



**Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ingeniería
Maestría en Ciencias - Nanotecnología**

**Hidrogel con nanopartículas de quitosano cargadas con extracto natural
de *Tradescantia zebrina* como posible coadyuvante en tratamientos
anticancerígenos.**

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Maestra en Ciencias – Nanotecnología

Presenta
María Elvira Valencia Gil

Dirigido por:
Dra. María Guadalupe Ferreira García

Codirigido por:
Dra. Miriam Rocío Estévez González

Dra. María Guadalupe Ferreira García
Presidente
Dra. Miriam Rocío Estévez González
Secretario
Dra. Janet Ledesma García
Vocal
Dra. María de los Ángeles Cuán Hernández
Suplente
Mta. Xóchitl Pastrana Martínez
Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro. México



La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciatario no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:

 **Atribución** — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciatario.

 **NoComercial** — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).

 **SinDerivadas** — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



AGRADECIMIENTOS

Agradezco sinceramente a la Dra. María Guadalupe Ferreira García por su constante apoyo, dedicación y guía a lo largo de este trabajo. Siempre me sentí acompañada en el proceso, y gracias a sus enseñanzas y orientación crecí tanto académica como personalmente. Le tengo un profundo aprecio y respeto.

Quiero agradecer a la Dra. Miriam Rocío Guadalupe Ferreira González del Centro de Física aplicada y Tecnología Avanzada (CFATA) por su generosidad al permitirme utilizar las instalaciones y equipos de su laboratorio y por su continuo apoyo y dedicación. De igual forma en CFATA conocí a un gran equipo de trabajo, que, sin su apoyo esta tesis no habría sido posible, muchas gracias al Dr. Gustavo Molina, al M.C. Alberto Elizalde, a la M.C. Eugenia Trejo, al M.C. Emilio Guardado, a Emilia Reyes y a todos los que conocí en mi tiempo ahí.

Al M.C. Manuel Aguilar Franco, del Laboratorio Nacional de Caracterización de Materiales del Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada (CFATA) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) campus Juriquilla, ya que su apoyo fue indispensable para la obtención de las micrografías de SEM.

La presente tesis de maestría fue desarrollada y concluida gracias a la beca otorgada por el SECIHITI y a la beca institucional de la Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ).

Finalmente me gustaría agradecer a mi mamá, María Elvira Gil Pérez por todo el apoyo que me ha dado a lo largo de mi vida, muchas gracias por siempre estar ahí. A mi hermana Lucero Valencia Gil, ya sabes que te quiero mucho y que haría cualquier cosa por ti, sigue como vas y llegarás muy lejos Lu. A todos mis amigos y colegas, se que puedo contar con ustedes y ustedes saben que pueden contar conmigo. Y al que se ha vuelto mi compañero de vida Carlos Dieguito, muchas gracias por llegar y quedarte, ya no me puedo imaginar una vida sin ti.



Índice

I. RESUMEN	7
II. ABSTRACT	8
III. INTRODUCCIÓN	9
III.I. Carcinoma Hepatocelular (CHC)	9
III.II. <i>Tradescantia zebrina</i> “matalí”	10
III.III. Nanopartículas de quitosano	11
III.IV. Hidrogeles de alginato	14
IV. JUSTIFICACIÓN	17
V. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA	17
VI. ANTECEDENTES	18
VII. HIPÓTESIS	24
VIII. OBJETIVOS	24
VIII.I. Objetivo general	24
VIII.II. Objetivos particulares	24
IX. METODOLOGÍA	25
IX.I. Materiales y reactivos	25
IX.II. Extracto de <i>Tradescantia zebrina</i>	26
IX.III. Nanopartículas de quitosano (QNPs)	27
IX.IV. Hidrogeles de alginato de sodio	28
IX.V. Pruebas de caracterización	28
IX.VI. Perfil de liberación	29
IX.VII. RECURSOS	30
X. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
X.I. Extractos de <i>Tradescantia zebrina</i>	32
X.II. Nanopartículas de quitosano	47
X.III. Hidrogel cargado	57
XI. CONCLUSIONES	61
XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62
XIII. ANEXOS	68

Índice de figuras

Figura 1. <i>Tradescantia zebrina</i> o “matalí”. (Fotografía por L. H. Bailey, en la Standard Encyclopedia of Horticulture, 1963, Vol. IV.)	9
Figura 2. Esquema del mecanismo de preparación de nanopartículas de quitosano [Rodríguez, N. (2010)].....	13
Figura 3. Estructura química del alginato [Shen, S. et al. (2021)].....	15
Figura 4. Progresión del cáncer de hígado [González R. M., (2022)].	18
Figura 5. <i>Tradescantia zebrina</i> o “matalí” [Butnariu, M., et al. (2022)].....	18
Figura 6. Estructura del ácido succínico y β -sitoesterol (elaborado por el autor mediante ChemSketch).....	19
Figura 7. Estructura del quitosano y la formación de nanopartículas de quitosano-tripolifosfato por reticulación o gelación ionotrópica [Khademibami et al. (2020)].	20
Figura 8. Montaje de la columna cromatográfica (foto tomada por el autor).	20
Figura 9. Montaje del sistema para la prueba de liberación (foto tomada por el autor).....	21
Figura 10. Absorbancias de los extractos obtenidos con diferentes solventes.....	26
Figura 11. Micrografía obtenida por microscopía electrónica de barrido (SEM) de nanopartículas de quitosano en blanco: A) x5000 y B) x10000.....	33
Figura 12. Micrografía obtenida por microscopía electrónica de barrido (SEM) de nanopartículas de quitosano cargadas con el extracto obtenido de la mezcla EtOH/H ₂ O (75:25): A) x15000 y B) x20000.....	33
Figura 13. Micrografía obtenida por microscopía electrónica de barrido (SEM) de nanopartículas de quitosano cargadas con el extracto obtenido con acetona: A) x10000 y B) 15000.....	33
Figura 14. Micrografía obtenida por microscopía electrónica de barrido (SEM) del hidrogel con nanopartículas de quitosano en blanco: A) x1000 y B) x200.....	52
Figura 15. Micrografía obtenida por microscopía electrónica de barrido (SEM) del hidrogel con nanopartículas de quitosano cargadas con extracto obtenido de la mezcla EtOH/H ₂ O (75:25) A) x2000 y B) x4000.....	52
Figura 16. Micrografía obtenida por microscopía electrónica de barrido (SEM) del hidrogel con nanopartículas de quitosano cargadas con extracto en acetona: A) x4000 y B) 500....	53

Índice de Gráficas

Gráfico 1. FT-IR correspondiente al extracto obtenido en Acetona.	36
Gráfico 2. FT-IR correspondiente al extracto obtenido en la mezcla EtOH/H ₂ O 75:25.....	37
Gráfico 3. FT-IR correspondiente al extracto obtenido en Metanol.	37
Gráfico 4. FT-IR correspondiente al extracto obtenido en Acetato de Etilo.....	37
Gráfico 5. FT-IR Fracciones de la columna cromatográfica. Extracto en Acetona.	39
Gráfico 6. FT-IR Fracciones de la columna cromatográfica. Extracto obtenido en la mezcla EtOH/H ₂ O 75:25.	40
Gráfico 7. FT-IR de la fracción Hexano/Acetato de Etilo 25:75. Columna del extracto en Acetona.....	41
Gráfico 8. FT-IR de la fracción Acetato de Etilo/Etanol 50:50. Columna del extracto en Acetona.....	41
Gráfico 9. FT-IR de la fracción Etanol/Metanol 50:50. Columna del extracto en Acetona.42	
Gráfico 10. FT-IR de la fracción Acetato de Etilo. Columna del extracto en EtOH/H ₂ O 75:25.....	43
Gráfico 11. FT-IR de la fracción Acetato de Etilo/Etanol 50:50. Columna del extracto en EtOH/H ₂ O 75:25.....	43
Gráfico 12. FT-IR de la fracción Etanol//Metanol 50:50. Columna del extracto en EtOH/H ₂ O 75:25.	43
Gráfico 13. Caracterización mediante DLS para las nanopartículas de quitosano con concentraciones de TPP al 0.1% y 0.2%.....	48
Gráfico 14. Caracterización mediante DLS para las nanopartículas cargadas con los diferentes extractos obtenidos.	50
Gráfico 15. Curva de calibración extracto en: A) EtOH/H ₂ O y B) acetona.....	50
Gráfico 16. Liberación de QNPsEt a: A) 250nm y B) 205 nm.....	55
Gráfico 17. Liberación de Hidrogel con QNPsA a: A) 250nm y B) 205 nm.....	56
Gráfico 18. Liberación de Hidrogel con QNPsEt a: A) 250nm y B) 205 nm.....	57



Índice de Tablas

Tabla 1. Pruebas colorimétricas para todos los extractos.....	32
Tabla 2. Rendimiento de los extractos obtenidos.....	35
Tabla 3. Capacidad antioxidante de los extractos obtenidos.....	44
Tabla 4. Capacidad antioxidante de las fracciones obtenidos.....	45
Tabla 5. Potencial Z de Nanopartículas de quitosano en diferentes concentraciones de TPP.	
.....	49
Tabla 6. Potencial Z de Nanopartículas de quitosano cargadas con los diferentes extracto.	
.....	49



I. RESUMEN

El carcinoma hepatocelular (CHC) representa uno de los principales problemas de salud relacionados con el cáncer en México y se asocia estrechamente con la cirrosis hepática. Los tratamientos actuales son invasivos o de alto costo, por lo que se requiere el desarrollo de terapias complementarias más accesibles y efectivas. En este proyecto se propone el diseño de hidrogeles basados en nanopartículas de quitosano enriquecidas con extractos naturales de *Tradescantia zebrina* (matalí) como una alternativa coadyuvante para el tratamiento del CHC.

El quitosano, un polisacárido derivado de la quitina, destaca por su biocompatibilidad, propiedades antimicrobianas y capacidad para formar nanopartículas, mientras que el alginato ofrece una estructura ideal para la formación de hidrogeles y la liberación controlada de compuestos bioactivos. La combinación de ambos polímeros busca generar un material con propiedades físicas, químicas y de encapsulación mejoradas.

Los extractos de *T. zebrina* contienen fitoquímicos como flavonoides, cumarinas, saponinas, fenoles y β -sitoesterol, asociados con efectos antioxidantes, antiinflamatorios, antimicrobianos y anticancerígenos. Dado que su biodisponibilidad y estabilidad son limitadas, el proyecto contempla su extracción, purificación y encapsulamiento en las nanopartículas de quitosano dentro del hidrogel, con el fin de evaluar *in vitro* su liberación controlada, biocompatibilidad y potencial anticancerígeno frente al carcinoma hepatocelular.

Se comprobó la composición fitoquímica de *T. zebrina*, obteniéndose los mayores rendimientos de extracción con acetona, metanol y la mezcla EtOH/H₂O (75:25), con valores de 23.52% 18.91% y 22.20% respectivamente. Las nanopartículas de quitosano sintetizadas presentaron tamaños entre 100 y 300 nm, rango en el cual se conserva la naturaleza nanométrica del polímero y se favorece la inclusión de los extractos naturales. Los análisis de los extractos evidenciaron una excelente capacidad antioxidante, con un contenido fenólico de hasta 60.22 ± 0.75 y una actividad ABTS de hasta 322.59 ± 0.50 . Asimismo, el perfil de liberación de los extractos desde la matriz polimérica mostró un comportamiento constante y una velocidad de liberación favorable, sugiriendo una potencial aplicación como tratamiento coadyuvante.



II. ABSTRACT

Hepatocellular carcinoma (HCC) represents one of the main cancer-related health problems in Mexico and is closely associated with liver cirrhosis. Current treatments are either invasive or expensive, necessitating the development of more accessible and effective complementary therapies. This project proposes the design of hydrogels based on chitosan nanoparticles enriched with natural extracts of *Tradescantia zebrina* (matali) as an adjuvant alternative for the treatment of HCC.

Chitosan, a polysaccharide derived from chitin, stands out for its biocompatibility, antimicrobial properties, and ability to form nanoparticles, while alginate offers an ideal structure for the formation of hydrogels and the controlled release of bioactive compounds. The combination of both polymers seeks to generate a material with improved physical, chemical, and encapsulation properties.

T. zebrina extracts contain phytochemicals such as flavonoids, coumarins, saponins, phenols, and β -sitosterol, associated with antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial, and anticancer effects. Given their limited bioavailability and stability, the project contemplates their extraction, purification, and encapsulation in chitosan nanoparticles within the hydrogel, in order to evaluate their controlled release, biocompatibility, and anticancer potential against hepatocellular carcinoma *in vitro*.

The phytochemical composition of *T. zebrina* was tested, with the highest extraction yields obtained with acetone, methanol, and the EtOH/H₂O mixture (75:25), with values of 23.52%, 18.91%, and 22.20%, respectively. The synthesized chitosan nanoparticles ranged in size from 100 to 300 nm, a range that preserves the nanometric nature of the polymer and favors the inclusion of natural extracts. Analysis of the extracts revealed excellent antioxidant capacity, with a phenolic content of up to 60.22 ± 0.75 and an ABTS activity of up to 322.59 ± 0.50 . Furthermore, the release profile of the extracts from the polymer matrix showed consistent behavior and a favorable release rate, suggesting potential application as an adjuvant treatment.



III. INTRODUCCIÓN

III.I. Carcinoma Hepatocelular (CHC)

El CHC es un tipo de neoplasia, la cual es un crecimiento anormal de células que pueden formar una masa o tumor. Se caracteriza por presentarse en el 80-90% de todos los casos de cáncer de hígado, además de que presenta un alto grado de mortalidad. Usualmente se presenta como una causa subyacente a una disfunción en el hígado, siendo una de las más comunes, la cirrosis, aunque no se descarta su aparición por infecciones como la hepatitis, la diabetes o la obesidad [1].

Su desarrollo es complejo pero similar a cualquier otra neoplasia, por ende, conlleva una serie de procesos que provienen de una combinación de factores genéticos y ambientales en donde las células sanas se transforman en células invasivas, resultado de varias secuencias preneoplásicas. En general esta secuencia se conforma de una proliferación incontrolada de células las cuales no mueren, una inestabilidad genómica y la capacidad de perturbar o alterar tejidos locales como distantes, o sea, hacer metástasis [2].

Investigaciones han demostrado que la hepatocarcinogénesis (proceso por el cual las células del hígado se transforman en células cancerosas), involucra la acción de muchos mecanismos celulares como la necro-inflamación, el estrés oxidativo y un microambiente tumoral. Además, se ven involucrados cambios en los mecanismos de transcripción y activación de las citocinas y quimiocinas. Diversos estudios clínicos han demostrado una importante relación entre la inflamación de tejido y el desarrollo de tumores malignos [3].

III.II. *Tradescantia zebrina* “matalí”

El empleo de la herbolaria como tratamiento auxiliar en diversas enfermedades nos confiere otra rama de la ciencia que continúa siendo explorada. Las plantas medicinales han sido utilizadas desde las épocas antiguas, es por eso que en la actualidad su estudio ha cobrado relevancia debido a sus propiedades terapéuticas. En este caso la *Tradescantia zebrina* conocida comúnmente como “matalí”.

El “matalí” es una planta rastrera originaria de México, aunque también puede encontrarse distribuida desde el sur de Canadá hasta Argentina. Su altura va desde los 20 cm a 1 metro, caracterizada por tener hojas ovaladas con color verde y rayas plateadas y el envés morado o púrpura, presentando una flor color violeta (figura 1). Tradicionalmente, se consume en infusión, al cual se le agrega limón y miel o azúcar. Sus propiedades suelen extraerse mediante procesos de maceración [4].

Esta especie es rica en compuestos fenólicos, los cuales son moléculas bioactivas que poseen propiedades antioxidantes. Estos han sido ampliamente estudiados debido a su papel en la neutralización de radicales libres, proceso que resulta fundamental en la prevención de mecanismos relacionados con el estrés oxidativo, como el desarrollo de cáncer, diversas enfermedades o el envejecimiento prematuro [5].

Cabe mencionar que existe una diferencia entre la capacidad antioxidante, que se entiende como la cantidad total de radicales libres que cierta sustancia puede eliminar en condiciones controladas, y la actividad antioxidante, que es la eficiencia o velocidad de la reacción entre un antioxidante en particular y un radical libre o un agente oxidante [5].



Figura 1. *Tradescantia zebrina* o “matalí”. (Fotografía por L. H. Bailey, en la Standard Cyclopedia of Horticulture, 1963, Vol. IV.)



Existe evidencia donde los extractos metanólico y acuosos de *Tradescantia zebrina* mostraron un descenso en la proliferación de células cancerosas presentando características inhibitorias frente a modelos de líneas celulares cancerígenas. Otra investigación estudió por cinco días el rango de inhibición del extracto en modelos celulares como el SCC-13 y A-549, obteniendo resultados prometedores mediante la reducción de la proliferación celular y la inducción de efectos antiinflamatorios y antioxidantes. Además, los mecanismos de acción han demostrado promover la apoptosis mediante la activación de caspasas y la inhibición de señales de supervivencia [6].

Además, el análisis fitoquímico de la planta ha permitido identificar diversos metabolitos secundarios de interés, entre los que destacan flavonoides, ácidos fenólicos y fitoesteroles, particularmente el β -sitoesterol. Gracias a las propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antiproliferativas, estos compuestos se consideran candidatos relevantes para el desarrollo de tratamientos coadyuvantes contra distintas patologías [7].

No obstante, pese al creciente número de estudios que respaldan el potencial terapéutico del “matalí”, aún se requieren de investigaciones más profundas que incluyan modelos que validen su seguridad, biodisponibilidad y eficacia a nivel farmacológico. En este sentido, la integración de conocimientos etnobotánicos con enfoques modernos como la nanotecnología nos abre nuevas posibilidades para el aprovechamiento de esta planta como recurso natural en el tratamiento coadyuvante de diversas enfermedades [7].

III.III. Nanopartículas de quitosano

El quitosano, es un polisacárido que se obtiene a partir de la quitina, es considerado el segundo biopolímero más abundante en la naturaleza después de la celulosa. De manera natural lo encontramos principalmente en los caparazones de los crustáceos, aunque también puede aislar de algunos insectos [8].



Es un copolímero lineal formado por residuos de unidades de D-glucosamina y en menor proporción, por N-acetil D-glucosamina, distribuidos aleatoriamente en la cadena y unidos mediante enlaces β -1,4. Su carácter catiónico lo distingue de otros polisacáridos, ya que es soluble en soluciones acuosas ácidas, además de ser capaz de establecer interacciones electrostáticas con biomoléculas y membranas celulares cargadas negativamente. Su nombre de acuerdo a la IUPAC es poli(D-glucosamina), con fórmula química $C_{56}H_{103}N_9O_{39}$ y un peso molecular de 1526.464 g/mol en su forma parcialmente acetilada.

Las propiedades fisicoquímicas del quitosano dependen en gran medida de su peso molecular y del grado de desacetilación, ya que estos parámetros determinan su solubilidad, viscosidad, capacidad para formar películas y nanopartículas estables. Estas características, sumadas a su biodegradabilidad, biocompatibilidad, mucoadhesividad y baja inmunogenicidad, lo convierten en un biopolímero de gran interés para aplicaciones biomédicas y biotecnológicas [9].

Es así que el quitosano resulta atractivo para el desarrollo de nanopartículas capaces de actuar como matrices de carga, transporte y liberación de compuestos biológicamente activos, tales como proteínas, ácidos nucleicos (ADN y ARN), péptidos, fármacos, aceites esenciales y extractos naturales. Gracias a su carácter catiónico, las nanopartículas de quitosano pueden formar complejos estables con biomoléculas aniónicas, facilitando su protección frente a la degradación y mejorando su biodisponibilidad en el organismo. Esta propiedad le da la ventaja al quitosano como sistema de administración no viral frente a los vectores virales tradicionales, ya que podría reducir riesgos inmunológicos y de mutagénesis [9].

Se han reportado diversas vías de administración para las nanopartículas de quitosano, entre ellas la oral, nasal, parenteral y a través del colon, lo que amplía sus posibilidades terapéuticas. Sus aplicaciones son especialmente relevantes en la liberación de fármacos, terapias génicas, vacunas o como recubrimientos antimicrobianos.

En la industria de tejidos se utiliza en el desarrollo de materiales con potencial regenerativo. También el quitosano ha sido utilizado en otras áreas, por ejemplo, en la agricultura como biofertilizante o recubrimiento de semillas, o en la industria alimentaria como conservador [10].

Existen diferentes métodos para la obtención de nanopartículas de quitosano, una de las técnicas más usadas gracias a su sencillez, bajo costo y ausencia de disolventes orgánicos tóxicos, es la gelificación ionotrópica, con la cual se han obtenido nanopartículas de quitosano cargadas exitosamente [10]. Este procedimiento se basa en la formación espontánea de nanopartículas cuando una solución ácida de quitosano se mezcla rápidamente con una solución de tripolifosfato de sodio (TPP) bajo agitación magnética constante. En este proceso, los grupos amino del quitosano cargados positivamente interactúan con los grupos fosfato del TPP cargados negativamente, generando una red tridimensional estable, lo que permite preservar la actividad de los compuestos bioactivos encapsulados. En la figura 2 se muestra un esquema del mecanismo de reacción para la formación de nanopartículas de quitosano.

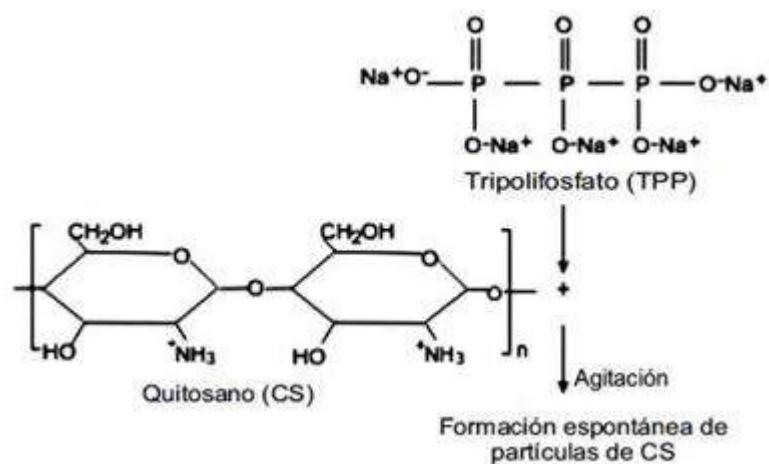


Figura 2. Esquema del mecanismo de preparación de nanopartículas de quitosano [Rodríguez, N. (2010)].



Por otra parte, existen otros métodos de síntesis, como la emulsificación, la precipitación y el secado por aspersión, la diferencia entre estos métodos se basa en los tipos de morfologías, tamaños y/o propiedades específicas que se busque obtener. En este sentido, el quitosano representa un biopolímero versátil y sustentable que ha demostrado un amplio potencial en el desarrollo de sistemas de liberación de fármacos, destacando como una alternativa innovadora en la investigación biomédica y en la búsqueda de nuevas estrategias terapéuticas.

III.IV. Hidrogeles de alginato

El desarrollo e investigación de nuevos materiales ha impulsado la innovación en distintos ámbitos científicos, particularmente en la biomedicina, donde se buscan alternativas que permitan tratamientos más eficaces, menos invasivos y con mejores resultados clínicos. Dentro de esta área, los hidrogeles han despertado gran interés, ya que se consideran biomateriales óptimos para diversas aplicaciones terapéuticas, como la ingeniería de tejidos.

Los hidrogeles son materiales poliméricos hidrófilos con estructura tridimensional reticulada, caracterizados por su notable capacidad de absorción y retención de agua, sin llegar a disolverse en el medio. Esta propiedad les permite comportarse de manera similar a los tejidos biológicos blandos, lo que favorece su biocompatibilidad y su uso en sistema de liberación controlada de fármacos, curación de heridas y matrices para el crecimiento celular.

La naturaleza hidrófila de los hidrogeles se debe a la presencia de grupos funcionales como hidroxilo (-OH), carboxilo (-COOH), amida (-CONH₂) y sulfónico (-SO₃H), unidos a lo largo de las cadenas poliméricas. La resistencia a la disolución, en cambio, proviene de las reticulaciones entre dichas cadenas, generando una red tridimensional estable. Estas interacciones, que incluyen enlaces de hidrógeno y fuerzas intermoleculares de cohesión, evitan la desintegración del material y regulan la porosidad, elasticidad y capacidad de hinchamiento del hidrogel [11].

Entre los materiales naturales o biológicos empleados en el ensamblaje de matrices poliméricas para liberación controlada destacan aquellos que son biodegradables, biocompatibles y de baja toxicidad, además de ser renovables y de bajo costo. Los polímeros naturales más estudiados para la síntesis de hidrogeles incluyen carbohidratos como el ácido hialurónico, la quitina, derivados de celulosa, dextrano, almidón y alginato, así como proteínas como la gelatina, el colágeno y el fibrinógeno, ampliamente utilizados por su similitud con componentes de la matriz extracelular [12].

En particular, el alginato es uno de los polímeros más empleados para la formación de hidrogeles debido a su naturaleza aniónica, su alta capacidad de gelificación y su origen natural. Este polisacárido lineal está constituido por los monosacáridos D-manurónico (M), y L-gulurónico (G) enlazados mediante uniones O-glucosídico organizados alternamente como lo podemos ver en la figura 3 [12]. La proporción de estos bloques M/G influye directamente en las propiedades mecánicas del hidrogel: los bloques ricos en G favorecen la rigidez y estabilidad del gel, mientras que los bloques ricos en M le confieren mayor elasticidad y flexibilidad.

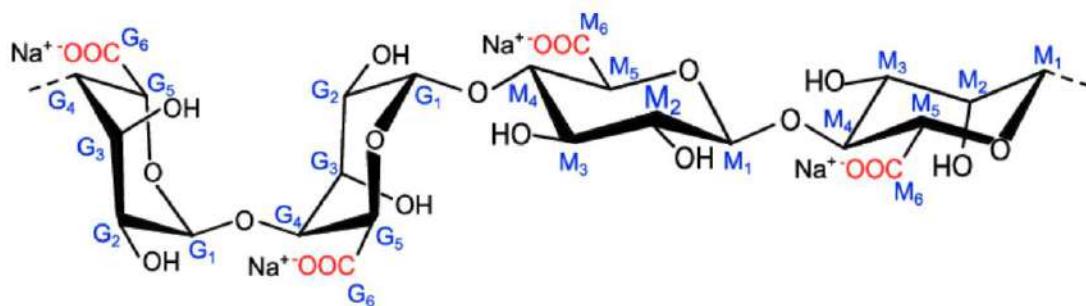


Figura 3. Estructura química del alginato [Shen, S. et al. (2021)].



La gelificación del alginato se produce principalmente por interacción iónica con cationes divalentes, siendo el Ca^{2+} uno de los más empleados. En presencia de sales como CaCl_2 o NaCl , los grupos carboxilato del alginato interactúan con los iones, formando una red tridimensional estable a través del modelo conocido como “egg-box”. Este mecanismo permite obtener hidrogeles de alginato con alta capacidad de retención de agua y propiedades ajustables en función de la concentración del polímero, el tipo de catión y las condiciones de síntesis.

Gracias a estas características, los hidrogeles de alginato se utilizan en múltiples aplicaciones biomédicas, como sistemas de liberación controlada de fármacos, encapsulación de células o extractos naturales, andamios para la ingeniería de tejidos, apósticos para heridas y matrices en terapias regenerativas. Su biocompatibilidad y la facilidad de síntesis mediante procesos suaves y no tóxicos los convierten en un material versátil y altamente prometedor dentro de la investigación en biomateriales.



IV. JUSTIFICACIÓN

El desarrollo y la investigación de nuevos materiales han impulsado la innovación en diversos campos científicos. En el ámbito de la biomedicina, se busca crear materiales que faciliten tratamientos más eficaces y menos invasivos. En particular, los tratamientos contra el cáncer suelen ser invasivos, costosos y con efectos secundarios considerables.

Uno de los campos en auge es el uso de nanopartículas e hidrogeles como sistemas de liberación controlada, combinando las mejores propiedades de cada uno. Un ejemplo representativo es el sistema basado en quitosano y alginato, en el cual ambos componentes desempeñan un papel fundamental: el quitosano aporta una estructura reticulada que da estabilidad al sistema, mientras que el alginato contribuye a la encapsulación y liberación controlada de los compuestos activos.

Por otro lado, el uso de la herbolaria como tratamiento complementario en diversas enfermedades representa una rama de la ciencia con gran potencial. El empleo terapéutico de plantas es ampliamente conocido, y entre ellas destaca la *Tradescantia zebrina*, reconocida por sus propiedades antioxidantes, anticancerígenas, antiinflamatorias y antialérgicas. Por ello, el desarrollo de hidrogeles que integren nanopartículas con extractos de *Tradescantia zebrina* representa una alternativa prometedora como tratamiento auxiliar, eficaz y de liberación controlada para combatir el carcinoma hepatocelular.

V. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

Los enfoques terapéuticos actuales en contra del carcinoma hepatocelular en etapas iniciales como la extirpación de tumores o el trasplante del órgano dañado, pueden llegar a ser rechazados por el organismo o llegar a tener efectos secundarios por diversas razones. Lo que resalta la necesidad del desarrollo de tratamientos auxiliares o coadyuvantes que contribuyan a la eficacia de los métodos ya existentes.

VI. ANTECEDENTES

En México y en el mundo una de las enfermedades actuales más comunes es el cáncer, que puede presentarse de muchas y diversas maneras, una de estas es el carcinoma hepatocelular (CHC), el cual es el tumor maligno más común en el hígado, llegando a ser del 80 al 85% de las neoplasias primarias malignas de este órgano y se sabe que ocurre en la gran mayoría de los casos de cirrosis, además de ser un tipo de neoplasia que progresiona rápidamente siendo mayormente detectado en sus últimas etapas (figura 1) [13].

A nivel nacional el CHC ocupa el noveno lugar en incidencia de neoplasias malignas, con una distribución semejante en ambos sexos. En mortalidad por cáncer ocupa el tercer lugar, siendo el tercero en la mujer y el cuarto en el hombre [13].

Investigaciones han demostrado que las nanopartículas de quitosano funcionalizadas presentan efectos potentes en estudios *in vitro* contra las células de cáncer de hígado [14]. Además, existe evidencia de que el desarrollo de biomateriales de quitosano, funcionalizados con grupos de ácido succínico podría aumentar su eficacia [3].

Por otro lado, además de contener ácido succínico se ha demostrado que la *Tradescantia zebrina* tiene un contenido amplio de fitoquímicos de interés farmacológico por lo que el uso de su extracto junto con las nanopartículas de quitosano podría potencializar sus propiedades [4].

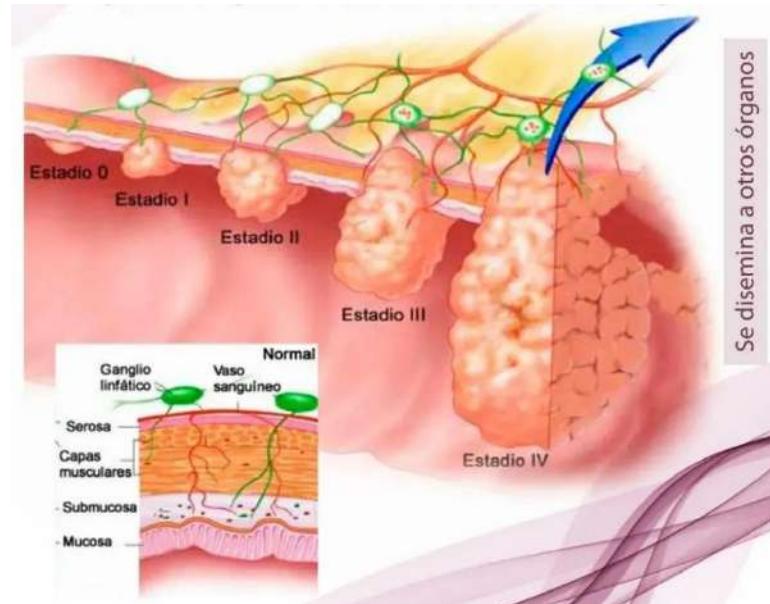


Figura 4. Progresión del cáncer de hígado [González R. M., (2022)].

Durante la última década el avance en las investigaciones que demuestran el diverso contenido fitoquímico de las diferentes especies de *Tradescantia* ha encontrado que esta familia contiene alcaloides, taninas, flavonoides, compuestos fenólicos y fitoesteroles [4]. En específico, se ha estudiado el contenido total fenólico y de flavonoides que contiene la *Tradescantia zebrina* dando pauta a que el extracto de estos fitoquímicos pueda ser estudiado en múltiples aplicaciones, además es una especie que generalmente se usa de ornamento debido a su estética y color (figura 5) [15]. Cabe resaltar que existen reportes de que una dieta rica en fitoesteroles puede reducir el riesgo de cáncer en un 20% [15].



Figura 5. *Tradescantia zebrina* o “matalí” [Butnariu, M., et al. (2022)].

En 2023, Ramos-Arcos, et al., realizaron un estudio que demostró diversas propiedades de la *Tradescantia zebrina*, con especial interés en su posible aplicación como agente antibacteriano, anticancerígeno, antitumoral, entre otros [7]. A partir de estos hallazgos se puede suponer que el uso del extracto de esta planta podría tener efectos prometedores contra el carcinoma hepatocelular.

Otros estudios con *Tradescantia zebrina* han demostrado también una buena actividad inhibitoria contra la 15-Lipoxygenasa, que es una enzima que cataliza la peroxidación de los ácidos grasos poliinsaturados y produce metabolitos que están implicados en muchas enfermedades, como el cáncer [16].

Por otro lado, Dash *et al.* [17] lograron identificar compuestos de interés en esta especie, como lo son la ecdisona, el β -sitoesterol, el $3\beta,5\alpha,6\beta$ -trihidroxi estigmasterol y el ácido succínico. Pese a que estas investigaciones han arrojado resultados prometedores, la investigación y desarrollo materiales con extractos de *Tradescantia zebrina* se encuentra aún en una etapa emergente, generando así una línea de investigación innovadora.

Como ya se mencionó uno de los fitoquímicos de interés presentes en el extracto de *Tradescantia zebrina* es el ácido succínico, es un ácido díprótico dicarboxílico (figura 6), se encuentra en la naturaleza en alimentos como el brócoli, el ruibarbo y la caña de azúcar. También puede encontrarse en el ámbar y en algunas plantas y hongos, se ioniza fácilmente en soluciones acuosas para formar succinato. En los organismos vivos, el succinato desempeña un papel clave como intermediario metabólico que vincula el metabolismo celular con la regulación de la función celular, por lo que podría presentar efectos en la apoptosis y en consecuencia en la proliferación de células cancerígenas. Por ejemplo, los resultados de Xiaoqi, F. (1992) demostraron una tasa del 43% de inhibición para el ácido succínico (160mg/kg) contra la línea celular sarcoma tipo-180 [18].

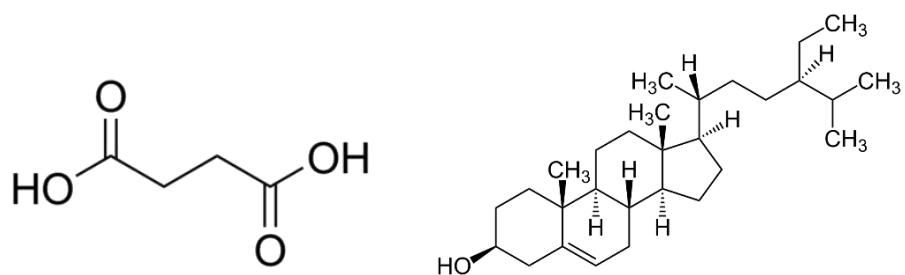


Figura 6. Estructura del ácido succínico y β -sitoesterol (elaborado por el autor mediante ChemSketch).

Por otro lado, el β -sitoesterol (figura 6) es otro fitoquímico de interés ya que ha arrojado resultados favorables en la inducción de la anti-proliferación y la apoptosis en células humanas. Aunque el mecanismo por el cual se incrementa la apoptosis no se conoce del todo bien, se sabe que este compuesto está asociado con la degradación de la poli-(ADP-ribosa) polimerasa (PARP) y la activación de la caspasa-3 [19].

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el empleo de hierbas o productos a base de hierbas para las necesidades básicas de atención médica es comúnmente utilizado en las poblaciones, esto como consecuencia del fracaso de las terapias modernas o los efectos secundarios de los medicamentos contra las enfermedades crónicas, así como la resistencia

microbiana, aunque también se emplean como auxiliares terapéuticos. El uso de una planta nativa de fácil acceso como lo es la *Tradescantia zebrina* y que además tiene propiedades de interés medicinal por su contenido de fitoquímicos, convierten a esta planta en una potencial especie para la aplicación en tratamientos auxiliares o coadyuvantes.

Ahora bien, el quitosano es un biopolímero que combina propiedades fisicoquímicas como la capacidad de formar sistemas tipo hidrogeles, micro y nanopartículas, con propiedades biológicas como la bio y mucoadhesividad. Esto lo hace particularmente atractivo en la ingeniería y diseño de materiales empleados en ciencias de la salud [20].

Las nanopartículas de quitosano (QNPs) son polisacáridos que han demostrado su gran estabilidad, baja toxicidad y su fácil método de preparación. Además de proveer una ruta versátil de administración de fármacos, ya que presentan gran capacidad para encapsular y liberar de manera moderada, así como su capacidad para dirigirse a tejidos específicos, lo cual las convierte en biomateriales prometedores para mejorar la eficacia y reducir los efectos secundarios de los tratamientos convencionales [21].

Por lo tanto, pueden ser utilizadas como sistemas de liberación controlada de principios activos brindando un método coadyuvante a los tratamientos convencionales. Existen distintos tipos de síntesis, pero la formación de QNPs a través de la gelación iónica tiene un alto potencial en la obtención de tamaños de partícula entre 100 – 300 nm los cuales resultan óptimos para la absorción dentro de sistemas endoteliales y en la liberación de fármacos, sin interferir con las propiedades del mismo quitosano [22].

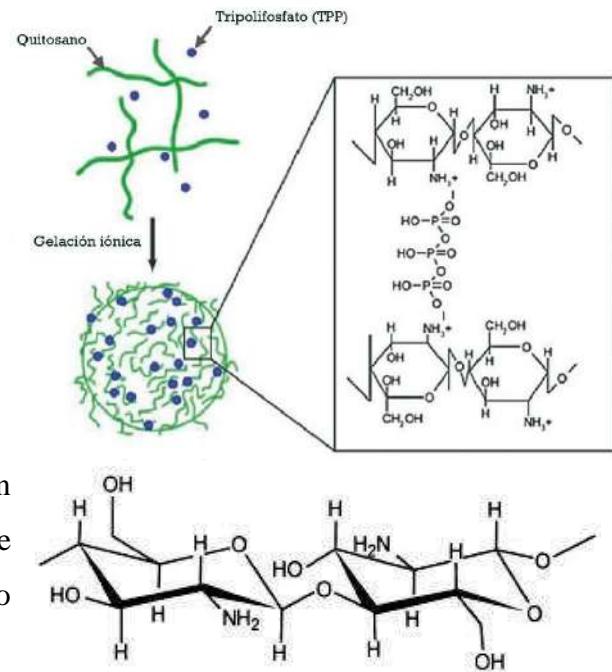


Figura 7. Estructura del quitosano y la formación de nanopartículas de quitosano-tripolifosfato por reticulación o gelación ionotrópica [Khademibami et al. (2020)].

Durante los últimos años los efectos de las QNPs en tratamientos contra el CHC han sido investigados y hasta ahora, no se han encontrado evidencias que pudieran presentar un riesgo al organismo, al contrario, se ha demostrado que pueden ser un biomaterial prometedor en este tipo de tratamientos, esto porque se logran acumular selectivamente en los tumores, gracias a su efecto de permeación y retención [23].

Por ejemplo, existe evidencia de que los oligómeros del quitosano poseen efectos antitumorales probados de manera *in vitro*, como *in vivo*; de igual forma sus propiedades fisicoquímicas y su superficie moldeable juegan un papel crucial en su actividad citotóxica, además de que atacan directamente algunos tipos de cánceres que suelen crecer muy rápidamente [24].

También existe evidencia de que nanopartículas que contengan quitosano inducen muerte celular regulada dependiente del tipo de línea celular, además de mostrar una baja toxicidad en las células mononucleares. El mecanismo por el cual promueven la muerte celular es mediante la inducción en la producción de especies reactivas de oxígeno, generando daño mitocondrial y nuclear, por ejemplo, para células CEM inducen apoptosis y en células K562 necroptosis [24].

Por otro lado, el uso de hidrogeles de alginato presenta aplicaciones biomédicas en el tratamiento de heridas crónicas o agudas, así como en la ingeniería de tejidos [25]. Al ser materiales poliméricos hidrófilos de estructura tridimensional reticulada, se caracterizan por su gran capacidad hidro-absorbente, reteniendo y cediendo grandes cantidades de agua sin disolverse. Son blandos, elásticos e incrementan su volumen al hincharse en presencia de agua, mientras que en su forma deshidratada son cristalinos y suelen denominarse como xerogel [25].

Pueden ser de origen natural o sintético, siendo estos primeros los más estudiados dada su abundancia en la naturaleza. Investigaciones han demostrado que el uso de estos como sistemas de liberación controlada permite una matriz con mayor biodisponibilidad [26], por ende, su empleo como vehículos de administración en tratamientos coadyuvantes de diversas enfermedades, resulta innovador para el desarrollo de este tipo de biomateriales.



En general la investigación en el uso de hidrogeles de alginato en tratamientos contra el carcinoma hepatocelular se encuentra aún en desarrollo, pero ha demostrado tener una buena capacidad de encapsular y proteger agentes terapéuticos. Por ejemplo, el alginato ha sido usado en combinación con materiales como óxido de grafeno creando matrices que mejoran la viabilidad celular y la resistencia mecánica, lo cual lo vuelve candidato prometedor para estudios preclínicos en el área de la oncología como la liberación de medicamentos dirigidos a células tumorales [26].

Aunque no existe evidencia directa de su uso clínico, los hidrogeles de alginato podrían utilizarse como complemento en diversas situaciones. Al infundir analgésicos, antiinflamatorios o sustancias bioactivas, se permite una liberación más prolongada y controlada de estas sustancias, lo que puede ser beneficioso para reducir las molestias o la inflamación postoperatoria o al promover la reparación de tejidos y la cicatrización [27]. Gracias a su capacidad de crear barreras físicas y sellar los sitios de cortes quirúrgicos se podrían utilizar para minimizar tiempos de cicatrización en procedimientos comunes para etapas iniciales como resecciones quirúrgicas (extirpación del tumor) o trasplante de hígado.

Es así que la evidencia actual nos señala que los hidrogeles de alginato podrían resultar efectivos para liberar medicamentos de manera sostenida y controlada, además de que pueden proteger compuestos sensibles, mientras que las nanopartículas de quitosano permiten una liberación más dirigida hacia células cancerígenas.



VII. HIPÓTESIS

La incorporación de nanopartículas de quitosano cargadas con extracto natural de *Tradescantia zebrina* “matalí” en un hidrogel podría permitir el desarrollo de un vehículo de administración con posible capacidad de ejercer un efecto coadyuvante en tratamientos anticancerígenos.

VIII. OBJETIVOS

VIII.I. Objetivo general

- Desarrollar un vehículo de administración (hidrogel) que sea capaz de actuar como acarreador de nanopartículas de quitosano cargadas con extracto natural de *Tradescantia zebrina* como posible tratamiento coadyuvante en tratamientos anticancerígenos.

VIII.II. Objetivos particulares

- Caracterizar e identificar la muestra de la planta “matalí” utilizada para garantizar su origen e identidad.
- Obtener el extracto de la planta a utilizar y realizar su cromatografía en placa y columna para la separación de los compuestos de interés.
- Caracterizar mediante UV-Vis y FT-IR las fracciones obtenidas en la columna cromatográfica.
- Sintetizar y caracterizar nanopartículas a base de quitosano.
- Sintetizar y caracterizar un hidrogel a base alginato que contenga las nanopartículas de quitosano (QNPs).
- Evaluar el perfil de liberación del hidrogel cargado con nanopartículas y compuestos de “matalí”.

IX. METODOLOGÍA

IX.I. Materiales y reactivos

Para la sección del extracto de *Tradescantia zebrina*:

REACTIVOS

- Planta triturada
- Sílice para columna
- Acetato de etilo grado técnico de Golden Bell.
- De Sigma-Aldrich:
 - Acetona grado industrial.
 - Metanol grado industrial.
 - EtOH grado industrial.
 - Hexano grado técnico.
 - Buffer salino de fosfatos
 - 2,2-Difenil-1-picrilhidrazil
 - ±6-Hydroxy-2,5,7,8-tetrametil-chromane-2-ácido carboxílico (TROLOX) 97%.
 - Ácido 2,2-azino-bis-(3- etilbenzotiazolina-6-sulfónico) 98%
 - Reactivo fenol de Folin & Ciocalteu

MATERIALES

- Matraces Erlenmeyer de 50mL
- Papel filtro Whatman
- Embudos de vidrio
- Vasos de precipitado de 100 mL, 30mL y 10mL
- Soporte universal
- Pinzas de tres dedos
- Espátula
- Parrilla con agitación
- Columna cromatográfica

Para la sección de las nanopartículas de quitosano:

MATERIALES

- Vasos de precipitado de 100 mL
- Probeta de 100 mL
- Parilla con agitación
- Matraces aforados de 50mL y 10mL
- Pipetas volumétricas de 5mL y 1mL

REACTIVOS

- Quitosano de peso molecular medio. Sigma-Aldrich
- Tripolifosfato (TPP) Sigma-Aldrich
- Ácido acético Sigma-Aldrich
- Agua destilada

Para la sección del hidrogel de alginato de sodio:

MATERIALES

- Vasos de precipitado de 100 mL
- Probeta de 100 mL
- Parrilla con agitación
- Espátula

REACTIVOS

- Alginato de sodio. Sigma-Aldrich
- Cloruro de Calcio de Sigma-Aldrich
- Etanol Sigma-Aldrich
- Buffer de fosfatos pH=7.4
- Agua destilada

IX.II. Extracto de *Tradescantia zebrina*

Primeramente, la planta fue identificada por el Herbario de Querétaro “Dr. Jerzy Rzedowski” (QMEX), confirmando que se trata de la especie *Tradescantia zebrina*, la cual ingresó a su colección con el número QMEX00002651.

La planta se lavó y se dejó secar a temperatura ambiente, posteriormente se trituró con la ayuda de un molino y una malla tamizadora. Se realizaron cuatro extracciones por maceración: con Acetato de Etilo, Acetona, MetOH y una mezcla H₂O/EtOH (75:25), por 72 horas en agitación constante, con el objetivo de determinar cuál solvente permitía extraer compuestos fitoquímicos de interés.

De cada extracto, se evaluó el rendimiento obtenido mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de rendimiento} = \frac{\text{gramos de producto obtenido}}{\text{rendimiento teórico}} \times 100 \quad \text{Ec. 1}$$

Para la identificación preliminar de los compuestos fitoquímicos de interés, se realizaron pruebas colorimétricas específicas como fueron: Shinoda para flavonoides, Liebermann-Buchard para fitoesteroles y Salkowski para esteroles o metilesteroles [28].

A los extractos de Acetona y la mezcla H₂O/EtOH (75:25) se les realizó una columna cromatográfica (Figura 8), con el fin de separar a los compuestos de interés según su polaridad.



Figura 8. Montaje de la columna cromatográfica (foto tomada por el autor).

Por otro lado, la cuantificación de compuestos fenólicos totales se realizó por el método Folin-Ciocalteu (FC), el cual se basa en la reducción del reactivo homónimo y se determina a 765 nm con espectrofotometría UV-Vis. [7]. Además, se evaluó la capacidad antioxidante de los extractos utilizando varios métodos, los cuales fueron: el de CUPRAC (Capacidad Antioxidante Reductora Cúbica), la eliminación de radicales libres 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) y el de ABTS (Ácido 2,2-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)). Estos ensayos fueron modificados y ajustados al experimento de acuerdo a la metodología reportada por Vuolo, M. M., (2019) [33].

Para cada análisis se realizó una curva de calibración de la cual se obtuvieron las siguientes ecuaciones de línea recta. Los datos fueron tratados con base en estas ecuaciones.

$$\mathbf{Ec. \, 2} \quad y = -0.0003x + 0.6878$$

$$\mathbf{ABTS} \quad \frac{y - 0.6878}{0.0003} = x$$

$$\mathbf{Ec. \, 3} \quad y = -0.0012x + 0.5131$$

$$\mathbf{DPPH} \quad \frac{y - 0.5131}{0.0012} = x$$

$$\mathbf{Ec. \, 4} \quad y = 0.0005x + 0.0045$$

$$\mathbf{CUPRAC} \quad \frac{y + 0.0045}{0.0005} = x$$

$$\mathbf{Ec. \, 5} \quad y = 0.0086x + 0.022$$

$$\mathbf{FC} \quad \frac{y + 0.022}{0.0086} = x$$

IX.III. Nanopartículas de quitosano (QNPs)

Se prepararon por el método gelación iónica usando como agente reticulante el tripolifosfato pentasódico (TPP). Se realizaron soluciones de TPP de diferentes concentraciones (0.1% y 0.2%) las cuales se hicieron en agua destilada mientras que la solución de quitosano se preparó usando una solución acuosa de ácido acético al 1 % v/v [10].



La incorporación del extracto a las nanopartículas se llevó a cabo mediante dos métodos. En el primero, se sintetizaron inicialmente las nanopartículas, las cuales fueron posteriormente resuspendidas para incorporar el extracto. En el segundo método, el extracto se añadió directamente a la solución ácida de quitosano antes de la formación de las nanopartículas.

IX.IV. Hidrogeles de alginato de sodio

Para la síntesis del hidrogel se empleó alginato de sodio. Se pesaron 0.5 g de alginato y se disolvieron en 50 mL de agua destilada bajo agitación constante. También, se pesaron 0.5 g de CaCl_2 , los cuales se disolvieron también en 50 mL de agua destilada. Posteriormente, la solución de alginato se añadió a la solución reticulante de CaCl_2 y se agitó hasta obtener una mezcla homogénea. Una vez formada, la solución se dejó reposar a temperatura ambiente sin agitación durante 24 horas.

Después de este tiempo, el hidrogel se dejó precipitar con etanol durante otras 24 horas. Una vez obtenido este material se centrifugó a 3000 rpm durante 20 minutos y posteriormente se lavó con una mezcla etanol/agua (1:1 v/v). El gel obtenido se dejó secar durante 3 días a temperatura ambiente [11].

Finalmente, al gel seco se le incorporaron las nanopartículas cargadas con extracto de *Tradescantia zebrina*, utilizando como medio una mezcla etanol/agua. Cabe mencionar que, si la incorporación de las nanopartículas de quitosano se realiza inmediatamente después de la reticulación, no es necesario secar previamente el hidrogel.

IX.V. Pruebas de caracterización

- Los extractos con diferentes polaridades fueron caracterizados mediante cromatografías en capa fina y pruebas de FT-IR, Cromatografía en columna y Espectroscopía UV-Vis.

- Para los análisis en espectroscopía UV-Vis se emplearon volúmenes de 3 mL para las muestras y de aproximadamente 1 mL para los análisis de capacidad antioxidante y cuantificación de polifenoles.
- Las nanopartículas se caracterizaron mediante análisis de Dispersión de Luz Dinámica (DLS) y Potencial Z.
- Adicionalmente se realizaron los ensayos de Folin-Ciocalteu para cuantificar la presencia de polifenoles y ABTS, DPPH y CUPRAC para medir la capacidad antioxidante de los extractos.
- Los perfiles de liberación del extracto se llevaron a cabo usando una membrana de diálisis y se midieron por espectroscopía UV-Vis para evaluar la cantidad de extracto liberado.

IX.VI. Perfil de liberación

Una de las pruebas importantes para evaluar la capacidad de las nanopartículas e hidrogeles de expulsar un extracto o algún principio activo es el perfil de liberación. Primeramente, se dejaron secar muestras de nanopartículas e hidrogeles de referencia y cargados con los extractos de acetona y la mezcla agua/EtOH, esta muestra seca se introdujo dentro de bolsas de diálisis las cuales fueron contenidas en tubos Eppendorf llenos de buffer de fosfatos a pH = 7.4 y se dejaron reposar en baño maría.



Figura 9. Montaje del sistema para la prueba de liberación (foto tomada por el autor).



Posteriormente se fueron tomando 3 mL de muestra en lapsos de tiempo correspondientes a 1h, 2h, 3h, 24h, 48h, 72h y 7 días, cabe mencionar que por cada toma de muestra se hizo una adición del buffer de fosfatos para mantener el mismo volumen del medio de liberación. Finalmente, a todas se les midió su absorbancia, todas las muestras fueron evaluadas por triplicado.

IX.VII. RECURSOS

□ EQUIPOS:

Espectrofotómetro UV-Vis. Perkin Elmer, Lambada 365.

- El equipo debe estar calibrado y limpio.
- Los residuos deben desecharse de acuerdo las Buenas Prácticas de Laboratorio.

Espectrofotómetro FT-IR. Perkin Elmer, Spectrum two.

- Debe estar calibrado y limpio.
- Las muestras deben estar secas.

Equipo de Dispersión de Luz Dinámica (DLS). Anton paar Litesizer 500.

- Los residuos deben neutralizarse y desecharse en contenedores especiales.

□ RENOVABLES:

Flora

- Extracto de *Tradescantia zebrina bosse*. Nombre común: matalí.
- Los residuos orgánicos pueden compostarse o desecharse en contenedores especiales.

□ INFORMACIÓN:

Normas de trabajo en un laboratorio

- Uso de equipo de protección adecuado: bata de laboratorio, guantes, gafas de seguridad, mascarillas.

- Conocer la ubicación de los extintores, botiquines de primeros auxilios, duchas de emergencia y salidas de emergencia.
- Leer las hojas de seguridad (MSDS) de los productos antes de usarlos.
- Etiquetar correctamente los productos y almacenar los reactivos según sus características (por ejemplo, inflamables, corrosivos, tóxicos).
- Mantener un ambiente limpio y ordenado.
- Evitar la contaminación cruzada y seguir protocolos de limpieza rigurosos.
- Calibrar y mantener los equipos según las especificaciones del fabricante.
- Realizar los procedimientos de acuerdo con los protocolos establecidos y verificar los resultados.
- Disponer adecuadamente de los residuos químicos, biológicos y otros materiales peligrosos en contenedores específicos.

Consideraciones éticas

- Evaluar los posibles efectos tóxicos de las nanopartículas, tanto a nivel celular como sistémico, y su impacto ambiental.
- Considerar el riesgo de liberación de nanopartículas al ambiente durante el proceso de fabricación, uso o eliminación.
- Garantizar que los resultados y hallazgos relacionados con los riesgos sean reportados con transparencia.
- Informar adecuadamente sobre los posibles peligros para los trabajadores y para las personas que puedan estar expuestas a estas partículas.
- Cumplir con las normativas de seguridad y los estándares éticos internacionales sobre la investigación con nanomateriales.

X. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A lo largo del proyecto se realizaron diversos ensayos orientados a la caracterización del extracto vegetal y a la separación e identificación de los compuestos bioactivos presentes en *Tradescantia zebrina*, empleando técnicas de cromatografía en capa fina (CCF) y cromatografía en columna (CC). A partir de las fracciones obtenidas mediante la cromatografía en columna se seleccionaron aquellas con mayor interés fitoquímico para su posterior incorporación a la matriz de quitosano. En el caso de las nanopartículas de quitosano y del hidrogel formulado, se efectuaron análisis de caracterización fisicoquímica, así como la determinación de su eficiencia de encapsulación, perfil de liberación controlada. Los resultados obtenidos permitieron evaluar la funcionalidad del sistema desarrollado, estableciendo su comportamiento fisicoquímico, su perfil cromatográfico y su perfil de liberación.

X.I. Extractos de *Tradescantia zebrina*

Los análisis fitoquímicos preliminares a los extractos fueron cualitativos, utilizando ensayos colorimétricos (Tabla 1) [28]. A los extractos, obtenidos por maceración en 4 diferentes solventes (Acetona, Acetato de Etilo, Metanol y EtOH/H₂O 75:25, fueron analizados por tres pruebas de identificación:

- **Prueba Salkowski:** Identificación de esteroles, metilesteroles e indoles, en donde se debe observar un viraje de amarillo a rojo. Si una muestra no contiene esteroles, el color de la solución analizada permanece con su color original.
Los 4 extractos resultaron en un viraje color naranja-rojizo, dando positivo a la prueba.
- **Prueba de Shinoda:** Es utilizado para la identificación de flavonoides y flavonas, en donde la coloración se debe a la reducción de los flavonoides a leucoantocianidinas por la acción del magnesio y el ácido clorhídrico. Se debe observar un viraje a verde o azul. Todos los extractos tuvieron un viraje verde oscuro.

- **Prueba de Liebermann-Buchard:** Es usada comúnmente para identificación de fitoesteroles. Se basa en la reacción de esteroles con anhídrido acético y ácido sulfúrico, produciendo una coloración característica. La prueba es positiva a fitoesteroles cuando se observa un viraje a naranja oscuro o azul.

Tabla 1. Pruebas colorimétricas para todos los extractos.

Prueba	Identificación	Resultado para todos los extractos	Imagen
Salkowski	Esteroles y Metiesteroles	+	 Prueba positiva Salkowski (elaborado por el autor).
Shinoda	Flavonoides y flavonas	+	 Prueba positiva de Shinoda (elaborado por el autor).
Liebermann- Buchard	Fitoesteroles y esteroles	+	 Prueba positiva de Liebermann-Buchard (elaborado por el autor).

De igual manera, todos los extractos obtenidos en los diferentes solventes fueron analizados mediante espectroscopía FT-IR y espectroscopía UV-Vis con el objetivo de observar sus perfiles característicos y determinar cuáles presentaban una mayor presencia de compuestos de interés, principalmente flavonoides y fenoles.

En estos extractos se identificaron señales asociadas a compuestos como el ácido succínico y el β -sitoesterol, los cuales se han relacionado con propiedades antioxidantes y otras actividades biológicas relevantes.

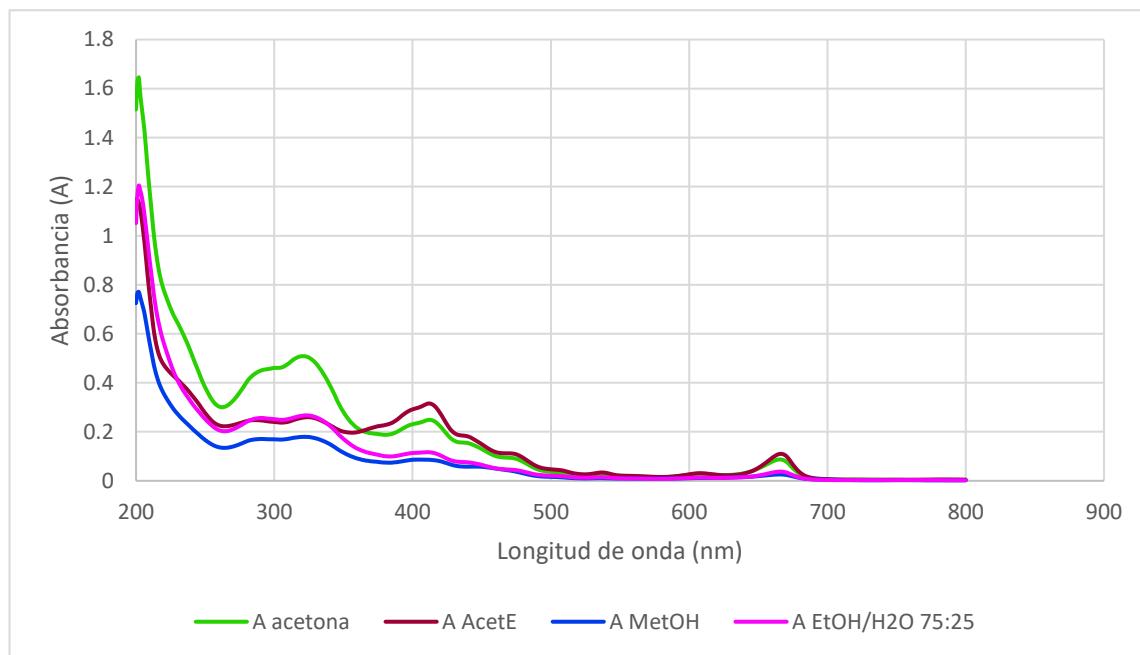


Figura 10. Absorbancias de los extractos obtenidos con diferentes solventes.

En la figura 10 se puede observar el espectro de absorción UV-Vis de los extractos de *Tradescantia zebrina* obtenidos con diferentes solventes (acetona, acetato de etilo, metanol, etanol/agua 75:25). En general, todos los extractos presentan una alta absorbancia en la región ultravioleta (200-300 nm), siendo esto característico de la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides y otras moléculas con sistemas conjugados con dobles enlaces [29], así como fitoesteroles, de los cuales se reportan señales entre los 400 y 500 nm [30].

El extracto que presentó una mayor absorbancia fue el de acetona (200 nm), seguido de los extractos en la mezcla EtOH/H₂O, metanol y por último el de acetato de etilo. Esto puede sugerir que el comportamiento de los compuestos con alta absorción, favorece una mayor extracción en acetona.

Asimismo, se observaron pequeñas bandas entre los 250-300 nm que pueden atribuirse a ciertas transiciones electrónicas $\pi \rightarrow \pi^*$ de grupos carbonílicos o anillos aromáticos, típicos en flavonoides y ácidos fenólicos [30].

Hay una ligera señal entre los 400-420 nm que podría indicar la posible presencia de antocianinas o pigmentos asociados, de lo cual también podemos suponer del color morado/violeta, característico de la *Tradescantia zebrina*. Después de los 500 nm, todos los extractos muestran una disminución significativa en la absorbancia, aunque cabe resaltar que todos muestran señales correspondientes a la clorofila alrededor de los 640 y 670 nm. Esto también confirma que los metabolitos mayoritarios absorbentes se concentran en la región UV [30].

A una longitud de onda de 205 nm observamos para el extracto en acetona una absorbancia de 1.6 A, a diferencia de la mezcla EtOH/H₂O 75:25 que arroja una absorbancia de 1.16 A, para el extracto en metanol fue de 0.7 y para el acetato de etilo de 1.07, por lo que los extractos de acetona y de la mezcla fueron los solventes más eficientes en la extracción de compuestos con alta respuesta en la región UV, lo que concuerda con la polaridad intermedia de dichos solventes y su capacidad para solubilizar metabolitos fenólicos o flavonoides en la *T. zebrina*.

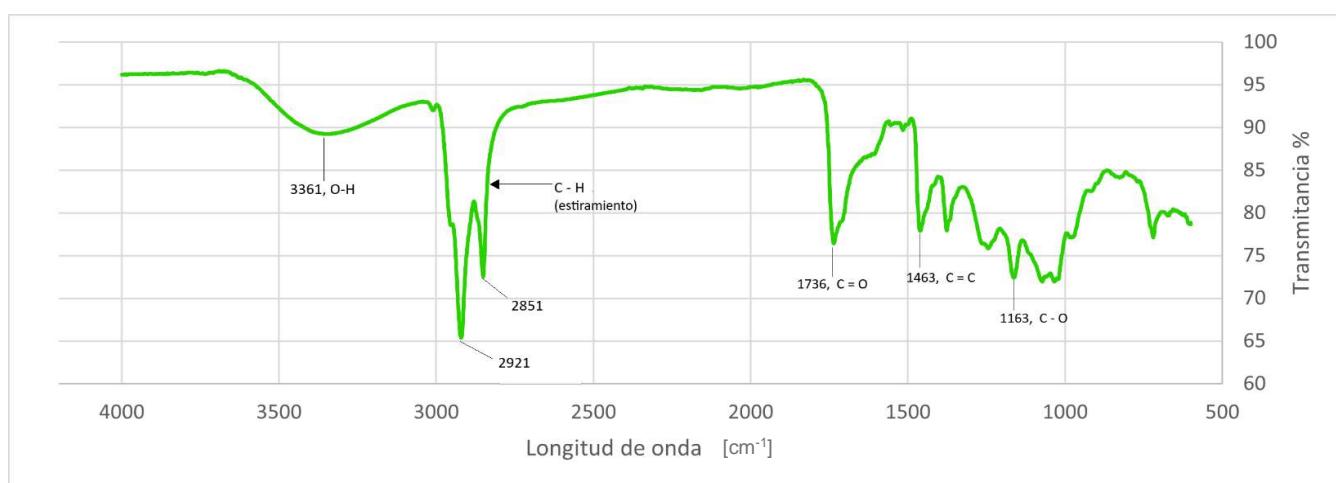
De manera complementaria se obtuvo el rendimiento de cada extracto, y como podemos observar en la Tabla 2, la mezcla EtOH/H₂O obtuvo el mayor rendimiento seguida por el metanol, siendo indicio esto de la afinidad de los fitocompuestos presentes en la planta. A pesar de esto el extracto en acetona también presentó un rendimiento considerable.

Tabla 2. Rendimiento de los extractos obtenidos.

<i>Extracto</i>	<i>Rendimiento</i>
EtOH/H ₂ O 75:25	23.52%
Acetona	18.91%
Metanol	22.20%
Acetato de Etilo	19.28%

Todos los extractos fueron analizados por FT-IR con el fin de identificar los grupos funcionales asociados a los compuestos de interés. Los resultados obtenidos se muestran en los gráficos del 2 al 5. Esta técnica resulta particularmente útil en el análisis de extractos naturales, ya que permite conocer señales características de enlaces químicos presentes en compuestos fenólicos, ácidos orgánicos y fitoesteroles.

De acuerdo a la literatura, es posible asignar ciertas señales características a grupos funcionales relevantes, lo que facilita la identificación preliminar de los compuestos presentes en los extractos analizados (gráficos 2, 3, 4 y 5). De este modo, el espectro FT-IR constituye una herramienta de apoyo para confirmar la presencia de metabolitos secundarios relevantes, en conjunto con otras técnicas cromatográficas y espectroscópicas. Como referencia comparativa, los espectros FT-IR correspondientes al β -sitoesterol y al ácido succínico, dos compuestos de interés dentro de este trabajo, se encuentran en el Anexo 1, lo que nos permite contrastar señales características con las obtenidas en los diferentes extractos.


Gráfico 1. FT-IR correspondiente al extracto obtenido en Acetona.

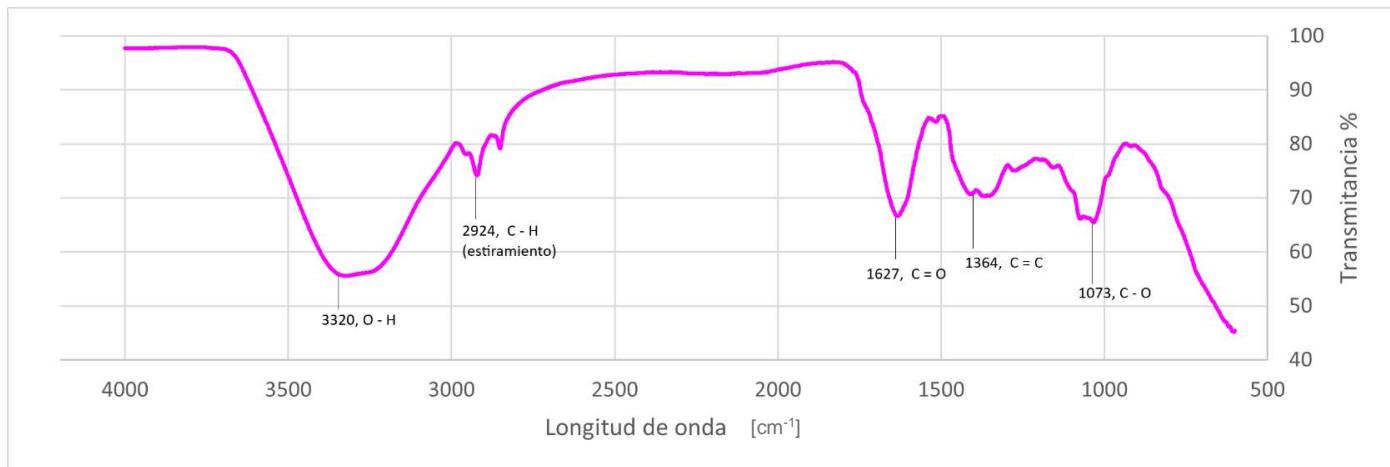


Gráfico 2. FT-IR correspondiente al extracto obtenido en la mezcla EtOH/H₂O 75:25.

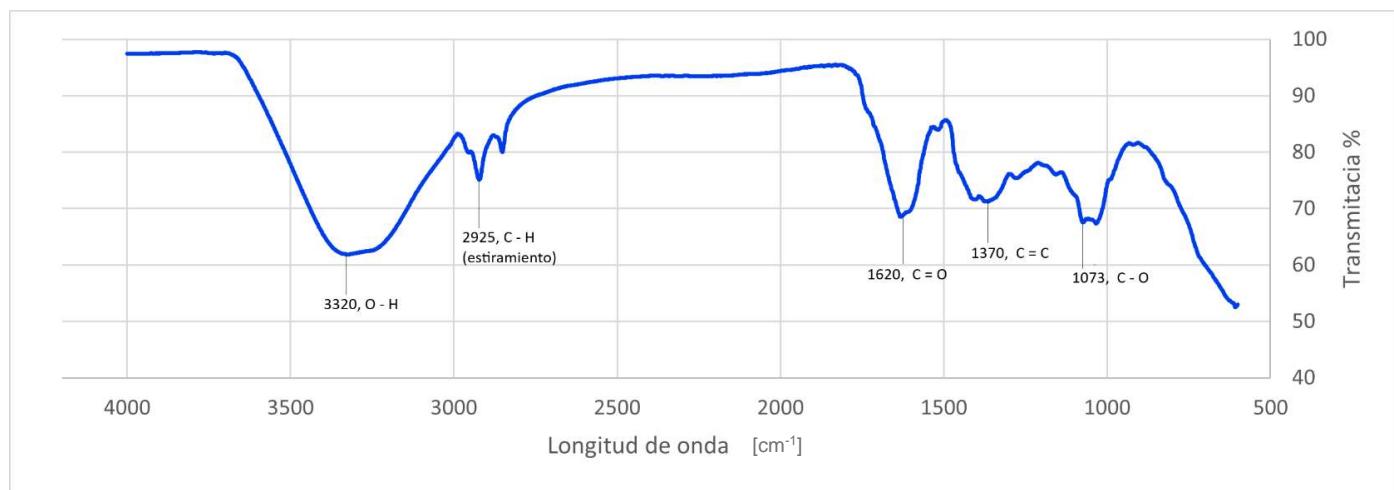


Gráfico 3. FT-IR correspondiente al extracto obtenido en Metanol.

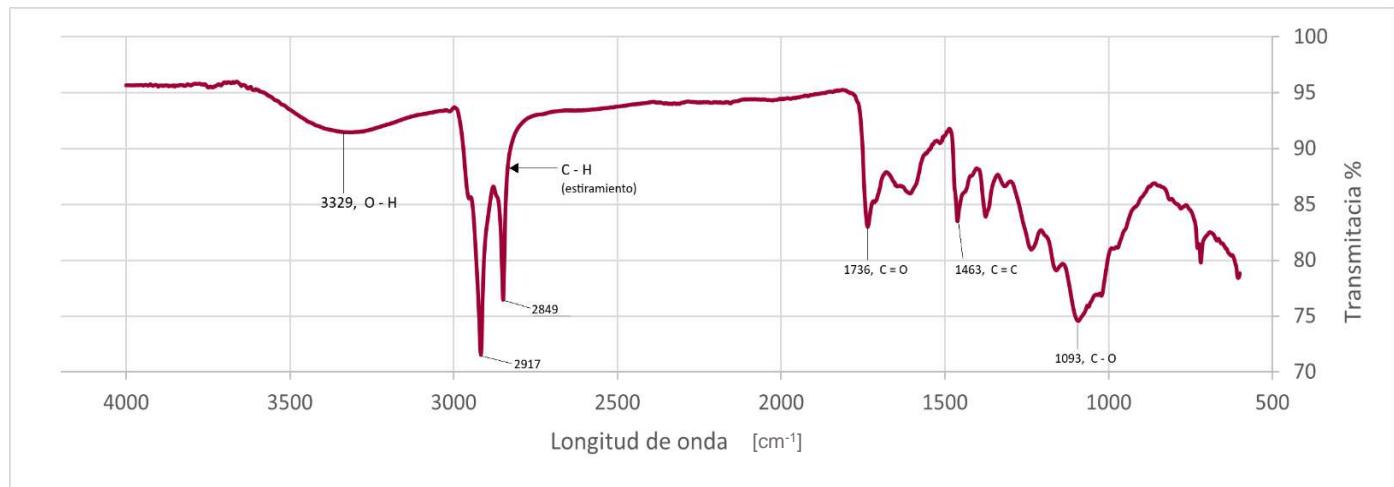


Gráfico 4. FT-IR correspondiente al extracto obtenido en Acetato de Etilo.

En el espectro FT-IR del extracto obtenido con acetona (gráfico 2) se aprecia una banda ancha alrededor de $\sim 3400\text{ cm}^{-1}$, la cual se atribuye a la vibración de estiramiento del grupo $-\text{OH}$ característicos de compuestos fenólicos. Al comparar con los espectros de los extractos obtenidos con la mezcla $\text{EtOH}/\text{H}_2\text{O}$ 75:25 (gráfico 3) y con metanol (gráfico 4), se observa la misma señal, aunque con mayor intensidad, lo cual podría atribuirse tanto a una mayor proporción de metabolitos polares presentes en estas extracciones como a la posible presencia de restos del solvente.

En todos los extractos analizados se identificaron bandas en ~ 2900 y $\sim 2800\text{ cm}^{-1}$, que corresponden al estiramiento de enlaces $\text{C}-\text{H}$ de grupos metilo y metileno. Estas señales son comunes en compuestos de naturaleza lipofílica y suelen estar asociadas con la presencia de fitoesteroles y otros metabolitos secundarios de interés farmacológico [31]. De manera adicional, en los extractos obtenidos en acetona y acetato de etilo (gráficos 2 y 5) se registró una banda en torno a $\sim 1700\text{ cm}^{-1}$, atribuida al estiramiento del grupo carbonilo ($\text{C}=\text{O}$). Esta señal puede estar relacionada con la presencia de ácidos orgánicos, como el ácido succínico, compuesto al que se le han reconocido propiedades antioxidantes y posibles efectos moduladores en procesos celulares [32].

Otra región de interés se localiza entre 1600 – 1510 cm^{-1} , donde aparecen bandas características que se relacionan con vibraciones de estiramiento de $\text{C}=\text{C}$. Dichas señales son indicativas de la presencia de compuestos fenólicos y flavonoides, metabolitos que han sido ampliamente estudiados por su capacidad antioxidante, antiinflamatoria y anticancerígena, lo que otorga un sustento experimental del uso terapéutico de los extractos de *Tradescantia zeybrina*.

En conjunto, estos resultados, en comparación con la literatura, sugieren que los extractos contienen flavonoides, fitoesteroles y fenoles, todos ellos reconocidos por su potencial en aplicaciones biológicas y médicas. Desde un punto de vista práctico, el extracto obtenido con $\text{EtOH}/\text{H}_2\text{O}$ (75:25) resulta particularmente atractivo por su posible aplicación terapéutica, dado que esta mezcla de solventes favorece la extracción de compuestos polares con alta relevancia biológica.

Por otro lado, el análisis de los espectros FT-IR sugiere que el extracto con mayor concentración de fitoquímicos corresponde al obtenido con acetona, lo que lo convierte en un candidato clave para una caracterización más detallada.

Por estas razones, ambos extractos, el obtenido con EtOH/H₂O (75:25) y el obtenido con acetona, fueron seleccionados para su posterior separación mediante cromatografía en columna y análisis complementarios, lo que permitirá avanzar en la identificación específica de los metabolitos presentes y su correlación con actividades biológicas de interés, mediante una separación en columna cromatográfica.

Con base en los resultados obtenidos de estas columnas cromatográficas (gráficos 6 y 7) se escogieron varias fracciones a las que se les realizaron caracterizaciones mediante FT-IR y UV-Vis. Considerando que el ácido succínico es un compuesto polar y el β -sitoesterol es no polar, las fracciones de interés se recuperaron principalmente en solventes polares como etanol/metanol para la separación del ácido succínico, y en mezclas menos polares como hexano/acetato para obtener el β -sitoesterol. Por lo tanto, se tomaron aquellas fracciones con mayor concentración de muestra correspondientes a los sistemas de solventes en los que era más probable encontrar dichos compuestos de interés.

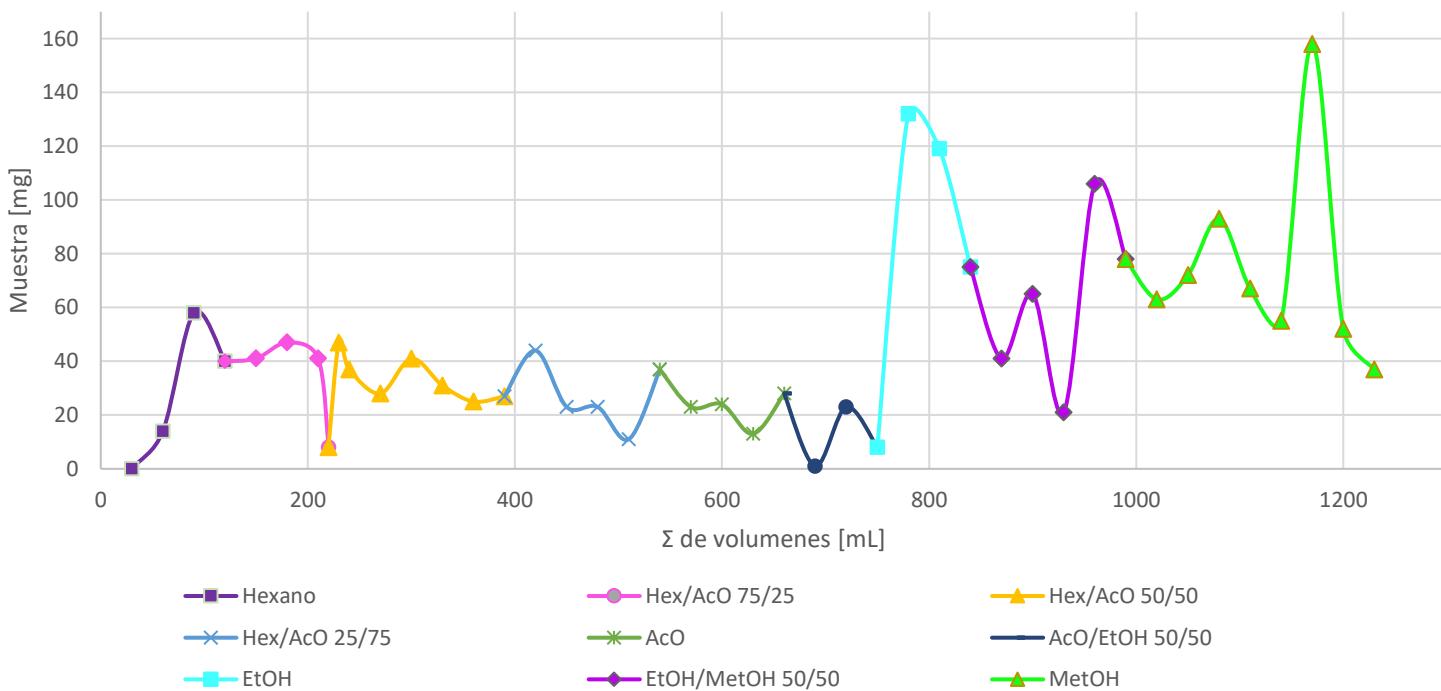


Gráfico 5. FT-IR Fracciones de la columna cromatográfica. Extracto en Acetona.

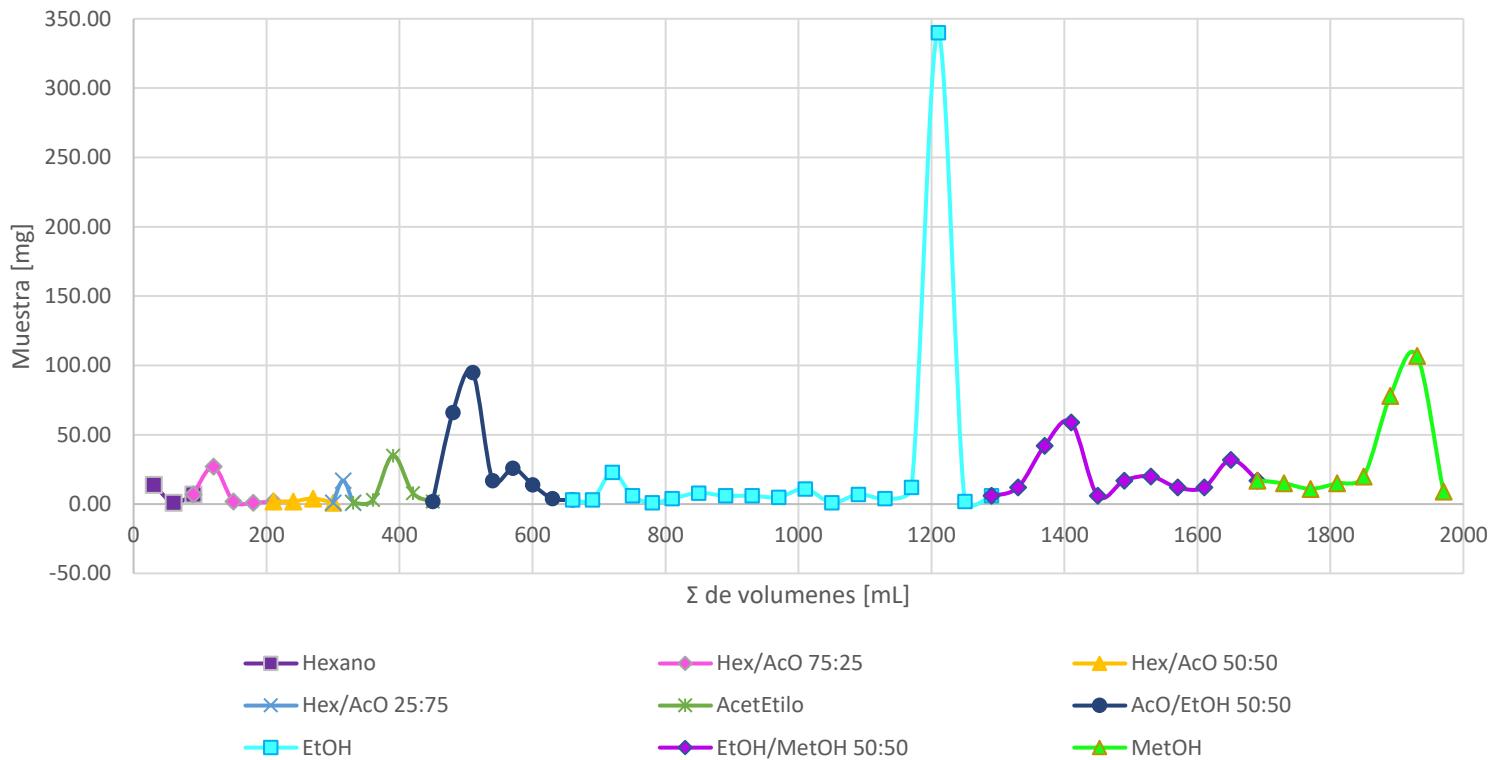


Gráfico 6. FT-IR Fracciones de la columna cromatográfica. Extracto obtenido en la mezcla EtOH/H₂O 75:25.

Las fracciones seleccionadas fueron caracterizadas mediante FT-IR y UV -Vis, además de someterse a pruebas de actividad y capacidad antioxidante al igual que a los extractos crudos. Estas técnicas se emplearon con el fin de obtener información de la naturaleza estructural de los compuestos presentes, permitiendo establecer una relación más sólida entre el perfil químico y las propiedades funcionales de los metabolitos extraídos.

Como se mencionó previamente, los espectros de referencia del FT-IR del β -sitoosterol y el ácido succínico se encuentran en el Anexo 1. Al comparar estos con los espectros obtenidos para las fracciones más representativas de la columna en acetona (gráficos 8, 9 y 10), se identificó una banda características del grupo hidroxilo ($\sim 3400 \text{ cm}^{-1}$), indicativo de la presencia de compuestos fenólicos, cuya presencia se asocia a propiedades antioxidantes y protectoras frente al daño oxidativo. Considerando la baja polaridad del β -sitoosterol, es posible suponer que este compuesto se encuentra mayoritariamente en las fracciones obtenidas con solventes no polares.

Asimismo, en todos los espectros se identificaron bandas en la región de ~ 2900 y $\sim 2800 \text{ cm}^{-1}$, atribuibles a la presencia del estiramiento de enlaces C–H presentes en ambos fitoquímicos de interés. Estas señales son comunes a una amplia gama de metabolitos, incluidos tanto los fitoesteroles como los ácidos orgánicos. Por otro lado, la señal en $\sim 1700 \text{ cm}^{-1}$, asociada a grupos carbonilo y/o dobles enlaces. Esta señal mostró mayor intensidad en las fracciones polares, lo que sugiere una concentración significativa de ácido succínico, compuesto polar que ha sido reportado por su papel en la modulación de rutas metabólicas y en la regulación del estrés oxidativo a nivel celular [33].

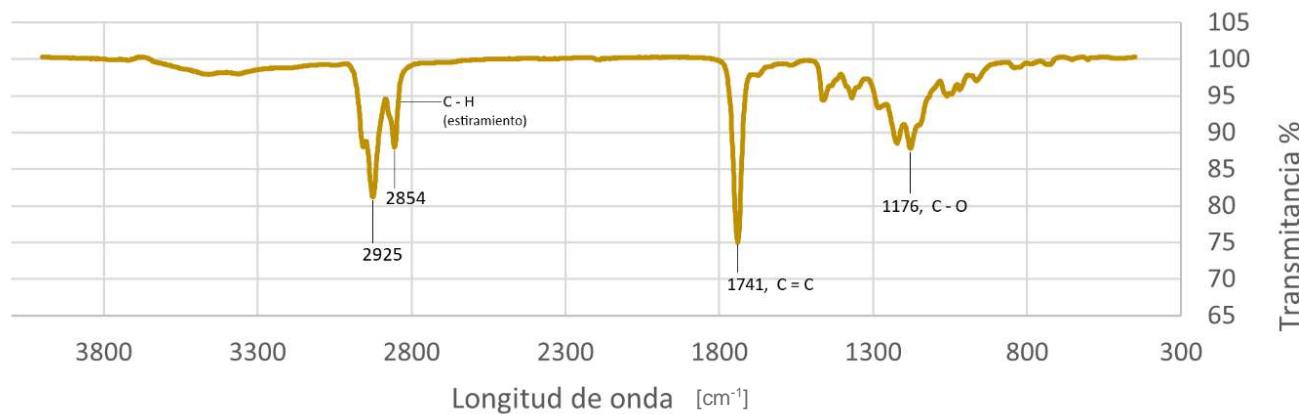


Gráfico 7. FT-IR de la fracción Hexano/Acetato de Etilo 25:75. Columna del extracto en Acetona.

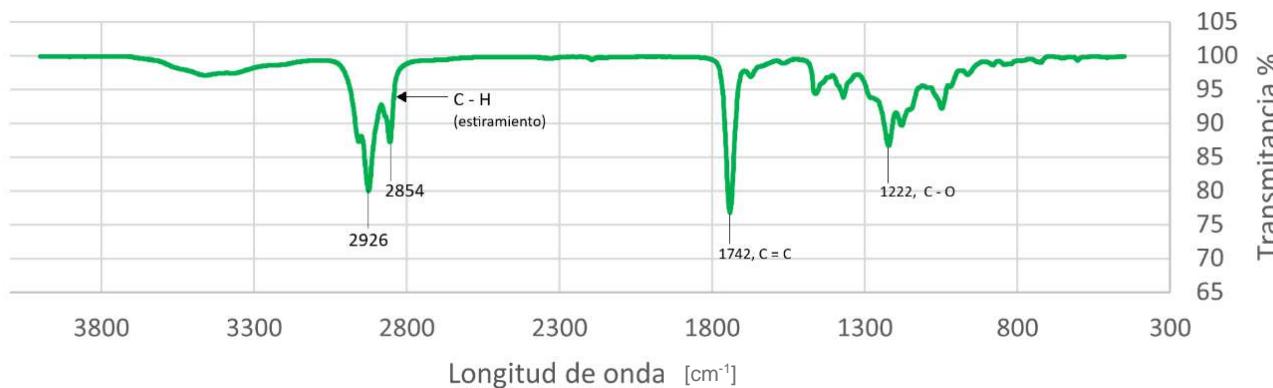


Gráfico 8. FT-IR de la fracción Acetato de Etilo/Etanol 50:50. Columna del extracto en Acetona.

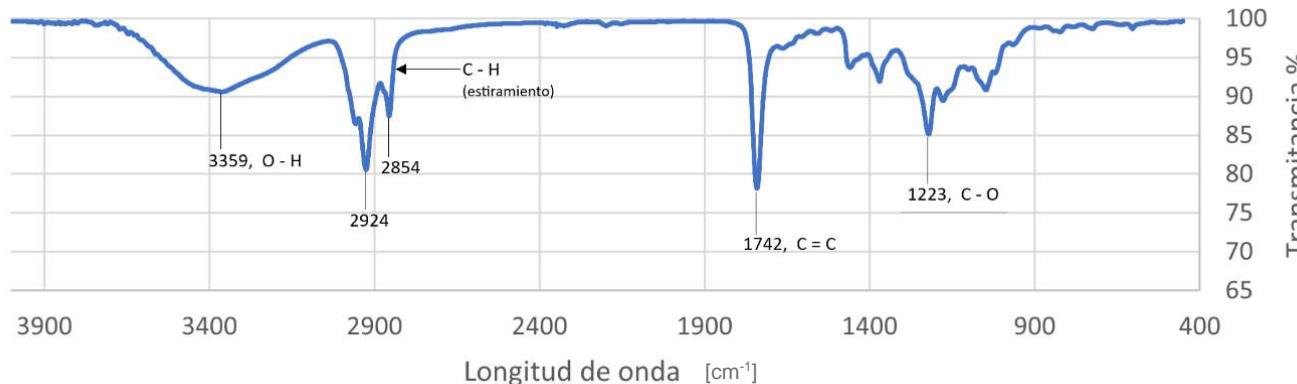


Gráfico 9. FT-IR de la fracción Etanol/Metanol 50:50. Columna del extracto en Acetona.

En las fracciones obtenidas en la columna correspondiente al extracto en EtOH/H₂O 75:25 (gráficos 11, 12 y 13) también observamos bandas características de grupos hidroxilo (-OH) cuya intensidad fue mayor en las fracciones menos polares, lo que sugiere la presencia de compuestos fenólicos con afinidad hacia estos solventes. Por otro lado, en las fracciones polares se observan señales atribuibles a grupos carbonilo, que incrementan en intensidad al aumentar la polaridad del sistema de solventes utilizados, lo que indica una mayor concentración de ácidos orgánicos como el succínico en dichas fracciones.

Cabe destacar que, en comparación con el extracto en acetona, el extracto en EtOH/H₂O, mostró un incremento en la intensidad de señales de interés, lo que lo posiciona como el sistema más compatible para pruebas biológicas. Esta preferencia se debe a que el uso de mezclas hidroalcohólicas minimiza la presencia de residuos tóxicos, mientras que en los extractos obtenidos con acetona existe el riesgo de que restos de solvente interfieran en los ensayos, generando inhibición celular no atribuible a los compuestos bioactivos. En este sentido, el extracto hidroalcohólico no solo resulta más seguro para aplicaciones terapéuticas, sino que además concentra metabolitos polares y fenólicos de gran interés.

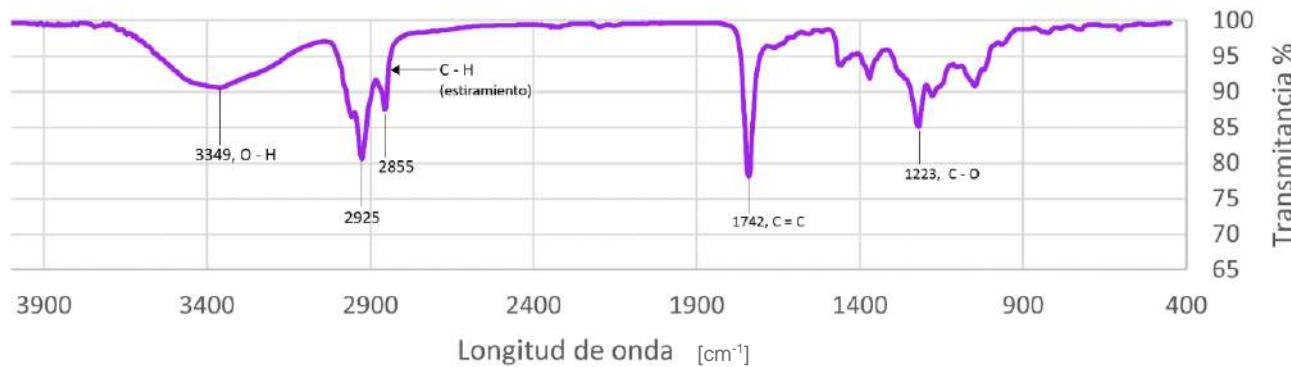


Gráfico 10. FT-IR de la fracción Acetato de Etilo. Columna del extracto en EtOH/H₂O 75:25.

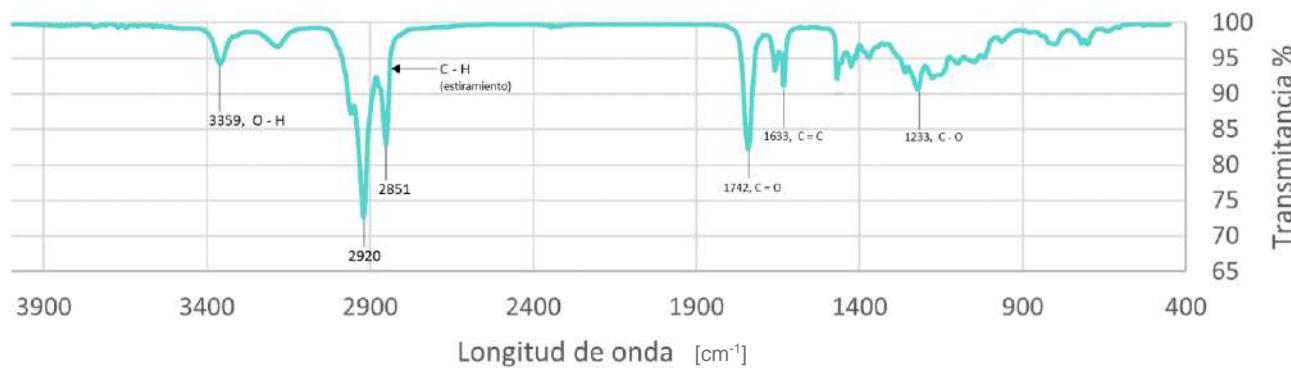


Gráfico 11. FT-IR de la fracción Acetato de Etilo/Etanol 50:50. Columna del extracto en EtOH/H₂O 75:25.

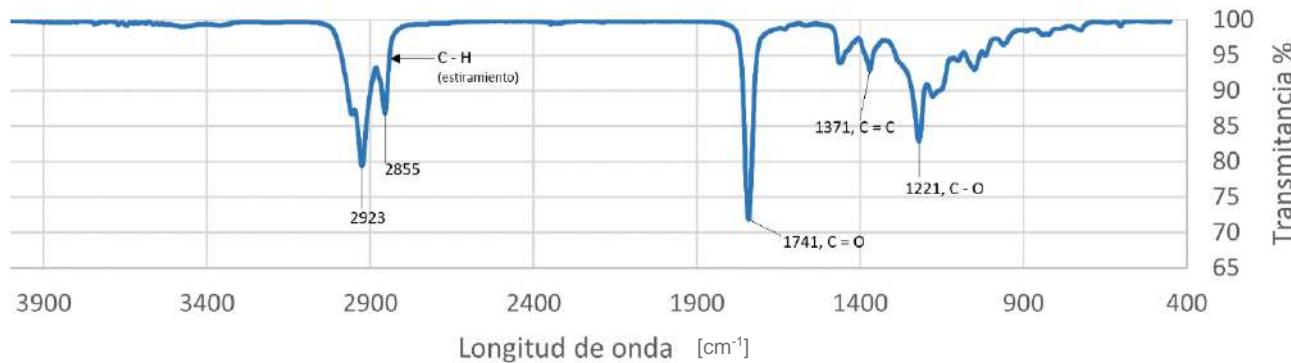


Gráfico 12. FT-IR de la fracción Etanol//Metanol 50:50. Columna del extracto en EtOH/H₂O 75:25.

Otro aspecto importante a evaluar en los extractos obtenidos es su capacidad y antioxidante (Tabla 3 y 4). Es un hecho bien establecido que estos extractos son ricos en compuestos fenólicos, que actúan como metabolitos secundarios de origen vegetal. Estos compuestos son especialmente valorados por su notable capacidad para neutralizar el estrés oxidativo. Este fenómeno, está íntimamente asociado con el desarrollo y la progresión de una amplia gama de enfermedades crónicas y degenerativas en organismos vivos, incluyendo enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas y ciertos tipos de cáncer. Por lo tanto, la cuantificación de la capacidad antioxidante no solo proporciona una medida de la calidad del extracto, sino que también ofrece una indicación de su potencial terapéutico y preventivo en la salud humana [34].

Tabla 3. Capacidad antioxidante de los extractos obtenidos.

Muestra	DPPH	FOLIN C	CUPRAC	ABTS
Extracto H ₂ O 1:100	131.55 ± 0.79	56.88 ± 0.93	19.08 ± 0.44	372.94 ± 0.73
Extracto Acetona 1:100	124.28 ± 1.05	4.42 ± 0.49	35.43 ± 0.78	297.94 ± 0.21
Extracto H ₂ O 1:10	120.60 ± 0.62	34.32 ± 0.31	67.57 ± 0.50	493.12 ± 0.76
Extracto Acetona 1:10	124.15 ± 0.44	10.44 ± 0.38	42.18 ± 0.78	497.21 ± 0.33

En las Tablas 3 y 4 se muestra la capacidad antioxidante de los extractos de *Tradescantia zebrina*, así como de las fracciones de interés obtenidas mediante cromatografía en columna, evaluados mediante los métodos DPPH, Folin-Ciocalteu, CUPRAC y ABTS. Los resultados evidencian variaciones en función del solvente de extracción y de la dilución empleada.

Dentro de la Tabla 4 observamos que los extractos acuosos presentaron un mayor contenido fenólico (particularmente en la dilución 1:100) y, en consecuencia, una mayor capacidad antioxidante en el ensayo DPPH, esto puede relacionarse con que también tuvo la mayor cantidad de compuestos fenólicos (medido con Folin-Ciocalteau). Esto confirma que los metabolitos fenólicos son determinantes en la capacidad de captar radicales libres, tal como ha sido ampliamente descrito para flavonoides y otros polifenoles, en donde se observa que la acción antioxidante depende del número y posición de los grupos hidroxilo en la estructura aromática [35]. Por su parte, los extractos en acetona destacaron en los ensayos CUPRAC y ABTS, evidenciando la contribución de compuestos con distinta polaridad a la capacidad antioxidante total.

Estos hallazgos son coherentes con estudios previos donde los extractos acuosos e hidroalcohólicos de *T. zebrina* han mostrado una elevada capacidad antioxidante, atribuida principalmente a la presencia de flavonoides, ácidos fenólicos y fitoesteroles [4].

Tabla 4. Capacidad antioxidante de las fracciones obtenidas.

Columna	Fracción	DPPH	FOLIN C	CUPRAC	ABTS
Extracto en H ₂ O	1. Hex / AcEt (50:50)	138.13 ± 0.42	3.11 ± 0.53	45.40 ± 0.61	313.91 ± 0.79
	2. Hex / AcEt (25:75)	131.71 ± 0.66	60.22 ± 0.75	45.60 ± 0.88	322.59 ± 0.50
	3. EtOH	127. 53 ± 0.51	27.34 ± 0.37	44.18 ± 0.29	409.33 ± 0.25
Extracto en acetona	1. Hex / AcEt (50:50)	129.79 ± 0.29	6.71 ± 0.33	44.47 ± 0.78	471.29 ± 0.13
	2. Hex / AcEt (25:75)	128.95 ± 0.40	12.41 ± 0.33	45.78 ± 0.66	307.72 ± 0.16
	3. EtOH	188.71 ± 0.95	11.67 ± 0.89	47.40 ± 0.95	390.75 ± 0.39

De acuerdo a la polaridad de los disolventes y de los fitocompuestos de interés se espera que los fitoesteroles se encuentren dentro de las primeras fracciones obtenidas y, por otro lado, los ácidos fenólicos se encuentren en las fracciones más polares. El sistema de solventes utilizado en las columnas cromatográficas fue el siguiente:

1. Hexano
2. Hexano / Acetato de Etilo (75:25)
3. Hexano / Acetato de Etilo (50:50)
4. Hexano / Acetato de Etilo (25:75)
5. Acetato de etilo
6. Acetato de etilo / Etanol (50:50)
7. Etanol
8. Etanol / Metanol (50:50)
9. Metanol

En este caso, en las fracciones obtenidas, se observa un comportamiento diferente de acuerdo al tipo de solvente empleado. En el ensayo DPPH, la fracción 3 de acetona mostró el valor más alto de todo el estudio, esto indica que la separación cromatográfica permitió concentrar compuestos con una fuerte capacidad de donaciones de electrones, posiblemente flavonoides con múltiples grupos hidroxilo libres. Por otro lado, el contenido fenólico en esta fracción no fue el más alto, lo que sugiere que otro tipo de metabolitos no estrictamente fenólicos (fitoesteroles u otros antioxidantes secundarios) también contribuyen a la actividad observada.

En cuanto al método CUPRAC, los valores fueron relativamente consistentes entre las fracciones. Esto nos indica que la capacidad reductora frente a iones cúpricos está más distribuida entre los metabolitos presentes en todas las fracciones.

Con respecto al método ABTS, la mayor capacidad se registró en la fracción 1 de acetona, este resultado refuerza la idea de que la separación por cromatografía nos permite concentrar compuestos activos con afinidad por este radical.



En las fracciones acuosas, destaca la fracción 2 que presentó el mayor contenido fenólico de todas y por lo tanto tuvo una actividad mayor en los métodos DPPH y ABTS. Sin embargo, la fracción 3 acuosa mostró un valor significativo en el análisis de ABTS, por lo que podemos decir que además de los compuestos fenólicos medidos, existen otras moléculas que pueden neutralizar eficazmente el radical ABTS⁺.

Revisando el estado del arte nos encontramos con reportes donde se ha documentado que la actividad antioxidante de los extractos de *T. zebrina* está asociada principalmente a flavonoides, fitoesteroles y ácidos fenólicos [4]. En particular, la separación cromatográfica demostró ser una herramienta efectiva para concentrar metabolitos con alta bioactividad.

De manera similar, estudios en otros extractos naturales han mostrado que esta separación cromatográfica permite identificar fracciones específicas con actividades superiores, incluso cuando las especies tienen bajo contenido fenólico, lo que nos hace suponer la actividad de otros metabolitos antioxidantes [36].

De acuerdo a la información obtenida de todos los extractos analizados de *T. zebrina* podemos decir que además de un alto contenido fenólico también contienen otros metabolitos que les confiere buenas propiedades antioxidantes. Podemos concluir también que la polaridad de las fracciones toma importancia en la concentración de ciertos fitoquímicos.

X.II. Nanopartículas de quitosano (QNPs)

A continuación, se presentan los resultados obtenidos a partir de la síntesis de caracterización de nanopartículas de quitosano, empleadas como acarreadoras de extractos naturales. El interés en estos sistemas radica en las propiedades intrínsecas del quitosano, el cual permite la formación de nanopartículas capaces de mejorar la estabilidad, biodisponibilidad y actividad biológica de los compuestos bioactivos.

En este estudio, su aplicación se orientó en evaluar el potencial del quitosano como plataforma de encapsulación para los extractos y fracciones de *T. zebrina*, con el objetivo de potenciar su capacidad antioxidante y aumentar su eficacia en pruebas biológicas.

Primeramente, se llevó a cabo la síntesis de nanopartículas de quitosano utilizando dos diferentes concentraciones de TPP, con el propósito de optimizar las condiciones de formación y seleccionar aquella que permitiera obtener tamaños adecuados para la encapsulación de extractos naturales (Gráfico 14). La caracterización se realizó mediante dispersión dinámica de luz (DLS), técnica que permite determinar el diámetro hidrodinámico y la distribución de tamaños de muestra, así como mediante la medición del Potencial Z para evaluar la estabilidad coloidal de las suspensiones y la carga superficial.

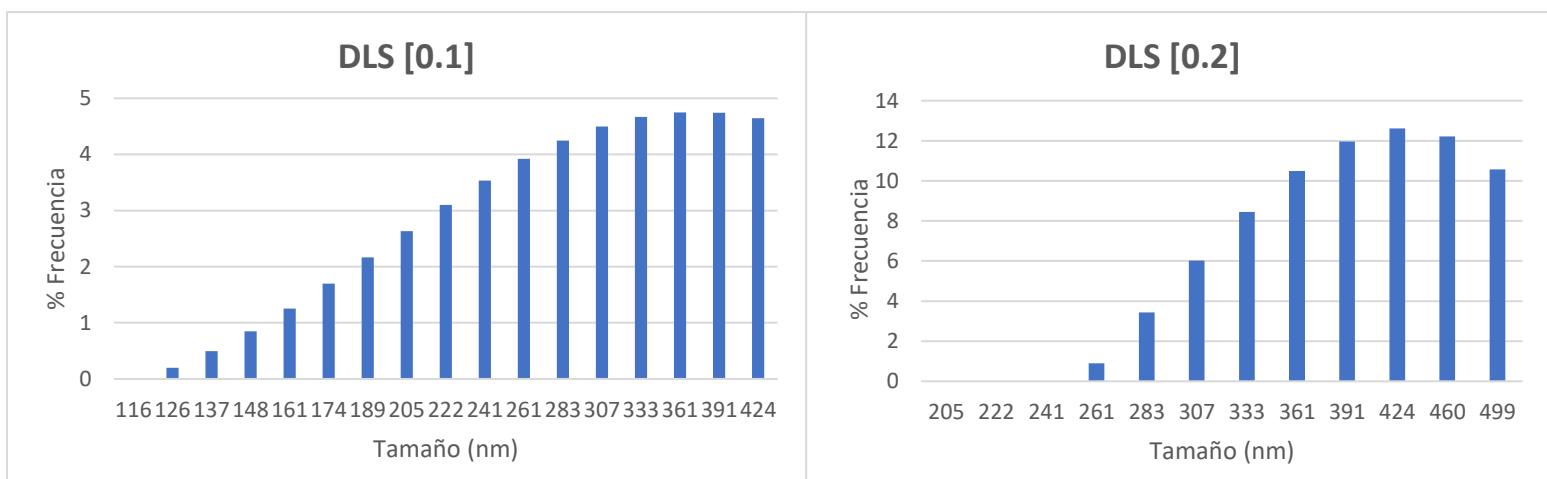


Gráfico 13. Caracterización mediante DLS para las nanopartículas de quitosano con concentraciones de TPP al 0.1% y 0.2%.

De acuerdo con la literatura, las nanopartículas en el rango de 100 a 300 nm mantienen las propiedades características del quitosano a escala nanométrica, además de presentar una mayor probabilidad de encapsular de manera eficiente los fitoquímicos de interés, como flavonoides y fitoesteroles [37]. En este estudio, los resultados indicaron que la formulación con TPP al 0.1% produjo nanopartículas con un menor diámetro promedio y una distribución más uniforme, mientras que con el TPP al 0.2% se obtuvo una distribución relativamente homogénea, pero con diámetros mayores. Estos resultados sugieren que concentraciones más bajas de TPP favorecen la formación de partículas más pequeñas y con una dispersión más controlada, mientras que un mayor grado de entrecruzamiento tiende a incrementar el tamaño final de las nanopartículas.

En cuanto al Potencial Z (Tabla 6) observamos que ambas concentraciones de TPP indican una elevada estabilidad coloidal, ya que valores superiores a +30mV suelen asociarse con una fuerte repulsión electrostática entre partículas, lo que reduce la posibilidad de que las moléculas se aglomeren [38]. La ligera diferencia entre ambas formulaciones refleja que, si bien la concentración más alta de TPP genera nanopartículas de mayor tamaño, estas mantienen una superficie cargada positivamente, lo que se traduce en una buena estabilidad.

Tabla 5. Potencial Z de Nanopartículas de quitosano en diferentes concentraciones de TPP.

QNPs	Potencial Z (mV)
TPP al 0.1%	+ 41.48
TPP al 0.2%	+ 43.58

Una vez realizadas y perfeccionado la síntesis de las nanopartículas a las condiciones buscadas en este proyecto se procedió a realizar la síntesis de nanopartículas de quitosano cargadas con los extractos naturales, en donde se obtuvieron tamaños dentro del rango buscado (Gráfico 16). Las nanopartículas cargadas con extracto en acetona, en etanol y metanol arrojaron resultados uniformes y hubo una buena dispersión en los tamaños lo que sugiere que hubo una forma de interacción entre los compuestos fenólicos y la matriz de quitosano. Esta tendencia ha sido descrita en nanopartículas de quitosano cargadas con fitocompuestos, donde la encapsulación provoca un ligero cambio de tamaño y en algunos casos mayor dispersión [39]. En este caso, se observa un cambio en la incorporación exitosa de los extractos en la matriz polimérica, manteniendo tamaños dentro del rango nanométrico requerido en aplicaciones biomédicas.

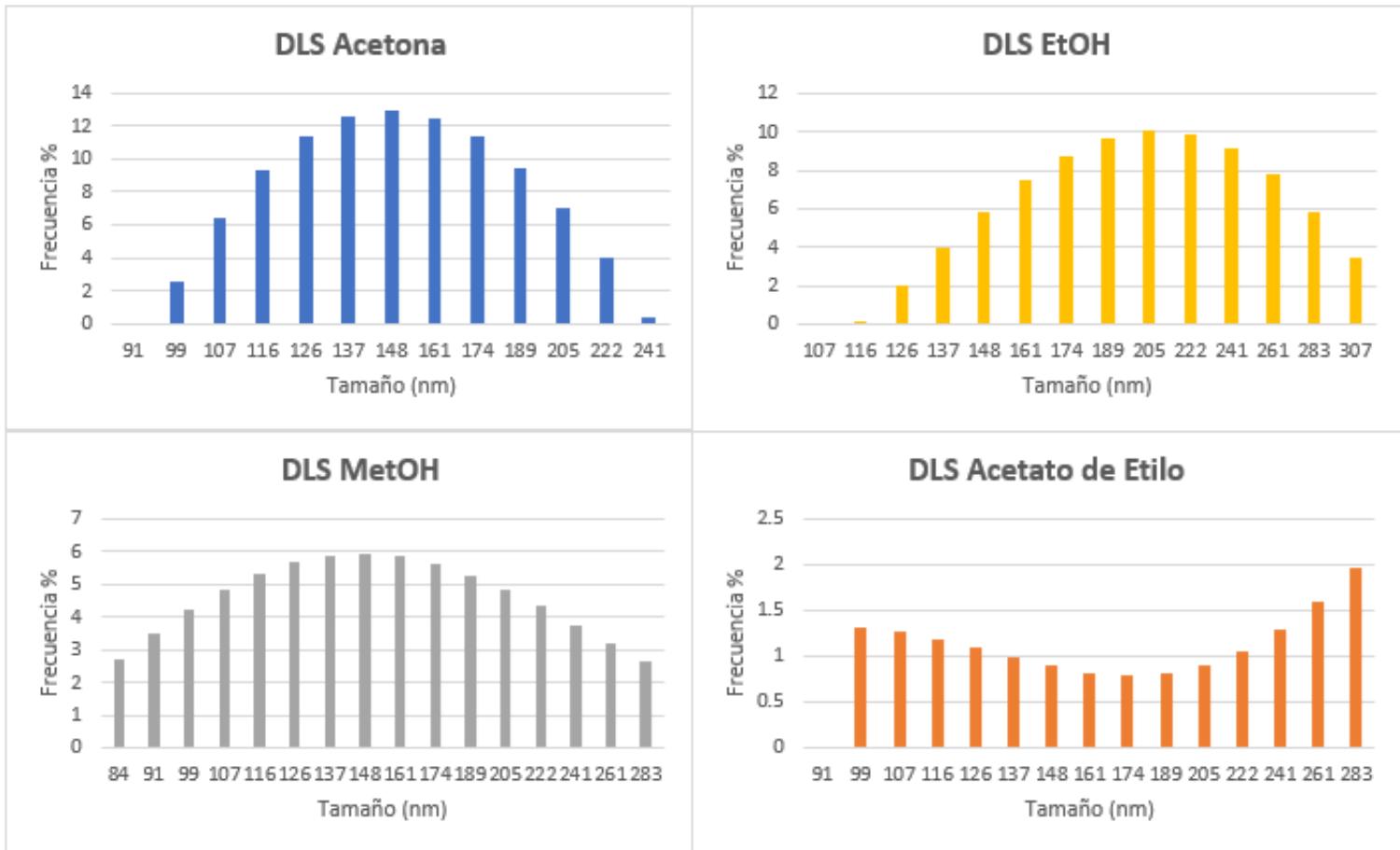


Gráfico 14. Caracterización mediante DLS para las nanopartículas cargadas con los diferentes extractos obtenidos.

Respecto al Potencial Z, las nanopartículas cargadas con los extractos (Tabla 7), los valores de Potencial Z disminuyeron considerablemente, esta reducción refleja la neutralización parcial de las cargas superficiales por la interacción de los metabolitos como fenoles, ácidos orgánicos o flavonoides [39]. El valor negativo obtenido para el extracto en metanol, puede ser debido a una inversión de la carga superficial, probablemente por la adsorción de compuestos con carácter ácido o aniónico. Aunque esto podría indicar que la estabilidad coloidal puede estar comprometida, en algunos contextos este valor negativo, podría favorecer interacciones específicas con membranas celulares cargas positivamente [38].

Tabla 6. Potencial Z de Nanopartículas de quitosano cargadas con los diferentes extractos.

QNPs	Potencial Z (mV)
Acetato de etilo	+ 12.77
Acetona	+ 3.50
MetOH	-11.53
EtOH/H ₂ O (75:25)	+ 9.87

Por otro lado, las nanopartículas cargadas con los demás extractos, si bien presentan potenciales menores a las de las nanopartículas en blanco, se favorece una estabilidad relativa y potenciales aplicaciones en liberación sostenida. Además, esto podría mejorarse en su incorporación a la matriz del hidrogel de alginato.

Los resultados obtenidos confirman que la carga de los extractos modifica significativamente las propiedades fisicoquímicas de las nanopartículas de quitosano. No obstante, los tamaños se mantienen dentro del rango nanométrico adecuado y las cargas residuales positivas en la mayoría de los extractos, permiten considerar estas formulaciones como sistemas viables para la encapsulación y liberación de compuestos bioactivos.

Con todo esto podemos decir que la encapsulación de los extractos naturales modifica las propiedades superficiales y el tamaño hidrodinámico de las nanopartículas, pero siempre dentro del rango nanométrico adecuado para aplicaciones biomédicas. Ahora bien, estas técnicas se pueden complementar con la caracterización con métodos que permitan observar directamente la morfología y disposición de las partículas. Es así que la microscopía electrónica de barrido (SEM) constituye una herramienta esencial para poder visualizar la forma, la superficie y la distribución de las nanopartículas de quitosano, proporcionando evidencia en su estructura que respalde los resultados ya obtenidos.

Las muestras de las nanopartículas de quitosano en blanco o sin cargar (QNP_sBco), nanopartículas de quitosano cargas con extracto en la mezcla EtOH/H₂O 75:25 (QNP_sEt) y las nanopartículas de quitosano cargadas con extracto en acetona (QNP_sA) fueron analizadas por microscopía electrónica de barrido.

En la micrografía SEM de las nanopartículas de quitosano sin carga (Figura 12) se puede observar una buena dispersión a lo largo del campo muestral, por lo que podemos decir que es un sistema estable. El tamaño obtenido concuerda con los tamaños obtenidos por dispersión de luz. En cuanto a su morfología, las nanopartículas presentan formas predominantemente esféricas o elipsoidales, con bordes bien definidos y una distribución relativamente uniforme en tamaño.

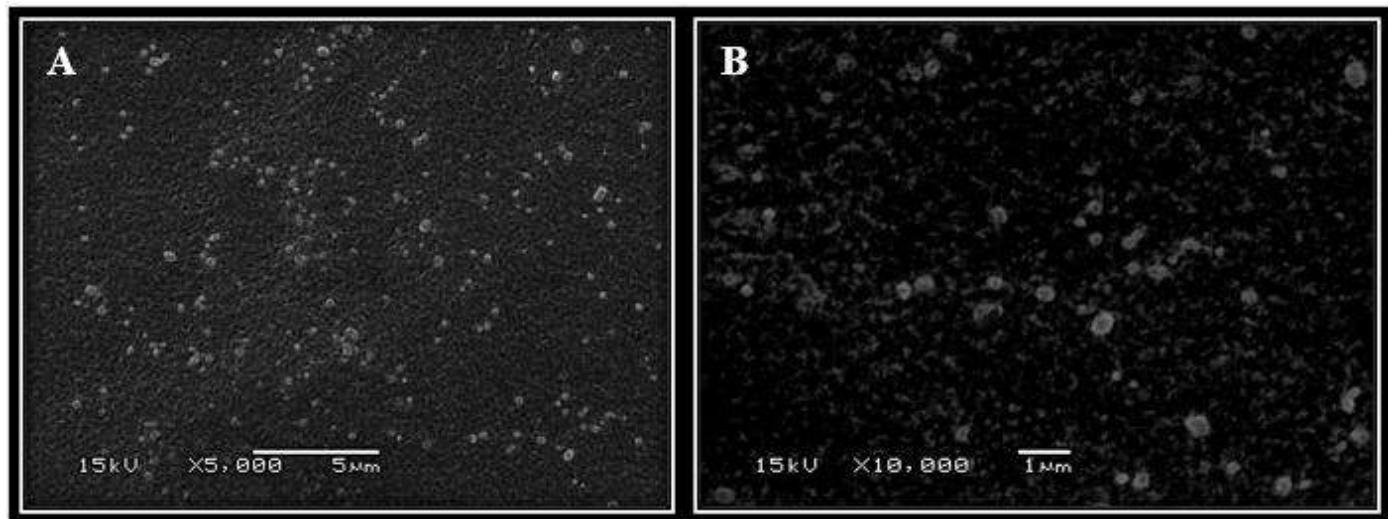


Figura 11. Micrografía obtenida por microscopía electrónica de barrido (SEM) de nanopartículas de quitosano en blanco: A) x5000 y B) x10000.

Cabe mencionar que en todas las nanopartículas caracterizadas se puede observar una ausencia de aglomeraciones notorias, este comportamiento confirma que la metodología de síntesis empleada permite obtener nanopartículas con buena estabilidad y homogeneidad estructural.

Analizando las micrografías para las QNPsEt (Figura 13) podemos notar un ligero incremento en los tamaños de partículas en comparación con el sistema sin carga, lo que es consistente con los resultados obtenidos mediante el DLS. Esta diferencia sugiere que la incorporación de compuestos bioactivos se está llevando a cabo al interior o en la superficie de las nanopartículas. En cuanto a la dispersión, se identificaron áreas de la muestra con ligeros indicios de aglomeración, lo que podría atribuirse a la afinidad entre ciertos compuestos presentes en los extractos y la matriz polimérica. Sin embargo, también se observan zonas en las que predominaban nanopartículas de quitosano individuales, lo que probablemente se deba a la preparación de una muestra muy diluida.

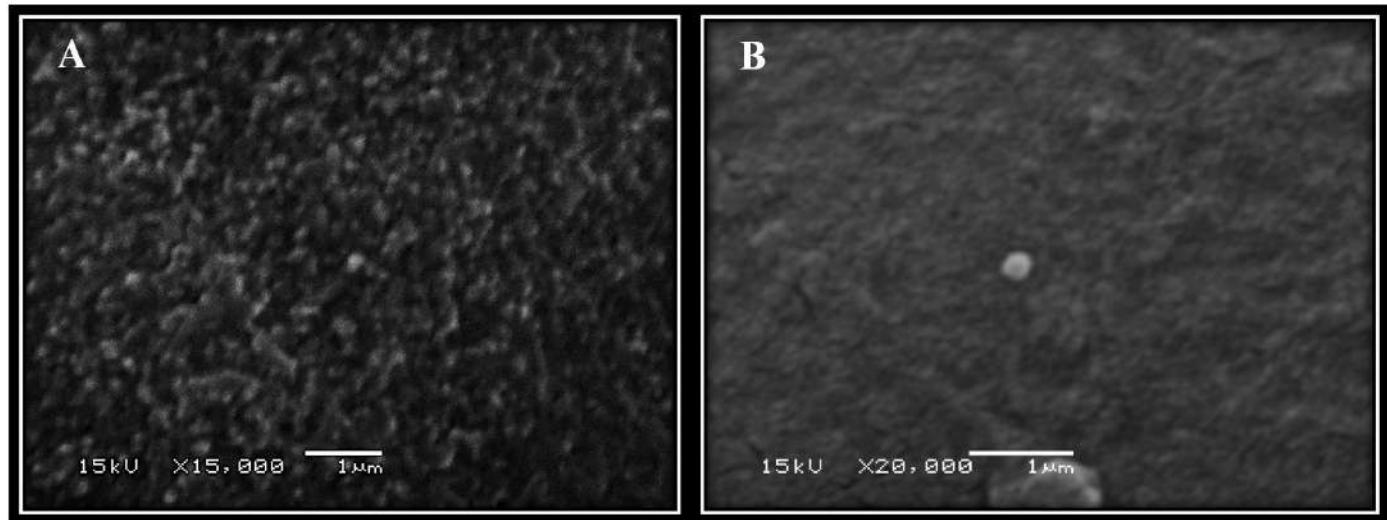


Figura 12. Micrografía obtenida por microscopía electrónica de barrido (SEM) de nanopartículas de quitosano cargadas con el extracto obtenido de la mezcla EtOH/H₂O (75:25): A) x15000 y B) x20000.

Las QNPsA (Figura 14) tuvieron un comportamiento muy similar a las obtenidas con extracto en mezcla, es evidente un incremento en los tamaños de partícula, lo que respalda la incorporación de metabolitos dentro de las nanopartículas. Aunque en este caso se observó una mayor tendencia a la aglomeración, las micrografías revelan la formación de nanopartículas con tamaños relativamente uniformes y morfología mayoritariamente esférica. De igual forma, se identificaron regiones con menor densidad de nanopartículas, lo que podría estar asociado a restos del extracto que no logró ser completamente encapsulado.

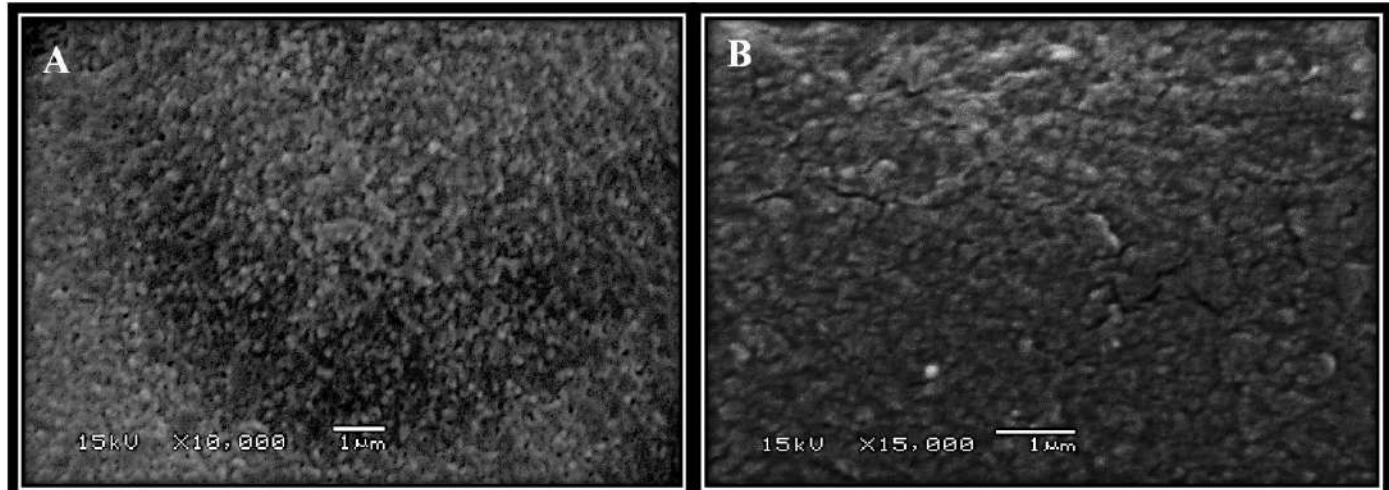


Figura 13. Micrografía obtenida por microscopía electrónica de barrido (SEM) de nanopartículas de quitosano cargadas con el extracto obtenido con acetona: A) x10000 y B) x15000.

Los resultados confirman que el sistema de nanopartículas de quitosano permite una adecuada encapsulación de los metabolitos presentes en los extractos, lo que puede potenciar sus propiedades, aunque la eficiencia del proceso puede variar dependiendo de la naturaleza del disolvente utilizado. Una morfología homogénea respalda la viabilidad de estas nanopartículas como vehículo para estudios posteriores de liberación controlada.

Finalmente, para evaluar la capacidad de las nanopartículas de liberar el extracto fue necesario realizar las curvas de calibración correspondientes a los extractos obtenidos en la mezcla EtOH/H₂O (75:25) y acetona (gráfico 15).

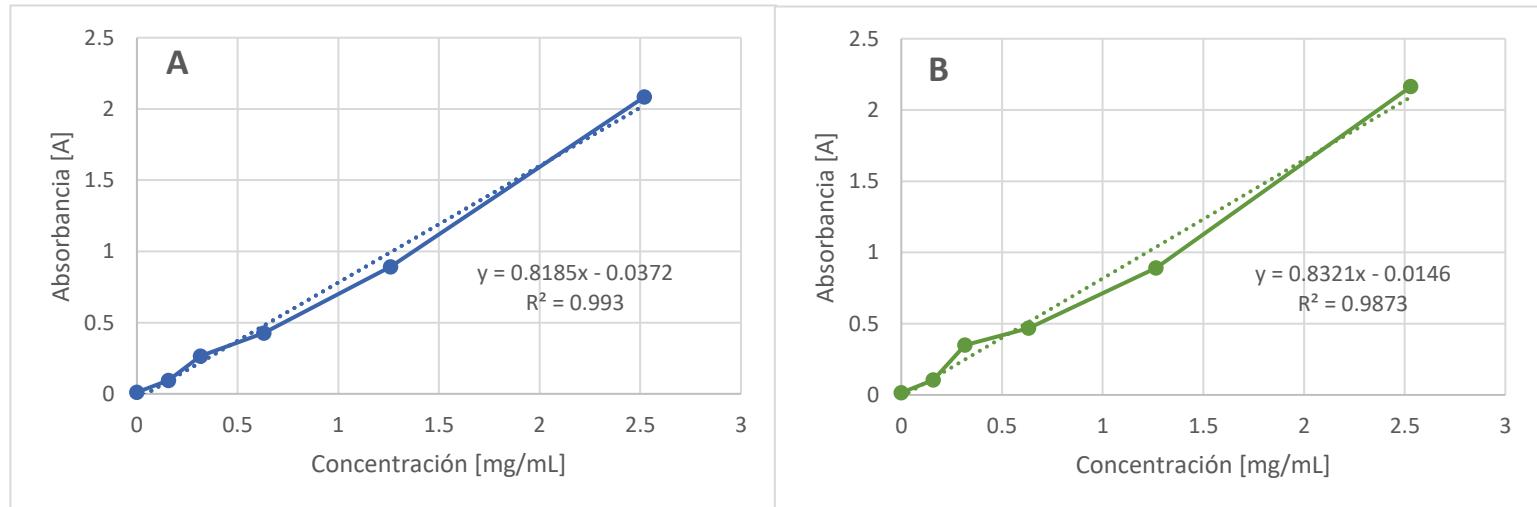


Gráfico 15. Curva de concentración de los extractos en: A) EtOH/H₂O y B) acetona.

+A partir de las curvas se determinó la ecuación de la recta para cada caso, lo que permitió calcular las concentraciones de las muestras analizadas, cuyos valores se muestran en la tabla A (ver anexos). El despeje de cada ecuación lineal se realizó conforme a la siguiente expresión:

Ecuación 6

$$y = 0.8185x - 0.0372$$

$$\frac{y + 0.0372}{0.8185} = x$$

Ecuación 7

$$y = 0.8321x - 0.0146$$

$$\frac{y + 0.0146}{0.8321} = x$$

Una vez determinadas las concentraciones de cada muestra, procedemos a graficarlas con respecto al tiempo (grafico 16). Por practicidad, el perfil de liberación se evaluó únicamente para las nanopartículas con el extracto de la mezcla EtOH/H₂O, realizando todas las mediciones por triplicado con el fin de garantizar la reproducibilidad y confiabilidad de los resultados. Con base en los espectros de absorbancia de los extractos se seleccionaron dos longitudes de onda, correspondientes a aquellas en las que se registraron señales de absorbancia más significativas.

Al examinar los resultados, se observa que el perfil de liberación de las nanopartículas a 250 nm sigue una cinética de primer orden, lo que indica un incremento progresivo en la concentración del extracto liberado conforme avanza el tiempo, probablemente debido a la difusión controlada de los metabolitos desde la matriz polimérica. De igual manera, las QNPs evaluadas a 205 nm muestran un comportamiento exponencial de primer orden, caracterizado por una liberación constante del compuesto a lo largo del tiempo, por lo que la difusión será controlada y sostenida.

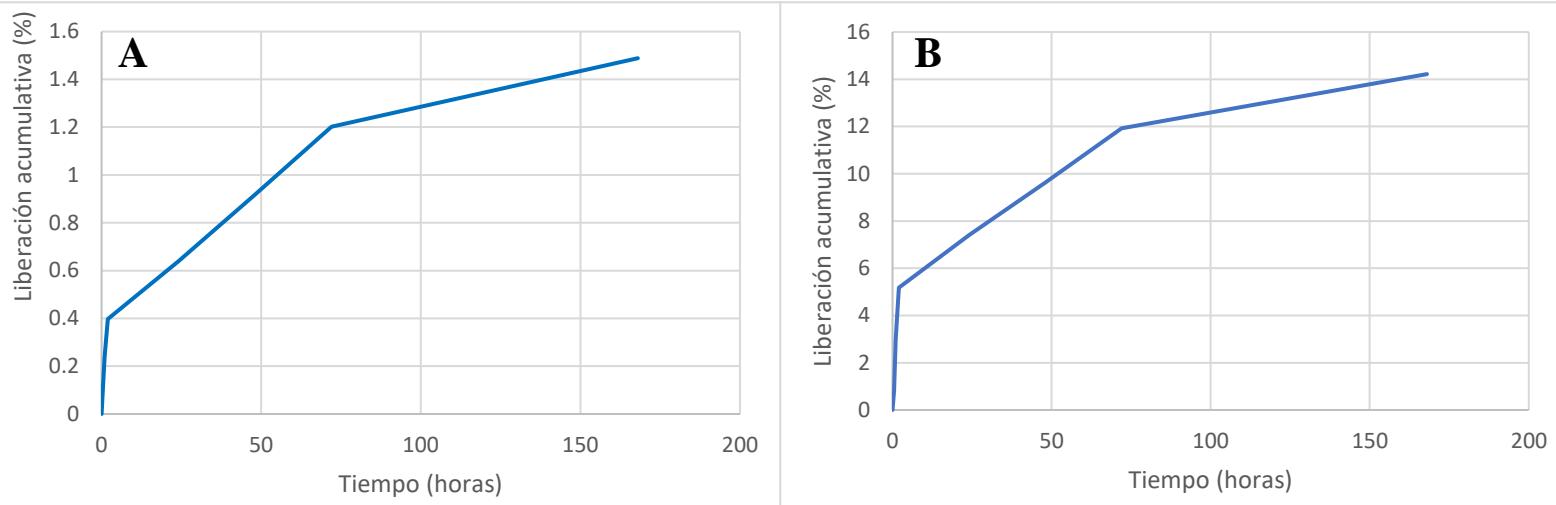


Gráfico 16. Liberación de QNPsEt a: A) 250nm y B) 205 nm.

Este comportamiento ha sido reportado en sistemas similares de nanopartículas poliméricas, en donde la interacción de la matriz con los compuestos fenólicos tiene efectos sobre la velocidad de liberación como la estabilidad de los principios activos o una liberación más prolongada [40]. Esto también podría deberse a la variedad de compuestos bioactivos presentes en los extractos los cuales presentarían diferentes actividades entre sí.

Analizando la fracción liberada de las QNPsEt mediante el modelo Korsmever-Peppas, se considera como liberación máxima el valor experimental alcanzado a 180 h. En ambos sistemas (250 y 205 nm) se observó una liberación gradual, sin presencia de liberación inicial abrupta. La liberación acumulada fue significativamente mayor para el sistema monitoreado a 205 nm, alcanzando aproximadamente el 14 %, mientras que a 250 nm se obtuvo una liberación cercana al 1.5 %. De acuerdo con el modelo, el comportamiento observado sugiere un mecanismo de transporte anómalo, en el cual la liberación está controlada tanto por difusión como por la relajación de la matriz polimérica del hidrogel [40].

X.III. Hidrogel cargado

El estudio del perfil de los hidrogeles de alginato permitió evaluar la cinética de liberación del extracto natural incorporado. Para los hidrogeles se emplearon los que contenían nanopartículas cargadas con los extractos obtenidos en acetona y en etanol, los datos fueron analizados de igual forma a dos longitudes de onda, siendo estas las más representativas de los metabolitos presentes en los extractos (gráficos 17 y 18).

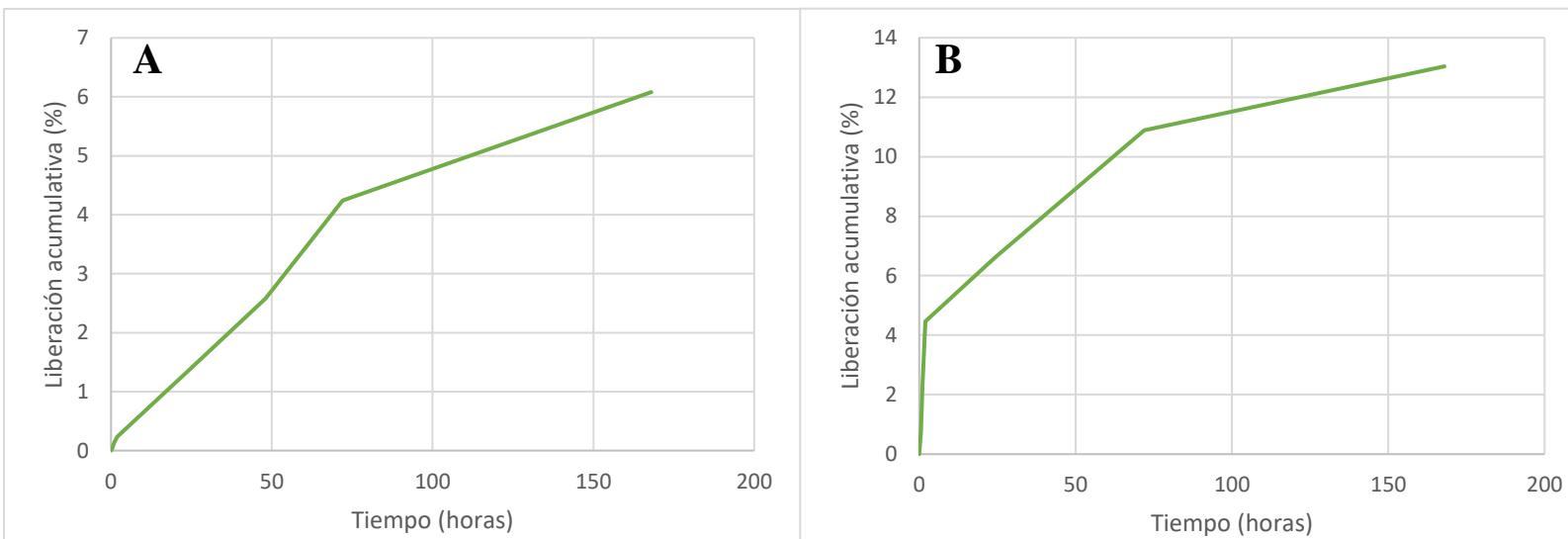


Gráfico 17. Liberación de Hidrogel con QNPsA a: A) 250nm y B) 205 nm.

Al analizar las curvas de liberación obtenidas, se observó que las muestras presentaron comportamientos distintos según la longitud de onda evaluada. En el caso de los hidrogeles con nanopartículas de acetona (gráfico 17), el perfil de liberación a 250 nm y a 205 nm se ajusta tanto a un modelo de cinética de primer orden, como exponencial.

Primeramente, en la longitud de onda de 250 nm, la cantidad de extracto liberado disminuye conforme transcurre el tiempo, lo que indica que el proceso está controlado por la concentración del compuesto activo que queda dentro de la matriz polimérica. Este comportamiento es característico de sistemas donde los metabolitos se encuentran encapsulados en una red porosa, desde donde difunden su contenido hacia el medio externo. [41].

Por otro lado, a 205 nm se observa una liberación sostenida del extracto a una velocidad prácticamente constante. En este tipo de cinética, la liberación depende únicamente del tiempo y no de la concentración del compuesto activo. Este tipo de comportamientos suele observarse en sistemas donde el compuesto activo se encuentra saturado dentro de la matriz, generando un gradiente de concentración estacionario a través de la misma y permitiendo una liberación controlada y uniforme [41].

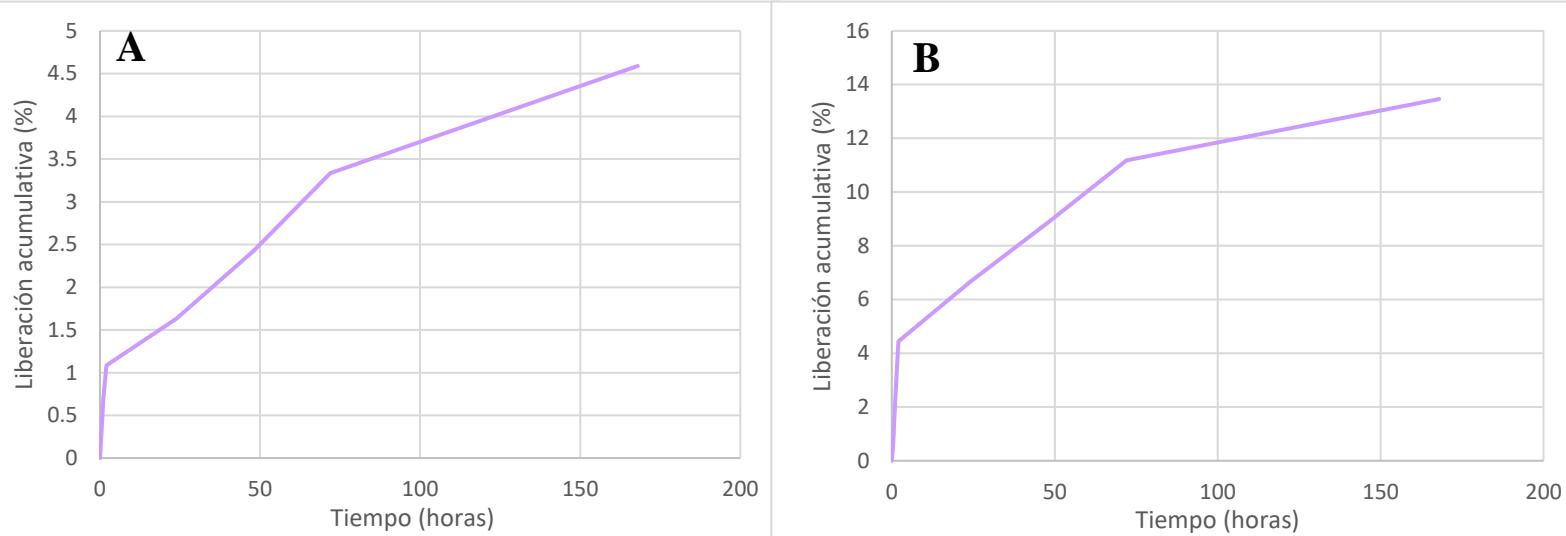


Gráfico 18. Liberación de Hidrogel con QNPsEt a: A) 250nm y B) 205 nm.

Los hidrogeles con nanopartículas de etanol (gráfico 18) presentaron un comportamiento similar, en donde una longitud de onda tiene comportamientos de primer orden y la otra de orden cero, esto es evidencia de una liberación sostenida del extracto eficaz y a velocidades constantes, además observamos que para estas muestras hubo una concentración menor de compuestos bioactivos a comparación de las muestras que contenían el extracto en acetona. Ambas gráficas de liberación (gráfica 17 y 18) se analizaron mediante el modelo Korsmeyer-Peppas [40], en donde para la liberación de las QNPsA se obtuvo un porcentaje de liberación del 13% para el sistema monitoreado a 205 nm, mientras que para las QNPsEt fue del 14%. Siendo esta la longitud de onda con mayor liberación acumulada. En todos los sistemas evaluados se observó una liberación gradual y sostenida, sin presencia de liberación inicial abrupta.

Ahora bien, en la caracterización por SEM del hidrogel se logra apreciar que existen diferencias claras entre el hidrogel de alginato con nanopartículas de quitosano (Figura 14) y el hidrogel cargado con las manos y los extractos (figura 15 y 16).

En todas las micrografías podemos observar que en ciertas zonas se generan agregados de nanopartículas lo cual podría ser un indicio de interacciones entre la matriz del hidrogel de alginato y las nanopartículas de quitosano.

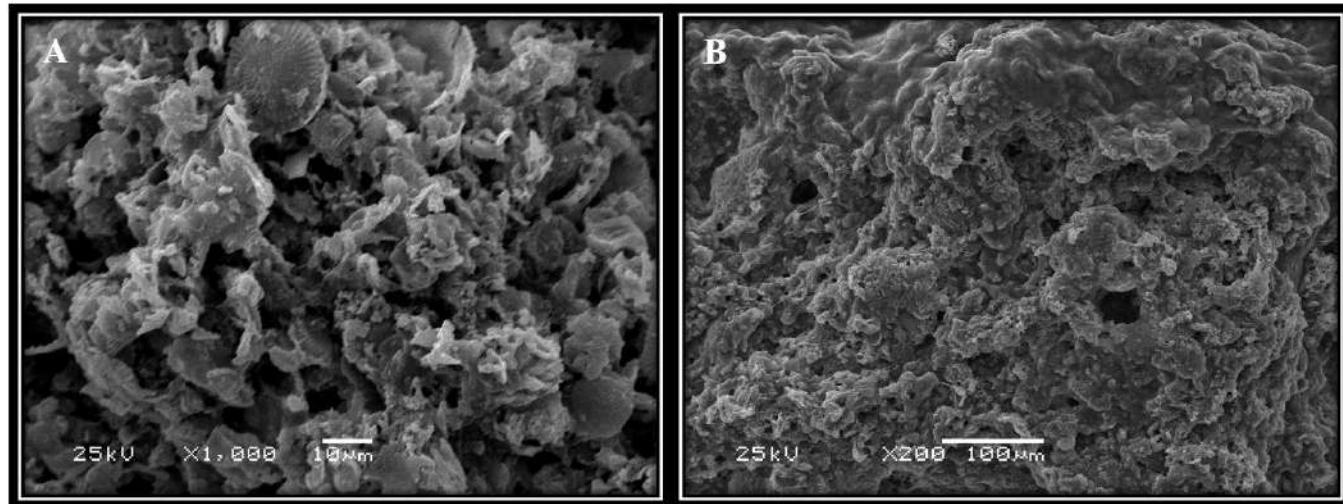


Figura 14. Micrografía obtenida por microscopía electrónica de barrido (SEM) del hidrogel con nanopartículas de quitosano en blanco: A) x1000 y B) x200.

De igual forma podemos notar zonas en donde no se observan nanopartículas, lo cual sugiere que la matriz del hidrogel podría incluir una mayor cantidad de nanopartículas de quitosano. Entonces, mientras que la formulación sin extracto muestra una red porosa y heterogénea, la presencia de metabolitos en las nanopartículas favorece una superficie compacta. Esta diferencia sugiere una mayor interacción entre el polímero y los compuestos bioactivos, lo cual podría mejorar tanto la estabilidad estructural del hidrogel como la eficiencia en la encapsulación y liberación controlada de los extractos naturales.

Dichas características convierten a este sistema en un vehículo prometedor para aplicaciones biomédicas y farmacéuticas, especialmente en la administración de metabolitos con actividad antioxidante.

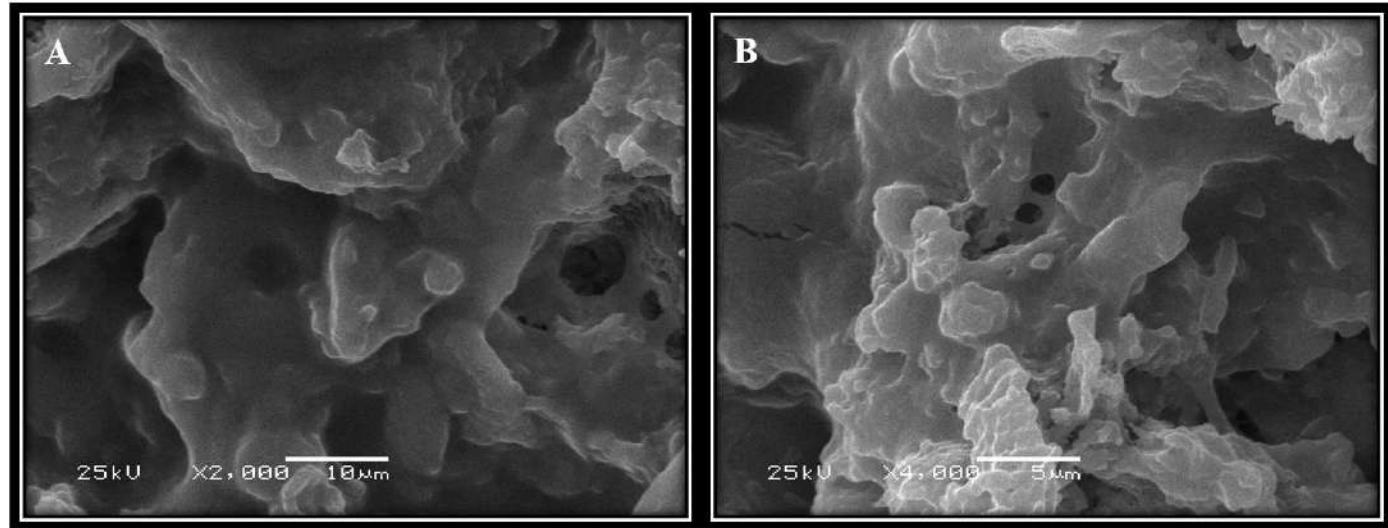


Figura 15. Micrografía obtenida por microscopía electrónica de barrido (SEM) del hidrogel con nanopartículas de quitosano cargadas con extracto obtenido de la mezcla EtOH/H₂O (75:25). A) x2000 y B) x4000.

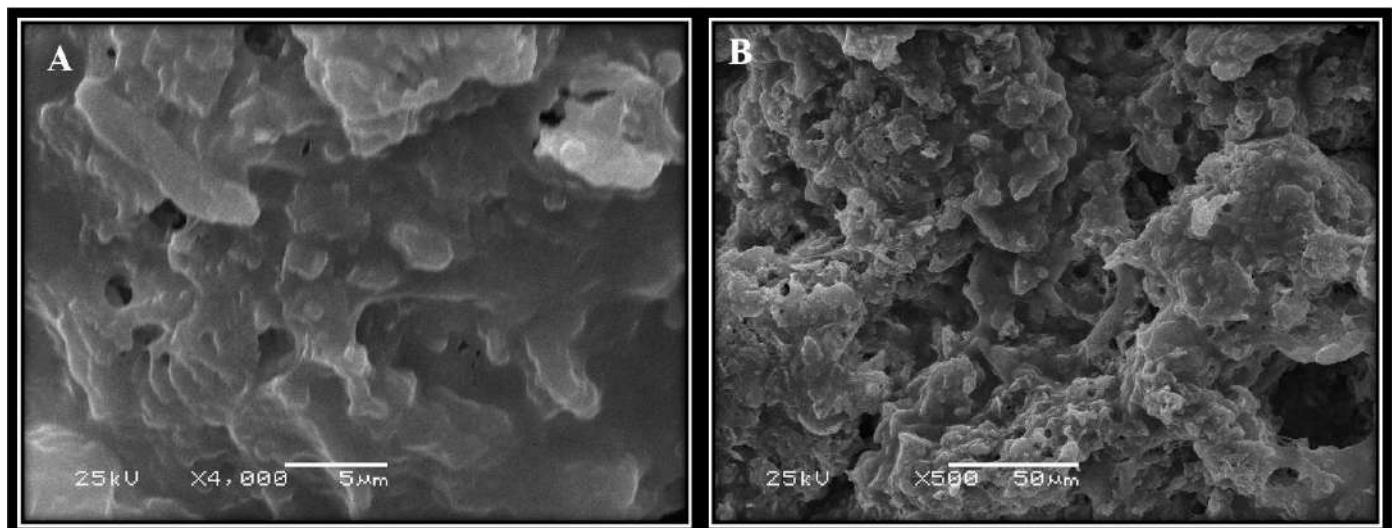


Figura 16. Micrografía obtenida por microscopía electrónica de barrido (SEM) del hidrogel con nanopartículas de quitosano cargadas con extracto en acetona: A) x4000 y B) 500.

XI. CONCLUSIONES

A lo largo de este trabajo, se logró la obtención, caracterización y evaluación de extractos naturales de *Tradescantia zebrina*, identificando su riqueza en compuestos fenólicos y metabolitos secundarios con notable reconocida actividad antioxidante. Al utilizar diferentes métodos de evaluación de capacidad y actividad antioxidante se comprobó que la capacidad antioxidante de los extractos obtenidos varía según el disolvente empleado y las fracciones obtenidas, lo cual resalta la importancia de la polaridad en la extracción para la obtención de los diferentes fitocompuestos de interés.

Posteriormente se logró desarrollar nanopartículas de quitosano mediante el método de gelación iónica, en donde se tuvo que estandarizar la síntesis para poder obtener tamaños y morfologías homogéneas, demostrando que los tamaños obtenidos de entre 100 a 300 nm resultan adecuados para la encapsulación de fitoquímicos. Esto se confirmó gracias a las pruebas de caracterización a las que fueron sometidas.

La incorporación de estas nanopartículas dentro de la matriz del hidrogel de alginato permitió generar sistemas híbridos con estructuras porosas, como se pudo observar en las micrografías SEM, donde se evidenció una mejor comparación entre hidrogeles cargados y sin cargar. Dichos resultados sugieren una adecuada interacción entre el polímero y los metabolitos encapsulados, lo que abre la posibilidad de un sistema de liberación controlada con aplicaciones en biomédica y/o farmacéutica.

En general, los hallazgos de esta investigación demuestran que la *T. zebrina* contiene propiedades de interés terapéutico, gracias a la buena concentración de compuestos bioactivos con potencial antioxidante. Además, gracias a su posterior encapsulación en nanopartículas y una matriz de hidrogeles constituye una estrategia eficaz para potencializar los efectos de la *Tradescantia*.

XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1]. Pan H, Fu X, Huang W. Molecular mechanism of liver cancer. *Anticancer Agents Med Chem.* 2011 Jul;11(6):493-9. doi: 10.2174/187152011796011073. PMID: 21554201.
- [2]. Cha C, Dematteo RP. Molecular mechanisms in hepatocellular carcinoma development. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2005 Feb;19(1):25-37. doi: 10.1016/j.bpg.2004.11.005.
- [3]. Alqahtani A, Khan Z, Alloghbi A, Said Ahmed TS, Ashraf M, Hammouda DM. Hepatocellular Carcinoma: Molecular Mechanisms and Targeted Therapies. *Medicina (Kaunas).* 2019 Aug 23;55(9):526. doi: 10.3390/medicina55090526.
- [4]. Butnariu, M., Quispe, C., Herrera-Bravo, J., Fernández-Ochoa, Á., Emamzadeh-Yazdi, S., Adetunji, C. O., Memudu, A. E., Otlewska, A., Bogdan, P., Antolak, H., Tamimi, K., Baghalpour, N., Bakhtiyari, J. M., Sen, S., Acharya, K., Segura-Carretero, A., de la Luz Cádiz-Gurrea, M., Lim, S. H. E., Pentea, M., ... Sharifi-Rad, J. (2022). A Review on *Tradescantia*: Phytochemical Constituents, Biological Activities and Health-Promoting Effects. *Frontiers in Bioscience - Landmark*, 27(6). <https://doi.org/10.31083/j.fbl2706197>
- [5]. Brauner A, Pickart M, Leist B, Moehring D, Walsh C, Langsford S, et al. (2012). Effect of Aqueous and Methanol Extracts of *Tradescantia zebrina* and *fluminensis* on Human Cells. MINDS@UW.
- [6]. Ditty MJ, Ezhilarasan D. β -sitosterol induces reactive oxygen species-mediated apoptosis in human hepatocellular carcinoma cell line. *Avicenna J Phytomed.* 2021 Nov-Dec;11(6):541-550. doi: 10.22038/AJP.2021.17746.
- [7]. Ramos-Arcos, S. A., López-Martínez, S., Velázquez-Martínez, J. R., Gómez-Aguirre, Y. A., Cabañas-García, E., Morales-Bautista, C. M., & Hernandez-Gallegos, M. A. (2023). Phytochemicals and bioactivities of *tradescantia zebrina* bosse: a southern mexican species with medicinal properties. *Journal of Food and Nutrition Research*, 11(9), 564-572.

- [8]. Ahmad, M. Z., Rizwanullah, Md., Ahmad, J., Alasmary, M. Y., Akhter, Md. H., Abdel-Wahab, B. A., ... Haque, A. (2021). Progress in nanomedicine-based drug delivery in designing of chitosan nanoparticles for cancer therapy. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 71(8), 602–623. <https://doi.org/10.1080/00914037.2020.1869737>
- [9]. Almada, M., Luna, M., Gastelum Cabrera, M., Beltrán, O., Martínez Flores, P. D., García Mar, J. A., Topete, A., López Mata, M. A., Reyes Márquez, V., Burboa, M. G., Valdés, M. A., & Juárez-Onofre, J. E. (2023). Nanopartículas basadas en quitosano con potenciales aplicaciones en biomedicina. *Tecnociencia Chihuahua*, 17(4), e1293. <https://doi.org/10.54167/tch.v17i4.1293>
- [10]. Calvo, P., Remuñan-López, L., Vila-Jato, J. (2010). Chitosan, and Chitosan/Ethylene oxide-propylene oxide block copolymer nanoparticles as novel carriers for proteins and vaccines. *Pharmaceutical Research*
- [11]. Loutfy, Samah A; Alam El-Din, Hanaa M; Elberry, Mostafa H; Allam, Nanis G; Hasanin, M T M; Abdellah, Ahmed M. (2016). Synthesis, characterization and cytotoxic evaluation of chitosan nanoparticles: in vitro liver cancer model. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 7(3), 035008–. doi:10.1088/2043-6262/7/3/035008
- [12]. Usov, A.I.. (2013). Functional Ingredients from Algae for Foods and Nutraceuticals || Chemical structures of algal polysaccharides. , (), 23–86. doi:10.1533/9780857098689.1.23
- [13]. Cisneros-Garza, L. E., González-Huezo, M. S., Moctezuma-Velázquez, C., Ladrón de Guevara-Cetina, L. (2022). Consenso Mexicano de Carcinoma Hepatocelular. Parte I: Epidemiología y diagnóstico. *Revista de Gastroenterología de México*. <https://doi.org/10.1016/j.rgmx.2021.10.002>

- [14]. Cheng M, Zhu W, Li Q, Dai D, Hou Y. Anti-cancer efficacy of biotinylated chitosan nanoparticles in liver cancer. *Oncotarget.* 2017 Jul 10;8(35):59068-59085. doi: 10.18632/oncotarget.19146.
- [15]. Tan JBL, Yap WJ, Tan SY, Lim YY, Lee SM. Antioxidant Content, Antioxidant Activity, and Antibacterial Activity of Five Plants from the Commelinaceae Family. *Antioxidants.* 2016; 3:758–769.
- [16]. Alaba CSM, Chichioco-Hernandez CL. 15-Lipoxygenase inhibition of *Commelina benghalensis*, *Tradescantia fluminensis*, *Tradescantia zebrina*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine.* 2014; 4: 184–188.
- [17]. Dash GK, Swe M, Mathews A. *Tradescantia zebrina*: A promising medicinal plant. *Indo American Journal Pharmaceutical Sciences.* 2017.
- [18]. Xiaoqi F, Xingjie L. Study on antineoplastic components of *Zebrina pendula* Schniz. *Chinese Traditional Patent Medicine* 1992; 02.
- [19]. Bin Sayeed, Muhammad Shahdaat; Ameen, Syeda Sadia. (2015). Beta-Sitosterol: A Promising but Orphan Nutraceutical to Fight Against Cancer. *Nutrition and Cancer*, (), 1–7. doi:10.1080/01635581.2015.1087042
- [20]. Carmona, E. R., Plaza, T., Recio-Sánchez, G., & Parodi, J. (2018). Generación de un protocolo para la síntesis de nanopartículas de quitosano cargadas con florfenicol a través del método de gelación iónica. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 29(4), 1195–1202. <https://doi.org/10.15381/rivep.v29i4.15203>.
- [21]. Goycoolea, F., Remuñán-López, C., & Alonso, M. (2009). Nanopartículas a base de polisacáridos: quitosano. Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia.

[22]. Vyas, Ruchi. (2016). Nanobiomaterials in Cancer Therapy || Chitosan nanoparticles for efficient and targeted delivery of anticancer drugs. 281–306. doi:10.1016/B978-0-323-42863-7.00009-8

[23]. Brannon-Peppas L, Blanchette JO. Nanoparticle and targeted systems for cancer therapy. *Adv Drug Deliv Rev.* 2004 Sep 22;56(11):1649-59. doi: 10.1016/j.addr.2004.02.014.

[24]. Lorenzo Anota, H. Y. (2018). Análisis del mecanismo de muerte celular inducido por nanopartículas de oro recubiertas con quitosano en células K562 y CEM: implicación de las especies reactivas de oxígeno (Disertación Doctoral, Universidad Autónoma de Nuevo León).

[25]. Obreque, Natalia, et al. (2020). Desarrollo de Nuevos Hidrogeles Para Aplicaciones Biomédicas Tesis Doctoral UDC.

[26]. Desarrollo de nano y micropartículas basadas en hidrogeles: evaluación somo sistemas de transporte/liberación controlada de fármacos. Trabajo Fin de Máster. (n.d.). Recuperado el 3 de mayo 2024, de:

https://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/handle/10651/64241/TFM_CarmenFernandezAlvarez.pdf?sequence=4

[27]. Hurtado, Alejandro, et al. “El Alginato Y Sus Inmensas Aplicaciones Industriales.” Nereis. Interdisciplinary Ibero-American Journal of Methods, Modelling and Simulation., no. 12, 26 June 2020, pp. 137–149, https://doi.org/10.46583/nereis_2020.12.573.

[28]. Vásquez, M. R. S. (2015). Estudio Fitoquímico y cuantificación de flavonoides totales de las hojas de *Piper peltatum* L. y *Piper aduncum* L. procedente de la región Amazonas. UCV-SCIENTIA, 7(2), 135-140.

- [29]. Bushra Naseem; S.W.H. Shah; Aurangzeb Hasan; S. Sakhawat Shah. (2010). Interaction of flavonoids, the naturally occurring antioxidants with different media: A UV-visible spectroscopic study. , 75(4), 1341–1346. doi:10.1016/j.saa.2009.12.083
- [30]. Machado, V.A., Santisteban, A.R.N., Martins, C.M. et al. Effects of phytosterol supplementation on lipoprotein subfractions and LDL particle quality. Sci Rep 14, 11108 (2024). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-61897-4>
- [31]. Chunduri, J. A. Y. A. P. R. A. D. A. (2016). Ftir Phytochemical Fingerprinting and Antioxidant Analyses of Selected Indoor Non-Flowering Indoor Plants and Their Industrial Importance. International Journal of Current Pharmaceutical Research. <https://doi.org/10.22159/IJCPR.2016V8I4.15275>
- [32]. Moehring DM. The Anti-Proliferative Properties of *Tradescantia zebrina*. The FASEB Journal. 2013; 27.
- [33]. Konstantin I. Hadjiivanov, Dimitar A. Panayotov, Mihail Y. Mihaylov. (2021). Power of Infrared and Raman Spectroscopies to Characterize Metal-Organic Frameworks and Investigate Their Interaction with Guest Molecules. Chem. Rev. 2021, 121, 3, 1286–1424
- [34]. Vuolo, M. M., Lima, V. S., & Junior, M. R. M. (2019). Phenolic compounds: Structure, classification, and antioxidant power. In Bioactive compounds (pp. 33-50). Woodhead Publishing.
- [35]. Vuolo, Milena Morandi (2019). Bioactive Compounds || Phenolic Compounds. , (), 33–50. doi:10.1016/B978-0-12-814774-0.00002-5
- [36]. Barbosa-Pereira L, Pocheville A, Angulo I, Paseiro-Losada P, Cruz JM. (2013). Fractionation and purification of bioactive compounds obtained from a brewery waste stream. Biomed Res Int. 2013;2013:408491. doi: 10.1155/2013/408491.

[37]. Vyas, Ruchi (2016). Nanobiomaterials in Cancer Therapy. Chitosan nanoparticles for efficient and targeted delivery of anticancer drugs. , (), 281–306. doi:10.1016/B978-0-323-42863-7.00009-8

[38]. Quiñones, Javier Pérez; Peniche, Hazel; Peniche, Carlos (2018). Chitosan Based Self-Assembled Nanoparticles in Drug Delivery. Polymers, 10(3), 235–. doi:10.3390/polym10030235

[39]. Gaetano, V., Gagliardi, A., Giuliano, E., Longo, E., & Cosco, D. (2025). Chitosan nanoparticles loaded with polyphenols for cosmeceutical applications: A state-of-the-art review. *Pharmaceutics, 17*(8), 1068. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics17081068>

[40]. Lamarra, Javier Andrés. (2019). “Matrices Biodegradables Como Soportes de Micro Y Nanopartículas Activas Para Su Aplicación Como Sistemas de Liberación Controlada.” Unlp.edu.ar. <https://doi.org/10.35537/10915/75093>

[41]. Jane Doe. (2015). Strategies to Modify the Drug Release from Pharmaceutical Systems || Mathematical models of drug release. , (), 63–86. doi:10.1016/B978-0-08-100092-2.00005-9

XIII. ANEXOS

ANEXO 1

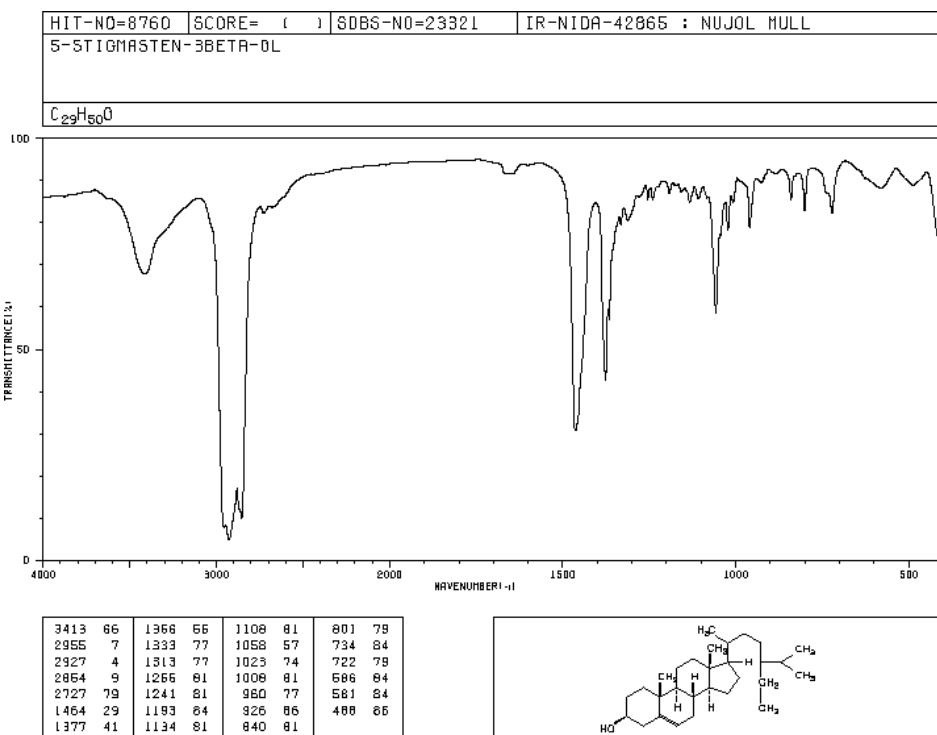
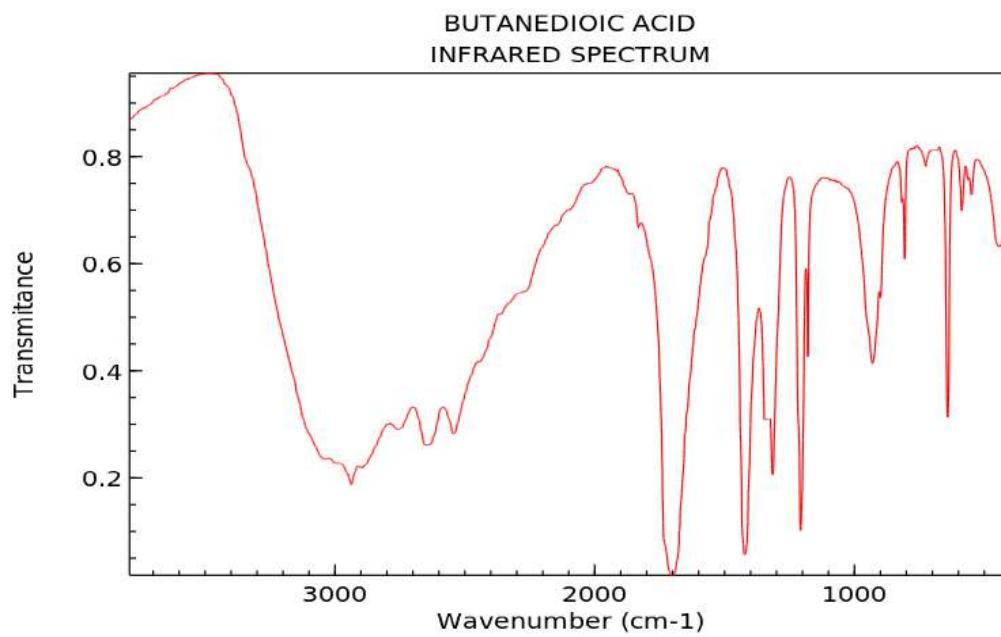


Figura A. Espectro IR del beta-sitoesterol. Obtenido del NIST Chemistry WebBook.



NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

Figura B. Espectro IR del ácido succínico. Obtenido del NIST Chemistry WebBook.

Tabla A. Tabla de concentraciones para los perfiles de liberación.

Muestra	Longitud de onda 250 nm		Longitud de onda 205 nm	
	Tiempo (horas)	Concentración (m/v)	Tiempo (horas)	Concentración (m/v)
HQNPsA	1	0.0650	1	0.8717
	2	0.0916	2	1.8518
	3	0.1201	3	2.4809
	24	1.2997	24	2.4844
	48	1.4275	48	2.5035
	72	1.9434	72	2.5058
	168	2.1459	168	2.5130
HQPNsE	1	0.3704	1	0.7903
	2	0.4136	2	1.8341
	3	0.4820	3	2.5592
	24	0.6433	24	2.5776
	48	0.9184	48	2.5889
	72	1.0631	72	2.6905
	168	1.4640	168	2.6665
QNPsE	1	0.1347	1	0.9387
	2	0.1455	2	2.5251
	3	0.1829	3	2.5702
	24	0.2812	24	2.6006
	48	0.3252	48	2.5893
	72	0.3321	72	2.6836
	168	0.3350	168	2.6800



CONSTANCIAS



UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA
DE QUERÉTARO



FACULTAD
DE INGENIERÍA



PIPEI
POSGRADO



Se otorga la presente

CONSTANCIA a:

Elvira Valencia Gil

Por su participación en el

XVIII Coloquio de Posgrado de la Facultad de Ingeniería
de la Universidad Autónoma de Querétaro en el taller "Inteligencia Artificial"

***"La tecnología solo avanza cuando
se nutre del conocimiento científico"***

Noviembre de 2024
Facultad de Ingeniería

Dr. José Manuel Álvarez Alvarado

Responsable del Taller

Facultad de Ingeniería



LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
A TRAVÉS DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA

otorgan la presente

CONSTANCIA

ELVIRA VALENCIA GIL

Por su destacada participación en el

FOMENTO A LAS VOCACIONES EN EL PROGRAMA
"CHAVAS EN LA CIENCIA"

Campus Querétaro

Mayo de 2025
Campus Aeropuerto

Dra. María de la Luz Pérez Rea
DIRECTORA
FACULTAD DE INGENIERÍA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE INGENIERÍA



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
El Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada
Otorga la presente

CFATA

CONSTANCIA

a: **Maria Elvira Valencia Gil**

por su valiosa participación con su presentación oral en el

CONIN VI CFATA 2025 -Ciencia, luz y materiales para un mejor futuro

que se realizó los días 29, 30 y 31 de enero de 2025 en el campus UNAM Juriquilla

Querétaro, Qro.

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 25 febrero 2025



Dr. José Luis Aragón Vera
Director del
CFATA

Dr. Remy Fernand Ávila Foucat
Coordinador del
Posgrado del CFATA



EL CAPÍTULO ESTUDIANTIL SMMATER
QUERÉTARO-NORTE



CAPÍTULO ESTUDIANTIL
SMMATER
QUERÉTARO-NORTE

Otorga la presente:

Constancia a:

**Elvira Valencia Gil, María Guadalupe Ferreira
García y Miriam Rocío Estévez González**

Por su destacada participación en la modalidad *Cartel/Presencial*, dentro del "Cuarto Congreso Estatal de
Materiales" en modalidad híbrida, en el Centro Académico Cultural UNAM, Campus Juriquilla, Qro.

Santiago de Querétaro, Querétaro, México; 20 al 23 de mayo del 2025



M.C. IVÁN GARCÍA NIETO
Presidente del CE SMMater
Querétaro-Norte

Juan Carlos Mtz

DR. JUAN CARLOS
MARTÍNEZ OROZCO
Coordinador de Capítulos estudiantiles
Sociedad Mexicana de Materiales

