectarlo como patógeno (Balandrán-Quintana et al., 2008; Chiaretti et al., 2008).

Se ha detectado que inhibe la producción de progesterona en modelos in vivo, además de la inducción de producción de ROS (especies reactivas de oxígeno) y modificando la membrana mitocondrial, logrando ser reversible después de su eliminación (Qu et al., 2017). Además, se ha observado disminución en la viabilidad celular, aumentando el estrés oxidativo y disminuyendo la actividad de enzimas antioxidantes (Sanand et al., 2018). Siendo que en modelos in vitro e in vivo ha presentado toxicidad en el sistema reproductivo y a su vez reduciendo la fertilidad.

2.1.4 FUNCIONALIZACIÓN

Dada la toxicidad que presentan estos nanomateriales se ha recurrido a modificaciones al mismo para disminuir la toxicidad del organismo, además esto ha influido al ampliar las aplicaciones de los NTC a otras áreas además de resistencia y como conducto o sensor en sistemas mecánicos. La efectividad de las modificaciones de los nanotubos altera la superficie del mismo, permitiendo ser empleado en sistemas biológicos.

La funcionalización se utiliza para alterar los nanotubos modificando las propiedades de adsorción de los átomos o moléculas en las paredes externas e internas, añadiendo grupos funcionales en ellas, mejorando su solubilidad y dispersión, variables importantes para su aplicación en medios biológicos (Al-Mubaddel et al., 2017; Andrade Guel et al., 2012; Lehman et al., 2011).

Tabla II-1. Métodos de funcionalización y efectos en las propiedades de NTC (Modificado de (Dubey et al., 2021)).

Método de funcionalización	Efecto en NTC
Fluoración	Mayor solubilidad en disolventes orgánicos
Cicloaddición 1,3-dipolar	Mayor solubilidad en disolventes acuosos y orgánicos
Reducción de sal de aril y diazonio	Mayor solubilidad en disolventes orgánicos
Reactiva de especies	Funcionalización adicional de derivados
Formación de complejos moleculares con metales	Mayor solubilidad y estabilidad en disolventes orgánicos
Carboxilación	Derivación adicional, mayor solubilidad en disolventes orgánicos
Deposición de nanopartículas	Solubilidad en agua, capacidad de atrapar iones metálicos
Envoltura o encapsulación de polímeros	Mejora de dispersión de NTC en disolventes polares y no polares.

Los procedimientos de funcionalización varían de acuerdo al grupo funcional a adicionar en las paredes (externas o internas), además de que se pueden tener funcionalizaciones de tipo covalente y no covalente (Álvarez Méndez, 2016).

Como se menciona en la Tabla II-1, la generación de diferentes grupos funcionales beneficia la interacción NTC con el medio, obteniendo una mejora en la dispersión o solubilidad de los mismos, sirviendo además como grupos de anclaje.

Funcionalización covalente

Este tipo de funcionalización se basa en la unión de varios grupos funcionales a los extremos o paredes mediante enlaces covalentes, produciendo una gran diversidad de NTC funcionalizados; esto se puede dar con fluoración, hidrogenación, amidación, esterificación, tiolación, silanización u otros (Camarena Díaz, 2011; Delgado et al., 2007).

Los enlaces covalentes actúan como sitios de sustitución para la funcionalización e inclusive reacciones de sustitución secundaria, conduciendo a una mayor solubilidad en agua y en disolventes orgánicos (Álvarez Méndez, 2016; Dubey et al., 2021).

Funcionalización no covalente

Es un tipo de modificación que utiliza compuestos aromáticos, agentes tensioactivos y polímeros, que se basa en interacciones en la parte hidrofóbica de las moléculas adsorbidas con las paredes laterales de nanotubos a través de van der Waals, π - π , CH- π y otras interacciones, siendo la parte hidrofílica la que proporciona la solubilidad. Este método crea dispersiones acuosas estables y limitando la citotoxicidad del material final (Delgado et al., 2007; Dubey et al., 2021).

2.1.5 APLICACIONES BIOLÓGICAS

Como se ha mencionado anteriormente la modificación de las superficie deriva en una mejor solubilidad y en moléculas activas, haciendo a los NTC compatibles con sistemas biológicos.

Los NTC funcionalizados (f-NTC) con moléculas bioactivas se han investigado en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades, es decir, como biosensores, nanotransportadores y nanovectores, aprovechando su tamaño y estructura, así como la combinación de las propiedades de las biomoléculas con las de los NTC.

Como biosensores dadas sus propiedades de conductividad, se utilizan para el estudios de proteínas, así como en el reconocimiento de células diana patógenas en ambientes fisiológicos (Chou et al., 2005; Huang et al., 2006; Jain, 2005). También se ha utilizado como tratamiento de diagnóstico de cáncer, con límites de detección muy bajos, bajo costo y alta sensibilidad de biomarcadores tumorales (Eatemadi et al., 2014).

En el área terapéutica se ha aprovechado su capacidad de absorción de luz en el infrarrojo cercano (NIR, por sus siglas en inglés) en fototerapia, siendo considera como un tratamiento selectivo por la combinación de irradiación láser a 980 nm destruyendo la célula diana, célula de cáncer, siendo utilizado en células de cáncer de mama, glioblastoma multiforme, entre otros (Brennan et al., 2003; Gannon et al., 2007; Qin et al., 2015; Sobhani et al., 2017; Tchounwou et al., 2015; Zhou et al., 2011).

Pero principalmente se ha utilizado NTC como transportador de fármacos, genes (DNA, RNA), proteínas, anticuerpos y otras moléculas, debido a su naturaleza hidrofóbica pueden permanecer en el sistema circulatorio por un período más prolongado (Anzar et al., 2020; Chakrabarti et al., 2015; Dey & Das, 2013; Khan et al., 2016). Como tratamiento del cáncer se ha funcionalizado con fármacos oncológicos como doxorubicina, paclitaxel, taxol, lobaplatino, cisplatino, raloxifeno (Jawahar et al., 2020; Kim et al., 2015; Muzi et al., 2015; Pasban et al., 2019; Rathod et al., 2019; Rezaian et al., 2018; Saeednia et al., 2019; Tavakolifard et al., 2016; Vinothini et al., 2019; Yu et al., 2018; Zhang et al., 2009).

2.2 CÁNCER

2.2.1 DEFINICIÓN Y ANTECEDENTES

Se define cáncer como el conjunto de enfermedades caracterizadas por el crecimiento excesivo y descontrolado de células anormales que invaden y dañan tejidos y órganos. Siendo resultado del aumento de la proliferación de un grupo de células (tumor, neoplasia) y una posterior proliferación de estas células en otros tejidos u órganos, metástasis (Longo et al., 2012; Muñoz, 1997).

Se puede clasificar el cáncer según el órgano o tejido en el que se originan, y al tipo específico de célula, su localización en el organismo y la estructura del tumor. Los distintos cánceres presentan características y comportamientos específicos, lo cual hace que sean en realidad enfermedades diferentes, debiéndose no sólo al tipo celular en el que se originan, sino también a las causas que lo produjeron, ligándose entre sí (Muñoz, 1997).

Las células cancerosas se diferencian de las normales al poder crecer sin control resultando en invasivas, son menos especializadas que las células normales, invaden otros tejidos y se diseminan a otras partes del cuerpo “metástasis”, estimulan la angiogénesis además de evadir la apoptosis (Hausman, 2019; Rodwell, 2015). Estas características importantes de las células cancerosas se ven resumidas en la Figura II-8 (Hanahan & Weinberg, 2011).

Se puede clasificar el cáncer según el órgano o tejido en el que se originan, y al tipo específico de célula, su localización en el organismo y la estructura del tumor. Los distintos cánceres presentan características y comportamientos específicos, lo cual hace que sean en realidad enfermedades diferentes, debiéndose no sólo al tipo celular en el que se originan, sino también a las causas que lo produjeron, ligándose entre sí (Muñoz, 1997; Rodwell, 2015).

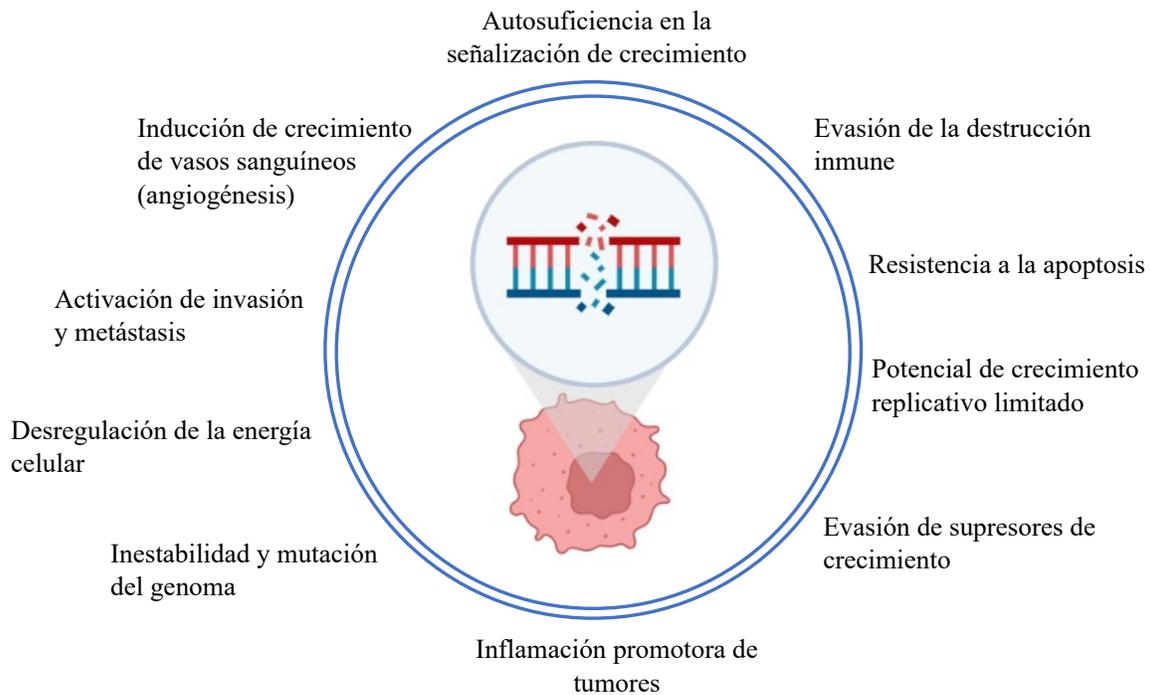


Figura II-8. Características del cáncer

Por lo que se considera al cáncer como una enfermedad genética, causada por cambios en los genes que controlan la forma cómo funcionan nuestras células. Los cambios o las alteraciones son el resultado de la interacción entre los factores genéticos del paciente y tres categorías de agentes externos (Jacob et al., 2015):

- Carcinógenos físicos, como las radiaciones ultravioletas e ionizantes
- Carcinógenos químicos, como el amianto, los componentes del humo de tabaco, las aflatoxinas (contaminantes de los alimentos) y el arsénico (en el agua bebible)
- Carcinógenos biológicos, como determinados virus, bacterias y parásitos

La OMS (Organización Mundial de la Salud) mantiene una clasificación de los agentes cancerígenos a través de un órgano especializado, el Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (CIIC).

Aunque la mortalidad e incidencia del cáncer se ha visto disminuida en las últimas décadas gracias a la prevención, diagnóstico y tratamiento del mismo, aunque a nivel global no sea la misma situación. En cuanto a estadísticas actuales, el número de nuevos casos va en aumento,

no importando sexo o edad, teniendo un total de 18 094 716 nuevos casos, solo en el 2020; mientras que en el mismo año, el número de muertes por cáncer ascendió a 9 894 402, a nivel mundial (Figura II-9). En México, el número de nuevos casos fue de 195 499 en el mismo año, mientras que 90 222 fue el número de muertes en México por cáncer (Globocan, 2020c, 2020a; Santucci et al., 2020).

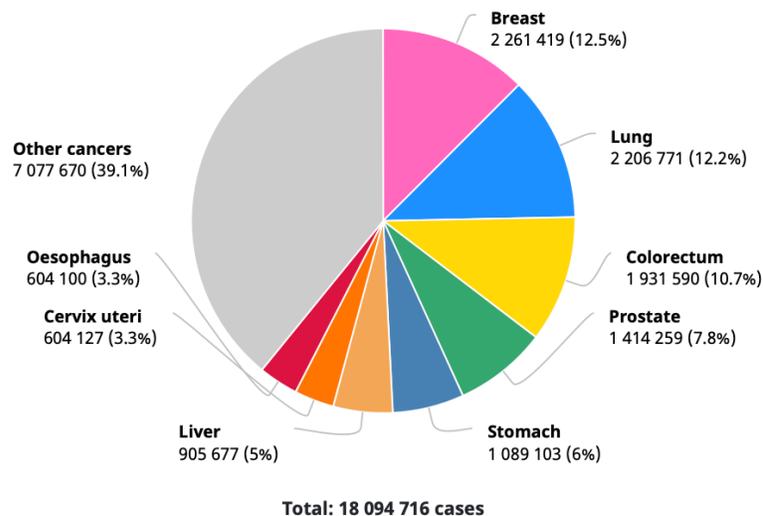


Figura II-9. Número de nuevos casos en 2020 a nivel mundial, ambos sexos, todas las edades (Globocan, 2020a).

2.2.2 CÁNCER DE MAMA

Se define como la proliferación maligna de células epiteliales que cubren los lóbulos de la mama. Comienza dentro de los lóbulos en las células epiteliales, avanzando por un continuo de hiperplasia, *in situ* hasta invasión de tejidos normales circundantes, seguido de los conductos linfáticos y vasos sanguíneos hacia los ganglios linfáticos locales y órganos distantes, terminando en metástasis (Figura II-10). Cabe aclarar que no todos evolucionan a través de estas etapas (Harbeck & Gnant, 2017; Longo et al., 2012).

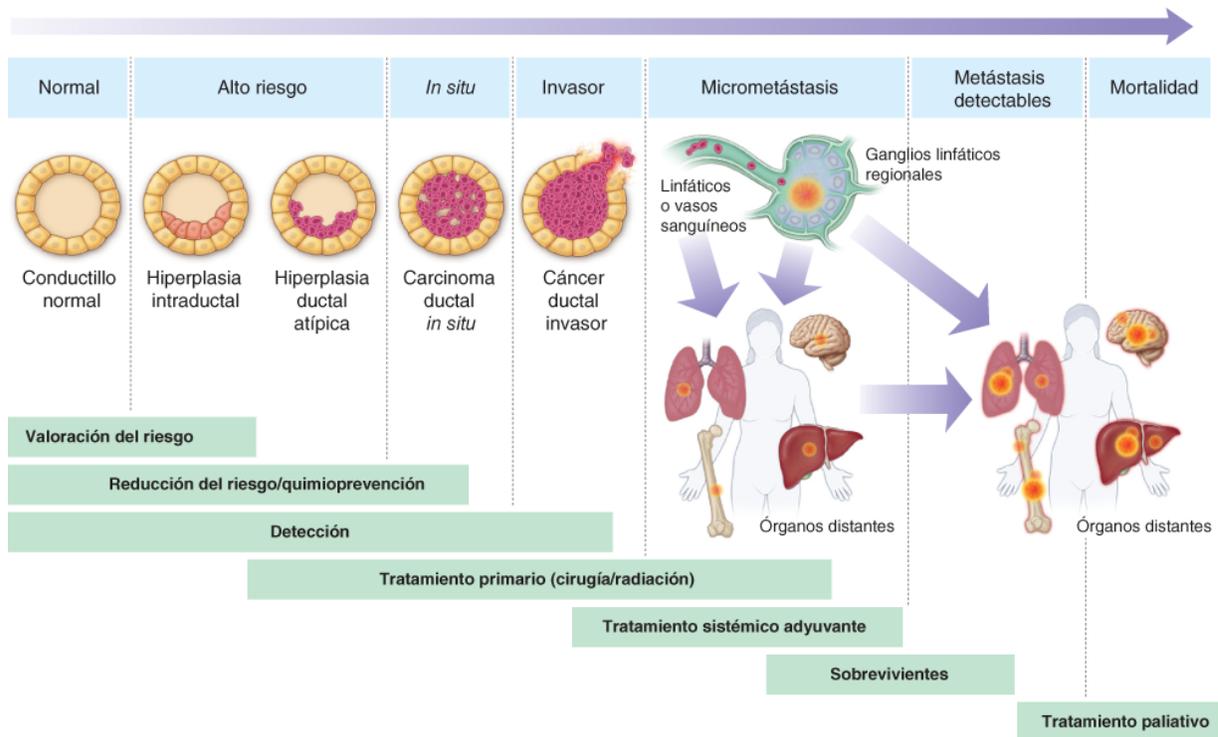


Figura II-10. Modelo conceptual del cáncer de mama (Longo et al., 2012).

Dada su biología se ha utilizado como modelo para investigación oncológica relacionada con tumores sólidos, además de estrategias terapéuticas y de diagnóstico.

A nivel mundial el cáncer de mama ocupa el primer lugar en incidencia, siendo el continente asiático donde hay mayor prevalencia; mientras que en mortalidad el cáncer de mama ocupa el quinto lugar (Globocan, 2020b). En México, ocupa la primera posición en incidencia en mujeres en el 2020, además de que presenta una tasa de mortalidad de 1.52 por cada 10 000 habitantes entre mujeres 30-59 años, cuya tasa se ve aumentada a 4.81 en mujeres mayores de 60 años (Globocan, 2020c; INEGI, 2023).

2.2.3 GLICOSILACIÓN Y SU ASOCIACIÓN EN CÁNCER

La glicosilación es un proceso de modificación transduccional de proteínas realizado en el retículo endoplásmico y en el aparato de Golgi, podemos decir que la glicosilación permite la unión de carbohidratos a proteínas. Estas modificaciones interfieren con la estructura y funcionalidad de las proteínas, además de un correcto plegamiento e interacción ligando-receptor; lo que a su vez se ve reflejada en la diferenciación celular, invasión del cáncer, infección vírica, bacteriana y parasitaria (Marín Quílez, 2022; Pérez-Aguilar et al., 2013).

Dependiendo del lugar de unión ocurren dos tipos de glicosilación: *N*-glicosilación y *O*-glicosilación. La *N*-glicosilación sucede en el retículo endoplasmático y comienza con la síntesis de un oligosacárido común constituido por catorce monosacáridos unido a un transportador lipídico anclado a la membrana del retículo endoplasmático. La *O*-glicosilación ocurre en el aparato de Golgi y comienza con la unión de *N*-acetilgalactosamina (GalNAc) al grupo hidroxilo de un residuo de serina o treonina presente en el esqueleto polipeptídico, formando el antígeno Tn (Hang & Bertozzi, 2005; Palomares, 2005; Tang et al., 2012).

Un error en el proceso de glicosilación puede dar lugar a diferentes patologías, como diabetes, obesidad y síndrome metabólico, cáncer, neurodegeneración, aterosclerosis, neutropenia febril, trombocitopenias congénitas (Marín Quílez, 2022).

En particular, el cáncer, es asociado cada tipo por un cambio distintivo en la estructura de los glicanos que se unen a las proteínas; siendo esto de vital importancia como diagnóstico del cáncer, al existir alteraciones en la expresión de las glicoproteína *N*-acetilgalactosaminiladas en diversas neoplasias comunes, carcinoma mamario, epidermoide de mucosa respiratoria, colorrectal, entre otros (Martínez et al., 2002; Pouilly et al., 2012). Específicamente en el cáncer de mama, se ha reportado niveles insignificantes en células derivada de epitelio mamario normal, niveles bajos en células de cáncer de mama primario y niveles elevados en células derivadas de tumores metastáticamente competentes (Brooks et al., 2001).

2.3 FLAVONOIDES

El término flavonoide se utiliza para referirse a compuestos polifenólicos caracterizados por una estructura benzo- γ -pirano. Químicamente, estas sustancias son de naturaleza fenólica y se caracterizan por poseer dos anillos aromáticos bencénicos unidos por un puente de tres átomos de carbono, con la estructura general C₆-C₃-C₆ (Figura II-11), los cuáles pueden formar o no un tercer anillo. Los sustituyentes más comunes del núcleo (aglicón) son grupos -OH, -OCH₃ y residuos de azúcares. Los azúcares se pueden unir al aglicón a través de enlaces C-O-C (O-glicósidos) o C-C (C-glicósidos) (Cartaya & Reynaldo, 2001; Cuesta Rubio et al., 2015; Escamilla Jiménez et al., 2009).

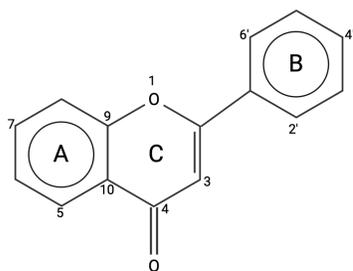


Figura II-11. Estructura general de flavonoide. Adaptado de (Cartaya & Reynaldo, 2001).

Estos compuestos son clasificados en varios subgrupos de acuerdo con la sustitución del anillo C. La estructura base de los flavonoides puede sufrir varias modificaciones. Los diferentes tipos de flavonoides están relacionados por una ruta biosintética común, la que incorpora del shiquimato y la acetato-malonato (Delgado Ciruelo, 2015).

Los flavonoides son metabolitos secundarios distribuidos fundamentalmente en plantas superiores, aunque se encuentran también en helechos y musgos.

Estos compuestos son metabolitos secundarios distribuidos en el reino vegetal, mostrando una amplia variedad de propiedades bioquímicas, fisiológicas, ecológicas y aplicaciones terapéuticas, además de efectos farmacológicos recientemente estudiados (Costa & Lock de Ugaz, 1993); en este campo, las actividades destacadas fueron citotóxica, quimiopreventiva, mutagénica y antimutagénica.

Se han empleado diferentes tipos de células cancerosas para el análisis de la actividad citotóxica de los flavonoides, entre las que se pueden mencionar: BC-1, MCF-7, Co-12, HT-29, Me12, SKMEL-5, MLM, Lu-1, A-549, HeLa, Tmolts, P-3388, L1210 y KB por mencionar algunos. Lo que ha arrojado la actividad anticancerígena de los flavonoides (Cushman & Nagarathnam, 1991).

2.3.1 QUERCETINA

La quercetina pertenece al subgrupo de los flavonoles, es una pentahidroxi flavona que tiene los cinco grupos hidroxilo colocados en las posiciones 3, 3', 4', 5 y 7 (Figura II-12). Se encuentra presente en diversas frutas y vegetales (cebollas, manzanas, bayas, chocolate, uva, té negro, té verde, cocoa, cereza, otros). Es sintetizada por las plantas a través de múltiples procesos enzimáticos a partir de la fenilalanina y malonil-CoA; y se encuentra conjugada con azúcares (Park, 2005).

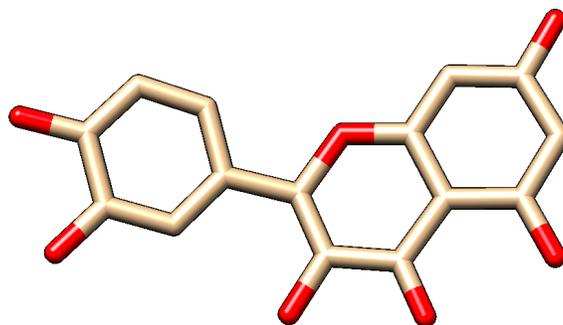


Figura II-12. Estructura de la quercetina (UCSF Chimera, pubchem.org)

Se ha informado que la quercetina se metaboliza principalmente en el hígado, mientras que la forma no absorbida puede metabolizarse en el intestino por microorganismos intestinales. La investigación de metabolitos ha revelado que se metaboliza por glucuronidación, hidroxilación, metilación y sulfonilación. El catabolismo de los flavonoides por microorganismos intestinales produce una variedad de ácidos fenólicos y phloroglucinol, los cuáles son usualmente no tóxicos

en pequeñas concentraciones. La quercetina es mutagénica pero aparentemente no carcinogénica. Interactúa en una manera inhibitoria con un número de sistemas enzimáticos aparentemente dispares (Park, 2005; Rossi et al., 1986).

A pesar de los múltiples estudios que existen no se conoce por completo el mecanismo de acción, se ha encontrado que la quercetina inhibe el crecimiento tumoral y existe evidencia experimental de varios mecanismos; se sabe que las células tumorales tienen una alta tasa de glucólisis aeróbica debido a la mayor actividad de ATPasa (Rossi et al., 1986). También hay reportes donde indica que induce una mayor producción de especies de oxígeno reactivas (ROS) (Cirillo et al., 2013), así como ser causante de apoptosis mediante la modulación del control canceroso.

2.4 LECTINAS

Las lectinas son glicoproteínas de origen no inmune que contiene un dominio de reconocimiento de carbohidrato, mediante este dominio se pueden unir de manera específica y reversible a monosacáridos u oligosacáridos específicos (Fei Fang & Bun Ng, 2013) (Nascimento, y otros, 2012).

Se han encontrado lectinas en casi todas las plantas estudiadas, principalmente en leguminosas, también en hongos y en diferentes tejidos y órganos de vertebrados e invertebrados.

2.4.1 *Phaseolus lunatus* (PHA)

La lectina de *Phaseolus lunatus* proviene del frijol conocido como frijol lima, Ib, comba o frijol mantequilla, es uno de los cinco taxa domesticados del género *Phaseolus*. En México se siembra sobre todo en occidente (López-A, Lépiz-I, González-E, Rodríguez-M, & López-A, 2016).

La lectina ha sido estudiada en forma de extracto crudo o preparaciones parcialmente purificadas, demostrando especificidad para eritrocitos tipo A y una inhibición específica por N-acetil-D-galactosamina (GalNAc). La forma predominante es un tetrámero de subunidades de 31 kDa el cual es divalente para GalNAc (Galbraith & Goldstein, 1970) (Gould & Scheinberg, 1970) (Figura II-13) (Roberts & Goldstein, 1983). Presenta sitios de glicosilación con GalNAc en N53, N82, N100, N129 y N205 (UniProt, s/f-a).

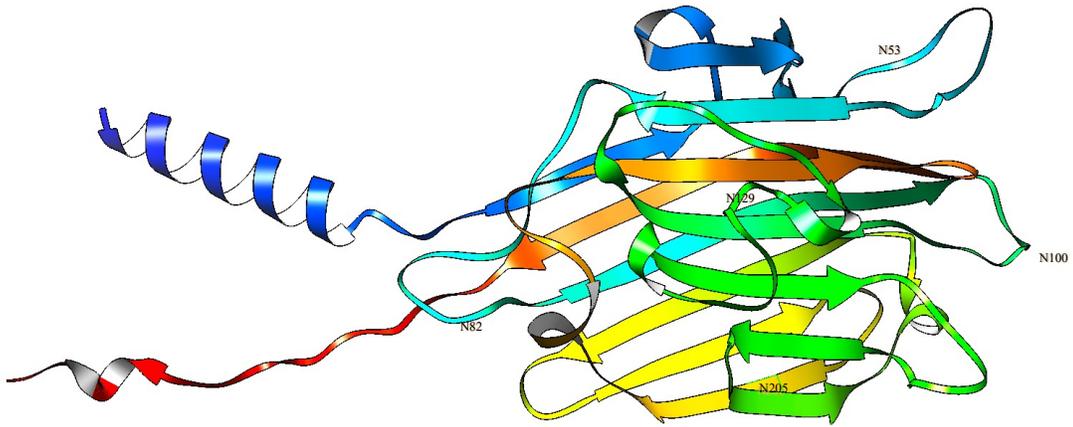


Figura II-13. Estructura secundaria de la lectina *Phaseolus lunatus*, PHA, (UCSF Chimera, rscb.org)

2.4.2 *Sambucus nigra* (SNA)

El saúco *Sambucus nigra*, cuenta con dos subespecies *S. peruviana* y *S. mexicana*, las cuáles se encuentran distribuidas en zonas templadas y subtropicales del mundo. Pertenece a la familia Caprifoliácea (Grajales A, Botero G, & Ramírez Q, 2015) (Atkinson & Atkinson, 2002). En esta especie se han encontrado lectinas en corteza, semillas, frutos y hojas (Velasco M, 2016).

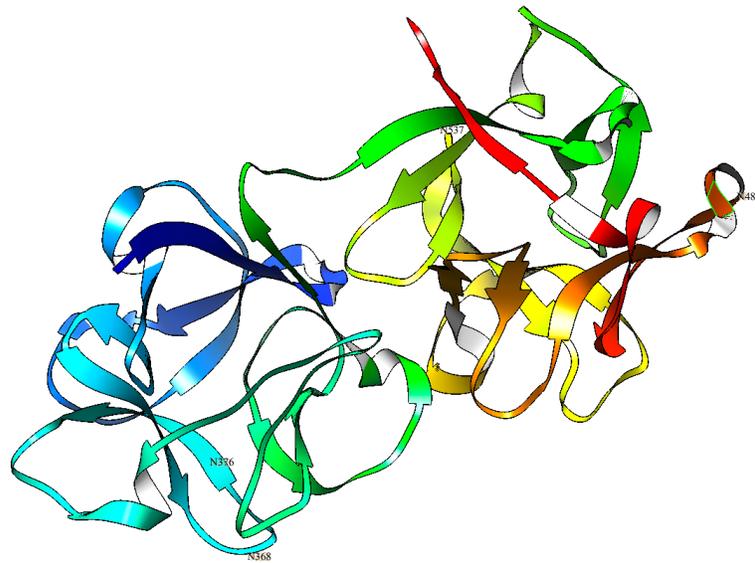


Figura II-14. Estructura secundaria de la lectina *Sambucus nigra agglutinin*, SNA, (UCSF Chimera, rscb.org)

La lectina proveniente de la corteza del saúco, SNA II, es específica para galactosa (Gal)/N-acetilgalactosamina (GalNAc). Es una cadena polipeptídica glicosilada, homóloga a la cadena B de la proteína ricina heterodimérica. Existe predominantemente como una entidad dimérica con un peso molecular de 51 -60 kDa en solución. La estructura final se encuentra en su forma de cristal hexagonal (Figura II-14) incluyendo 563 residuos de proteína, 14 unidades de sacáridos, 342 moléculas de agua, 1 acetato y 7 aniones de sulfato. En la forma cristalina tetragonal nativa, comprende 563 residuos de proteína, 9 unidades de sacáridos, 253 moléculas de agua, 1 acetato y 4 aniones de sulfato (Figura II-14). Sus sitios de glicosilación con GalNAc se encuentran en N221, N368, N376, N483 y N537 (UniProt, s/f-b).

Presenta aglutinación para eritrocitos tipo A (Maveyraud, y otros, 2009) (Shibuya, y otros, 1989) (Kaku, Peumans, & Goldstein, 1990) (Broekaert, Nsimba-Lubaki, Peeters, & Peumans, 1984).

2.5 DOCKING Y DINÁMICA MOLECULAR

El docking molecular o acoplamiento molecular, pertenece a la química computacional (quimioinformática), estudios *in silico*, en donde se experimenta mediante simulaciones con programas bioinformáticos, pudiendo visualizar a nivel molecular múltiples péptidos, carbohidratos y diferentes moléculas (Vargas Aguilar et al., 2021) (Figura II-15). Recientemente, se ha vuelto más popular en el área de diseño de fármacos, por la facilidad de experimentación y ahorro de costos.

El docking hace uso de programas informáticos que tienen como resultado el acoplamiento entre dos moléculas, sitios de interacción y energía de afinidad del mismo, siendo de vital importancia para la actividad biológica del receptor-ligando resultante. Pudiendo resaltar programas como AutoDock Vina, Dock, GOLD, HEX, FRODOCK, entre otros. Cada programa posee ventajas y desventajas respecto al acoplamiento, precisión y tiempo; por lo que depende del usuario la elección correcta del mismo.

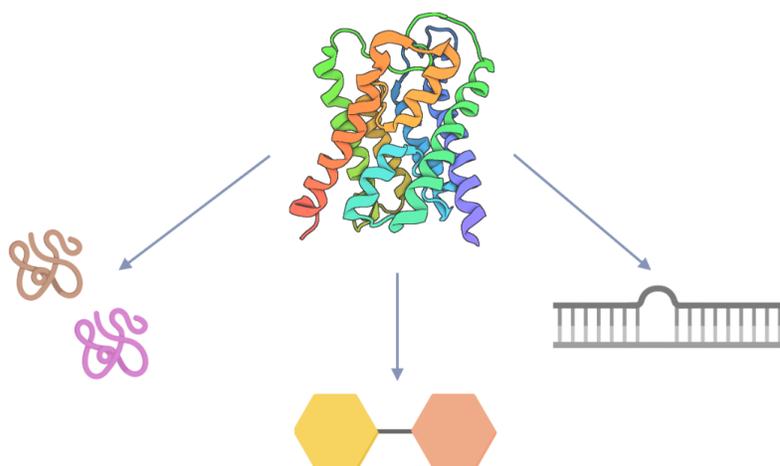


Figura II-15. Representación esquemática de la utilización de docking molecular.

En el procedimiento de docking molecular es importante las interacciones electrostáticas, geométricas, de van der Waals, de Coulomb, puentes de hidrógeno con algoritmos genéticos integrados en el programa. Además de utilizar un gradiente de potencial de energía para obtener la solución el mínimo de energía (D. Dong et al., 2018; Duran Becerra, 2021; Granados R. et al., 2010; Pagadala et al., 2017; Paucara et al., s/f).

La dinámica molecular se utiliza posterior a un acoplamiento molecular, denominado también simulación, dado que se simula el movimiento de un sistema a través del tiempo, considerando temperatura y presión, bajo campos de fuerza empíricos además de otras aproximaciones. Teniendo como resultado información detallada de las interacciones en el sistema y la estabilidad del mismo (Hildebrand et al., 2019; Śledź & Caflisch, 2018, 2018; 2022; Wu et al., 2022).

La simulación nos permite encontrar mutaciones o defectos que pudiera tener la molécula receptora después de la unión, además de observar en donde ocurre, datos difíciles de obtener de manera experimental.

Los programas más utilizados para la realización de la dinámica molecular suelen ser Gromacs y AMBER. En el caso de AMBER utilizada dos métodos de mecánica molecular para determinar la energía de afinidad, los cuáles pueden ser comparados con los obtenidos en docking molecular (Ponder & Case, 2003).

III. ANTECEDENTES

A pesar de las múltiples aplicaciones que se le han dado a los nanotubos de carbono, NTC, por las propiedades que presenta, se sigue explorando en el área biológica por las implicaciones que este material puede llegar a tener; sobre todo como nanotransportadores de diversas moléculas dentro de las que se incluyen antígenos, anticuerpos, fármacos, polímeros, que han sido estudiados para su aplicación en terapia contra el cáncer; probándose en diferentes líneas celulares tumorales, tanto in vitro como in vivo (Andhari et al., 2020; Dinda et al., 2017; Hu & Niemeyer, 2020; Izadyar et al., 2016; Jawahar et al., 2020; Qin et al., 2015; Seyfoori et al., 2019).

Como nanotransportadores de fármacos oncológicos, los NTC se han unido a doxorubicina (Andhari et al., 2020; Dinda et al., 2017; Hu & Niemeyer, 2020; Izadyar et al., 2016; Qin et al., 2015; Seyfoori et al., 2019), paclitaxel (Rathod et al., 2019; Tavakolifard et al., 2016), raloxifeno (Jawahar et al., 2020), taxol (Cheng et al., 2011; Kim et al., 2015), pirimetamina (Mollania et al., 2020), lobaplatino (Yu et al., 2018), metotrexato (Azqhandi et al., 2017; Saeednia et al., 2019), docetaxel (Raza et al., 2016), talidomida (Cheng et al., 2011); además también de que se han unido a profármacos, los cuales se han probado en diversas líneas celulares tumorales (MCF-7, principalmente) y no tumorales.

Por otro lado, la quercetina se encuentra en la dieta humana y por las propiedades que esta presenta, recientes estudios se han centrado en sus propiedades anticancerígenas y el papel que juegan como tratamiento contra el cáncer, estudiándose en diferentes líneas celulares tumorales como no tumorales, ejemplo de ello son las células de carcinoma de colon, carcinoma de páncreas, células de adenocarcinoma de próstata, células de próstata humano, células de feocromocitoma, células de cáncer de mama, de leucemia linfoblástica aguda, células Raji linfoides humanas, etcétera (Brito et al., 2015; Dajas, 2012; Hashemzaei et al., 2017).

Así también, la quercetina se ha estudiado en combinación con fármacos o encapsulada en nanopartículas, Wang y su equipo (Wang et al., 2012), reportaron la unión de quercetina con doxorubicina logrando mejoras de las propiedades de ambos compuestos. Niazvand et al., 2019, encapsularon la quercetina en nanopartículas sólidas lipídicas para un mejor transporte del flavonoide, Li et al., 2017 encapsularon la quercetina en nanoliposomas y Baksi et al., 2018

en nanopartículas con quitosán con el mismo fin. De igual manera se ha estudiado la quercetina en unión con los nanotubos de carbono como lo hizo Kumar et al., 2018, quienes formaron nanoestructuras basadas en NTC de pared múltiple para suministrar tamoxifen y quercetina. También (Cirillo et al., 2013) utilizó NTC polimerizándolos con ácido metacrílico y cargados con quercetina, esta nanoestructura fue probada en células HeLa como nuevo agente anticancerígeno. Un estudio similar fue el presentado por (Vittorio et al., 2014) en el que elaboraron una nanoestructura a base de ácido metacrílico, nanotubos de carbono, quercetina evaluando sus efectos sinérgicos con cisplatino en células de neuroblastoma humano. De igual manera se ha unido NTC con quercetina y albúmina de suero bovino (BSA), con el objetivo de diseñar un portador de BSA (Lu et al., 2018). Aunque también se ha utilizado NTC como base para sensores de detección de quercetina (Rezazadeh et al., 2015; Yang et al., 2017).

Mientras que con lectinas existen diversas investigaciones en donde se ha utilizado como diagnóstico de cáncer, ejemplo de ello es *Vicia villosa agglutinin* (VAA)(Kawaguchi et al., 2006), *Helix pomatia agglutinin* (HPA) (Brooks et al., 2001); y más específicamente en cáncer de mama con la lectina , *Arachis hypogaeae* (PNA) (Stanley et al., 1986) , *Amaranthus leucocarpus* (ALL) (Santaella-Verdejo et al., 2007). Además de ello, las lectinas también se han estudiado funcionalizando con nanotubos de carbono, tales como *Concanavalina A* (ConA) (Zhang et al., 2011), *Helix pomatia agglutinin* (HPA) (Madani et al., 2012) y *Phaseolus lunatus* (PHA) (Aguilar-Vázquez et al., 2021).

Dadas las múltiples propiedades que presentan las lectinas y su aprovechamiento como moléculas de diagnóstico de cáncer, y las propiedades terapéuticas de la quercetina en el tratamiento del cáncer, al ser funcionalizadas estas dos moléculas con los NTC se puede obtener un nanotransportador que combine las propiedades de las biomoléculas que lo conforman y mejore a otros materiales.

IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los nanotubos de carbono (NTC) son materiales que actualmente están siendo aplicados en el área de la investigación biomédica. Gracias a la funcionalización se han podido realizar interacciones con diversas moléculas biológicas o con otras nanopartículas encontrando que pueden servir como nanosensores, nanotransportadores de fármacos e inclusive en fototerapia, siendo la citotoxicidad del mismo la principal limitante. Debido al amplio uso para futuras aplicaciones de los NTC en biomedicina, y teniendo moléculas con propiedades anticancerígenas, como la quercetina y lectinas, es necesario diseñar y evaluar los complejos formados por NTC para determinar una funcionalización correcta de NTC con moléculas bioactivas en donde exista una correcta interacción para su aplicación deseada, en este caso, el diseñar un transportador a base de carbono que conserve su actividad biológica posterior a la funcionalización y además tenga la capacidad de reconocer células de cáncer.

¿Cómo se puede diseñar un nanotransportador formado a base de carbono y biomoléculas con propiedades anticancerígenas?

¿Qué características tendrá un nanocompuesto a partir de nanotubos de carbono (NTC) funcionalizado con lectina (*Sambucus nigra* y *Phaseolus lunatus*) y quercetina?

¿Cuál será el comportamiento del nanotransportador a base de carbono, lectina y quercetina sobre las células de cáncer de mama, MCF-7?

V. HIPÓTESIS

La interacción molecular entre la lectina, quercetina y nanotubos de carbono no compromete los sitios de reconocimiento de la lectina, ni la actividad antioxidante de la quercetina, favoreciendo la estabilidad del complejo molecular, manteniendo la capacidad de reconocimiento a células MCF-7, lo cual permitirá su aplicación como nanotransportador y terapéutico en células de cáncer.

VI. JUSTIFICACIÓN

Los nanotubos de carbono son materiales cada vez más estudiados en el área biológica gracias a la funcionalización con otras moléculas de interés. En el tratamiento del cáncer el principal rol que juegan estos materiales es como nanotransportador de fármacos o moléculas con potenciales propiedades anticancerígenas.

El aprovechamiento de propiedades anticancerígenas de moléculas como la lectina *Sambucus nigra*, *Phaseolus lunatus*, quercetina, para el tratamiento de las células de cáncer resulta prometedor, debido a que de forma individual estas moléculas han presentado resultados favorables en estudios *in vitro* e *in vivo*.

Dado que el cáncer de mama afecta a un gran porcentaje de la población, tanto en diagnóstico como mortalidad; es de importancia continuar investigando nuevos tratamientos menos invasivos para el tratamiento del cáncer, y que además puedan servir como método de diagnóstico en una etapa temprana.

Con base en la bibliografía consultada, se establece la utilización de los nanotubos de carbono como nanotransportador de quercetina y lectina *Sambucus nigra* y *Phaseolus lunatus*, con el objetivo de obtener un nanocompuesto híbrido para su aplicación como agente terapéutico contra cáncer de mama, así como la comparación de este frente a un fármaco.

VII. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Diseñar y evaluar un nanotransportador bioquímico a base de nanotubos de carbono (NTC), lectina y quercetina.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar y evaluar el acoplamiento (docking y dinámica molecular) de la lectina *Phaseolus lunatus* con quercetina y NTC (PHA-Q).
- Realizar y evaluar el acoplamiento (docking y dinámica molecular) de la lectina *Sambucus nigra* con quercetina y NTC (SNA-Q).
- Funcionalizar NTC de manera covalente con el complejo lectina-quercetina (SNA-Q, PHA-Q).
- Caracterizar los nanocompuestos NTC-LEC-Q por microscopía electrónica de barrido y EDS
- Determinar la actividad antioxidante del nanocompuesto NTC-LEC-Q, NTC-Q.
- Evaluar la citotoxicidad de NTC-PHA-Q y NTC-SNA-Q en la línea celular de cáncer de mama MCF-7.

VIII. METODOLOGÍA

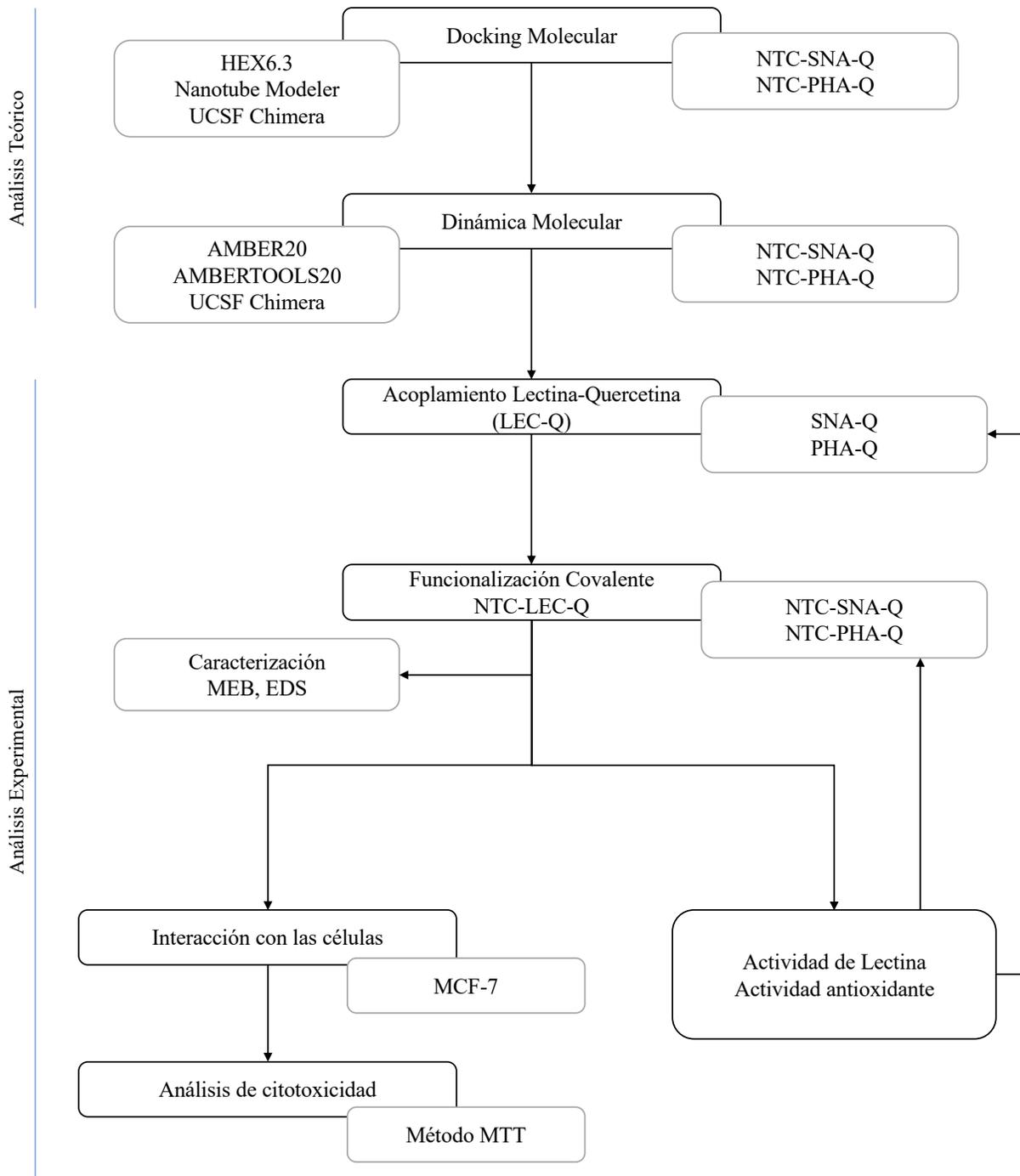


Figura VIII-1. Diagrama de la metodología utilizada

8.1 DOCKING MOLECULAR

Las estructuras de las moléculas fueron obtenidas según como se indica en la Tabla VIII-1. El acoplamiento molecular se realizó utilizando el programa HEX6.3, con una correlación electrostática y de forma, post-procesamiento de MM minimización, utilizando una dimensión de gradilla de 0.75 y una correlación estérica de 18.

Tabla VIII-1. Fuente de las moléculas utilizadas en acoplamiento y dinámica molecular

Molécula	Fuente	Código
<i>Phaseolus lunatus</i>	uniprot.org	p16300
<i>Sambucus nigra</i>	rcsb.org	3c9z
Quercetina	pubchem.ncbi.nlm.nih.gov	5280343
Nanotubos de carbono	(Vögele et al., 2018)	

En primera instancia se realizó el acoplamiento (docking molecular), lectina y quercetina (SNA-Q, PHA-Q), con el fin de obtener las estructuras con la mayor energía de afinidad para su posterior análisis por dinámica molecular en AMBER20. Estas estructuras fueron analizadas con un visualizador, UCSF Chimera, un editor de texto, Text Edit. En específico los NTC fueron diseñados en Nanotube modeler.

8.2 DINÁMICA MOLECULAR

Utilizando las estructuras con mayor afinidad, se llevó a cabo la dinámica molecular utilizando AMBER20 y AMBERTOOLS 20; el proceso se realizó bajo los siguientes parámetros: 50000 pasos de minimización usando gradiente conjugado, 500 000 pasos de calentamiento de 0 a 300 °C utilizando el termóstato de Langevin, 1.5 ns de equilibrio de densidad y 50 ns de producción; modelo de agua TIP3P, campos de fuerza para las proteínas ff19SB de Amber.

Se obtuvo la energía de afinidad usando los métodos MMGBSA (Molecular Mechanics Generalized Born) y MMPBSA (Molecular Mechanics Poisson Boltzman Surface Area) con la finalidad de corroborar las energías de afinidad obtenidas durante el proceso de acoplamiento.

Se repitió el mismo proceso con ambas proteínas y con los nanotubos de carbono, SNA-Q, PHA-Q, SNA-NTC, PHA-NTC.

8.3 ACOPLAMIENTO DE *Phaseolus lunatus* CON QUERCETINA (PHA-Q)

La lectina de *Phaseolus lunatus* (PHA) se preparó a una concentración de 10.5 µg/mL en solución buffer fosfato salino (PBS), pH 7.4.

La quercetina se preparó a una concentración de 100 µg/mL (3.30 mM) en una solución de dimetilsulfóxido (DMSO) al 5% en buffer fosfato salino (PBS), pH 7.4.

Para la unión se manejaron la relación de PHA-Q, 1:1.

Se colocaron las soluciones en agitación constante por 2 h en oscuridad.

8.4 ACOPLAMIENTO DE *Sambucus nigra agglutinin* CON QUERCETINA (SNA-Q)

La lectina de *Sambucus nigra agglutinin* (SNA) se preparó a una concentración de 5 µg/mL en solución buffer de ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinaetanosulfónico (HEPES), pH 7.55.

La quercetina se preparó a una concentración de 100 µg/mL (3.30 mM) en una solución de dimetilsulfóxido (DMSO) al 5% en buffer fosfato salino (PBS), pH 7.4.

Para la unión se manejaron la relación de SNA-Q, 1:1.

Se colocaron las soluciones en agitación constante por 2 h en oscuridad.

8.5 FUNCIONALIZACIÓN DE NANOTUBOS DE CARBONO CON COMPLEJO LECTINA-QUERCETINA (NTC-LEC-Q)

Se utilizaron nanotubos de carbono de pared múltiple oxidados (NTC) (Sigma Aldrich), con un diámetro promedio de 9.5 nm y una longitud de 1.5 µm, obtenidos por deposición química de vapor (CVD).

Se colocaron NTC en buffer PBS a una concentración de 50 µg/mL para su sonicación por 1 min, en un pulso 10 10, amplitud 40%, en un sonicador SONICS VIBRA CELL; antes de la adición del complejo LEC-Q. Después del tiempo de sonicación se agregaron LEC-Q a los NTC, para una segunda agitación por 4 h en oscuridad, seguido de refrigeración por 12 h a 4 °C.

El mismo procedimiento se aplicó para los compuestos de nanotubos de carbono-lectina (NTC-PHA, NTC-SNA) y nanotubos de carbono-quercetina (NTC-Q).

A los nanocompuestos obtenidos, así como los propios NTC fueron analizados por microscopía electrónica de barrido (SEM) y espectroscopía de energía dispersa (EDS).

8.6 ACTIVIDAD DE LECTINA

Para la comprobación de la actividad de la lectina antes y después de la unión se realizaron ensayos de hemaglutinación con eritrocitos A+. Se colocaron 50 μ L de PBS en todos los pozos en una placa de microtitulación de fondo cóncavo. Se adicionaron 50 μ L por muestra: lectina PHA, SNA, y a los complejos SNA-Q, PHA-Q, NTC-SNA, NTC-PHA, NTC-SNA-Q, NTC-PHA-Q; efectuando diluciones seriadas y desechando los últimos 50 μ L. En seguida se adicionaron 25 μ L de eritrocitos al 3% en PBS a cada pozo. Realizando una fila para el control negativo y cada muestra por duplicado. Se homogenizó y se dejó en reposo por 1 h a temperatura ambiente.

Como control negativo sedimentación de los eritrocitos y como control positivo la aglutinación de los mismos.

Determinación de proteínas

Utilizando el método de Bradford (1976), el cual se basa en una reacción colorimétrica de proteínas con Coomassie Azul Brillante G-250.

Para la preparación del reactivo de Bradford, se disolvió 100 mg de Coomassie Azul Brillante G-250 en 50 mL de etanol al 95 %, y 100 mL de ácido fosfórico concentrado (98 -100 %), siendo aforados a 200 mL con agua destilada y refrigerados a 4 °C.

Para las lecturas se diluyó el reactivo de Bradford en una relación 1:5 en agua destilada, para su posterior filtración en papel filtro. Se agregaron 5 mL de reactivo de Bradford diluido a 100 μ L de muestra, se agitó vigorosamente y se dejó reposar por 15 min. Las absorbancias fueron leídas a 595 nm en un espectrofotómetro UV-Vis ThermoScientific, Genesys 150.

Utilizando este método se determinó la cantidad de proteína en PHA, PHA-Q, NTC-PHA, NTC-PHA-Q, SNA, SNA-Q, NTC-SNA, NTC-SNA-Q.

8.7 DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Se utilizó DPPH (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo) 6mg en etanol al 80 % (v/v), aforando a 100 mL, fue agitado en oscuridad durante 15 min. Leyendo la absorbancia del blanco (etanol al 80 %) a 517 nm en un espectrofotómetro.

El ácido ascórbico se diluyó en etanol al 80 % a diferentes concentraciones para la obtención de la curva estándar, siendo leída su absorbancia a 517 nm, después de ser incubadas a temperatura ambiente por 30 min.

Utilizando este método se determinó la capacidad antioxidante en PHA-Q, NTC-PHA-Q, SNA-Q, NTC-SNA-Q.

El porcentaje de actividad antioxidante se calculó mediante:

$$\% \text{ act. antioxidante} = \frac{A\emptyset - Am}{A\emptyset} * 100$$

$A\emptyset$ =Absorbancia cero del DPPH

Am =Absorbancia de la muestra

8.8 EVALUACIÓN BIOLÓGICA DEL NANOCOMPUESTO

Cada compuesto se incubó con células de cáncer de mama, MCF-7; a las concentraciones que en la Tabla VIII-2 se indican. Las células fueron cultivadas en placas de 96 pocillos con 5000 células, con una confluencia del 80% y se incubaron con los tratamientos por 24 y 48 h a 37 °C con 5% CO².

El efecto de los diferentes compuestos en las líneas celulares fue evaluado por ensayo MTT para la medición de citotoxicidad.

Tabla VIII-2. Concentraciones de los tratamientos con las células MCF-7

Tratamiento	Concentración
NTC	0.05 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$
Q	0.10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$
PHA	0.0105 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$
SNA	0.005 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$
NTC-Q	1:1
NTC-PHA	1:1
NTC-SNA	1:1
Q-PHA	1:1
Q-SNA	1:1
NTC-PHA-Q	1:1:1
NTC-SNA-Q	1:1:1
Cisplatino	2 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$
Talidomida (Feng et al., 2014)	0.05 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 0.1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 0.2 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$
DMSO	0.05 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$

ENSAYO MTT

Se preparó una solución de Bromuro de 3-(4,5- dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol (MTT), 1mg MTT en 1 mL de PBS, la cual se lleva al vórtex para homogeneizar.

Pasada 20 h, se retiró el sobrenadante y se agregaron 20 μL de MTT a cada pozo, se incubó por 4 h a 37 °C, 5% CO₂. Se retiró el exceso de MTT después de ese tiempo.

Se adicionaron 50 μL de isopropanol acidificado a cada pozo, para poder disolver los cristales de Formazan. Se colocó la placa en agitación para homogeneizar (aproximadamente 3 min). Finalmente se leyó absorbancia en un lector de placas a 570 nm.

IX. RESULTADOS

9.1 DOCKING Y DINÁMICA MOLECULAR

9.1.1 NTC-PHA-Q

Con el apoyo del Dr. Carlos Romero se realizó el análisis teórico de dinámica molecular.

La lectina de PHA presenta $90 \text{ \AA} * 42 \text{ \AA}$ de dimensiones, siendo que 36 \AA es el área de unión con la que se une a los NTC. Se realizó docking molecular con dos diferentes conformaciones de NTC, armchair y zigzag, cada uno de ellos en diferentes longitudes ($L=40, 45, 50 \text{ \AA}$, $\phi=10 \text{ \AA}$).

De acuerdo al docking molecular realizado con HEX6.3, las moléculas se unieron con los NTC en F12, V114, N129, D217, D218, W219; en donde se ve interferencia con el sitio de unión del carbohidrato. Además, se observó que la interacción de la lectina PHA con el NTC ocurre en el mismo sitio de interacción no importando longitud o conformación; por lo tanto, se ocuparon NTC de 40 \AA de longitud, configuración armchair para la dinámica molecular.

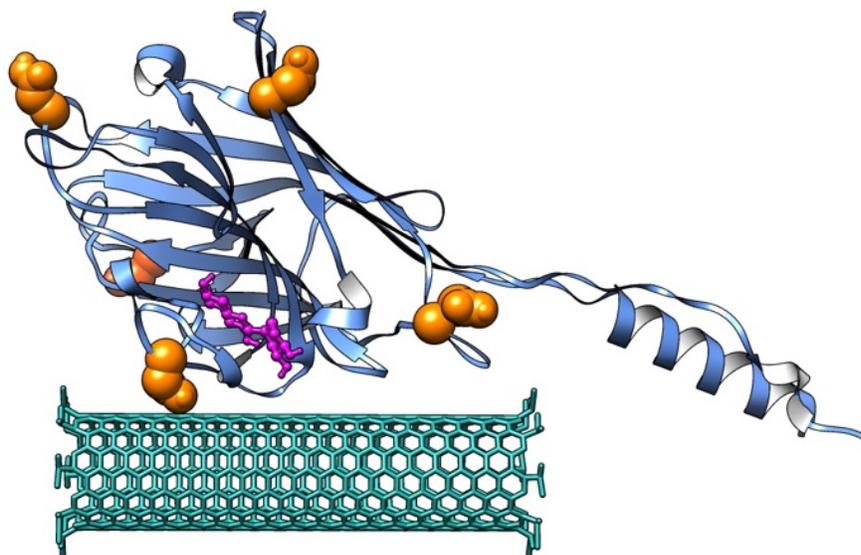


Figura IX-1. Interacción NTC-PHA-Q obtenida por dinámica molecular. Lectina PHA (ribbons, conformer blue), QUE (ball and sticks, magenta), NTC (sticks, light sea green) y sitios de interacción de la lectina con GalNac (spheres, orange).

En la Figura IX-1, observamos las interacciones entre PHA y QUE en los aminoácidos F138, N133, D134, I135, L138, L161, K214, estos sitios de interacción entre las moléculas no interfieren con sitios de unión con el carbohidrato GalNAc.

Posterior al docking molecular, las estructuras con mayor energía de afinidad fueron sometidas a dinámica molecular y cuya energía de interacción fue comprobada por los métodos de Mecánica Molecular Generalizada de Born (MMGBSA) y Mecánica Molecular de Área de Superficie de Poisson-Boltzman (MMPBSA). En la Tabla IX-1, se observan los residuos con los cuáles interacciona PHA con NTC, y las energías de unión de afinidad, siendo que son similares entre sí, -47.49 kcal/mol en el docking y -69 kcal/mol usando MMGBSA/MMPBSA durante la dinámica molecular.

Tabla IX-1. Sitios y energías de interacción entre PHA y NTC de 40 Å de pared simple.

Residuos	Energía de unión de afinidad más alta, HEX 6.3 (Kcal/mol)	Energía de unión de afinidad, métodos MMGBSA/MMPBSA (Kcal/mol)
F12, V114, N129, D217, D218, W219	-47.49	-69.74 / -69.84

9.1.2 NTC-SNA-Q

De igual manera, se realizó el análisis teórico con docking y dinámica molecular con la lectina de *Sambucus nigra*, SNA, siendo las dimensiones de la lectina de 66.45 Å * 38 Å, y la longitud de la molécula que entra en contacto con NTC de 36 Å, de acuerdo al docking. Así también se realizó acoplamiento con dos diferentes conformaciones (armchair y zigzag) y con las mismas tres diferentes longitudes de NTC (40, 45, 50 Å), obteniendo el mismo sitio de unión entre el NTC y SNA, siendo este sitio de unión la región comprendida por los residuos P32, C33, T35, K130, E149, T180, R181, G182, K200 de acuerdo al docking molecular.

Para la dinámica molecular se utilizaron NTC de 40 Å de longitud con una conformación armchair.

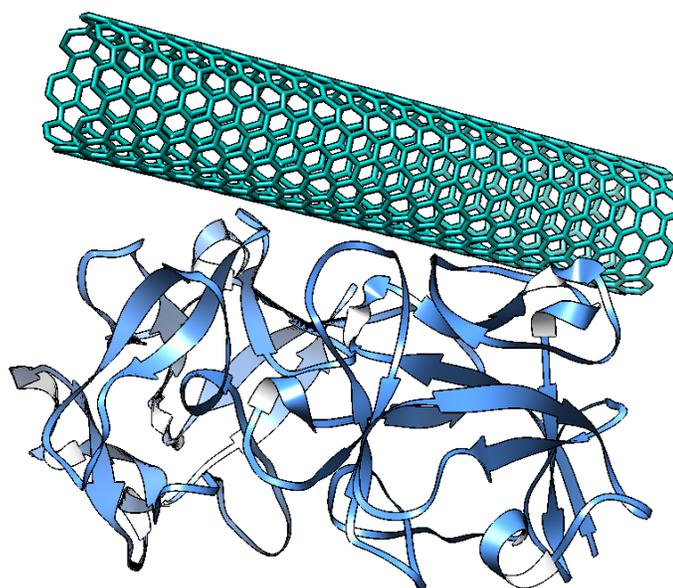


Figura IX-2. Interacción NTC-SNA obtenida por dinámica molecular. Lectina SNA (ribbons, conformer blue), NTC (sticks, light sea green).

En la Figura IX-2, muestra los residuos que interaccionan entre SNA y Q, G64, P102, R103, L111 y E113; mismos que no interfieren con los sitios de interacción de la lectina con el carbohidrato.

Las estructuras con mayor energía de afinidad obtenidas con docking molecular, fueron sometidas a dinámica molecular y analizadas con los métodos de MMGBSA y MMPBSA como forma de comprobación de los resultados obtenidos con HEX. Se encontró que la lectina de SNA no presenta afinidad de adhesión con el NTC dado que se obtuvo en HEX -782 kcal/mol y con MMGBSA y MMPBSA de 446.78 kcal/mol. Concluyendo que el complejo NTC-SNA-Q no es óptimo (Tabla IX-2).

Tabla IX-2. Sitios y energías de interacción entre SNA y NTC de 40 Å de pared simple.

Residuos	Energía de unión de afinidad más alta, HEX 6.3 (Kcal/mol)	Energía de unión de afinidad, métodos MMGBSA/MMPBSA (Kcal/mol)
P32, C33, T35, K130, E149, T180, R181, G182, K200	-782	446.78 / 438.19

9.2 CARACTERIZACIÓN DE NANOMATERIALES

9.2.1 NANOTUBOS DE CARBONO

Se realizó caracterización de los nanotubos de carbonos oxidados (NTC) mediante microscopía electrónica de barrido, MEB (SEM, por sus siglas en inglés) y un análisis de EDS (espectroscopía de energía dispersa) para determinar propiedades del material previo a la funcionalización, así como realizar una mejor comparativa. En la Figura IX-3, podemos observar las mallas que forman los NTC y logrando corroborar las longitudes y diámetro promedio correspondiente a las dadas por el fabricante (Figura IX-4), obteniendo una medición de 96.4 nm de diámetro y también en otros sitios observando diámetro de 73 nm, sin embargo, no se pudo realizar lecturas más allá de magnificaciones 130 000x.

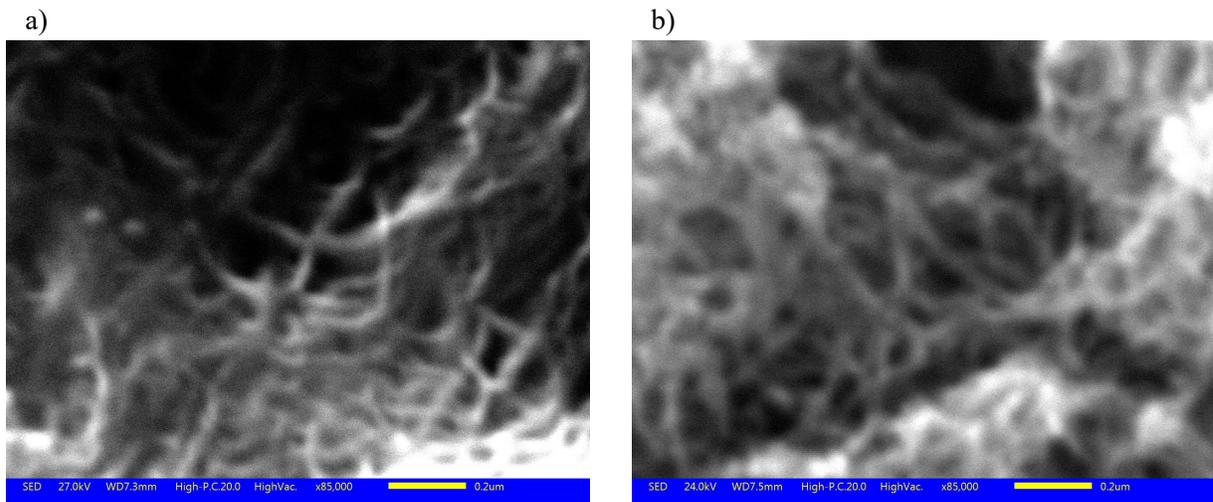


Figura IX-3. Caracterización de NTC sin funcionalizar, micrografía por SEM, JEOL JSM IT300, magnificación 85000x, a) 27 kV de aceleración y b) 24 kV de aceleración.

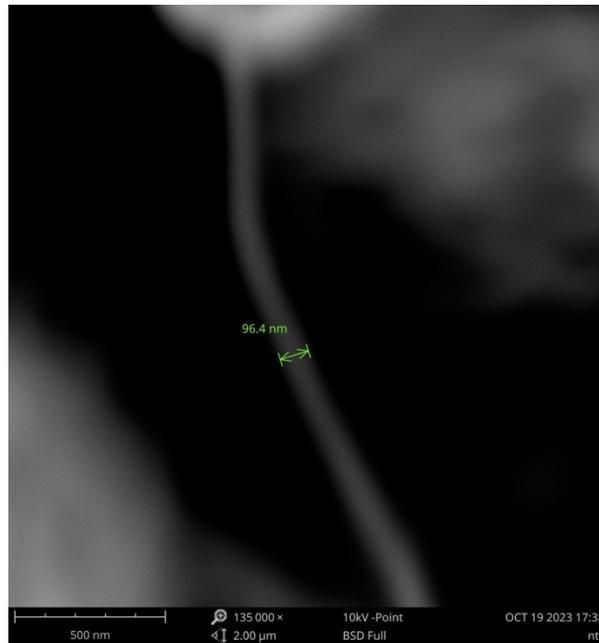


Figura IX-4. Caracterización de NTC sin funcionalizar, diámetro de 96.4 nm, micrografía por SEM, Phenom ProX, magnificación 135000x, 10 kV de aceleración.

De igual manera se realizó EDS por mapeo y de manera puntual para el NTC sin funcionalizar, en donde se obtuvo que el 90 % de la concentración atómica es C (carbono) que corresponde al 87.10 % de la concentración del peso del área analizada, mientras que para el oxígeno (O) corresponde el 10 % de la concentración atómica y el 12.90 % de la concentración del peso, como se observa en la Figura IX-5, cabe aclarar que no existe diferencia significativa entre los resultados obtenidos realizando EDS de manera puntual que por mapeo.

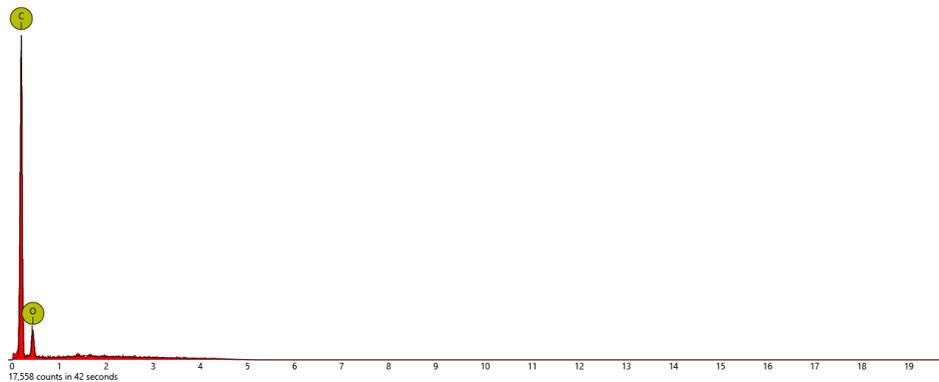


Figura IX-5. Análisis EDS por mapeo de NTC sin funcionalizar, magnificación 50000x, Phenom ProX, Detector: BSD Full, aceleración 5kV.

9.2.2 QUERCETINA

De igual manera se analizó la quercetina por microscopía electrónica de barrido (Figura IX-6), se puede observar que la quercetina forma cristales en su forma sólida. El análisis por EDS, en donde se observó que la composición atómica de Q es 65.50 % carbono y 34.50 % oxígeno, mientras que en su composición por peso es 58.77 % carbono y 41.23 % oxígeno (Figura IX-7).

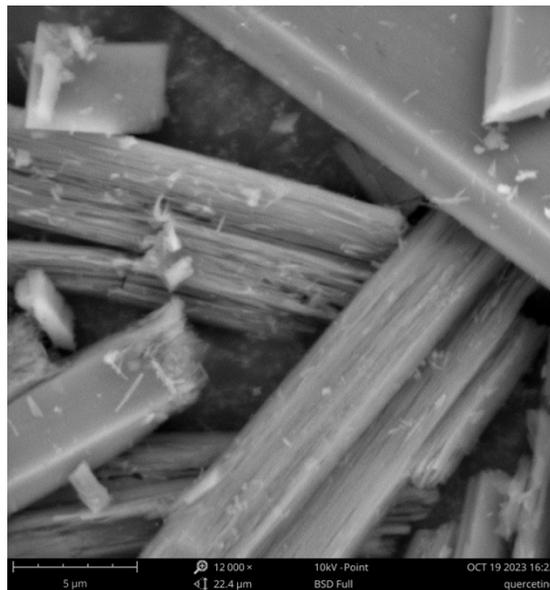


Figura IX-6. Quercetina, micrografía por SEM, Phenom ProX, magnificación 12000x, 10 kV de aceleración.

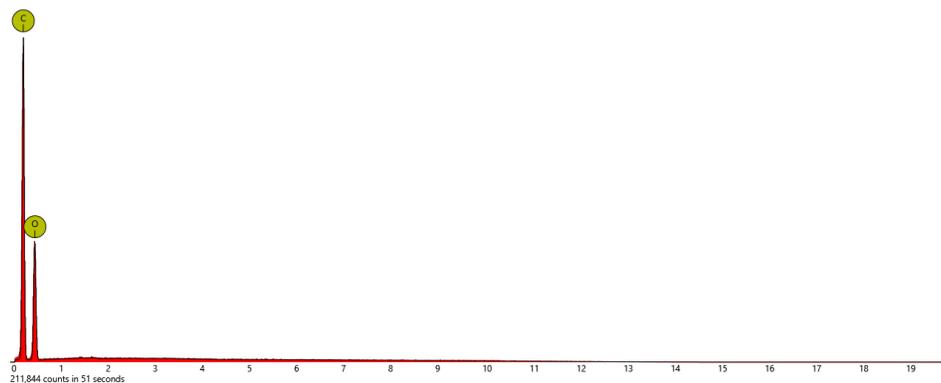


Figura IX-7. Análisis EDS por mapeo de quercetina, magnificación 12 000x, Phenom ProX, Detector: BSD Full, aceleración 15kV.

9.2.3 NTC-PHA-Q

En lo relacionado con los complejos, se realizó una caracterización por SEM, sin embargo, debido a los agregados que se forman del complejo en estado sólido no se puede apreciar la morfología del NTC funcionalizado (Figura IX-8), por lo tanto, se realizó análisis por EDS para observar los elementos presentes en el complejo. Como se puede observar en la Figura IX-9, el elemento con mayor porcentaje de concentración de peso es el carbono, 50.00 %; el oxígeno se encuentra en un porcentaje de 13.67 %; nitrógeno con 12.33 %; sodio con un 12.07 %; cloro con 11.63 %. La presencia de cloro y sodio se puede deber al solvente utilizado para la funcionalización de las moléculas con los NTC, dado que se usó PBS.

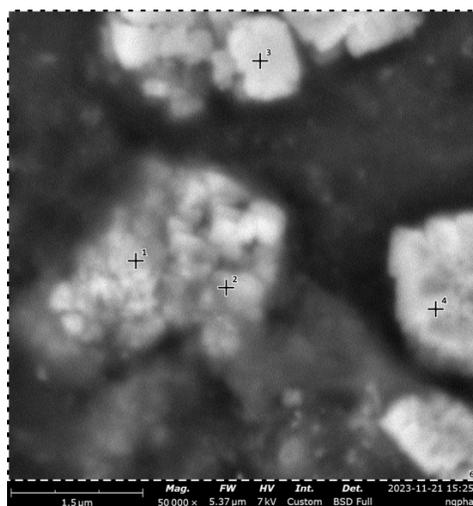


Figura IX-8. Micrografía de NTC-PHA-Q por SEM, magnificación 50 000x, Phenom ProX, aceleración 7kV

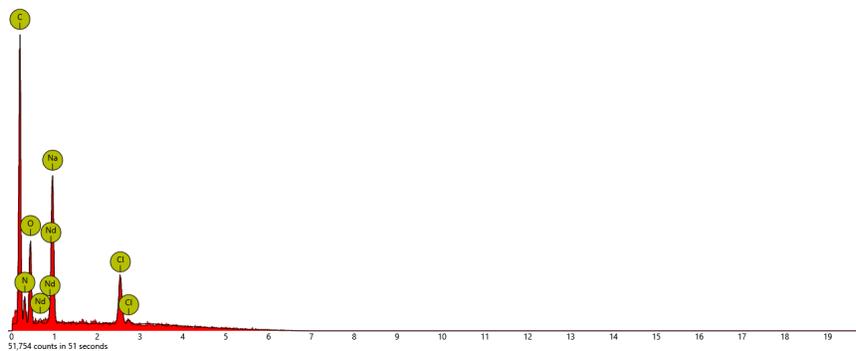


Figura IX-9. Análisis EDS por mapeo de NTC-PHA-Q, magnificación 50 000x, Phenom ProX, Detector: BSD Full, aceleración 7kV

9.2.4 NTC-SNA-Q

Con el complejo formado con la lectina de SNA, de igual manera se forman agregados al estar en estado sólido como se observa en la Figura IX-10. Asimismo, se realizó análisis con EDS observando que con NTC-SNA-Q las concentraciones de C y O son menores de lo esperado, esto puede darse por el solvente utilizado durante la funcionalización, HEPES, dando una concentración atómica de 43.82 % para el carbono, 37.82 % para el cloro, 30.64 % para el sodio y 5.72 % para el oxígeno (Figura IX-11).

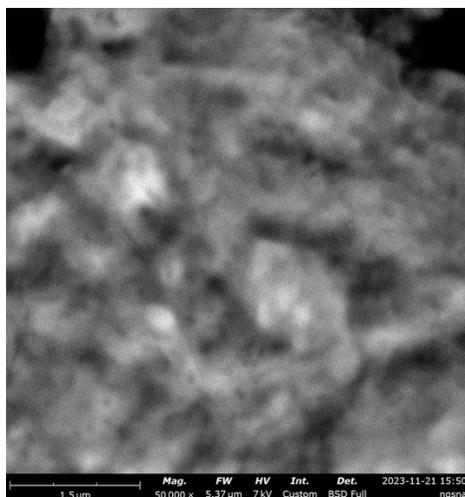


Figura IX-10. Micrografía de NTC-SNA-Q por SEM, magnificación 50 000x, Phenom ProX, aceleración 7kV

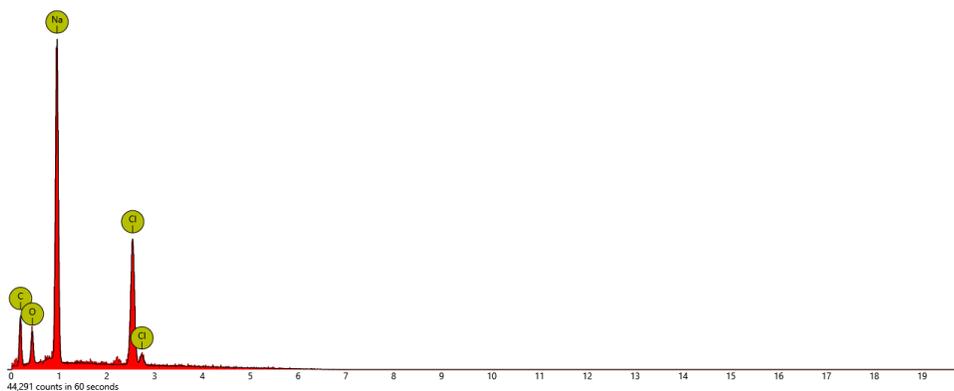


Figura IX-11. Análisis EDS por mapeo de NTC-SNA-Q, magnificación 50 000x, Phenom ProX, Detector: BSD Full, aceleración 7kV

9.3 ACTIVIDAD DE LECTINA

Se realizaron pruebas de hemaglutinación para cada una de las lectinas, SNA y PHA, así como los complejos utilizados a las concentraciones citadas en Tabla VIII-2, para observar la actividad hemaglutinante presente en las lectinas antes y después de funcionalizar. En la Tabla IX-3, observamos los resultados obtenidos, tanto para la lectina PHA como para SNA la actividad se ve disminuida por un pozo de actividad al ser conjugada, ya sea solamente con la quercetina o con NTC, y arrojando la misma actividad en los complejos NTC-PHA-Q y NTC-SNA-Q, lo que demuestra que la funcionalización covalente no interfiere con el sitio de unión de ninguna de las lectinas utilizadas conservando su sitio de reconocimiento. Además de las lectinas y los nanoconjugados, también se realizó pruebas en los compuestos sin proteína, dando pozos sin hemaglutinar.

Tabla IX-3. Prueba de hemaglutinación de los diferentes compuestos y nanocompuestos evaluados

NCp	PHA	NTC- PHA	Q-PHA	NTC- Q-PHA	SNA	NTC- SNA	Q-SNA	NTC- Q-SNA	NTC-Q	Q	NTC
(+)	5	4	4	4	5	4	5	4	0	0	0
	5	4	4	4	5	3	5	4	0	0	0
UHA/mL	640	320	320	320	640	320	640	320	0	0	0

9.3.1 CUANTIFICACIÓN DE PROTEÍNA

De igual forma se hizo determinación proteínas por el método de Bradford a todos los complejos, los resultados se muestran en la Tabla IX-4. Los valores obtenidos para la lectina de *Phaseolus lunatus* de forma individual es similar a los obtenidos con los nanocompuestos formados, lo cual nos indica que la funcionalización de la lectina no desnaturaliza a la proteína; esto mismo observamos con la concentración de proteína para la *Sambucus nigra*, con lo que podemos decir que el método utilizado de funcionalización covalente conserva la integridad de las estructuras de ambas lectinas.

Tabla IX-4. Concentración de proteína de cada nanocompuesto evaluado, técnica de Bradford

NCp	PHA	NTC-PHA	Q-PHA	NTC-Q-PHA	SNA	NTC-SNA	Q-SNA	NTC-Q-SNA
$\mu\text{g/mL}$ proteína	27.07	27.48	27.24	27.40	24.69	25.11	27.07	27.48

9.4 DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Mediante determinación de DPPH se analizó la capacidad antioxidante de cada uno de los nanocompuestos, así como de únicamente la quercetina; podemos observar que el porcentaje de la actividad antioxidante de la quercetina siendo de $\approx 44\%$, se ve disminuida al ser unida con las lectinas PHA y SNA, 26 y 28 %, respectivamente; no es tan drásticamente como cuando se une a los NTC al bajar a un 13 % (Tabla IX-5). También hay que resaltar que este porcentaje no varía de manera significativa entre los complejos LEC-Q y NTC-LEC-Q.

Tabla IX-5. Capacidad antioxidante de cada nanocompuesto evaluado, determinación de DPPH.

NCp	Q	NTC-Q	Q-PHA	NTC-Q-PHA	Q-SNA	NTC-Q-SNA
% Act. antioxidante	44.85	13.28	26.64	20.33	28.88	23.14

9.5 EVALUACIÓN DE CITOTOXICIDAD

Se realizaron ensayos de MTT en placas de 96 pozos con células de MCF-7, obteniendo los resultados que se muestran a continuación. En las Tabla IX-6 y Tabla IX-7, observamos los promedios y desviación estándar de los porcentajes de citotoxicidad con lectina *Phaseolus lunatus* sobre células MCF-7 a las 24 h y 48 h, en donde no se observa cambios entre los diferentes tiempos de incubación.

Tabla IX-6. Promedio y desviación estándar de los porcentajes de citotoxicidad de los ensayos de la lectina *Phaseolus lunatus* sobre células de cáncer MCF-7 a las 24 h.

	M	PBS	NTC	Q	PHA	NTC-Q	NTC-PHA	Q-PHA	NTC-Q-PHA	CP	TAL ₁	TAL ²	TAL ³	DMSO	H ₂ O ₂
\bar{x}	0.00	26.41	69.14	64.28	9.855	79.67	72.01	63.77	73.78	79.14	5.12	6.652	37.45	82.32	83.71
	00	25	05	24	8	18	53	44	11	33	78	2	08	49	46
σ	0.00	10.02	3.624	2.846	13.29	4.941	4.435	4.349	2.838	2.856	8.78	17.32	10.35	2.522	1.495
	00	95	0	4	17	3	8	5	3	4	13	48	49	5	0

En la Figura IX-12, podemos observar el tratamiento a las 24 h; la comparativa entre el daño que causa NTC y Q no varía, mientras que la lectina PHA por sí sola parece no causar un efecto significativo, siendo esta nuestra molécula de dirección, pudiendo deberse a la concentración de la lectina, incluso a su actividad. Mientras que los compuestos formados por NTC-Q, NTC-PHA y NTC-PHA-Q, no presentan variación respecto a los NTC, mientras que los complejos formados con Q sí varían respecto a la Q de forma individual. Debemos resaltar que el nanocompuesto NTC-Q presenta una citotoxicidad del 79 %, siendo muy similar al presentado con cisplatino, DMSO y H₂O₂, siendo éstos los controles negativos.

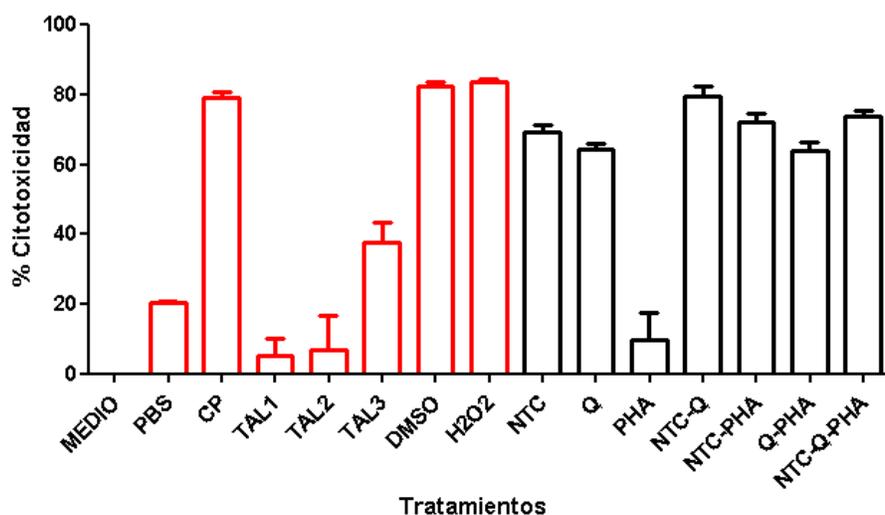


Figura IX-12. Evaluación de citotoxicidad de *Phaseolus lunatus* sobre células MCF-7 a las 24 h.

Tabla IX-7. Promedio y desviación estándar de los porcentajes de citotoxicidad de los ensayos de la lectina de *Phaseolus lunatus* sobre células de cáncer MCF-7 a las 48 h.

M	PBS	NTC	Q	PHA	NTC-Q	NTC-PHA	Q-PHA	NTC-Q-PHA	CP	TAL ¹	TAL ²	TAL ³	DMSO	H ₂ O ₂	
\bar{x}	0.00	4.794	60.47	65.61	13.00	77.02	65.93	70.49	76.34	74.47	30.44	45.42	57.34	71.04	81.37
	00	5	69	91	61	53	95	37	13	70	50	24	01	49	84
σ	0.00	13.16	12.91	24.82	4.152	13.12	15.02	17.15	12.28	18.25	29.06	19.55	4.026	19.65	10.59
	00	51	02	09	0	72	77	95	28	64	87	60	7	65	69

Al cabo de 48 h de incubación, observamos que el daño en las células de cáncer no varía con respecto a las 24 h, al menos no respecto a los nanocompuestos, únicamente para las tres diferentes concentraciones de talidomida, control negativo, que aumentan transcurrido 24 h más.

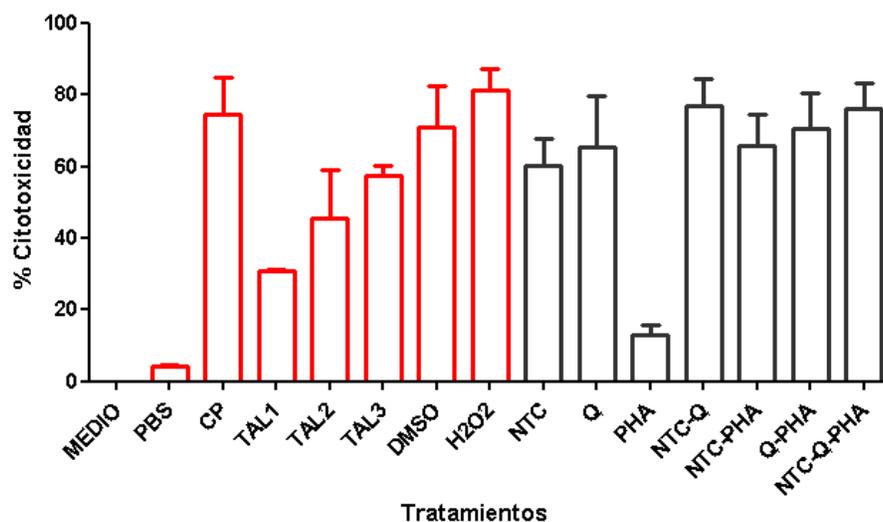


Figura IX-13. Evaluación de citotoxicidad de *Phaseolus lunatus* sobre células MCF-7 a las 48 h.

En el caso de la lectina de *sambucus nigra*, Tabla IX-8 y .

Tabla IX-9, presenta valores de citotoxicidad muy similares en ambos períodos de incubación con las células.

Tabla IX-8. Promedio y desviación estándar de los porcentajes de citotoxicidad de los ensayos de la lectina *Sambucus nigra* sobre células de cáncer MCF-7 a las 24 h.

	M	HEP ES	NTC	Q	SNA	NTC- Q	NTC- SNA	Q- SNA	NTC- Q- SNA	CP	TAL ₁	TAL ²	TAL ³	DMS O	H ₂ O ₂
\bar{x}	0.00	13.03	69.14	64.28	73.85	79.67	82.92	65.50	72.86	79.14	5.12	6.652	37.45	82.32	83.71
	00	31	05	24	52	18	67	71	01	33	78	2	08	49	46
σ	0.00	4.741	3.624	2.846	3.480	4.941	1.302	4.690	0.274	2.856	8.78	17.32	10.35	2.522	1.495
	00	8	0	4	1	3	7	6	6	4	13	48	49	5	0

La citotoxicidad que presentan las moléculas durante 24 h de incubación de manera individual, NTC, Q y SNA, es mayor al 60 % (Figura IX-14), este porcentaje se ve ligeramente aumentado en los nanocompuestos de NTC-Q y NTC-SNA, siendo no significativo, sin embargo, esto no

ocurre con el nanocompuesto de nuestro interés NTC-SNA-Q. Podemos decir que presentan porcentajes similares al cisplatino, DMSO y H₂O₂, en el mismo tiempo de incubación.

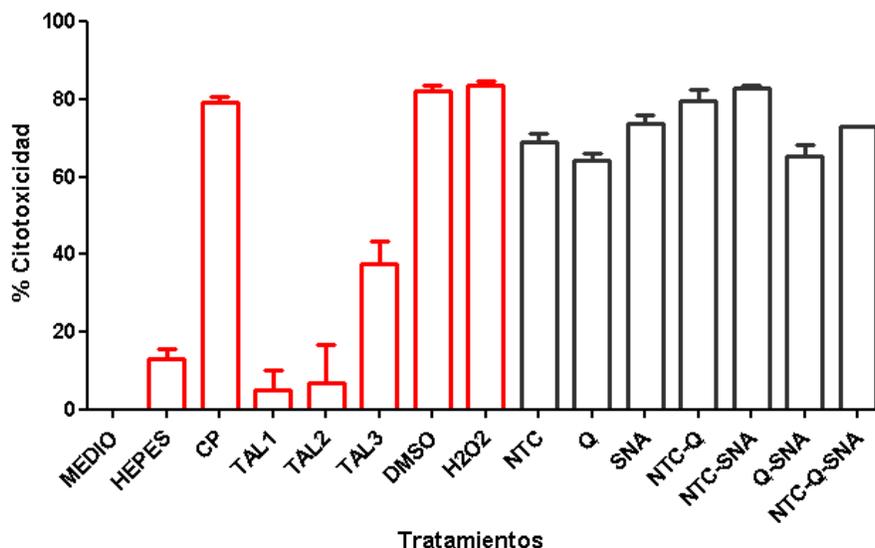


Figura IX-14. Evaluación de citotoxicidad de *Sambucus nigra* sobre células MCF-7 a las 24 h.

Tabla IX-9. Promedio y desviación estándar de los porcentajes de citotoxicidad de los ensayos de la lectina *Sambucus nigra* sobre células de cáncer MCF-7 a las 48 h.

M	HEPES	NTC	Q	SNA	NTC-Q	NTC-SNA	Q-SNA	NTC-Q-SNA	CP	TAL ¹	TAL ²	TAL ³	DMSO	H ₂ O ₂	
\bar{x}	0.00	8.695	60.47	65.61	45.96	77.02	82.17	67.34	71.96	74.47	30.44	45.42	57.34	71.04	81.37
σ	0.00	25.97	12.91	24.82	18.40	13.12	10.74	20.56	15.09	18.25	29.06	19.55	4.026	19.65	10.59

Después de 48 h de incubación de las células MCF-7 con los diferentes tratamientos, el porcentaje de citotoxicidad no va en aumento comparado con 24 h de incubación (Figura IX-15).

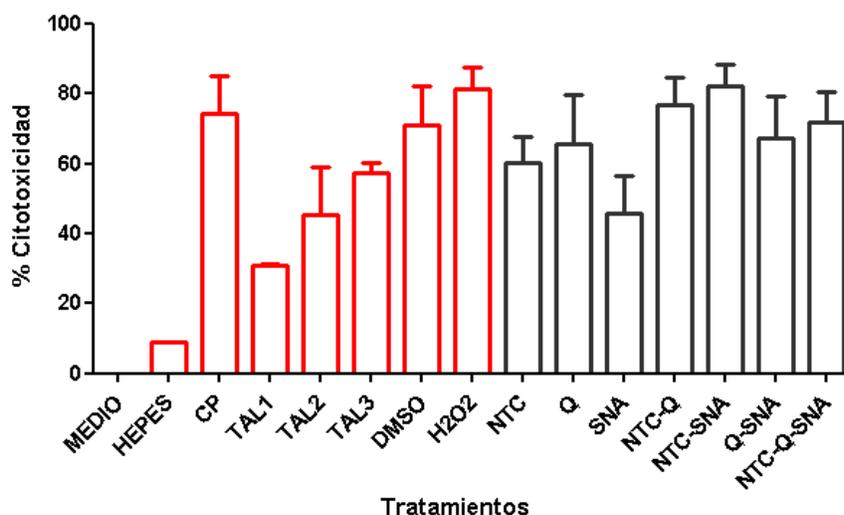


Figura IX-15. Evaluación de citotoxicidad de *Sambucus nigra* sobre células MCF-7 a las 48 h.

En cuanto a las observaciones con microscopía óptica se realizaron tanto a las 24 h (Figura IX-16) como a las 48 h (Figura IX-17). En aquellos pozos en donde se evaluó NTC o algún nanocompuesto (NTC-Q, NTC-LEC, NTC-LEC-Q) se observaron agregados que forman los NTC al precipitarse después de un período de tiempo, por lo que no es posible la observación morfológica de las células. Sin embargo, al realizar un lavado con PBS de los pozos después de la incubación y antes de la realización de la lectura de absorbancia siguiendo el ensayo de MTT, podemos observar con mayor detenimiento la morfología de las células (Figura IX-18). Observamos que el daño ocasionado por los tratamientos de NTC, NTC-Q, NTC-PHA-Q, NTC-SNA-Q, es similar al que presentan los pozos con DMSO, H₂O₂, inclusive con cisplatino, lo que se corrobora con el ensayo de MTT y los datos mencionados previamente.

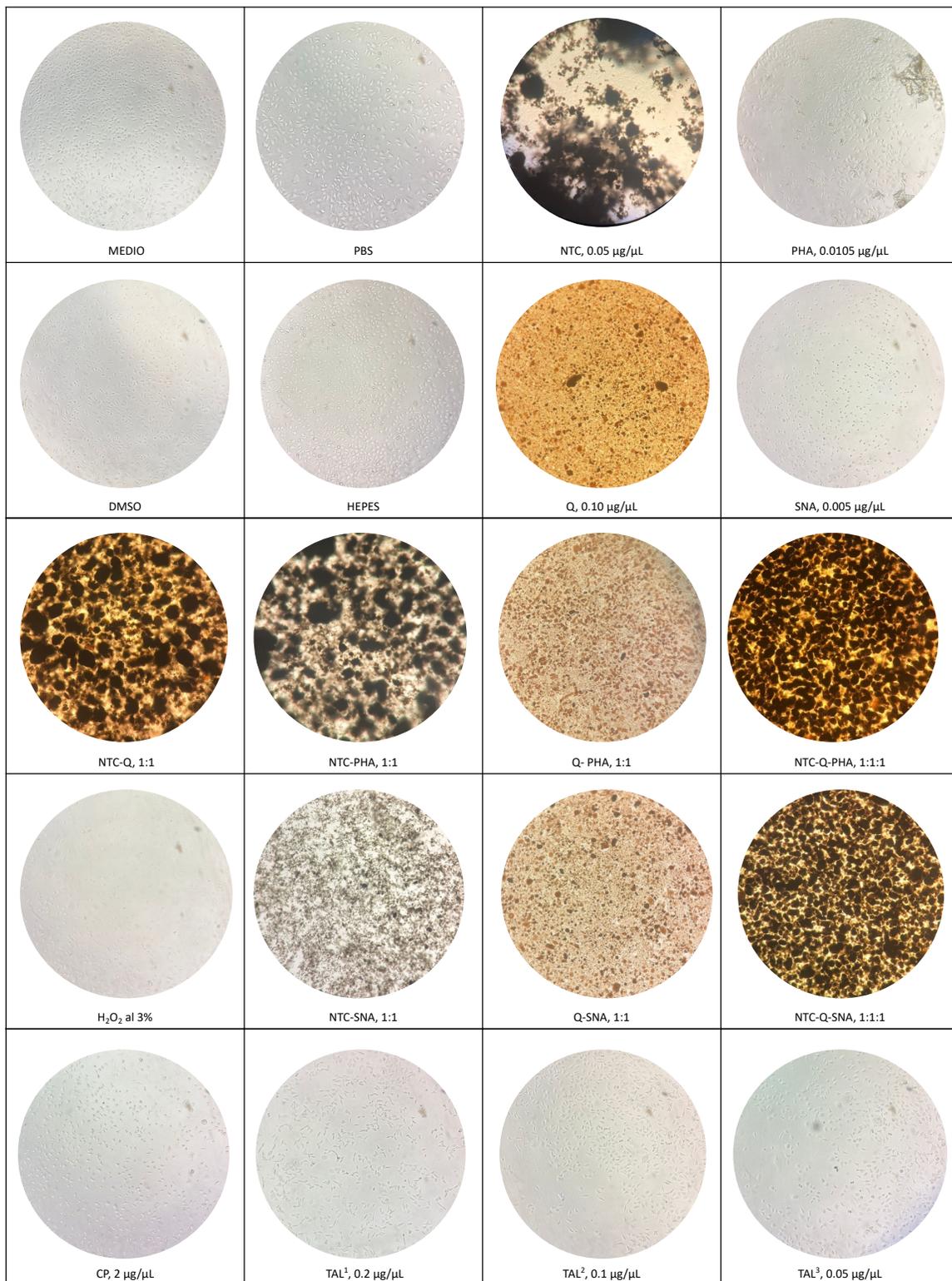


Figura IX-16. Evaluación de citotoxicidad a las 24 h sobre células MCF-7, micrografías en microscopio óptico Axiovert 40 C, Zeiss, magnificación 20x.

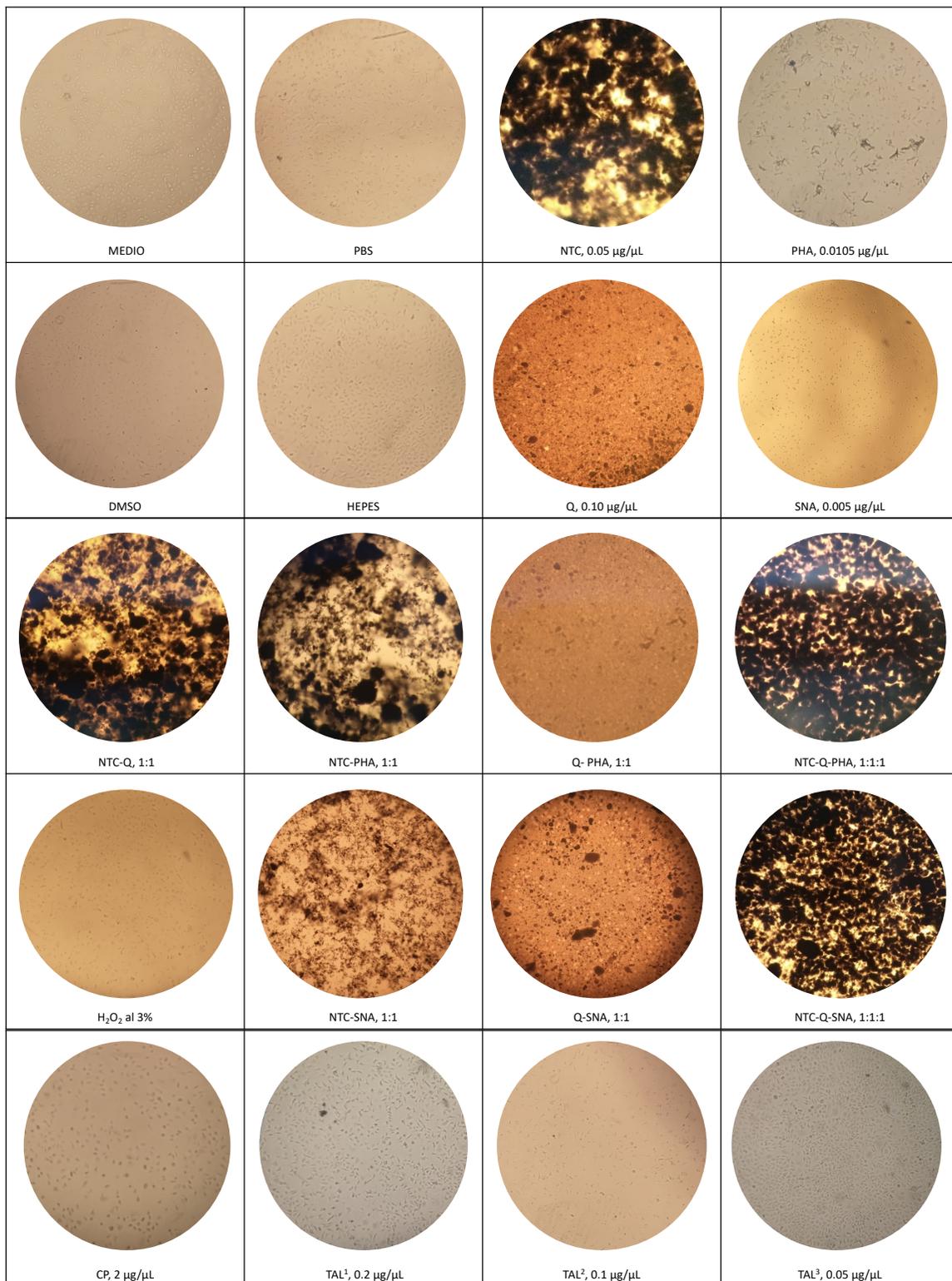


Figura IX-17. Evaluación de citotoxicidad a las 48 h sobre células MCF-7, micrografías en microscopio óptico Axiovert 40 C, Zeiss, magnificación 20x.

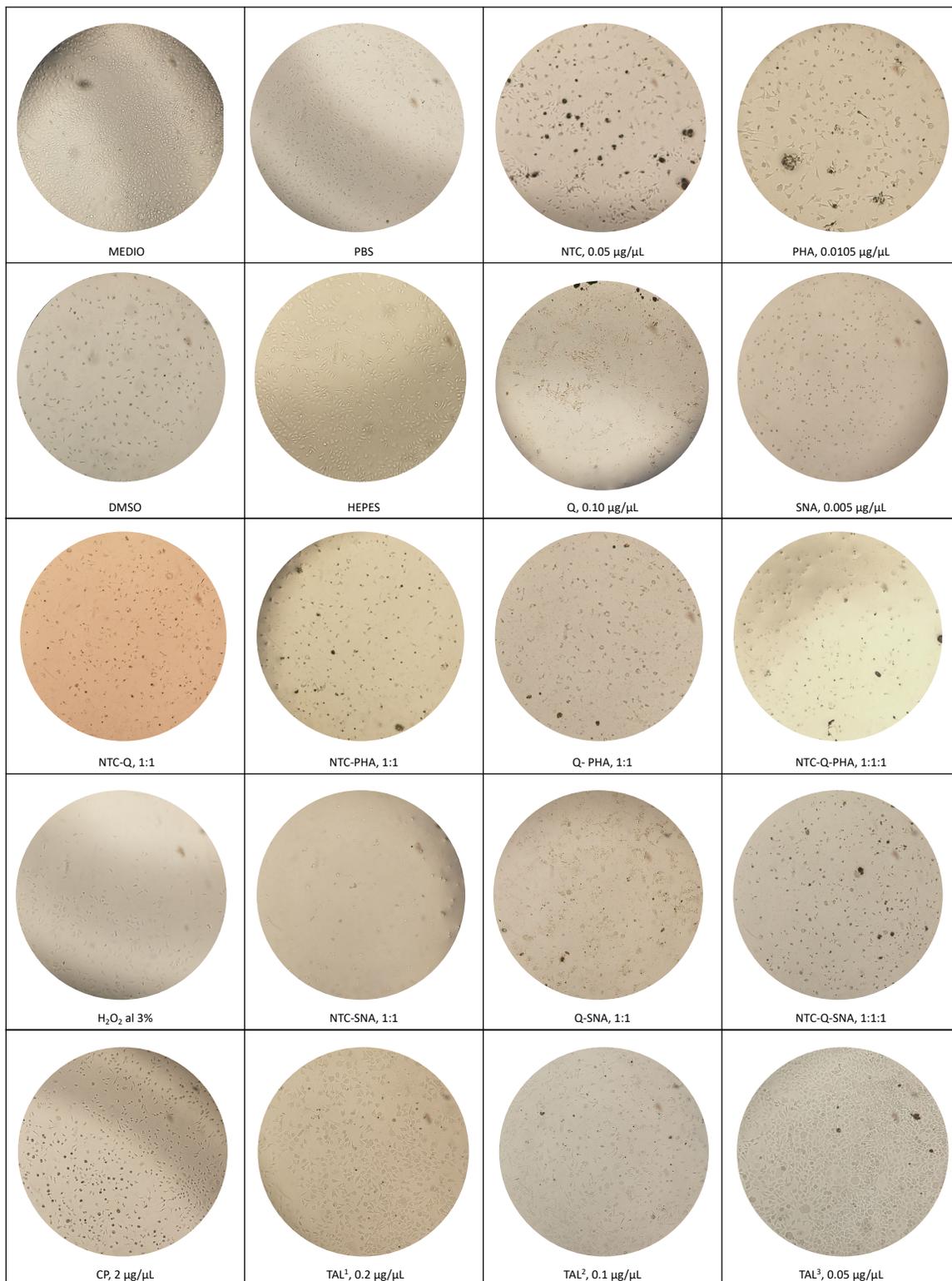


Figura IX-18. Evaluación de citotoxicidad a las 48 h sobre células MCF-7, micrografías en microscopio óptico Axiovert 40 C, Zeiss, magnificación 20x.

X. DISCUSIÓN

Se ha reportado la funcionalización de nanotubos de carbono y de otras nanopartículas con fármacos y moléculas bioactivas, así como el uso de docking y dinámica molecular para el análisis de las interacciones moleculares que se llevan a cabo entre estos nanomateriales.

Actualmente la aplicación de procesos computacionales para el análisis de interacciones entre materiales y biomoléculas, principalmente cuando se utilizan con nanomateriales, como en el caso de nanotubos de carbono se utiliza la dinámica molecular (DM) y la Teoría de Densidad Funcional (DFT, density functional theory) un método cuántico-mecánico usado para analizar funcionalización no covalente de NTC (van Mourik et al., 2014).

Utilizando DFT se han cargado NTC de pared simple con quercetina (Daneshmehr, 2015), indicando que sería un buen acarreador del flavonoide, estos resultados nos han llevado a proponer el uso de los NTC como transportadores no sólo de esta molécula sino también de otras, como lo observamos en este proyecto. De igual manera hay estudios donde se ha realizado dinámica molecular para la funcionalización covalente de NTC con quercetina, usando ácido metacrílico como intermediario (Cirillo et al., 2013), analizando su posible uso como transportador del flavonoide. Se reportó para este caso fuerte interacción entre las moléculas, analizando posteriormente su efecto sobre células HeLa, observando efectos citotóxicos. Resultados similares observamos en este trabajo sobre células MCF-7, con la diferencia de que no se utilizaron intermediarios.

En un estudio en dónde se hizo un doble conjugado NTC-quercetina-BSA (Lu et al., 2018), se observó que la citotoxicidad del complejo disminuye la toxicidad de los NTC, lo cual es benéfico considerando a los NTC como transportadores biológicos óptimos, resultados similares fueron observados en nuestros resultados. Por otra parte, también se ha cargado Q con tamoxifen sobre NTC de pared múltiple (Kumar et al., 2018), obteniendo buenos resultados, lo que nos daría una pauta para poder realizar pruebas con fármacos, probablemente como una triple funcionalización.

La quercetina no sólo se ha estudiado con NTC, sino también con otras nanopartículas como son las nanoesferas, nanopartículas poliméricas, nanoliposomas, nanoemulsiones (Curcio et al., 2012; Li et al., 2017; Puoci et al., 2012; Vicentini et al., 2008), en donde no se han visto

afectadas las propiedades de la molécula, lo cual abre las posibilidades de poder elaborar un nanotransportador con las mismas biomoléculas aquí utilizadas, pero con otras nanopartículas. Por otro lado, se ha unido quercetina con lectina *Spatholobus parviflorus*, y analizado por DM (Sukumaran et al., 2019), se reportó que no se vieron comprometidos los sitios de unión de la lectina obteniendo una macromolécula que podría servir de acarreador del fármaco; de la misma manera, en este estudio el análisis de DM nos indica que los sitios de unión de las lectinas analizadas SNA y PHA no se ven comprometidos en la interacción con los NTC.

Por otra parte, la lectina SNA que se empleó en este estudio se ha usado en estudios de cáncer de ovario, de hígado y de mama, y con NTC se ha utilizado como nanosensor (Zhang et al., 2011).

Podemos mencionar que la citotoxicidad que presenta el nanoconjugado NTC-SNA es menor al reportado con la lectina PHA (Aguilar-Vázquez et al., 2021), en donde se funcionalizó NTC-PHA a la misma concentración y evaluado en la misma línea celular de cáncer.

Es importante mencionar que no existen trabajos reportados de unión PHA-Q ó SNA-Q, funcionalizados con NTC de pared múltiple, considerando los resultados obtenidos con PHA prometedores para la continuación del trabajo, mientras que con SNA de manera teórica no se vio una funcionalización correcta, los resultados experimentales se pueden seguir estudiando a diferentes concentraciones, dado que los artículos reportados indican un porcentaje elevado de citotoxicidad con ambas lectinas.

XI. CONCLUSIONES

1. Se obtuvo el diseño de dos nanoconjugados a base de carbono, quercetina y lectina mediante docking y dinámica molecular. Para el complejo formado con la lectina *Phaseolus lunatus*, NTC-PHA-Q, se obtuvieron seis sitios de unión entre PHA-Q y NTC en los residuos F12, V114, N129, D217, D218, W219, con lo cual no se ve comprometido el sitio de reconocimiento del carbohidrato GalNAc, que comprende los residuos N53, N82, N100, N129, N205, el cual permanece libre para su interacción glicosídica con los receptores presentes en la membrana celular de las células de cáncer de mama. Además, la dinámica molecular corrobora que la interacción entre las moléculas permanece estable en el tiempo, obteniendo teóricamente un nanocompuesto con propiedades activas, útil para su utilización como nanotransportador.
2. Se formó el complejo de *Sambucus nigra* con NTC, NTC-SNA-Q, mediante docking molecular, en el cual se observó interacción en los residuos P32, C33, T35, K130, E149, T180, R181, G182, K200; los cuales no corresponden al sitio activo de la lectina SNA con el azúcar GalNAc, ya que estos son los residuos N221, N368, N376, N483, N537. Sin embargo, al realizar la evaluación con dinámica molecular no presenta afinidad de adhesión PHA-Q con NTC, determinando que no es óptima la unión de NTC con PHA-Q como nanotransportador.
3. En la caracterización por SEM, se observaron los agregados que forman los nanoconjugados NTC-PHA-Q y NTC-SNA-Q, en donde mediante análisis EDS se analizaron los elementos que conforman los nanoconjugados obtenidos, comprobando la presencia de las moléculas que forman el nanomaterial.
4. La actividad de lectina, tanto para PHA como SNA, previo a la funcionalización con quercetina y nanotubos de carbono fue de 640 UHA/mL, después de la unión con quercetina su actividad se ve disminuida a 320 UHA/mL, arrojando la misma actividad hemaglutinante en los nanocompuestos finales NTC-PHA-Q y NTC-SNA-Q, lo cual indica la conservación de la integridad de la lectina al finalizar el proceso de funcionalización, siendo esto comprobado al medir la concentración de la proteína con la técnica de Bradford, obteniendo resultados similares a los iniciales.

5. En relación a la actividad antioxidante de la quercetina, esta presenta un porcentaje de 44.85 %, el cual se ve disminuido 20 % al unirse con las lectinas PHA y SNA, así como también con los NTC; sin embargo, este porcentaje no se ve disminuido cuando se funcionalizan los complejos NTC-LEC-Q, siendo para NTC-PHA-Q de 20.32 % y con NTC-SNA-Q de 23.13 %, siendo estos cambios no significativos.
6. La evaluación de citotoxicidad de los nanocompuestos sobre células de cáncer de mama, MCF-7, indican que la incubación durante 24 h y 48 h no modifican los porcentajes de citotoxicidad, optimizando el tiempo de tratamiento a 24 h. El complejo de NTC-PHA-Q comparado con NTC-SNA-Q no presenta diferencias entre los porcentajes de citotoxicidad, dado que presentan porcentajes de 72-73 %, inferiores al cisplatino, 79%, DMSO, 82 % o H₂O₂, 83 %. La citotoxicidad que presentan los compuestos individualmente se ve mejorada con la funcionalización ya sea entre dos de ellos (NTC-PHA, PHA-Q, SNA-Q), pero no variando con NTC-Q, y siendo incluso menor en NTC-SNA. Cabe resaltar que la citotoxicidad que presenta la lectina de SNA es de 73 %, similar al nanoconjugado final, siendo atribuido a lo observado en la dinámica molecular, en dónde no presentaron adhesión entre las moléculas evaluadas.
7. Los datos anteriores nos permiten concluir que la actividad biológica de las biomoléculas no se ve incrementada o favorecida en el conjugado, pero tampoco es disminuida al ser funcionalizada.
8. Es importante mencionar que existen múltiples variables que influyen en las propiedades finales de los nanoconjugados, tales como el método y tipo de funcionalización, dimensión y conformación de NTC, método de síntesis de NTC, todo ello aunado a las concentraciones utilizadas en la funcionalización; lo cual se ve reflejado en los efectos citotóxicos que posea el nanomaterial final. Por lo que a futuro sería importante comparar estos resultados a diferentes concentraciones de las biomoléculas, así como el método de funcionalización llevado a cabo, dado que existen métodos que puedan mejorar la citotoxicidad del nanoconjugado favoreciendo la dispersión del mismo. Además de analizar la toxicidad que presenta el nanomaterial frente a células normales, y finalmente la degradación del organismo del mismo material.

XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar-Elguézabal, A., Antúnez, W., Alonso, G., Delgado, F. P., Espinosa, F., & Miki-Yoshida, M. (2006). Study of carbon nanotubes synthesis by spray pyrolysis and model of growth. *Diamond and Related Materials*, *15*(9), 1329–1335. <https://doi.org/10.1016/j.diamond.2005.10.011>
- Aguilar-Vázquez, J., Pina-Canseco, M. del S., Gochi-Ponce, Y., & Pérez-Santiago, A. D. (2021). Efecto anti-proliferativo en líneas celulares de cáncer de mama y cervico-uterino causado por nanotubos de carbono múltipared—Lectina de *Phaseolus lunatus* var. *Silvester Baudet*. *REVISTA BIOMÉDICA*, *32*(2), Article 2. <https://doi.org/10.32776/revbiomed.v32i2.863>
- Al-Mubaddel, F. S., Haider, S., Al-Masry, W. A., Al-Zeghayer, Y., Imran, M., Haider, A., & Ullah, Z. (2017). Engineered nanostructures: A review of their synthesis, characterization and toxic hazard considerations. *Arabian Journal of Chemistry*, *10*, S376–S388. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2012.09.010>
- Álvarez Méndez, J. (2016). *Nanotubos de carbono: Empleo como material adsorbente para la determinación de metales* [Http://purl.org/dc/dcmitype/Text, Universidade de Santiago de Compostela]. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=132103>
- Andhari, S. S., Wavhale, R. D., Dhobale, K. D., Tawade, B. V., Chate, G. P., Patil, Y. N., Khandare, J. J., & Banerjee, S. S. (2020). Self-Propelling Targeted Magneto-Nanobots for Deep Tumor Penetration and pH-Responsive Intracellular Drug Delivery. *Scientific Reports*, *10*(1), 4703. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-61586-y>
- Andrade Guel, M. L., López López, L. I., & Sáenz Galindo, A. (2012). Nanotubos de carbono: Funcionalización y aplicaciones biológicas. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, *43*(3), 9–18.
- Anzar, N., Hasan, R., Tyagi, M., Yadav, N., & Narang, J. (2020). Carbon nanotube—A review on Synthesis, Properties and plethora of applications in the field of biomedical science. *Sensors International*, *1*, 100003. <https://doi.org/10.1016/j.sintl.2020.100003>
- Aqel, A., El-Nour, K. M. M. A., Ammar, R. A. A., & Al-Warthan, A. (2012). Carbon nanotubes, science and technology part (I) structure, synthesis and characterisation. *Arabian Journal*

- of Chemistry*, 5(1), 1–23. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2010.08.022>
- Avouris, P., & Dimitrakopoulos, C. (2012). Graphene: Synthesis and applications. *Materials Today*, 15(3), 86–97. [https://doi.org/10.1016/S1369-7021\(12\)70044-5](https://doi.org/10.1016/S1369-7021(12)70044-5)
- Azqhandi, M. H. A., Farahani, B. V., & Dehghani, N. (2017). Encapsulation of methotrexate and cyclophosphamide in interpolymer complexes formed between poly acrylic acid and poly ethylene glycol on multi-walled carbon nanotubes as drug delivery systems. *Materials Science and Engineering: C*, 79, 841–847. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.05.089>
- Bacon, R. (2004). Growth, Structure, and Properties of Graphite Whiskers. *Journal of Applied Physics*, 31(2), 283–290. <https://doi.org/10.1063/1.1735559>
- Baksi, R., Singh, D. P., Borse, S. P., Rana, R., Sharma, V., & Nivsarkar, M. (2018). In vitro and in vivo anticancer efficacy potential of Quercetin loaded polymeric nanoparticles. *Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedecine & Pharmacotherapie*, 106, 1513–1526. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.07.106>
- BalandrÁn-Quintana, R. R., Romero-Villegas, G. I., Mendoza-Wilson, A. M., & Sotelo-Mundo, R. R. (2008). Nanotubos de carbono y bionanotecnología. *Interciencia*, 33(5), 331–336.
- Bravo, C., Rojas, J., & López, A. (2007). Efecto de la temperatura en la síntesis por spray pyrolysis de polvo nanoparticulado de plata. *Instituto Peruano de Energía Nuclear*. <https://repositorio.ipen.gob.pe/handle/20.500.13054/495>
- Brennan, M. E., Coleman, J. N., Drury, A., Lahr, B., Kobayashi, T., & Blau, W. J. (2003). Nonlinear photoluminescence from van Hove singularities in multiwalled carbon nanotubes. *Optics Letters*, 28(4), 266–268. <https://doi.org/10.1364/ol.28.000266>
- Brito, A. F., Ribeiro, M., Abrantes, A. M., Pires, A. S., Teixeira, R. J., Tralhão, J. G., & Botelho, M. F. (2015). Quercetin in Cancer Treatment, Alone or in Combination with Conventional Therapeutics? *Current Medicinal Chemistry*, 22(26), 3025–3039. <https://doi.org/10.2174/0929867322666150812145435>
- Brooks, S. A., Hall, D. M. S., & Buley, I. (2001). GalNAc glycoprotein expression by breast cell lines, primary breast cancer and normal breast epithelial membrane. *British Journal of Cancer*, 85(7), 1014–1022. <https://doi.org/10.1054/bjoc.2001.2028>
- Camarena Díaz, J. P. (2011). *Ensamble molecular de nanotubos de carbono de pared múltiple*.

<https://hdl.handle.net/20.500.12930/5057>

- Cartaya, O., & Reynaldo, I. (2001). FLAVONOIDES: CARACTERISTICAS QUÍMICAS Y APLICACIONES. *Cultivos Tropicales*, 22(2), 5–14.
- Chakrabarti, M., Kiseleva, R., Vertegel, A., & Ray, S. K. (2015). Carbon Nanomaterials for Drug Delivery and Cancer Therapy. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 15(8), 5501–5511. <https://doi.org/10.1166/jnn.2015.10614>
- Cheng, J., Gu, Y.-J., Wang, Y., Cheng, S. H., & Wong, W.-T. (2011). Nanotherapeutics in angiogenesis: Synthesis and in vivo assessment of drug efficacy and biocompatibility in zebrafish embryos. *International Journal of Nanomedicine*, 6, 2007–2021. <https://doi.org/10.2147/IJN.S20145>
- Chiaretti, M., Mazzanti, G., Bosco, S., Bellucci, S., Cucina, A., Le Foche, F., Carru, G. A., Mastrangelo, S., Di Sotto, A., Masciangelo, R., Chiaretti, A. M., Balasubramanian, C., De Bellis, G., Micciulla, F., Porta, N., Deriu, G., & Tiberia, A. (2008). Carbon nanotubes toxicology and effects on metabolism and immunological modification *in vitro* and *in vivo*. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 20(47), 474203. <https://doi.org/10.1088/0953-8984/20/47/474203>
- Choi, K.-K., & Rhee, S.-W. (2001). Effect of Carrier Gas on Chemical Vapor Deposition of Copper with (Hexafluoroacetylacetonate) Cu (I) (3 , 3 - Dimethyl - 1 - butene). *Journal of The Electrochemical Society*, 148(7), C473. <https://doi.org/10.1149/1.1375168>
- Chou, A., Böcking, T., Singh, N. K., & Gooding, J. J. (2005). Demonstration of the importance of oxygenated species at the ends of carbon nanotubes for their favourable electrochemical properties. *Chemical Communications*, 7, 842–844. <https://doi.org/10.1039/B415051A>
- Cirillo, G., Vittorio, O., Hampel, S., Iemma, F., Parchi, P., Cecchini, M., Puoci, F., & Picci, N. (2013). Quercetin nanocomposite as novel anticancer therapeutic: Improved efficiency and reduced toxicity. *European Journal of Pharmaceutical Sciences: Official Journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences*, 49(3), 359–365. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2013.04.008>
- Costa, J., & Lock de Ugaz, O. (1993). Los flavonoides como compuestos biológicamente activos. *Revista de Química*, 7(1), 73–87.
- Cuesta Rubio, O., Márquez Hernández, I., & Campo Fernández, M. (2015). *Introducción a la*

- caracterización estructural de flavonoides*. Machala: Ecuador.
<http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/6845>
- Curcio, M., Cirillo, G., Parisi, O. I., Iemma, F., Picci, N., & Puoci, F. (2012). Quercetin-Imprinted Nanospheres as Novel Drug Delivery Devices. *Journal of Functional Biomaterials*, 3(2), 269–282. <https://doi.org/10.3390/jfb3020269>
- Cushman, M., & Nagarathnam, D. (1991). Cytotoxicities of some flavonoid analogues. *Journal of Natural Products*, 54(6), 1656–1660. <https://doi.org/10.1021/np50078a027>
- Dai, H. (2002). Carbon Nanotubes: Synthesis, Integration, and Properties. *Accounts of Chemical Research*, 35(12), 1035–1044. <https://doi.org/10.1021/ar0101640>
- Dai, H., Rinzler, A. G., Nikolaev, P., Thess, A., Colbert, D. T., & Smalley, R. E. (1996). Single-wall nanotubes produced by metal-catalyzed disproportionation of carbon monoxide. *Chemical Physics Letters*, 260(3), 471–475. [https://doi.org/10.1016/0009-2614\(96\)00862-7](https://doi.org/10.1016/0009-2614(96)00862-7)
- Dajas, F. (2012). Life or death: Neuroprotective and anticancer effects of quercetin. *Journal of Ethnopharmacology*, 143(2), 383–396. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.07.005>
- Daneshmehr, S. (2015). Carbon Nanotubes for Delivery of Quercetin as Anticancer Drug: Theoretical Study. *Procedia Materials Science*, 11, 131–136. <https://doi.org/10.1016/j.mspro.2015.11.128>
- Delgado Ciruelo, L. (2015). *Mecanismos de acción implicados en la bioactividad de flavonoides. Caenorhabditis elegans y líneas celulares como sistemas modelo*. <https://doi.org/10.14201/gredos.129389>
- Delgado, J. L., Herranz, M. A., & Martín León, N. (2007). Nanoestructuras de carbono: Un nuevo desafío científico. *Anales de Química de la RSEQ*, 4, 5–13.
- Deshpande, P., & Mahendru, A. (2018). A Review Of Single Wall Carbon Nanotube: Structure And Preparation. *International Journal of Scientific and Technology Research*, 7.
- Dey, P., & Das, N. (2013). Carbon nanotubes: It's role in modern health care. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5, 9–13.
- Díaz López, G. M. (2008). *Síntesis de nanotubos de carbón por pirólisis de hidrocarburos botánicos*. http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx:8083/xmlui/handle/DGB_UMICH/7997
- Dinda, S., Mandal, D., Sarkar, S., & Das, P. K. (2017). Self-Assembled Vesicle-Carbon

- Nanotube Conjugate Formation through a Boronate-Diol Covalent Linkage. *Chemistry (Weinheim an Der Bergstrasse, Germany)*, 23(60), 15194–15202. <https://doi.org/10.1002/chem.201703452>
- Dong, D., Xu, Z., Zhong, W., & Peng, S. (2018). Parallelization of Molecular Docking: A Review. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 18(12), 1015–1028. <https://doi.org/10.2174/1568026618666180821145215>
- Dong, Y., Guo, S., Mao, H., Xu, C., Xie, Y., Deng, J., Wang, L., Du, Z., Xiong, F., & Sun, J. (2020). In Situ Growth of CVD Graphene Directly on Dielectric Surface toward Application. *ACS Applied Electronic Materials*, 2(1), 238–246. <https://doi.org/10.1021/acsaelm.9b00719>
- Dubey, R., Dutta, D., Sarkar, A., & Chattopadhyay, P. (2021). Functionalized carbon nanotubes: Synthesis, properties and applications in water purification, drug delivery, and material and biomedical sciences. *Nanoscale Advances*, 3(20), 5722–5744. <https://doi.org/10.1039/D1NA00293G>
- Duran Becerra, C. (2021). *Manual de acoplamiento molecular (docking): Teoría y ejercicios* [Académico]. Repositorio Institucional de UAM-Xochimilco. <https://repositorio.xoc.uam.mx/jspui/handle/123456789/26310>
- Eatemadi, A., Daraee, H., Karimkhanloo, H., Kouhi, M., Zarghami, N., Akbarzadeh, A., Abasi, M., Hanifehpour, Y., & Joo, S. W. (2014). Carbon nanotubes: Properties, synthesis, purification, and medical applications. *Nanoscale Research Letters*, 9(1), 393. <https://doi.org/10.1186/1556-276X-9-393>
- Escamilla Jiménez, C. I., Cuevas Martínez, E. Y., & Guevara Fonseca, J. (2009). Flavonoides y sus acciones antioxidantes. *Revista de La Facultad de Medicina. UNAM*, 52(2), Article 2.
- Feng, Q., Tan, H. H., Ge, Z. Z., Gao, Y. J., Chen, H. M., & Xiao, S. D. (2014). Thalidomide-induced angiopoietin 2, Notch1 and Dll4 downregulation under hypoxic condition in tissues with gastrointestinal vascular malformation and human umbilical vein endothelial cells. *Journal of Digestive Diseases*, 15(2), 85–95. <https://doi.org/10.1111/1751-2980.12114>
- Gannon, C. J., Cherukuri, P., Yakobson, B. I., Cognet, L., Kanzius, J. S., Kittrell, C., Weisman, R. B., Pasquali, M., Schmidt, H. K., Smalley, R. E., & Curley, S. A. (2007). Carbon

- nanotube-enhanced thermal destruction of cancer cells in a noninvasive radiofrequency field. *Cancer*, 110(12), 2654–2665. <https://doi.org/10.1002/cncr.23155>
- Globocan. (2020a). *All cancers* [dataset]. <https://gco.iarc.fr/today>. <https://gco.iarc.fr/today>
- Globocan. (2020b). *Breast* [dataset]. <https://gco.iarc.fr/today>. <https://gco.iarc.fr/today>
- Globocan. (2020c). *México* [dataset]. <https://gco.iarc.fr/today>. <https://gco.iarc.fr/today>
- Granados R., J. C., Arias P., E. R., Pacheco L., D. J., Valdiris A., V., & Vivas-Reyes, R. (2010). MOLECULAR DOCKING, 3D-QSAR AND DE NOVO DESIGN OF BENZIMIDAZOLES AND IMIDAZOLINES (S)-ISOTHIAZOLIDINONES DERIVATIVES AS PTP 1B INHIBITORS. *Vitae*, 17(3), 317–327. <https://doi.org/10.17533/udea.vitae.7440>
- Grebenyukov, V. V., Obratsova, E. D., Pozharov, A. S., Arutyunyan, N. R., Romeikov, A. A., & Kozyrev, I. A. (2008). Arc-synthesis of Single-walled Carbon Nanotubes in Nitrogen Atmosphere. *Fullerenes, Nanotubes and Carbon Nanostructures*, 16(5–6), 330.
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*, 144(5), 646–674. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
- Hang, H. C., & Bertozzi, C. R. (2005). The chemistry and biology of mucin-type O-linked glycosylation. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 13(17), 5021–5034. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2005.04.085>
- Harbeck, N., & Gnant, M. (2017). Breast cancer. *The Lancet*, 389(10074), 1134–1150. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)31891-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)31891-8)
- Hashemzaei, M., Far, A. D., Yari, A., Heravi, R. E., Tabrizian, K., Taghdisi, S. M., Sadegh, S. E., Tsarouhas, K., Kouretas, D., Tzanakakis, G., Nikitovic, D., Anisimov, N. Y., Spandidos, D. A., Tsatsakis, A. M., & Rezaee, R. (2017). Anticancer and apoptosis-inducing effects of quercetin in vitro and in vivo. *Oncology Reports*, 38(2), 819–828. <https://doi.org/10.3892/or.2017.5766>
- Hausman, D. M. (2019). What Is Cancer? *Perspectives in Biology and Medicine*, 62(4), 778–784. <https://doi.org/10.1353/pbm.2019.0046>
- Hildebrand, P. W., Rose, A. S., & Tiemann, J. K. S. (2019). Bringing Molecular Dynamics Simulation Data into View. *Trends in Biochemical Sciences*, 44(11), 902–913. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2019.06.004>

- Holmannova, D., Borsky, P., Svadlakova, T., Borska, L., & Fiala, Z. (2022). Reproductive and Developmental Nanotoxicity of Carbon Nanoparticles. *Nanomaterials*, 12(10), 1716. <https://doi.org/10.3390/nano12101716>
- Hu, Y., & Niemeyer, C. M. (2020). Designer DNA–silica/carbon nanotube nanocomposites for traceable and targeted drug delivery. *Journal of Materials Chemistry B*, 8(11), 2250–2255. <https://doi.org/10.1039/C9TB02861G>
- Huang, G., Zhang, Y., Ouyang, J., Baeyens, W., & Delanghe, J. (2006). Application of carbon nanotube-matrix assistant native polyacrylamide gel electrophoresis to the separation of apolipoprotein A-I and complement C3. *ANALYTICA CHIMICA ACTA*, 557(1–2), Article 1–2.
- Iijima, S. (1991). Helical microtubules of graphitic carbon. *Nature*, 354(6348), Article 6348. <https://doi.org/10.1038/354056a0>
- Iijima, S. (2002). Carbon nanotubes: Past, present, and future. *Physica B: Condensed Matter*, 323(1), 1–5. [https://doi.org/10.1016/S0921-4526\(02\)00869-4](https://doi.org/10.1016/S0921-4526(02)00869-4)
- Inagaki, M., Kang, F., Toyoda, M., & Konno, H. (2014). Introduction. En *Advanced Materials Science and Engineering of Carbon* (pp. 1–13). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-407789-8.00001-6>
- INEGI. (2023). *Estadísticas a propósito del día mundial contra el cáncer* [dataset]. Comunicado de prensa Num 77/23. <http://www.inegi.org.mx/>
- Izadyar, A., Farhadian, N., & Chenarani, N. (2016). Molecular dynamics simulation of doxorubicin adsorption on a bundle of functionalized CNT. *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*, 34(8), 1797–1805. <https://doi.org/10.1080/07391102.2015.1092475>
- Jacob, M., Varghese, J., Weil, A., & Murray, R. K. (2015). Cáncer: Una descripción general. En *Harper. Bioquímica ilustrada* (30a ed., pp. 722–745). McGraw Hill. <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?sectionid=275231136&bookid=3284>
- Jain, K. K. (2005). The role of nanobiotechnology in drug discovery. *Drug Discovery Today*, 10(21), 1435–1442. [https://doi.org/10.1016/S1359-6446\(05\)03573-7](https://doi.org/10.1016/S1359-6446(05)03573-7)
- Jawahar, N., De, A., Jubee, S., & Reddy, E. S. (2020). Folic acid-conjugated raloxifene

- hydrochloride carbon nanotube for targeting breast cancer cells. *Drug Development Research*, 81(3), 305–314. <https://doi.org/10.1002/ddr.21620>
- Kaur, R. (2018). Carbon Nanotubes: A Review Article. *International Journal for Research in Applied Science and Engineering Technology*, 6(4), 5075–5079. <https://doi.org/10.22214/ijraset.2018.4827>
- Kawaguchi, T., Takazawa, H., Imai, S., Morimoto, J., Watanabe, T., Kanno, M., & Igarashi, S. (2006). Expression of Vicia villosa agglutinin (VVA)-binding glycoprotein in primary breast cancer cells in relation to lymphatic metastasis: Is atypical MUC1 bearing Tn antigen a receptor of VVA? *Breast Cancer Research and Treatment*, 98(1), 31–43. <https://doi.org/10.1007/s10549-005-9115-6>
- Khan, M. U., Reddy, K. R., Snguanwongchai, T., Haque, E., & Gomes, V. G. (2016). Polymer brush synthesis on surface modified carbon nanotubes via in situ emulsion polymerization. *Colloid and Polymer Science*, 294(10), 1599–1610. <https://doi.org/10.1007/s00396-016-3922-7>
- Kharissova, O. V., Robledo, C. L., & Ortiz, U. (2004). *Síntesis de nanoestructuras de carbono mediante microondas*. 23.
- Kim, S. Y., Hwang, J.-Y., Seo, J.-W., & Shin, U. S. (2015). Production of CNT-taxol-embedded PCL microspheres using an ammonium-based room temperature ionic liquid: As a sustained drug delivery system. *Journal of Colloid and Interface Science*, 442, 147–153. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2014.11.044>
- Kumar, M., Sharma, G., Misra, C., Kumar, R., Singh, B., Katare, O. P., & Raza, K. (2018). N-desmethyl tamoxifen and quercetin-loaded multiwalled CNTs: A synergistic approach to overcome MDR in cancer cells. *Materials Science & Engineering. C, Materials for Biological Applications*, 89, 274–282. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.03.033>
- Lehman, J. H., Terrones, M., Mansfield, E., Hurst, K. E., & Meunier, V. (2011). Evaluating the characteristics of multiwall carbon nanotubes. *Carbon*, 49(8), 2581–2602. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2011.03.028>
- Li, J., Shi, M., Ma, B., Niu, R., Zhang, H., & Kun, L. (2017). Antitumor activity and safety evaluation of nanoparticle-based delivery of quercetin through intravenous administration in mice. *Materials Science & Engineering. C, Materials for Biological Applications*, 77,

803–810. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.03.191>

- Longo, D. L., Kasper, D. L., Jameson, J. L., Fauci, A. S., Hauser, S. L., & Loscalzo, J. (Eds.). (2012). *Harrison's principles of internal medicine* (18th ed). McGraw-Hill medical.
- Lu, N., Sui, Y., Zeng, L., Tian, R., & Peng, Y.-Y. (2018). Generation of a Diligand Complex of Bovine Serum Albumin with Quercetin and Carbon Nanotubes for the Protection of Bioactive Quercetin and Reduction of Cytotoxicity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *66*(31), 8355–8362. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b02327>
- Madani, S. Y., Tan, A., Dwek, M., & Seifalian, A. M. (2012). Functionalization of single-walled carbon nanotubes and their binding to cancer cells. *International Journal of Nanomedicine*, *7*, 905–914. <https://doi.org/10.2147/IJN.S25035>
- Marín Quílez, A. (2022). *Glicosilación: Importancia y función a nivel sistémico*. [Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology]. <https://atlasgeneticsoncology.org/teaching/208927/glicosilaci-n-importancia-y-funci-n-a-nivel-sist-mico#>
- Martínez, M. del C. J., Márquez, H. T., Sánchez, A. H., Ibarra, J. L. R., Chávez, R., Lascrain, R., & Zenteno, E. (2002). Alteraciones de la glicosilación en enfermedades humanas. *Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias*, *15*(1), 39–47.
- Mollania, F., Hadipour, N. L., & Mollania, N. (2020). CNT-based nanocarrier loaded with pyrimethamine for adipose mesenchymal stem cells differentiation and cancer treatment: The computational and experimental methods. *Journal of Biotechnology*, *308*, 40–55. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2019.11.005>
- Muñoz, A. (1997). *Cáncer: Genes y nuevas terapias* (Vol. 2). Hélice.
- Muzi, L., Ménard-Moyon, C., Russier, J., Li, J., Chin, C. F., Ang, W. H., Pastorin, G., Risuleo, G., & Bianco, A. (2015). Diameter-dependent release of a cisplatin pro-drug from small and large functionalized carbon nanotubes. *Nanoscale*, *7*(12), 5383–5394. <https://doi.org/10.1039/C5NR00220F>
- Niazvand, F., Orazizadeh, M., Khorsandi, L., Abbaspour, M., Mansouri, E., & Khodadadi, A. (2019). Effects of Quercetin-Loaded Nanoparticles on MCF-7 Human Breast Cancer Cells. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*, *55*(4), 114. <https://doi.org/10.3390/medicina55040114>

- O'Connell, M. J. (2018). *Carbon Nanotubes: Properties and Applications*. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781315222127>
- Pagadala, N. S., Syed, K., & Tuszynski, J. (2017). Software for molecular docking: A review. *Biophysical Reviews*, 9(2), 91–102. <https://doi.org/10.1007/s12551-016-0247-1>
- Palomares, L. A. (2005). *LA N-GLICOSILACION: UNA MODIFICACION POSTRADUCCIONAL ALTAMENTE SENSIBLE A LAS CONDICIONES DE BIOPROCESO*.
- Park, J. B. (2005). Quercetin. En *Encyclopedia of Dietary Supplements* (2a ed., pp. 656–664). Informa Healthcare.
- Pasban, S., Raissi, H., Pakdel, M., & Farzad, F. (2019). Enhance the efficiency of 5-fluorouracil targeted delivery by using a prodrug approach as a novel strategy for prolonged circulation time and improved permeation. *International Journal of Pharmaceutics*, 568, 118491. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.118491>
- Paucara, B., Guadalupe, W., Torrez, G., & Enrique, R. (s/f). *Acomplamiento molecular: Criterios prácticos para la selección de ligandos biológicamente activos e identificación de nuevos blancos terapéuticos*.
- Peigney, A., Laurent, Ch., Flahaut, E., Bacsá, R. R., & Rousset, A. (2001). Specific surface area of carbon nanotubes and bundles of carbon nanotubes. *Carbon*, 39(4), 507–514. [https://doi.org/10.1016/S0008-6223\(00\)00155-X](https://doi.org/10.1016/S0008-6223(00)00155-X)
- Pérez-Aguilar, M. C., Goncalves, L., Mogollón, N., & Bonfante-Cabarcas, R. (2013). O-glicosilación incompleta en células cancerígenas y parásitos: Importancia biomédica. *Salus*, 17(2), 58–67.
- Ponder, J. W., & Case, D. A. (2003). Force Fields for Protein Simulations. En *Advances in Protein Chemistry* (Vol. 66, pp. 27–85). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0065-3233\(03\)66002-X](https://doi.org/10.1016/S0065-3233(03)66002-X)
- Pouilly, S., Piller, V., & Piller, F. (2012). Metabolic glycoengineering through the mammalian GalNAc salvage pathway. *The FEBS Journal*, 279(4), 586–598. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2011.08448.x>
- Puoci, F., Morelli, C., Cirillo, G., Curcio, M., Parisi, O. I., Maris, P., Sisci, D., & Picci, N. (2012). Anticancer activity of a quercetin-based polymer towards HeLa cancer cells.

- Anticancer Research*, 32(7), 2843–2847.
- Qin, Y., Chen, J., Bi, Y., Xu, X., Zhou, H., Gao, J., Hu, Y., Zhao, Y., & Chai, Z. (2015). Near-infrared light remote-controlled intracellular anti-cancer drug delivery using thermo/pH sensitive nanovehicle. *Acta Biomaterialia*, 17, 201–209. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2015.01.026>
- Qu, Y., Yang, B., Jiang, X., Ma, X., Lu, C., & Chen, C. (2017). Multiwalled Carbon Nanotubes Inhibit Steroidogenesis by Disrupting Steroidogenic Acute Regulatory Protein Expression and Redox Status. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 17(2), 914–925. <https://doi.org/10.1166/jnn.2017.12647>
- Rao, R., Pint, C. L., Islam, A. E., Weatherup, R. S., Hofmann, S., Meshot, E. R., Wu, F., Zhou, C., Dee, N., Amama, P. B., Carpena-Nuñez, J., Shi, W., Plata, D. L., Penev, E. S., Yakobson, B. I., Balbuena, P. B., Bichara, C., Futaba, D. N., Noda, S., ... Hart, A. J. (2018). Carbon Nanotubes and Related Nanomaterials: Critical Advances and Challenges for Synthesis toward Mainstream Commercial Applications. *ACS Nano*, 12(12), 11756–11784. <https://doi.org/10.1021/acsnano.8b06511>
- Rathod, V., Tripathi, R., Joshi, P., Jha, P. K., Bahadur, P., & Tiwari, S. (2019). Paclitaxel Encapsulation into Dual-Functionalized Multi-Walled Carbon Nanotubes. *AAPS PharmSciTech*, 20(2), 51. <https://doi.org/10.1208/s12249-018-1218-6>
- Raza, K., Kumar, D., Kiran, C., Kumar, M., Guru, S. K., Kumar, P., Arora, S., Sharma, G., Bhushan, S., & Katare, O. P. (2016). Conjugation of Docetaxel with Multiwalled Carbon Nanotubes and Codelivery with Piperine: Implications on Pharmacokinetic Profile and Anticancer Activity. *Molecular Pharmaceutics*, 13(7), 2423–2432. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.6b00183>
- Rezaian, M., Maleki, R., Dahri Dahroud, M., Alamdari, A., & Alimohammadi, M. (2018). pH-Sensitive Co-Adsorption/Release of Doxorubicin and Paclitaxel by Carbon Nanotube, Fullerene, and Graphene Oxide in Combination with N-isopropylacrylamide: A Molecular Dynamics Study. *Biomolecules*, 8(4), 127. <https://doi.org/10.3390/biom8040127>
- Rezazadeh, F., Mohamadi, M., Afzali, D., Shamspur, T., & Mostafavi, A. (2015). A Quercetin Biosensor Based on Chitosan-Entrapped Carbon Nanotube Paste Electrode Coated with

- DNA. *Journal of AOAC International*, 98(5), 1375–1381.
<https://doi.org/10.5740/jaoacint.15-042>
- Rodwell, V. W. (Ed.). (2015). *Harper's illustrated biochemistry* (30. ed). McGraw-Hill.
- Rossi, M., Rickles, L., & Halpin, W. (1986). The crystal and molecular structure of quercetin: A biologically active and naturally occurring flavonoid. *Bioorganic Chemistry*, 14, 55–69. [https://doi.org/10.1016/0045-2068\(86\)90018-0](https://doi.org/10.1016/0045-2068(86)90018-0)
- Ruan, S., Zhu, B., Zhang, H., Chen, J., Shen, S., Qian, J., He, Q., & Gao, H. (2014). A simple one-step method for preparation of fluorescent carbon nanospheres and the potential application in cell organelles imaging. *Journal of Colloid and Interface Science*, 422, 25–29. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2014.02.006>
- Ruiz Hernández, A. R., Gutiérrez Cruz, A., Luna, D., Vega, J. F., Patiño Guillén, G., Arceta Lozano, A., & Campos-Delgado, J. (2021). Síntesis de nanoestructuras de carbono mediante la Técnica de Deposición Química de Vapores: Una revisión general. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 24. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2021.323>
- Saeednia, L., Yao, L., Cluff, K., & Asmatulu, R. (2019). Sustained Releasing of Methotrexate from Injectable and Thermosensitive Chitosan-Carbon Nanotube Hybrid Hydrogels Effectively Controls Tumor Cell Growth. *ACS Omega*, 4(2), 4040–4048. <https://doi.org/10.1021/acsomega.8b03212>
- Saifuddin, N., Raziah, A. Z., & Junizah, A. R. (2013). Carbon Nanotubes: A Review on Structure and Their Interaction with Proteins. *Journal of Chemistry*, 2013, 1–18. <https://doi.org/10.1155/2013/676815>
- Sanand, S., Kumar, S., Bara, N., & Kaul, G. (2018). Comparative evaluation of half-maximum inhibitory concentration and cytotoxicity of silver nanoparticles and multiwalled carbon nanotubes using buffalo bull spermatozoa as a cell model. *Toxicology and Industrial Health*, 34(9), 640–652. <https://doi.org/10.1177/0748233718783389>
- Santaella-Verdejo, A., Gallegos, B., Pérez-Campos, E., Hernández, P., & Zenteno, E. (2007). Use of amaranthus leucocarpus lectin to differentiate cervical dysplasia (CIN). *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 37(3), 219–228. <https://doi.org/10.1080/10826060701386703>

- Santucci, C., Carioli, G., Bertuccio, P., Malvezzi, M., Pastorino, U., Boffetta, P., Negri, E., Bosetti, C., & La Vecchia, C. (2020). Progress in cancer mortality, incidence, and survival: A global overview. *European Journal of Cancer Prevention*, 29(5), 367. <https://doi.org/10.1097/CEJ.0000000000000594>
- Seyfoori, A., Sarfarazijami, S., & Seyyed Ebrahimi, S. A. (2019). pH-responsive carbon nanotube-based hybrid nanogels as the smart anticancer drug carrier. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 47(1), 1437–1443. <https://doi.org/10.1080/21691401.2019.1596939>
- Śledź, P., & Caflisch, A. (2018). Protein structure-based drug design: From docking to molecular dynamics. *Current Opinion in Structural Biology*, 48, 93–102. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2017.10.010>
- Sobhani, Z., Behnam, M. A., Emami, F., Dehghanian, A., & Jamhiri, I. (2017). Photothermal therapy of melanoma tumor using multiwalled carbon nanotubes. *International Journal of Nanomedicine, Volume 12*, 4509–4517. <https://doi.org/10.2147/IJN.S134661>
- Stanley, M. W., Kiang, D. T., & Sibley, R. K. (1986). Peanut lectin binding in breast carcinoma. Lack of correlation with estrogen receptor content. *Cancer*, 58(9), 2046–2051. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19861101\)58:9<2046::aid-cnrcr2820580915>3.0.co;2-y](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19861101)58:9<2046::aid-cnrcr2820580915>3.0.co;2-y)
- Sukumaran, S., M., H., & C., S. (2019). Quercetin binding to Spatholobus parviflorus lectin: Promise of a macromolecular, specific-compound carrier for drug. *International Journal of Biological Macromolecules*, 133, 214–225. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.04.100>
- Taib, N.-A. A. B., Rahman, Md. R., Matin, M. M., Uddin, J., Bakri, M. K. B., & Khan, A. (2021). *A Review on Carbon Nanotubes (CNT): Structure, Synthesis, Purification and Properties for Modern day Applications* [Preprint]. In Review. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-930166/v1>
- Tang, X., Wu, Y., Belenkaya, T. Y., Huang, Q., Ray, L., Qu, J., & Lin, X. (2012). Roles of N-glycosylation and lipidation in Wg secretion and signaling. *Developmental Biology*, 364(1), 32–41. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2012.01.009>
- Tavakolifard, S., Biazar, E., Pourshamsian, K., & Moslemin, M. H. (2016). Synthesis and

- evaluation of single-wall carbon nanotube-paclitaxel-folic acid conjugate as an anti-cancer targeting agent. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 44(5), 1247–1253. <https://doi.org/10.3109/21691401.2015.1019670>
- Tchounwou, C., Sinha, S. S., Viraka Nellore, B. P., Pramanik, A., Kanchanapally, R., Jones, S., Chavva, S. R., & Ray, P. C. (2015). Hybrid Theranostic Platform for Second Near-IR Window Light Triggered Selective Two-Photon Imaging and Photothermal Killing of Targeted Melanoma Cells. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 7(37), 20649–20656. <https://doi.org/10.1021/acsami.5b05225>
- Teo, K., Singh, C., Chhowalla, M., & Milne, W. (2003). Catalytic Synthesis of Carbon Nanotubes and Nanofibers. *Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology*, 1.
- UniProt. (s/f-a). P16300 · LEC_PHALU [dataset]. UniProt. <https://www.uniprot.org/uniprotkb/P16300/entry>
- UniProt. (s/f-b). P33183 · NIGB_SAMNI [dataset]. UniProt. <https://www.uniprot.org/uniprotkb/P33183/entry>
- van Mourik, T., Bühl, M., & Gageot, M.-P. (2014). Density functional theory across chemistry, physics and biology. *Philosophical transactions. Series A, Mathematical, physical, and engineering sciences*, 372(2011), 20120488. <https://doi.org/10.1098/rsta.2012.0488>
- Vargas Aguilar, A. A., Fuentes Condori, R., Vargas Aguilar, A. A., & Fuentes Condori, R. (2021). Estudios in Silico, Simulando Vida en un Entorno Virtual. *Gaceta Médica Boliviana*, 44(2), 278–279. <https://doi.org/10.47993/gmb.v44i2.263>
- Vicentini, F. T. M. C., Simi, T. R. M., Del Ciampo, J. O., Wolga, N. O., Pitol, D. L., Iyomasa, M. M., Bentley, M. V. L. B., & Fonseca, M. J. V. (2008). Quercetin in w/o microemulsion: In vitro and in vivo skin penetration and efficacy against UVB-induced skin damages evaluated in vivo. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics: Official Journal of Arbeitsgemeinschaft Fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V*, 69(3), 948–957. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2008.01.012>
- Vidal-Limon, A., Aguilar-Toalá, J. E., & Liceaga, A. M. (2022). Integration of Molecular Docking Analysis and Molecular Dynamics Simulations for Studying Food Proteins and Bioactive Peptides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(4), 934–943. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c06110>

- Vinothini, K., Rajendran, N. K., Ramu, A., Elumalai, N., & Rajan, M. (2019). Folate receptor targeted delivery of paclitaxel to breast cancer cells via folic acid conjugated graphene oxide grafted methyl acrylate nanocarrier. *Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedecine & Pharmacotherapie*, *110*, 906–917. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.12.008>
- Vittorio, O., Brandl, M., Cirillo, G., Spizzirri, U. G., Picci, N., Kavallaris, M., Iemma, F., & Hampel, S. (2014). Novel functional cisplatin carrier based on carbon nanotubes–quercetin nanohybrid induces synergistic anticancer activity against neuroblastoma in vitro. *RSC Advances*, *4*(59), 31378–31384. <https://doi.org/10.1039/C4RA03331K>
- Vögele, M., Köfinger, J., & Hummer, G. (2018). Molecular dynamics simulations of carbon nanotube porins in lipid bilayers. *Faraday Discussions*, *209*(0), 341–358. <https://doi.org/10.1039/C8FD00011E>
- Wang, G., Zhang, J., Liu, L., Sharma, S., & Dong, Q. (2012). Quercetin potentiates doxorubicin mediated antitumor effects against liver cancer through p53/Bcl-xl. *PloS One*, *7*(12), e51764. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051764>
- Wu, X., Xu, L., Li, E., & Dong, G. (2022). Application of molecular dynamics simulation in biomedicine. *Chemical Biology & Drug Design*, *99*(5), 789–800. <https://doi.org/10.1111/cbdd.14038>
- Yang, L., Xu, B., Ye, H., Zhao, F., & Zeng, B. (2017). A novel quercetin electrochemical sensor based on molecularly imprinted poly(para-aminobenzoic acid) on 3D Pd nanoparticles-porous graphene-carbon nanotubes composite. *Sensors and Actuators B: Chemical*, *251*. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.04.006>
- Yu, S., Zhang, Y., Chen, L., Li, Q., Du, J., Gao, Y., Zhang, L., & Yang, Y. (2018). Antitumor effects of carbon nanotube-drug complex against human breast cancer cells. *Experimental and Therapeutic Medicine*, *16*(2), 1103–1110. <https://doi.org/10.3892/etm.2018.6334>
- Zhang, X., Meng, L., Lu, Q., Fei, Z., & Dyson, P. J. (2009). Targeted delivery and controlled release of doxorubicin to cancer cells using modified single wall carbon nanotubes. *Biomaterials*, *30*(30), 6041–6047. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.07.025>
- Zhang, X., Teng, Y., Fu, Y., Zhang, S., Wang, T., Wang, C., Jin, L., & Zhang, W. (2011). Lectin-based electrochemical biosensor constructed by functionalized carbon nanotubes

for the competitive assay of glycan expression on living cancer cells. *Chemical Science*, 2(12), 2353–2360. <https://doi.org/10.1039/C1SC00562F>

Zhou, F., Wu, S., Wu, B., Chen, W. R., & Xing, D. (2011). Mitochondria-targeting single-walled carbon nanotubes for cancer photothermal therapy. *Small (Weinheim an Der Bergstrasse, Germany)*, 7(19), 2727–2735. <https://doi.org/10.1002/sml.201100669>

ANEXOS A

CURVA ESTÁNDAR DE BSA

Para la realización de la cuantificación de proteínas mediante la técnica de Bradford. Para la creación de una curva estándar utilizando concentraciones conocidas de la proteína BSA (albúmina de suero bovino), es posible obtener la concentración de proteína desconocida una solución, basada en la absorbancia de la solución muestra.

Se utilizó una solución concentrada de BSA (albúmina de suero bovino), 1mg/mL para realizar la curva de calibración estándar (Tabla A-1).

Tabla A-1. Elaboración de curva estándar de Bradford

H ₂ O (μL)	BSA (μL)
100.0	0.0
87.5	12.5
75.0	25.0
62.5	37.5
50.0	50.0
37.5	62.5
25.0	75.0
12.5	87.5
0.0	100.0

Se adicionaron 100 μL de solución de BSA, 5mL de reactivo de Bradford diluido y filtrado, y posterior una lectura de absorbancia en un espectrofotómetro a 595 nm. Los valores se graficaron para la obtención de la curva de calibración estándar, aplicando regresión lineal (Figura A-0-1).

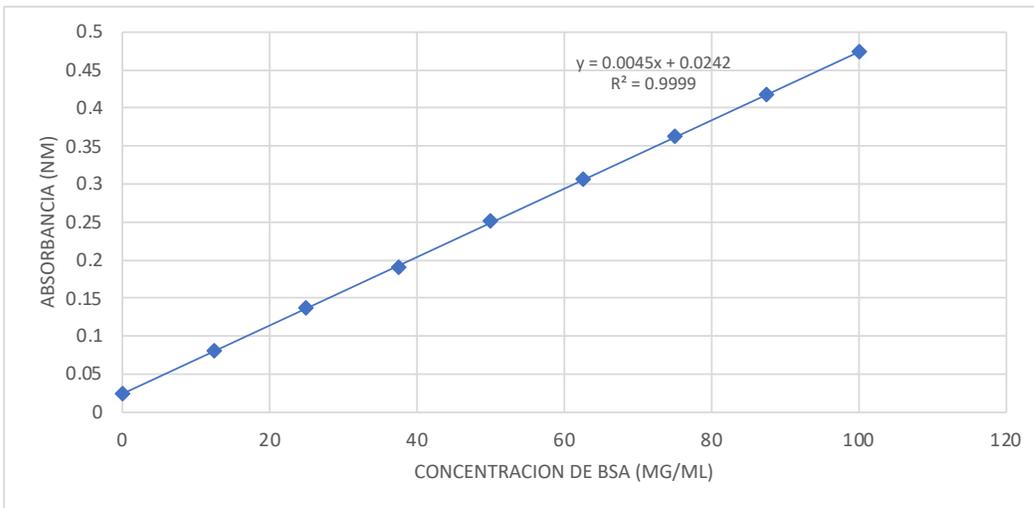


Figura A-0-1. Gráfico de la curva estándar obtenida con BSA

CURVA ESTÁNDAR DE ÁCIDO ASCÓRBICO

Se disolvió 10 mg de ácido ascórbico en etanol al 80 %. A partir de la misma, se preparó la curva estándar según las siguientes concentraciones (Tabla A-2).

Tabla A-2. Concentraciones de ácido ascórbico para curva estándar

mg Eq Ácido ascórbico/ mL
0
25
50
100
150
200

Se tomaron 100 μL de las diluciones, adicionando 2900 μL , se agitaron e incubaron por 30 min, para leer su absorbancia a 517 nm en un espectrofotómetro. Los valores se graficaron para la obtención de la curva de calibración estándar, aplicando regresión lineal (Figura A-0-2).

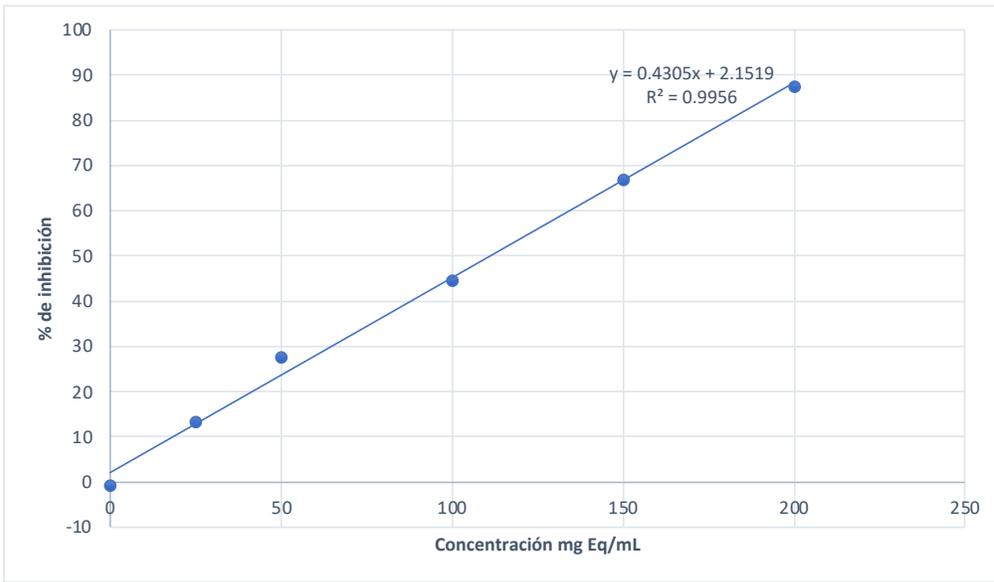
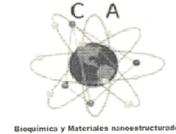


Figura A-0-2. Gráfico de la curva estándar obtenida con Ácido ascórbico

ANEXOS B



INSTITUTO TECNOLÓGICO DE OAXACA

SEMINARIO DEL CUERPO ACADÉMICO
"BIOQUÍMICA Y MATERIALES NANOESTRUCTURADOS
ITOAX-CA-4"

OTORGA LA PRESENTE

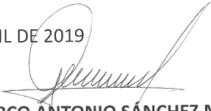
CONSTANCIA A:

HOLANDA ISABEL CRUZ LUIS
POR SU PARTICIPACIÓN EN LA PONENCIA:

"RADIACIÓN LÁSER Y LOS NANOTUBOS DE CARBONO".

OAXACA DE JUÁREZ, OAX. A 03 DE ABRIL DE 2019


DRA. ALMA DOLORES PÉREZ SANTIAGO


DR. MARCO ANTONIO SÁNCHEZ MEDINA

SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE OAXACA
COORDINADORES DEL SEMINARIO



XXVIII
INTERNATIONAL
MATERIALS
RESEARCH
CONGRESS

The Organizing Committee
Acknowledges the Participation of

Holanda Isabel Cruz Luís

in the XXVIII International Materials Research Congress


Heberto Balmori Ramírez
President of the Sociedad Mexicana de Materiales, 2019-2020.

Sociedad Mexicana de Materiales A.C.

MRS MATERIALS RESEARCH SOCIETY®
Advancing materials. Improving the quality of life.



August 2019

TO WHOM IT MAY CONCERN
P r e s e n t

This is to certify that *Holanda Isabel Cruz Luís*, *María de Jesús Gil Gallegos*, *Alma Dolores Pérez Santiago* presented the contribution: **EFFECT OF LASER IRRADIATION ON MULTI-WALLED CARBON NANOTUBES** as **Poster** modality, in the Nanostructured Materials and Nanotechnology: Synthesis, Properties and Theory Symposium at the XXVIII International Materials Research Congress held in Cancun, Mexico from August 18th to 23th, 2019.

Sincerely,

Heberto Balmori Ramirez
President



August 2019

TO WHOM IT MAY CONCERN
P r e s e n t

This is to certify that *Holanda Isabel Cruz Luís*, *María de Jesús Gil Gallegos*, *Alma Dolores Pérez Santiago* presented the contribution **REMOVAL IN WATER OF THE HEXAVALENT CHROME THROUGH NANOSTRUCTURED MATERIAL** modality, in the Nanostructured Materials and Nanotechnology: Synthesis, Properties and Theory Symposium at the XXVIII International Materials Research Congress held in Cancun, Mexico from August 18th to 23th, 2019.

Sincerely,

Heberto Balmori Ramirez
President





SOCIEDAD MEXICANA DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA
DE SUPERFICIES Y MATERIALES (SMCTSM)

XIII INTERNATIONAL
CONFERENCE ON
SURFACES, MATERIALS AND VACUUM

VIRTUAL CONFERENCE | OCTOBER 19-22, 2020

The Sociedad Mexicana de Ciencia y Tecnología de Superficies y Materiales, A.C.,
award the present certificate to:

Holanda Cruz-Luis, Maria Gil-Gallego, Alma Perez-Santiago, Marco Sanchez-Medina, Itandehui Gallego-Velasco

For the participation at the XIII International Conference on Surfaces, Materials and Vacuum,
with the oral contribution:

"Irradiation of carbon nanotubes, application"

The present certificate is issued on October 23, 2020.

Dr. Francisco Servando Aguirre Tostado
SMCTSM-PRESIDENT



Otorgan el presente

RECONOCIMIENTO

a
Holanda Isabel Cruz Luis

Por la presentación del trabajo "Nanocompuesto a base de carbono y lectina vegetal",
cuya autoría se comparte con: *A. D. Pérez Santiago, M. J. Gil Gallegos, M. A. Sánchez Medina y I. B. Gallegos Velasco*, misma que se efectuó de manera virtual, durante el V
Seminario Regional de Materiales Avanzados, organizado por el Cuerpo Académico de
Materiales Avanzados perteneciente al Área Académica de Ciencias de la Tierra y Materiales
del 6 al 8 de octubre de 2021.

Mineral de la Reforma, Hgo., 7 de octubre de 2021.

Atentamente

"Amor, Orden y Progreso"

Dr. Otilio Arturo Acevedo Sandoval
Director del ICBI

Dr. Ventura Rodríguez Lugo
Lider del Cuerpo Académico de
Materiales Avanzados

Dr. Félix Sánchez De Jesús
Jefe de AACTyM

ICBI Número de control: ICBI-AACTyM/1995



Farmacología México, Académica e Investigación, A.C. en conjunto con el XXVIII Congreso Estudiantil de Farmacología y el XI Congreso de Estudiantes sin Fronteras, otorgan el presente:

Reconocimiento a

Holanda Isabel Cruz Luis, Eduardo Pérez Campos, Alma Dolores Pérez Santiago, María Teresa Hernández Huerta

Ganadores del 2do. Lugar de Revisión Bibliográfica. Posgrado

**En el 1er. Congreso de Farmacología México con el trabajo titulado:
Utilidad de los nanotubos de carbono (NTC) en el diagnóstico y tratamiento de cáncer de mama.**

**Que se llevó a cabo en la Facultad de Medicina de la UNAM
del 17 al 18 de abril del 2023.**

Dra. Guadalupe Ángeles López
Comité Directivo

Dra. Ruth Jiménez Melgosa
Comité Directivo

Dra. Mariana Segovia Méndez
Comité Directivo

Dra. Noemí Salinas Jiménez
Comité Directivo

Dr. David Arredondo Zamarripa
Comité Directivo

Dr. Oriol F. Carrasco
Comité Directivo

Dr. Jorge Reyes García
Comité Directivo

revista |



Farmacología

1er. Congreso de
Farmacología
México

Suplemento
No. 01
Año 2023





otorgan el presente

Reconocimiento a Holanda Isabel Cruz Luis

Por la presentación en póster de manera oral "Modelado de nanovectores para el tratamiento del cáncer" cuya autoría se comparte con: H. I. Cruz Luis, M. T. Hernández Huerta, C. Romero Díaz, E. L. Pérez Campos y A. D. Pérez Santiago, misma que se efectuó de manera virtual, durante el VII Seminario Regional de Materiales Avanzados, organizado por el Cuerpo Académico de Materiales Avanzados perteneciente al Área Académica de Ciencias de la Tierra y Materiales.

Mineral de la Reforma, Hgo., a 23 de octubre de 2023.

Atentamente
"Amor, Orden y Progreso"




Dr. Otilio Arturo Acevedo Sandoval
Director del Instituto de Ciencias
Básicas e Ingeniería


Dr. Ventura Rodríguez Lugo
Lider del Cuerpo Académico de
Materiales Avanzados


Dr. Félix Sánchez De Jesús
Jefe de Área Académica de
Ciencias de la Tierra y Materiales

 Número de control: ICBI-D/1984/2023











	DESDE 2013		
	https://repository.uaeh.edu.mx/revistas/index.php/icbi/issue/archive		
	Publicación Semestral Padi Vol. X No. 00 (2021) 1-3		
		ISSN: 2007-6363	

Modelado de nanovectores para el tratamiento del cáncer Modeling nanovectors for cancer treatment

H. I. Cruz-Luis ^{a,b,*}, M. T. Hernández-Huerta ^{b,c}, C. Romero-Díaz ^a, E. Pérez-Campos ^a, L. Peréz-Campos M. ^a,
D. Pérez-Santiago ^a

^a División de Estudios de Posgrado e Investigación, Tecnológico Nacional de México, IT Oaxaca, 68030, Oaxaca de Juárez, Oaxaca, México.

^b Centro de Investigación Facultad de Medicina UNAM-UABJO, Facultad de Medicina y Cirugía, Universidad Autónoma Benito Juárez de Oaxaca, 68120, Oaxaca de Juárez, Oaxaca, México.

^c CONAHCYT, Facultad de Medicina y Cirugía, Universidad Autónoma Benito Juárez de Oaxaca, 68120, Oaxaca de Juárez, Oaxaca, México.

Resumen

La conjugación de nanoestructuras con moléculas bioactivas se emplea en el diagnóstico y tratamiento del cáncer. La quercetina (QUE) es un flavonoide con efecto antioxidante que inhibe el estrés oxidativo y la viabilidad de células cancerosas. *Phaseolus lunatus* (PHA) es una lectina con afinidad a estructuras de N-acetil-D-galactosamina (GalNAc) por lo cual aglutina eritrocitos del grupo sanguíneo A. El objetivo de este trabajo fue modelar la interacción entre QUE, PHA con nanotubos de carbono de pared múltiple carboxilados (NTCo) mediante docking y dinámica molecular, utilizando HEX6.3 y AMBER20. Se identificaron seis residuos de interacción entre PHA y el NTCo (F12-V114-N129-D217-D218-W219), por lo que no interfieren con los sitios de reconocimiento de la lectina ni con la unión de PHA con QUE. En conclusión, la implementación de nanovectores acoplados a QUE y PHA podría mejorar el efecto citotóxico sobre células cancerígenas.

Palabras Clave: Nanotubos de carbono, Docking, Dinámica molecular, Lectina, Cáncer.



SOCIEDAD CIENTÍFICA INTERNACIONAL DE BIOTECNÓLOGOS A.C.
INTERNATIONAL SCIENTIFIC SOCIETY OF BIOTECHNOLOGIST CSO

Otorga la presente
CONSTANCIA

a:

Holanda I. Cruz-Luis, María de J. Gil-Gallegos, Itandehui B. Gallegos-Velasco, Alma D. Pérez-Santiago.

Por la presentación en CARTEL del trabajo
Irradiación láser de un nanocompuesto sobre células mcf-7



en el
**X Congreso Internacional de Biotecnología SOCIBI y
IV Encuentro de estudiantes y egresados del posgrado del
CICB-UATx**

Celebrado (modalidad virtual) en Tlaxcala, México los días 2-5 de diciembre de 2023.




Dr. Rodrigo Ledesma Amaro
Secretario


Dra. María del Carmen Sánchez
Hernández
Presidenta de la SOCIBI


C.P. Adriana Hernández Grande
Tesorera



Mexican Journal of Biotechnology 2023, 8(1):xxx

Journal homepage: www.mexjbiotechnol.com

ISSN:2448-6590

Laser irradiation of nanocomposite about mcf-7 cells

Irradiación láser de un nanocompuesto sobre células mcf-7

Holanda I. Cruz-Luis^{1*}, María de J. Gil-Gallegos¹, Itandehui B. Gallegos-Velasco², Alma D. Pérez-Santiago^{1*}.

¹División de Estudios de Posgrado e Investigación, Tecnológico Nacional de México-Instituto Tecnológico de Oaxaca, Oaxaca, México. ²CICIMEBIO, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma Benito Juárez de Oaxaca, Oaxaca, México.

*Corresponding author

*Email: holanda.crz@gmail.com (H. Cruz-Luis), aperez_santiago@hotmail.com (A. Pérez-Santiago)

Abstract history

Received: / Day Month 2023 / Received in revised form: / Day Month 2023/

Accepted: / 00 November 2023 / Published online: / 00 January 2024

ABSTRACT

Carbon nanotubes (CNTs) are sheets of graphene rolled up on themselves, which exhibit near-infrared absorbance. These structures can bind to other molecules by covalent or non-covalent functionalization. Lectins are glycoproteins with specific recognition to carbohydrates, such as *Sambucus nigra* (SNA II), a plant lectin with specificity to N-acetyl galactosamine (GalNAc). In order to obtain a nanomaterial with recognition capacity, NTC was functionalized by covalent bonding with *Sambucus nigra* lectin (NTC-SNA), the activity and functionality of the nanocomposite were evaluated on MCF-7 breast cancer cells by laser irradiation on the cell suspension in contact with NTC-SNA. Vacuolization was observed in 76% of the cancer cells at 20 s with a wavelength of 808 nm and a laser power of 2.4 W/cm². The nanocomposite molecules transmitted the irradiation to the cancer cells causing temperature increase, at a single wavelength and low power. On the other hand, the lectin maintained its activity and specific recognition to glycans of the breast cancer cell surface.

Keywords: Carbon Nanotubes, Functionalization, Lectins, Breast Cancer