



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE MEDICINA

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN

COORDINACIÓN GENERAL DE POSGRADO

**"Evaluación de la citotoxicidad inducida por nanopartículas de plata
conjugadas al extracto acuoso de *Ipomoea stans* en células de
meduloblastoma"**

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRÍA EN MEDICINA MOLECULAR

QUE PRESENTA

BIOL. ROBERTO JIMÉNEZ ÁNGEL

DIRECTOR DE TESIS: Dr. JUAN JOSÉ ACEVEDO FERNÁNDEZ

CODIRECTOR DE TESIS: Dr. EDUARDO LIRA DÍAZ

Cuernavaca, Morelos, México a 06 de Mayo de 2026

Universidad Autónoma del Estado de Morelos
Facultad de Medicina
Laboratorio de electrofisiología y evaluación farmacológica

Comité tutorial

Tutor personal: Dr. Mario Cruz Muñoz

Vocal 1: Dra. Ma. Del Carmen Beltrán Núñez

Vocal 2: Dr. Alfredo Lagunas Martínez

Vocal 3: Dr. Francisco Figueroa Vallejo

Índice

Resumen	1
Abstract	2
1. Introducción.....	5
1.1. Meduloblastoma.....	5
1.2. Clasificación molecular de los grupos de Meduloblastoma	5
1.3. Tratamientos actuales para el meduloblastoma	7
1.4. Resistencia a la quimioterapia de antineoplásicos	8
1.5. Nanomedicina.....	9
1.5.1. Nanopartículas basadas en lípidos (liposomas)	10
1.5.2. Nanopartículas basadas en polímeros y micelas	11
1.5.3. Dendrimeros	11
1.5.4. Nanopartículas basadas en carbono.....	12
1.5.5. Nanopartículas magnéticas y metálicas.....	12
1.6. Síntesis verde de nanopartículas	13
1.6.1. Caracterización de nanopartículas	15
1.7. Uso potencial de las nanopartículas (NPs) metálicas en el tratamiento en cáncer....	17
1.8. El uso de extractos vegetales como agentes reductores para la formación de nanopartículas	18
1.9. La citotoxicidad de las NPs en la actividad cancerígena	19
1.10. La citotoxicidad de las AgNPs en la actividad anticancerígena	19
1.11. El extracto de <i>Ipomoea stans</i> como agente terapéutico.....	19
2. Planteamiento del problema.....	21
3. Justificación	22
4. Hipótesis.....	23
5. Objetivos.....	23
5.1. Objetivo general	23
5.2. Objetivos específicos	23
6. Materiales y métodos	24
6.1. Obtención del extracto acuoso de <i>I. stans</i>	27
6.2. Obtención de las AgNPs y su caracterización	28
6.2.1. Caracterización de las AgNPs por UV-vis, FTIR, DLS y EDS	28
6.3. Cultivo celular.....	30
6.3.1. Ensayo de viabilidad celular por MTT	31
6.4. Análisis estadístico	32

7. Resultados	33
7.1. Síntesis y caracterización de las nanopartículas por UV-Vis	33
7.1.1 Curva de AgNPs 1:5 por UV-vis.....	35
7.1.2 Curva de AgNPs 10:1 por UV-vis.....	37
7.2 Caracterización de las AgNPs y extracto por FTIR.....	38
7.2.1 Identificación del espectro FTIR para el extracto acuoso de <i>I. stans</i>	38
7.2.2 Identificación del espectro FTIR para AgNP- <i>I.stans</i> 1:5.....	39
7.2.3 Identificación del espectro FTIR para AgNP- <i>I.stans</i> 10:1	39
7.2.4 Comparación entre las dos soluciones de AgNPs y el extracto acuoso de <i>I. stans</i>	40
7.3 Determinación de elementos químicos presentes por espectroscopía dispersiva de rayos X (EDS)	41
7.3.1 Determinación de la composición química por EDS para el extracto acuoso de <i>I. stans</i>	42
7.3.2 Determinación de la composición química elemental por EDS para la solución AgNP- <i>I.stans</i> 1:5	42
7.3.3 Determinación de la composición química elemental por EDS para la solución AgNP- <i>I.stans</i> 10:1	43
7.4 Caracterización de las nanopartículas por DLS	43
7.4.1 Caracterización de AgNP- <i>I.stans</i> 1:5 por DLS.....	44
7.4.2 Caracterización de AgNP- <i>I.stans</i> 10:1 por DLS.....	44
7.5 Caracterización por microscopía electrónica de transmisión (TEM).....	45
7.6 Determinación de la IC₅₀ mediante ensayo MTT para el extracto acuoso de <i>I. stans</i> y las tres soluciones de nanopartículas, AgNP-<i>I.stans</i> 1:5 y 10.1.	46
8. Discusión.....	48
8.1 El extracto acuoso de <i>I. stans</i>	48
8.2 Espectrofotometría de luz UV-visible	50
8.3 Detección de los grupos funcionales acoplados a las AgNPs mediante FTIR	52
8.3 Identificación de composición elemental por EDS.....	55
8.4 Determinación del radio hidrodinámico por DLS.....	56
8.5 Análisis de NPs por potencial zeta	56
8.6 Determinación de la IC ₅₀ por ensayos MTT.....	58
9. Conclusión	60
10. Perspectivas	61
11. Bibliografía.....	62

Índice de figuras

Figura 1. Ubicación de los distintos grupos de MB en encéfalo.	6
Figura 2. Generación de nanopartículas por "síntesis verde".....	14
Figura 3. Obtención del extracto de <i>I. stans</i> , "síntesis verde" de AgNPs, conjugación de AgNPs- <i>I. stans</i> y su caracterización.	26
Figura 4. Ejemplar de <i>I. stans</i> (izquierda) y su raíz (derecha).	27
Figura 5. Obtención del extracto acuoso de <i>I. stans</i> . a) agitación con calor en placa b) filtración del extracto con papel filtro.	28
Figura 6. Cultivo celular y ensayo de citotoxicidad MTT.	30
Figura 7. Esquema de la "síntesis" de nanopartículas de plata (AgNPs)	33
Figura 8. Diferencia en el cambio de color de ambas soluciones de AgNP- <i>I. stans</i>	34
Figura 9. Análisis por UV-Vis para determinar las propiedades ópticas.....	35
Figura 10. Espectro UV-Vis para la solución 1:5 de AgNP- <i>I. stans</i> (1 a 24 hrs).	36
Figura 11. Espectro UV-Vis para la solución 10:1 de AgNP- <i>I. stans</i> (1 a 24 hrs).	37
Figura 12. Espectro infrarrojo del extracto acuoso de <i>I. stans</i> (negro), AgNPs 10:1 (verde) y AgNPs 1:5 (morado).	38
Figura 13. Espectro de energía dispersiva de rayos X para: A) el extracto acuoso de <i>I. stans</i> , B) AgNP- <i>I. stans</i> 1:5 y C) AgNP- <i>I. stans</i> 10:1.....	41
Figura 14. Gráfica de distribución de AgNPs 10:1 (verde) y 1:5 (morado).	43
Figura 15. Micrografía de AgNP- <i>I. stans</i> 1:5 por TEM.....	45
Figura 16. Micrografía de AgNP- <i>I. stans</i> 10:1 por TEM.....	45
Figura 17. Determinación de la IC ₅₀ , para Cif (control), extracto acuoso de <i>I. stans</i> , AgNP- <i>I. stans</i> 1:5 y AgNP- <i>I. stans</i> 10:1.	47

Índice de tablas

Tabla 1: Equipo y material utilizado para el cultivo celular, síntesis y la caracterización de NPs.....	24
Tabla 2: Materiales consumibles usados en el cultivo celular, síntesis y caracterización de NPs.....	25
Tabla 3: Reactivos usados en los ensayos MTT y cultivo celular	25
Tabla 4: Fotoquímicos encontrados en Colvolvulaceae	49

Resumen

El meduloblastoma (MB) es el tumor maligno del sistema nervioso central (SNC) más frecuente en la población pediátrica, representando aproximadamente una cuarta parte de todas las neoplasias intracraneales y cerca de la mitad de los tumores de la fosa posterior. A pesar de que la supervivencia a cinco años alcanza alrededor del 75%, las secuelas neurológicas y cognitivas a largo plazo, así como la resistencia a los tratamientos farmacológicos, continúan siendo desafíos importantes en su manejo clínico. Sin embargo, los tratamientos actuales (neurocirugía, radioterapia y quimioterapia) pueden presentar efectos adversos no deseados en pacientes pediátricos. En respuesta a estas limitaciones, la nanomedicina surge como un enfoque prometedor. Las nanopartículas (NPs), por sus propiedades físico-químicas únicas, permiten la liberación dirigida de fármacos y han demostrado actividad anticancerígena. Dentro de éstas, las nanopartículas de plata (AgNPs) tienen un destacado efecto proapoptótico y citotóxico. La síntesis verde, que emplea extractos vegetales como agentes reductores y estabilizantes, ha emergido como una alternativa ecológica y eficaz. En sentido con lo anterior, en el presente trabajo se generaron AgNPs conjugadas al extracto acuoso de *I. stans*, se caracterizaron mediante UV-vis para determinar la cinética de formación y se corroboró con una banda específica a los 450 nm correspondiente a las AgNPs. La morfología semiesférica se confirmó con microscopía electrónica de transmisión (TEM). Mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) se detectaron los grupos funcionales como OH, COOH, C=O, -O- y CN los cuales estas asociados a la reducción de los iones de plata. Asimismo, también se determinó el diámetro hidrodinámico que fue de 53.18 nm y 61.10 nm para las soluciones 1:5 y 10:1 respectivamente, un índice de polidispersión de 22.85 % y 26.40%, respectivamente, confirmando así que ambas soluciones son monodispersas. Los valores del potencial-Z fueron -19.53 mV y -16.25 mV, afirmando así que ambas soluciones son estables. Finalmente, se comprobó que el extracto acuoso presenta una citotoxicidad similar a la ciclofosfamida, pero ambas soluciones de AgNP de *I. stans* indujeron mayor citotoxicidad siendo la proporción 10:1 la más tóxica. Demostrando el posible potencial terapéutico de estas AgNPs.

Abstract

Medulloblastoma (MB) is the most common malignant tumor of the central nervous system (CNS) in the pediatric population, accounting for one quarter of all intracranial neoplasms and nearly half of posterior fossa tumors. Although the five-year survival rate reaches 75%, long-term neurological and cognitive sequelae, together with drug resistance, remain significant challenges in its management. Furthermore, current treatments (neurosurgery, radiotherapy, and chemotherapy) may cause undesirable adverse effects in pediatric patients. In response to these limitations, nanomedicine has emerged as a promising approach. Due to their unique physicochemical properties, nanoparticles enable targeted drug delivery and have demonstrated anticancer activity. Among them, silver nanoparticles (AgNPs) exhibit a remarkable proapoptotic and cytotoxic effect. Traditionally, nanoparticle synthesis has involved physical and chemical methods that can be costly and environmentally harmful. Green synthesis, which employs plant extracts as reducing and stabilizing agents, has emerged as an eco-friendly and efficient alternative. In this context, the present study generated AgNPs conjugated with the aqueous extract of *I. stans*, which were characterized by UV–Vis spectroscopy to determine formation kinetics, corroborated by a specific absorption band at 450 nm corresponding to AgNPs. A semi-spherical morphology was confirmed by TEM. FTIR analysis detected functional groups such as OH, COOH, C=O, –O–, and CN, which are associated with the reduction of silver ions. Additionally, the hydrodynamic diameter was determined to be 53.18 nm and 61.10 nm for the 1:5 and 10:1 solutions, respectively, with polydispersity indices of 22.85% and 26.40%, confirming that both solutions are monodisperse. The zeta potential values were –19.53 mV and –16.25 mV, indicating that both solutions are stable. Finally, it was demonstrated that the aqueous extract exhibits cytotoxicity similar to cyclophosphamide; however, both AgNP solutions of *I. stans* induced greater cytotoxicity, with the 10:1 ratio being the most toxic, thereby demonstrating the therapeutic potential of these AgNPs.

Abreviaturas

AgNO ₃ :	nitrate de plata
AgNPs:	nanopartículas de plata
DLS:	dispersión dinámica de la luz
DMEM:	Medio modificado <i>Dubelcco Eagle</i>
FTIR:	espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier
Gy:	Gray
MB:	meduloblastoma
MTT:	3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio bromuro
NPs:	nanopartículas
PBS:	buffer de fosfato de potasio
PEG:	polietilenglicol
SEM:	microscopía electrónica de barrido
SHH:	"Sonic Hedgehog", proteínas hedgehog
SNC:	sistema nervioso central
TEM:	microscopía electrónica de transmisión
UV-vis:	espectrofotometría ultravioleta-visible
WNT:	"Wingless-related integration site", proteínas con sitios de integración a Wingless
XRD:	difracción de rayos X de polvo

1. Introducción

1.1. Meduloblastoma

El meduloblastoma (MB) es el tumor maligno más común del sistema nervioso central en pacientes pediátricos (Ostrom et al., 2018). Representa aproximadamente una cuarta parte de todas las neoplasias intracraneales y cerca de la mitad de los tumores localizados en la fosa posterior. Este tipo de cáncer se presenta principalmente en pacientes con una media de edad de 9 años y un pico de incidencia entre los 3 y 7 años (Roberts et al., 1991), en casos raros, también puede presentarse en adultos. Un 75% de los pacientes con MB, han alcanzado 5 años de supervivencia; sin embargo, la morbilidad relacionada con el tratamiento a largo plazo sigue siendo un problema de gran importancia (King et al., 2018; Mulhern et al., 2005; Olivier et al., 2019).

Este tipo de cáncer fue descubierto en 1925, siendo considerado como un tipo de glioma inusual generándose principalmente en el cerebelo de niños (Bailey, 1925). El tumor embrionario primitivo se creía que derivaba de un tipo celular no diferenciado conocido como "meduloblasto", se pensó que surgía alrededor del revestimiento endodimario del cuarto ventrículo (Ferguson y Lesniak, 2005). En una clasificación moderna, el MB representa un tumor heterogéneo con múltiples subtipos, que comparte un fenotipo embrionario primitivo constituido por células tumorales malignas, las que son controladas por la expresión de antígeno neuronal. Sin embargo, el avance de la biología genómica ha permitido conocer más a fondo la clasificación, así como cambios significativos en el diagnóstico patológico. La clasificación molecular de los grupos se encuentra descrita a continuación.

1.2. Clasificación molecular de los grupos de Meduloblastoma

1.2.1. Meduloblastoma WNT

Son tumores activados por "*Wingless*" (WNT), por lo que se caracterizan por la expresión de genes de la ruta WNT; corresponden a un 10%-15% de los MBs diagnosticados (Taylor et al., 2012). Este subtipo se presenta principalmente en niños de mayor edad (entre 7 y 14 años), con una ligera predominancia en mujeres.

En adultos, la prevalencia de este subtipo es de aproximadamente 15% (Remke et al. 2011). Se generan cerca de la línea central, aunque también involucran el pedúnculo cerebeloso, tronco cerebral y sobresalen por el agujero de Luschka (figura 1) (Patay et al., 2015).

1.2.2. Meduloblastoma SHH

Este subtipo de tumores son activados por la ruta Sonic Hedgehog (SHH), y corresponden al 30% de los MBs diagnosticados. El MB SHH puede presentarse en pacientes mayores de 16 años, y también en adultos, en los que este subtipo es el predominante (Remke et al., 2011). Este subtipo puede generarse predominantemente en el hemisferio cerebeloso pero también en el vermis cerebeloso (figura 1).

1.2.3. Meduloblastoma no WNT/no SHH

Representan el subgrupo más grande de los MBs, y comprende a los tumores G3 y G4 en un 20% y 40% de todos los casos, respectivamente. Asimismo, se encuentra con más frecuencia en niños; los G3 aproximadamente en un 45% en población infantil y los G4 se encuentran presentes en niños de mayor edad, y los tumores no WNT/no SHH se encuentran con menos frecuencia en adultos (Remke et al., 2011). Pueden ubicarse en la línea central abarcando el cuarto ventrículo (tronco encefálico) (figura 1).

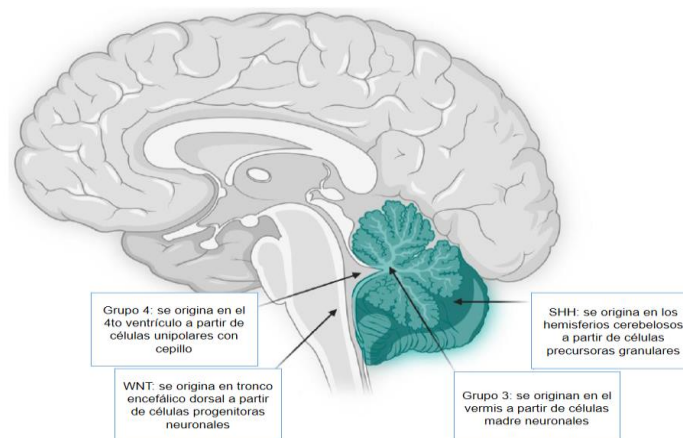


Figura 1. Ubicación de los distintos grupos de MB en encéfalo (Modificado de Ray et al. 2021). Esquema de la ubicación de cada subgrupo de MB de acuerdo a su clasificación molecular.

1.3. Tratamientos actuales para el meduloblastoma

1.3.1. Neurocirugía

La resección del tumor mejora el pronóstico y debe ser realizada por cirujanos con experiencia para obtener un resultado óptimo. En casos donde existe hidrocefalia, es necesario reducir la presión intracraneal mediante una tercera ventriculostomía antes de llevar a cabo la resección quirúrgica del tumor. Sin embargo, la neurocirugía puede verse complicada por hemorragia, meningitis, inestabilidad cervical y síndrome de la fosa posterior (dificultades para tragar, mutismo, ataxia troncal e inestabilidad emocional) (Albright et al., 1996).

Debido a que la cirugía por si sola como tratamiento se asocia con una alta incidencia de recurrencia (Hubbard et al., 1989; Ferrante et al., 1991), es preferible usar una terapia complementaria como la radioterapia postoperatoria en pacientes con enfermedad de riesgo promedio y de alto riesgo.

1.3.2. Radioterapia

De acuerdo a lo reportado en la literatura, la radioterapia debe comenzar a la quinta semana posoperatoria, ya que se ha demostrado que el retraso en la aplicación de la radioterapia está relacionado a un peor control local y pronóstico no favorable (Abacioglu et al., 2002). En este sentido, la relación dosis-respuesta ya ha sido establecida. Berry y cols (Berry et al., 1981) describieron que existe una supervivencia libre de enfermedad (SLE) del 77% a los 10 años cuando la radiación a la fosa posterior supera los 52 Gy. Por otro lado, Hubbard y cols (1989) describieron una tasa de control de la enfermedad del 91% a 5 años con dosis superiores a 54 Gy, en comparación con un 33% para dosis inferiores a 54 Gy.

Es importante mencionar que la radioterapia puede tener efectos secundarios, los cuales incluyen comprometer el desarrollo neurológico e intelectual (Packer et al., 1999). La dosis de radioterapia en pacientes de alto riesgo consiste en irradiación craneoespinal (36 Gy en 20 fracciones, con refuerzo a la fosa posterior de 19.8 Gy en 11 fracciones), los pacientes con diseminación metastásica espinal requieren de dosis más altas de irradiación espinal (39.6 Gy en 22 fracciones). Actualmente, el

tratamiento principal para pacientes mayores de 3 años y menores de 18 años consiste en radioterapia de dosis reducida (23.4 Gy en 13 fracciones), con un refuerzo a la fosa posterior de 32.4 Gy en 17 fracciones y administración concomitante de vincristina, seguida de quimioterapia adyuvante (lomustina, cisplatino, vincristina), hasta un máximo de 8 ciclos (Brandes et al., 2015). Sin embargo, para maximizar su eficacia se recomienda combinar con quimioterapia para sensibilizar las células y así volverlas más vulnerables a los efectos de la radioterapia.

1.3.3. Quimioterapia

La quimioterapia es parte del tratamiento en pacientes de alto riesgo. En pacientes pediátricos se han utilizado diferentes esquemas de manera experimental en ensayos clínicos, pero actualmente ninguno se considera estándar. En pacientes adultos, los antineoplásicos más utilizados son cisplatino, carboplatino, etopósido y ciclofosfamida (Bandes et al., 2012). También, los fármacos se pueden administrar de manera directa por inyección de los antineoplásicos hacia líquido cefalorraquídeo, esto puede causar toxicidad neurológica debido al procedimiento *per se* y a las propiedades fisicoquímicas del fármaco (Alba et al., 2011). No obstante, las células cancerosas pueden desarrollar mecanismos que les permiten sobrevivir a la quimioterapia, favoreciendo el desarrollo de la neoplasia maligna.

1.4. Resistencia a la quimioterapia de antineoplásicos

La resistencia a la quimioterapia es un mecanismo por la cual el medicamento resulta ineficaz para controlar el tumor. Existen tres categorías básicas de resistencia a la quimioterapia: cinética, bioquímica y farmacológica. La cinética celular representa un problema particular en muchos tumores, ya que las células se pueden encontrar en una fase de crecimiento en meseta, con una fracción de crecimiento pequeña. Las estrategias para superar la resistencia debido a la cinética celular incluyen: reducción del volumen tumoral mediante cirugía o radioterapia, el uso de combinaciones que incluyan fármacos que afecten a poblaciones en reposo (G0); y la programación de los fármacos para evitar el escape de fase o para

sincronizar las poblaciones celulares y aumentar la eliminación de células tumorales (Markman et al., 2012).

Por otra parte, la resistencia desde el punto de vista bioquímico solo se entiende parcialmente. Los mecanismos más comunes de este tipo de resistencia incluyen la incapacidad del tumor para convertir un fármaco en su forma activa, la inactivación del fármaco y la regularización al alza de los sistemas enzimáticos de reparación del tumor que pueden contrarrestar la acción del fármaco. Las células en esta categoría de resistencia, pueden disminuir la captación del fármaco, aumentar su expulsión, modificar los niveles de expresión o la estructura del objetivo intracelular, inactivación del fármaco o incrementar la tasa de reparación del ADN dañado (Markman et al., 2012).

Otro ejemplo es la resistencia multidroga, también llamada resistencia pleiotrópica a fármacos, donde el tratamiento con uno de los agentes confiere resistencia no solo a ese fármaco, sino también a otros. Este tipo de resistencia puede resultar de un tumor con poco suministro de sangre, absorción errática del fármaco, excreción incrementada del fármaco e interacción farmacológica. Otro ejemplo de resistencia farmacológica es el transporte deficiente de agentes hacia ciertos tejidos y células tumorales. Como es el caso de los tumores del sistema nervioso central como el meduloblastoma o aquellos que hacen metástasis, los cuales deben tratarse con fármacos que permitan una concentración antitumoral efectiva en el tejido cerebral y que además sean eficaces contra el tipo de célula tumoral diana. En este sentido, se han buscado nuevas estrategias que ofrezcan un diseño rápido, flexible, económico y accesible, utilizando tecnologías actuales como lo es la nanotecnología, la cual, ha ofrecido herramientas prometedoras como agentes terapéuticos (Markman et al., 2012). Es así, como la medicina y la nanotecnología colaboran para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas, dando lugar a la nanomedicina.

1.5. Nanomedicina

La palabra "nano" proviene del griego "nanos", que significa enano. El tamaño de

una nanopartícula (NP) es una millonésima parte de un metro (10^{-9} m), y los materiales con dimensiones nanométricas (1-100 nm) presentan una actividad relevante en comparación de su forma macroscópica (Perez et al., 2005). Las diferencias en propiedades estructurales y físicas de los átomos y moléculas de un elemento se deben a sus características fisicoquímicas y la relación superficie-volumen (Mody et al., 2010). Debido a sus propiedades optoelectrónicas y fisicoquímicas únicas, las nanopartículas (NPs) son de particular interés para una variedad de aplicaciones que incluyen sensores químicos, catalizadores, componentes electrónicos, productos farmacéuticos, diagnóstico por imagen (Choi et al., 2015; Coccia et al., 2012; Cavanagh et al., 2010) y actividad microbiana (Nam et al., 2015; Beyth et al., 2015) además de los fines mencionados anteriormente.

La investigación sobre nanomedicina en terapias contra el cáncer tiene como propósito mejorar la administración de fármacos, aumentar la eficacia del tratamiento, reducir los efectos secundarios y superar la resistencia a los medicamentos. A continuación, se describen las nanoestructuras más estudiadas en este contexto.

1.5.1. Nanopartículas basadas en lípidos (liposomas)

Son vesículas basadas en lípidos que tienen la habilidad de transportar fármacos en compartimiento acuoso o incrustadas en una bicapa lipídica. El transporte de esos liposomas a células cancerosas casi siempre depende del direccionamiento pasivo el cual se basa en la mejora del efecto de permeabilidad y retención mejoradas (EPR), para lo cual se necesita una vasculatura tumoral permeable (Perche et al., 2013). Por otra parte, existen algunos liposomas con adición de ligandos de direccionamiento como el anticuerpo monoclonal (mAb) 2C5 con doxorrubicina (Torchilin et al., 2010) y el mAb anti-HER2 con paclitaxel (Yang et al., 2007), los cuales aún están en fase preclínica. También, se ha reportado avance en el diseño de liposomas con la adición de polietilenglicol (PEG), lo que favorece el tiempo en circulación, así como otros que implementan estrategias de liberación controlada del fármaco una vez internalizado en la célula, como la liberación de fármacos en liposomas en condiciones de hipertemia, la cual ya está en ensayos de

fase III (Markman et al., 2012).

1.5.2. Nanopartículas basadas en polímeros y micelas

Las NPs poliméricas tienen la capacidad de unirse covalentemente o de encapsular moléculas terapéuticas. Se pueden utilizar polímeros sintéticos y/o naturales que sean biodegradables. El proceso de formación es espontáneo como en el caso de las micelas o mediante técnicas de emulsión como gotas de tamaño nanométrico. En el interior de la micela se presenta un núcleo hidrofóbico ideal para fármacos no polares que puedan ser liberados de manera controlada. En el caso de los polímeros solubles en agua, estos pueden unirse covalentemente para aumentar el tiempo en circulación y limitar la toxicidad en tejidos normales (Hu et al., 2012; Minko et al., 2005), algunos han sido mejorados mediante la adición de PEG para evitar la opsonización y aumentar el tiempo en circulación, el uso de ligandos de direccionamiento, así como de conjugados poliméricos sensibles al pH o hipodérmicos. Actualmente el poli D,L-lactida (PLA) y el poli D,L-lactida-co-cligolida (PLGA), son polímeros nanométricos biodegradables que se emplean en la síntesis de nanomedicinas aprobadas por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) aunque algunos aún están en ensayos clínicos (Markman et al., 2012).

1.5.3. Dendrímeros

Los dendrímeros son NPs globulares de polímeros ramificados que se caracterizan por tener un núcleo central, ramas de unidades repetidas y una capa exterior de grupos funcionales multivalentes. Estos grupos funcionales pueden interactuar electrostáticamente con moléculas polares cargadas, mientras que las cavidades internas hidrofóbicas pueden transportar moléculas no cargadas y no polares por diversas interacciones. Además, los grupos funcionales externos también permiten la liberación controlada del fármaco mediante modificaciones que únicamente se activan en determinado pH o en presencia de enzimas específicas, aunque también se pueden usar moléculas de direccionamiento como el péptido RGD o anticuerpos monoclonales. Los dendrímeros de copolímeros de poli (ácido glutámico)-b-poli(fenilalanina), también pueden autoensamblarse en micelas para transportar

fármacos en su núcleo. El transporte mediante la unión covalente con fármacos hidrofóbicos como doxorubicina y paclitaxel se emplean actualmente para el tratamiento de cáncer de mama, pulmón y cáncer pancreático avanzado (Hu et al., 2012; Mattheolabakis et al., 2012; Lim et al., 2012; Fabbro et al., 2012).

1.5.4. Nanopartículas basadas en carbono

Son conocidas también como nanotubos y tienen la capacidad de entrar en las células mediante una "penetración tipo aguja" y liberar las moléculas directamente en el citoplasma. Este tipo de NPs cuentan con una gran superficie que permite numerosos sitios de unión para posibles ligandos de direccionamiento, así como una cavidad que puede albergar agentes terapéuticos o de diagnóstico. Se ha descrito que presentan una conductividad eléctrica y térmica, lo que podría ser funcional en aplicaciones futuras de terapia contra el cáncer, como las ablaciones térmicas. Sus características como la longitud y el diámetro de estos nanotubos son factores cruciales para evitar el efecto inflamatorio, siendo más deseables los nanotubos más pequeños y gruesos tomando en cuenta también la biodegradabilidad. Algunos enfoques actuales relacionados con los nanotubos incluyen la incorporación de fármacos como doxorubicina y paclitaxel, ácidos nucleicos como oligonucleótidos antisentido y ARN interferente corto (siRNA) (Fabbro et al., 2012) y el uso de nanotubos como agentes de contraste de imágenes. Sin embargo, no se han iniciado ensayos clínicos con nanotubos de carbono para el tratamiento del cáncer, principalmente debido a su posible toxicidad y su similitud con las fibras de asbesto (Mattheolabakis et al., 2012).

1.5.5. Nanopartículas magnéticas y metálicas

Las NPs metálicas pueden utilizarse para transportar moléculas pequeñas, como proteínas, ADN o ARN. La carga terapéutica puede liberarse del conjugado gracias a sus propiedades foto-físicas. Los fármacos usados pueden unirse fácilmente mediante enlaces iónicos o covalentes, o a través de la adhesión, algunos se pueden unir a PEG en la superficie de las NPs metálicas para aumentar su estabilidad y tiempo de circulación, además de otros agentes de direccionamiento (Webster et al., 2013). Actualmente, se están llevando a cabo ensayos clínicos de

fase I que utiliza el factor de necrosis tumoral α (TNF α) unido a oro coloidal para tratar tumores sólidos avanzados como sarcomas y melanomas (Libutti et al., 2010). También existen las NPs superparamagnéticas de óxido de hierro (Fe₃O₄) que requieren del uso de hipertermia local o estrategias de oscilación para liberar los fármacos conjugados o campos magnéticos para guiar el fármaco hacia el área objetivo dentro del cuerpo. Actualmente su uso clínico no se comprende del todo, pero existe investigación para su uso en imágenes y teranóstica (diagnóstico y terapia) (Bhattacharyya et al., 2011).

Dentro del grupo de los metales, el oro, el platino y la plata se han utilizado en cosméticos y productos farmacéuticos, y NPs de selenio (Kheradmand et al., 2014), cobre (Ramya Devi et al., 2012), hierro y óxido de zinc (Sirelkhatim et al., 2015) también se han utilizado en aplicaciones antimicrobianas, cosméticos y tratamientos médicos.

Actualmente, la generación de NPs usando agentes biológicos está siendo más atractiva como alternativa a los métodos tradicionales de generación de NPs. Este proceso se conoce como síntesis verde, el cual se basa en la química verde, empleando bacterias, hongos, actinomicetos, levaduras y algas (Li et al., 2011; Mukherjee et al., 2001) y plantas (Mittal et al., 2013; Iravani, 2011). Esta última metodología ofrece un método ecológico, limpio, no tóxico y económico que permite producir NPs con diferentes formas, tamaños y morfologías (Mohanpuria et al., 2008). De esta manera, este procedimiento puede generar mejores tamaños y formas de NPs metálicas en comparación con algunos métodos fisicoquímicos utilizados en la producción (Raveendran et al., 2003). Es importante mencionar que la síntesis de NPs a partir de extractos vegetales tiene ventajas frente al uso de microorganismos, ya que no requiere múltiples procedimientos, como el aislamiento del organismo, la identificación, optimización del crecimiento, la preparación de cultivos y su mantenimiento.

1.6. Síntesis verde de nanopartículas

Tradicionalmente, las nanopartículas de plata (AgNPs) se han sintetizado mediante

métodos físicos y químicos, como son los enfoques de reducción electroquímica y fotoquímica/química. Sin embargo, muchos de estos métodos implican numerosos pasos, un consumo de energía considerable, una conversión limitada de material, procesos de purificación complejos y el uso de productos químicos peligrosos. El proceso de síntesis química también puede introducir especies químicas dañinas en la superficie de las NPs, lo que podría tener efectos adversos. Con el propósito de abordar estas limitaciones ha surgido un proceso novedoso para la síntesis de NPs, llamada "síntesis verde" considerada una alternativa sostenible, promoviendo el uso de materiales y procesos ecológicos. La síntesis verde de NPs se basa en el uso de extractos de especies vegetales (con potencial terapéutico) obtenidas a partir de raíces, frutas, hojas, cáscaras entre otras regiones de la planta.

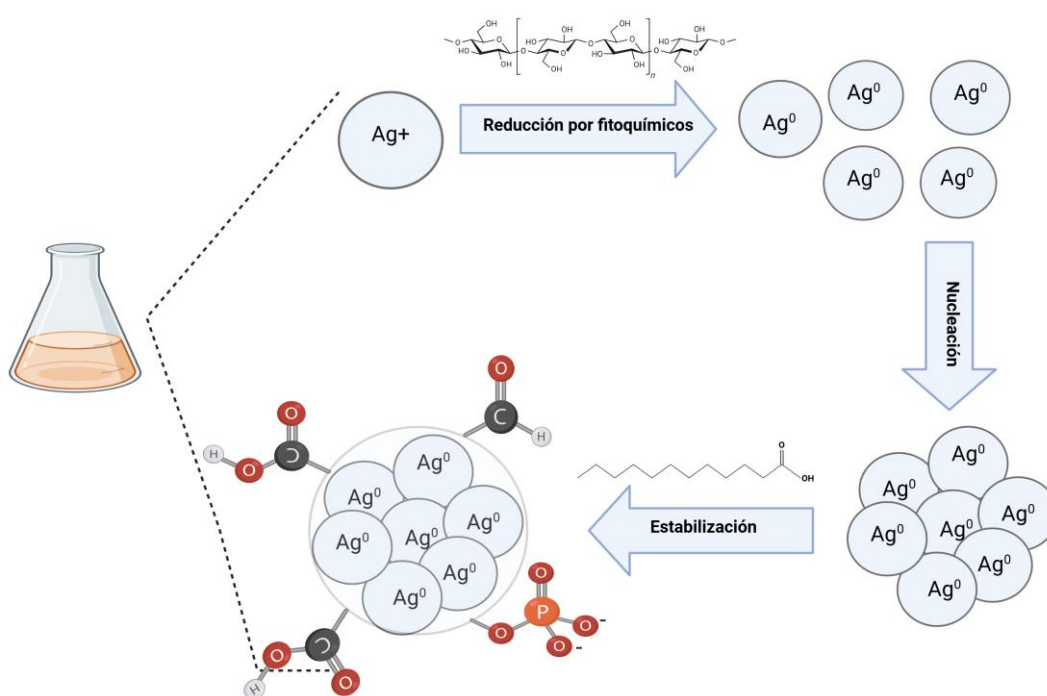


Figura 2. Generación de nanopartículas por "síntesis verde". Las nanopartículas se forman a partir de entidades más pequeñas, como la unión de átomos, moléculas y partículas más pequeñas. De esta manera, una vez ya aglomeradas las nanopartículas sintetizadas se recubren y estabilizan mediante la reducción de Ag^+ por compuestos fitoquímicos.

La generación de NPs por química verde requiere de tres elementos, un precursor para las NPs metálicas, un agente reductor y un agente capeante o estabilizador. Para el caso especial de las AgNPs usando química verde, se emplea el nitrato de plata (AgNO_3) como precursor metálico, y los fitoquímicos presentes en el extracto

vegetal como agentes reductores y estabilizadores. La variación de la composición y la concentración de los agentes reductores en los extractos vegetales es responsable de la síntesis de NPs con diferente tamaño, forma y morfología (Lee et al., 2016; Dhand et al., 2016). Los extractos vegetales contienen fitoquímicos (alcaloides, flavonoides, proteínas, polisacáridos, celulosa y compuestos fenólicos) y metabolitos secundarios, que se utilizan para la síntesis de NPs (Kuppusamy et al. 2015; Mata et al. 2016; Patil et al. 2012). Las moléculas presentes en el extracto permiten reducir a los átomos de plata permitiendo la formación de AgNPs (Akhtar et al., 2024).

La oxidación del grupo hidroxilo de los polisacáridos a grupo carboxilo esta probablemente involucrada en la reducción de los iones metálicos para producir NPs metálicas (Park et al., 2016). La activación inicial de los iones metálicos desde su estado de oxidación mono o divalente hasta el estado cero y la nucleación de los átomos metálicos reducidos (Malik et al., 2014). De esta manera, la nanopartícula se agrega para formar una variedad de formas, como esferas, cubos, varillas, hexagonales, triángulos, pentágonos y alambres (Akhtar et al., 2013; Naraginti et al., 2016). Aunado a esto, se ha reportado que, al cambiar parámetros de síntesis, incluyendo el pH, la temperatura, la concentración de la sal metálica, la concentración del extracto vegetal y el tiempo de reacción se han observado diferencias en tamaño y forma (Mittal et al., 2013; Shah et al., 2015; Ghaffari y Hadi, 2014).

1.6.1. Caracterización de nanopartículas

Actualmente existen diversas técnicas empleadas en la caracterización de NPs. Sin embargo, el cambio de color de la solución es la primera indicación cualitativa de la síntesis de NPs. El cambio de color característico de amarillo a marrón para las AgNPs (Poinern, 2014; Kuppusamy et al., 2015) y de amarillo a rojo intenso o purpura para las AuNPs (Lee et al., 2016; Malik et al., 2014) debido a la vibración del plasmón superficial. Dado que las NPs pueden diferir en tamaño y forma, estos son parámetros usados para su caracterización y sus aplicaciones. En este sentido, las técnicas generalmente usadas en la caracterización incluyen la

espectrofotometría ultravioleta-visible (UV-vis), dispersión dinámica de la luz (DLS), microscopía electrónica de barrido (SEM), microscopía electrónica de transmisión (TEM), espectroscopía de rayos X de dispersión de energía (EDX), difracción de rayos X de polvo (XRD), espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), microscopía de fuerza atómica (AFM), análisis del tamaño de partícula (PSA) y medición del potencial Zeta.

El espectrofotómetro UV-vis cubre el rango ultravioleta (190 a 380 nm) y el rango visible (380 a 800 nm); se emplea rutinariamente para comprobar la formación de NPs, específicamente para la caracterización de NPs de rango 2 a 100 nm, donde se usan longitudes de onda de luz comprendidas entre 300 y 800 nm (Poinerm, 2014). Dichas longitudes de onda características de absorción espectrofotométrica se encuentran entre 400-450 nm para las AgNPs (Kuppusamy et al., 2015; Banerjee et al., 2014) y entre 500-550 nm para las AuNPs (MubarakAli et al., 2011; Singh y Srivastava, 2015). La técnica de dispersión de la luz (DLS) se utiliza para cuantificar las cargas superficiales y la distribución de tamaños de las NPs suspendidas en un líquido (Tomaszewska et al., 2013; Patra et al., 2015).

Por otra parte, las técnicas basadas en microscopía (SEM, TEM y AFM) se aplican ampliamente para visualizar el tamaño y forma de las NPs sintetizadas. TEM se usa para conocer la distribución de tamaño y forma (Klekotko et al., 2015; Ahmed y Ikram, 2015), SEM se emplea para determinar la morfología de NPs (Kuppusamy et al., 2015; Dhamecha et al., 2010), mientras que la técnica de difracción de rayos X (XRD) se utiliza para identificar el patrón de difracción y la estructura cristalina de las NPs (Nakkala et al., 2016; Verma et al., 2016). Usando la reflexión de Bragg de las AgNPs mediante XRD se permite dilucidar su caracterización y los planos cristalográficos específicos para las AgNPs. De la misma manera, el análisis del tamaño de la partícula puede saberse mediante TEM y DLS (Tomaszewska et al., 2013; Patra et al., 2015; Hoshyar et al., 2016; Dubey et al., 2010). Otra técnica utilizada para la caracterización de NPs es la FTIR. FTIR se emplea para conocer los grupos funcionales del extracto vegetal involucrados en la reducción de las sales (nitrato de plata) hacia su forma nanocristalina (Pugazhendhi et al., 2016; Geetha et al., 2013; Philip y Unni, 2011). Finalmente, el análisis del potencial zeta proporciona

información sobre las cargas superficiales de las NPs, lo que afecta su estabilidad coloidal (Dubbey et al., 2010).

1.7. Uso potencial de las nanopartículas (NPs) metálicas en el tratamiento en cáncer

Las aplicaciones de las NPs, además del transporte de fármacos, incluyen la obtención de imágenes. Diversos estudios han atribuido la amplia aplicación de diversas NPs metálicas en las técnicas de imagen gracias a sus propiedades plasmónicas (Lindquist et al., 2012; Zhang et al., 2008). La aplicación de NPs supermagnéticas de óxido de hierro supera la baja sensibilidad de la resonancia magnética al aumentar el contraste de las imágenes magnéticas (Mcateer et al., 2012).

Otra aplicación de las NPs es la detección biológica (biosensing), ya que las NPs pueden también ser implementadas como sensores para moléculas químicas y biológicas (Peng et al., 2011). Por ejemplo, en presencia de metales pesados, toxinas de hongos, y microbios en agua, así como el valor nutrimental de los granos pueden ser detectados y estimados usando NPs (Selid et al., 2009; Koren et al., 2015). Las NPs metálicas poseen propiedades como la resonancia plasmónica superficial que permite a los electrones oscilar inducida por cierta longitud de onda. Esta oscilación es dependiente del tamaño de la partícula, forma, y constante dieléctrica (Kelly et al., 2003). La alteración en la oscilación y el color permite un reconocimiento visual de los cambios en el entorno.

El método mayormente utilizado y funcional para la potenciar los efectos de las NPs es la conjugación con extractos de plantas, ya que algunos metabolitos facilitan la reducción de iones de plata, cobre, oro y otros metales que favorecen el éxito de síntesis, además de ser de bajo costo. Se ha demostrado que estos métodos biológicos son menos tóxicos y, por lo tanto, más biocompatibles y amigables con el medioambiente ("síntesis verde"). Sin embargo, el potencial uso de extractos de plantas como constituyentes para la síntesis de NPs aún está en desarrollo, y el

descubrimiento de nuevas clases de agentes terapéuticos con su blanco tumoral debe representar una biocompatibilidad y eficacia alta (Blassam et al., 2018).

1.8. El uso de extractos vegetales como agentes reductores para la formación de nanopartículas

En la síntesis de AgNPs por reducción usando extractos vegetales, se ha reportado que el extracto acuoso de semillas de *Vigna radiata* redujo iones de plata a AgNPs a temperatura ambiente, obteniéndose partículas esféricas con tamaños que varían de 5 a 30 nm (Choudhary et al., 2016). Sudhakar y cols lograron sintetizar AgNPs de forma esférica con diferentes tamaños utilizando extracto de rizoma de *Acorus calamus* (Sudhakar et al., 2015).

Asimismo, se ha reportado que el extracto de hoja de *Anisomeles indica* redujo los iones de plata a AgNPs esféricas de 50 a 100 nm en 10 minutos a temperatura ambiente (Govindarajan et al., 2016), y que el extracto de hojas de *Azadirachta indica* se utilizó para la síntesis de AgNPs con un tamaño promedio de 34 nm a una forma esférica (Ahmed et al., 2016). Krithiga y cols (2015) emplearon extracto de hoja de *Clitoria ternatea* y *Solanum nigrum* para la síntesis de AgNPs registrando NPs esféricas de 20 y 28 nm, respectivamente. Además, se demostró que a medida que aumenta la temperatura de reacción también aumenta la velocidad de síntesis. Estudios sobre pH sugieren que la formación de NPs se suprime en condiciones ácidas y se favorece en condiciones básicas (Krithiga et al., 2015). En otro estudio donde usaron hoja de *Lantana camara* para síntesis de AgNPs se pudo obtener NPs homogéneas de 20 a 34 nm a temperatura ambiente en 10 minutos, de la misma manera reportaron que a medida que la concentración del extracto vegetal disminuye el tamaño de las AgNPs también (Ajitha et al., 2015). Aunado a esto, se reportó que se obtuvieron NPs esféricas de plata de 5-15 nm utilizando extracto de hoja de *Salvinia molesta* (Verma et al., 2016). El extracto de hoja de *Terminalia arjuna* se utilizó para la biorreducción económica de iones de plata sin necesidad de un catalizador ni control de temperatura (Ahmed y Ikram, 2015), en otro estudio se informó que un extracto de *Tinospora cordifolia* permitió la producción de AgNPs

de 30 nm (Selvam et al., 2016). En resumen, está ampliamente reportada la obtención de AgNPs a partir de diversas especies vegetales, así como de diferentes partes de la misma.

1.9. La citotoxicidad de las NPs en la actividad cancerígena

Pocos estudios se han realizado con la intención de dilucidar la actividad citotóxica de las NPs en células cancerosas, algunos de estos estudios se han llevado a cabo en células cancerosas de pulmón (A549) (Ahamed, 2011; Hsiao y Huang, 2011; Jagan et al., 2012; Lankoff et al., 2012; Lee et al., 2011; Valodkar et al., 2011). De la misma manera, en otro estudio realizado por Blassan y colaboradores (2018) demostraron que las NPs inducen una respuesta apoptótica en una línea celular de mama (MCF-7).

1.10. La citotoxicidad de las AgNPs en la actividad anticancerígena

Actualmente los pocos proyectos de investigación descritos donde se ha evaluado la citotoxicidad de AgNPs en células tumorales, muchos describen como resultado cambios en la actividad mitocondrial que favorecen la apoptosis celular (Anjum et al., 2021; Zhao et al., 2018; Jian et al., 2013; Mohammadinejad et al., 2017; De Mateis et al., 2018), asociado al estrés oxidativo (Ahamed et al., 2016; Seo et al., 2011); adicionalmente, la pérdida del potencial de membrana mitocondrial (Ahmad et al., 2018; Banik et al., 2018; Liu et al., 2021; Tian et al., 2020; Sharma et al., 2013) e incluso arresto del ciclo celular (Banik et al., 2018). Es importante mencionar que el uso de líneas celulares es de gran importancia para la evaluación de NPs en cáncer ya que son un modelo factible para estas condiciones.

1.11. El extracto de *Ipomoea stans* como agente terapéutico

Ipomoea stans pertenece a la familia Convolvulaceae, en la que se encuentran un gran número de especies ornamentales, medicinales y nutricionales en México. Una de las especies de gran importancia en México por su uso en la medicina tradicional es la especie *Ipomoea stans* Cav., conocida como “tumbavaqueros” debido a sus

efectos en el sistema nervioso central. Algunos estudios han demostrado que presenta un potencial efecto como agente anticonvulsionante, sedante, laxante, abortivo, hipotensor e incluso se ha explorado su uso en el tratamiento de trastornos renales (Argueta et al., 1994).

Asimismo, se han descrito las actividades de las resinas glicosiladas jalapina y convolvulina identificadas a partir de extractos alcohólicos líquidos, aunque también el extracto de *I. stans* puede encontrarse en forma de una resina cruda obtenida a partir de la raíz seca. Estas resinas glicosiladas han sido descritas como citotóxicas (Reynolds et al., 1995; León et al., 2004). León y colaboradores en 2016 demostraron que compuestos jalapinólicos indujeron citotoxicidad en líneas celulares de cáncer, específicamente el compuesto 1 (identificado así por los autores) mostró un efecto antiproliferativo en células de glioma C6 (CCL-107) y glioma de rata (RG2). No obstante, la información existente sobre la actividad citotóxica en células (*in vitro*) es muy escasa, y de acuerdo al Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI; por sus siglas en inglés) aun no existen registros de experimentación sobre algún tipo de meduloblastoma.

2. Planteamiento del problema

El meduloblastoma, considerado el tumor maligno de SNC más frecuente en la población pediátrica y a pesar de que las tasas de supervivencia global a cinco años alcanzan el 75%; la morbilidad a largo plazo relacionada con los tratamientos continúa siendo un desafío significativo, ya que las actuales opciones terapéuticas, como la cirugía, la radioterapia y la quimioterapia, presentan limitaciones debido a los efectos secundarios severos, las recurrencias tumorales y la resistencia farmacológica que caracteriza a las células tumorales del meduloblastoma. Esta resistencia incluye mecanismos de resistencia cinética, bioquímica y farmacológica, lo cual dificulta la efectividad de los fármacos antineoplásicos tradicionales. La búsqueda de estrategias alternativas y complementarias para superar estas limitaciones ha impulsado el desarrollo de nuevas aproximaciones terapéuticas, como la nanomedicina. Las NPs, por sus propiedades físico-químicas únicas y su capacidad para transportar fármacos de manera dirigida, se han posicionado como herramientas prometedoras en el tratamiento y diagnóstico del cáncer. De manera particular, la síntesis verde de NPs, utilizando extractos vegetales como agentes reductores y estabilizantes, ofrece un método ecológico, económico y eficiente para la producción de NPs con diversas formas, tamaños y propiedades. Se ha demostrado que los extractos vegetales de diversas especies, son capaces de generar AgNPs con actividad citotóxica y potencial terapéutico frente a células cancerígenas. A pesar de estos avances, la información sobre la citotoxicidad y la actividad anticancerígena de extractos vegetales específicos y las NPs generadas a partir de ellos en modelos de meduloblastoma sigue siendo limitada. El extracto de *Ipomoea stans* ha demostrado potencial citotóxico en líneas celulares de glioma, no existen estudios previos que evalúen su efecto sobre células de meduloblastoma. Por lo tanto, existe una necesidad urgente de investigar nuevas alternativas terapéuticas que integren estrategias de nanomedicina y extractos vegetales para superar la resistencia farmacológica y los efectos adversos de las terapias convencionales, con enfoque a mejorar la eficacia y seguridad en el tratamiento del meduloblastoma.

3. Justificación

El meduloblastoma es el tumor maligno del SNC más común en la población pediátrica y representa un desafío significativo en términos de diagnóstico, tratamiento y pronóstico. Aunque los avances en la cirugía, radioterapia y quimioterapia han incrementado las tasas de supervivencia, los efectos secundarios a largo plazo y la aparición de resistencia farmacológica continúan limitando la eficacia de las terapias actuales. Este escenario plantea la necesidad de explorar nuevas estrategias terapéuticas más eficaces, seguras y específicas para el tratamiento de este tipo de tumor. La nanomedicina surge como una alternativa prometedora para superar las limitaciones de las terapias convencionales. Las NPs, por sus propiedades físico-químicas y su capacidad de liberación dirigida de fármacos, ofrecen ventajas significativas en la mejora de la eficacia y la reducción de los efectos adversos. Particularmente, las AgNPs han demostrado efectos citotóxicos y proapoptóticos en diversos tipos de células cancerosas. Sin embargo, su obtención mediante métodos físico-químicos tradicionales conlleva el uso de reactivos tóxicos y procesos complejos. Por ello, la "síntesis verde" de NPs, mediante el uso de extractos vegetales como agentes reductores y estabilizantes, representa un enfoque sostenible y respetuoso con el medio ambiente. En este sentido, el estudio del extracto de *I. stans*, utilizada en la medicina tradicional mexicana con propiedades farmacológicas demostradas, podría ofrecer resultados innovadores. La evaluación de la citotoxicidad y el efecto proapoptótico de las AgNPs obtenidas a partir del extracto de *I. stans* sobre células de meduloblastoma contribuirá significativamente al conocimiento de terapias basadas en nanomedicina y compuestos vegetales. Además, aportará evidencia sobre la posibilidad de utilizar extractos vegetales para el desarrollo de tratamientos menos tóxicos y más eficaces, con el potencial de mejorar la calidad de vida de los pacientes con meduloblastoma. Por lo tanto, este estudio no solo responde a la necesidad de explorar alternativas terapéuticas frente a la resistencia farmacológica del meduloblastoma, sino que también contribuye al desarrollo de la nanotecnología sustentable y la medicina personalizada, fortaleciendo la intersección entre la biotecnología y la oncología.

4. Hipótesis

H0: Las AgNPs conjugadas al extracto acuoso de *I. stans* inducirán un efecto citotóxico en la línea celular de meduloblastoma.

H1: Las AgNPs conjugadas al extracto acuoso de *I. stans* no inducirán un efecto citotóxico en la línea celular de meduloblastoma.

5. Objetivos

5.1. Objetivo general

- Evaluar la citotoxicidad de AgNPs conjugadas al extracto acuoso de *I. stans* en la línea celular meduloblastoma (Daoy).

5.2. Objetivos específicos

- Obtener el extracto acuoso de *I. stans*, sintetizar y caracterizar las AgNPs mediante UV-vis, TEM, FTIR, EDS y DLS
- Evaluar la viabilidad de la línea celular Daoy de meduloblastoma en presencia del extracto acuoso de *I. stans* mediante ensayo MTT.
- Evaluar la viabilidad de la línea celular Daoy de meduloblastoma con las AgNPs conjugadas al extracto acuoso de *I. stans* mediante ensayos MTT.

6. Materiales y métodos

6.1 Materiales

6.1.1 Equipos

Tabla 1: Equipo y material utilizado para el cultivo celular, síntesis y la caracterización de NPs.

Equipos	Marca
Autoclave	LabTech
Balanza analítica	Scientech
Balanza granataria 2 platillos	OHAUS
Baño María digital	LabTech
Bomba de vacío	Tech Set
Cámara de Neubauer	Marienfeld Superior
Campana de flujo laminar	Biobase
Centrifuga	Centurion Scientific
Difractómetro de luz dinámica (DLS)	Malvern instruments 4700 C equipado con láser He-Ne
Difractómetro de polvos (EDS)	Bruker D8 Advance con geometría Bragg-Brentano, radiación CuK α y detector Linxeye
Espectrofotómetro UV-vis	Varian Cary 5000 UV-Vis-NIR, Agilent Technologies
Espectrómetro infrarrojo de Fourier	Bruker Tensor, Model 27
Gradillas para tubos falcón	-
Incubadora	Binder
Lector de absorbancia	Biotech
Micropipetas (2-20 μ L, 10-100 μ l y 100-1000 μ l)	Corning
Microscopio electrónico de transmisión	JEOL-2100 200 kV
Microscopio invertido	Nikon
Parrilla eléctrica	LabTech
Potenciómetro	Bante
Propipeta eléctrica	DragonLab
Refrigeradores	-
Tanque de nitrógeno líquido	Thermo Scientific
Ultracongelador	Kaltis

6.1.2 Materiales consumibles

Tabla 2: Materiales consumibles usados en el cultivo celular, síntesis y caracterización de NPs

Material	Marca	# de catalogo
Tubos Falcon de 15 mL	Axygen Scientific	440825
Tubos Falcon de 50 mL	Axygen Scientific	430829
Puntas de plástico para micropipetas (100-1000 µL)	Axygen Scientific	T-100-B
Puntas de plástico para micropipetas (10-200 µL)	Crmglobe	PE1015SP
Pipeta serológica 10 mL	SPL	91010
Pipeta serológica 25 mL	SPL	91025
Microtubos Eppendorf 1.5 mL	SPL	60015
Microtubos Eppendorf 2 mL	SPL	61020
Cajas de cultivo t-175	SPL life sciences	13485
Parafilm	Bemis	-
Caja de 96 pozos	SPL life sciences	-
Papel filtro	-	-

6.1.3 Reactivos

Tabla 3: Reactivos usados en los ensayos MTT y cultivo celular

	Reactivos	Marca	# de catalogo
Solución de nitrato de plata (1x10⁻³M)	1- Nitrato de plata (AgNO ₃)	1- Sigma (E.U.A.)	1- 209139
Medio de incubación (100mL)	1- DMEM F12 2- Suero fetal bobino 3- Piruvato al 1% 4- Penicilina/estreptomicina 100u 5- Glutamina 2mM	1- Gibco (E.U.A.) 2- Biowest (México) 3- Gibco (E.U.A.) 4- Biowest (México) 5- Gibco (E.U.A.)	1- 12500-039 2- S162H-500 3- 11360-070 4- FG301-01 5- 25030-081
	1- Tripsina	1- Gibco (E.U.A.)	1- 25300-054
PBS	1- Cloruro de sodio (NaCl) 2- Cloruro de potasio (KCl) 3- Bicarbonato de sodio (NaHCO ₃) 4- Fosfato de potasio monobásico (KH ₂ PO ₄)	1- Sigma (E.U.A.) 2- Sigma (E.U.A.) 3- Sigma (E.U.A.) 4- Sigma (E.U.A.)	1- SLBS7447 2- 114K0170 3- 035k0074 4- 084k0175

MTT (Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol)	1- MTT	1- Biomatik (E.U.A.)	1- 298-93-1
DMSO (Dimetil sulfoxido)	1- DMSO	1- Sigma (E.U.A.)	2- 1003481331

6.2 Metodología

La primera etapa metodológica incluyó la obtención del extracto acuoso de *I. stans*, posteriormente la síntesis de las AgNPs a partir del mismo extracto mediante el método de síntesis verde. Finalmente fueron caracterizadas mediante UV-vis, microscopía electrónica de transmisión (TEM) y espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), espectroscopía de Rayos X por dispersión de energía (EDS) y dispersión dinámica de luz (DLS) como se describe en la Figura 3.

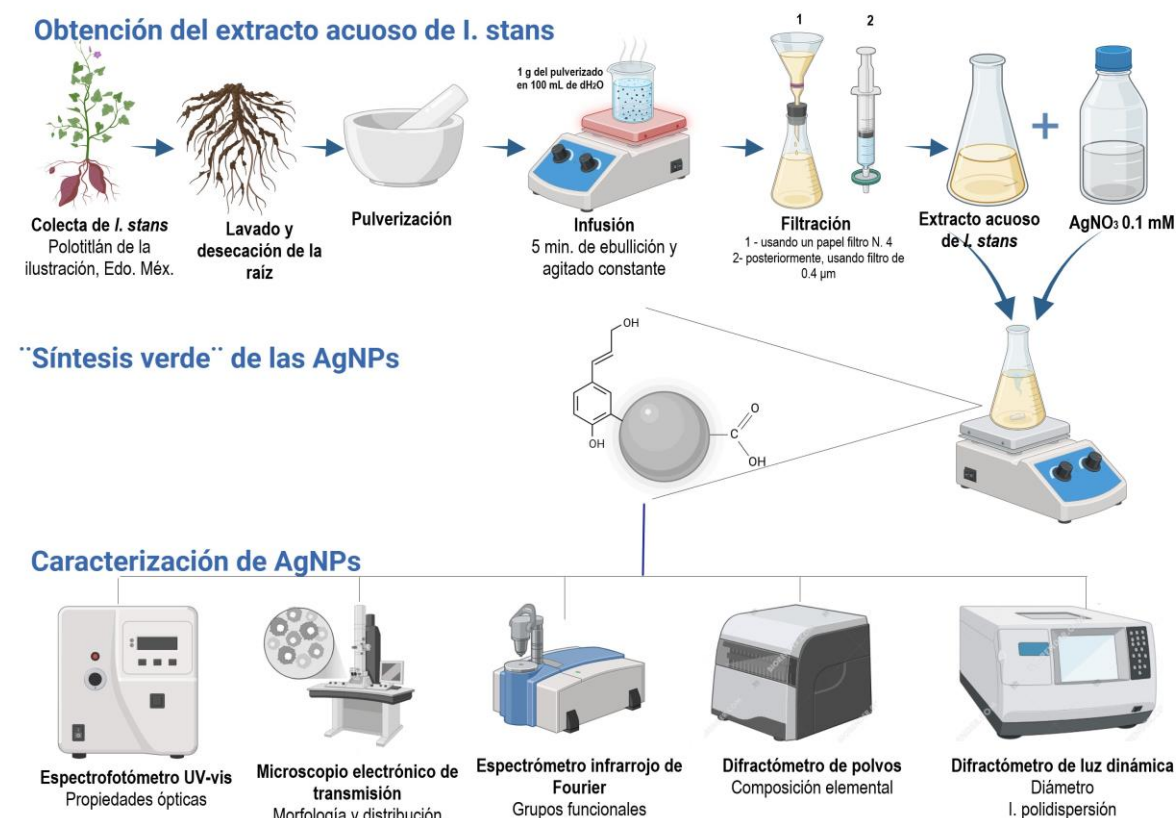


Figura 3. Obtención del extracto de *I. stans*, “síntesis verde” de AgNPs, conjugación de AgNP-*I. stans* y su caracterización. Esquema del proceso de la colecta y preparación del material vegetal, obtención de la infusión, generación de las AgNP-*I. stans* y su caracterización mediante UV-vis para conocer sus propiedades ópticas, TEM para morfología y distribución, FTIR para identificar grupos funcionales, EDS para determinar su composición elemental y finalmente, DLS para saber que diámetro e índice de polidispersión presentaron las soluciones de AgNP-*I. stans* 1:5 y 10:1. El extracto acuoso también fue analizado y considerado como control.

6.1. Obtención del extracto acuoso de *I. stans*

Para la síntesis de NPs de plata, primero se obtuvo el extracto acuoso. La raíz de *I. stans* (figura 3), se colectó durante los meses de septiembre y octubre en Polotitlán de la Ilustración, Estado de México, municipio colindante con los estados de Querétaro e Hidalgo. La planta fue identificada en el Herbario HUMO-CIByC, a la cual se le asignó el folio 28952 (figura 4).



Figura 4. Ejemplar de *I. stans* (izquierda) y su raíz (derecha). La especie vegetal fue identificada y colectada, únicamente se utilizó la raíz la cual fue lavada y desecada. Posteriormente se pulverizó para obtener un polvo fino que se utilizó para la obtención de la infusión.

La raíz se cortó en fragmentos de aproximadamente 3 cm, posteriormente se lavaron tres veces con agua destilada y se dejaron secar a temperatura del lugar y oscuridad durante 15 días. Una vez pasado el tiempo, la raíz se pulverizó con un molino manual para obtener partículas finas de aproximadamente 3 mm y se almacenó en bolsas de plástico en un lugar seco y sin exposición a la luz. Para el extracto acuoso, se pesó 1 g de raíz y se colocaron en un vaso de precipitado con 100 mL de agua destilada estéril, la mezcla se dejó en agitación y en calentamiento hasta alcanzar los 100°C, en dónde se mantuvo durante 5 minutos. Finalmente, el extracto se dejó aclimatar a temperatura del lugar y se filtró con papel filtro del número 4 (figura 5). El extracto se almacenó a 4°C hasta su uso, el cual no debió exceder los dos días.

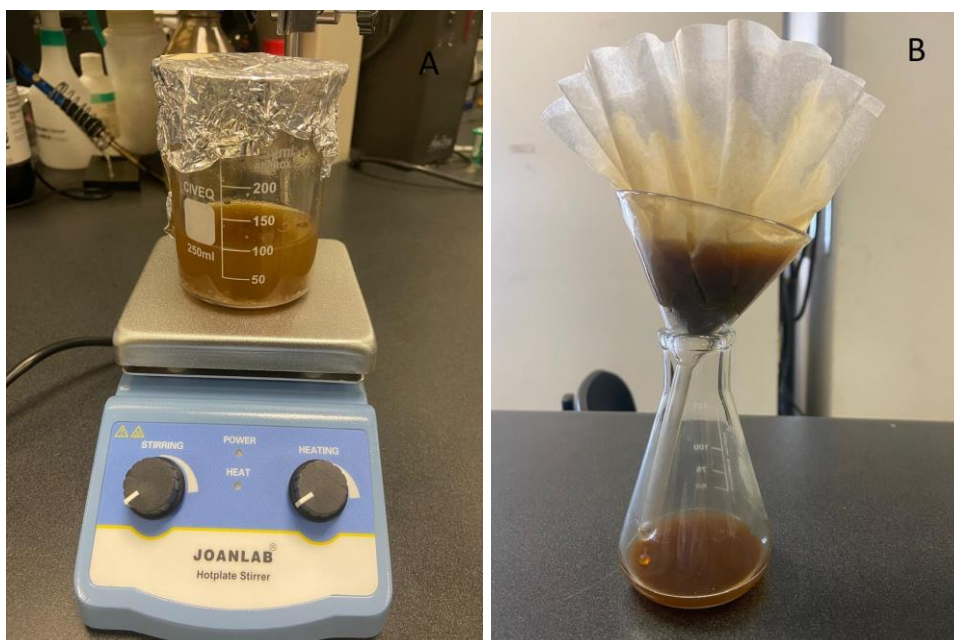


Figura 5. Obtención del extracto acuoso de *I. stans*. a) agitación con calor en placa b) filtración del extracto con papel filtro. Se partió desde la adición de 1 gramo del pulverizado vegetal a un volumen de 100 mL de dH_2O , esta solución fue expuesta a calor y agitación constante hasta su ebullición por 5 minutos. Posteriormente, fue colada usando un filtro del número 4 para excluir restos vegetales y finalmente, fue filtrada mediante un filtro de $0.4\ \mu\text{m}$ para descartar presencia de posibles microorganismos.

6.2. Obtención de las AgNPs y su caracterización

Para la generación de las AgNPs, se utilizó una solución nitrato de plata al $1 \times 10^{-2}\ \text{M}$ (AgNO_3 , Sigma, cat. 209139) como precursor metálico. Como agente reductor se empleó el extracto acuoso al 1 %. Para la síntesis de las AgNPs, se obtuvieron dos soluciones. Es importante mencionar que el extracto se mantuvo a temperatura del lugar y estático, la primera solución se obtuvo agregando 1 mL de AgNO_3 a 5 mL de extracto, la segunda, de 10 mL de AgNO_3 a 1 mL de extracto, en ambas soluciones el AgNO_3 se agregó por goteo y se agitó suavemente con la mano. Posteriormente, ambas soluciones fueron expuestas al sol durante 7 minutos donde se pudo observar un cambio gradual en la coloración, ambas soluciones tornaron a un color ámbar. Por fines prácticos, se les denominó AgNPs 1:5 y 10:1, respectivamente a la secuencia de la síntesis. Todas las soluciones, se dejaron toda la noche a temperatura ambiente, al día siguiente se almacenaron a 4°C hasta su uso.

6.2.1. Caracterización de las AgNPs por UV-vis, FTIR, DLS y EDS

La caracterización de las NPs mediante UV-vis, FTIR, EDS y DLS se llevó a cabo

en colaboración con el Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable (CCIQS), UAEMéx-UNAM. Primero, se sometieron a UV-vis (Varian Cary 5000 UV-Vis-NIR, Agilent Technologies) para determinar propiedades ópticas y evidenciar su presencia en las soluciones preparadas. Donde, se tomaron 200 μL de cada muestra y se diluyeron, por separado, en 800 μL de agua destilada, dicha mezcla se agregó a la celda del equipo. Todas las muestras se analizaron en un rango de absorción de 200-800 nm.

Los grupos funcionales presentes en el extracto, así como en las AgNPs y su modificación por el acoplamiento, se determinarán por FTIR (Bruker Tensor, Model 27). Una gota de cada solución, fue colocada en la placa de análisis y se dejó secar a temperatura del lugar durante 20 minutos. Posteriormente la muestra se analizó bajo condiciones estándar (modo de transmitancia a una longitud de onda de 600 a 4,000 cm^{-1}). Los gráficos que se obtuvieron por cada muestra (extracto acuoso, AgNPs 10:1 y 5:1), se compararon entre ellos para observar cambios en las vibraciones de los grupos funcionales, por lo que indicó que tipo de moléculas del extracto podrían estar preferentemente unidas a las AgNPs.

Para determinar la morfología de las AgNPs, se usó un TEM (JEOL-2100 200 kV). Una gota de cada solución fue colocada en una gradilla de cobre y se dejó secar durante 20 minutos a temperatura del lugar. Posteriormente la muestra se introdujo en el equipo y se tomaron de 3 a 4 microfotografías por muestra para analizar la morfología.

Para corroborar la presencia de plata en la muestra, se realizó mapeo elemental por EDS utilizando un difractómetro de polvos Bruker D8 Advance con geometría Bragg-Brentano, radiación $\text{CuK}\alpha$ y detector Linxeye. Para esta técnica, se secó cada solución en una caja Petri dentro de una estufa de secado a 37°C. Una vez secas las muestras, se colocaron en la placa de lectura y se realizó un escaneo para detectar los elementos presentes. Finalmente, se realizó DLS para determinar el tamaño promedio de las AgNPs en solución, para ellos, las muestras líquidas (sin diluir) se colocaron en la celda para su análisis mediante espectroscopía de

correlación de fotones (PCS), utilizando un equipo de dispersión de luz 4700 C (Malvern Instruments, Reino Unido) equipado con un láser He-Ne (10Mw).

6.3. Cultivo celular

La *metodología in vitro* se llevó a cabo utilizando la línea celular tumoral de meduloblastoma DAOY, representado en el siguiente diagrama de flujo (figura 6).

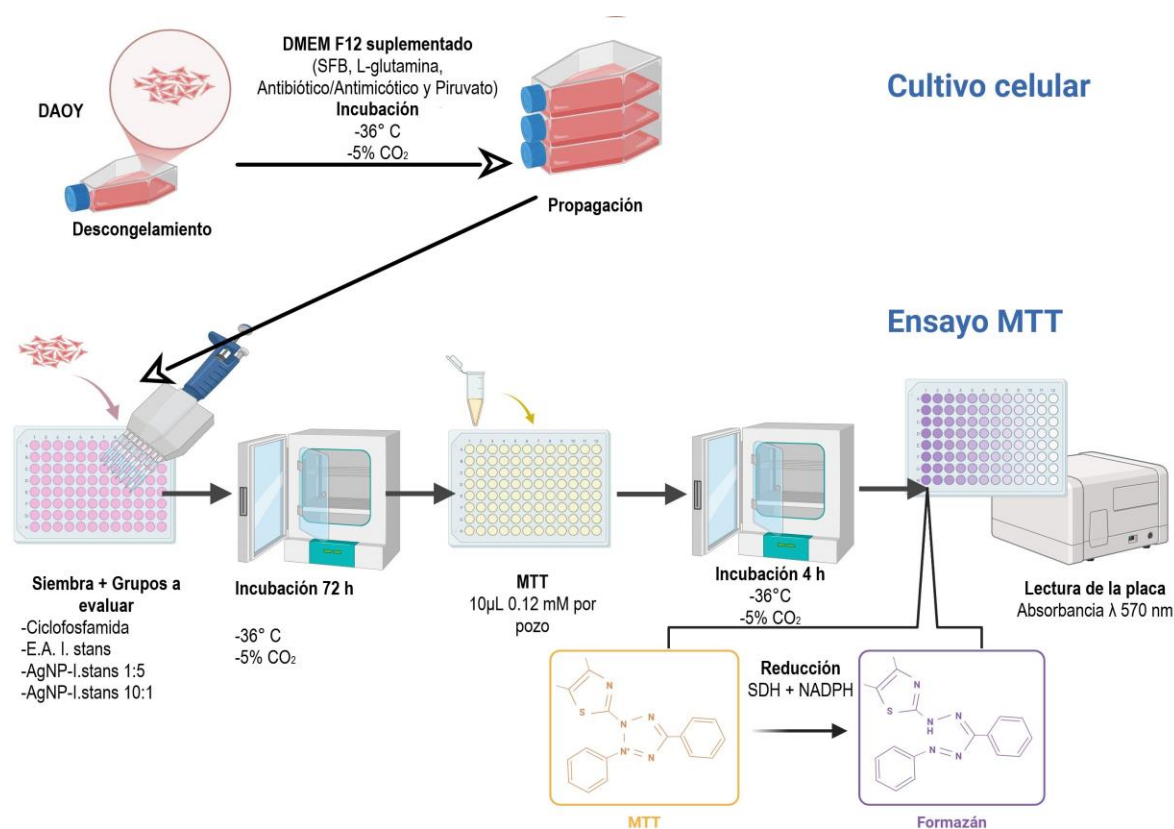


Figura 6. Cultivo celular y ensayo de citotoxicidad MTT. Esquema del proceso del cultivo celular y el ensayo de viabilidad por MTT. Primero, se partió desde el descongelamiento celular, una vez lograda la confluencia deseada las células fueron propagadas para lograr la cantidad necesaria requerida en los ensayos. Posteriormente, las células fueron sembradas en las cajas de 96 pozos, pasadas 24 horas se colocaron los grupos a evaluar; ciclofosfamida como control, el extracto acuoso de *I. stans*, AgNP-*I.stans* 1:5 y 10:1, y se procedió a incubación por 72 horas a 36°C y 5% de CO₂. Después de este tiempo, las células fueron lavadas con PBS y se les añadió 10 µL de MTT al 0.12 mM diluido en medio y se incubaron nuevamente por 4 horas en las mismas condiciones. Finalmente, las células fueron lavadas con PBS y se les agregó isopropanol ácido para disolver los cristales de formazán y tomar la lectura de absorbancia a una longitud de onda de 570 nm.

6.3.1. Ensayo de viabilidad celular por MTT

El ensayo de viabilidad celular por MTT se basó en la metodología usada por Kumar y colaboradores (2018) y Van meerloo y colaboradores (2011). Primero, se determinaron las condiciones de cultivo celular. Como se ha mencionado previamente, se emplearon las líneas celulares de meduloblastoma, Daoy (ATCC HTB-186) las células se cultivaron en un medio de cultivo con las siguientes características: medio base DMEM/F-12 (Gibco, cat: 12500), 10 % de suero fetal bovino (Biowest, cat: S1650), 1 % de glutamina (Gibco, cat: 25030081), 1 % de antibiótico-antimicótico (Gibco, cat: 15240062), 1 % de piruvato sódico (Gibco, cat: 11360070) y 1 % de aminoácidos no esenciales (Gibco, cat: 11140050). Las células se mantuvieron en una incubadora a 37°C y 5 % de CO₂.

Para el ensayo de MTT de la línea celular DAOY, primero se sembraron 4,500 células por pozo en placas de 96 pozos y se dejaron reposar por 24 h para que las células se adhirieran a la superficie. Una vez transcurrido el tiempo, se agregó el extracto a concentraciones descendentes de 5, 2.5, 1.25, 0.62, 0.31, 0.15 y 0.07 mg/mL; la solución de AgNP-*I.stans* 1:5 en concentraciones descendentes a partir de 4.15, 2.07, 1.03, 0.51, 0.25, 0.12 y 0.06 mg/mL, y la solución de AgNP-*I.stans* 10:1 a partir de 0.45, 0.22, 0.11, 0.05, 0.028, 0.014 y 0.007 mg/mL. Es importante mencionar que las concentraciones de las AgNPs 1:5 y 10:1 se determinaron con base a la concentración final del extracto en cada solución evaluada. Posteriormente, tras la administración, las células incubaron por 72 h. Transcurrido este tiempo, se retiró el medio con el extracto y las células se lavaron dos veces con PBS. Finalmente, se añadió medio fresco y 10 µL de MTT (Biomatik, cat: A3338) a una concentración de 0.12 mM. Las células con MTT se incubaron durante 4 h, una vez transcurrido el tiempo, se agregaron 100 µL por pozo de isopropanol ácido para detener la reacción de MTT. Finalmente, se realizó la lectura de absorbancia en un lector de placas (Synergy, BioTek) a una longitud de onda de 570 nm. Se realizaron 4 experimentos independientes con sus respectivos triplicados técnicos.

6.4. Análisis estadístico

El análisis estadístico fue de tipo univariado, se empleó una ANOVA de una vía para determinar si existen diferencias entre los grupos evaluados. Posteriormente, se realizó una prueba post hoc de Tukey para observar en qué comparaciones se encontraban esas diferencias, considerando una $p \geq 0.05$ como estadísticamente significativo. Los datos se expresaron con la media $\pm$ desviaciones estándar (DE), mientras que los datos se representaron en gráficos de barras. Para el análisis estadístico, así como la determinación de la IC₅₀ y la elaboración de los gráficos, se utilizó el programa GraphPad Prism versión 9.

7. Resultados

En el presente trabajo, se consiguió la síntesis y caracterización de las AgNPs derivadas del extracto acuoso de *I. stans*. Posterior a una serie de pruebas, se obtuvieron dos soluciones de AgNPs, a las cuales además de la caracterización, se les evaluó su efecto citotóxico en una línea celular de meduloblastoma. Obteniendo así, la caracterización de las AgNPs y su actividad anticancerígena, resultados que se describen a continuación.

7.1. Síntesis y caracterización de las nanopartículas por UV-Vis

Como se mencionó en el apartado de metodología, se obtuvieron dos soluciones de AgNPs para la plata en las siguientes proporciones, 1:5 y 10:1 de mL de AgNO_3 y extracto acuoso de *I. stans*, y nombradas en orden como solución 1 y 2, respectivamente. El color para las AgNPs fue color ámbar (figura 7).

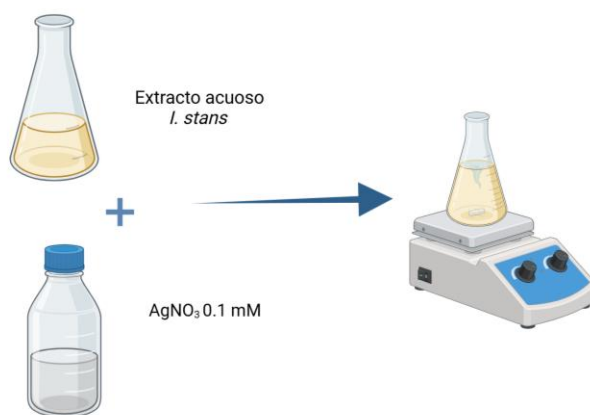


Figura 7. Esquema de la "síntesis" de nanopartículas de plata (AgNPs). La obtención de las AgNP-*I. stans* se llevó a cabo mezclando gentilmente una solución de AgNO_3 al 0.1 mM con el extracto acuoso de *I. stans*. Se obtuvieron dos soluciones 1:5 y 10:1 de AgNO_3 y extracto acuoso respectivamente tomando como unidad mL. Ambas soluciones fueron expuestas al sol durante 7 minutos lo que tornó la coloración más oscura, indicativo de la generación de NPs.

Debido a que la colorimetría es un indicativo indirecto de la formación de NPs (figura 8), se procedió a la caracterización para corroborar su presencia. Primero, se realizó UV-Vis para determinar sus propiedades ópticas, y con ello, predecir de manera indirecta su morfología y posible dispersión de su tamaño. La lectura de UV-Vis se realizó alrededor de 4 y 6 horas posterior a la síntesis, tiempo en el que generalmente terminan de crecer.

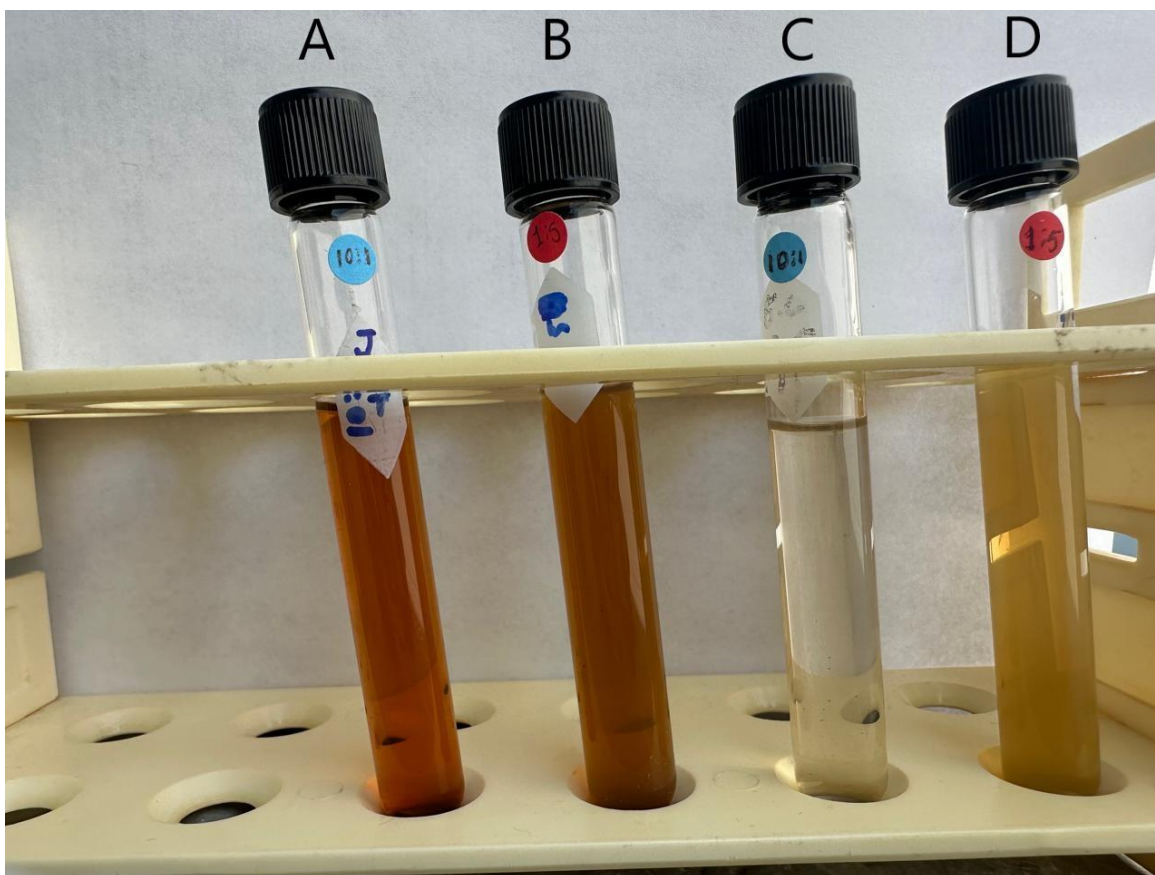


Figura 8: Diferencia en el cambio de color de ambas soluciones de AgNP-I.stans. A) AgNP-I.stans 10:1 y B) AgNP-I.stans 1:5 posteriormente a su exposición al sol durante 7 minutos, C) AgNP-I.stans 10:1 y D) AgNP-I.stans 1:5 no fueron expuestas al sol. La exposición al sol de las soluciones de AgNP-I.stans indujo un cambio en la coloración tornándose más oscura, este cambio de coloración está relacionado a las propiedades ópticas de las NPs y sugiere la generación de las mismas, de acuerdo a la literatura.

Los resultados arrojaron que las AgNPs que muestran una banda más angosta que, según lo reportado en la literatura da indicios de que las NPs puedan ser poco dispersas, lo cual se evidencia por las bandas angostas que alcanzan ambas soluciones que están entre los 490 y 575 nm (figura 9), por lo que las NPs en estas soluciones probablemente presentaran menor polidispersidad. Para ambas las NPs de plata, la formación de NPs también se hace evidente al compararlas con la banda del extracto acuoso, la cual, a diferencia de este, las NPs muestran un pico a las longitudes de onda mencionadas. Además, la formación de una sola banda en el espectro, sugiere que las NPs son de morfología esferoide, lo cual ocurrió con todas las muestras evaluadas. Por lo tanto, se concluye que los espectros obtenidos mediante UV-Vis nos confirman la presencia de resonancia plasmónica superficial la cual es característica de las NPs metálicas, y nos da una idea de su morfología y tamaño.

Para corroborar los datos arrojados por UV-Vis, se procedió a realizar Microscopía Electrónica de Transmisión. Por lo que los resultados de UV-Vis, nos da para a continuar con la caracterización y bioevaluación de las NPs obtenidas.

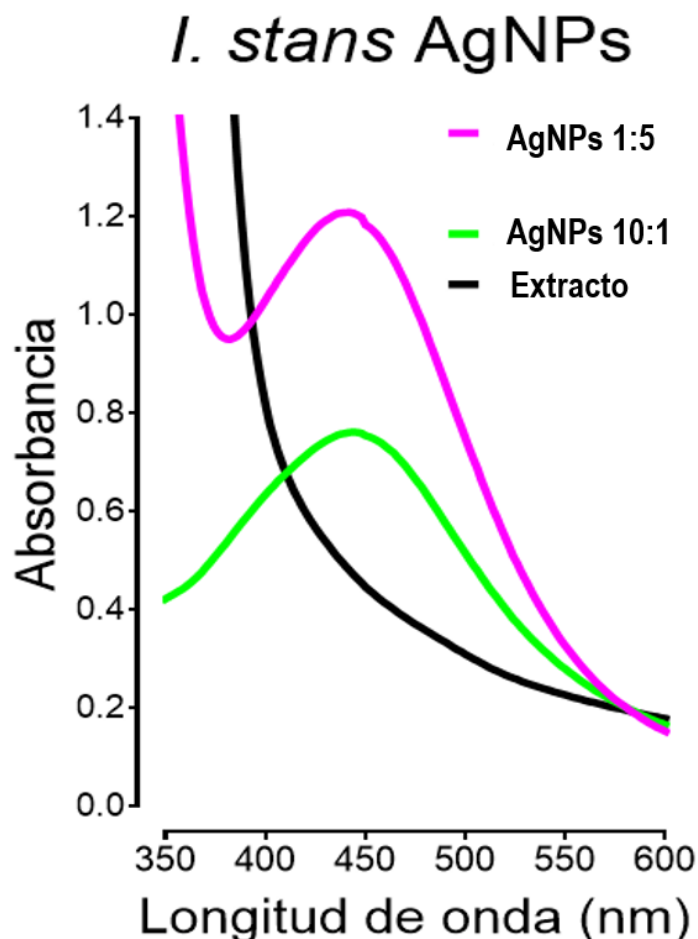


Figura 9. Análisis por UV-Vis para determinar las propiedades ópticas. Eje X corresponde a λ y eje Y a la absorbancia. Las muestras fueron expuestas a una longitud de onda de excitación de 190-800 nm. Se observan los picos de absorbancia a 450 nm característicos de Ag^+ presente en ambas soluciones de AgNP-*I.stans*. Sin embargo, entre ellas presentan diversos valores de absorbancia lo que se relaciona a la cantidad de AgNP-*I.stans*, siendo la solución AgNP-*I.stans* 1:5 donde se generaron más. Por otra parte, en el extracto acuoso no se identifica el pico de absorbancia a 450 nm debido a la ausencia de NPs.

7.1.1 Curva de AgNPs 1:5 por UV-vis

La curva de la solución 1:5 de AgNP-*I.stans* se muestra en el siguiente espectro UV-vis (figura 10), en el eje y se puede observar la absorbancia (intensidad de la absorción de luz por las NPs), en el x la longitud de onda (nm). En este sentido, las curvas corresponden a diferentes tiempos de reacción, es un estudio de curva para el proceso de formación de las NPs.

Es importante mencionar que el espectro muestra una tendencia general de disminución en la absorbancia a medida que avanza la longitud de onda, con picos entre 400 y 500 nm. De acuerdo a la literatura las NPs exhiben un pico característico de resonancia de plasmones superficiales en dicha región que refleja la presencia a partir de las 2 horas y se sugiere que dejan de crecer a las 6 horas, las variaciones en la intensidad y la forma del pico a lo largo de los diferentes tiempos pueden indicar cambios en el tamaño, forma o concentración de las NPs a lo largo del tiempo de reacción.

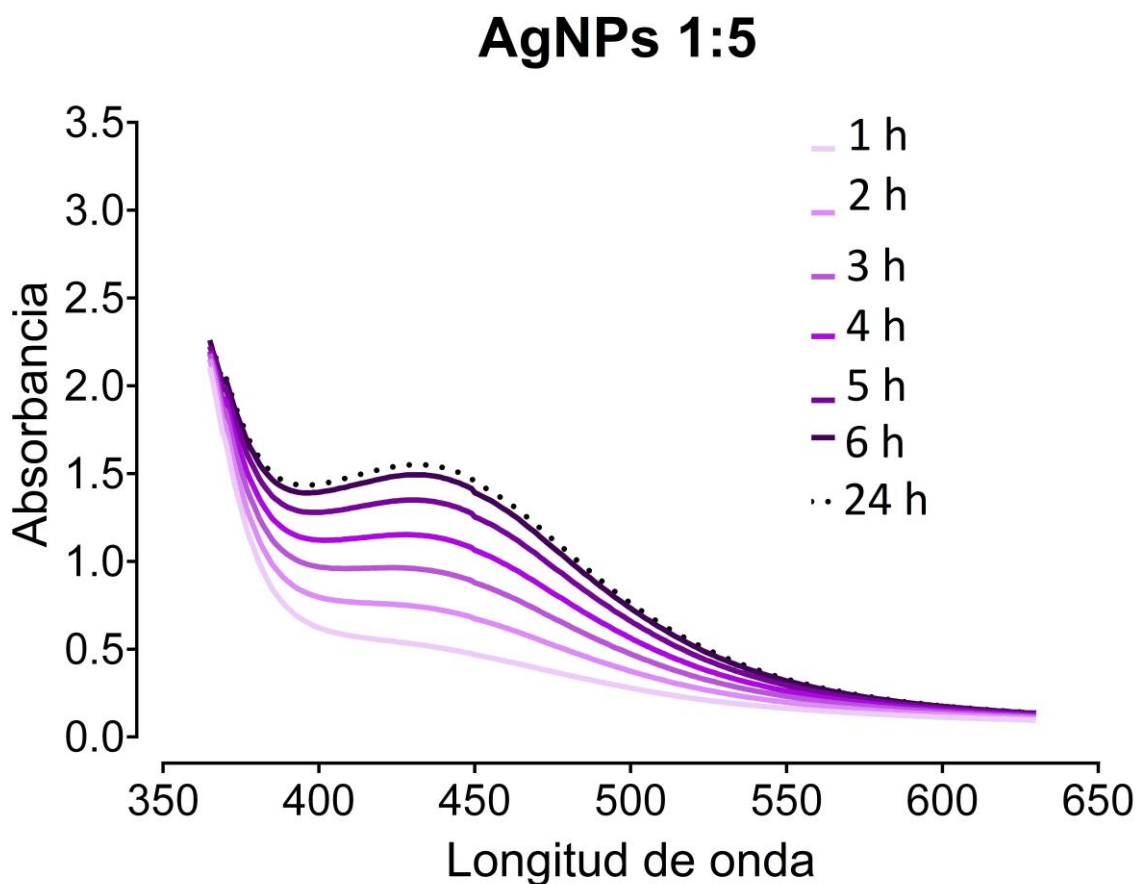


Figura 10. Espectro UV-Vis para la solución 1:5 de AgNP-I.stans (1 a 24 hrs). Eje X corresponde a λ y eje Y corresponde a la absorbancia. Las muestras fueron expuestas a una λ de excitación de 190-800 nm. Se observa el incremento en la banda de absorbancia con un pico entre 420-450 nm asociada a la formación y crecimiento de las AgNP-I.stans, a partir de la hora 2 a la hora 6. Los resultados obtenidos demuestran que la solución de AgNP-I.stans 1:5 tiene una mayor producción de NPs a estas horas.

7.1.2 Curva de AgNPs 10:1 por UV-vis

La curva muestra los mismos datos en el eje X y Y el mismo tiempo (figura 11). Esta solución de NPs en proporción 10:1 de AgNO_3 y extracto acuoso de *I. stans*. la diferencia entre las intensidades de absorbancia es más evidente durante el tiempo de formación de las NPs (3 a 6 horas). Se puede observar que la absorbancia máxima es menor que la observada en la proporción 1:5, lo que podría sugerir que hay formación de NPs pero la eficiencia y cantidad podría ser menor en esta proporción. También el desplazamiento del pico principal no es muy evidente lo que se podría interpretar que el tamaño de las NPs no cambia drásticamente con el tiempo o que las NPs se forman más lentamente en comparación con preparaciones con más proporciones equitativas como la 1:5.

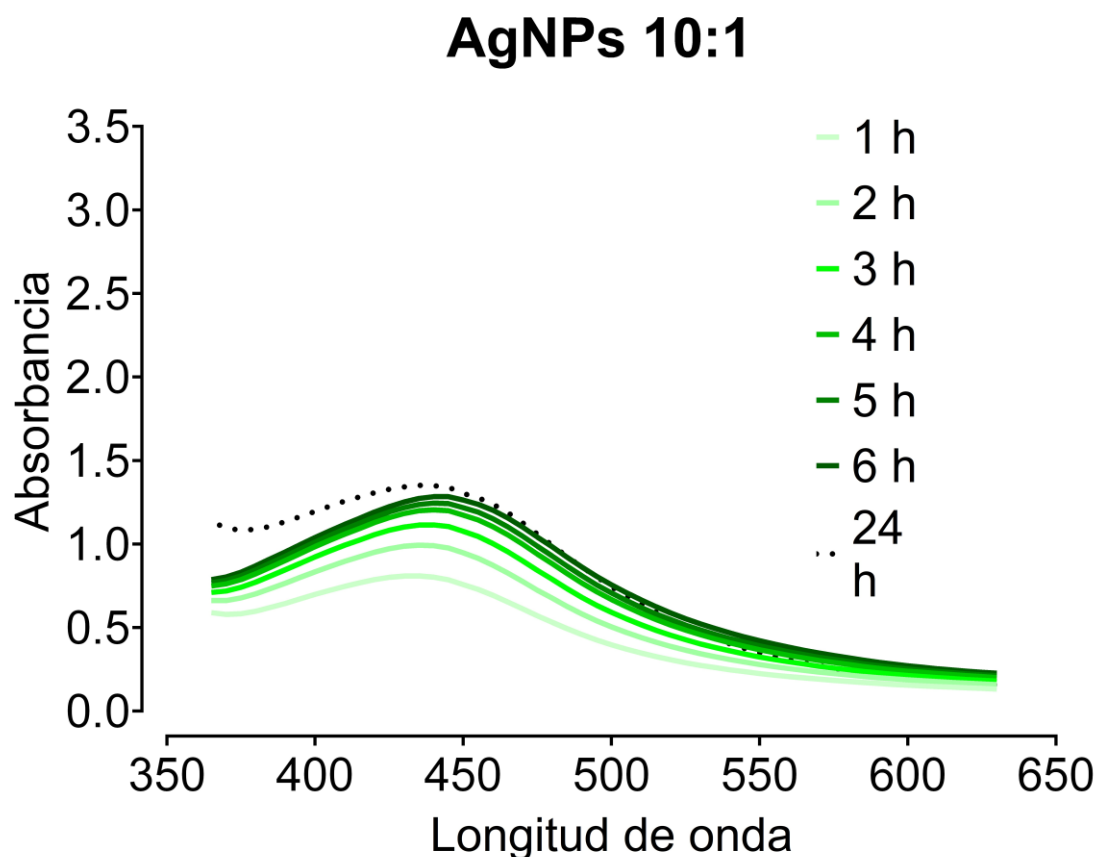


Figura 11. Espectro UV-Vis para la solución 10:1 de AgNP-*I.stans* (1 a 24 hrs). Eje X corresponde a λ y eje Y corresponde a la absorbancia. Las muestras fueron expuestas a una λ de excitación de 190-800 nm. Se observa el incremento en la banda de absorbancia con un pico entre 420-450 nm asociada a la formación y crecimiento de las AgNP-*I.stans*, a partir de la hora 3 a la hora 6, a comparación de la solución AgNP-*I.stans* 1:5 aquí no se observan valores de absorbancia altos, lo que indica que en esta solución el tiempo de generación es más lento y se producen menos NPs.

7.2 Caracterización de las AgNPs y extracto por FTIR

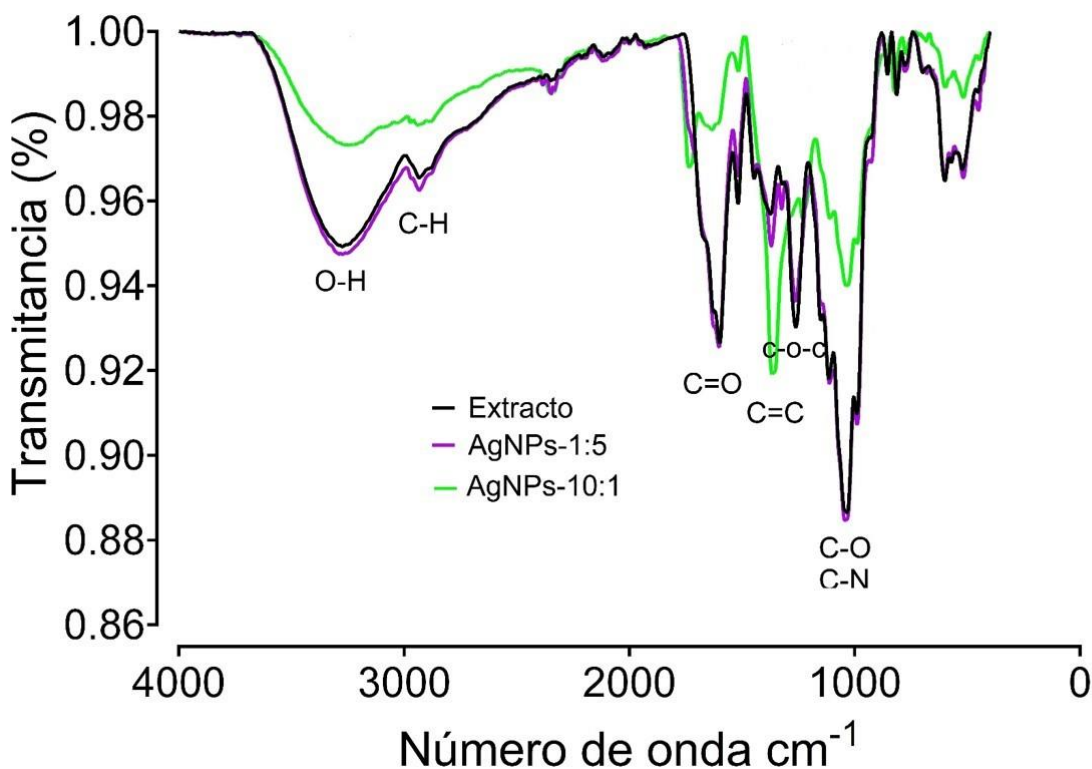


Figura 12: Espectro infrarrojo del extracto acuoso de *I. stans* (negro), AgNPs 10:1 (verde) y AgNPs 1:5 (morado). Eje X número de onda en cm⁻¹ y eje Y transmitancia. Se observan un espectro de infrarrojo por transformada de Fourier para cada uno donde se identifican grupos funcionales de OH, CH, C=O, C=C y CO/CN. Sin embargo, existen cambios en intensidad y desplazamientos de estas señales lo que se interpreta como una interacción de los grupos funcionales presentes en los fitoquímicos del extracto en los procesos de reducción de Ag⁺ y el recubrimiento de las AgNP-*I. stans*.

7.2.1 Identificación del espectro FTIR para el extracto acuoso de *I. stans*.

En el presente espectro (figura 12) se puede observar una banda ancha (3700-3100 cm⁻¹) en la longitud de ~3300 cm⁻¹ lo que sugiere un grupo funcional OH (hidroxilo), presente en compuestos polares como polifenoles o carbohidratos. La siguiente en ~2920–2850 cm⁻¹ (doble banda leve), posible grupo funcional: C–H (estiramientos de CH₂ y CH₃ alifáticos). Asociado la presencia de cadenas hidrocarbonadas (lípidos, ácidos grasos, etc.). Una tercera en ~1700 cm⁻¹ (banda fuerte), posible grupo funcional: C=O (carbonilo). Este podría sugerir presencia de cetonas, aldehídos, ácidos carboxílicos. Una cuarta banda en ~1600–1500 cm⁻¹, posible grupo funcional: C=C (dobles enlaces conjugados, aromáticos) podría relacionarse

con compuestos aromáticos o amidas (como en proteínas o polifenoles). La última región en $\sim 1200\text{--}1000\text{ cm}^{-1}$ (zona muy compleja con muchas bandas), en esta zona, es posible encontrar grupos funcionales: C–O (alcoholes, ésteres, ácidos). Muchas bandas indican compuestos complejos, grupos funcionales asociados a moléculas descritas en extractos vegetales.

7.2.2 Identificación del espectro FTIR para AgNP-*I.stans* 1:5

El presente espectro (figura 12) corresponde a la solución 1 (1:5) de AgNP-*I.stans*, se pueden observar los siguientes grupos funcionales. Primero, en $\sim 3300\text{ cm}^{-1}$ (banda ancha), grupo funcional: O–H (alcohol o fenol), probablemente hidroxilos de compuestos antioxidantes. Está presente también en el extracto, pero puede verse levemente desplazado o menos intenso tras interacción con AgNPs, indicando que estos grupos participaron en la reducción o estabilización. Segundo, $\sim 2920\text{--}2850\text{ cm}^{-1}$, grupo funcional: C–H alifático. Se encuentra conservado, lo que podría indicar que la presencia de estructuras hidrocarbonadas permanece tras la síntesis. Tercero, $\sim 1700\text{ cm}^{-1}$, grupo funcional: C=O (carbonilo de ácidos o ésteres). Muestra desplazamiento o reducción de intensidad, sugiriendo interacción del grupo carbonilo con la superficie de AgNPs. Cuarto, en $\sim 1600\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$, grupo funcional: C=C aromático o N–H (amida II). Sugiere posible interacción con proteínas o flavonoides del extracto vegetal. Por último, $\sim 1200\text{--}1000\text{ cm}^{-1}$ (zona compleja), con grupos funcionales: C–O, C–N, grupos fosfato, enlaces glucosídicos. Los cambios aquí pueden indicar la participación de azúcares, proteínas o polifenoles en la estabilización superficial de las NPs.

7.2.3 Identificación del espectro FTIR para AgNP-*I.stans* 10:1

En el presente espectro para la solución 10:1 de AgNP-*I.stans* (figura 12). Se pueden observar los siguientes grupos funcionales. Primero, $\sim 3700\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$ (zona de estiramiento O–H y N–H). Se observa una banda ancha en torno a 3400 cm^{-1} . Esto corresponde a la vibración de estiramiento del grupo hidroxilo (O–H) típico de agua y/o grupos fenólicos presentes en compuestos vegetales. También puede haber contribución de enlaces N–H de amidas/proteínas en el extracto vegetal. Segundo,

$\sim 2920\text{--}2850\text{ cm}^{-1}$ atribuibles al estiramiento del enlace C–H de grupos metileno ($-\text{CH}_2-$) y metilo ($-\text{CH}_3$) en lípidos o componentes orgánicos del extracto acuoso. Tercero, $\sim 1650\text{ cm}^{-1}$, característico de vibraciones de estiramiento de enlaces C=O (carbonilos) o de enlaces C=C en anillos aromáticos. Este pico también puede coincidir con la banda amida I (C=O estiramiento) de proteínas.

7.2.4 Comparación entre las dos soluciones de AgNPs y el extracto acuoso de *I. stans*

Región $3500\text{--}3200\text{ cm}^{-1}$: Se observa una banda ancha atribuida a O–H (alcoholes, fenoles, agua). Puede incluir también la señal de N–H de amidas (proteínas del extracto). Se observa disminución en la intensidad o desplazamiento, indicando interacciones con las AgNPs. Segundo, la región $2950\text{--}2850\text{ cm}^{-1}$: Existen estiramientos de C–H (alifáticos: CH_2 , CH_3). Se observa que estas bandas se reducen o modifican levemente en las muestras con AgNPs, indicando cambios en la matriz orgánica. Tercero, en la región $1750\text{--}1650\text{ cm}^{-1}$: se observa una banda intensa $\sim 1650\text{ cm}^{-1}$: lo que sugiere C=O (carbonilo) de amidas (proteínas) o ésteres. Aunque también posible vibración de C=C conjugado. Asimismo, se observan desplazamientos, lo que podría sugerir que en presencia de AgNPs existe una coordinación con carbonilos o enlaces amídicos. Cuarto, la región $1600\text{--}1400\text{ cm}^{-1}$: sugiere anillos aromáticos (C=C aromáticos) o deformaciones N–H. los cambios sutiles en los espectros con AgNPs indican posible interacción con anillos fenólicos o proteínas.

7.3 Determinación de elementos químicos presentes por espectroscopía dispersiva de rayos X (EDS)

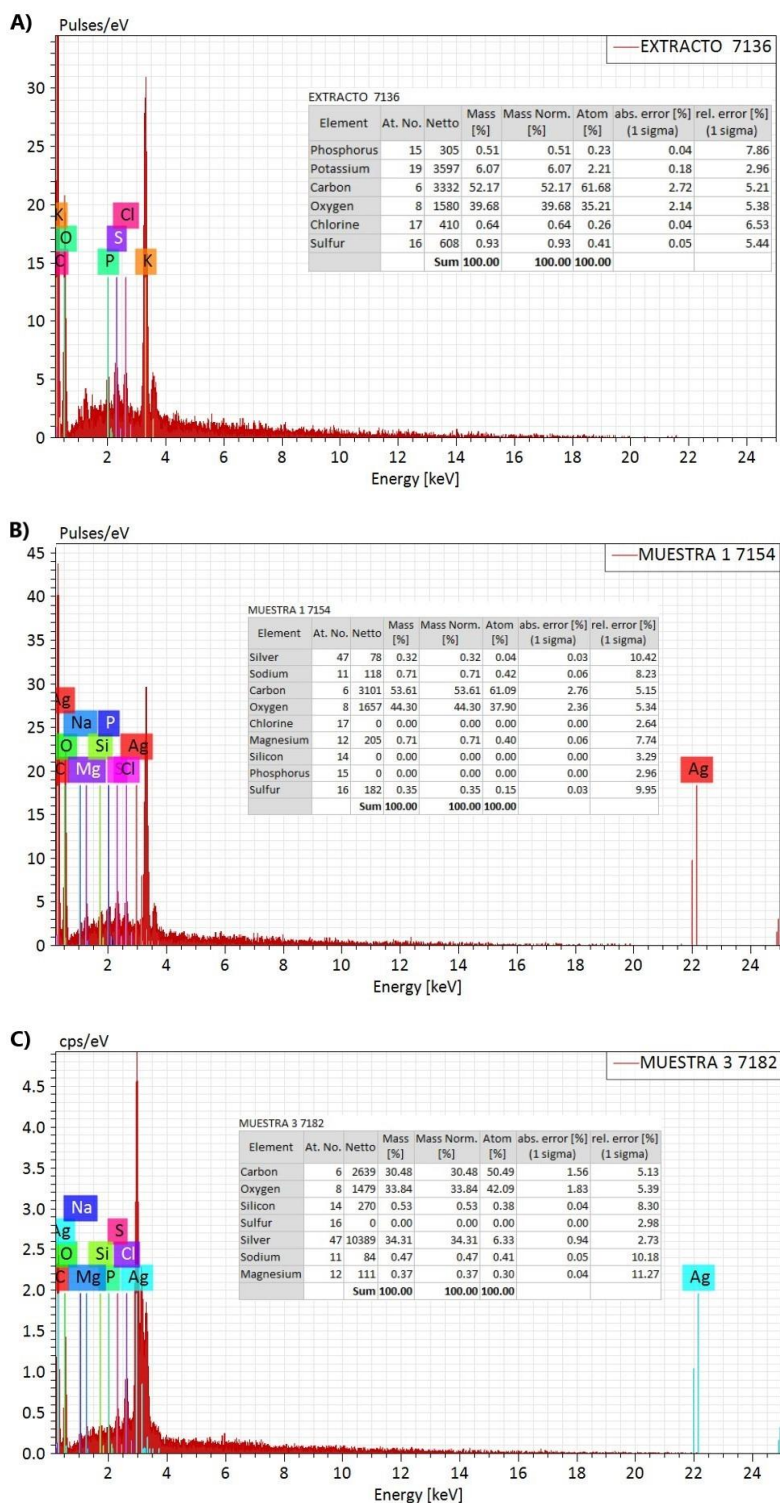


Figura 13. Espectro de energía dispersiva de rayos X para: A) el extracto acuoso de *I. stans*, B) AgNP-*I. stans* 1:5 y C) AgNP-*I. stans* 10:1 cada uno con su respectiva tabla de composición elemental. A) Se identificaron en mayor cantidad C y O, bioelementos básicos que constituyen a los fitoquímicos. B) También se identificaron los mismos bioelementos primarios, además de S y la presencia de algunos secundarios como Mg

y Na, aquí se reporta la presencia de Ag pero en muy poca cantidad lo que confirma la composición esperada de AgNP-*I. stans* 1:5. C) En esta solución la presencia de Ag es mayor pero aún se identifican la presencia de bioelementos primarios y en su minoría algunos secundarios, lo cual también confirma su composición considerando que esta es una solución con mayor cantidad de AgNO₃

7.3.1 Determinación de la composición química por EDS para el extracto acuoso de *I. stans*.

En el presente espectro para el extracto se puede observar la composición química para el extracto acuoso de *I. stans* (figura 13 A). En el eje X se representa la energía de los rayos X, y en el eje Y los pulsos/ev, que indican la cantidad de conteos detectados para cada energía relacionados directamente para la concentración relativa de cada elemento. Los picos encontrados corresponden a C, O, K, Cl, P, S. es importante mencionar que la altura de los picos da una indicación cualitativa de la cantidad relativa de cada elemento. En la tabla se representa la composición química elemental para el extracto acuoso de *I. stans*. La identificación de estos elementos químicos confirma la presencia de compuestos orgánicos ya que los extractos vegetales contienen fitoquímicos (alcaloides, flavonoides, proteínas, polisacáridos, celulosa y compuestos fenólicos) y metabolitos secundarios, que tienen efecto en la síntesis de NPs (Kuppusamy et al. 2015a, b; Mata et al. 2016; Patil et al. 2012).

7.3.2 Determinación de la composición química elemental por EDS para la solución AgNP-*I. stans* 1:5 .

Los resultados obtenidos por EDS para AgNP-*I. stans* 1:5 (Figura 13 B) confirma la presencia de plata en la muestra, se pueden observar picos alrededor de ~3.0 keV (Ag L α), ~22 keV (Ag K α) y ~25 keV (Ag K β), con un porcentaje de masa de 0.32% lo que puede ser consistente con la presencia de NPs y en proporción a la concentración de plata en la solución. Así mismo, se observa en mayor existencia carbono y oxígeno, bioelementos presentes en el extracto correspondientes a los fitoquímicos entre otros elementos constituyentes de las mismas moléculas orgánicas.

7.3.3 Determinación de la composición química elemental por EDS para la solución AgNP-*I.stans* 10:1

En la figura 13 C, correspondiente a AgNP-*I.stans* 10:1 también se observan los picos característicos de la plata; Ag L α , Ag K α y Ag K β confirmando así la presencia de la plata con una composición del 34.31% en masa. En comparación con AgNP-*I.stans* 1:5 se observa un contenido alto el cual es proporcional a la concentración de plata en esta muestra la cual se encuentra a una proporción de 10 a 1 de AgNO₃ y extracto acuoso respectivamente. Aunado a esto, se encuentran los picos de carbono (30.48%) y oxígeno (33.84%) pero ya no son predominantes.

7.4 Caracterización de las nanopartículas por DLS

La caracterización de NPS mediante dispersión dinámica de Luz (DLS) permite conocer propiedades de las NPS como el tamaño y el comportamiento de las NPS en suspensión.

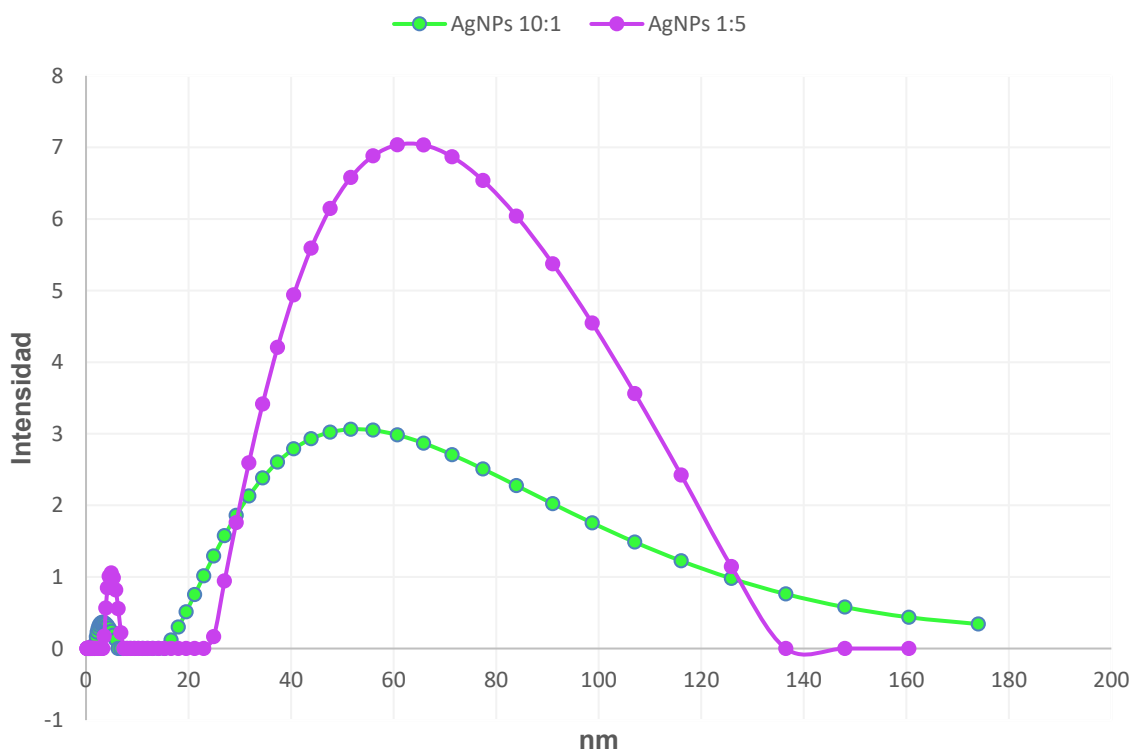


Figura 14: Gráfica de distribución de AgNPs 10:1 (verde) y 1:5 (morado). Eje X tamaño en nanómetros y eje Y intensidad. Distribución de tamaño de AgNP-*I.stans* determinada por DLS, donde se compararon ambas soluciones. Se observa la intensidad de dispersión en función del diámetro hidrodinámico, evidenciando

diferencias en el tamaño promedio y la distribución entre ambas. AgNP-I.stans 1:5 tiene su pico máximo de ~60-70 nm mientras que AgNP-I.stans 10:1 se encuentran más hacia ~40-60 nm, lo que demuestra que en 1:5 en promedio son más grandes. Por otra parte, AgNP-I.stans 1:5 presenta una mayor intensidad dependiente del tamaño. Así mismo, la curva de AgNP-I.stans 1:5 es más ancha y asimétrica lo que indica una mayor polidispersidad en comparación a AgNP-I. stans 10:1 que está más estrecha representando un sistema más uniforme.

7.4.1 Caracterización de AgNP-I.stans 1:5 por DLS

Como se puede observar en la figura 14, en el eje X la mayor parte de la señal se encuentra entre 50 y 100 nm, con lo que parece indicar un pico principal alrededor de 60-70 nm, esto sugiere que el diametro hidrodinamico de las NPS oscila entre 60-70 nm. Por otra parte, de acuerdo a los observado en el eje Y las NPS mas grandes dispersan mas luz a comparacion de las pequeñas, tambien se observa un pequeño pico cerca de los 10 nm, el cual puede ser atribuible a fragmentos pequeños, fitoquímicos libres, o incluso ruido de medición. Asimismo, la curva de distribución tiene una forma asimetica negativa lo que sugiere una distribución mayormente monomodal y una baja polidispersión lo que se traduce como una alta homogeneidad en el tamaño de las NPs. En terminos de PDI (indice de polidispersión) la curva sugiere un valor intermedio de aproximadamente 0.1-0.2, lo que representa una buena uniformidad

7.4.2 Caracterización de AgNP-I.stans 10:1 por DLS

Para el espectro de dispersion dinamica de luz para las AgNP-I.stans 10:1, en este caso la distribución de tamaño puede considerarse mayormente monomodal, al igual que en AgNP-I.stans 1:5, ya que presenta una curva con asimetría positiva lo que indica que la mayoría de los datos se concentran en tamaños bajos, mientras que un número menor de valores se extiende hacia tamaños mayores. Sin embargo, la curva alcanza un pico maximo alrededor de 50-60 nm lo que representaria el tamaño del diametro hidrodinámico promedio. Por otra parte, la forma del pico es mas ancho a comparación de las AgNP-I.stans 1:5, lo indica que AgNP-I.stans 10:1 presenta una ligera mayor polidispersión a comparación de AgNP-I.stans 1:5. Tambien se observa la senal a los 10 nm que como se mencionó anteriormente podría atribuirse a fitoquímicos libres.

7.5 Caracterización por microscopía electrónica de transmisión (TEM)

La visualización de las AgNP-*I. stans* se llevó a cabo mediante microscopía de transmisión electrónica a tres distintos aumentos para determinar morfología y distribución como se muestra en las figuras 15 y 16.

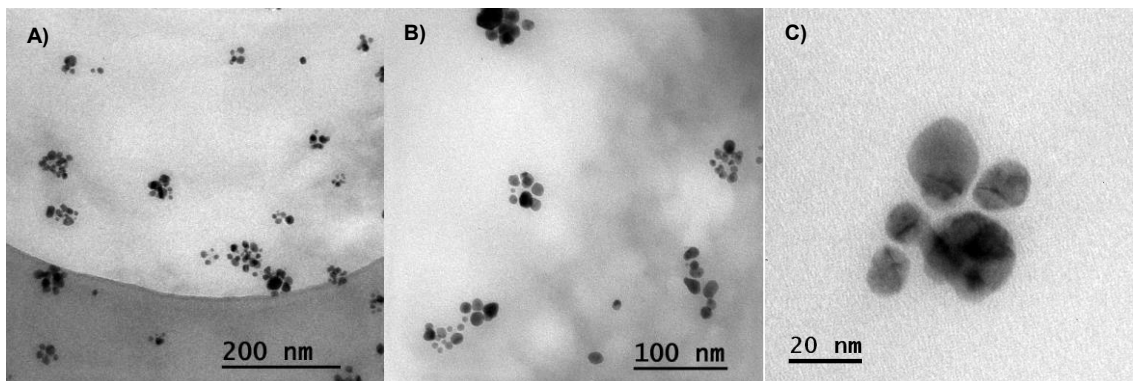


Figura 15: Micrografía de AgNP-*I. stans* 1:5 por TEM. A medición directa de; A) 200nm, B) 100nm y C) 20nm. Se observa una distribución de tamaños en escala nanométrica y cierta tendencia a la agregación, las AgNP-*I. stans* 1:5 presentan una morfología cuasi-esférica con bordes lisos, y una variación ligera en los tamaños por lo que podrían considerarse polidispersas.

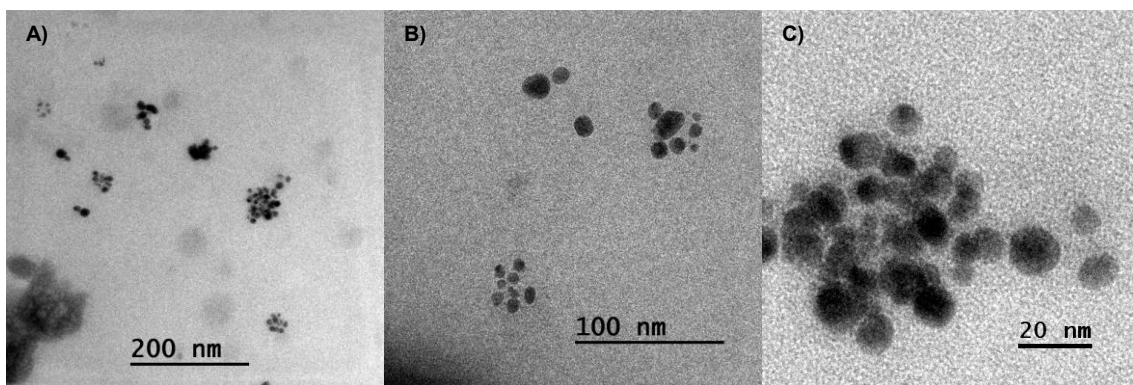


Figura 16: Micrografía de AgNP-*I. stans* 10:1 por TEM. A medición directa de; A) 200nm, B) 100nm y C) 20nm. Se observa una distribución de tamaños en escala nanométrica y una mayor tendencia a la agregación, las AgNP-*I. stans* 10:1 presentan una morfología cuasi-esférica con bordes lisos, y una variación ligera en los tamaños por lo que podrían considerarse también polidispersas.

Las micrografías obtenidas por TEM para AgNP-*I. stans* 1:5 y 10:1, muestran NPs bien definidas con formas cuasi-esféricas con tamaños que van de los 20 a 50 nm con una ligera tendencia a la aglomeración. De acuerdo a lo observado presentan una superficie lisa con bordes definidos en ambas proporciones.

7.6 Determinación de la IC₅₀ mediante ensayo MTT para el extracto acuoso de *I. stans* y las tres soluciones de nanopartículas, AgNP-*I.stans* 1:5 y 10:1.

La metodología se llevó a cabo como se describió anteriormente en el espectivo apartado y se obtuvieron los siguientes valores para la línea celular DAOY de meduloblastoma. Los resultados se muestran en la figura 17. En el eje X se representan los grupos evaluados y en el eje Y la concentración por µg/mL. Para CiF se obtuvo una media de 569.68 µg/mL con una desviación estandar de 107.15 µg/mL, para el extracto se obtuvo una media de 642.18 µg/mL con una desviación estandar de 117.99 µg/mL. Por otra parte, para AgNP-*I.stans* 1:5 la media obtenida fue de 654.37 µg/mL con una desviación estandar de 146.39 µg/mL, y finalmente para AgNP-*I.stans* 10:1 la media fue de 572.81 µg/mL y su desviación estandar fue de 65.62 µg/mL. Esto demuestra que el extracto presenta una IC₅₀ similar al control positivo (ciclofosfamida). Por otra parte, AgNP-*I.stans* 1:5 y 10:1 presentan una IC₅₀ más baja a comparación del extracto acuoso, pero 10:1 induce mayor citotoxicidad a concentraciones bajas. En este sentido, La proporción de AgNP-*I.stans* 10:1 es más eficiente para inducir citotoxicidad lo que podría sugerir una mayor producción de AgNP-*I.stans* o simplemente un mejor efecto citotóxico.

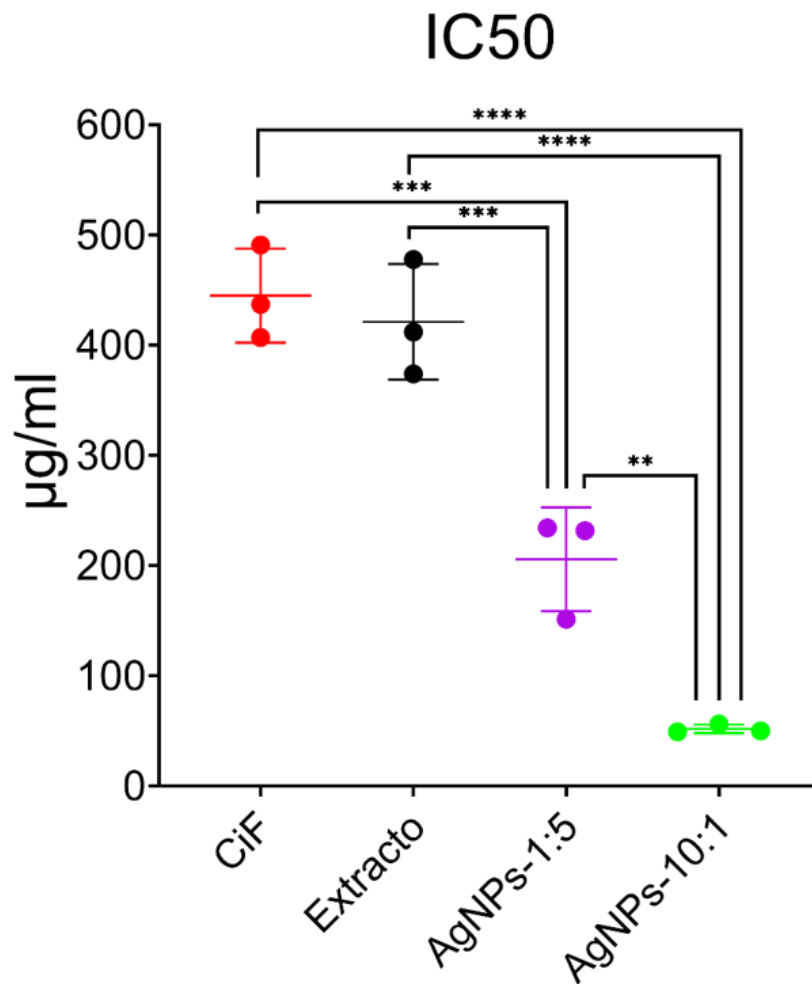


Figura 17. Determinación de la IC₅₀, para Cif (control), extracto acuoso de *I. stans*, AgNP-*I. stans* 1:5 y AgNP-*I. stans* 10:1. Valores de IC₅₀ obtenidos a partir de los ensayos de viabilidad celular (MTT), tras el tratamiento con ciclofosfamida, el extracto acuoso de *I. stans* y ambas soluciones de AgNP-*I. stans* 1:5 y 10:1. Los resultados están expresados como media y DE. De esta manera, se observaron diferencias significativas entre los grupos a evaluar, destacando una mayor actividad citotóxica de las AgNP-*I. stans* 10:1. Por otra parte, es importante resaltar que el extracto acuoso presentó una actividad similar a la ciclofosfamida, un antineoplásico utilizado comúnmente en la quimioterapia contra el MB.

8. Discusión

El campo de estudio sobre las NPs metálicas ha recibido mucha atención en los últimos años debido a sus propiedades fisicoquímicas y optoelectrónicas, propiedades que les permiten ser utilizadas en un amplio campo de investigación (Yaqoo et al., 2020). Y específicamente las NPs de plata con uso particularmente en el área de la nanomedicina (Xu et al., 2020), generadas mediante un proceso de química verde anteriormente mencionado, y ambientalmente amigable a partir de fitoquímicos presentes en las especies vegetales, los cuales actúan reduciendo a los iones de plata y estabilizando las NPs (Sharma et al., 2019 y Begum et al., 2022). Aunque también pueden ser generadas por otros métodos biológicos.

8.1 El extracto acuoso de *I. stans*

En un estudio realizado por Leon y colaboradores en el 2004, se identificaron 5 glucósidos de tetrasacáridos obtenidos de la raíz de *I. stans* en un extracto de acetato de etilo, a los que les llamaron stansinas 1-5. Con las fórmulas moleculares $C_{55}H_{94}O_{24}$, $C_{55}H_{94}O_{24}$, $C_{55}H_{94}O_{24}$, $C_{49}H_{84}O_{21}$ Y $C_{50}H_{86}O_{21}$ respectivamente los cuales fueron aislados y evaluados en las líneas celulares; HCT-15 de carcinoma de colon, UIISO-SQC-1 de carcinoma cervical y OVCAR-5 de carcinoma de ovario para determinar citotoxicidad, los compuestos 1, 2, y 3 únicamente indujeron citotoxicidad en UIISO-SQC-1, el compuesto 4 indujo poca citotoxicidad solo en OVCAR-5 y el compuesto 5 indujo citotoxicidad en OVCAR-5 (DE_{50} 1.5 $\mu\text{g/mL}$) y UIISO-SQC-1 (DE_{50} 4.0 $\mu\text{g/mL}$) (Leon et al., 2004). Es importante mencionar que no existen datos sobre la caracterización o elucidación de las moléculas presentes en el extracto acuoso de la raíz de esta especie vegetal, únicamente se encuentran datos sobre la elucidación del extracto de acetato de etilo de la raíz de *I. stans*. Sin embargo, Fan y colaboradores en 2022 reportaron la caracterización de las resinas glicosiladas en especies vegetales de la misma familia de *I. stans*. Los compuestos encontrados en las resinas glicosídicas presentes en la familia *Convolvulaceae* se encuentran en la tabla siguiente:

Tabla 4: Fotoquímicos encontrados en Colvolvulaceae

Ácido calihédico A
Ácido cuscutico E
Ácido escamónico A
Ácido evolvúlico A
Ácido fabítico C
Ácido Ipomeico
Ácido multifidínico E
Ácido multifidínico A
Ácido muricatico C
Ácido murucínico II
Ácido operculínico A y B
Ácido operculínico C
Ácido operculínico K
Ácido quamoclínico A
Ácido quamoclínico B
Ácido simónico A y B
Ácido soldanólico B
Ácido stansóico A
Ácido thirianthinoico
Ácido triclórico A
Ácidos albinosínicos A-C
Ácidos albinosínicos D-I
Ácidos arvénsecos K y L
Ácidos arvénsecos A-F
Ácidos arvénsecos G-J
Ácidos calihédicos B,E y F
Ácidos calihédicos C y D
Ácidos calisólicos A y B
Ácidos calisólicos C y D
Ácidos evolvulicos B y C
Ácidos fabíticos B y D
Ácidos multifidínicos C y D
Ácidos operculínicos H-J
Ácidos poránicos A y B
Ácidos purgicos A, C y D
Ácidos quamoclínicos C, D y G
Ácidos quamoclínicos E y F
Ácidos turpéticos A-C
Batatinas VII-XI
Calonictonas B-D
Canolictonas E e I
Cuses 3-7
Cuses 8-12
Dicondrina C
Dicondrinas A y B
Pescaprócido C
Quamosido A
Quamosido B
Stansina A
Tirianthinas A-E
Wolcotina I.

Dichos compuestos glicosilados así como los reportados por Leon y cols en 2004 presentan grupos funcionales de ácidos carboxílicos, carbonilos, hidroxilos, éteres y ésteres (Reynolds et al., 1995; Leon et al., 2004 y Fan et al., 2022). Estos grupos fueron identificados en el presente estudio mediante FTIR (discutida en el numeral 8.3), lo que sugiere que el extracto acuoso podría estar constituido en su mayoría por compuestos glicosilados previamente reportados. No obstante, para determinar con mayor precisión la composición del extracto sería necesaria su elucidación mediante técnicas cromatográficas, como la cromatografía en capa fina.

8.2 Espectrofotometría de luz UV-visible

La espectroscopia ultravioleta visible proporciona información sobre compuestos que presentan enlaces dobles conjugados. La luz ultravioleta y la luz invisible tienen la energía necesaria para causar una transición electrónica en una molécula; es decir, para promover a un electrón desde su orbital molecular a otro de mayor energía. Dependiendo de la energía necesaria para efectuar la transición electrónica, una molécula absorberá luz UV o visible, si absorbe luz ultravioleta, se obtiene un espectro UV, si absorbe luz visible, se obtendrá uno visible. La luz UV presenta longitudes de onda que van de 180 a 400 nm, mientras que la luz visible de 400 a 780 nm. Es importante mencionar que la longitud de onda guarda una relación inversa con la energía de la radiación, mientras más corta es la longitud de onda la energía es mayor por lo tanto la luz UV absorbe mayor energía que la visible. La absorbancia depende tanto de la concentración de la muestra como de la longitud de la trayectoria de la luz a través de la muestra (Yurkanis, 2008). La relación entre absorbancia, concentración y longitud de trayectoria de luz se expresa en la ley de Lambert y Beer, que se define por:

$$A = \epsilon c l$$

Donde: A = absorbancia de las muestras $= \log \frac{I_0}{I}$

I_0 = intensidad de la radiación que entra a la muestra

I = Intensidad de la radiación que sale de la muestra

c = concentración de la muestra, moles/litro

l = longitud de la trayectoria de la luz a través de la muestra, centímetros

ϵ = absorptividad molar, litros $\text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$

La absorptividad molar de un compuesto es una constante característica de ese compuesto a determinada longitud de onda.

En este sentido la espectroscopía UV-vis es una opción confiable para determinar la presencia de NPs metálicas. El espectro UV-vis para ambas soluciones fueron distintos entre ellos lo que demuestra que el tiempo de formación es similar pero que en la solución 10:1 se logra una producción menor lo que se infiere podría deberse a menor disposición de fitoquímicos que permitieran la reducción de los iones de plata para formar las NPs.

Como se observa en las figuras 10 y 11, existe un pico característico de resonancia plasmónica a 450 nm indicando la formación de las NPs. De acuerdo a los resultados obtenidos de los espectros UV-vis, el pico simétrico implica que la distribución de tamaños de las AgNPs es estrecha. El espectro de absorción UV-vis de las AgNPs depende del tamaño de las NPs, lo que indica que la absorbancia en la longitud de onda de máxima absorción (λ_{max}) aumenta a medida que incrementa el número de NPs. Y en el presente resultado se observa un aumento en la concentración de partículas conforme aumenta el tiempo.

De acuerdo a la teoría de Mie las NPs con diferentes tamaños deben presentar diferentes propiedades ópticas debido a las diferencias en las bandas de RPS. La interacción entre la luz y las NPs esféricas que experimentan resonancia plasmónica de superficie localizada se puede describir mediante esta teoría. De esta manera, el tamaño de la nanopartícula, la función dieléctrica del metal y la función dieléctrica del medio, la teoría de Mie puede emplearse para calcularla sección eficaz de extinción de una partícula y describir de manera efectiva su color (Wrigglesworth y Johnston, 2021). Los resultados obtenidos confirman que el cambio de color se debe a la formación de las AgNPs.

La caracterización de NPs por UV-vis es una técnica imprescindible para conocer

sus propiedades, algunos estudios han mostrado una identificación de la banda característica para las AgNPs en aproximadamente la misma región para NPs de plata conjugadas a extractos acuosos de especies vegetales como fueron los resultados de Virgneswari y cols (2021), que reportaron un pico en 429 nm para AgNPs acopladas a extracto acuoso de la hoja de *Strobilanthes glutinous*. Así como, picos de absorbancia máxima en 418 nm, 430 nm, 428 nm para NPs conjugadas a *Ajuga bracteosa* (Szczepanska et al., 2020), *Pedaliium murex* (Virgneswari et al., 2021) y *Erythrina suberosa* (Bapat et al., 2022), respectivamente. En otro estudio realizado por Salayová y cols (2021), las AgNPs presentaron picos de absorbancia máxima en 421 nm, 422 y 426 nm para las plantas *Berberis vulgaris*, *Capsella bursa-pastoris* y *Origanum vulgare* (Hu et al., 2020). y resultados similares reportados por Noukelag y cols (2020).

8.3 Detección de los grupos funcionales acoplados a las AgNPs mediante FTIR

Los fotoquímicos encontradas en extractos vegetales como flavonoides, cetonas, aldehídos, taninos, ácidos carboxílicos, compuestos fenólicos y proteínas que permiten reducir los iones de plata Ag^+ a Ag^0 para generar AgNPs. Estos compuestos presentan grupos funcionales que permiten ser identificados mediante FTIR.

Los enlaces vibran debido a que experimentan movimientos de estiramiento y de flexión. Un estiramiento es una vibración que sucede a lo largo de la línea del enlace que cambia la longitud del mismo y una flexión es una vibración que no sucede a lo largo de la línea del enlace, las vibraciones de flexión cambian los ángulos del enlace. En el caso de las moléculas que tenga tres o más átomos al ser más complejas pueden experimentar estiramientos y/o flexiones simétricos y asimétricos, y sus vibraciones de flexión pueden ocurrir en un plano o fuera de este. En este sentido, las vibraciones de flexión casi siempre se indican con términos descriptivos como oscilación, de tijeras y torsión. Cada vibración de flexión y de estiramiento de cualquier enlace sucede con una frecuencia característica y puede ser determinada por la radiación infrarroja ya que presenta justamente las

frecuencias que corresponden para las vibraciones de estiramiento y flexión en las moléculas orgánicas que va de los 4000 a 600 cm^{-1} .

De esta manera, cuando una molécula es irradiada con una frecuencia que coincida exactamente con la de uno de sus modos de vibración, la molécula absorbe energía esto permite que los enlaces se estiren y flexionen un poco más. Así, si se determinan en forma experimental los números de onda de la energía que absorbe determinado compuesto, se puede indicar que clases de enlaces tiene. Un espectro infrarrojo se obtiene haciendo pasar radiación infrarroja a través de una muestra de un compuesto y se obtiene una gráfica del porcentaje de la transmitancia de la radiación en función del número de onda de la radiación transmitida, el espectrofotómetro infrarrojo con transformada de Fourier permite explorar las frecuencias una tras otra de manera simultánea permitiendo analizar la muestra de manera más efectiva y rápida (Yurkanis, 2008).

De acuerdo a los resultados obtenidos por FTIR observados en la figura 14 se pudieron identificar las siguientes frecuencias de vibraciones de estiramiento; en la región 3500–3200 cm^{-1} , se observa una banda ancha atribuida a O-H (alcoholes, fenoles, agua). Puede incluir también la señal de N-H de amidas (proteínas del extracto). Se observa disminución en la intensidad o desplazamiento, indicando interacciones con las AgNPs. Segundo, la región 2950–2850 cm^{-1} : Existen estiramientos de C-H (alifáticos: CH_2 , CH_3). Se observa que estas bandas se reducen o modifican levemente en las muestras con AgNPs, indicando cambios en la matriz orgánica. Tercero, en la región 1750–1650 cm^{-1} : se observa una banda intensa ~1650 cm^{-1} : lo que sugiere C=O (carbonilo) de amidas (proteínas) o ésteres. Aunque también posible vibración de C=C conjugado. Asimismo, se observan desplazamientos, lo que podría sugerir que en presencia de AgNPs existe una coordinación con carbonilos o enlaces amídicos. Cuarto, la región 1600–1400 cm^{-1} : sugiere anillos aromáticos (C=C aromáticos) o deformaciones N-H. los cambios sutiles en los espectros con AgNPs indican posible interacción con anillos fenólicos o proteínas.

Algunos análisis de FTIR para AgNPs acopladas a extractos acuosos de especies vegetales, reportan la presencia de picos en similares números de onda. Javed y cols (2023) reportaron algunos grupos funcionales presentes en el extracto y en las AgNPs aunque presentan ligeras diferencias entre sí. En su extracto observaron picos a 2920 cm⁻¹ y 2845 cm⁻¹ que representan el estiramiento C-H y picos similares también fueron reportados en un estudio de Rajakumar y cols (2012) a 1631 cm⁻¹, 2922 cm⁻¹ y 2853 cm⁻¹. Devaraj y cols (2013) reportaron en su estudio los picos de AgNPs en 2927 cm⁻¹, 1631 cm⁻¹ y 1383 cm⁻¹ los cuales se asemejan estrechamente a los picos encontrados a nuestros picos a 2907 cm⁻¹, 1633 cm⁻¹ y 1384 cm⁻¹ representando C-H o N-H, C=O y C-N respectivamente, aunque en ausencia del pico de O-H encontrado en nuestro resultado a 3500 cm⁻¹. Jyoti y cols (2016) reportaron picos en sus espectros de FTIR para NPs de plata acopladas al extracto acuoso de *Urtica dioica*, sus espectros FTIR mostraron picos a 2921 cm⁻¹, 1631 cm⁻¹, 1377 cm⁻¹, 1240 cm⁻¹ y 1043 cm⁻¹, los cuales son similares a nuestros picos en 2907 cm⁻¹, 1633 cm⁻¹, 1384 cm⁻¹, 1240 cm⁻¹ y 1028 cm⁻¹, exceptuando el pico de los OH. En otro estudio, los picos reportados para NPs de plata fueron 3271 cm⁻¹, 1633cm⁻¹, 1397cm⁻¹ y 1081 cm⁻¹, los cuales son similares a nuestros picos para AgNP-*I. stans* a 3257 cm⁻¹, 1633 cm⁻¹, 1384 cm⁻¹ y 1028 cm⁻¹.

Por otra parte, Devaraj y cols (2014) reportó picos a 1629 cm⁻¹, 1041 cm⁻¹ y 833 cm⁻¹ similares a los observados para el extracto acuoso de *I. stans* donde se observa la presencia de un pico ligero a los 800 cm⁻¹, en muestras de raíz para *Strobilanthes glutinosus* reportadas por Javed y cols (2023), se observaron a 1617 cm⁻¹, 1027 cm⁻¹ y 875 cm⁻¹, mostrando el estiramiento del carbonilo (C=O), estiramiento del C-N (amina) y C=C. En un estudio llevado a cabo por Dixit y cols (2022), los picos encontrados fueron a 1633 cm⁻¹, 1397 cm⁻¹ y 1081cm⁻¹. Así mismo, Devanesan y Alsalhi (2021) reportaron picos a 1641 cm⁻¹, y 1066 cm⁻¹, relacionados a los picos a 1617 cm⁻¹ y 1033 cm⁻¹ reportados en NPs conjugadas a extractos acuosos de raíz. Kandakumar y cols (2014) reportaron picos para AgNPs acopladas a *Hydnocarpus alpina* a 3390cm⁻¹ y 1320 cm⁻¹, los cuales son cercanos a nuestros picos de AgNPs de raíz encontrados a 3338 cm⁻¹ y 1313 cm⁻¹, mostrando el estiramiento de OH posiblemente de fenoles o agua y el estiramiento

C=O de compuestos carbonílicos.

8.3 Identificación de composición elemental por EDS

La fluorescencia de rayos X por energía dispersiva es una técnica que permite conocer la composición de una muestra mediante la identificación de elementos presentes en ella. La emisión de rayos X es un fenómeno producido por la excitación de la capa interna mediante electrones incidentes, cuando un electrón de una capa interna transita a un nivel de energía alta, el hueco en la capa interna es ocupado por un electrón de un nivel de energía más alto, lo que resulta en la emisión de un rayo X característico con energía correspondiente a la diferencia entre dos niveles de energía. Cuando el electrón en el nivel de mayor energía transita al nivel de menor energía solo puede ocurrir la transición que corresponde a la diferencia del número cuántico de momento angular orbital $\Delta l = \pm 1$, según la regla de selección. El proceso de emisión del rayo X característico $K\alpha$ debido a la transición $L3 \rightarrow K$, que resulta de la formación de un hueco en la capa interna $1s$ (capa K), aunque se pueden emitir diversos rayos X característicos debido a la formación de huecos en las capas K y L , las especies de rayos X característicos se representan mediante símbolos como $K\alpha_1$, $K\alpha_2$ y así sucesivamente. La K indica el rayo X emitido cuando el electrón transita hacia la capa K desde una capa externa. De manera similar, las series L y M corresponden a los rayos X emitidos cuando el electrón transita hacia la capa L y la capa M , respectivamente. La letra griega y el número indican la especie de transición correspondiente al rayo X característico específico. Debido a que los rayos X característicos tienen una energía específica correspondiente a cada elemento, el elemento puede ser identificado a partir de la energía del pico y el contenido del elemento en el compuesto puede analizarse a partir de la intensidad integrada del pico (Yurkanis, 2008).

La composición elemental para el extracto acuoso de *I. stans* permitió la identificación de C, O, K, S, Cl y P. En este sentido, los extractos vegetales contienen fitoquímicos (alcaloides, flavonoides, proteínas, polisacáridos, celulosa y compuestos fenólicos) y metabolitos secundarios, que se utilizan para la síntesis de

NPs (Kuppusamy et al. 2015a, b; Mata et al. 2016; Patil et al. 2012). Por otra parte, la composición elemental para la solución AgNP-*I.stans* 1:5 nos permitió identificar; C, O, Na, Mg, S y Ag. Se observa la plata como 6° elemento más presente, confirmando así la solución AgNO₃ 1:5. Así mismo, la solución AgNP-*I.stans* 10:1 está constituida de C, O, Ag, Si, Na y Mg, se observa la plata como 3° elemento más presente, confirmando así la solución AgNO₃ 10:1.

8.4 Determinación del radio hidrodinámico por DLS

El tamaño promedio de las NPs y el índice de polidispersidad (PDI) se puede conocer mediante la dispersión dinámica de Luz de las NPs en solución. Esta técnica determina el diámetro de la nanopartícula mediante las propiedades de dispersión de luz y el movimiento Browniano (De assis et al., 2008).

De acuerdo a datos reportados por Liaqat y cols (2022), el tamaño promedio de las NPs estudiadas por ellos las cuales fueron conjugadas a extractos acuosos de *E. camadulensis*, *T. arjuna* fueron de 43 y 23 nm, el PDI de 0.399 y 0.716 respectivamente. Los valores de PDI mayores a 0.7 indica que la solución es polidispersa, pero si presentan un valor menor a 0.7 indica monodispersidad (Honary et al., 2013). Liaqat y cols (2022) también reportaron que las nanopartículas de plata monodispersas mostraron un mejor desempeño y aplicaciones en comparación que las NPs polidispersas.

Los resultados para la solución 1:5 y 10:1 de las AgNP-*I. stans* presentaron valores de 53.18 nm y 61.10 nm para el diámetro hidrodinámico respectivamente y 52.85% así como 26.40% para el índice de polidispersión siendo ambas soluciones monodispersas. También, en un estudio llevado a cabo por Naderi-Samani y cols (2023) identificaron valores para el diámetro hidrodinámico de 34 nm y un IPD igual a 0.32 para AgNPs.

8.5 Análisis de NPs por potencial zeta

En las soluciones del tipo iónico, las NPs con una carga neta tienen una capa de

iones (carga opuesta) que está fuertemente unida a su superficie y se le conoce como capa de Stern. También existe una segunda capa externa difusa que está constituida por iones débilmente asociados, y a estas dos capas se les denomina doble capa eléctrica. Si la partícula se mueve se genera una distinción entre los iones de la capa difusa que se desplazan con la nanopartícula y los iones que permanecen en el dispersante. El potencial electrostático en este límite llamado plano de deslizamiento se le conoce como el potencial zeta y se encuentra relacionado con la carga superficial de la nano partícula.

En este sentido, para determinar las mediciones de este parámetro, se aplica un campo eléctrico a través de la muestra y se mide el movimiento de las NPs (movilidad electroforética) mediante velocimetría de laser Doppler y se hace uso de la ecuación de Henry para conocer el potencial zeta ζ ; donde U_e es la movilidad electroforética, ϵ es la constante dieléctrica, η es la viscosidad absoluta, $f(ka)$ es la función de Henry, y ka una medida de la relación entre el radio de la partícula y la longitud de Debye (Yurkanis, 2008).

$$U_e = \frac{2\epsilon z f(ka)}{3\eta},$$

De esta manera, las NPs con un potencial zeta de -10 y +10 mV se consideran aproximadamente neutras, mientras que las NPs con potenciales mayores a + 30 mV o menores a -30 mV se consideran fuertemente catiónicas y aniónicas, respectivamente.

Los valores obtenidos para las soluciones 1:5 y 10:1 fueron -19.53 mV y -16.25 mV lo que nos permite inferir que las NPs son ligeramente aniónicas. Flieger y cols (2021) reportaron el valor de potencial zeta para nano partículas de plata conjugadas al extracto acuoso *Capsicum baccatum* de presentaron un valor de -35 mV lo que indica la existencia de una estabilización electrostática debida a la interacción de las biomoléculas en la superficie de las NPs. En otro estudio llevado a cabo por Zuorro y cols (2022) se obtuvieron valores de -30.5 a -20.7 mV para NPs de plata acopladas a un extracto acuoso de granos de café. La presencia de

compuestos como polifenólicos, flavonoides, carotenoides en los extractos acuosos se han reportado como responsables del proceso de reducción. Así mismo, en la estabilización la cual juega un papel importante en la dispersión de la suspensión los compuestos que contienen grupos carboxilos, proteínas, y carbohidratos están altamente involucrados.

Es importante mencionar que el potencial zeta es dependiente de pH y la conductividad del medio dispersante. Por lo que la diferencia de valores podría deberse a la diferencia de pH entre cada solución, las elaboradas en el presente proyecto y las que han sido citadas. El valor del potencial zeta obtenido es un valor promedio. Por lo que, si la muestra es monodispersa, el valor corresponde al potencial zeta del único componente presente en la muestra. Sin embargo, si la muestra es polidispersa (contiene varias especies diferentes con variación en sus densidades de carga) (Clogston y Patri, 2011).

8.6 Determinación de la IC₅₀ por ensayos MTT

Los ensayos de toxicidad por MTT en la línea celular DAOY se llevaron a cabo evaluando el extracto acuoso de *I. stans*, las AgNP-*I.stans* 1:5 y 10:1 y ciclofosfamida, un antineoplásico utilizado comúnmente en la práctica contra el MB como control de toxicidad. Y se obtuvo una curva para determinar la IC₅₀ de cada condición evaluada, la media obtenida para Cif fue de 445.0 µg/mL, para el extracto acuoso de *I. stans* de 421.2 µg/mL, para AgNP-*I.stans* 1:5 de 205.8 µg/mL, y para AgNP-*I.stans* 10:1 de 51.84 µg/mL, los resultados demostraron que el extracto acuoso induce una IC₅₀ similar al control, un antineoplásico utilizado ampliamente en el tratamiento contra el meduloblastoma, y ambas soluciones de AgNP-*I.stans* indujeron aun mayor toxicidad siendo la solución 1:10 más tóxica.

Reynolds y cols (1995) reportaron la toxicidad de *I. stans*, en ensayos realizados por el grupo determinaron la DE₅₀ para dos fracciones del extracto de *I. stans*, la fracción con compuestos menos polares se evaluó identificando una DE₅₀ de 1.5, 1.5 y 3.2 µg/mL para las líneas celulares KB, HCT15 y SQC-1 UISO

respectivamente. También evaluaron el extracto con polisacáridos más polares, donde obtuvieron 2.0, 25.1 y 16.2 $\mu\text{g/mL}$ para KB, HCT-15 y SQC-1USIO respectivamente. León-Rivera y cols (2016) evaluaron la toxicidad de dos compuestos encontrados en *I. stans*, el jalapinosido 1 y reportaron que en las líneas celulares de Glioma (C6 y RG2), a una concentración de 1 $\mu\text{g/mL}$ en 24 horas se identificó una reducción de la viabilidad del 40% y 54% y a una concentración de 0.1 $\mu\text{g/mL}$ en un tiempo de 48 horas se detectó una reducción de la viabilidad celular del 73% y 78% respectivamente para ambas líneas celulares. Sin embargo, la citotoxicidad del extracto acuoso de *I. stans* no ha sido previamente evaluada; por lo tanto, en el presente estudio se reporta por primera vez su actividad citotóxica. De la misma manera tampoco se han reportado la toxicidad de NPs de plata conjugadas al extracto acuoso de *I. stans*, pero sí de AgNPs acopladas a otros extractos acuosos de especies vegetales. Abdelsattar y cols (2024) determinaron que la IC_{50} para las Ag acopladas a extracto de propoleo presentando valores de IC_{50} de 24.5 $\mu\text{g/mL}$ en la línea celular MCF7 (mama) y 29.1 $\mu\text{g/mL}$ para la línea celular HepG2 (hepatoma). Por otro lado, Safaepour y cols (2009) reportaron la actividad citotóxica de AgNPs conjugadas a geraniol (compuesto identificado en *Pelargonium graveolens* y *Azadirachta indica*), en una línea celular de fibrosarcoma (WEHI 164), los análisis de toxicidad demostraron que a una concentración de 1 $\mu\text{g/mL}$ las AgNPs inhibían el crecimiento de las células en un 30% pero a una concentración de 5 $\mu\text{g/mL}$ se reducía la viabilidad en un 60%.

9. Conclusión

En el presente proyecto se evaluaron dos soluciones de AgNP-*I. stans* en proporción 1:5 y 10:1 de nitrato de plata y extracto acuoso de *I. stans*, respectivamente, dichas NPs fueron caracterizadas mediante UV-vis donde se observó el pico característico a 450 nm correspondiente a la plata, lo que indicó que las AgNP-*I. stans* son cuasiesféricas comprobado posteriormente por TEM. Asimismo, el análisis de FTIR permitió identificar grupos funcionales de; OH, COOH, C=O, CO, -O- Y CN los cuales han sido reportados frecuentemente en los compuestos orgánicos que podrían intervenir en la reducción de la plata y la estabilización de las NPs. El diámetro hidrodinámico fue detectado por la técnica de dispersión dinámica de luz donde se comprobó que las AgNP-*I. stans* 1:5 presentaron un tamaño promedio de 53.18 nm y AgNP-*I. stans* 10:1 un diámetro promedio de 61.10 nm. Finalmente, los resultados de citotoxicidad demostraron que el extracto acuoso de *I. stans* induce una IC₅₀ similar al control (ciclofosfamida), y ambas soluciones indujeron aun mayor toxicidad siendo la solución 1:10 la más citotóxica.

10. Perspectivas

1. Comprobar la existencia de iones de plata en ambas soluciones mediante procesos electroquímicos.
2. Identificar y aislar los compuestos presentes en el extracto acuoso *de I. stans* que inducen la citotoxicidad.
3. Determinar el mecanismo por el cual las NPs inducen citotoxicidad en las células de meduloblastoma.
4. Evaluar las NPs en otra línea celular para diferenciar sensibilidad celular.
5. Evaluar la actividad de las AgNP-*I.stans* en un modelo *in vivo* de meduloblastoma

11. Bibliografía

- Abdelsattar, A. S., Kamel, A. G., Elbermawy, Y., Gamal, H., & El-Shibiny, A. (2024). The selective cytotoxicity effect of biosynthesized zinc oxide nanoparticles using honey. *Materials Letters*, 367, 136657.
- Ahamed, A., Yin, K., Ng, B. J. H., Ren, F., Chang, V. C., & Wang, J. Y. (2016). Life cycle assessment of the present and proposed food waste management technologies from environmental and economic impact perspectives. *Journal of Cleaner Production*, 131, 607-614.
- Ahamed, M. (2011). Toxic response of nickel nanoparticles in human lung epithelial A549 cells. *Toxicology in vitro*, 25(4), 930-936.
- Ahamed, M., Akhtar, M. J., Siddiqui, M. A., Ahmad, J., Musarrat, J., Al-Khedhairi, A. A., ... & Alrokayan, S. A. (2011). Oxidative stress mediated apoptosis induced by nickel ferrite nanoparticles in cultured A549 cells. *Toxicology*, 283(2-3), 101-108.
- Ahmad, T., Bustam, M. A., Irfan, M., Moniruzzaman, M., Asghar, H. M. A., & Bhattacharjee, S. (2018). Green synthesis of stabilized spherical shaped gold nanoparticles using novel aqueous *Elaeis guineensis* (oil palm) leaves extract. *Journal of Molecular Structure*, 1159, 167-173.
- Ahmed, S., & Ikram, S. (2015). Silver nanoparticles: one pot green synthesis using *Terminalia arjuna* extract for biological application. *J. Nanomed. Nanotechnol*, 6(4), 1-6.
- Ahmed, S., & Ikram, S. (2015). Silver nanoparticles: one pot green synthesis using *Terminalia arjuna* extract for biological application. *J. Nanomed. Nanotechnol*, 6(4), 1-6.
- Ahmed, S., Ahmad, M., Swami, B. L., & Ikram, S. (2016). Green synthesis of silver nanoparticles using *Azadirachta indica* aqueous leaf extract. *Journal of radiation research and applied sciences*, 9(1), 1-7.
- Ajitha, B., Reddy, Y. A. K., & Reddy, P. S. (2015). Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using *Lantana camara* leaf extract. *Materials science and engineering: C*, 49, 373-381.
- Ajitha, B., Reddy, Y. A. K., & Reddy, P. S. (2015). Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using *Lantana camara* leaf extract. *Materials science and engineering: C*, 49, 373-381.

- Akhtar, M. S., Jutt, D. S. R., Aslam, S., Nawaz, R., Irshad, M. A., Khan, M., ... & Zaki, M. E. (2024). Green synthesis of graphene oxide and magnetite nanoparticles and their arsenic removal efficiency from arsenic contaminated soil. *Scientific Reports*, 14(1), 23094.
- Akhtar, M. S., Panwar, J., & Yun, Y. S. (2013). Biogenic synthesis of metallic nanoparticles by plant extracts. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 1(6), 591-602.
- Akhtar, M. S., Panwar, J., & Yun, Y. S. (2013). Biogenic synthesis of metallic nanoparticles by plant extracts. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 1(6), 591-602.
- Akhter, N., Batool, M., Yaqoob, A., Shahid, M., Muhammad, F., Khan, J., ... & Gancarz, M. (2024). Potential biological application of silver nanoparticles synthesized from *Citrus paradisi* leaves. *Scientific Reports*, 14(1), 29028.
- Anjum, S., Hashim, M., Malik, S. A., Khan, M., Lorenzo, J. M., Abbasi, B. H., & Hano, C. (2021). Recent advances in zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) for cancer diagnosis, target drug delivery, and treatment. *Cancers*, 13(18), 4570.
- Argueta, A., & Vázquez, M. C. G. (1994). *Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana*. Instituto Nacional Indigenista.
- Argueta, A., & Vázquez, M. C. G. (1994). *Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana*. Instituto Nacional Indigenista.
- Banerjee, P., Satapathy, M., Mukhopahayay, A., & Das, P. (2014). Leaf extract mediated green synthesis of silver nanoparticles from widely available Indian plants: synthesis, characterization, antimicrobial property and toxicity analysis. *Bioresources and Bioprocessing*, 1(1), 3.
- Banerjee, P., Satapathy, M., Mukhopahayay, A., & Das, P. (2014). Leaf extract mediated green synthesis of silver nanoparticles from widely available Indian plants: synthesis, characterization, antimicrobial property and toxicity analysis. *Bioresources and Bioprocessing*, 1(1), 3.
- Banik, B., & Dhar, S. (2018). Centrifugation-Free Magnetic Isolation of Functional Mitochondria Using Paramagnetic Iron Oxide Nanoparticles. *Current protocols in cell biology*, 76(1), 25-4.
- Bapat, M. S., Singh, H., Shukla, S. K., Singh, P. P., Vo, D. V. N., Yadav, A., ... & Kumar, D. (2022). Evaluating green silver nanoparticles as prospective biopesticides: An environmental standpoint. *Chemosphere*, 286, 131761.

- Begum, S. J., Pratibha, S., Rawat, J. M., Venugopal, D., Sahu, P., Gowda, A., ... & Jaremko, M. (2022). Recent advances in green synthesis, characterization, and applications of bioactive metallic nanoparticles. *Pharmaceuticals*, 15(4), 455.
- Beyth, N., Houri-Haddad, Y., Domb, A., Khan, W., & Hazan, R. (2015). Alternative antimicrobial approach: nano-antimicrobial materials. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015(1), 246012.
- Bhattacharyya, S., Khan, J. A., Curran, G. L., Robertson, J. D., Bhattacharya, R., & Mukherjee, P. (2011). Efficient delivery of gold nanoparticles by dual receptor targeting. *Advanced materials (Deerfield Beach, Fla.)*, 23(43), 5034.
- Blassan Plackal, A. G., Neeraj, K., Heidi, A., & Suprakas Sinha, R. (2018). Apoptotic efficacy of multifaceted biosynthesized silver nanoparticles on human adenocarcinoma cells. *Nature*, 14.
- Brandes, A. A., Ermani, M., Amista, P., Basso, U., Vastola, F., Gardiman, M., ... & Berti, F. (2003). The treatment of adults with medulloblastoma: a prospective study. *International Journal of Radiation Oncology* Biology* Physics*, 57(3), 755-761.
- Cavanagh, M. H., Burrell, R. E., & Nadworny, P. L. (2010). Evaluating antimicrobial efficacy of new commercially available silver dressings. *International Wound Journal*, 7(5), 394-405.
- Choi, O., Deng, K. K., Kim, N. J., Ross Jr, L., Surampalli, R. Y., & Hu, Z. (2008). The inhibitory effects of silver nanoparticles, silver ions, and silver chloride colloids on microbial growth. *Water research*, 42(12), 3066-3074.
- Choudhary, M. K., Kataria, J., Cameotra, S. S., & Singh, J. (2016). A facile biomimetic preparation of highly stabilized silver nanoparticles derived from seed extract of *Vigna radiata* and evaluation of their antibacterial activity. *Applied nanoscience*, 6(1), 105-111.
- Coccia, F., Tonucci, L., Bosco, D., Bressan, M., & d'Alessandro, N. (2012). One-pot synthesis of lignin-stabilised platinum and palladium nanoparticles and their catalytic behaviour in oxidation and reduction reactions. *Green Chemistry*, 14(4), 1073-1078.
- De Assis, D. N., Mosqueira, V. C. F., Vilela, J. M. C., Andrade, M. S., & Cardoso, V. N. (2008). Release profiles and morphological characterization by atomic force microscopy and photon correlation spectroscopy of 99mTechnetium-fluconazole nanocapsules. *International journal of pharmaceutics*, 349(1-2), 152-160.

- De Matteis, V., Cascione, M., Toma, C. C., & Leporatti, S. (2018). Silver nanoparticles: synthetic routes, in vitro toxicity and theranostic applications for cancer disease. *Nanomaterials*, 8(5), 319.
- Devanesan, S., & AlSalhi, M. S. (2021). Green synthesis of silver nanoparticles using the flower extract of *Abelmoschus esculentus* for cytotoxicity and antimicrobial studies. *International journal of Nanomedicine*, 3343-3356.
- Devaraj, P., Aarti, C., & Kumari, P. (2014). Synthesis and characterization of silver nanoparticles using *Tabernaemontana divaricata* and its cytotoxic activity against MCF7 cell line. *Int J Pharm Pharm Sci*, 6(8), 86-90.
- Devaraj, P., Kumari, P., Aarti, C., & Renganathan, A. (2013). Synthesis and characterization of silver nanoparticles using cannonball leaves and their cytotoxic activity against MCF-7 cell line. *Journal of nanotechnology*, 2013(1), 598328.
- Dhamecha, D., Jalalpure, S., & Jadhav, K. (2016). *Nepenthes khasiana* mediated synthesis of stabilized gold nanoparticles: Characterization and biocompatibility studies. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 154, 108-117.
- Dhand, V., Soumya, L., Bharadwaj, S., Chakra, S., Bhatt, D., & Sreedhar, B. J. M. S. (2016). Green synthesis of silver nanoparticles using *Coffea arabica* seed extract and its antibacterial activity. *Materials Science and Engineering: C*, 58, 36-43.
- Dixit, S., Vishnoi, N., Tripathi, N. M., Singh, D. P., & Sharma, Y. K. (2022). Biosynthesis of nanostructured silver by green algae and evaluation of its microbicidal property against pathogenic microbes. *Environmental Sustainability*, 5(2), 197-206.
- Dubey, S. P., Lahtinen, M., & Sillanpää, M. (2010). Tansy fruit mediated greener synthesis of silver and gold nanoparticles. *Process Biochemistry*, 45(7), 1065-1071.
- Fabbro, C., Ali-Boucetta, H., Da Ros, T., Kostarelos, K., Bianco, A., & Prato, M. (2012). Targeting carbon nanotubes against cancer. *Chemical communications*, 48(33), 3911-3926.
- Fan, B. Y., Jiang, X., Li, Y. X., Wang, W. L., Yang, M., Li, J. L., ... & Chen, G. T. (2022). Chemistry and biological activity of resin glycosides from *Convolvulaceae* species. *Medicinal Research Reviews*, 42(6), 2025-2066.
- Ferguson, S., & Lesniak, M. S. (2005). Percival Bailey and the classification of brain tumors. *Neurosurgical focus*, 18(4), 1-6.

- Ferrante, L., Mastronardi, L., Celli, P., Acqui, M., Cervoni, L., Fortuna, A. (1991). Medulloblastoma in adulthood. *J Neurosurg Sci* 1991;35:23–30
- Flieger, J., Franus, W., Panek, R., Szymańska-Chargot, M., Flieger, W., Flieger, M., & Kołodziej, P. (2021). Green synthesis of silver nanoparticles using natural extracts with proven antioxidant activity. *Molecules*, 26(16), 4986.
- Geetha, R., Ashokkumar, T., Tamilselvan, S., Govindaraju, K., Sadiq, M., & Singaravelu, G. (2013). Green synthesis of gold nanoparticles and their anticancer activity. *Cancer Nanotechnology*, 4(4), 91-98.
- Ghaffari-Moghaddam, M., & Hadi-Dabanlou, R. (2014). Plant mediated green synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles using *Crataegus douglasii* fruit extract. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 20(2), 739-744.
- Govindarajan, M., Rajeswary, M., Veerakumar, K., Muthukumaran, U., Hoti, S. L., & Benelli, G. (2016). Green synthesis and characterization of silver nanoparticles fabricated using *Anisomeles indica*: mosquitocidal potential against malaria, dengue and Japanese encephalitis vectors. *Experimental Parasitology*, 161, 40-47.
- Honary, S., Gharaei-Fathabad, E., Barabadi, H., & Naghibi, F. (2013). Fungus-mediated synthesis of gold nanoparticles: a novel biological approach to nanoparticle synthesis. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 13(2), 1427-1430.
- Hoshyar, R., Khayati, G. R., Poorgholami, M., & Kaykhail, M. (2016). A novel green one-step synthesis of gold nanoparticles using crocin and their anti-cancer activities. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 159, 237-242.
- Hsiao, I. L., & Huang, Y. J. (2011). Effects of various physicochemical characteristics on the toxicities of ZnO and TiO₂ nanoparticles toward human lung epithelial cells. *Science of the total environment*, 409(7), 1219-1228.
- Hu, C. M. J., & Zhang, L. (2012). Nanoparticle-based combination therapy toward overcoming drug resistance in cancer. *Biochemical pharmacology*, 83(8), 1104-1111.
- Hu, J., Xu, T., & Cheng, Y. (2012). NMR insights into dendrimer-based host–guest systems. *Chemical reviews*, 112(7), 3856-3891.
- Hubbard, J. L., Scheithauer, B. W., Kispert, D. B., Carpenter, S. M., Wick, M. R., & Laws, E. R. (1989). Adult cerebellar medulloblastomas: the pathological, radiographic, and clinical

disease spectrum. *Journal of neurosurgery*, 70(4), 536-544.

Iravani, S. (2011). Green synthesis of metal nanoparticles using plants. *Green chemistry*, 13(10), 2638-2650.

Javed, R., Ijaz, S., Hameed, H., Nazish, M., Sharif, M. S., Afreen, A., ... & Tariq, M. (2023). Phytochemical-mediated biosynthesis of silver nanoparticles from *Strobilanthes glutinosus*: Exploring biological applications. *Micromachines*, 14(7), 1372.

Jian, J. W., Chiu, W. C., Chang, H. T., Hsu, P. H., & Huang, C. C. (2013). Fibrinolysis and thrombosis of fibrinogen-modified gold nanoparticles for detection of fibrinolytic-related proteins. *Analytica chimica acta*, 774, 67-72.

Jugan, M. L., Barillet, S., Simon-Deckers, A., Herlin-Boime, N., Sauvaigo, S., Douki, T., & Carriere, M. (2012). Titanium dioxide nanoparticles exhibit genotoxicity and impair DNA repair activity in A549 cells. *Nanotoxicology*, 6(5), 501-513.

Jyoti, K., Baunthiyal, M., & Singh, A. (2016). Characterization of silver nanoparticles synthesized using *Urtica dioica* Linn. leaves and their synergistic effects with antibiotics. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 9(3), 217-227.

Kandakumar, S., Sathya, V., & Manju, V. (2014). Synthesis and characterization of silver nanoparticles using *Hydnocarpus alpina*, its application as A potent antimicrobial and antioxidant agent—a novel study. *Int. J. Chem. Tech. Res*, 6, 4770-4776.

Kelly, K. L., Coronado, E., Zhao, L. L., & Schatz, G. C. (2003). The optical properties of metal nanoparticles: the influence of size, shape, and dielectric environment. *The Journal of Physical Chemistry B*, 107(3), 668-677.

Kheradmand, E., Rafii, F., Yazdi, M. H., Sepahi, A. A., Shahverdi, A. R., & Oveisi, M. R. (2014). The antimicrobial effects of selenium nanoparticle-enriched probiotics and their fermented broth against *Candida albicans*. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 22(1), 48.

Klekotko, M., Matczyszyn, K., Siednienko, J., Olesiak-Banska, J., Pawlik, K., & Samoc, M. (2015). Bio-mediated synthesis, characterization and cytotoxicity of gold nanoparticles. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 17(43), 29014-29019.

Koren, K., Brodersen, K. E., Jakobsen, S. L., & Kühl, M. (2015). Optical sensor nanoparticles in artificial sediments—a new tool to visualize O₂ dynamics around the rhizome and roots of seagrasses. *Environmental Science & Technology*, 49(4), 2286-2292.

- Krithiga, N., Rajalakshmi, A., & Jayachitra, A. (2015). Green synthesis of silver nanoparticles using leaf extracts of *Clitoria ternatea* and *Solanum nigrum* and study of its antibacterial effect against common nosocomial pathogens. *Journal of Nanoscience*, 2015(1), 928204.
- Kumar, P., Nagarajan, A., & Uchil, P. D. (2018). Analysis of cell viability by the MTT assay. *Cold spring harbor protocols*, 2018(6), pdb-prot095505.
- Kuppusamy, P., Ichwan, S. J., Parine, N. R., Yusoff, M. M., Maniam, G. P., & Govindan, N. (2015). Intracellular biosynthesis of Au and Ag nanoparticles using ethanolic extract of *Brassica oleracea* L. and studies on their physicochemical and biological properties. *Journal of Environmental Sciences*, 29, 151-157.
- Kuppusamy, P., Yusoff, M. M., Maniam, G. P., & Govindan, N. (2016). Biosynthesis of metallic nanoparticles using plant derivatives and their new avenues in pharmacological applications—An updated report. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 24(4), 473-484.
- Lankoff, A., Sandberg, W. J., Wegierek-Ciuk, A., Lisowska, H., Refsnes, M., Sartowska, B., ... & Kruszewski, M. (2012). The effect of agglomeration state of silver and titanium dioxide nanoparticles on cellular response of HepG2, A549 and THP-1 cells. *Toxicology letters*, 208(3), 197-213.
- Lee, S. Y., Krishnamurthy, S., Cho, C. W., & Yun, Y. S. (2016). Biosynthesis of gold nanoparticles using *Ocimum sanctum* extracts by solvents with different polarity. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 4(5), 2651-2659.
- Lee, Y. S., Kim, D. W., Lee, Y. H., Oh, J. H., Yoon, S., Choi, M. S., ... & Song, C. W. (2011). Silver nanoparticles induce apoptosis and G2/M arrest via PKC ζ -dependent signaling in A549 lung cells. *Archives of toxicology*, 85(12), 1529-1540.
- León, I., Enríquez, R. G., Gnecco, D., Villarreal, M. L., Cortés, D. A., Reynolds, W. F., & Yu, M. (2004). Isolation and Characterization of Five New Tetrasaccharide Glycosides from the Roots of *Ipomoea s tans* and Their Cytotoxic Activity. *Journal of natural products*, 67(9), 1552-1556.
- León-Rivera, I., del Río-Portilla, F., Enríquez, R. G., Rangel-López, E., Villeda, J., Rios, M. Y., ... & Escobedo-Martínez, C. (2017). Hepta-, hexa-, penta-, tetra-, and trisaccharide resin glycosides from three species of *Ipomoea* and their antiproliferative activity on two glioma cell lines. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 55(3), 214-223.
- Li, X., Xu, H., Chen, Z. S., & Chen, G. (2011). Biosynthesis of nanoparticles by microorganisms and

their applications. *Journal of nanomaterials*, 2011(1), 270974.

Liaquat, N., Jahan, N., Anwar, T., & Qureshi, H. (2022). Green synthesized silver nanoparticles: Optimization, characterization, antimicrobial activity, and cytotoxicity study by hemolysis assay. *Frontiers in chemistry*, 10, 952006.

Libutti, S. K., Paciotti, G. F., Byrnes, A. A., Alexander Jr, H. R., Gannon, W. E., Walker, M., ... & Tamarkin, L. (2010). Phase I and pharmacokinetic studies of CYT-6091, a novel PEGylated colloidal gold-rhTNF nanomedicine. *Clinical cancer research*, 16(24), 6139-6149.

Lim, J., & Simanek, E. E. (2012). Triazine dendrimers as drug delivery systems: From synthesis to therapy. *Advanced drug delivery reviews*, 64(9), 826-835.

Liu, H., Yuan, M., Liu, Y., Guo, Y., Xiao, H., Guo, L., & Liu, F. (2021). Self-monitoring and self-delivery of self-assembled fluorescent nanoparticles in cancer therapy. *International journal of nanomedicine*, 2487-2499.

Malik, P., Shankar, R., Malik, V., Sharma, N., & Mukherjee, T. K. (2014). Green chemistry based benign routes for nanoparticle synthesis. *Journal of nanoparticles*, 2014(1), 302429.

Markman, J. L., Rekechenetskiy, A., Holler, E., & Ljubimova, J. Y. (2013). Nanomedicine therapeutic approaches to overcome cancer drug resistance. *Advanced drug delivery reviews*, 65(13-14), 1866-1879.

Mata, R., Nakkala, J. R., & Sadras, S. R. (2016). Polyphenol stabilized colloidal gold nanoparticles from *Abutilon indicum* leaf extract induce apoptosis in HT-29 colon cancer cells. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 143, 499-510.

Mattheolabakis, G., Rigas, B., & Constantinides, P. P. (2012). Nanodelivery strategies in cancer chemotherapy: biological rationale and pharmaceutical perspectives. *Nanomedicine*, 7(10), 1577-1590.

McAteer, M. A., Mankia, K., Ruparelia, N., Jefferson, A., Nugent, H. B., Stork, L. A., ... & Choudhury, R. P. (2012). A leukocyte-mimetic magnetic resonance imaging contrast agent homes rapidly to activated endothelium and tracks with atherosclerotic lesion macrophage content. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 32(6), 1427-1435.

Minko, T. (2005). Soluble polymer conjugates for drug delivery. *Drug Discovery Today: Technologies*, 2(1), 15-20.

Mittal, A. K., Chisti, Y., & Banerjee, U. C. (2013). Synthesis of metallic nanoparticles using plant

extracts. *Biotechnology advances*, 31(2), 346-356.

Mody, V. V., Siwale, R., Singh, A., & Mody, H. R. (2010). Introduction to metallic nanoparticles. *Journal of Pharmacy and bioallied sciences*, 2(4), 282-289.

Mohanpuria, P., Rana, N. K., & Yadav, S. K. (2008). Biosynthesis of nanoparticles: technological concepts and future applications. *Journal of nanoparticle research*, 10(3), 507-517.

MubarakAli, D., Thajuddin, N., Jeganathan, K., & Gunasekaran, M. (2011). Plant extract mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and its antibacterial activity against clinically isolated pathogens. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 85(2), 360-365.

Mukherjee, P., Ahmad, A., Mandal, D., Senapati, S., Sainkar, S. R., Khan, M. I., ... & Sastry, M. (2001). Fungus-mediated synthesis of silver nanoparticles and their immobilization in the mycelial matrix: a novel biological approach to nanoparticle synthesis. *Nano letters*, 1(10), 515-519.

Mulhern, R. K., Palmer, S. L., Merchant, T. E., Wallace, D., Kocak, M., Brouwers, P., ... & Gajjar, A. (2005). Neurocognitive consequences of risk-adapted therapy for childhood medulloblastoma. *Journal of Clinical Oncology*, 23(24), 5511-5519.

Naderi-Samani, E., Razavi, R. S., Nekouee, K., & Naderi-Samani, H. (2023). Synthesis of silver nanoparticles for use in conductive inks by chemical reduction method. *Heliyon*, 9(10).

Nakkala, J. R., Bhagat, E., Suchiang, K., & Sadras, S. R. (2015). Comparative study of antioxidant and catalytic activity of silver and gold nanoparticles synthesized from *Costus pictus* leaf extract. *Journal of Materials Science & Technology*, 31(10), 986-994.

Nam, G., Rangasamy, S., Purushothaman, B., & Song, J. M. (2015). The application of bactericidal silver nanoparticles in wound treatment. *Nanomaterials and Nanotechnology*, 5, 23.

Naraginti, S., Kumari, P. L., Das, R. K., Sivakumar, A., Patil, S. H., & Andhalkar, V. V. (2016). Amelioration of excision wounds by topical application of green synthesized, formulated silver and gold nanoparticles in albino Wistar rats. *Materials Science and Engineering: C*, 62, 293-300.

Noukelag, S. K., Mohamed, H. E. A., Moussa, B., Razanamahandry, L. C., Ntwampe, S. K. O., Arendse, C. J., & Maaza, M. (2020). Investigation of structural and optical properties of biosynthesized Zincite (ZnO) nanoparticles (NPs) via an aqueous extract of *Rosmarinus officinalis* (rosemary) leaves. *MRS Advances*, 5(45), 2349-2358.

- Olivier, T. W., Bass, J. K., Ashford, J. M., Beaulieu, R., Scott, S. M., Schreiber, J. E., ... & Conklin, H. M. (2019). Cognitive implications of ototoxicity in pediatric patients with embryonal brain tumors. *Journal of Clinical Oncology*, 37(18), 1566-1575.
- Ostrom, Q. T., Gittleman, H., Truitt, G., Boscia, A., Kruchko, C., & Barnholtz-Sloan, J. S. (2018). CBTRUS statistical report: primary brain and other central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2011–2015. *Neuro-oncology*, 20(suppl_4), iv1-iv86.
- Packer, R. J., Goldwein, J., Nicholson, H. S., Vezina, L. G., Allen, J. C., Ris, M. D., ... & Boyett, J. M. (1999). Treatment of children with medulloblastomas with reduced-dose craniospinal radiation therapy and adjuvant chemotherapy: A Children's Cancer Group Study. *Journal of clinical oncology*, 17(7), 2127-2127.
- Park, Y., Hong, Y. N., Weyers, A., Kim, Y. S., & Linhardt, R. J. (2011). Polysaccharides and phytochemicals: a natural reservoir for the green synthesis of gold and silver nanoparticles. *IET nanobiotechnology*, 5(3), 69-78.
- Patay, Z., DeSain, L. A., Hwang, S. N., Coan, A., Li, Y., & Ellison, D. W. (2015). MR imaging characteristics of wingless-type–subgroup pediatric medulloblastoma. *American Journal of Neuroradiology*, 36(12), 2386-2393.
- Patil, S. V., Borase, H. P., Patil, C. D., & Salunke, B. K. (2012). Biosynthesis of silver nanoparticles using latex from few euphorbian plants and their antimicrobial potential. *Applied biochemistry and biotechnology*, 167(4), 776-790.
- Patra, S., Mukherjee, S., Barui, A. K., Ganguly, A., Sreedhar, B., & Patra, C. R. (2015). Green synthesis, characterization of gold and silver nanoparticles and their potential application for cancer therapeutics. *Materials Science and Engineering: C*, 53, 298-309.
- Peng, H. I., & Miller, B. L. (2011). Recent advancements in optical DNA biosensors: exploiting the plasmonic effects of metal nanoparticles. *Analyst*, 136(3), 436-447.
- Perche, F., & Torchilin, V. P. (2013). Recent trends in multifunctional liposomal nanocarriers for enhanced tumor targeting. *Journal of drug delivery*, 2013(1), 705265.
- Philip, D., & Unni, C. (2011). Extracellular biosynthesis of gold and silver nanoparticles using Krishna tulsi (*Ocimum sanctum*) leaf. *Physica E: Low-dimensional systems and Nanostructures*, 43(7), 1318-1322.
- Poinern, G. E. J. (2014). *A laboratory course in nanoscience and nanotechnology*. CRC Press.

- Pugazhendhi, S., Sathya, P., Palanisamy, P. K., & Gopalakrishnan, R. (2016). Synthesis of silver nanoparticles through green approach using *Dioscorea alata* and their characterization on antibacterial activities and optical limiting behavior. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 159, 155-160.
- Rajakumar, G., & Rahuman, A. A. (2011). Larvicidal activity of synthesized silver nanoparticles using *Eclipta prostrata* leaf extract against filariasis and malaria vectors. *Acta tropica*, 118(3), 196-203.
- Rajakumar, G., Rahuman, A. A., Priyamvada, B., Khanna, V. G., Kumar, D. K., & Sujin, P. J. (2012). *Eclipta prostrata* leaf aqueous extract mediated synthesis of titanium dioxide nanoparticles. *Materials Letters*, 68, 115-117.
- Ramyadevi, J., Jeyasubramanian, K., Marikani, A., Rajakumar, G., & Rahuman, A. A. (2012). Synthesis and antimicrobial activity of copper nanoparticles. *Materials letters*, 71, 114-116.
- Raveendran, P., Fu, J., & Wallen, S. L. (2003). Completely “green” synthesis and stabilization of metal nanoparticles. *Journal of the American Chemical Society*, 125(46), 13940-13941.
- Remke, M., Hielscher, T., Korshunov, A., Northcott, P. A., Bender, S., Kool, M., ... & Pfister, S. M. (2011). FSTL5 is a marker of poor prognosis in non-WNT/non-SHH medulloblastoma. *Journal of Clinical Oncology*, 29(29), 3852-3861.
- Reynolds, W. F., Yu, M., Enriquez, R. G., Gonzalez, H., Leon, I., Magos, G., & Villareal, M. L. (1995). Isolation and Characterization of Cytotoxic and Antibacterial Tetrasaccharide Glycosides from *Ipomoea stans*. *Journal of natural products*, 58(11), 1730-1734.
- Roberts, R. O., Lynch, C. F., Jones, M. P., & Hart, M. N. (1991). Medulloblastoma: a population-based study of 532 cases. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 50(2), 134-144.
- Safaepour, M., Shahverdi, A. R., Shahverdi, H. R., Khorramizadeh, M. R., & Gohari, A. R. (2009). Green synthesis of small silver nanoparticles using geraniol and its cytotoxicity against fibrosarcoma-wehi 164. *Avicenna journal of medical biotechnology*, 1(2), 111.
- Salayová, A., Bedlovičová, Z., Daneu, N., Baláž, M., Lukáčová Bujňáková, Z., Balážová, L., & Tkáčiková, L. (2021). Green synthesis of silver nanoparticles with antibacterial activity using various medicinal plant extracts: Morphology and antibacterial efficacy. *Nanomaterials*, 11(4), 1005.

- Selid, P. D., Xu, H., Collins, E. M., Face-Collins, M. S., & Zhao, J. X. (2009). Sensing mercury for biomedical and environmental monitoring. *Sensors*, 9(7), 5446-5459.
- Selvam, K., Sudhakar, C., Govarthan, M., Thiyagarajan, P., Sengottaiyan, A., Senthilkumar, B., & Selvankumar, T. (2017). Eco-friendly biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using *Tinospora cordifolia* (Thunb.) Miers and evaluate its antibacterial, antioxidant potential. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 10(1), 6-12.
- Seo, J. H., Cho, K., Lee, S. Y., & Joo, S. W. (2011). Concentration-dependent fluorescence live-cell imaging and tracking of intracellular nanoparticles. *Nanotechnology*, 22(23), 235101.
- Shah, M., Fawcett, D., Sharma, S., Tripathy, S. K., & Poinern, G. E. J. (2015). Green synthesis of metallic nanoparticles via biological entities. *Materials*, 8(11), 7278-7308.
- Sharma, N., Kumar, J., Thakur, S., Sharma, S., & Shrivastava, V. (2013). Antibacterial study of silver doped zinc oxide nanoparticles against *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*. *Drug Invention Today*, 5(1), 50-54.
- Sharma, V. K., Sayes, C. M., Guo, B., Pillai, S., Parsons, J. G., Wang, C., ... & Ma, X. (2019). Interactions between silver nanoparticles and other metal nanoparticles under environmentally relevant conditions: a review. *Science of the Total Environment*, 653, 1042-1051.
- Singh, A. K., & Srivastava, O. (2015). One-step green synthesis of gold nanoparticles using black cardamom and effect of pH on its synthesis. *Nanoscale research letters*, 10(1), 353.
- Sirelkhatim, A., Mahmud, S., Seeni, A., Kaus, N. H. M., Ann, L. C., Bakhori, S. K. M., ... & Mohamad, D. (2015). Review on zinc oxide nanoparticles: antibacterial activity and toxicity mechanism. *Nano-micro letters*, 7(3), 219-242.
- Sudhakar, C., Selvam, K., Govarthan, M., Senthilkumar, B., Sengottaiyan, A., Stalin, M., & Selvankumar, T. (2015). *Acorus calamus* rhizome extract mediated biosynthesis of silver nanoparticles and their bactericidal activity against human pathogens. *Journal of genetic engineering and biotechnology*, 13(2), 93-99.
- Szczepańska, E., Bielicka-Giełdoń, A., Niska, K., Strankowska, J., Żebrowska, J., Inkielewicz-Stępnia, I., ... & Grobelna, B. (2020). Synthesis of silver nanoparticles in context of their cytotoxicity, antibacterial activities, skin penetration and application in skincare products. *Supramolecular Chemistry*, 32(3), 207-221.

- Taylor, M. D., Northcott, P. A., Korshunov, A., Remke, M., Cho, Y. J., Clifford, S. C., ... & Pfister, S. M. (2012). Molecular subgroups of medulloblastoma: the current consensus. *Acta neuropathologica*, 123(4), 465-472.
- Tian, L., Shen, J., Sun, G., Wang, B., Ji, R., & Zhao, L. (2020). Foliar application of SiO₂ nanoparticles alters soil metabolite profiles and microbial community composition in the pakchoi (*Brassica chinensis* L.) rhizosphere grown in contaminated mine soil. *Environmental science & technology*, 54(20), 13137-13146.
- Tomaszewska, E., Soliwoda, K., Kadziola, K., Tkacz-Szczesna, B., Celichowski, G., Cichomski, M., ... & Grobelny, J. (2013). Detection limits of DIs and Uv-Vis spectroscopy in characterization of polydisperse nanoparticles colloids. *Journal of Nanomaterials*, 2013(1), 313081.
- Torchilin, V. P. (2010). Antinuclear antibodies with nucleosome-restricted specificity for targeted delivery of chemotherapeutic agents. *Therapeutic Delivery*, 1(2), 257-272.
- Valodkar, M., Jadeja, R. N., Thounaojam, M. C., Devkar, R. V., & Thakore, S. (2011). In vitro toxicity study of plant latex capped silver nanoparticles in human lung carcinoma cells. *Materials Science and Engineering: C*, 31(8), 1723-1728.
- Van Meerloo, J., Kaspers, G. J., & Cloos, J. (2011). Cell sensitivity assays: the MTT assay. In *Cancer cell culture: methods and protocols* (pp. 237-245). Totowa, NJ: Humana press.
- Verma, D. K., Hasan, S. H., & Banik, R. M. (2016). Photo-catalyzed and phyto-mediated rapid green synthesis of silver nanoparticles using herbal extract of *Salvinia molesta* and its antimicrobial efficacy. *Journal of photochemistry and photobiology B: biology*, 155, 51-59.
- Vigneswari, S., Amelia, T. S. M., Hazwan, M. H., Mouriya, G. K., Bhubalan, K., Amirul, A. A. A., & Ramakrishna, S. (2021). Transformation of biowaste for medical applications: Incorporation of biologically derived silver nanoparticles as antimicrobial coating. *Antibiotics*, 10(3), 229.
- Webster, D. M., Sundaram, P., & Byrne, M. E. (2013). Injectable nanomaterials for drug delivery: carriers, targeting moieties, and therapeutics. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 84(1), 1-20.
- Xu, L., Wang, Y. Y., Huang, J., Chen, C. Y., Wang, Z. X., & Xie, H. (2020). Silver nanoparticles: Synthesis, medical applications and biosafety. *Theranostics*, 10(20), 8996.
- Yang, T., Choi, M. K., Cui, F. D., Lee, S. J., Chung, S. J., Shim, C. K., & Kim, D. D. (2007). Antitumor effect of paclitaxel-loaded PEGylated immunoliposomes against human breast cancer cells.

Pharmaceutical research, 24(12), 2402-2411.

Yurkanis, B.P. (2008). Química orgánica (5° ed., pp. 512-569). Pearson

Zhang, L., Gu, F. X., Chan, J. M., Wang, A. Z., Langer, R. S., & Farokhzad, O. C. (2008). Nanoparticles in medicine: therapeutic applications and developments. Clinical pharmacology & therapeutics, 83(5), 761-769.

Zhao, X., Zhou, L., Riaz Rajoka, M. S., Yan, L., Jiang, C., Shao, D., ... & Jin, M. (2018). Fungal silver nanoparticles: synthesis, application and challenges. Critical reviews in biotechnology, 38(6), 817-835.

Zheng, J., Clogston, J. D., Patri, A. K., Dobrovolskaia, M. A., & McNeil, S. E. (2011). Sterilization of silver nanoparticles using standard gamma irradiation procedure affects particle integrity and biocompatibility. Journal of nanomedicine & nanotechnology, 2011(Suppl 5), 001.

Zuorro, A., Iannone, A., Miglietta, S., & Lavecchia, R. (2022). Green synthesis of silver nanoparticles using spent coffee ground extracts: process modelling and optimization. Nanomaterials, 12(15), 2597.



Cuernavaca, Morelos, 23 de abril de 2026.

Dr. Lorenzo Díaz Carrillo
Director de la Facultad de Medicina

P r e s e n t e

Estimado Dr. Díaz, por este conducto me permito informarle que he revisado el trabajo de Tesis: **"Evaluación de la citotoxicidad inducida por nanopartículas de plata conjugadas al extracto acuoso de *Ipomoea stans* en células de meduloblastoma"**, que para obtener el grado de Maestría en Medicina Molecular me proporcionó el alumno Roberto Jiménez Angel. Le comunico que su contenido es adecuado y suficiente, por lo que de acuerdo al artículo 74 del Reglamento General de Estudios de Posgrado de la UAEM le otorgo el siguiente dictamen:

I. Se aprueba el trabajo de tesis otorgando el voto correspondiente.

Así mismo, le agradezco la invitación a participar en este programa educativo, reiterando además mi disposición para seguir colaborando en este tipo de actividades. Sin otro particular por el momento, reciba un cordial saludo.

Atentamente

Dr. Luis Enrique Alberto Cañedo y Dorantes





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento con firma electrónica UAEM, soportada por el certificado vigente a la fecha de su elaboración y con efectos plenos de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS PUBLICADOS en el ÓRGANO INFORMATIVO UNIVERSITARIO "ADOLFO MENÉNDEZ SAMARÁ" número 117 de fecha 20 de abril de 2021.

Sello electrónico

LUIS ENRIQUE ALBERTO CAÑEDO Y DORANTES | Fecha:2026-04-27 11:20:58 | FIRMANTE

fC3oRoF2xPK1ET6AGaQKJjMpxHXoPMAtpgylc/ciNR54lgPUgAOns7Nun6vE9py/M2DkO8iWzzii4ArneGcRsfA9DDTIRdthyqudzftbLGBDhNJM3u+kUr1km9S0IEVDx3Sk+uEi1V
Q1mJOSCacPn5AUbNeVC5nfECfb9pslcShjg7fboldT9I6V/+cnqD0SBQ7x4TQUqkkabHf5LBK83mN6kjAdqwuUYz4Ide4SFcpzkzSDfv7bXAPCBjiVvIBp+pcIcXBbB/G0hNrCe5Ftl4
3oCTuW4zJ6MIRPTIXKLfGcmK6H0Kq9K61tZTbIFa3u666z7MVJTKy2VdWXBwNI4Q==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



DBu21HmNE

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/r88NC448w13KKx7KFX2K3zvSjHdO4S9B>



UAEM
RECTORÍA
2023-2029



Cuernavaca, Morelos, 23 de abril de 2026.

Dr. Lorenzo Díaz Carrillo
Director de la Facultad de Medicina

P r e s e n t e

Estimado Dr. Díaz, por este conducto me permito informarle que he revisado el trabajo de Tesis: **"Evaluación de la citotoxicidad inducida por nanopartículas de plata conjugadas al extracto acuoso de *Ipomoea stans* en células de meduloblastoma"**, que para obtener el grado de Maestría en Medicina Molecular me proporcionó el alumno Roberto Jiménez Angel. Le comunico que su contenido es adecuado y suficiente, por lo que de acuerdo al artículo 74 del Reglamento General de Estudios de Posgrado de la UAEM le otorgo el siguiente dictamen:

I. Se aprueba el trabajo de tesis otorgando el voto correspondiente.

Así mismo, le agradezco la invitación a participar en este programa educativo, reiterando además mi disposición para seguir colaborando en este tipo de actividades. Sin otro particular por el momento, reciba un cordial saludo.

Atentamente

Dra. Vera Lucia Petricevich





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento con firma electrónica UAEM, soportada por el certificado vigente a la fecha de su elaboración y con efectos plenos de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS PUBLICADOS en el ÓRGANO INFORMATIVO UNIVERSITARIO "ADOLFO MENÉNDEZ SAMARÁ" número 117 de fecha 20 de abril de 2021.

Sello electrónico

VERA LUCIA PETRICEVICH | Fecha:2026-04-23 23:41:16 | FIRMANTE

n/+rSJ3p0TheT+7nl2b4UAhvx9wUKf+ng5Wrto0VovF1AtDnpl1UZMIJLwCJmw/fG+Npt61rtdhsfuCl6A6bHz5IAisse3jg1fuuJ7X7qJVZzV/VLhE9rf4BfrjOtBYt5KLLID7ZnlK6q1fGXi
K73Vi1z9EviZjewPvCr8flv9z+T3EpPfu71RbbJC8GvqwSz2g7HVk6INGt/7oUZ8EQTX84mDLvqkRyMWeGgUR7QOVc142rXvCygCMY6MtQhmTwXFdSv26XA4a7IF6815g1iSAu
DNmCf+5RjbHSRMcyfw2Pml7JKm70QGmeAP2/eRGzxcXxuKMR6yw2wAA8fAMg==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



aXpKqFwf2

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/5Alr3VZA1TvEf1oBwgUOG7nFgtx8QdBb>



UAEM
RECTORÍA
2023-2029



Cuernavaca, Morelos, 23 de abril de 2026.

Dr. Lorenzo Díaz Carrillo
Director de la Facultad de Medicina

P r e s e n t e

Estimado Dr. Díaz, por este conducto me permito informarle que he revisado el trabajo de Tesis: **"Evaluación de la citotoxicidad inducida por nanopartículas de plata conjugadas al extracto acuoso de *Ipomoea stans* en células de meduloblastoma"**, que para obtener el grado de Maestría en Medicina Molecular me proporcionó el alumno Roberto Jiménez Angel. Le comunico que su contenido es adecuado y suficiente, por lo que de acuerdo al artículo 74 del Reglamento General de Estudios de Posgrado de la UAEM le otorgo el siguiente dictamen:

I. Se aprueba el trabajo de tesis otorgando el voto correspondiente.

Así mismo, le agradezco la invitación a participar en este programa educativo, reiterando además mi disposición para seguir colaborando en este tipo de actividades. Sin otro particular por el momento, reciba un cordial saludo.

Atentamente

Dr. Mario Ernesto Cruz Muñoz





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento con firma electrónica UAEM, soportada por el certificado vigente a la fecha de su elaboración y con efectos plenos de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS PUBLICADOS en el ÓRGANO INFORMATIVO UNIVERSITARIO "ADOLFO MENÉNDEZ SAMARÁ" número 117 de fecha 20 de abril de 2021.

Sello electrónico

MARIO ERNESTO CRUZ MUÑOZ | Fecha:2026-04-23 15:57:11 | FIRMANTE

hFJxqNXqomMxBtP0P/GYDKiOVUGxtfzABA7cmZy7DZ+D6FqsdOTuayFnY+ZLSwlUoXnRlhftlGFogaFLA3aPBMMMDp4aIFK9IP0/8R/DrB1xmBI32HyUEVrwfDDW8/21Z7Vr54Y
hX9IRSNgBWYNN6yIWTYFY5icik0eVmrXykPugncyprSnfSpN42MwE1FM6q+aQYGemZb+w0hlx5sGL/N9b22FScfp2OyTKNu/i5I9E7v4NVAbQ8jhia+6A0bO5F0fm97RlZle6gwqk
wAjuKjqMwWvWS++HiKyHs8Hal4pWuLoAW8h1A8IKZAt3KbrJu8bPE0kj48DxuWrBZqJAg==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



jSEsZTJDr

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/nnrksSRWRDAnUmQy783K9bubGYSCzBJZ>



UAEM
RECTORÍA
2023-2029



Cuernavaca, Morelos, 23 de abril de 2026.

Dr. Lorenzo Díaz Carrillo
Director de la Facultad de Medicina

P r e s e n t e

Estimado Dr. Díaz, por este conducto me permito informarle que he revisado el trabajo de Tesis: **"Evaluación de la citotoxicidad inducida por nanopartículas de plata conjugadas al extracto acuoso de *Ipomoea stans* en células de meduloblastoma"**, que para obtener el grado de Maestría en Medicina Molecular me proporcionó el alumno Roberto Jiménez Angel. Le comunico que su contenido es adecuado y suficiente, por lo que de acuerdo al artículo 74 del Reglamento General de Estudios de Posgrado de la UAEM le otorgo el siguiente dictamen:

I. Se aprueba el trabajo de tesis otorgando el voto correspondiente.

Así mismo, le agradezco la invitación a participar en este programa educativo, reiterando además mi disposición para seguir colaborando en este tipo de actividades. Sin otro particular por el momento, reciba un cordial saludo.

Atentamente

Dra. Ma. del Carmen Beltrán Nuñez





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento con firma electrónica UAEM, soportada por el certificado vigente a la fecha de su elaboración y con efectos plenos de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS PUBLICADOS en el ÓRGANO INFORMATIVO UNIVERSITARIO "ADOLFO MENÉNDEZ SAMARÁ" número 117 de fecha 20 de abril de 2021.

Sello electrónico

MA DEL CARMEN BELTRAN NUÑEZ | Fecha:2026-04-23 19:32:33 | FIRMANTE

QnWAsSD2B+2Azup7nPoKRONaz67mdhbYY1MdELgBlitciWvq8XnEK35F6ylYc6252swhaV6VDwsXD/Kps9gPhFIBWbEa8z6hYmMkzVsyfBvbKxxD5j7V5+h+maOF7fP3oWII2Zs
TiwnXZgKr3YnjNp+Mfm8bK7Bmhk3BiGJyMsN3tKV5dzqJrVqS6phtBYjANWHEWZhLgCfqWHWFUcy/f4Jw4xxmalCsu5NqNmNuSe/+7JJaelPhd69PUT+p/cDUv1F+gFmFvSBkt
7yTfL3nJZ7PY1vutSbMKQlsgdYSb7s+oxuJCG1ncLTtxqalsngWoCEgv9M86tKR+eu9W2eqA==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



DL0x3jior

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/r6VieylVMhv99LGjCV7vNoeScdy0VICo>



UAEM
RECTORÍA
2023-2029



Cuernavaca, Morelos, 23 de abril de 2026.

Dr. Lorenzo Díaz Carrillo
Director de la Facultad de Medicina

P r e s e n t e

Estimado Dr. Díaz, por este conducto me permito informarle que he revisado el trabajo de Tesis: **"Evaluación de la citotoxicidad inducida por nanopartículas de plata conjugadas al extracto acuoso de *Ipomoea stans* en células de meduloblastoma"**, que para obtener el grado de Maestría en Medicina Molecular me proporcionó el alumno Roberto Jiménez Angel. Le comunico que su contenido es adecuado y suficiente, por lo que de acuerdo al artículo 74 del Reglamento General de Estudios de Posgrado de la UAEM le otorgo el siguiente dictamen:

I. Se aprueba el trabajo de tesis otorgando el voto correspondiente.

Así mismo, le agradezco la invitación a participar en este programa educativo, reiterando además mi disposición para seguir colaborando en este tipo de actividades. Sin otro particular por el momento, reciba un cordial saludo.

Atentamente

Dr. Eduardo Lira Díaz





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento con firma electrónica UAEM, soportada por el certificado vigente a la fecha de su elaboración y con efectos plenos de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS PUBLICADOS en el ÓRGANO INFORMATIVO UNIVERSITARIO "ADOLFO MENÉNDEZ SAMARÁ" número 117 de fecha 20 de abril de 2021.

Sello electrónico

EDUARDO LIRA DÍAZ | Fecha:2026-04-23 19:04:40 | FIRMANTE

bJtEOiOfEEISSi7OaZGdWqB9kPpbuur3m+Edp+ihxQNQnmGwq+rgu5y1d2WYl61tqAz9bKHjiv/p9KqC3nImLdRiQO82WRx2anLixD8Kdz37rTKsxHsK6AQ1nPCVyIApj92B8LUke
Kmw45paXulM+RxNeTSPxQ5PVH8U9bmjRW4M9R2p2Y7RUv8LI4+ohCuC1lGfWjBqU8fFNvh7mqdOQDEHRh+VVNdPucoQB+9l6DLzmh1ulmx0CgGkY71pL0toR4HSav/nRG3
QLTp3dxDnCMWR7VhefwAoLPIhxFaG2Q4SLIYue54cKq86iijQpxDqHH7VZWI7x/xFHTliNarQ==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



k0U23VLfE

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/J0mlpCw2HLeYPqIHt1noFddq1EBgQBWA>



UAEM
RECTORÍA
2023-2029