



SEP
SECRETARÍA DE
EDUCACIÓN PÚBLICA



Instituto Tecnológico de Tijuana
Centro de Graduados e Investigación en Química



“Preparación de nanomateriales conjugados con actividad biológica”

Trabajo de tesis presentado por:
M.C. José Antonio Alatorre Barajas

Como requisito para la obtención del grado de:
Doctor en Ciencias en Química

Director de Tesis
Dr. Adrián Ochoa Terán

Codirectora de Tesis
Dra. Yadira Gochi Ponce

Tijuana, Baja California, México.

junio de 2022



Instituto Tecnológico de Tijuana

Tijuana, Baja California,

21/febrero/2022

OFICIO No. 020/DEPI/2022

Asunto: Autorización de Impresión de Tesis

MARIBEL GUERRERO LUIS
JEFA DEL DEPARTAMENTO DE SERVICIOS ESCOLARES
PRESENTE

En lo referente al trabajo de tesis, "Preparación de nanomateriales conjugados con actividad biológica". Presentado por C. **José Antonio Alatorre Barajas**, alumno del Doctorado en Ciencias en Química con numero de control **D10211066**; informo a usted que a solicitud del comité de tutorial, tengo a bien **Autorizar la impresión de Tesis**, atendiendo las disposiciones de los Lineamientos para la Operación de Estudios de Posgrado del Tecnológico Nacional de México.

Sin más por el momento le envié un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E
Excelencia en Educación Tecnológica



GUADALUPE HERNÁNDEZ ESCOBEDO
JEFE DE DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

ccp. Archivo

GHE/lap



Calzada del Tecnológico S/N Esq. Castillo de Chapultepec y calle Cuauhtemotzin,
Fracc. Tomás Aquino C.P.22414 Tijuana, Baja California. Tel. 01 (664) 6078400
Est. 101

e-mail: dir.tijuana@tecnm.mx | tecnm.mx | Tijuana.tecnm.mx



2022 Flores
Año de Magón
PRECURSOR DE LA REVOLUCIÓN MEXICANA



Tijuana, Baja California, 27/enero/2022

Oficio No.

103/CG/2022 Asunto: Se autoriza
impresión de trabajo de tesis

GUADALUPE HERNÁNDEZ ESCOBEDO
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E
INVESTIGACIÓN PRESENTE

Los que suscriben tienen a bien informar que el manuscrito de tesis titulado **“Preparación de nanomateriales conjugados con actividad biológica”**, presentado por el **C. José Antonio Alatorre Barajas**, (con número de control D10211066), cumple con los requisitos de calidad y formato para tesis de Doctorado en Ciencias en Química. Por consiguiente, se aprueba y autoriza al interesado para que proceda a la impresión del mismo.

ATENTAMENTE

DR. ADRIÁN OCHO TERÁN
Presidente

DRA. YADIRA GOCHI PONCE
Secretario del Jurado

DRA. NORMA AIDÉ CORTEZ LEMUS
Vocal del Jurado

DRA. GEORGINA ESTHER PINA LUIS
Vocal del Jurado

DR. GABRIEL ALONSO NÚÑEZ
Vocal del Jurado

C.p. Oficina de Titulación
C.p. Expediente
C.p. Interesado
AOT/YGP/NICL/GEP
L/GAN



Calzada del Tecnológico S/N Esq. Castillo de Chapultepec y calle Cuauhtemotzin,
Fracc. Tomás Aquino C.P.22414 Tijuana, Baja California. Tel. 01 (664) 6078400
Est. 101

tel: Tijuana: (664) 6078400 | Tijuana: (664) 6078400 | Tijuana: (664) 6078400



2022 Flores
Ricardo
Año de Magón
PRECURSOR DE LA REVOLUCIÓN MEXICANA



INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TIJUANA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION

CARTA DE CESIÓN DE DERECHOS

En la ciudad de Tijuana, B.C. del 1 de febrero del 2022, el C. José Antonio Alatorre Barajas alumno del Programa de Doctorado en Ciencias en Química con número de control D10211066, manifiesta que es el autor intelectual del presente trabajo de tesis bajo la dirección del Dr. Adrián Ochoa Terán y ceden los derechos del trabajo titulado "Preparación de nanomateriales conjugados con actividad biológica" al Tecnológico Nacional de México / Instituto Tecnológico Tijuana para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, figuras, graficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección de correo electrónico: ochoa@tectijuana.mx. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y cita la fuente del mismo.

*José Antonio
Alatorre*

José Antonio Alatorre Barajas



Dedicatorias

Este trabajo está dedicado a mi madre que en paz descanse, familia, pareja Ángela María López Calvo, amigos, compañeros y profesores por su apoyo, aliento y críticas constructivas que de alguna u otra manera contribuyeron para la conclusión de esta etapa profesional nueva.

CONTENIDO

HOJA DE AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN DE TESIS	<i>ii</i>
HOJA DE AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN DE TESIS (DEPI)	<i>iii</i>
CARTA DE CESIÓN DE DERECHOS	<i>iv</i>
DEDICATORIAS	<i>v</i>
CONTENIDO	<i>vi</i>
LISTA DE ABREVIATURAS, ACRÓNIMOS Y SIGLAS	<i>x</i>
LISTA DE FIGURAS	<i>xiii</i>
LISTA DE TABLAS	<i>xx</i>
LISTA DE ESQUEMAS	<i>xxi</i>
AGRADECIMIENTOS	<i>xxiii</i>
RECONOCIMIENTOS INSTITUCIONALES	<i>Xxiv</i>
VITA, PUBLICACIONES Y AREAS DE ESTUDIO	<i>xxv</i>
RESUMEN	<i>xxvii</i>
ABSTRACT	<i>xxix</i>
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Introducción	1
1.2. Planteamiento del proyecto	2
II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	3
2.1. Justificación	3
2.2. Objetivos	4
2.2.1. Objetivo general	4
2.2.2. Objetivos específicos	4
III. ANTECEDENTES	5
3.1 Síntesis y aplicación de linezólida	5
3.2 Nanomedicina y nanomateriales	7
3.3 Nanoacarreadores	9
3.4 Síntesis de Nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNT) por nebulización pirolítica	11

3.5 Nanotubos de carbono como nanoacarreadores	15
3.6 Aplicación de MWCNT contra bacterias	20
3.7 Síntesis de puntos cuánticos de carbono (CD)	26
3.8 Puntos cuánticos de carbono en la nanomedicina	35
3.9 Aplicación de CD contra bacterias	42
3.10 Nanomateriales empleando linezólida contra bacterias	52
3.10 Hipótesis de investigación	57
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	58
4.1. Síntesis de precursor de linezólida con grupo amino terminal 7	58
4.1.1. Síntesis y caracterización del compuesto 1	59
4.1.2. Síntesis y caracterización del 3-fluoro-4-morfolinilfenil (2)	59
4.1.3. Síntesis y caracterización del (3-fluoro-4-morfolinilfenil)-etilcarbamato (3')	70
4.1.4. Síntesis y caracterización (R)-3-(3-fluoro-4-morfolinilfenil)-5-(hidroximetil)oxazolidin-2-ona (4)	72
4.1.5. Síntesis y caracterización (R)-[N-3-(3-fluoro-4-morfolinilfenil)-2-oxo-5-oxazolidinil] metanosulfonato de metilo (5)	81
4.1.6. Síntesis y caracterización (R)-[N-3-(3-flúor-4-morfolinilfenil)]-5-azidometil-oxazolidin-2-ona (6)	83
4.1.7. Síntesis y caracterización (R)-[N-3-(3-flúor-4-morfolinilfenil)]-5-aminometil-oxazolidin-2-ona (7)	88
4.2. Síntesis y caracterización de MWCNT por nebulización pirolítica	92
4.3. Oxidación y caracterización de MWCNT	94
4.4. Funcionalización con espaciadores de longitud variable y caracterización de MWCNT	97

4.5. Funcionalización y caracterización del MWCNT-1 con el éster de linezólida	103
4.6. Funcionalización y caracterización del MWCNT-1 con la amida de linezólida	105
4.7. Funcionalización y caracterización del MWCNT-2 con (<i>R</i>)-5-((<i>S</i>)-1-aminoetil)-oxazolidin-2-ona (8)	115
4.8. Síntesis y caracterización de CD	119
4.9. Funcionalización con espaciadores de longitud variable y caracterización de CD	122
4.10. Estudios de la actividad antibacteriana de MWCNT	124
4.11. Modelado molecular de análogos de linezólida incorporados a los MWCNT.	134
V. EXPERIMENTAL	141
5.1. Generalidades	141
5.1.1. Materiales y reactivos	141
5.1.2. Equipos	141
5.2. Metodología	141
5.2.1. Síntesis y caracterización de precursor de linezólida	143
5.3. Síntesis de nanomateriales	148
5.3.1. Síntesis de nanotubos de carbono de pared múltiple	148
5.3.2. Oxidación de nanotubos de carbono de pared múltiple	149
5.3.3. Funcionalización de Nanotubos de carbono de pared múltiple con espaciadores de longitud variable	150
5.3.4. Funcionalización de nanotubos de carbono de pared múltiple con el compuesto 4	150
5.3.5. Funcionalización de nanotubos de carbono de pared múltiple con el compuesto 7	151
5.3.6. Funcionalización de nanotubos de carbono de pared múltiple con el compuesto 8 .	151

5.3.7. Síntesis de los puntos cuánticos de carbono (CD)	152
5.3.8. Funcionalización de CD con espaciadores de longitud variable	152
5.4. Estudios de actividad antibacteriana	153
5.4.1. Ensayo de difusión radial	153
5.4.2. Ensayo de microdilución en caldo de Mueller Hinton	154
5.4.3. Ensayo de macrodilución en caldo de Mueller Hinton	154
5.5. Estudio de acoplamiento molecular automatizado o <i>docking</i>.	156
5.5.1. Estudio de acoplamiento molecular automatizado de linezólida con MOE 2018.	156
VI. CONCLUSIONES	158
VIII. REFERENCIAS y/o BIBLIOGRAFÍA	161
IX. ANEXOS	174

LISTA DE ABREVIATURAS

AA	Ácido ascórbico
AcOEt	Acetato de etilo
AFM	Microscopía de fuerza atómica
AMK	Amikacina
AMP	Ampicilina
BMA	Bencimidazoles alquilado
BRB	Berberina
CD	Puntos cuánticos de carbono
CDs	Puntos cuánticos de carbono hidrofílicos
CDs-NH ₂	Puntos cuánticos de carbono con grupos amino
CMI	Concentración mínima inhibitoria
DCM	Diclorometano
DDA	Cloruro de dialildimetilamonio
DIC	<i>N,N'</i> -diisopropilcarbodiimida
DLS	Dispersión de luz dinámica
DMF	Dimetilformamida
DOX	Doxorrubicina
EA	Etanolaminas
EDC	1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)-carbodiimida
EDS	Análisis elemental por espectroscopia de rayos X dispersados
EM	Espectrometría de Masas
EMIE	Espectrometría de masas de impacto electrónico
FDA	Administración de Alimentos y Medicamentos
f-MWCNT	Nanotubos de carbono funcionalizados
FTIR	Infrarrojo por transformadas de Fourier
GO	Óxido de Grafeno
GTA	Cloruro de 2,3-epoxipropiltrimetilamonio

HA	Ácido hialurónico
h-CD	Puntos cuánticos de carbono hidrofóbicos
HDA	1-Hexadecilamina
HMBC	Correlación heteronuclear a múltiples enlaces
HoBt	Hidróxido de benzotriazol
HRTEM	Microscopia electrónica de transmisión de alta resolución
HSQC	Correlación cuántica simple heteronuclear.
IIH	Infecciones intrahospitalarias
INH	Isoniazida
KEGG	Enciclopedia de Kyoto de Genes y Genomas
LZD	Linezolida
MCLB	Microscopia confocal laser de barrido
MDTR	Tuberculosis multirresistentes
MDR	Resistente a múltiples fármacos
MH	Muller Hilton
Mtb	Mycobacterium tuberculosis
MWCNT	Nanotubos de carbono de pared múltiple
MWCNT	Nanotubos de carbono de pared múltiple
NHS	<i>N</i> -hidroxisuccimida
ODE	1-Octadeceno
OMS	Organización mundial de la salud
p-CBA	4-carboxibenzaldehido
PEG	Polietilenglicol
PEI	Polietilenimina ramificada
PMDAA	Poli(<i>N,N'</i> -dimetilacrilamida)
PVA	acetato de polivinilo
PVC	Poli(cloruro de vinilo)
QCD	Puntos cuánticos de carbono amonio cuaternario
QY	Rendimiento cuántico
RMN- ¹³ C	Resonancia magnética nuclear de carbono 13
RMN- ¹ H	Resonancia magnética nuclear de hidrógeno

SAMR	<i>Staphylococcus aureus</i> meticilin resistente
SEM	Microscopia electrónica de barrido
SWCNT	Nanotubos de carbono de pared sencilla
TEA	Trietilamina
TEM	Microscopia electrónica de transmisión.
TGA	Análisis termogravimétrico
THF	Tetrahidrofurano
TMT	Etiquetado en masa tándem
TPU	Termoplástico de poliuretano
UFC	Unidades formadoras de colonias
UV-vis	Ultravioleta visible
XPS	Espectroscopia de Fotoelectrones emitidos por Rayos X

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Tipos de unión entre nanoacarreadores y fármacos.	10
Figura 2.	Tipos de nanoacarreadores.	11
Figura 3.	Imágenes por TEM de las muestras a) S4, b) S8 y c) S8 después de un tratamiento ácido.	13
Figura 4.	Imágenes por TEM de las muestras a) S31, b) S35 y c) S35 después de su purificación	15
Figura 5.	Perfiles de liberación de fármacos in vitro de formulaciones de BRB-MWCNT, BRB-C-MWCNT, BRB-P-C-MWCNT y BRB-FO-C-MWCNT a pH 7.4.	18
Figura 6.	Imágenes de MBCL de células después de 2 h de incubación con (A) Blanco, (B) BRB-MWCNT, (C) BRB-C-MWCNT, (D) BRB-P-C-MWCNT y (E) BRB-FO-C-MWCNT	19
Figura 7	Imágenes por TEM de PU, PU/MWCNT y PU/MWCNT-Van embebidas en caldos de cultivo de <i>Staphylococcus aureus</i> en tiempos diferentes.	23
Figura 8.	Micrografías SEM de MWCNT prístinos (A), f-MWCNT (B) y f-MWCNT-LI(d) (C) y análisis EDS MWCNT prístinos(D), f-MWCNT (E) y f-MWCNT-LI(d) (F).	25
Figura 9.	Estudios de inhibición bacteriana mediante difusión radial empleando f-MWCNT-LI(d) sobre PVC contra <i>E.coli</i> (A) y <i>S. aureus</i> (B).	26
Figura 10.	Imagen por TEM de los CQDs a partir de jugo de naranja a) y distribución de tamaños b).	28
Figura 11.	Imágenes de microscopia de los CD de Wang y colaboradores mediante A) TEM (Inserto. Histograma de distribución de tamaños) y B) HRTEM.	30
Figura 12.	Espectro de RMN- ¹³ C de CD sintetizados por Wang y colaboradores.	31

Figura 13.	Espectros de A) UV-vis y B) Fluorescencia de los CD de Wang y colaboradores.	32
Figura 14.	Imágenes de microscopia de CD por A) TEM y B) AFM (inserto: distribución de diámetros).	33
Figura 15.	A) Espectro de (→) de UV-vis, y de fluorescencia ()-excitación y () emisión. B) Espectros de emisión a longitudes de excitación diferentes.	34
Figura 16.	Patrones de impresión obtenidos con tinta de CD e integración de CD a polímeros. A) Diferentes patrones gráficos en papel (iluminados con una lámpara UV), B) Imágenes de microscopía de fluorescencia de nanofibras de PVA/CD a tiempos de exposición diferentes y C) nanocompuesto de PDMAA/CD.	35
Figura 17.	Imágenes TEM de HA-CD (A) y HA-CD@p-CBA-DOX (B). Espectros de excitación y emisión de HA-CD (C). Espectros de UV-vis de HA-CD(a), DOX (b) y HA-CD@p-CBA-DOX (c) (Inserto: imagen representativa de las muestras) (D).	37
Figura 18.	Cambios en el volumen tumoral después de la inyección intravenosa con doxorubicina libre y HA-CD @ p-CBA-DOX en ratones ortotópicos con tumor 4T1. (B) Cambios en el peso corporal de ratones con tumor 4T1 in situ después del tratamiento con doxorubicina libre y HA-CD @ p-CBA-DOX. (C) Imágen de los tumores. (D) Peso de los tumores de cada grupo en el día quince.	39
Figura 19.	Citotoxicidad de CD y HA-CD conjugados con concentraciones crecientes de 0 a 0.8 mg/mL en A) células B16F1 y B) células HEK293 (○ ● P <0,05 para la comparación entre células B16F1 y HEK293).	43
Figura 20.	Imágenes de Fluorescencia de ratones BALB/c después de la inyección subcutánea de A) CD y B) HA-CD.	44

Figura 21.	Viabilidad celular de muestras individuales en concentraciones diversas de extractos de nanocompuestos hCD/PU en A) células NIH/3T3 y B) células A549.	45
Figura 22.	Imágenes de la superficie de los nanocompuestos hCD/PU de a) <i>S. aureus</i> sin irradiación; b) <i>S. aureus</i> después de 30 min de irradiación con luz azul (Visualización de colonias e <i>S. aureus</i> después de 30 minutos de irradiación con luz azul b') vivas y b'') muertas) y c) <i>S. aureus</i> después de 60 min de irradiación con luz azul.	46
Figura 23.	Actividad antibacteriana de DDA (a), GTA (b) y QCQD (c) contra las ocho especies de bacterias en placas de agar MH.	47
Figura 24.	Imágenes TEM de <i>S. aureus</i> (A y B), SARM (C y D), <i>S. epidermidis</i> (E y F), <i>L. monocytogenes</i> (G y H) y <i>E. faecalis</i> (I y J) antes y después de ser tratadas con QCD, respectivamente.	48
Figura 25.	Imágenes de microscopía de fluorescencia de células HeLa incubadas con CD-NH ₂ a 37 °C (superior) y 4 °C (inferior).	52
Figura 26.	Ensayo de viabilidad de <i>E. coli</i> K12-MG 1655 para A) control, B) con CD-NH ₂ , C) con CD-AMP (Insertos: imágenes SEM de células bacterianas) y D) comparación de la actividad antibacteriana contra <i>E. coli</i> K12-MG 1655 de CDs-NH ₂ , libre AMP, AMP mezclado con CD-NH ₂ y CD-AMP.	53
Figura 27.	Caracterización de GO A) Fotografía de celdas que contienen muestras de GO-farmacos diferentes B) Efecto en el radio hidrodinámico de GO en presencia de concentraciones de fármacos diferentes mediante DLS.	53
Figura 28.	Caracterización FTIR de la superficie de las muestras GO-AMK, GO-INH y GO-LZD en comparación con GO libre.	54
Figura 29.	Evaluación de formulaciones de GO y GO-farmaco en <i>Mtb</i> H37Rv que expresan la GFP citosólica. Medición de la intensidad de fluorescencia después del tratamiento con GO, AMK, INH y LZD e imágenes representativas de micobacterias después de los tratamientos.	55
Figura 30.	Evaluación de la viabilidad celular y la producción de ROS después del tratamiento con GO-LZD. Cuantificación de la	56

viabilidad celular midiendo la lactato deshidrogenasa (LDH) (A) y la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) (B) después del tratamiento con GO (0,25 mg 7 ml), LZD (1, 10 y 100 g/ml) solo o en combinación con GO.-

Figura 31.	Espectro de RMN- ¹ H del compuesto 1 en CDCl ₃ .	61
Figura 32.	Espectro de RMN- ¹³ C del compuesto 1 en CDCl ₃ .	62
Figura 33.	Análisis por HSQC del compuesto 1 en CDCl ₃ .	63
Figura 34.	Análisis de HMBC de 1 en CDCl ₃ .	64
Figura 35.	Patrón de fragmentación y espectro de EMIE del compuesto 1 .	65
Figura 36.	Espectro de RMN- ¹ H del compuesto 2 en CDCl ₃ .	66
Figura 37.	Espectro de RMN- ¹³ C del compuesto 2 en CDCl ₃ .	68
Figura 38.	Análisis del HSQC del compuesto 2 en CDCl ₃ .	69
Figura 39.	Análisis HMBC del compuesto 2 en CDCl ₃ .	70
Figura 40.	Espectro de EMIE de compuesto 2 .	71
Figura 41.	Espectro de RMN- ¹ H del compuesto 3' en CDCl ₃ .	73
Figura 42.	Espectro de RMN ¹ H-COSY de 3' en CDCl ₃ .	74
Figura 43.	Espectro de RMN- ¹³ C del compuesto 3' en CDCl ₃ .	75
Figura 44.	Análisis del HSQC del compuesto 3' en CDCl ₃ .	76
Figura 45.	Análisis del HMBC del compuesto 3' en CDCl ₃ .	77
Figura 46.	Patrón de fragmentación y espectro de EMIE del compuesto 3' .	78
Figura 47.	Espectro de RMN- ¹ H del compuesto 4 en CDCl ₃ .	80
Figura 48	Espectro de RMN ¹ H-COSY de 4 en CDCl ₃ .	81
Figura 49.	Espectro de RMN- ¹³ C del compuesto 4 en CDCl ₃ .	82
Figura 50.	Espectro HSQC del compuesto 4 en CDCl ₃ .	83
Figura 51.	Espectro de RMN- ¹ H del compuesto 5 en DMSO- <i>d</i> ₆ .	85
Figura 52.	Espectro de RMN- ¹ H del compuesto 6 en CDCl ₃ .	86
Figura 53.	Espectro de RMN- ¹³ C del compuesto 6 en CDCl ₃ .	87
Figura 54.	Análisis del HSQC del compuesto 6 en CDCl ₃ .	88
Figura 55.	Patrón de fragmentación y espectro de EMIE del compuesto 6 .	89
Figura 56.	Espectro de RMN- ¹ H del compuesto 7 en DMSO- <i>d</i> ₆ .	91
Figura 57.	Espectro de RMN-1H del compuesto 7 en DMSO- <i>d</i> ₆ .	92

Figura 58.	Patrón de fragmentación y espectro de EMIE del compuesto 7.	93
Figura 59.	Imágenes por SEM de las muestras A) MWCNT-2 y B) MWCNT-1.	95
Figura 60.	Espectros RAMAN de MWCNT-2 y MWCNT-1.	96
Figura 61.	Imágenes por SEM de nanotubos oxidados A) Ox-MWCNT-2 y B) Ox-MWCNT-1.	97
Figura 62.	Espectros RAMAN de Ox-MWCNT-2 y Ox-MWCNT-1.	98
Figura 63.	Espectrograma de TGA de los MWCNT antes y después del tratamiento ácido.	99
Figura 64.	Imágenes SEM de nanotubos A) Ox-MWCNT-2, B) <i>f</i> -MWCNT- E_{1-2} , C) <i>f</i> -MWCNT- E_{2-2} y D) <i>f</i> -MWCNT- E_{3-2} .	100
Figura 65.	Imágenes SEM de nanotubos A) Ox-MWCNT-1, B) <i>f</i> -MWCNT- E_{1-1} , C) <i>f</i> -MWCNT- E_{2-1} y D) <i>f</i> -MWCNT- E_{3-1} .	100
Figura 66.	Termogramas de los MWCNT-1 antes y después de la funcionalización con aminoácidos de longitud variable.	101
Figura 67.	Termograma de los MWCNT-2 antes y después de funcionalizado con aminoácidos de longitud variable.	102
Figura 68.	Espectros RAMAN de A) Ox-MWCNT-2 y <i>f</i> -MWCNT- E_{2-2} , y B) comparación <i>f</i> -MWCNT- E_{n-2} .	103
Figura 69.	Comparación de los termogramas de los MWCNT-2 de todos los intermedios de reacción en la funcionalización con el espaciador 1.	104
Figura 70.	Termogramas de los <i>f</i> -MWCNT- $E_{1-24h-2}$ y <i>f</i> -MWCNT- $E_{1-48h-2}$ y derivadas en atmósfera de A) Aire y B) N ₂ .	105
Figura 71.	Imágenes SEM de nanotubos A) <i>f</i> -MWCNT- $E_{1-24h-2}$ y B) <i>f</i> -MWCNT- $E_{1-48h-2}$.	106
Figura 72.	Imágenes SEM de nanotubos A) MWCNT-1 B) Ox-MWCNT-1, C) <i>f</i> -MWCNT- E_{1-1} y D) <i>f</i> -MWCNT- E_{1-4-2} .	106
Figura 73.	Termograma de los MWCNT antes y después de funcionalizados con el éster de linezólida.	108

Figura 74.	Termograma de los MWCNT-2 prístinos y funcionalizados con el espaciador E ₂ y con la amino-linezólida 7 .	109
Figura 75.	Termograma de los MWCNT funcionalizados con los espaciadores diferentes y el compuesto 7 .	110
Figura 76.	Espectros RAMAN de los nanomateriales <i>f</i> -MWCNT-E ₂ -2 y <i>f</i> -MWCNT-E ₂ - 7 -2.	111
Figura 77.	Imágenes SEM de nanotubos A) MWCNT-2 B) O _x -MWCNT-2, C) <i>f</i> -MWCNT-E ₃ -2 y D) <i>f</i> -MWCNT-E ₃ - 7 -2.	113
Figura 78.	Imágenes SEM de nanotubos A) <i>f</i> -MWCNT-E ₁ - 7 -24h-2 y B) <i>f</i> -MWCNT-E ₁ - 7 -48h-2.	114
Figura 79.	Imágenes TEM de nanotubos A) MWCNT-2 B) O _x -MWCNT-2, C) <i>f</i> -MWCNT-E ₂ -2 y D) <i>f</i> -MWCNT-E ₂ - 7 -2.	115
Figura 80.	Termograma de los A) <i>f</i> -MWCNT-E ₁ - 7 -24h-2 y B) <i>f</i> -MWCNT-E ₁ - 7 -48h-2 antes y después de funcionalizarlos con la amida de linezólida en atmósfera de aire.	116
Figura 81.	Espectros RAMAN comparativo de <i>f</i> -MWCNT-E ₂ -2 y <i>f</i> -MWCNT-E ₂ - 7 -2.	117
Figura 82.	Comparación de los termogramas de los <i>f</i> -MWCNT- 7 -# con los nanomateriales de etapas de reacción previas.	118
Figura 83.	Termograma de los MWCNT antes y después de funcionalizados con el compuesto 8 y el espaciador 1 .	119
Figura 84.	Termograma de los MWCNT funcionalizados con los espaciadores diferentes y el compuesto 8 .	120
Figura 85.	Imágenes SEM de nanotubos A) MWCNT-2 B) O _x -MWCNT-2, C) <i>f</i> -MWCNT-E ₃ -2 y D) <i>f</i> -MWCNT-E ₃ - 8 -2.	121
Figura 86.	Imágenes TEM de nanotubos A) MWCNT-2 B) O _x -MWCNT-2, C) <i>f</i> -MWCNT-E ₃ -2 y D) <i>f</i> -MWCNT-E ₃ - 8 -2.	122
Figura 87.	Estructuras de CD hidrofílicos e hidrofóbicos.	123
Figura 88.	Espectros de absorbancia UV-vis de CDs y h-CDs.	124

Figura 89.	Espectro de excitación y emisión a longitudes de onda diferentes de A) CDs y B) h-CDs.	125
Figura 90.	Comparación de espectros de emisión de CDs-NH ₂ antes y después de la funcionalización con espaciadores de longitud variable.	126
Figura 91.	Ensayo de difusión radial para la actividad antibacteriana de <i>f</i> -MWCNT- <i>E</i> ₁ -4-1 con A) <i>S. aureus</i> ATCC 29213 y B) <i>S. aureus</i> aislado clínico.	128
Figura 92.	Actividad antibacteriana de <i>f</i> -MWCNT- <i>E</i> ₂ -7-2 frente R4 mediante difusión radial (12 mm de diámetro) y mediante microdilución en caldo con CMI de 6.25 µg/mL.	131
Figura 93.	Actividad antibacteriana de <i>f</i> -MWCNT- <i>E</i> ₂ -7-2 frente <i>S. aureus</i> ATCC 25923 mediante difusión radial (14 mm de diámetro) y mediante microdilución en caldo a CMI menores de 0.785 µg/mL.	131
Figura 94	Ensayo de difusión radial de la actividad antibacteriana de <i>f</i> -MWCNT- <i>E</i> ₁ -8-2 contra a) <i>Streptococcus</i> grupo A, b) <i>S. aureus</i> aislado clínico, c) <i>S. aureus</i> ATCC 29213 y d) SARM.	133
Figura 95.	A) Modelado molecular de 7 (pose 6, amarillo) y linezólida (verde) y B) mapa de interacciones de 7 en el SFT en la estructura cristalina del RNAr de <i>E. coli</i> .	138
Figura 96.	A) Modelado molecular de <i>E</i> ₁ -7-H ⁺ (amarillo) y linezólida (verde) y B) mapa de interacciones de <i>E</i> ₁ -7-H ⁺ en el SFT en la estructura cristalina del RNAr de <i>E. coli</i> .	141
Figura 97.	A) Modelado molecular de <i>E</i> ₂ -7-H ⁺ (amarillo) y linezólida (verde) y B) mapa de interacciones de <i>E</i> ₂ -7-H ⁺ en el SFT en la estructura cristalina del RNAr de <i>E. coli</i> .	141
Figura 98.	A) Modelado molecular de <i>E</i> ₃ -7 (amarillo) y linezólida (verde) y B) mapa de interacciones de <i>E</i> ₃ -7 en el SFT en la estructura cristalina del RNAr de <i>E. coli</i> .	142

LISTA DE TABLAS

Tabla 1.	Nanomateriales aprobados por la FDA.	9
Tabla 2.	Condiciones y variación de parámetros para la síntesis de MWCNT por nebulización pirolítica por Kertész y colaboradores.	12
Tabla 3.	Condiciones de reacción y resultados obtenidos de la síntesis de MWCNT por nebulización pirolítica empleando hidrocarburos alifáticos saturados como fuente de carbono.	14
Tabla 4.	Comparación en I_G/I_G y I_D/I_G de los f -MWCNT- E_n -#.	103
Tabla 5.	Comparación en I_G/I_G y I_D/I_G de los f -MWCNT- E_n -7-#.	112
Tabla 6.	Comparación en I_G/I_G y I_D/I_G de los f -MWCNT-7-# con sus nanomateriales predecesores.	117
Tabla 7.	Longitudes de onda de excitación y emisión máxima de CDs-NH ₂ antes y después de la funcionalización con los espaciadores diferentes.	127
Tabla 8.	Halos de inhibición inducidos de f -MWCNT- E_n -7-2 por ensayo de difusión radial frente a bacterias de interés clínico diversas.	129
Tabla 9.	Ensayo antibacteriano por microdilución en caldo de f -MWCNT- E_n -7-2 frente a bacterias diversas de interés clínico.	130
Tabla 10.	Halos de inhibición inducidos de f -MWCNT- E_n -8-2 por ensayo de difusión radial contra cepas Gram positivas diferentes.	134
Tabla 11.	Porcentajes de inhibición obtenidos con f -MWCNT- E_2 -8-2 frente a cepa de <i>S. aureus</i> de un aislado clínico.	135
Tabla 12.	Valores de puntuación, energías de conformación y colocación de las poses de 7 y de linezólida.	139
Tabla 13.	Puntuación y energías de posicionamiento de los E_n -7 y E_n -7- H^+ .	140
Tabla 14.	Comprobación de la regla de Lipinski para los compuestos E_n -7 y E_n -7- H^+ .	143

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1.	Ruta de síntesis de linezólida	6
Esquema 2.	Síntesis de nanoacarreadores a base de MWCNT recubiertos con fosfolípidos y polisorbato, cargados con berberina.	17
Esquema 3.	Síntesis de MWCNT funcionalizados con grupos etanolaminas.	20
Esquema 4.	Síntesis de nanomateriales a partir de MWCNT funcionalizados con vancomicina soportados en películas de poliuretano.	22
Esquema 5.	Síntesis de nanomateriales de MWCNT funcionalizados con bencimidazoles alquilados.	24
Esquema 6.	Método de síntesis y purificación de CD a partir de jugo de naranja.	28
Esquema 7.	Cargado de CD con DOX y su liberación en células cancerosas.	41
Esquema 8.	Puntos cuánticos de carbono funcionalizados con ampicilina contra bacterias expuesto a luz visible	50
Esquema 9.	Ruta de síntesis de CD-AMP.	51
Esquema 10	Desarrollo de nanoacarreadores a base de MWCNT y CD con compuestos tipo oxazolidinano, estudios contra bacterias y cálculos teóricos.	55
Esquema 11.	Diagrama de síntesis de precursor de linezólida 7.	59
Esquema 12.	Mecanismo de liberación de los compuestos funcionalizados sobre los MWCNT.	133
Esquema 13.	Metodología de desarrollo de nanoacarreadores con base a MWCNT-Lin y CD-Lin.	142

AGRADECIMIENTOS

Agradezco infinitamente a Dios, a mi madre que en paz descanse y mi padre por permitirme vivir y crecer como persona e incentivar me a seguir creciendo académica y profesionalmente durante todos estos últimos años de trabajo.

A mi familia, pareja, cuñada, amigos, y compañeros por animarme y estar al pendiente de mi desarrollo de esta etapa profesional.

A los directivos, docentes y personal de trabajo del Centro de Graduados e Investigación en Química del Tecnológico Nacional de México campus Tijuana por sus enseñanzas y apoyo tanto en el aspecto académico como experimental.

A mi comité el Dr. Adrián Ochoa Terán, Dra. Yadira Gochi Ponce, Dra. Norma Aidé Cortez Lemus, Dra. Georgina Esther Pina Luis y Dr. Gabriel Alonso Núñez por su paciencia, críticas constructivas y apoyo que hicieron posible este trabajo.

RECONOCIMIENTOS INSTITUCIONALES

El presente trabajo se desarrolló en los Laboratorios del Centro de Graduados e Investigación del Instituto Tecnológico de Tijuana, bajo la dirección del Dr. Adrián Ochoa Terán y codirección de la Dra. Yadira Gochi Ponce.

Un agradecimiento al Tecnológico Nacional de México por el apoyo financiero otorgado para la realización de este proyecto (Proyecto No. 5366.19-P). También se agradece al CONACyT por el apoyo financiero parcial brindado para la realización de este proyecto (SALUD-2015-1-261324) y por la beca otorgada para la realización de estudios de posgrado (No. Beca 582182) y al proyecto de Red Temática de Química Supramolecular que permitió la difusión de los resultados de este trabajo (Proyecto No. 294810).

Asimismo, el suscrito agradece al Centro de Graduados e Investigación en Química del Tecnológico Nacional de México campus Tijuana, por el apoyo brindado para la realización de estos estudios.

Un reconocimiento especial a la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Sinaloa por el apoyo brindado en la realización de las pruebas antimicrobianas, así como a la Facultad de Química de la UNAM por el apoyobrinado en los estudios de modelado molecular.

VITA

Marzo 19, 1992 2015	Nacido en Tijuana, Baja California Licenciatura en Ingeniería en Nanotecnología. Instituto Tecnológico de Tijuana
2015-2017	Becario CONACyT.
2017	Maestría en Ciencias en Química. Instituto Tecnológico de Tijuana.
2017-2021	Becario de CONACyT.
2021	Doctorado en Ciencias en Química. Instituto Tecnológico de Tijuana.

PUBLICACIONES

1. Alatorre-Barajas, J.A.; Ramírez-Zatarain, S.D.; Ochoa-Terán, A.; Cordova, J.; Reynoso-Soto, E. A.; Chávez, D.; Miranda-Soto, V.; Labastida-Galván, V.; Ordoñez, M. An Efficient Method for the Synthesis of New Non-Symmetrical Naphthalenediimides. *ChemistrySelect* **2018**, 3, 11943-11949.
2. Moreno-Valle, B.; Alatorre-Barajas, J. A.; Gochi-Ponce, Y.; Eleazar Alcántar-Zavala, E.; Rivera-Lugo, Y.Y.; Montes-Ávila, J.; Balter Trujillo-Navarrete, B.; Alonso-Núñez, G.; Reynoso-Soto, E. A. Adrián Ochoa-Terán, A. MWCNT-oxazolidinone conjugates with antibacterial activity. *J Nanopart Res* **2020**, 22, 1-13.
3. Alatorre-Barajas, J. A.; Alcántar-Zavala, E.; Gil-Rivas, M. G.; Estrada-Zavala, E.; Ochoa-Terán, A.; Gochi-Ponce, Y.; Montes-Ávila, J.; Cabrera, A.; Trujillo-Navarrete, B.; Rivera-Lugo, Y.Y.; Alonso-Núñez, G.; Reynoso-Soto, E. A.; Medina-Franco, J. L. Synthesis of covalent bonding MWCNToligoethylene linezolid conjugates and their antibacterial activity against bacterial strains. *RSC Adv.* **2021**, 11, 28912-28924.

AREAS DE ESTUDIO

Área principal: Química orgánica y materiales con actividad biológica.

Síntesis y estudios de compuestos orgánicos y/o nanomateriales y su aplicación en estudios de actividad antibacterial.

RESUMEN

“Preparación de nanomateriales conjugados con actividad biológica”

por

José Antonio Alatorre Barajas

Doctorado en Ciencias en Química

Instituto Tecnológico de Tijuana, 2017

Dr. Adrián Ochoa Terán

Director de Tesis

Dra. Yadira Gochi Ponce

Codirectora de Tesis

En los últimos años las enfermedades infecciosas causadas por bacterias, entre otros patógenos, han cobrado gran atención, destacando aquéllas resistentes a antibióticos. Uno de los fármacos de amplio espectro activos contra bacterias de importancia clínica y resistentes a otros medicamentos como *Staphylococcus aureus* es la linezólida. Sin embargo, se ha reportado resistencia a este fármaco por estas bacterias. Por su parte, la nanotecnología ha venido a reforzar áreas importantes de la ciencia como la medicina, desarrollando sistemas para la administración y transporte de fármacos nuevos llamados nanoacarreadores. Por lo que, desarrollar nanoacarreadores para este fármaco podría mejorar su administración e incluso su actividad antibacteriana.

En este trabajo se sintetizaron nanomateriales a partir de nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNT) y puntos cuánticos de carbono (CD) conjugados con una

estructura de linezólida variando la longitud de los espaciadores entre el compuesto activo y la pared del nanotubo.

En la síntesis de los MWCNT se varió la concentración inicial de la solución de ferroceno y tolueno (0.1 y 0.2 M), mientras que en la preparación CD se emplearon métodos de síntesis hidrotérmica y solvotérmica con el objetivo de evaluar y comparar su efecto en el potencial biológico. Durante cada etapa de la modificación química de los MWCNT, la incorporación de material orgánico cambió los defectos de la superficie, la densidad y la estabilidad térmica. Interesantemente, debido a la actividad antibacteriana intrínseca de la linezólida y análogos, los nanomateriales conjugados con estos compuestos mostraron actividad contra una variedad de cepas evaluadas, mientras que ninguno de los nanomateriales obtenidos en las etapas previas mostró actividad antibacteriana. Los resultados demostraron que los nanomateriales con el espaciador 2 y los compuestos activos son los mejores nanomateriales antibacterianos y que existe efecto significativo de la longitud de la cadena de oligometileno (E_n) y la actividad antibacteriana.

Abstract

“Preparation of biological active conjugated nanomaterials”

By

José Antonio Alatorre Barajas

Dr. Adrián Ochoa Terán

Thesis advisor

Dra. Yadira Gochi Ponce

Thesis co-advisor

In recent years, infectious diseases have become very important, especially those caused by drug resistant bacteria. Linezolid is a broad-spectrum drug active against clinically important resistant bacteria such as *Staphylococcus aureus*. However, resistance to Linezolid has been observed by these bacteria. Moreover, nanotechnology has come to improve broad branches of science such as medicine by developing new drug delivery and transport systems known as nanocarriers. Thus, developing of nanocarriers of this drug could improve its delivery and even its antibacterial activity.

In this work, several nanomaterials were synthesized from multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs) and carbon quantum dots (CD) conjugated to Linezolid analogues, by varying the spacer length between the active compound and the nanomaterial.

In the synthesis of MWCNTs, the concentration of ferrocene solution in toluene (0.1 and 0.2 M) was varied, while various hydrothermal and solvothermal synthesis methods were used to prepare CD and to evaluate and compare their biological potential. At each step of chemical modification, the organic material incorporation into MWCNTs changed the surface defects, density and thermal stability. Interestingly, due

to the intrinsic antibacterial activity of the linezolid and analogues, the nanomaterials conjugated with these compounds showed activity against a variety of bacterial strains tested, whereas none of the nanomaterials obtained in the previous steps showed antibacterial activity. The results show that nanomaterials modified with the spacer 2 and active compounds are the best antibacterial nanomaterials, and there is significant effect of the spacer length over the antibacterial activity.

I. INTRODUCCIÓN

1.1. Introducción

Las enfermedades infecciosas son trastornos provocados por un agente patógeno. Existen una variedad de agentes patógenos como bacterias, virus, hongos y parásitos. Las infecciones causadas por bacterias se conocen como bacterianas y se clasifican en función de su membrana celular por una técnica conocida como tinción de Gram, clasificándolas en Gram positivas y Gram negativas.¹

Una bacteria Gram positiva de gran importancia clínica es *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), ya que es una de las principales bacterias en causar infecciones intrahospitalarias (IIH).² Una infección intrahospitalaria es aquella que adquiere un paciente durante su estancia en el hospital, o sea, no se encontraba presente al momento de su ingreso. Las IIH son un problema de salud pública a nivel local y mundial, ya que estas infecciones incrementan el tiempo de estancia del paciente lo cual conlleva a un gasto mayor, además de un aumento en la tasa de morbilidad y mortalidad.³

El 28 de febrero de 2017 la Organización mundial de la Salud (OMS) en Ginebra realizó un comunicado de prensa en la cual se publicó una lista de las bacterias de importancia clínica mayor en el desarrollo de antibióticos destacando entre ellas varias cepas causantes de IIH como la antes mencionada *S. Aureus*.⁴

Entre los fármacos de generación nueva que se han desarrollado recientemente se encuentra la linezólida, la cual presenta actividad contra cepas tanto Gram positivas como *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium* y *Streptococcus pneumoniae* y algunas Gram negativas. Sin embargo, a pesar de las cualidades excelentes que presenta la linezólida como una concentración mínima inhibitoria (MIC) baja, absorción buena y toxicidad baja, en la actualidad se han encontrado cepas resistentes a linezólida, por lo que es necesario desarrollar fármacos nuevos aprovechando y mejorando las cualidades de ésta.⁵

Por su parte, la nanotecnología se encarga del diseño, caracterización y desarrollo de materiales en el que al menos una de sus dimensiones se encuentre en un intervalo entre 1 y 100 nm.⁷ La nanotecnología junto con la medicina genera una rama de la ciencia nueva denominada nanomedicina, destacando entre una de sus más grandes vertientes el desarrollo de nanoacarreadores, los cuales son vehículos en la escala nanométrica diseñados para mejorar las cualidades y capacidades de fármacos además de reducir los efectos secundarios.⁸

Entre algunos de los nanoacarreadores que han generado interés mayor en los últimos años se encuentra los nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNT) y puntos cuánticos de carbono (CDs) los cuales presentan propiedades interesantes e ideales para ser empleados en el área médica como son solubilidad en agua, estabilidad química, permeabilidad celular entre otras.^{9,10}

Debido a lo antes mencionado, es necesario el desarrollo de sistemas nuevos, mejores y más eficientes, los cuales aprovechen las propiedades antibacterianas de fármacos como linezólida, en donde la implementación de nanomateriales promete ser una alternativa propicia para ello.

1.2. Planteamiento del proyecto

En este proyecto se plantea el desarrollo de nanomateriales conjugados a partir de nanotubos de carbono de pared múltiple y puntos cuánticos de carbono con linezólida y realizar estudios de su actividad contra bacterias causantes de infecciones intrahospitalarias como *Staphylococcus aureus* multirresistente, entre otras.

II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

2.1. Justificación

En la actualidad las enfermedades intrahospitalarias son un problema de salud pública a nivel mundial, debido al aumento en la resistencia a los antibióticos de las bacterias causantes de estas enfermedades, aumentando las tasas de morbilidad y mortalidad. El desarrollo de sistemas empleando nanomateriales y linezólida representan una alternativa terapéutica novedosa en el tratamiento de estas enfermedades.

2.2. Objetivos

2.2.1. Objetivo general

El objetivo general de este proyecto es desarrollar nanomateriales conjugados con linezólida para evaluar sus propiedades antibacterianas ante cepas de importancia clínica resistentes a antibióticos de primera línea.

2.2.2. Objetivos específicos

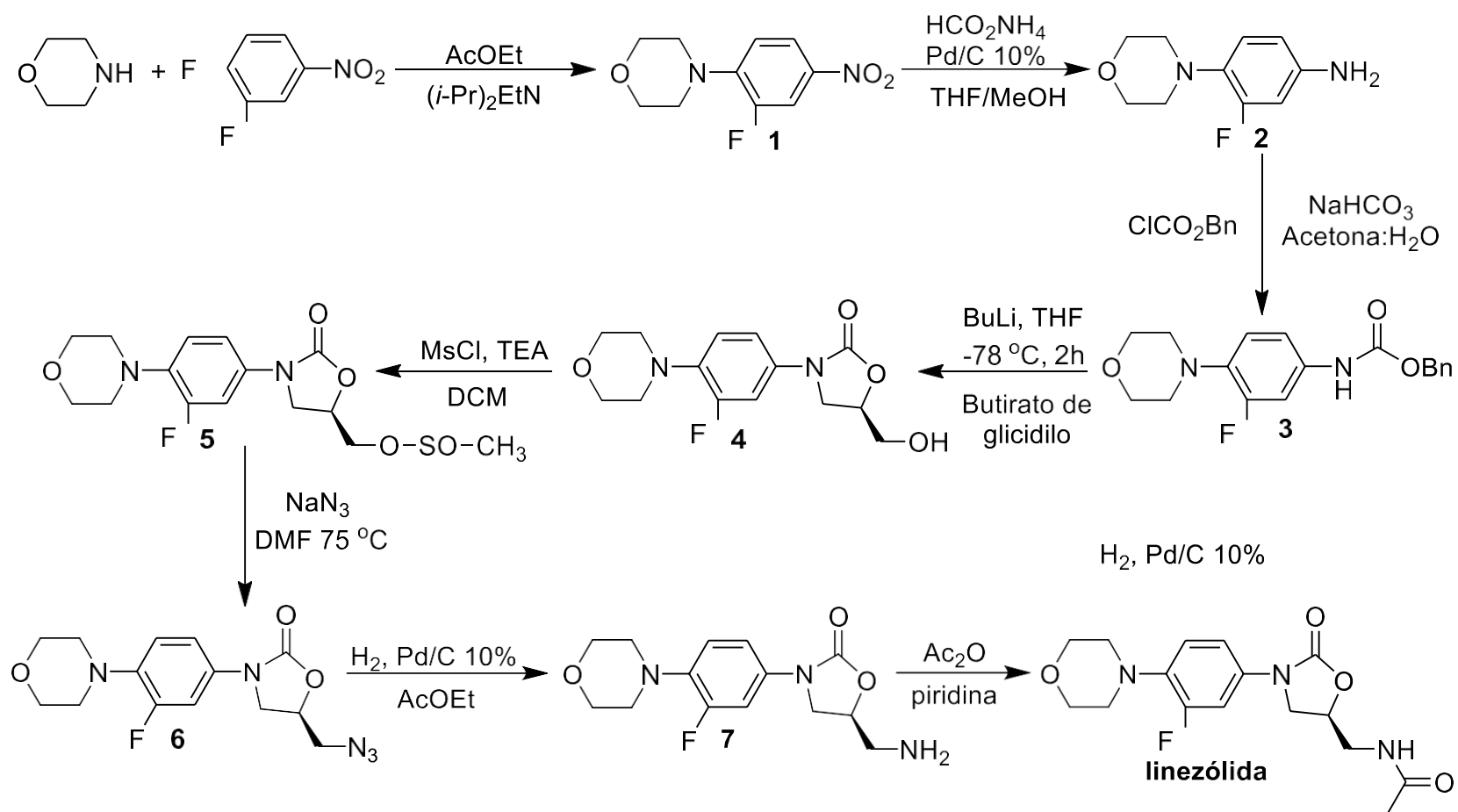
1. Sintetizar un precursor de linezólida y caracterizarlo por técnicas espectroscópicas (IR, RMN-¹H, RMN-¹³C) y espectrométricas (EM).
2. Sintetizar MWCNT por el método de nebulización pirolítica.
3. Sintetizar CD por tratamiento hidrotermal y solvotermales diferentes.
4. Introducir grupos espaciadores de longitud variable a ambos nanomateriales.
5. Incorporar el precursor de linezólida a los nanomateriales.
6. Caracterizar los nanomateriales por técnicas analíticas como TGA, SEM, TEM y espectroscópicas como FTIR, RAMAN, UV-vis y fluorescencia.
7. Evaluar *in vitro* la actividad antibacteriana por los métodos de difusión radial, microdilución en caldo y macrodilución en caldo.

III. ANTECEDENTES

3.1 Síntesis y aplicación de linezólida

El incremento de la resistencia bacteriana ha sido hasta la fecha un problema clínico de prioridad elevada. El desarrollo continuo de una variedad de antibióticos es de vital importancia y en los últimos años se ha destacado el uso de estructuras tipo 3-aril-2-oxazolidinonas como agentes antibacterianos, entre los que resalta linezólida. La linezólida es el primer fármaco tipo oxazolidinona que fue aprobado por la FDA en el año 2000 y que presentó actividad contra cepas resistentes a múltiples fármacos (MDR) como *Estafilococos* resistentes a meticilina, *Neumococos* resistentes a penicilina, *Enterococcus faecalis* y *E. faecium* resistentes a vancomicina y *Staphylococcus aureus* resistente a vancomicina (SAVR).^{11,12}

La ruta de síntesis de linezólida fue reportada en el trabajo realizado por Brickner y colaboradores,¹³ (Esquema 1). En la primera reacción llevaron a cabo una sustitución nucleofílica aromática con morfolina del flúor en posición 4 del 3,4-difluoronitrobenceno, el cual se encuentra mas desprotegido debido al efecto del grupo nitro en posición para empleando como medio de reacción acetato de etilo (AcOEt). Posteriormente, realizaron una reacción de deshidrogenación catalítica con paladio sobre carbono (Pd/C) al 10% con formato de amonio en una mezcla THF:metanol. Después, realizaron la formación de grupo carbamato de bencilo mediante un ataque nucleofílico del grupo amino del arilo sobre el cloro formato de bencilo con carbonato de sodio en una mezcla acetona:agua. Entre las reacciones mas críticas se encuentra la reacción del carbamato con el *n*-butil litio en THF a -78 °C y la posterior adición del (*R*)-glicidil butirato, la cual lleva a la formación del intermedio quiral (*R*) *N*-(3'-fluor-4'-morfolinfenil)-5-(hidroximetil)-2-oxazolidinona. Luego, llevaron a cabo la formación de un grupo mesilo empleando cloromesilato con trietilamina (TEA) como base en diclorometano (DCM), el grupo mesilo es un buen grupo saliente lo que permite la sustitución de este por el grupo azida en dimetilformamida (DMF) a 75 °C. Finalmente, se lleva a cabo una reacción de deshidrogenación en Pd/C al 10% en AcOEt e hidrógeno seguido de una acetilación utilizando anhídrido acético en piridina.



Esquema 1. Ruta de síntesis de linezólida.

La ruta de síntesis reportada por Brickner y colaboradores,¹³ permite la obtención del precursor de linezólida con grupo amino terminal compuesto **7** así como sus intermedios de reacción, el cual es de interés para este proyecto debido a que a través de este grupo amino se llevará a cabo la incorporación de este compuesto a los nanomateriales mediante la formación de un enlace amida.

3.2 Nanomedicina y nanomateriales

Una de las vertientes de gran interés en años recientes es la implementación de sistemas y tecnologías en la escala nanométrica en una diversidad de aplicaciones destacando entre ellas la medicina, generando lo que actualmente se conoce como nanomedicina.

Los enfoques principales de esta área de la ciencia son generar sistemas más eficientes para el tratamiento, diagnóstico y prevención de enfermedades mediante el uso de sistemas nanoestructurados.

Actualmente, uno de los desafíos más grandes de la medicina es la disminución de efectos secundarios en la administración de fármacos. Entre las causas principales está la falta de sistemas que interaccionen de manera específica con el sitio de acción deseado, por lo que, gran parte del fármaco no llega al sitio de acción generando así efectos adversos en otras partes del organismo. Un ejemplo notorio es el tratamiento del cáncer, ya que los fármacos agresivos que se utilizan no presentan un efecto dirigido, generando un daño de células de manera indiscriminada. En los últimos años se han desarrollado varios sistemas empleando nanomateriales de composición diversa para la terapia y diagnóstico (teragnóstica) del cáncer, mostrando resultados muy prometedores para ser empleados para este y otros padecimientos.¹⁴⁻¹⁶

El desarrollo de sistemas complejos con base en las propiedades a escala nanométrica promete resolver gran parte de los problemas previamente mencionados, generando sistemas capaces de detectar y tratar una gama amplia de enfermedades, la administración de fármacos y complejos vitamínicos e incluso para uso veterinario.¹⁷⁻

En estos últimos años se han reportado varios trabajos donde destacan una variedad considerable de nanosistemas aprobados por la Administración de alimentos y medicamentos (FDA por sus siglas en inglés) o en estudios clínicos, y cómo han aumentado con el paso de los años.²¹⁻²³

En general, la mayoría de las nanomedicinas aprobadas constan de nanoacarreadores de un único tipo de sistema descritos en su totalidad como los liposomas con polietilenglicol (PEG), que emplean medicamentos aprobados con anterioridad. Sin embargo, se ha observado un aumento en desarrollo de nanoacarreadores diferentes con un grado de complejidad mayor empleando combinaciones entre sistemas ya estudiados y aprobados. Nanomateriales y nanopartículas diversas se han estudiado en tratamientos como nanoacarreadores, agentes de contraste, estudios contra el cáncer, antimicrobianos, entre otros. En la Tabla 1 se destacan algunos nanomateriales aprobados por la FDA o en fase de desarrollo en donde se describen sus ventajas y aplicaciones.²¹⁻²³

Tabla 1. Nanomateriales aprobados por la FDA.

Nanomaterial	Ventajas	Aplicaciones	Año(s) de aprobación	Nombre comercial
Liposomas	Incremento de la liberación específica y disminución de la toxicidad	Sistemas de transporte de fármacos para padecimientos, infecciones y tipos de cáncer diferentes	1995-2015	Doxil®/ Caelyx™, AmBisome®, DepoDur®, Onivyde®
Sistemas, proteínas o moléculas PEGiladas	Aumento en la estabilidad y circulación en el cuerpo	Tratamiento de padecimientos múltiples como hepatitis, esclerosis, etc.	1990-2015	Adagen®, PegIntron®, Neulasta®, ADYNOVATE
Polímeros	Tiempos de liberación y circulación prolongados	Tratamientos de enfermedades renales y cáncer	2000, 2002, 2007	Renagel®, Eligard®
Nanocristales	Incremento en la biodisponibilidad, imitación de estructura de hueso, adhesión y crecimiento celular, etc.	Estimulante mental, sustituto de hueso, relajante muscular, etc.	2000-2014	Rapamune®, Avinza®, Zanaflex®, Vitoss®, Invega® Sustenna®
Óxidos de Hierro y Nanopartículas superparamagnéticas	Capacidad de dosis incrementada, carácter superparamagnético y terapia térmica	Tratamiento de glioblastomas, deficiencia de hierro, materiales de imagen	1996-2010	Feridex®/Endorem®, GastroMAR™, Nanotherm®,

Aunque en la actualidad ya existen varios nanomateriales aprobados por la FDA, el progreso en la comercialización ha sido lenta y los precios de estos sistemas son bastante caros en comparación con su principio activo. A pesar de las dificultades que han presentado a lo largo de estas décadas, no hay duda de estos nanomateriales seguirán revolucionando e innovando el área de la medicina.²⁴

3.3 Nanoacarreadores

Los nanosistemas capaces de administrar y/o dirigir de manera específica hacia el sitio deseado de acción y liberar de manera controlada los fármacos se denominan nanoacarreadores. Los nanoacarreadores prometen ser una de las soluciones mejores de la nanomedicina para el tratamiento de una gama amplia de enfermedades.

Los nanoacarreadores se clasifican con base al tipo de unión entre éste y el fármaco, y por su estructura o material que poseen.

Los tipos de unión entre los nanoacarreadores y fármacos se clasifican de tres formas (Figura 1):

- Adsorción física: la unión se realiza mediante interacciones intermoleculares entre el nanosistema y el fármaco.
- Encapsulación: el fármaco se encuentra dentro o atrapado en el nanoacarreador.
- Conjugación directa: la parte activa del fármaco esta enlazado covalentemente al nanoacarreador.

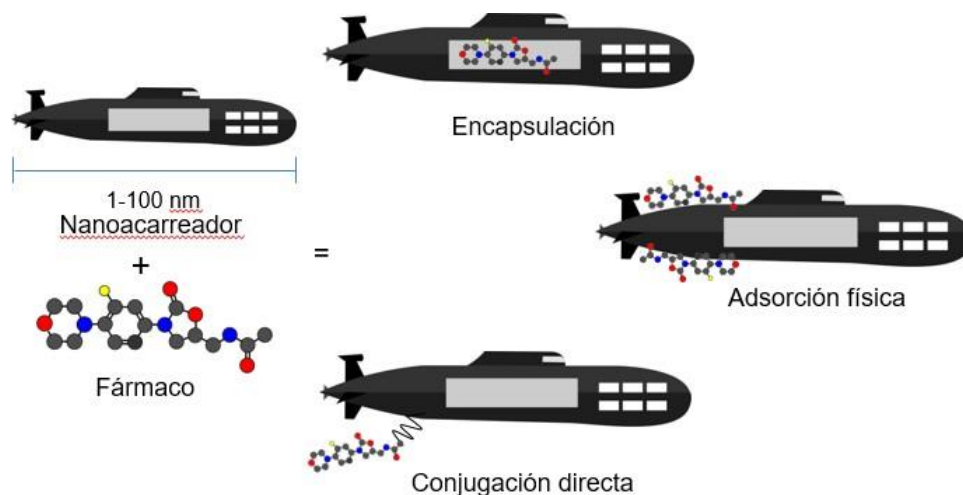


Figura 1. Tipos de unión entre nanoacarreadores y fármacos.

Estructuralmente los nanoacarreadores se dividen principalmente en nanoestructuras poliméricas (nanogeles, nanocápsulas, liposomas), en inorgánicos (nanopartículas de oro, sílice mesoporoso, óxidos metálicos) y a base de carbono como puntos cuánticos de carbono y nanotubos de carbonos o CNT (por sus siglas en inglés) (Figura 2). Los nanoacarreadores a base de carbono no han sido explorados ampliamente y aún no se han desarrollado medicamentos a partir de éstos, haciéndolos candidatos potenciales para su implementación.^{9,10,25}

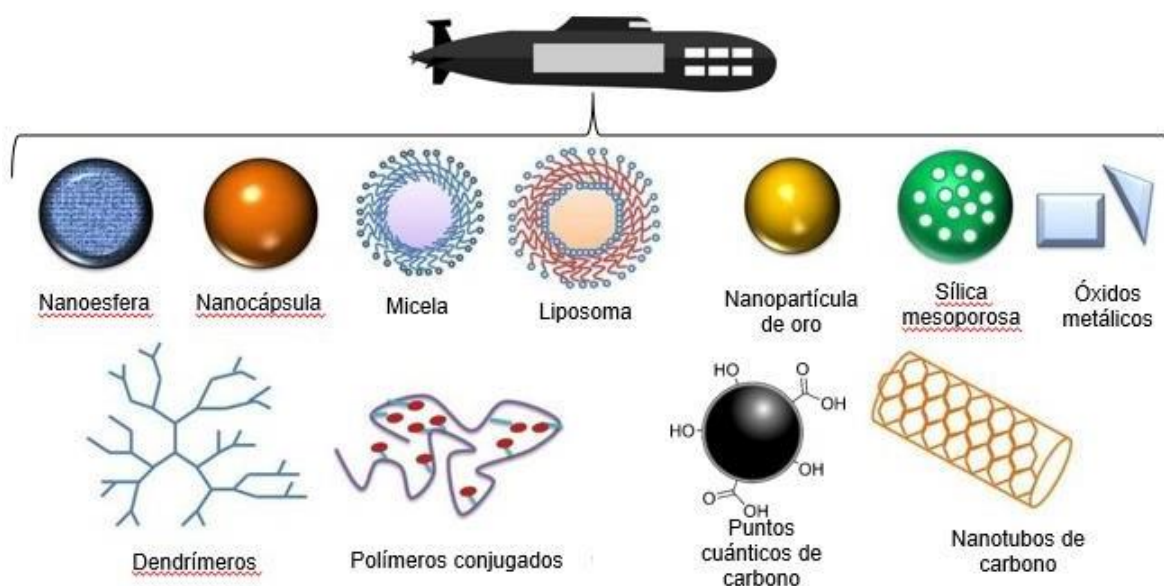


Figura 2. Tipos de nanoacarreadores.

3.4 Síntesis de MWCNT por nebulización pirolítica

Entre la variedad amplia de técnicas y métodos de síntesis para nanotubos de carbono de pared múltiple la técnica de nebulización pirolítica o spray pirólisis (del idioma inglés) ofrece ventajas grandes con respecto a otras técnicas como deposición de arco, ablación láser, métodos hidrotermales, electrólisis, etc.^{26,27} Entre las ventajas se encuentran síntesis controlada, rentable, producción en masa alta, tiempos de síntesis cortos, trabajo en condiciones de presión atmosférica, rendimientos altos, entre otras.²⁸

La técnica de nebulización pirolítica consiste en hacer pasar un flujo de una solución de un organometálico disuelto en hidrocarburos con un gas portador por un tubo de cuarzo, el cual se encuentra dentro de un horno que está en un intervalo de temperatura de 500 °C a 1000 °C. La solución de carbono más empleada es ferroceno en benceno los cuales actúan como catalizador para la formación de los núcleos y fuente de carbono y de esta manera generar los nanotubos, aunque también existen otros catalizadores de algunos otros metales como empleados en la síntesis de nanotubos. Por su parte, el tubo de cuarzo funciona como sustrato permitiendo la

deposición de los primeros núcleos de carbono. Entre los gases portadores más empleados se encuentra N₂, Ar e H₂.^{28,29}

Existen una variedad amplia de factores que afectan las propiedades como el diámetro, longitud y cantidad de catalizador de los MWCNT como lo son la temperatura, sustrato, concentración de catalizador, velocidad de flujo de solución activa, velocidad de flujo del gas portador, tiempo de flujo y tipo de gas portador.²⁶

Kertész y colaboradores³⁰ reportan la síntesis tanto de MWCNT y SWCNT por la técnica de nebulización pirolítica estudiando el efecto de los parámetros de concentración de catalizador, velocidad de flujo de la solución y temperatura de calentamiento en las propiedades y tamaño de sus nanotubos los cuales se muestran más detalladamente en la Tabla 2.

Tabla 2. Condiciones y variación de parámetros para la síntesis de MWCNT por nebulización pirolítica por Kertész y colaboradores.³⁰

Efecto de la concentración de catalizador (ferroceno)		Efecto de la velocidad de flujo de la solución		Efecto de la temperatura de pirólisis	
muestra	Otros parámetros: velocidad de flujo: 1 mL/min temperatura 875 °C velocidad de flujo de Ar 500 L/h cantidad de catalizador (g) en 50 mL de benceno	muestra	Otros parámetros: concentración de catalizador <i>3g ferroceno</i> <i>50 mL de benceno</i> temperatura 875 °C velocidad de flujo de Ar 500 L/h velocidad de flujo (mL/min)	muestra	Otros parámetros: concentración de catalizador <i>3g ferroceno</i> <i>50 mL de benceno</i> velocidad de flujo: 1 mL/min velocidad de flujo de Ar 500 L/h temperatura (°C)
S1	4.5	S6	0.5	S11	825
S2	1.5	S7	2	S12	925
S3	2.5	S8	1	S13	975
S4	3.5	S9	3	S15	775
S5	1.5	S10	0.5	S8	875

A manera de comparación se muestran las imágenes por TEM de las muestras S4, S8 y S8 después de un tratamiento con ácido nítrico para eliminar las impurezas

de restos de catalizador y carbono amorfo depositado sobre los nanotubos de carbono (Figura 3).

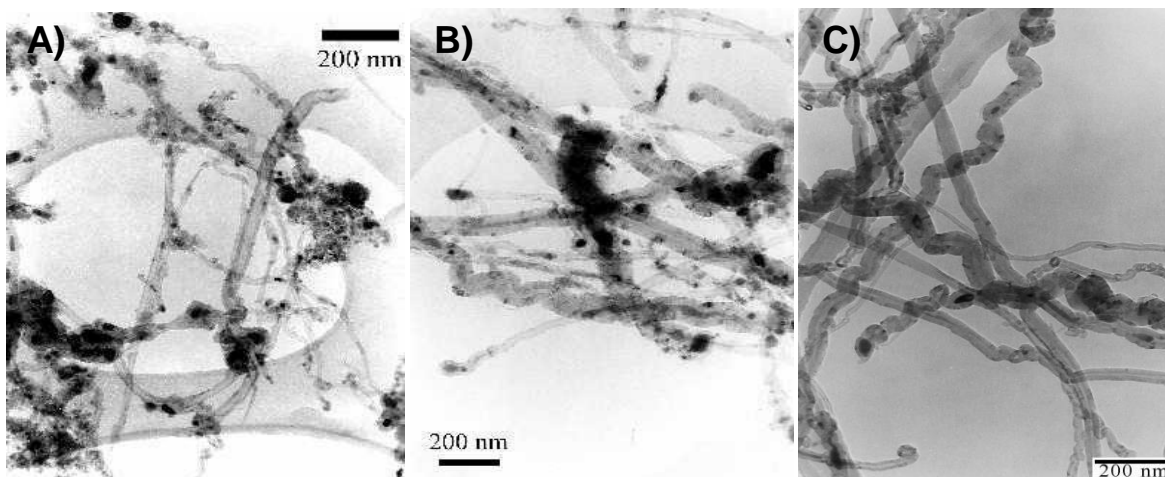


Figura 3. Imágenes por TEM de las muestras A) S4, B) S8 y C) S8 después de un tratamiento ácido.

Kertész y colaboradores³⁰ determinaron que, respecto a la cantidad y calidad de los nanotubos de carbono, las condiciones mejores fueron para las muestras S8 y S11 que fueron una concentración de catalizador 3 g de ferroceno en 50 mL de benceno, ~ 1 mL/min de velocidad de flujo de solución, un intervalo de temperatura entre 875-925 °C y una velocidad de flujo de Ar (gas portador) de 500 L/h. Lo anterior demuestra la importancia en el control de los parámetros de síntesis para los MWCNT.

En otro trabajo realizado por este mismo grupo de investigación Darabont y colaboradores,³¹ llevan a cabo la síntesis de MWCNT por nebulización pirólítica empleando ferroceno como catalizador, pero utilizando hidrocarburos alifáticos saturados como solvente en lugar de los convencionales benceno y tolueno y con las condiciones óptimas encontradas en su trabajo previo.²⁸

En la Tabla 3 se aprecian los parámetros empleados de los hidrocarburos alifáticos saturados y los resultados obtenidos para cada uno de ellos. Para el caso particular de las muestras S35 y S36 que utilizan como fuente de carbono *n*-pentano y *n*-octano se empleó una menor cantidad de ferroceno debido a la solubilidad menor

que presentan en estos solventes. El tratamiento de purificación empleado fue realizar primeramente un tratamiento con ácido nítrico durante 6 h y posteriormente calentar el material en agua destilada por 6 h.

Tabla 3. Condiciones de reacción y resultados obtenidos de la síntesis de MWCNT por nebulización pirolítica empleando hidrocarburos alifáticos saturados como fuente de carbono.

Muestra	Fuente de carbono (100 mL)	Cantidad de ferroceno (g/50 mL)	Producto en bruto (g)	Producto en bruto utilizado para purificación (g)	Producto purificado obtenido (g)	Relación de cantidad de material antes/después de la purificación
S36	<i>n</i> -pentano	2.33 g	0.803	0.3	0.163	54.6
S24	<i>n</i> -hexano	3 g	0.996	0.3	0.152	50.9
S31	<i>n</i> -heptano	3 g	1.440	0.3	0.208	69.4
S35	<i>n</i> -octano	2.1	0.622	0.3	0.182	60.9

En la Figura 4 se muestran las imágenes TEM para las muestras S31, S35 antes purificar y S35 después de la purificación en las que se observó un tamaño de diámetro promedio menor para la muestra S31 con respecto a la muestra S35. A su vez, se observó que la purificación juega un papel importante en la reducción del diámetro de los nanotubos además de la remoción de contaminantes como exceso de catalizador y partículas de carbono.

Con base a los resultados obtenidos por TEM Darabont y colaboradores,³¹ concluyen que los MWCNT a partir de *n*-heptano ofrecen un rendimiento mayor, diámetros menores entre 30-120 nm, homogéneos y porcentaje de recuperación mayor después de la purificación con respecto a los MWCNT a partir de *n*-pentano, *n*-hexano y *n*-octano.

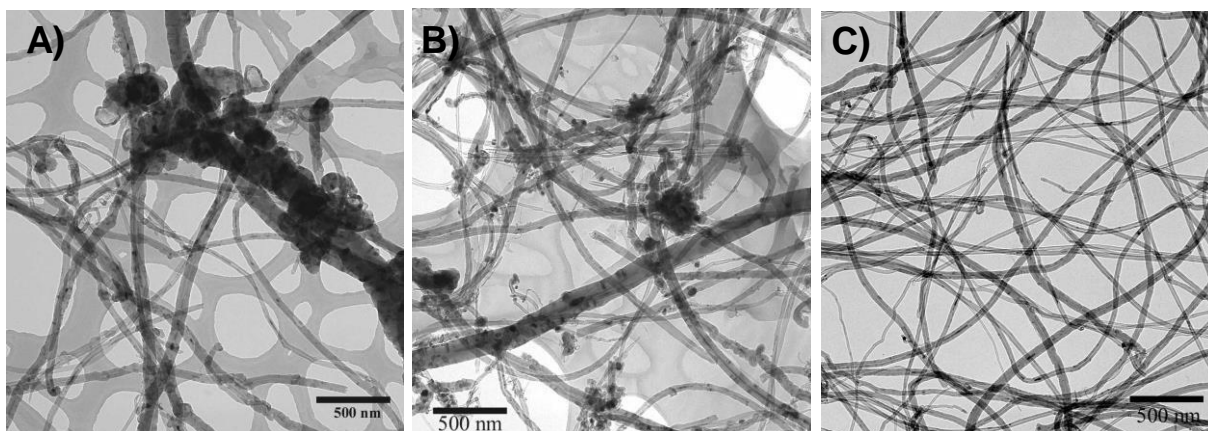


Figura 4. Imágenes por TEM de las muestras a) S31, b) S35 y c) S35 después de su purificación.

3.4 Nanotubos de carbono como nanoacarreadores

En los últimos años se ha reportado una cantidad amplia de artículos que discuten las razones por las que los MWCNT no han sido empleados en su totalidad como nanoacarreadores en sistemas de liberación de fármacos y el tratamiento de enfermedades.³²⁻⁵³

En un trabajo reportado Adeli y colaboradores⁴⁷ discuten las condiciones para que los MWCNT sean empleados como herramientas valiosas en la administración de fármacos, específicamente contra el cáncer, y cómo su funcionalización con varios tipos de polímeros mediante enlaces covalentes y/o no covalentes mejora sus condiciones.

Ellos discuten varias de las propiedades que generan la toxicidad de los MWCNT en condiciones prístinas. Una variedad de estudios en ratones demostró que los MWCNT largos de 0.8 μm inducen lesiones similares a mesoteliomas, algo previamente observado con fibras de asbesto. Este efecto fue aún mayor cuando se emplearon MWCNT largos y sin funcionalizar, debido a que los MWCNT forman agregados en formas de fibras de gran tamaño incapaces de ser fagocitadas por células de macrófagos llevando a la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS).^{42, 43} La formación de ROS se ve directamente relacionada con el método de

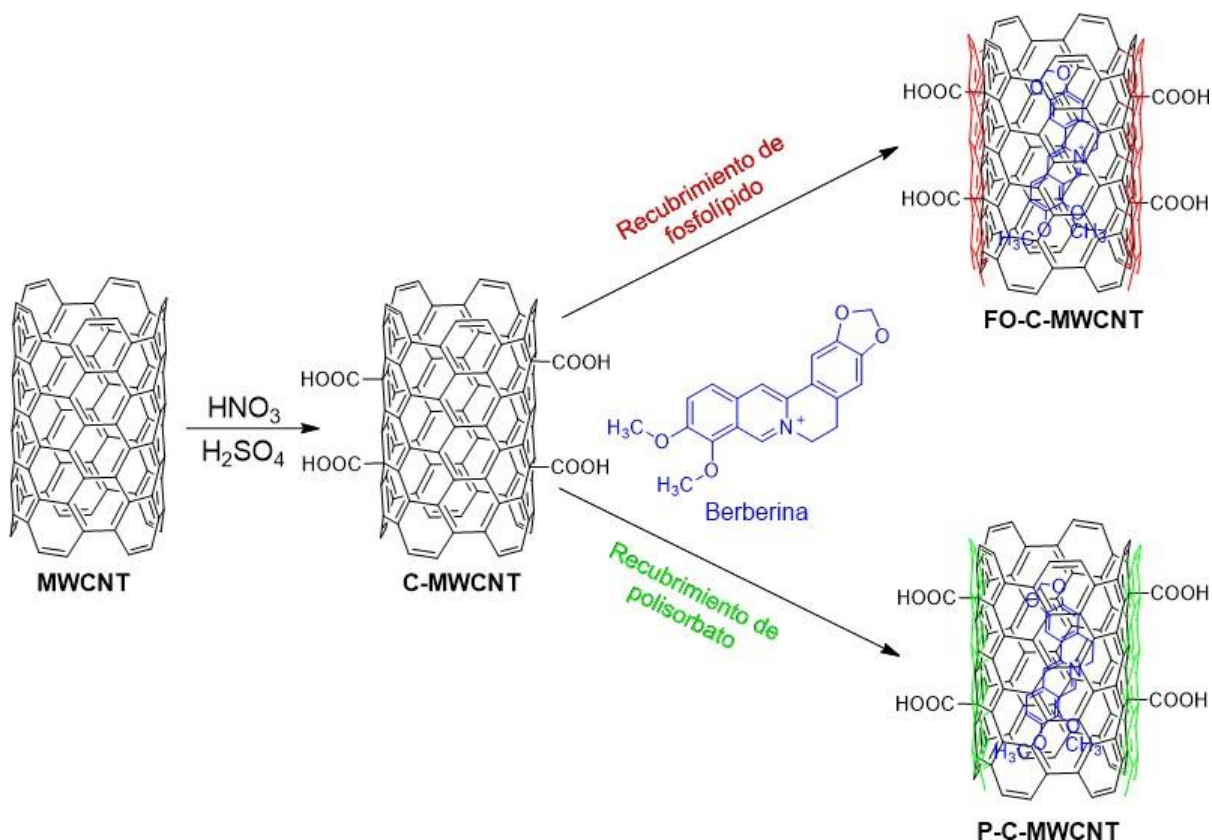
síntesis de los MWCNT debido a la presencia de impurezas como hierro, que se utiliza como catalizador en su fabricación, aumenta la toxicidad. En otros estudios se encontró que otros factores que afectan considerablemente la toxicidad de los MWCNT son la concentración, dosis, duración y método de exposición, y medio el dispersante.⁴⁷

Por otra parte, se ha encontrado que nanotubos de carbono funcionalizados (f-MWCNT) presentan mejoras importantes respecto a MWCNT sin modificar. A su vez, cambios estructurales como disminución de su diámetro, longitud y funcionalización especialmente con polímeros hidrofílicos o biomoléculas mejora considerablemente su solubilidad, dispersión en agua y fluidos biológicos y, por ende, disminuye su toxicidad.

Una de las funcionalizaciones de MWCNT que ha presentado resultados prometedores al realizar estudios *in vivo* son los recubrimientos biocompatibles, como cadenas poliméricas de polietilenglicol (PEGilación).⁴¹ Sin embargo, otros estudios muestran que el tamaño o peso molecular del grupo funcional también afecta significativamente la toxicidad, al funcionalizar con moléculas de peso molecular relativamente alto (460 kDa) se aumenta la toxicidad, mientras que moléculas de peso molecular menores a 80 kDa mejoran su captación celular. Además, no solo es posible multifuncionalizar los MWCNT con moléculas que mejoren su biocompatibilidad, sino también con agentes de contraste, anticuerpos, fármacos, generando sistemas altamente versátiles que pueden utilizarse en aplicaciones biomédicas, como administración avanzada de medicamentos para una variedad amplia de enfermedades.⁴⁷

En un estudio realizado Liang y colaboradores,⁵³ modificaron la superficie de nanotubos de carbono de pared múltiple oxidados (Ox-MWCNT) con berberina (BRB), un alcaloide de isoquinolina y fármaco utilizado para prevenir el Alzheimer. También recubrieron los MWCNT cargados con fosfolípidos y polisorbato para mejorar su biodisponibilidad, desarrollando una variedad de experimentos para encontrar las condiciones óptimas de cargado (Esquema 2). La formulación optimizada se tuvo a una relación fármaco:C-MWCNT de 1:6.5 y un tiempo de agitación de 50 minutos,

logrando una adsorción del fármaco del 68.6% y un tamaño medio de 166.3 nm. Se observó un porcentaje de liberación de fármaco de 87% después de 16 h.



Esquema 2. Síntesis de nanoacarreadores a base de MWCNT recubiertos con fosfolípidos y polisorbato cargados con berberina.

Posteriormente realizaron experimentos *in vitro* empleando 6-cumarina como agente fluorescente durante los estudios de captación celular mediante fluorescencia, observándose que no presentaron toxicidad significativa contra las células de neuroblastos SHSY-5Y. La liberación del fármaco después de 12 h osciló entre 83.5-92.3% para todas las formulaciones. Además, se observó un perfil de liberación de fármaco análogo sin ninguna diferencia significativa para todas las formulaciones, lo que mostró que la funcionalización de MWCNT no alteró la propiedad de portador de liberación de fármaco de los MWCNT (Figura 5).

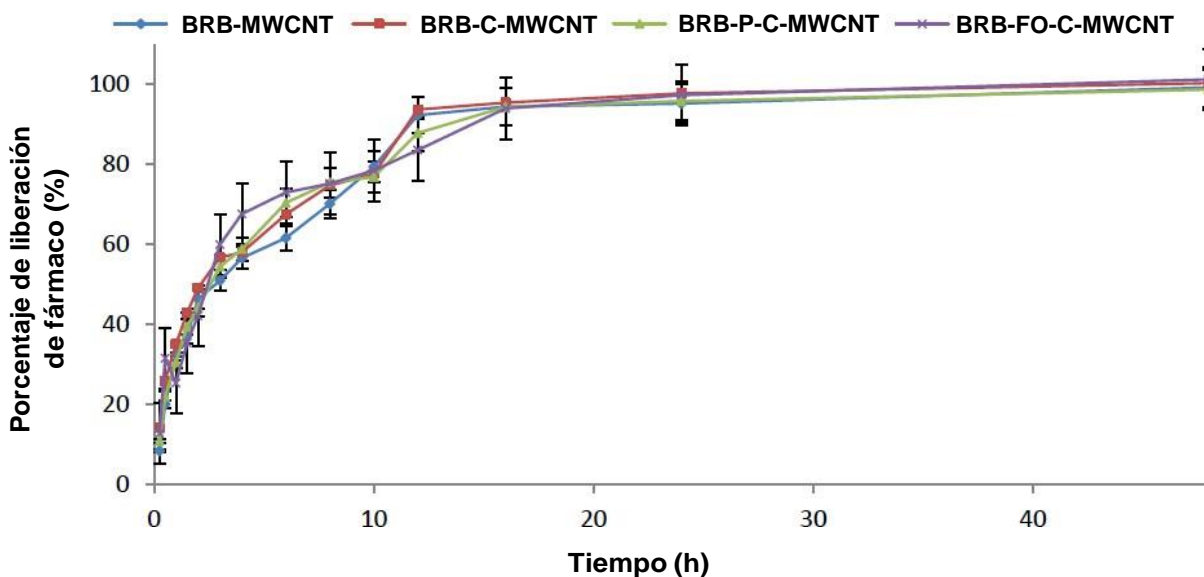


Figura 5. Perfiles de liberación de fármacos *in vitro* de formulaciones de BRB-MWCNT, BRB-C-MWCNT, BRB-P-C-MWCNT y BRB-FO-C-MWCNT.

Los estudios de internalización realizados mediante microscopia confocal láser de barrido (MCLB) con las formulaciones de MWCNT diferentes y tiñendo los núcleos de las células con DAPI mostraron una internalización mayor empleando los nanoacarreadores en comparación con el blanco, el consistió en cumarina-6 libre y no presentó fluorescencia dentro de las células. Por otro lado, la internalización mayor la presentaron los MWCNT revestidos con polisorbato en comparación con el resto de nanoacarreadores, lo que se atribuye a una solubilidad relativamente mayor de este material (Figura 6).

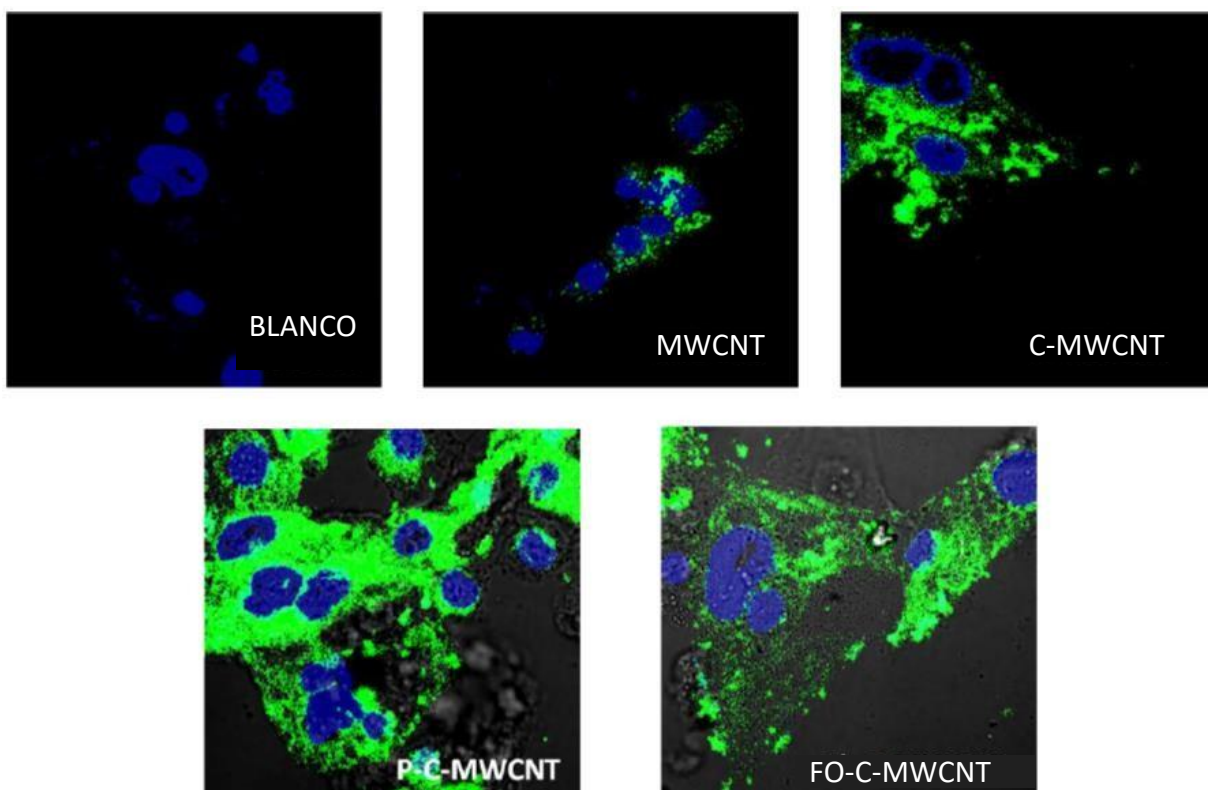


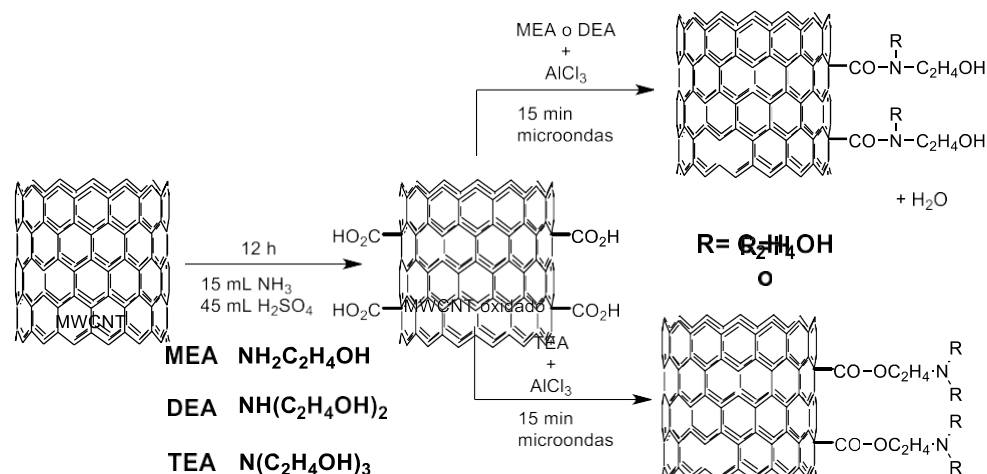
Figura 6. Imágenes de MBCL de células después de 2 h de incubación con (A) Blanco, (B) BRB-MWCNT, (C) BRB-C-MWCNT, (D) BRB-P-C-MWCNT y (E) BRB-FO-C-MWCNT.

Posteriormente, hicieron experimentos *in vivo* en ratones esperando la recuperación de su memoria después del día 18 al 20 de la administración del nanoacarreador. Los tejidos cerebrales y plasmáticos de ratas mostraron absorción de fármaco, lo que indicó el cruce de la barrera hematoencefálica. A su vez, la administración de β -amiloide y los nanoacarreadores cargados con BRB mostraron una disminución significativa en los factores asociados a la enfermedad de Alzheimer en los ratones, mostrando un efecto neuroprotector posible.

Por lo tanto, este trabajo demuestra que los MWCNT recubiertos con fosfolípidos/polisorbatos cargados con fármaco son viables para ser utilizados para el tratamiento de enfermedades.

3.6 Aplicación de MWCNT contra bacterias

Amiri y colaboradores⁵⁴ realizaron la síntesis nanotubos de carbono de pared múltiple funcionalizados con grupos etanolaminas (EA) y estudiaron sus propiedades contra bacterias tanto gram positivas como gram negativas. Primeramente, realizaron la oxidación de sus MWCNT en ácido sulfúrico concentrado y ácido nítrico en una proporción 3:1, respectivamente. Habiendo obtenido los MWCNT-CO₂H prosiguieron a realizar la funcionalización haciéndolos reaccionar con mono, di y tri etanolamina mediante una vía asistida por microondas individualmente, obteniendo tres diferentes nanomateriales conjugados: MWCNT-MEA, MWCNT-DEA y MWCNT-TEA (Esquema 3).



Esquema 3. Síntesis de MWCNT funcionalizados con grupos etanolaminas.

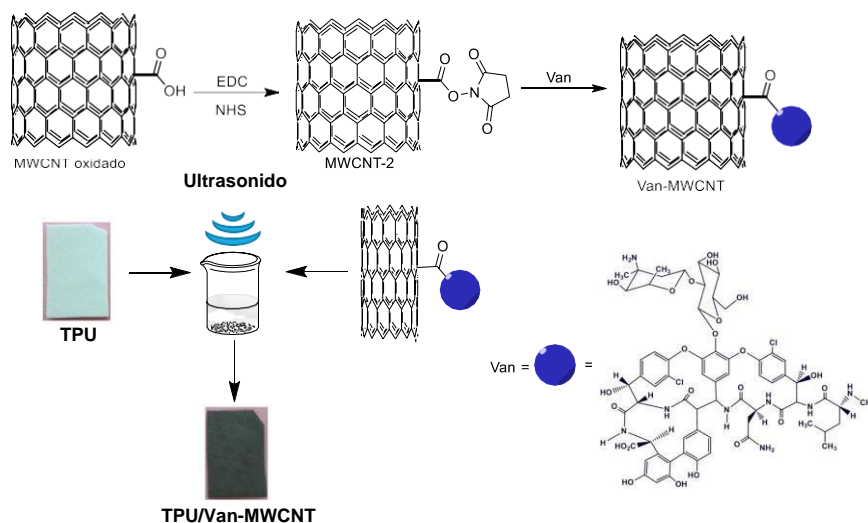
Se caracterizaron cada uno de los nanomateriales obtenidos por técnicas como infrarrojo por transformadas de Fourier (FTIR) en los cuales se observó la presencia de bandas características de grupos OH y NH entre 3500-3350 cm⁻¹ y CH alifáticas en 2940 cm⁻¹, además de la banda característica del estiramiento de amida en 1640 cm⁻¹. En el análisis termogravimétrico (TGA) se observó una caída en peso entre 140-500 °C en los nanomateriales funcionalizados atribuidas a la descomposición de los grupos EA presentando una tendencia de mayor pérdida peso de MEA>DEA>TEA. Por el

análisis de TEM de los nanomateriales se observó una rugosidad sobre la superficie de estos debido a la presencia de los grupos EA en su superficie, presentando estos una mayor rugosidad en el MWCNT-TEA. Con base a los anteriores resultados Amiri y colaboradores comprobaron que se funcionalizó exitosamente los MWCNT.

Finalmente, Amiri y colaboradores⁵⁴ realizaron estudios de microdilución en caldo para encontrar la concentración mínima inhibitoria contra bacterias gram positivas y gram negativas entre las que desatacan *E. coli* y *S. aureus*. Entre sus resultados se encontró que las bacterias gram negativas eran más sensibles que las gram positivas al presentar una concentración mínima inhibitoria menor, a su vez se observó una tendencia de mejor actividad contra todas las bacterias de MWCNT-TEA>MWCNT-DEA>MWCNT-MEA>MWCNT atribuido a la presencia mayor de los grupos aminos, los cuales favorecen una naturaleza catiónica que permite una mejor interacción con la pared celular de las bacterias.

El trabajo de Amiri y colaboradores⁵⁴ demuestra la factibilidad de emplear MWCNT funcionalizados para ser empleados como agentes antibacterianos y que a mayor grado de funcionalización se mejora la actividad de estos.

Por otra parte, Teng y colaboradores⁵⁵ realizaron la síntesis de MWCNT funcionalizados con vancomicina (Van) y soportados sobre películas de poliuretano (PU) vía ultrasonificación. En su trabajo emplearon MWCNT previamente oxidados llevando a cabo una serie de reacciones para incorporar Van a los nanotubos a través de la formación de un grupo amida (Esquema 4).



Esquema 4. Síntesis de nanomateriales a partir de MWCNT funcionalizados con vancomicina soportados en películas de poliuretano.⁵⁵

Llevaron a cabo la caracterización del MWCNT-Van por FTIR en donde se observó la formación de una banda a 1642 cm^{-1} de estiramiento de carbonilo típico de amida en el nanomaterial funcionalizado, la cual no se observaba en el nanomaterial sin funcionalizar. Además, en el análisis por XPS se observó en los MWCNT la energía de enlace típica de C y O mientras que en el MWCNT-Van se observó adicionalmente la energía de enlace de N. Con base a los anteriores resultados Teng y colaboradores comprobaron que se realizó satisfactoriamente la funcionalización.

A su vez Teng y colaboradores⁵⁵ realizaron estudios a sus sistemas PU, PU/MWCNT y PU/MWCNT-Van por TGA donde se observó pequeñas diferencias en las pérdidas de peso entre $250\text{--}450\text{ }^{\circ}\text{C}$ debido a la presencia o ausencia en sus nanocompositos sobre el TPU. Además, realizaron estudios de las propiedades antibacteriales de sus nanocompositos embebiéndolos en caldos de cultivos de bacterias *S. aureus* vía y analizando el efecto de la presencia del nanomaterial en la morfología de las bacterias mediante microscopía electrónica de barrido (SEM). En sus resultados se observó que en las películas de PU se aprecia perfectamente la morfología esférica de las bacterias. Sin embargo, en la presencia de los MWCNT o

MWCNT-Van su morfología se ve afectada debido a la actividad bactericida de estos nanomateriales (Figura 7).

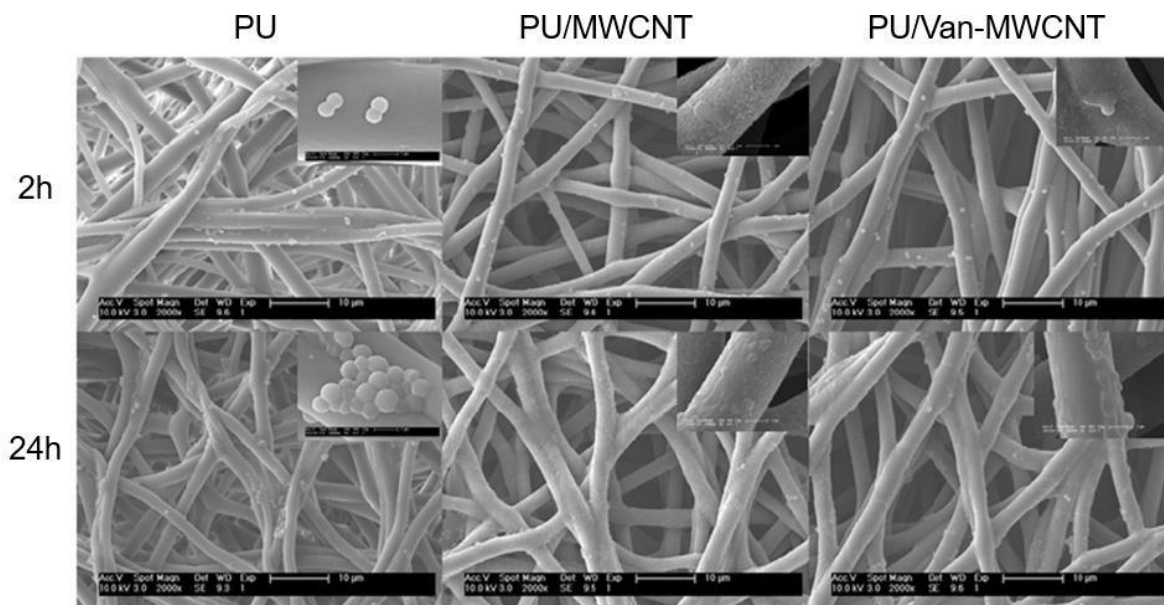
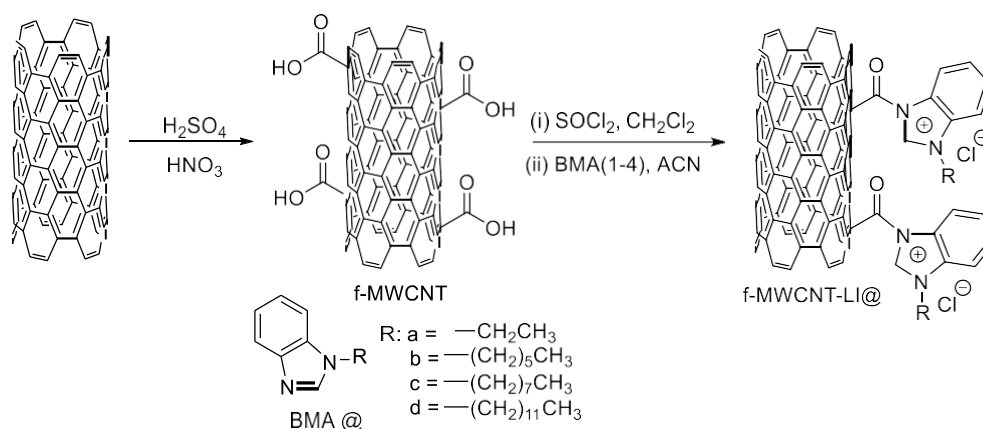


Figura 7. Imágenes TEM de TPU, TPU/MWCNT y TPU/MWCNT-Van embebidas en caldos de cultivo de *Staphylococcus aureus* en tiempos diferentes.

El trabajo reportado por Teng y colaboradores⁵⁵ muestra una ruta alterna de funcionalización con fármacos bactericidas, además de la implementación de estos con polímeros para generar un material antibacterial potencial.

En un trabajo reportado por Singh y colaboradores,⁵⁶ muestran el diseño y desarrollo de un nanomaterial a base de MWCNT funcionalizados con líquido iónico con el fin de proporcionarles propiedades que mejoren la interacción con las membranas de bacterias y generar un efecto antibacteriano. La síntesis de este nanomaterial consiste de una serie de etapas; la primera una oxidación de MWCNT prístinos con ácido sulfúrico y nítrico obteniendo MWCNT funcionalizados con grupos carboxílicos, entre otros (f-MWCNT); la segunda etapa consiste en una reacción con cloruro de tionilo para generar grupos cloruro de acilo que finalmente se hacen reaccionar con compuestos de bencimidazoles alquilados diversos (BMA a-d) confiriéndoles el carácter de líquido iónico generando los f-MWCNT-LI(a-d).



Esquema 5. Síntesis de nanomateriales de MWCNT funcionalizados con bencimidazoles alquilados.

Estos nanomateriales se caracterizaron por FTIR y microscopia de barrido con análisis elemental por espectroscopia de rayos X dispersados (SEM-EDS). A diferencia de los MWCNT prístinos, los f-MWCNT presentaron las bandas características de $-\text{OH}$ y $-\text{COOH}$ en 3448 y 1693 cm^{-1} en el análisis por FTIR. A su vez, en los espectros de f-MWCNT-LI(d) se observó una disminución en la intensidad de la banda en 3448 cm^{-1} , y la formación de una banda nueva de estiramiento de carbonilo en 1712 cm^{-1} . Por su parte, las micrografías SEM mostraron que los MWCNT prístinos poseen una estructura tubular, y el análisis EDS mostró la presencia de impurezas como Br, F y S. Después del tratamiento ácido para obtener los f-MWCNT se observó un cambio enorme en la morfología de estos nanomateriales y además los análisis EDS ya no mostraron la presencia de impurezas. Finalmente, los microscopias de los f-MWCNT-LI(d) mostraron una superficie rugosa y la presencia del pico de nitrógeno por EDS el cual no estaba presente en los f-MWCNT (Figura 8).

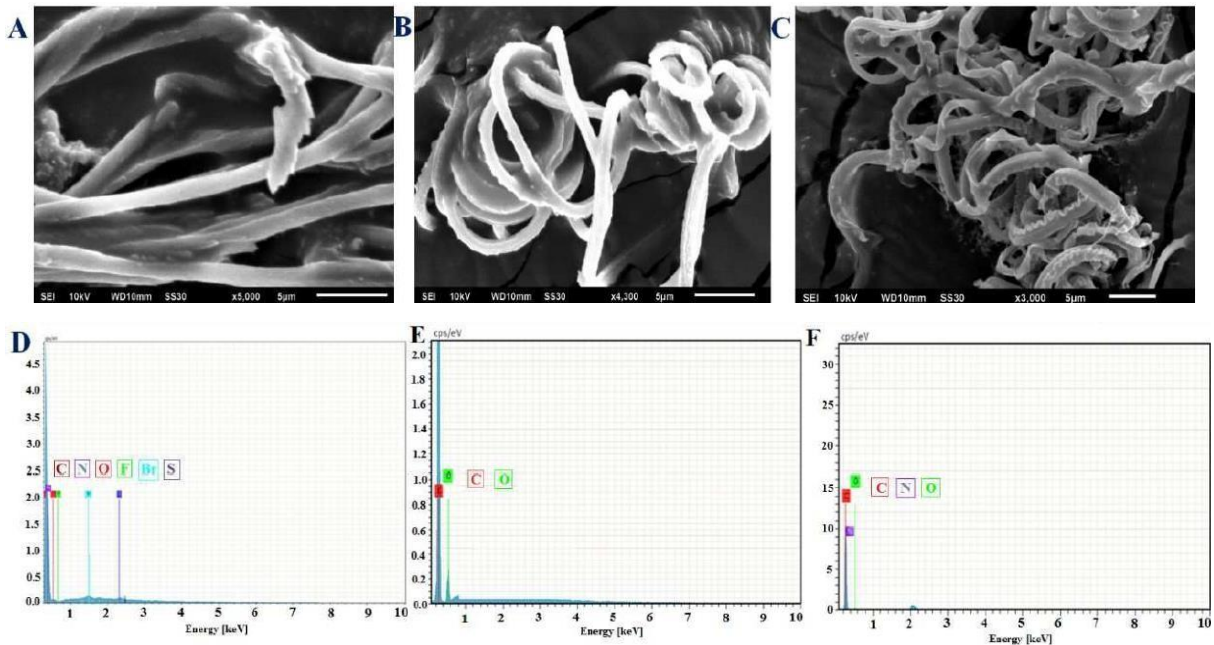


Figura 8. Micrografías SEM de MWCNT prístinos (A), f-MWCNT (B) y f-MWCNT-LI(d) (C) y análisis EDS MWCNT prístinos(D), f-MWCNT (E) y f-MWCNT-LI(d) (F).

Estudios de viabilidad bacteriana y concentración mínima inhibitoria (MIC) se realizaron contra cepas de *E. coli*, *S. aureus*, y *S. aureus metilina resistente* (SAMR) empleando los nanomateriales obtenidos. Los resultados mostraron que el nanomaterial f-MWCNT-LI(d) presentó un efecto mayor sobre la viabilidad de las bacterias y una MIC menor en comparación con el resto de nanomateriales. También se estudió este nanomaterial embebido en cloruro de polivinilo (PVC) para realizar estudios de inhibición bacteriana por ensayos de difusión, en donde se observó que el PVC no tuvo actividad, mientras que el material embebido generó un halo de inhibición contra las cepas *E.coli* y *S. aureus* (Figura 9).

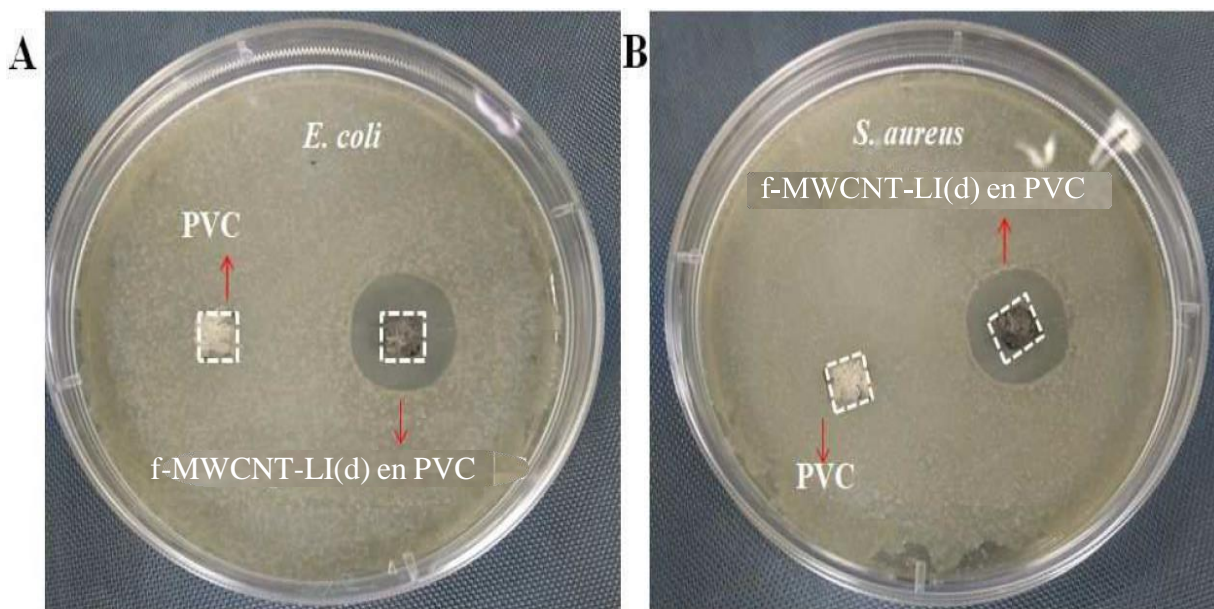


Figura 9. Estudios de inhibición bacteriana mediante difusión radial empleando f-MWCNT-LI(d) sobre PVC contra *E. coli* (A) y *S. aureus* (B).

Este trabajo muestra la capacidad de emplear MWCNT funcionalizados con moléculas orgánicas con aplicación potencial en la desinfección bacteriana para dispositivos biomédicos.⁵⁶

3.7 Síntesis de Puntos cuánticos de carbono (CD)

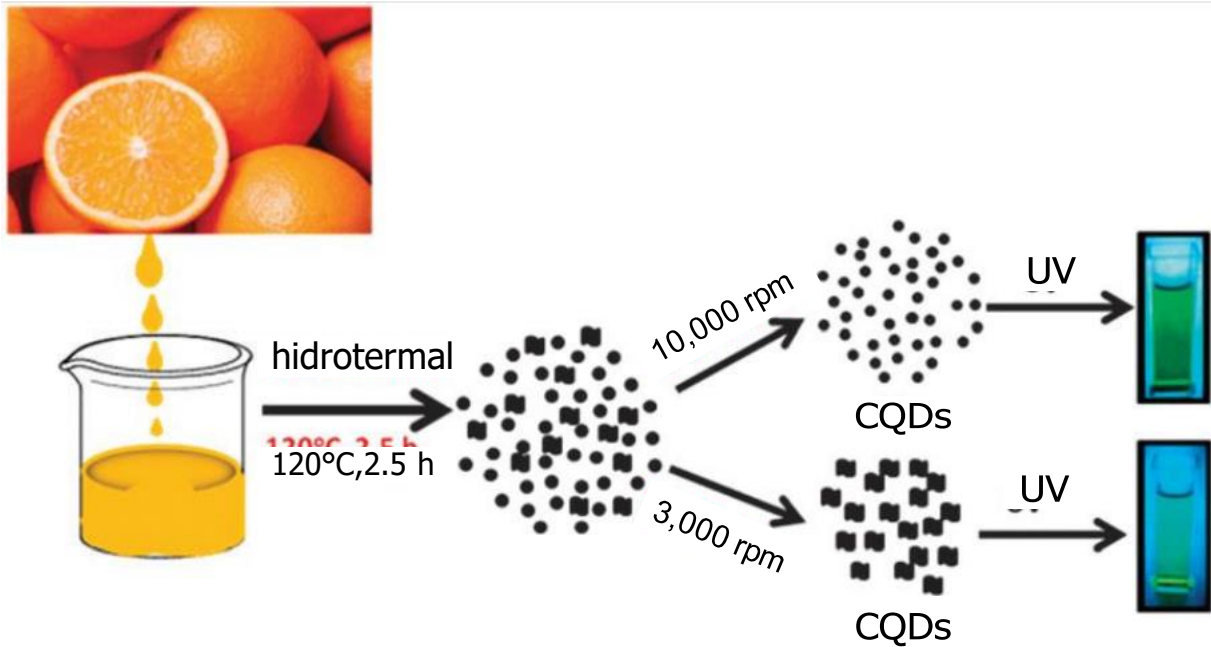
Entre otros de los nanomateriales que ha presentado gran interés por la comunidad científica se encuentran los puntos cuánticos de carbono (CD) que presentan propiedades similares a los puntos cuánticos metálicos (QD) como fotoluminiscencia excelente, dispersabilidad, entre otras.⁵⁸ A su vez, los CD en bruto poseen permeabilidad celular buena y una toxicidad baja reportada en una variedad de trabajos, cualidad que no presentan sus parientes cercanos los QD, esta última cualidad lo ha vuelto uno de los focos de atención para su aplicación en el área medicamentosa para el diagnóstico como el tratamiento de enfermedades.⁵⁹⁻⁶⁵

La síntesis de CD se ha realizado mediante una diversidad de métodos amplia tales como la carbonización, tratamiento electroquímico, tratamiento solvotermal, etc.

Entre uno de los métodos más reportados que permite la obtención de CD de una amplia variedad de fuentes de carbono, de manera sencilla y con rendimientos cuánticos aceptables se encuentra el tratamiento hidrotermal.^{10, 61,66-68}

El tratamiento hidrotermal consiste en dispersar una fuente de carbono en agua destilada, posteriormente la solución se coloca en una autoclave, se cierra y es sometida un tratamiento térmico en intervalos de temperatura de 90°-300 °C. Las fuentes de carbono son muy variadas desde aminoácidos, carbohidratos, productos naturales como jugos, plantas, etc.

En un trabajo realizado por Mohapatra y colaboradores⁶⁹ realizan la síntesis de CD mediante un tratamiento hidrotermal utilizando como fuente de carbono jugo de naranja (*Citrus nobilis deliciosa*). En esta síntesis emplearon una temperatura de calentamiento baja de 120 °C y un tiempo de 2.5 h. La formación de los CD se debe a la carbonización de los componentes diferentes que posee el jugo de naranja como la glucosa, sacarosa, ácido cítrico, ácido ascórbico, vitamina D, entre otros. Finalmente, se realiza la separación de los CD del resto de subproductos mediante centrifugación a 3000 rpm y 10000 rpm. En el Esquema 5 se aprecia el método de síntesis y obtención de estos CD (Esquema 6).



Esquema 6. Método de síntesis y purificación de CD a partir de jugo de naranja.⁶⁹

En los resultados obtenidos por microscopía electrónica de barrido de alta resolución (HRTEM) se mostró que la morfología presentada por los CD a partir de jugo de naranja es esférica, además de monodispersos y con una distribución de tamaño estrecha entre 1.5 y 4.5 nm con un promedio de 2.5 nm (Figura 10).

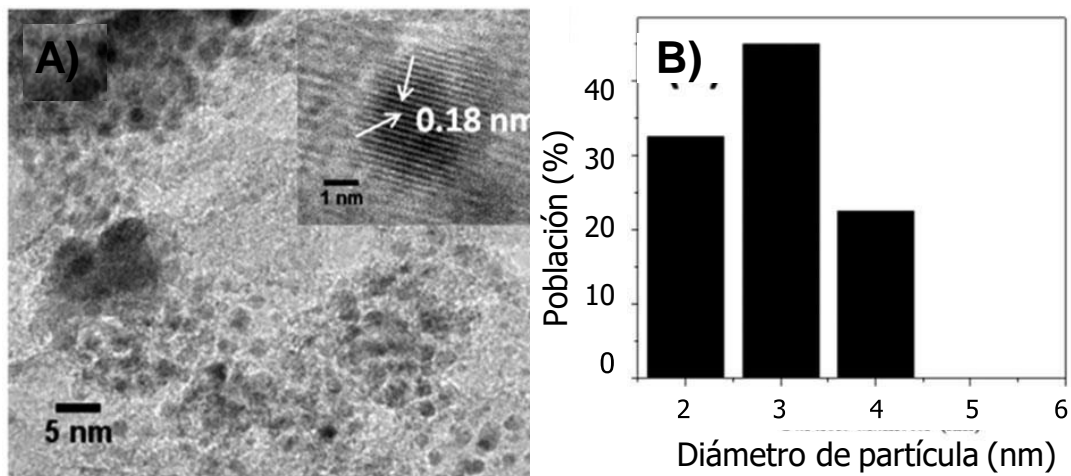


Figura 10. Imagen TEM de los CD a partir de jugo de naranja A) y distribución de tamaños B).

Entre las ventajas de este método reportado por Mohapatra y colaboradores⁵⁶ se destacan una síntesis sencilla, económica y verde para la obtención de CD con rendimientos altos.

Swain y colaboradores⁷⁰ realizaron la síntesis de CD a partir de plantas de aloe vera empleando un método de carbonización realizando una purificación de estos vía ultrasonificación y filtración con membranas de 0.22 μm . Realizaron la caracterización de estos materiales por FTIR en donde observaron la presencia de una banda ancha características de los estiramientos O-H y N-H entre 3500-3300 cm^{-1} , dos bandas del estiramiento C-H en 2907 y 2841 cm^{-1} además de la banda típica del estiramiento de carbonilos de ácido carboxílico en 1724 y en 1636 cm^{-1} la banda C=C característica de hidrocarburos policíclicos aromáticos. En el análisis por XPS se observaron las energías de enlace para C, N y O. El análisis por RAMAN mostró las bandas D y G características de estos materiales en 1383 y 1541 cm^{-1} respectivamente, presentandouna intensidad mayor la banda D comparando contra la banda G, por lo que estos CD poseen un grado mayor de C con hibridación sp^3 pero con una presencia considerable de C con hibridación sp^2 . En los estudios por TEM de los CD se observó una morfología cuasiesférica para estos materiales con un diámetro hidrodinámico promedio de 2.67 nm.

Swain y colaboradores⁷⁰ realizaron estudios de las propiedades foto luminiscentes de los CD observando en el espectro de absorbancia por UV-vis un pico en 282 nm y una banda ancha en 330 nm atribuidas a las transiciones n-n^* de los grupos carbonilo y n-n^* de C=C conjugados respectivamente. En fluorescencia no se observó la tendencia típica de otros compuestos fluorescentes en donde la banda de emisión es independiente de la banda de excitación ya que al excitar entre 280-430 nm se observaron bandas de emisión diferentes con disminuciones mínimas en la intensidad.

Este trabajo muestra una vía para la síntesis de CD, caracterización y estudios de sus propiedades fotoluminiscentes y aunque no se presentan en este informe,

estudios de su capacidad para emplearse con otros sistemas para la liberación controlada de fármacos.

Wang y colaboradores⁷¹ reportaron una síntesis verde de CD sencilla empleando un método hidrotermal usando como precursor natural y fuente de carbono al ácido ascórbico (AA). En comparación con otros métodos hidrotermales ellos emplearon como agente oxidante al acetato de cobre II en una proporción equimolar con el AA en agua, manteniendo la reacción en agitación por 10 min. Posteriormente calentaron la mezcla a 90 °C durante 5 h, en el que se observó un cambio de color de naranja a amarillo dorado claro, indicando la formación de los CD.

Para comprobar la formación de los CD realizaron mediciones mediante microscopia TEM encontrando partículas esféricas con una monodispersidad buena y un tamaño promedio de 3.20 ± 0.72 nm (Figura 11 A). A su vez, realizaron un análisis de la cristalinidad de los CD mediante mediciones de HRTEM en donde se observó la separación entre planos de 0.208 nm y los planos de difracción típicos de carbono tipo 103 y 102 de diamante y grafito, respectivamente (Figura 11 B).

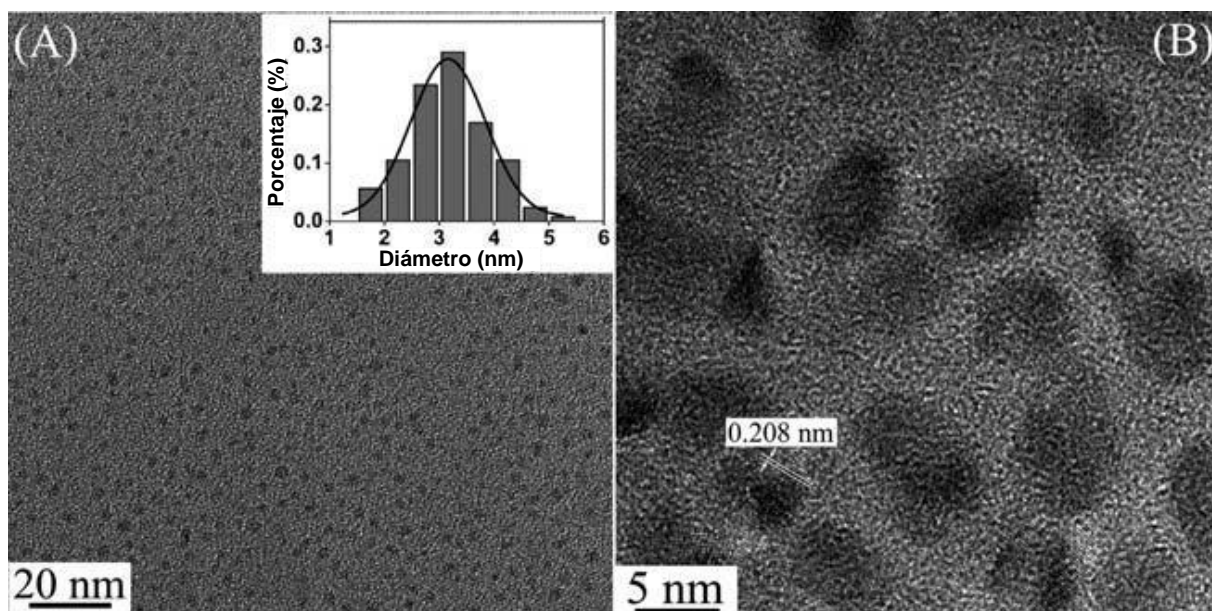


Figura 11. Imágenes de microscopia de los CD mediante A) TEM (Inserto: histograma de distribución de tamaños) y B) HRTEM.

Además, caracterizaron los CD mediante otras técnicas específicas como XPS y FTIR donde observaron las señales correspondientes a los elementos de C y O y bandas de estiramiento características de carbonilos, aromáticos e hidroxilos, respectivamente. Una técnica poco convencional en la caracterización de CD utilizada en este trabajo fue la RMN- ^{13}C , donde observaron señales con desplazamiento químico en tres regiones, entre 60-80 ppm se presentan señales asignadas a los carbonos unidos a O, entre 100-150 ppm señales asignadas a carbonos aromáticos y finalmente entre 180-200 ppm señales correspondientes a carbonilos (Figura 12), aunque realizando una búsqueda en la base de datos de espectros de moléculas orgánicas (SDBS) se encontró que estas señales son características del precursor de carbono AA.

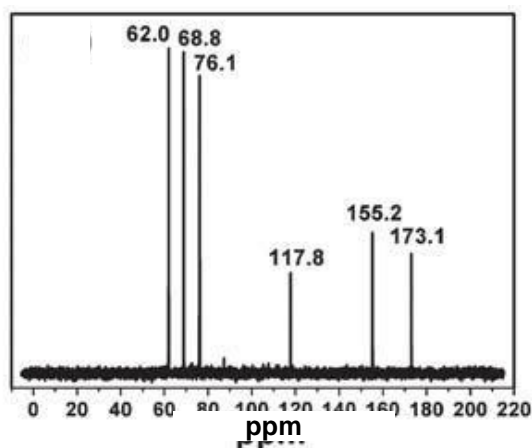


Figura 12. Espectro de RMN- ^{13}C de CD.⁷¹

También se realizaron estudios por potencial zeta y se encontraron dos cambios significativos en un valor positivo (15.2 mV) y a un valor negativo (-15.5 mV) variando el pH de 2.56 a 10.65, lo cual es correspondiente a la protonación y desprotonación de grupos carboxilo de los CD, lo que indica que estos grupos están presentes en su superficie.

Finalmente, los estudios de las propiedades fotoluminiscentes por UV-vis y fluorescencia molecular de los CD mostraron las bandas características de absorción entre 200 y 350 nm, atribuidas a transiciones $\pi\text{-}\pi^*$ y $n\text{-}\pi^*$ (Figura 13 A). A su vez, se

encontró una variedad de bandas de excitación y emisión características de los CD. La banda de excitación y emisión de intensidad máxima se presentó en 377 nm y 455nm, respectivamente (Figura 13 B). Además, se observó una dependencia de la intensidad de fluorescencia máxima con respecto al pH, debido a que al aumentar esta, la banda de emisión de los CD se abate y se desplaza a una longitud de onda mayor. El rendimiento cuántico (QY) de los CD se obtuvo comparando con el QY del bisulfato de quinina (54%) en 0.1 M de H_2SO_4 , encontrando un valor de 3.22%. El tiempo de vida de fluorescencia fue de 1.01 ns y una fotoestabilidad alta, incluso después de un año de almacenamiento, expuestos al aire y a temperatura ambiente.

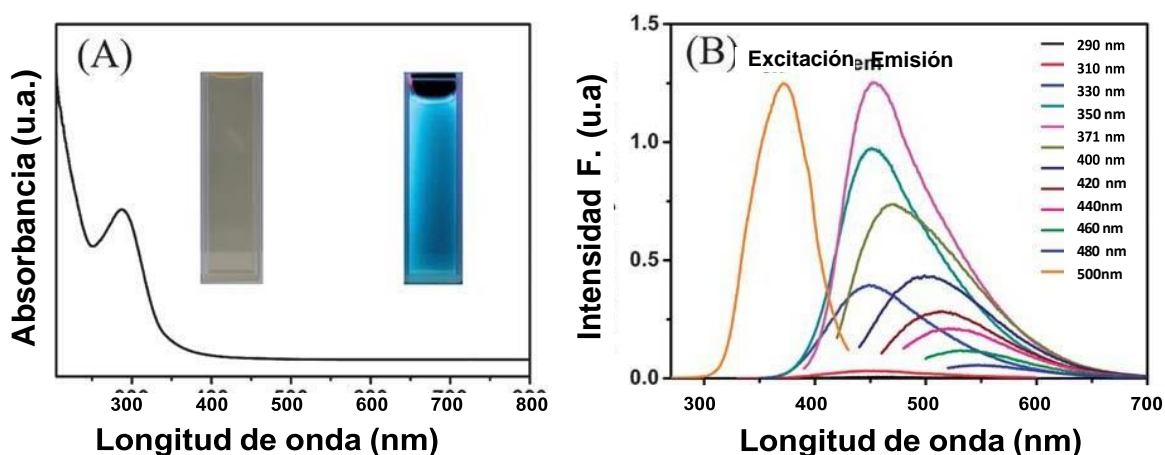


Figura 13. Espectros de A) UV-vis y B) fluorescencia de los CD.

En general la metodología reportada⁷¹ presenta una síntesis hidrotermal sencilla de CD con una dispersión en agua aceptable y propiedades fotoluminiscentes interesantes que podrían ser utilizadas en una amplia variedad de aplicaciones como nanomedicina y energías renovables.

En un trabajo reportado por Yang y colaboradores,⁷² se realizó un estudio de las condiciones de reacción en la obtención de CDs vía hidrotermal, con QY bastante elevados para ser utilizados en tintas de impresión.

Los puntos de carbono fueron preparados disolviendo ácido cítrico y/o etilendiamina, etilamina, n-heptilamina o urea en 10 mL de agua destilada. Luego, la solución se transfirió a un reactor autoclave revestido con Teflón y se calentó a 150,

200, 250 y 300 °C durante 5 h. Los productos se dializaron para la obtención de las CD con rendimiento cercano al 58%. Finalmente, se determinó el QY de los CD mediante el método de la pendiente utilizando como referencia el QY del sulfato de quinina, encontrando que la condición mejor de síntesis fue con 0.42 g de ácido cítrico y 536 μL de etilendiamina a una temperatura de 200 °C durante 5 h, con un QY del 80.6%.⁷²

La morfología y la estructura de los CDs fueron confirmadas mediante TEM y microscopía de fuerza atómica (AFM). Las imágenes por TEM de los CD mostraron una distribución circular uniforme y diámetros entre 2 a 6 nm. Por otra parte, los tamaños obtenidos por AFM mostraron una altura promedio de 2.81 nm (Figura 14).⁷²

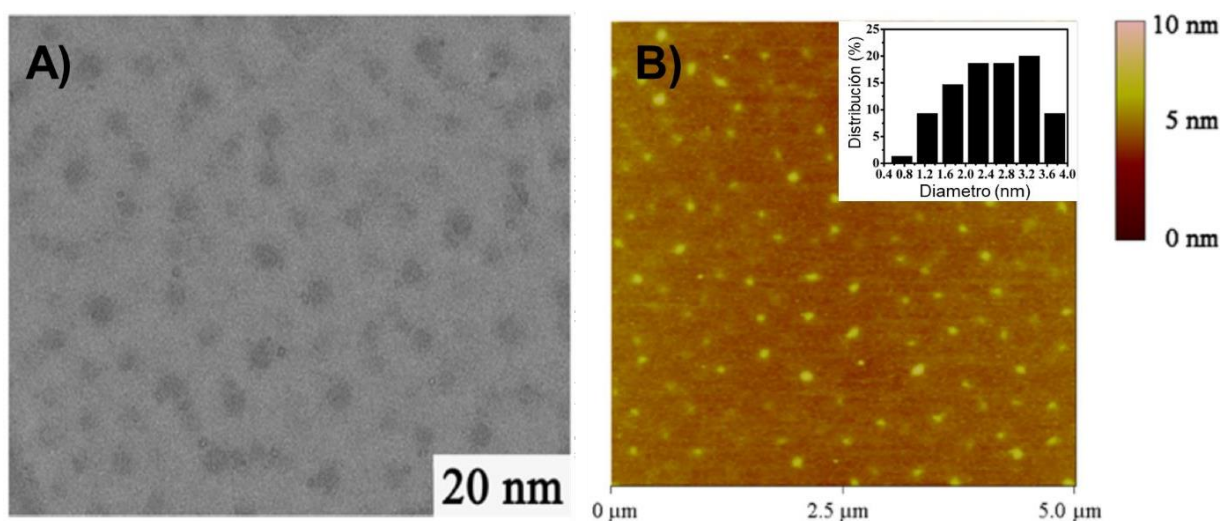


Figura 14. Imágenes de microscopía de CDs por A) TEM y B) AFM (inserto: distribución de diámetros).⁷²

Las propiedades fotoluminiscentes se determinaron por UV-vis y fluorescencia molecular. La longitud de onda de absorción se centró en 344 nm, mientras que las longitudes de onda de excitación y emisión óptimas se observaron a 360 nm y 443 nm, respectivamente (Figura 15A). También presentaron un comportamiento característico de este tipo de nanomateriales al tener una fotoluminiscencia dependiente de longitud de onda de excitación (Figura 15B).⁷²

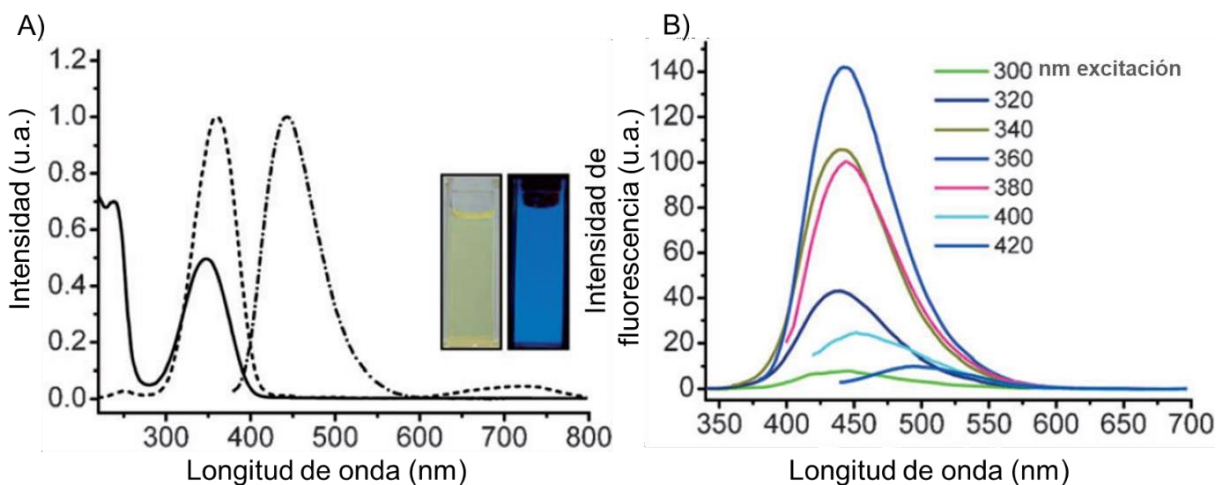


Figura 15. A) Espectro de UV-vis (---) y de fluorescencia (—) excitación y (—) emisión. B) Espectros de emisión a longitudes de excitación diferentes.

Finalmente, utilizaron los CDs con QY alto en tintas de imprenta comercial formando nanocompositos con polímeros como acetato de polivinilo (PVA) y poli *N,N'*-dimetilacrilamida (PMDAA), logrando observar palabras e imágenes visibles con fluorescencia y los nanocompositos fluorescentes expuestos bajo una lámpara UV-vis incluso después de 30 min de exposición (Figura 16).⁷²

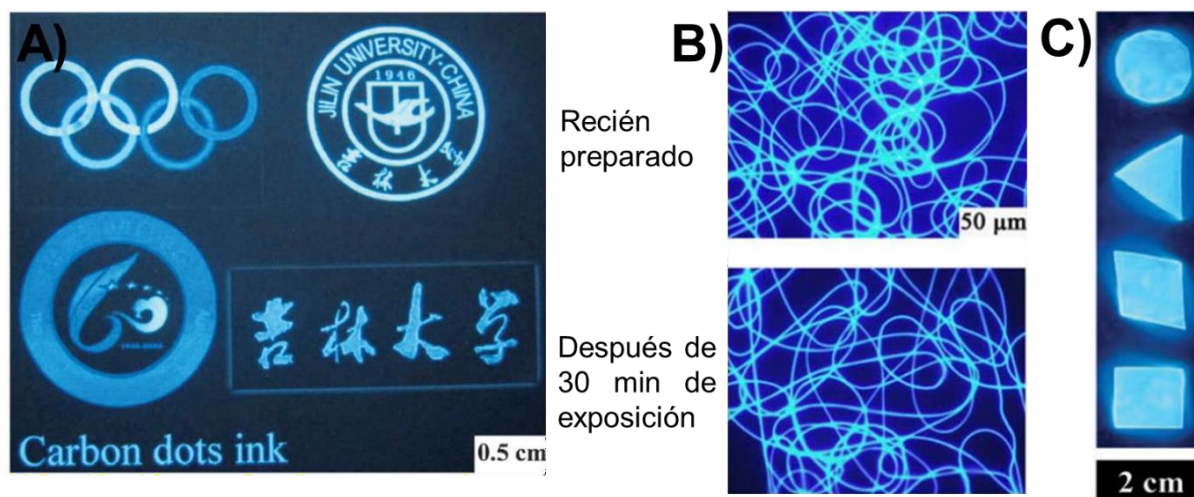


Figura 16. Patrones de impresión obtenidos con tinta de CD e integración de CD a polímeros. A) Diferentes patrones gráficos en papel (iluminados con una lámpara UV), B) Imágenes de microscopía de fluorescencia de nanofibras de PVA/CD a tiempos de exposición diferentes y C) nanocompuesto de PDMAA/CD.

Los resultados anteriores muestran la diversidad de aplicaciones en donde se pueden aprovechar las propiedades de fotoluminiscencia excelentes que poseen estos nanomateriales.⁷²

3.8 Puntos cuánticos de carbono en la nanomedicina

En los últimos años se han reportado varios trabajos donde se resaltan las capacidades y características que poseen los CDs que los hacen candidatos ideales para ser utilizados en el tratamiento del cáncer, así como en aplicaciones biomédicas, sanitarias y como nanoacarreadores.^{49,73-77}

He y colaboradores⁷³ desarrollaron un nanoacarreador para la administración de fármacos dirigido mediante un CD modificado con ácido hialurónico (HA) y unido a doxorrubicina (DOX) contra células tumorales de cáncer de mama.

La síntesis de los CD modificados con HA (HA-CD) fue realizada mediante un tratamiento hidrotermal en un solo paso con ácido cítrico, HA y polietilenimina

ramificada (PEI) en agua desionizada a 180 °C durante una hora. Posteriormente mediante una reacción con 4-carboxibenzaldehído (p-CBA), 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)-carbodiimida (EDC) y *N*-hidroxisuccimida (NHS) obtuvieron el intermedio HA-CD@p-CBA que finalmente hicieron reaccionar con la DOX para obtener su nanoacarreador HA-CD@p-CBA-DOX.

Para comprobar la obtención de estas nanopartículas y nanoacarreador realizaron estudios de la morfología mediante TEM y dispersión de luz dinámica (DLS) y composición y propiedades fotoluminiscentes por FTIR, RMN-¹H, UV-vis y fluorescencia. Las microscopias TEM y análisis por DLS mostraron un incremento en el tamaño de los CD-HA@p-CBA-DOX con respecto a los HA-CD aproximadamente de 10 a 30 nm. Los estudios por fluorescencia mostraron una emisión típica azul brillante bajo irradiación de luz UV, con una banda de emisión en 461 nm con una excitación en 341 nm. Los espectros UV-vis mostraron cambios en las bandas de absorción en cada una de los nanosistemas. El HA-CD presentó dos bandas características a 240 y 350 nm, mientras que CD-HA@p-CBA-DOX presentó la banda a 350 nm y otra a 500 nm característica de la DOX confirmando la unión de esta molécula a los CD-HA@p-CBA. Estos resultados y el resto de caracterizaciones comprobaron la obtención de estos nanomateriales.

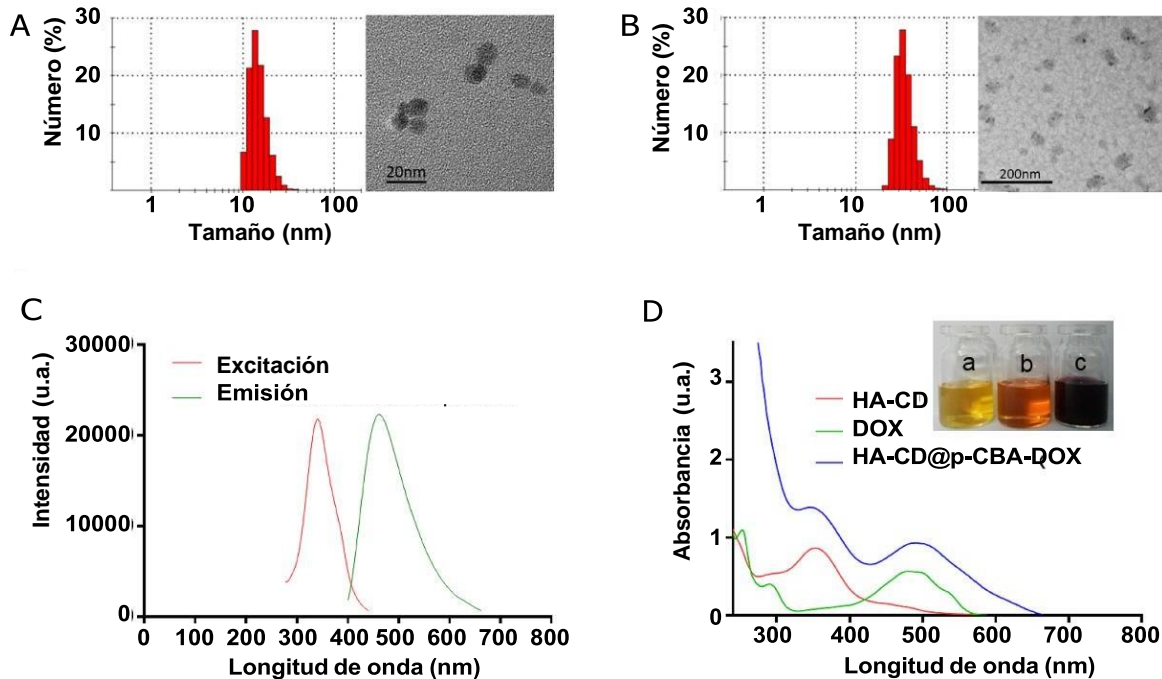


Figura 17. Imágenes TEM de HA-CD (A) y HA-CD@p-CBA-DOX (B). Espectros de excitación y emisión de HA-CD (C). Espectros de UV-vis de HA-CD(a), DOX (b) y HA-CD@p-CBA-DOX (c) (Inserto: imagen representativa de las muestras) (D).

Una vez obtenido el nanoacarreador estudiaron la liberación del fármaco DOX mediante UV-vis variando el pH, encontrando que a un pH de 7.4 se libera menos del 20% mientras que a un pH de 5.5 se libera el >50%, demostrando que bajo estas condiciones se lleva a cabo la liberación del fármaco.

También realizaron estudios de hemocompatibilidad para comprobar la biocompatibilidad, además de estudios de captación celular *in vitro*. Los estudios mostraron que no hay toxicidad dependiente de la concentración para HA-CD@p-CBA-DOX en eritrocitos. Por su parte, los estudios de captación con células fueron realizados con el fin de mostrar una selectividad por receptores C44 sobreexpresados en células 4T1 (células madre tumorales en el modelo murino), observándose que hay una captación mayor del nanoacarreador cuando presenta HA en su estructura.

Por otra parte, se estudió la citotoxicidad mediante ensayos MMT contra las células 4T1 mostrando que la doxorubicina libre mostró una citotoxicidad más alta que HA-CD@p-CBA-DOX en las mismas condiciones. Esto se debió probablemente a que la doxorubicina libre podía atravesar fácilmente la membrana celular a través de difusión libre, mientras que la liberación de doxorubicina de HA-CD@p-CBA-DOX dependía de la ruptura del enlace químico sensible al ácido.

Finalmente, realizaron estudios de eficiencia antitumoral *in vivo* con tumores de células 4T1 en modelos de ratones BALB/c heterotópicas y ortotópicas. El crecimiento del tumor fue directamente proporcional al tiempo y se utilizó como control PBS. Los modelos de tumor heterotópico y ortotópico (Figura 18) mostraron un efecto antitumoral mayor con respecto al peso y volumen para el nanoacarreador HA-CD@p-CBA-DOX con una tasa de inhibición relativa de crecimiento tumoral de 78.58% y 80.23%, respectivamente. En comparación, la DOX libre presentó un valor de 57.07% y 58.28%, respectivamente. Los cambios en el peso corporal se midieron simultáneamente cada 2 días durante el tratamiento para controlar la toxicidad. Con base en el peso corporal inicial antes del tratamiento, no se observó un cambio en el peso corporal en ratones tratados con HA-CD@p-CBA-DOX, mientras que el grupo tratado con DOX libre mostró una pérdida de peso de aproximadamente el 15%, lo que indica que el HA-CD@p-CBA-DOX reduce efectivamente la toxicidad sistémica de la DOX.

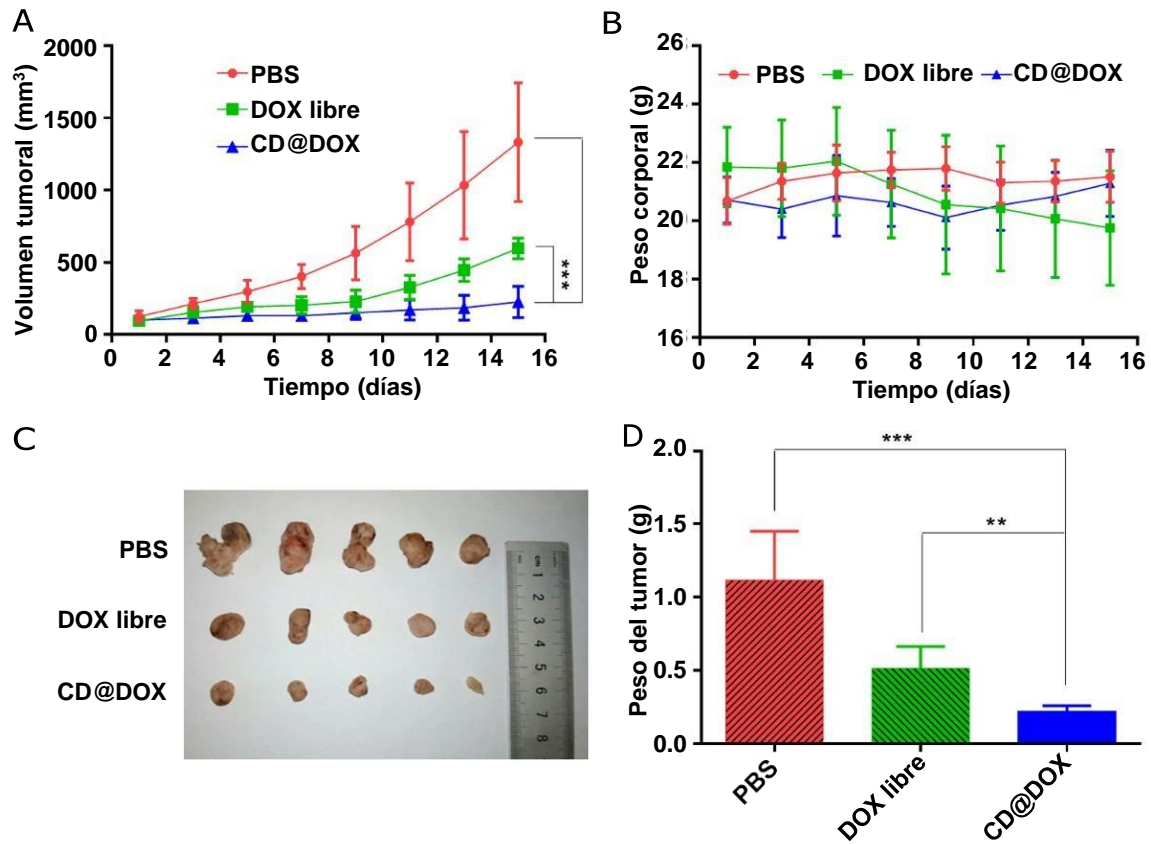


Figura 18. (A) Cambios en el volumen tumoral después de la inyección intravenosa con doxorubicina libre y HA-CD @ p-CBA-DOX en ratones ortotópicos con tumor 4T1. (B) Cambios en el peso corporal de ratones con tumor 4T1 in situ después del tratamiento con doxorubicina libre y HA-CD @ p-CBA-DOX. (C) Imágen de los tumores. (D) Peso de los tumores de cada grupo en el día quince.

Estos resultados demuestran la capacidad excelente que poseen los CD para ser utilizados como nanoacarreadores funcionalizados con moléculas para conferirles la propiedad de transporte activo así como fármacos, lo cual puede aplicarse no solo contra el cáncer, sino contra otros tipos de padecimientos.

Pramod y Jaleel⁷⁹ estudiaron varias de las características que convierten a los CD en candidatos prometedores para su aplicación en la medicina.

Las propiedades físicas y fotoluminiscentes de los CD están fuertemente relacionadas a varios factores como son el método de síntesis mediante técnicas de reducción de tamaño/top-down o autoensamblado/bottom-up, las técnicas de descarga de arco e hidrotermal, entre otras. Otro factor importante es la fuente de carbono, se utiliza una variedad dependiendo del método, y destacan los productos naturales como frutos, plantas, residuos de carbono, aminoácidos, entre otros.

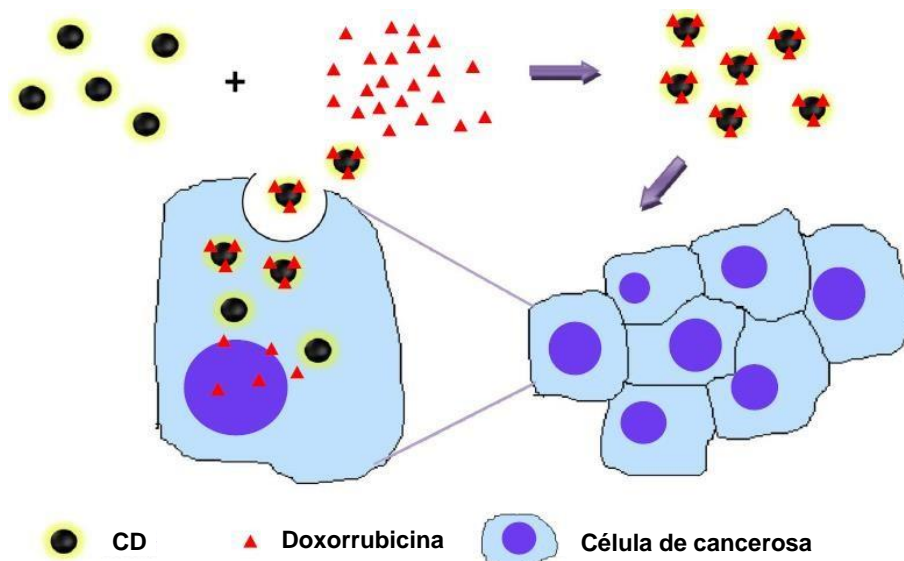
La pasivación y dopaje controlado de la superficie de los CD modifica considerablemente sus propiedades, a un número mayor de grupos carboxilos o agentes pasivantes como etilenimina o incluso polímeros como PEG en la superficie mejora el QY o se desplaza la emisión al visible e infrarrojo cercano. Por otra parte, el dopaje con nitrógeno, azufre, boro o silicio mejoran en general el QY y confieren la capacidad de interactuar con cationes como Fe^{3+} .

Un aspecto importante de los CD que destacan los autores son los perfiles de toxicidad, al igual que su destino después de ser internalizado en organismos vivos. En general, no se observó un efecto tóxico significativo en dependencia de la concentración en varios estudios en animales. Estudios de citotoxicidad en líneas celulares de cáncer no mostraron efectos relevantes en la viabilidad celular en comparación con los QD. Por otra parte, el dopaje con N o la funcionalización con polímeros biocompatibles como PEG disminuyen considerablemente la acumulación de los CD en el hígado y mejora la excreción de éstos a unas pocas horas después de ser inyectados en ratones en estudios *in vivo*, e incluso, después de tiempos de exposición prolongados.

Ellos describen varias aplicaciones de los CD como en la liberación controlada de fármacos, actuando como un agente teragnóstico, marcaje de bacterias y actividad antibacterial.

La mayoría de los estudios de liberación controlada de fármacos con CD se han enfocado en estudios contra el cáncer (Esquema 7), en los que mediante la formación de enlaces amida con los grupos carboxílicos del CD y un grupo amino terminal del

fármaco se realiza la unión entre el medicamento y el nanosistema. Además, la incorporación de ácido fólico (AF) a CD PEGilados y cargados con doxorrubicina ha permitido monitorizar la liberación del fármaco en las células cancerosas de manera más selectiva, permitiendo cuantificar la liberación del fármaco mediante el aumento de la fluorescencia. Otros sistemas con CD conjugados con polímeros sensibles al pH y cargados con cisplatino han presentado una internalización en las células cancerosas mejorada llevando a cabo la liberación selectiva del fármaco.



Esquema 7. Cargado de DOX en CD y su liberación en células cancerosas.

En estudios de actividad antibacteriana se ha observado que los CD por si mismos no presentan actividad. Sin embargo, la funcionalización de CD con agentes activos permite que ganen esta capacidad. Así mismo, la presencia de grupos carboxilo en la superficie de los CD permite la conjugación con los grupos aminos presentes en las membranas bacterianas, facilitando la obtención de imágenes y conteo de bacterias. También, se ha observado que algunos CD han presentado actividad antibacteriana mediante activación fotoinducida bajo luz visible o mediante la activación fotocatalítica de agentes antibacterianos.⁷⁹⁻⁹³

3.9 Aplicación de CDs contra bacterias

Hahn y colaboradores⁹⁴ sintetizaron CD por pirólisis de ácido cítrico con PEG diamina y posteriormente realizaron una conjugación con HA mediante la formación de un enlace amida entre los grupos amina del CD y los grupos carboxílicos del HA. La obtención del nanosistema se confirmó por una variedad de técnicas espectroscópicas como FTIR, RMN-¹H, fotoluminiscencia y micrografías por HRTEM en donde se observaron CD y se midieron tamaños entre los 5 y 7 nm.

Ellos realizaron estudios de citocompatibilidad mediante ensayos con metosulfato de fenazina (MTS) sembrando células de melanoma murino B16F1 y las células de riñón humano HEK-293 en una placa de 96 pocillos en condiciones estándares. Posteriormente, incorporaron cantidades crecientes de los CD y los HA-CD y se incubaron por 24 h. Se encontró que la citotoxicidad de los CD y HA-CD fue despreciable hasta una concentración de 0.4 mg/mL. A su vez, la viabilidad celular se vio disminuida gradualmente al aumentar la concentración de los nanosistemas. Por otra parte, las células B16F1 presentaron una captación mayor de los conjugados de HA-CD y una viabilidad menor que las células HEK293, debido probablemente a la presencia de receptores de HA en las células B16F1. A su vez, se observó una viabilidad mayor para las células HEK293 en comparación con las células B16F1 en las concentraciones de 0.6 y 0.8 mg/mL (Figura 19).

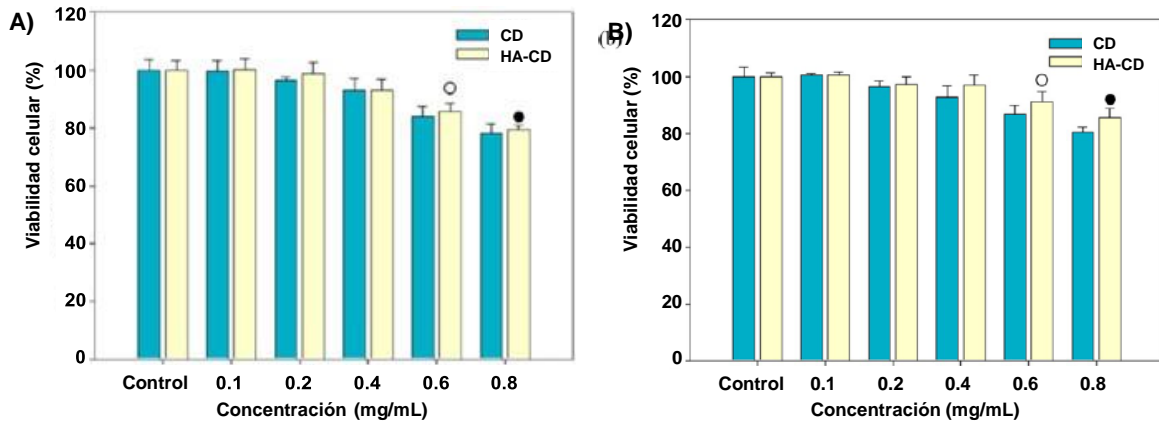


Figura 19. Viabilidad celular de CD y HA-CD conjugados con concentraciones crecientes de 0 a 0.8 mg/mL en A) células B16F1 y B) células HEK293 (○ ● P <0,05 para la comparación entre células B16F1 y HEK293).

También realizaron estudios de bioimagen *in vivo* en ratones BALB/c inyectando CD y HA-CD. Los resultados obtenidos mediante imágenes de fluorescencia en tiempo real mostraron fluorescencia a través de la piel en ambos casos (Figura 20).

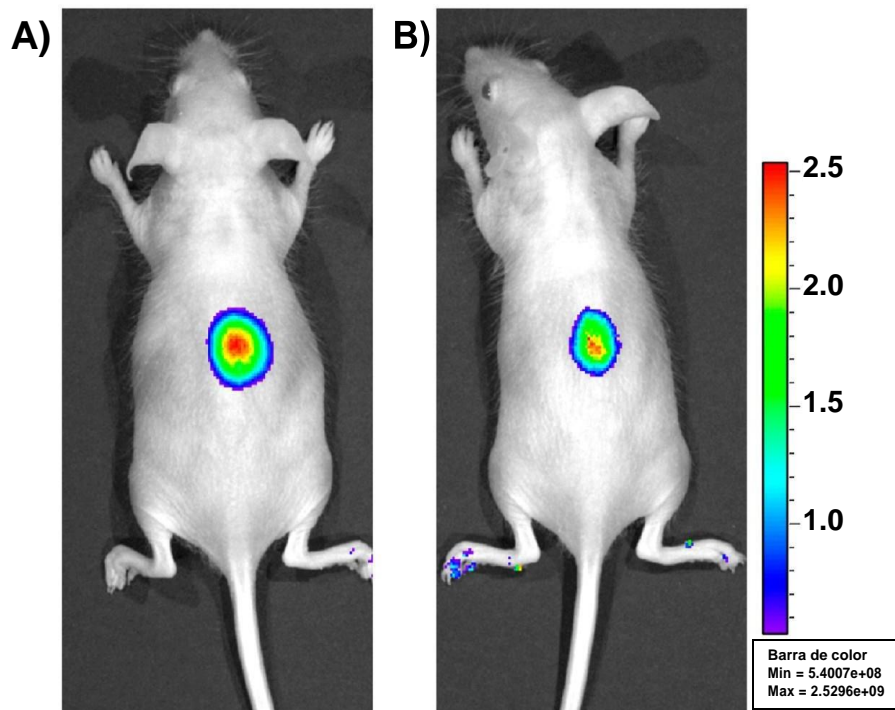


Figura 20. Imágenes de fluorescencia de ratones BALB/c después de la inyección subcutánea de A) CD y B) HA-CD.

Se investigó la distribución de los CD y HA-CD después de una inyección intravenosa para confirmar la viabilidad de su aplicación como agentes de bioimagen, realizando estudios de fluorescencia *ex vivo* recogiendo los órganos hígado, riñón y bazo después de 4 h de la inyección. En estos estudios se observó una intensidad de fluorescencia baja debido a la eliminación de los CD del cuerpo del ratón, aunque con una especificidad mayor de los HA-CD en el hígado debido a la presencia de receptores de ácido hialurónico como HARE y CD44.

Este trabajo presenta un sistema de administración específica de CD conjugados con HA el cual podría utilizarse para la generación sistemas de administración de fármacos y de bioimagen específicos para el tratamiento de enfermedades hepáticas.

Marković, Špitalský y colaboradores⁹⁵ prepararon CD hidrófobos (hCD) fotoactivos conjugados a poliuretano (PU), y estudiaron su biocompatibilidad y propiedades estructurales, fotocatalíticas y antibacterianas.

Los hCD fueron sintetizados mediante un procedimiento previamente reportado por el grupo de trabajo y posteriormente los incorporaron a trozos de PU pequeños con un espesor de 1 mm y un área de 10x10 mm² sumergiéndolos en una solución de hCD en tolueno con una concentración de 0.94 mg/mL. Los hCD se encapsularon en la matriz polimérica mediante un método de hinchamiento a temperatura ambiente durante 48 h. El solvente se eliminó del nanocomposito empleando un horno al vacío a 80 °C durante 12 h.

La citotoxicidad de los nanocompositos hCD/PU fue verificada mediante un ensayo de viabilidad celular MTT en dos tipos de células, NIH/3T3 y A549, empleando varias concentraciones de extractos. Los resultados mostraron que independiente de la concentración del nanocomposito hCD/PU, no se observó citotoxicidad hacia las células NIH/3T3, mientras que en las células A549 si se presentó citotoxicidad mínima y moderada a concentraciones de extracto superiores al 75% (Figura 21).

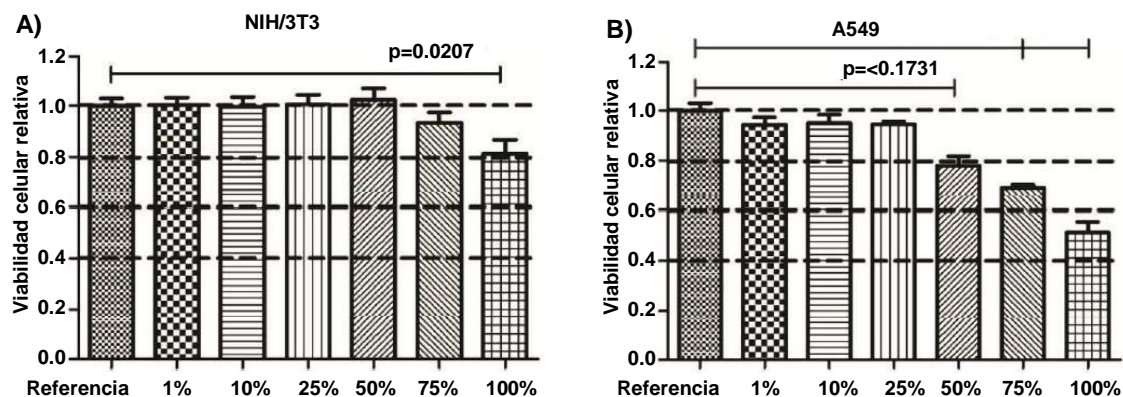


Figura 21. Viabilidad celular de muestras individuales en concentraciones diversas de extractos de nanocomposito hCD/PU en A) células NIH/3T3 y B) células A549.

Finalmente, realizaron estudios de la actividad antibacteriana del nanocomposito en cepas *S. aureus* y *E. coli* inoculando con una CFU/mL de 6.0×10^5 y 1.9×10^5 , respectivamente, sobre los nanocompositos de hCD/PU y el control PU sin alterar. Posteriormente, se irradió el medio con luz azul a 470 nm sobre ambas cepas con una potencia de 15 W durante 30, 60 y 360 min, y a una distancia entre la lámpara y las muestras de 50 cm para una iluminación homogénea mejor.

Los resultados indicaron que los nanocompositos hCD/PU tienen una eficiencia mayor contra ambos tipos de células bacterianas comparado con el PU utilizado como control. Ninguna de las dos cepas sobrevivió a los 360 y 60 min de irradiación con luz azul y los nanocompositos, mientras que en el PU control proliferaron incluso durante el periodo de irradiación demostrando que el efecto antibacteriano es debido a la presencia del nanomaterial y no a la irradiación de la luz azul (Figura 22).

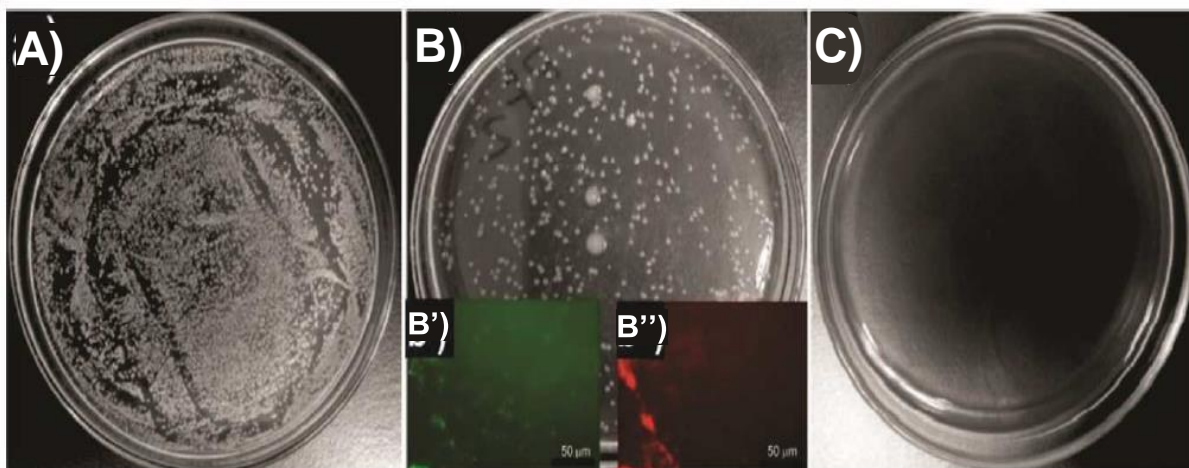


Figura 22. Imágenes de la superficie de a) *S. aureus* sin irradiación recolectadas de los nanocompositos hCD/PU; b) *S. aureus* después de 30 min de irradiación con luz azul (Visualización de colonias e *S. aureus* después de 30 minutos de irradiación con luz azul b') vivas y b'') muertas) recolectadas de los nanocompositos hCD/PU y c) *S. aureus* después de 60 min de irradiación con luz azul recolectadas de los nanocompositos hCD/PU.

Liu y colaboradores⁹⁶ realizaron la síntesis de puntos cuánticos de carbono modificados con amonio cuaternario (QCD) a partir de cloruros de 2,3-epoxipropiltrimetilamonio (GTA) y dialildimetilamonio (DDA) mediante un tratamiento hidrotermal en un solo paso, y estudiaron su actividad antibacteriana contra bacterias Gram positivas y Gram negativas diversas, destacando SAMR. La caracterización de estos QCD fue realizada mediante TEM, DLS, UV-vis, FTIR, XPS y RMN.

En los estudios de actividad antibacteriana *in vitro* mediante difusión en disco y microdilución en caldo emplearon cepas de referencia americana típicas (ATCC) de *S. aureus*, SAMR, *S. epidermidis*, *E. coli*, *Listera monocytogenes*, entre otras. Los estudios por difusión radial en disco se realizaron empleando como controles DDA y GTA a la misma concentración que los QCD de 0.5 mg en placas de bacterias cultivadas en agar Muller Hilton (MH). Los resultados mostraron que los reactivos DDA y GTA no poseen actividad contra alguna bacteria, por otra parte, sólo mostraron halo de inhibición los QCD contra bacterias Gram positivas (Figura 23) y no se presentó

crecimiento en los halos de inhibición incluso después de 5 meses. Por su parte, los estudios reportaron la MIC de los QCD de 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en *S. epidermidis*, 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en *S. aureus*, SARM y *L. monocytogenes*, y 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en *E. faecalis*, respectivamente.

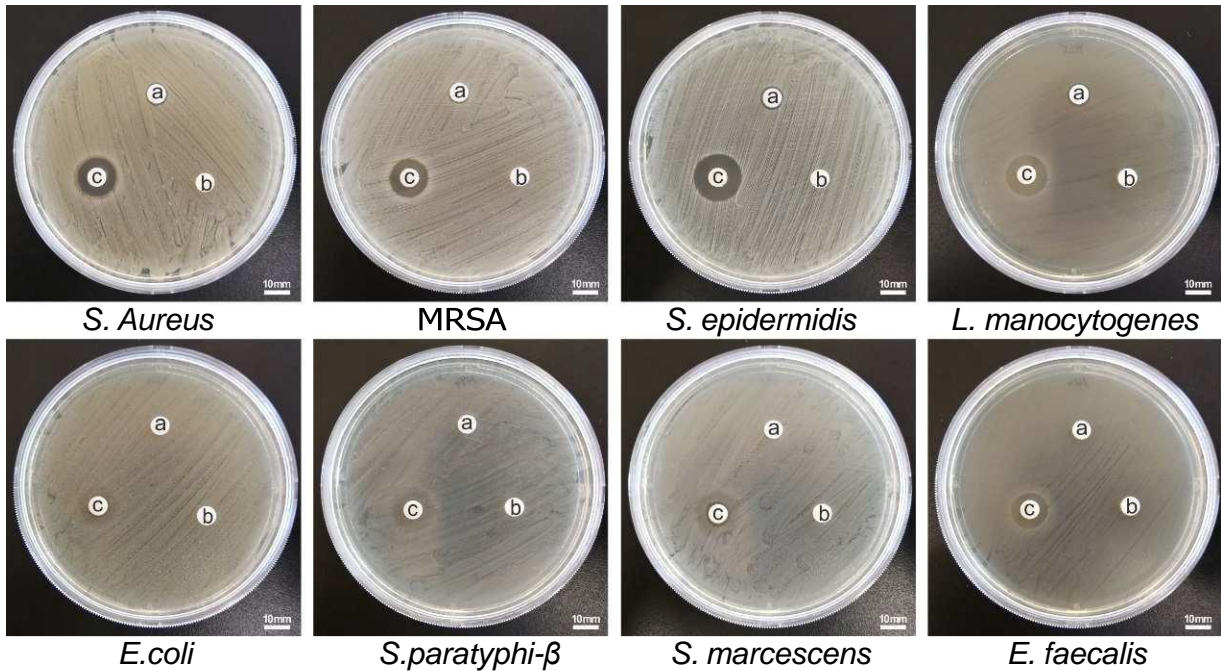


Figura 23. Actividad antibacteriana de DDA (a), GTA (b) y QCQD (c) contra las ocho especies de bacterias en placas de agar MH.

También se realizaron estudios por TEM para observar la destrucción de las células bacterianas con QCD. Las imágenes de las células en solución salina presentaron una estructura celular completa, pared celular íntegra y uniformidad. En comparación con las bacterias tratadas con QCD las cuales mostraron rupturas en las paredes, membranas celulares y desintegración en grados diferentes provocando la muerte de la bacteria (Figura 24).

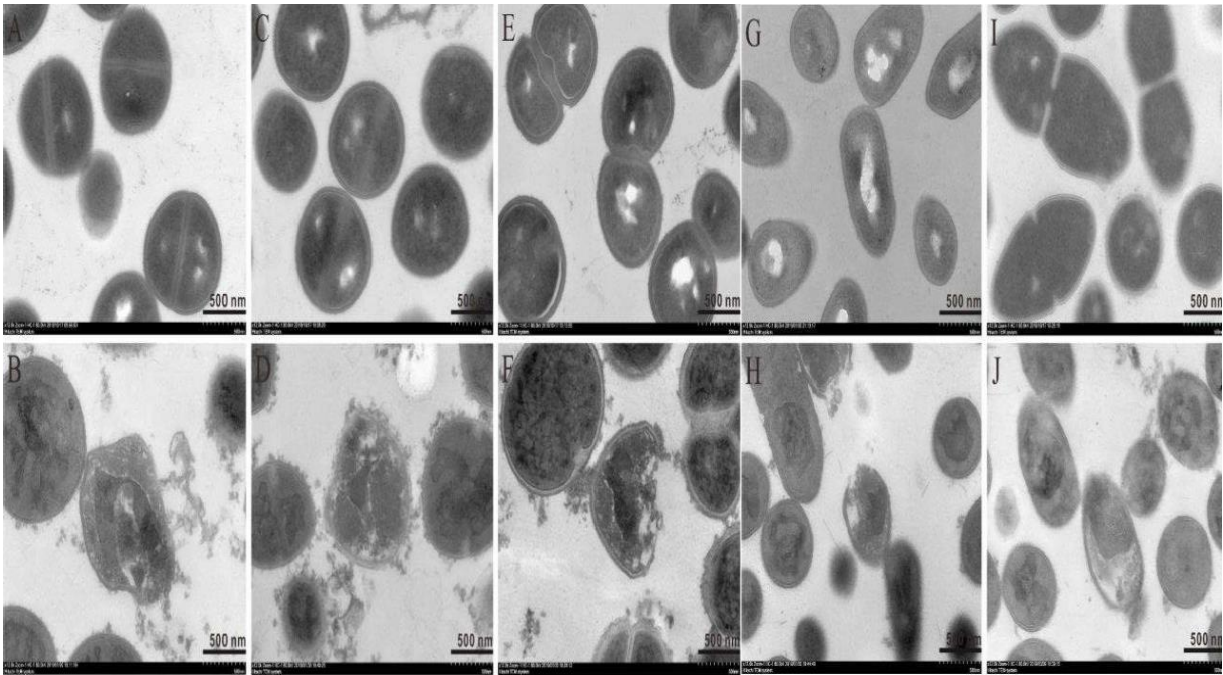


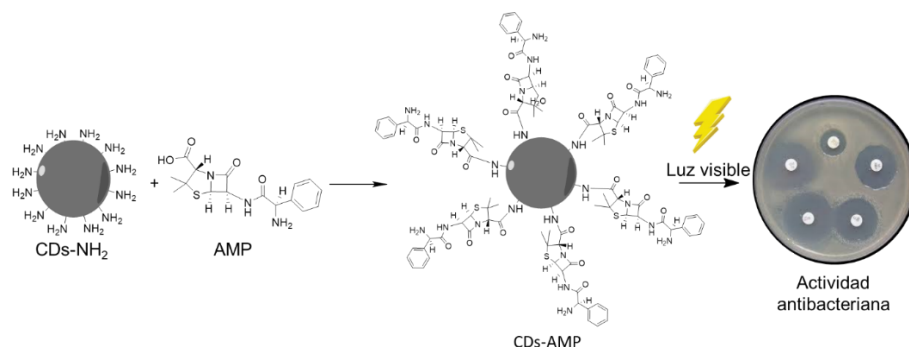
Figura 24. Imágenes TEM de *S. aureus* (A y B), SARM (C y D), *S. epidermidis* (E y F), *L. monocytogenes* (G y H) y *E. faecalis* (I y J) antes y después de ser tratadas con QCD, respectivamente.

El mecanismo antibacterial de los QCD contra cepas Gram positivas se determinó mediante un análisis de etiquetado en masa tándem (TMT) basado en proteómica cuantitativa antes y después del tratamiento con QCD, empleando como modelo *S. aureus*. De acuerdo con un análisis de enriquecimiento empleando la Enciclopedia de Kyoto de Genes y Genomas (KEGG), las proteínas expresadas diferencialmente estaban involucradas en una diversidad de rutas metabólicas bioquímicas y transducción de señales. El estudio reveló que QCD afectan principalmente la traducción de proteínas, la modificación postraduccional y el cambio en las células bacterianas al actuar principalmente en los ribosomas y en la regulación de la degradación del ARN para provocar anomalías metabólicas y alteraciones en las células bacterianas. Por lo que, el QCD actúa como un "caballo de Troya", causando primero que las células bacterianas se desintegren y se descompongan desde el interior, y pierdan su integridad, lo que finalmente provoca la muerte de las bacterias.

Además, realizaron estudios de toxicidad diversos y hemolisis *in vivo* y/o *in vitro* comprobando que en concentraciones efectivas contra las bacterias Gram positivas poseen una biocompatibilidad buena. Finalmente realizaron tratamientos de ratones con neumonía infectados con SARM con 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de QCD, 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de vancomicina y como control solución salina normal esterilizada. Los ratones tratados con QCD y vancomicina después del tratamiento durante 120 h, no presentaron síntomas de dificultad respiratoria o disnea y los neutrófilos en los tejidos pulmonares casi desaparecieron. Sin embargo, los neutrófilos en los tejidos pulmonares de los ratones tratados con solución salina esterilizada no disminuyeron significativamente, y los ratones todavía tenían los síntomas de disnea. Los resultados experimentales anteriores indican que los QCD poseen un efecto terapéutico en ratones con neumonía infectados con SAMR y podría promover la regresión de la inflamación pulmonar en los ratones y efecto terapéutico similar a la vancomicina.

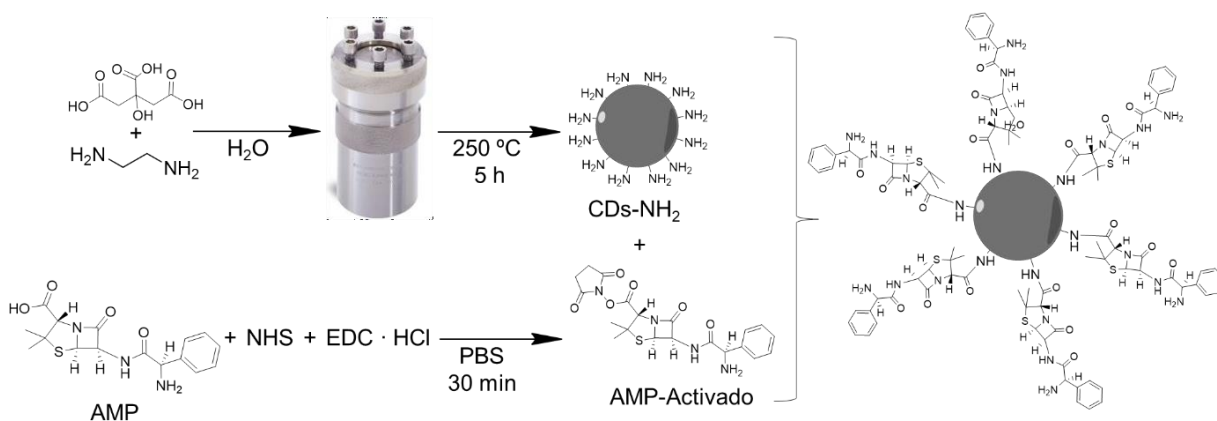
Estos resultados demuestran que los CD son agentes antimicrobianos prometedores para tratar infecciones de bacterias Gram positivas, así como su biocompatibilidad y posibles mecanismos de acción.

En el estudio reportado por Boukherroub y colaboradores,⁹⁷ se demostró que los puntos de carbono con grupos amino (CDs-NH₂) y funcionalizados con ampicilina (AMP) son una gran alternativa como vehículo para la inmovilización y administración de fármacos antibacterianos activados por luz visible.



Esquema 8. Puntos cuánticos de carbono funcionalizados con ampicilina contra bacterias expuesto a luz visible.

En la obtención de los CDs emplearon una metodología similar a la reportada por Wang y colaboradores⁷² utilizando ácido cítrico y etilendiamina en agua destilada a 250 °C durante 5 h, posteriormente los dializaron usando una membrana de diálisis de éster de celulosa durante 3 días, obteniendo el material seco CDs-NH₂. Posteriormente se hizo reaccionar la AMP equimolar con EDC y NHS durante 30 min para activar los grupos carboxilo. Finalmente, hicieron reaccionar los CDs-NH₂ con la AMP activada en una relación 2:1 a temperatura ambiente por 24 h. Después de eso, dializaron la solución obteniendo los CDs-AMP, los cuales fueron caracterizados por técnicas diversas como AFM, SEM, DLS, UV-vis, fluorescencia molecular, entre otras.



Esquema 9. Ruta de síntesis de CDs-AMP.

Por otra parte, realizaron estudios de citotoxicidad e internalización incubando 200 µg/mL de CDs-NH₂ a 37 °C y 4 °C durante 1 h en células HeLa teñidas en el núcleo con Hoechst 33342 (azul). La Figura 25 muestra las microscopias de fluorescencia, observándose una fluorescencia verde distribuida de manera homogénea en todo el citoplasma debido a la internalización por endocitosis o por penetración pasiva, así como los núcleos teñidos de azul en la imagen superpuesta.⁹⁷

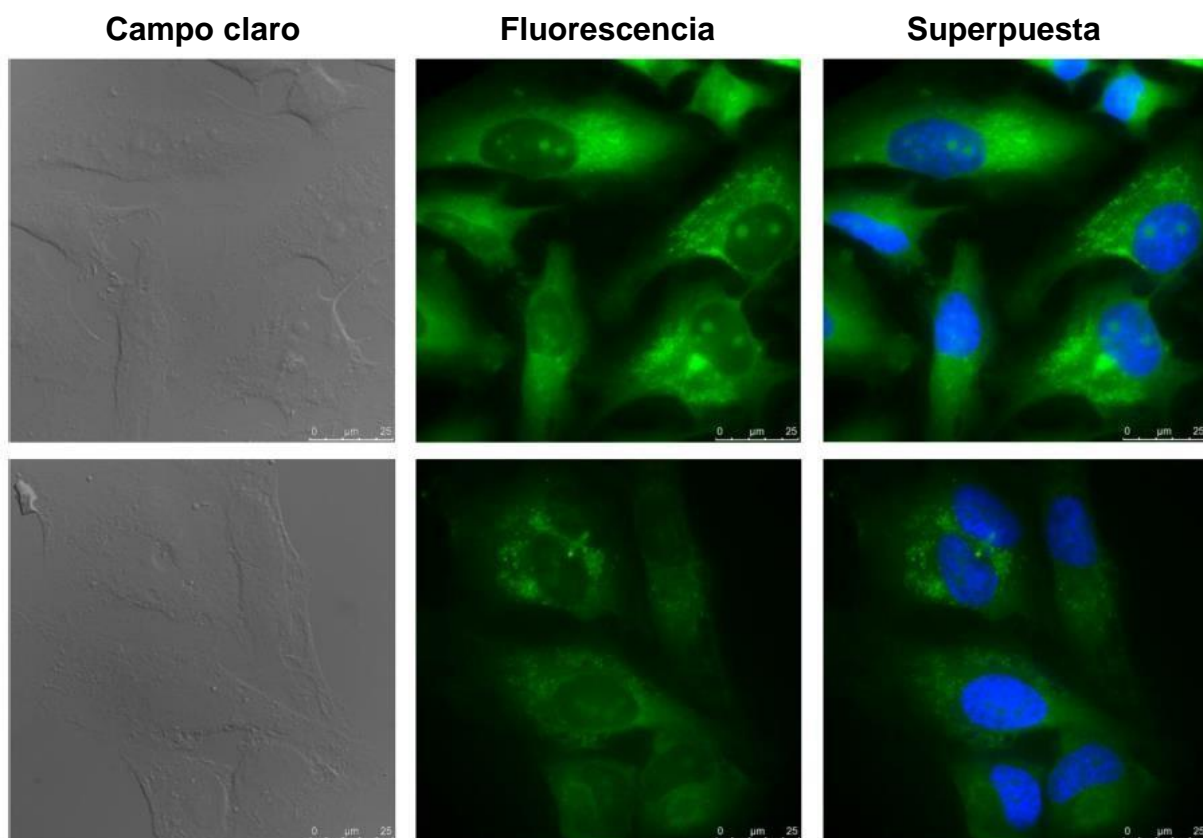


Figura 25. Imágenes de microscopía de fluorescencia de células HeLa incubadas con CDs-NH₂ a 37 °C (superior) y 4 °C (inferior).

Los estudios de actividad antibacteriana de los CDs-NH₂ y CDs-AMP con o sin iluminación de luz visible se evaluaron utilizando la cepa *E. coli* K12-MG1655 mediante mediciones de crecimiento celular en placas basado en la densidad óptica a 600 nm, para cuantificar las célula vivas. Las imágenes de fluorescencia y estudios de actividad antibacteriana revelaron que los CDs-NH₂ no eran tóxicos. Sin embargo, los CDs-AMP mostraron una actividad bactericida pronunciada mayor en comparación a la AMP libre incluso a la misma concentración contra *E. coli* (Figura 26).⁹⁷

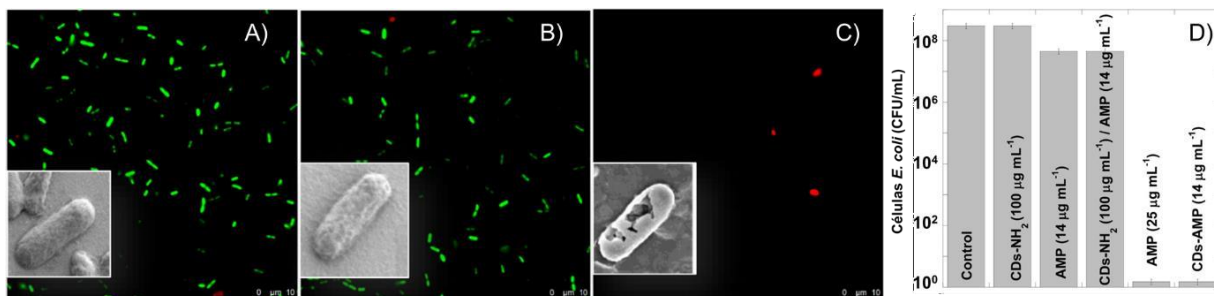


Figura 26. Ensayo de viabilidad de *E. coli* K12-MG 1655 para A) control, B) con CD-NH₂, C) con CDs-AMP (Insertos: imágenes SEM de células bacterianas) y D) comparación de la actividad antibacteriana contra *E. coli* K12-MG 1655 de CDs-NH₂, libre AMP, AMP mezclado con CDs-NH₂ y CDs-AMP.

Estos resultados demuestran la facilidad de funcionalización de los CDs con antibióticos como la AMP, mejorando su actividad considerablemente.

3.10. Nanomateriales empleando linezolidina contra bacterias

Por otra parte, en los últimos años se han empleado nanomateriales diversos con linezolidina, para estudiar como afecta la unión de estos en la actividad antibacteriana. Entre estos nanomateriales se han empleado xerogeles de sílice, nanopartículas de seleniuro de Cd/Si, nanopartículas de plata entre muchos otros; destacando una actividad contra bacterias multiresistentes mayor en comparación al fármaco libre, como SARM y el *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*).⁹⁸⁻¹⁰³

Papi y colaboradores,¹⁰³ investigaron el efecto de la combinación de fármacos absorbidos con óxido de grafeno (GO) para desarrollar un tratamiento eficaz contra tuberculosis. Los fármacos que combinaron con el GO fueron isoniazida (INH), la amikacina (AMK) y linezolidina (LZD), todos estos fármacos se han empleado para el tratamiento de tuberculosis como fármacos de primera o segunda línea, o tratamiento de cepas de tuberculosis multiresistentes (MDR).

Una vez caracterizaron y comprobaron las características tamaño y propiedades hidrodinámicas del GO por AFM y DLS realizaron la conjugación con los fármacos manteniendo fija la concentración de GO e incubando con los fármacos diluidos en

agua ultrapura con valores de concentración para AMK, INH y LZD de 2 g/mL, 0.4 g/mL y 2 g/mL, respectivamente; estos valores corresponden al doble de la concentración mínima inhibitoria (CMI). Además, realizaron el cargado a una concentración de 60 g/mL para comparar el efecto de un exceso de fármaco para cada uno.

Los resultados de caracterización de Papi y colaboradores mostraron que después de la incubación el GO-AMK y GO-INH formaba agregados visibles y precipitaron después de ~17 h, mientras que el GO-LNZ permaneció homogéneo a pesar del transcurso del tiempo. A su vez, el tamaño se vio afectado observándose un aumento inmediato del radio hidrodinámico de GO-AMK mediante DLS y menos intenso para el GO-INH. El GO-LZD no mostró un aumento significativo del radio hidrodinámico (Figura 27).

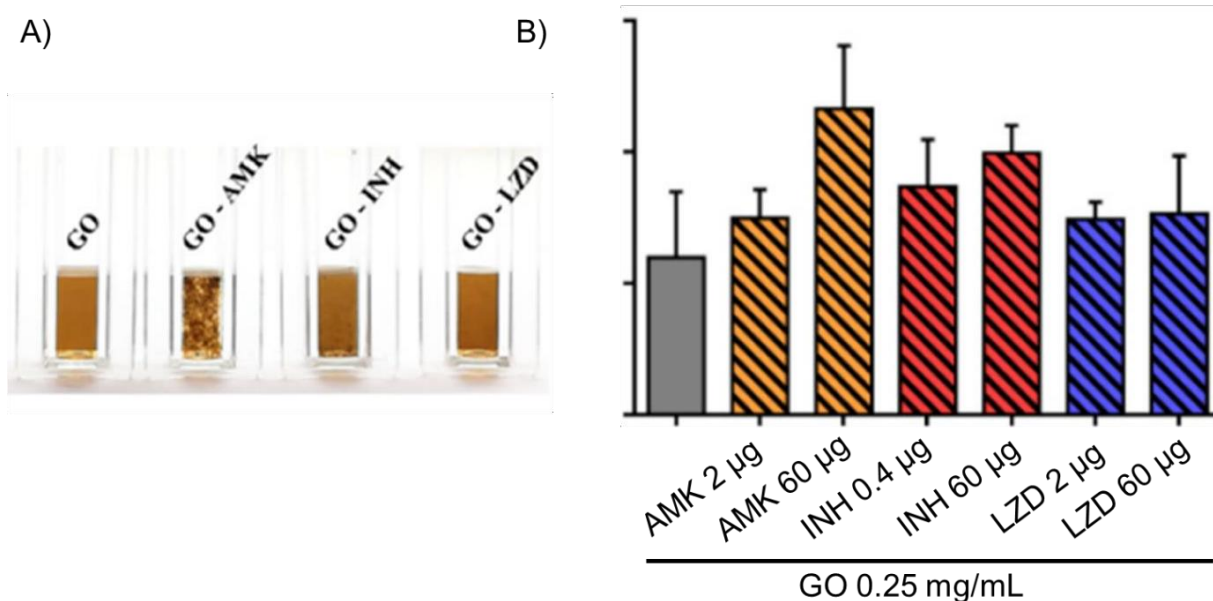


Figura 27. Caracterización de GO A) Fotografía de celdas que contienen muestras de GO-farmacos diferentes B) Efecto en el radio hidrodinámico de GO en presencia de concentraciones de fármacos diferentes mediante DLS.

A su vez, los espectros ATR-FTIR del GO, GO-AMK, GO-INH y GO-LZD mostraron diferencias en el perfil IR en GO-AMK y GO INH respecto al GO sin modificar, indicando la presencia de una conjugación entre los fármacos y el GO. La

interacción entre el GO y la LZD no se identificó por el análisis FTIR, que también mostró la misma región de huellas dactilares tanto en los espectros del GO como del GO-LZD, lo que sugiere la ausencia de conjugación del fármaco (Figura 28).

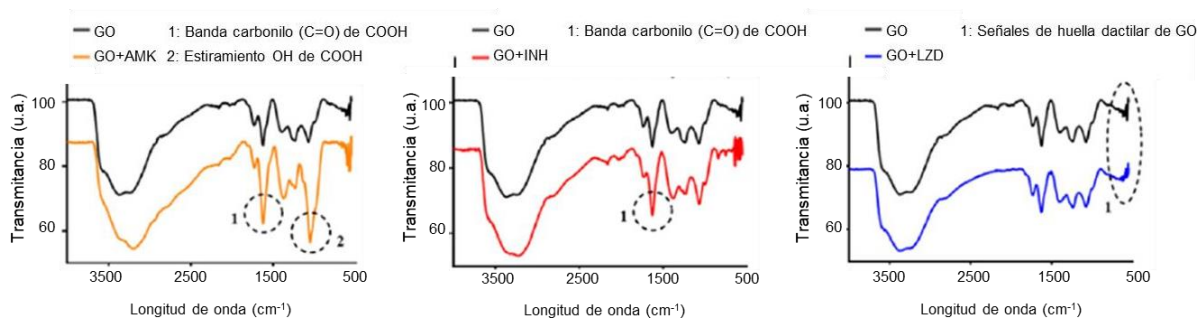


Figura 28. Caracterización FTIR de la superficie de las muestras GO-AMK, GO-INH y GO-LZD en comparación con GO libre.

Papi y colaboradores,¹⁰³ reportaron previamente la inactividad del GO contra *Mycobacterium smegmatis* (*Ms*) y *Mtb* demostrando que este nanomaterial atrapa a las micobacterias en una red extracelular, sin afectar a su viabilidad. Para investigar los efectos del GO en combinación con diferentes anti-TB, establecieron un ensayo basado en un tablero de control con concentraciones diferentes de GO (0,5, 0,25 y 0,12 mg/mL), administrado con AMK, INH y LZD a sus concentraciones inhibitorias mínimas (1, 0,2 y 1 g/mL, respectivamente). Las combinaciones del GO y los fármacos antituberculosos seleccionados se ensayaron contra la cepa de referencia *Mtb* H37Rv. Después de 15 días, se analizaron y se adquirieron imágenes mediante microscopía de fluorescencia Figura 29.

El efecto de atrapamiento del GO aumentó con los fármacos AMK e INH, observándose en la disminución de la fluorescencia y la agregación bacteriana (0,5 y 0,25 mg/mL). Sin embargo, con la disminución de la concentración de GO a 0,1 mg/mL, no se observó el efecto de atrapamiento/actividad bactericida de la INH y la AMK. Por el contrario, cuando el GO con LZD, la fluorescencia bacteriana disminuyó en todas las concentraciones y fue inferior en comparación con la LZD libre. GO mostró una ligera actividad sobre bacterias intracelulares; sin embargo, los datos sobre la

combinación GO-LZD indican que GO interactúa con las células eucariotas y maximiza la internalización y/o los efectos de LZD.

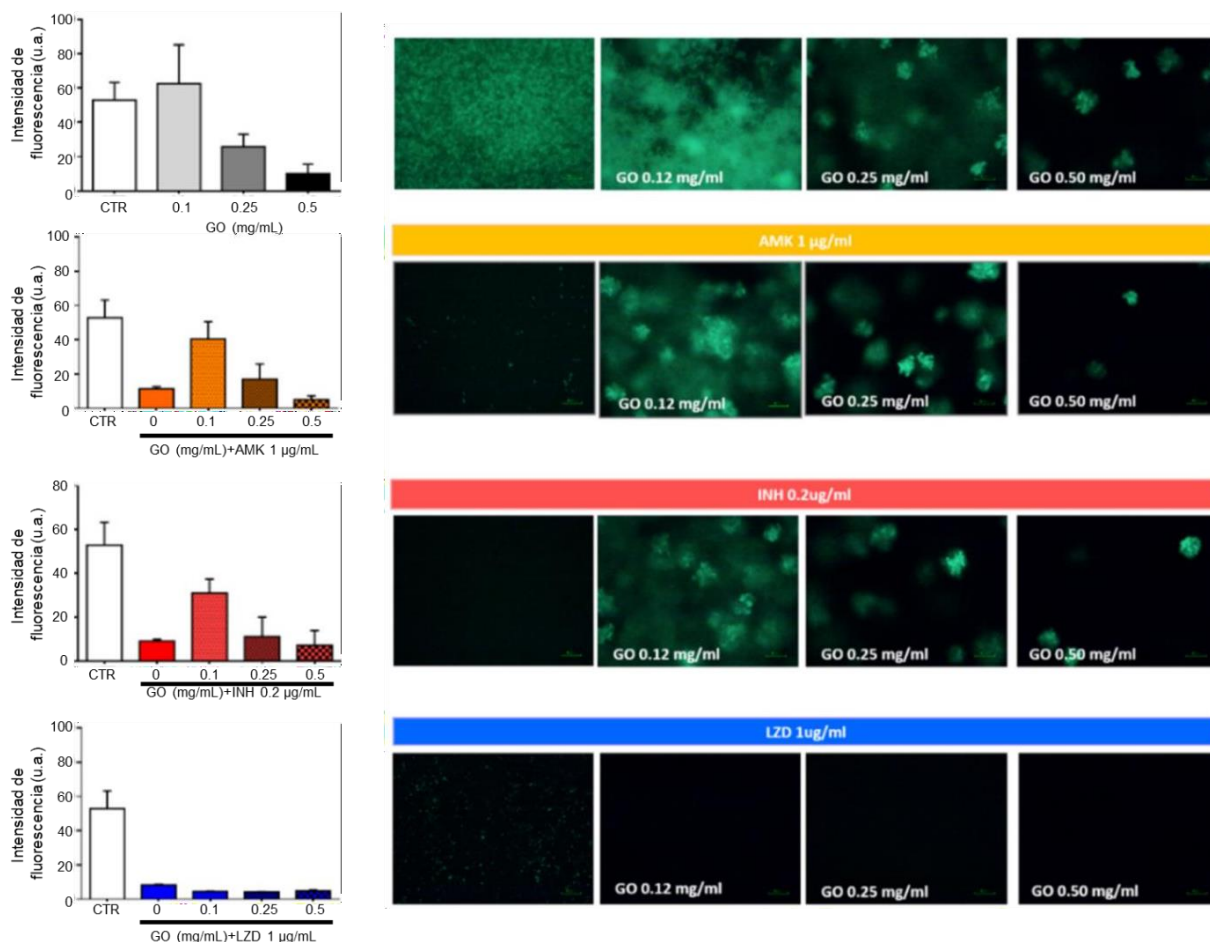


Figura 29. Evaluación de formulaciones de GO y GO-farmaco en *Mtb* H37Rv que expresan la GFP citosólica. Medición de la intensidad de fluorescencia después del tratamiento con GO, AMK, INH y LZD e imágenes representativas de micobacterias después de los tratamientos.

Para comprender mejor el mecanismo que permite la reducción de micobacterias en las células infectadas, investigaron la viabilidad celular y midieron la inducción de especies reactivas de oxígeno por GO, LZD o una combinación de tratamientos GO-LZD (Figura 31). Para maximizar estos efectos, trataron macrófagos (J774) con LZD 1 (MIC estándar), 10 o 100 g/mL. Para ello se midió el lactato deshidrogenasa (LDH) en

los sobrenadantes de las células tratadas el cual, cuando las membranas celulares están comprometidas o dañadas, liberan esta proteína en el espacio extracelular circundante.

El tratamiento con LZD libre y GO-LZD no mostraron un cambio significativo en la viabilidad de los macrófagos incluso a alta concentración. Mientras que con GO libre o GO-LZD que contenía una baja concentración de LZD, las células mostraron incluso una mayor viabilidad. Indicando que GO podría inducir proliferación celular. El tratamiento de células con LZD libre no generó una producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) en todas las concentraciones probadas. Por el contrario, la combinación de GO-LZD o GO libre determinó un aumento de dos a tres veces en la cantidad de ROS en comparación con los controles sin nanomaterial. Los anteriores resultados destacan que el GO no es tóxico para los macrófagos y que puede apoyar el tratamiento con LZD tanto en el medio extracelular atrapando o cuando las micobacterias se localizan intracelularmente estimulando el mecanismo bactericida mediado por ROS.

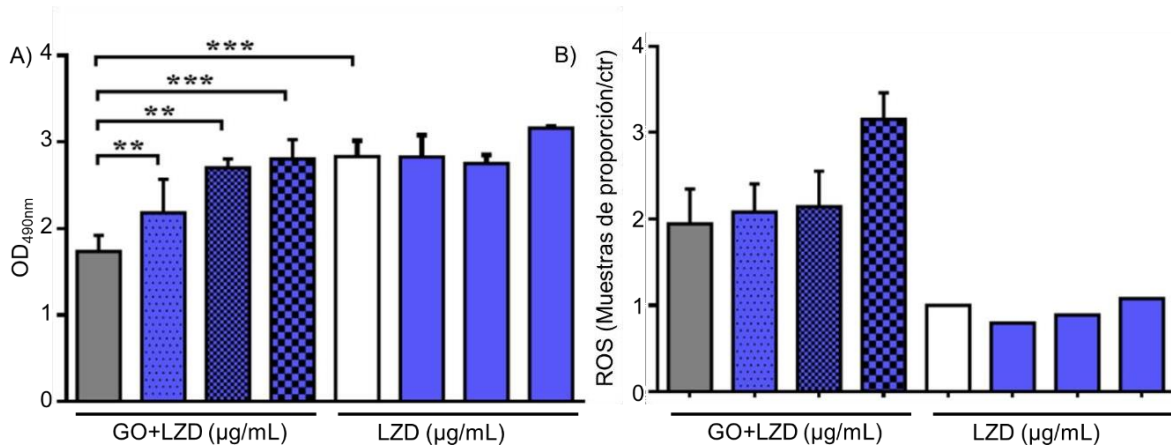


Figura 30. Evaluación de la viabilidad celular y la producción de ROS después del tratamiento con GO-LZD. Cuantificación de la viabilidad celular midiendo la lactato deshidrogenasa (LDH) (A) y la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) (B) después del tratamiento con GO (0,25 mg 7 ml), LZD (1, 10 y 100 g/ml) solo o en combinación con GO.

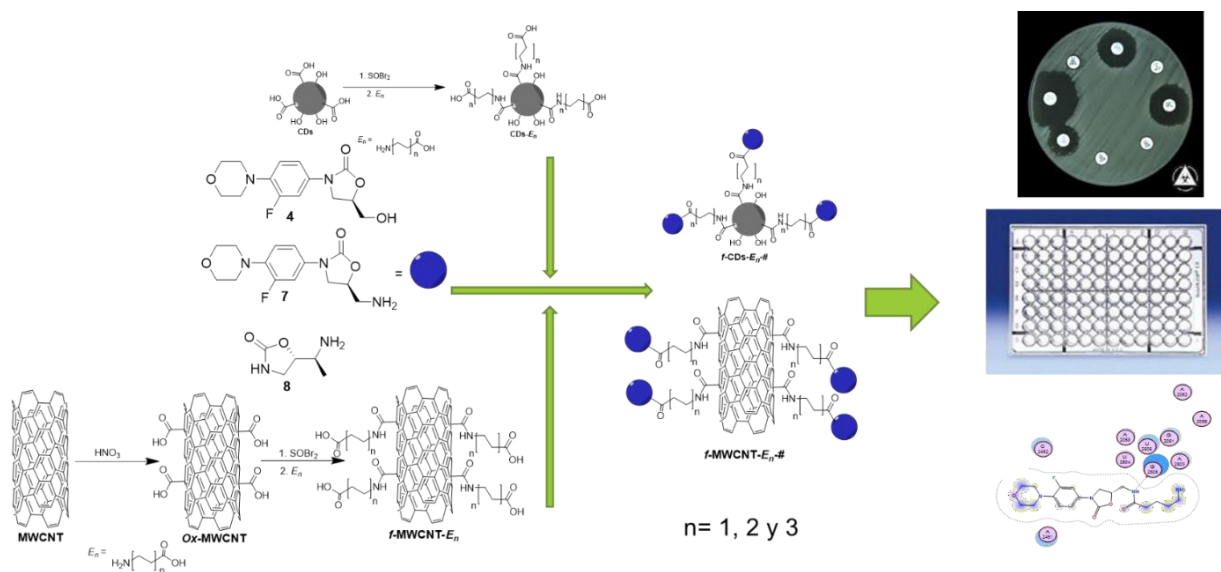
El estudio realizado por Papi y colaboradores,¹⁰³ muestra como nanomateriales como el GO en combinación con fármacos como LZN representan una estrategia útil para cambiar las interacciones entre patógenos potenciando la actividad del fármaco, incluso utilizando concentraciones de LZD por debajo de su MIC gracias a un efecto sinérgico entre la captura de GO, la generación de ROS mediada por el GO y el efecto antimicrobiano de LZD.

3.10 HIPÓTESIS

La implementación de nanoacarreadores a base de carbono como los nanotubos de pared múltiple y puntos cuánticos conjugados a linezólida incrementará su capacidad antibacteriana contra cepas multiresistentes como *Staphylococcus aureus*.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con base en los objetivos propuestos y en los antecedentes de la literatura, en este proyecto se llevó a cabo la preparación de MWCNT y CDs conjugados con compuestos tipo oxazolidinona diferentes para estudiar sus características antibacteriales. Los nanomateriales fueron preparados y funcionalizados con una serie de espaciadores de tipo aminoácido alquílico de longitud variable. Las moléculas que se incorporaron a los nanomateriales mediante su unión con el espaciador tienen una estructura base de 1,3-oxazolidinona, dos de ellos tienen una estructura análoga a linezólida (**4** y **7**), y la tercera es una oxazolidinona obtenida a partir de la modificación química de la L-alanina (**8**) (Esquema 10).

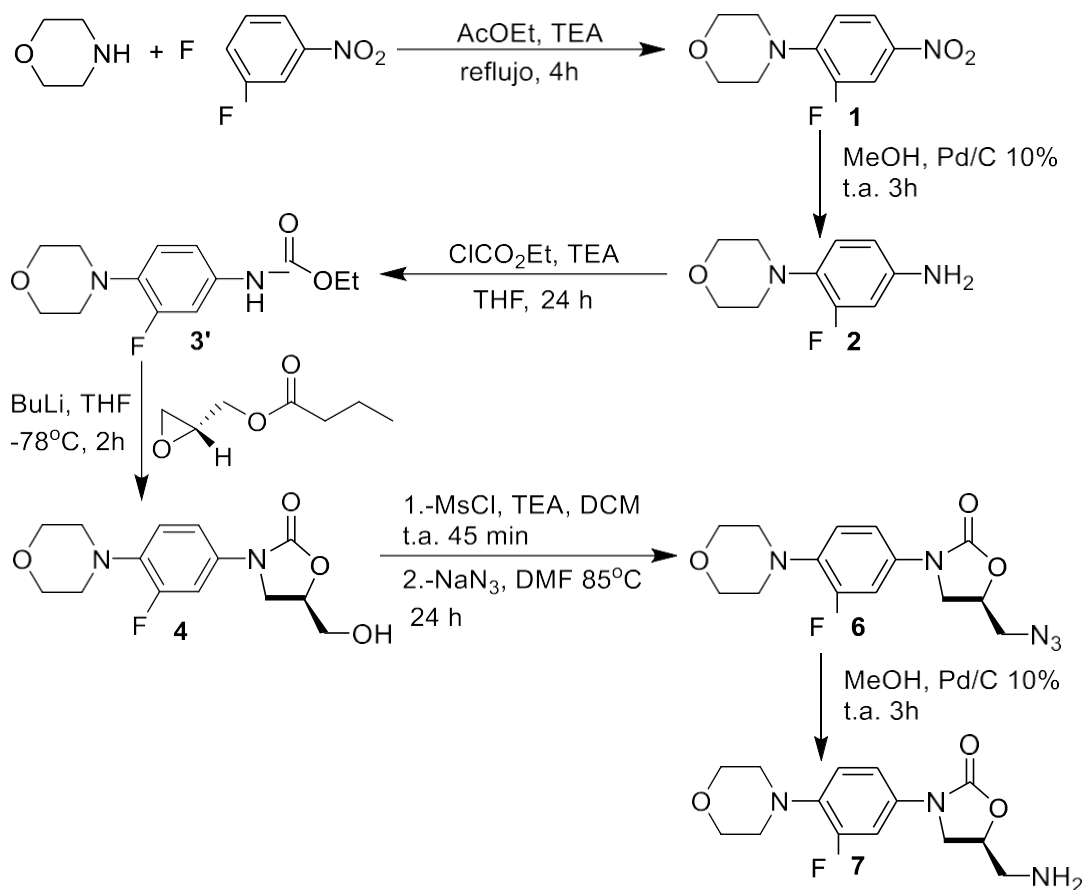


Esquema 10. Desarrollo de nanoacarreadores a base de MWCNT y CDs con compuestos tipo oxazolidinano, estudios contra bacterias y cálculos teóricos.

4.1. Síntesis de precursor de linezólida con grupo amino terminal **7**.

A continuación se describe la primera etapa. En esta sección se centra en la síntesis y caracterización del precursor de linezólida con grupo amino terminal la cual

se ilustra en el Esquema 11 y sus respectivas caracterizaciones por FTIR, RMN-¹H, RMN-¹³C y EMIE, se presentan y discuten de manera detallada los resultados obtenidos.



Esquema 11. Diagrama de síntesis de precursor de linezólida **7**.

4.1.1 Síntesis y caracterización del compuesto **1**.

La primera reacción de la primera etapa se centra en la unión de los anillos de morfolina y 3,4-difluoronitrobenzenu mediante una reacción de sustitución nucleofílica

aromática empleando como base trietilamina (TEA) para la obtención del compuesto **1** con un rendimiento de 90%.

En el espectro de FTIR del compuesto **1** (Anexo 1) se observa en 3052 y 2964 cm^{-1} las bandas vibracionales de estiramiento C-H aromático y alifático, respectivamente, en 1602 cm^{-1} el estiramiento C=C aromático, en 1514 cm^{-1} el estiramiento vibracional del enlace N=O, en 1445 cm^{-1} la vibración del estiramiento C-F, en 1325 cm^{-1} la banda de vibración del enlace C-N y en 1242 y 1122 cm^{-1} las bandas de estiramiento C-O.

En espectro de RMN- ^1H del compuesto **1** (Figura 31) se observa en 7.99 ppm un doble de dobles de dobles que integra para un hidrógeno correspondiente a H-9 el cual correlaciona con el hidrógeno H-7 en 7.91 ppm que se observa como un doble de dobles con una $J= 2.6$ Hz, a su vez H-9 correlaciona con H-10 en 6.92 ppm que es un doble de dobles que se observa como un triplete con una $J= 9.0$ Hz. Por su parte, los hidrógenos H-7, H-9 y H-10 correlacionan con el F en posición 6 con unas constantes de acoplamiento de 13.1, 1.1 y 8.8 Hz, respectivamente. En 3.88 y 3.29 ppm se observan dos multipletes que integran ambos para cuatro hidrógenos correspondientes a H-3 y H-2 del anillo de morfolina, respectivamente; siendo el más desplazados a campo bajo los hidrógenos unidos a oxígeno.

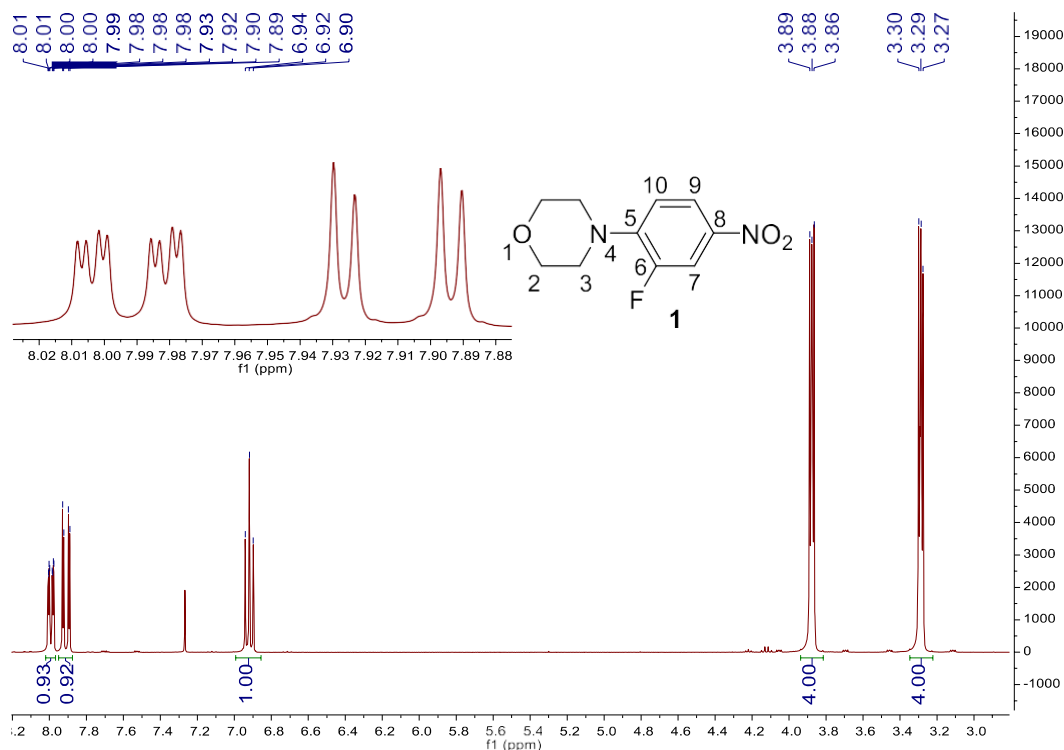


Figura 31. Espectro de RMN-¹H del compuesto **1** en CDCl₃.

En el espectro de RMN-¹³C del compuesto **1** (Figura 32), se observaron las señales del fragmento 3-fluornitrobenzoceno como un doblete a 153.3 ppm correspondiente al carbono ipso al flúor con $J_{C-F} = 249.4$ Hz asignado como C-6, en 145.6 ppm un doblete con $J_{C-F} = 7.6$ Hz que corresponde a C-5, en 141.0 ppm un doblete con $J_{C-F} = 9.5$ Hz correspondiente a C-8, en 121.1 ppm un doblete con $J_{C-F} = 3.1$ Hz asignado como C-9, en 117.0 ppm un doblete con una $J_{C-F} = 3.9$ Hz, en 112.7 ppm un doblete con una $J_{C-F} = 26.3$ Hz correspondiente a C-7. Las señales correspondientes a los carbonos de anillo de morfolina se observan en 66.7 ppm como un singlete correspondiente a los metilenos C-2 unidos al oxígeno y en 50.1 ppm un doblete con $J_{C-F} = 5.0$ Hz de los metilenos asignados como C-3 unidos al nitrógeno.

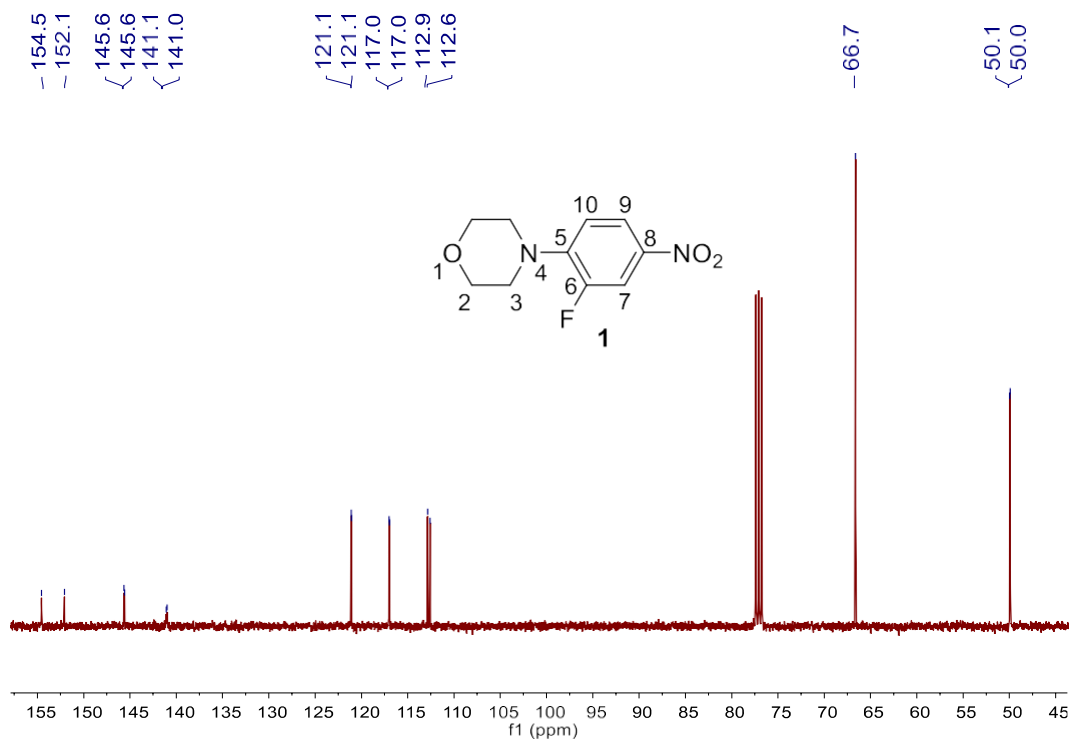


Figura 32. Espectro de RMN- ^{13}C del compuesto **1** en CDCl_3 .

Para comprobar la asignación inequívoca de las señales se realizaron estudios en dos dimensiones de acoplamiento ^1H - ^{13}C por HSQC y HMBC.

En el espectro de HSQC (Figura 33) se observan las correlaciones hidrógeno carbono a un enlace del compuesto **1**. En las señales del 3-fluoronitrobenzeno se observa la correlación del doble de dobles en 7.99 ppm con 121.1 ppm asignado como C-9, el doble de doble de dobles en 7.91 ppm correlaciona con 112.7 ppm asignado como C-7, el doble de dobles que se observa como triplete en 6.92 ppm correlaciona con 117.0 ppm asignado como C-10. Por parte del anillo de morfolina la señal en 3.88 ppm correlaciona con 66.7 ppm y la señal asignada como en 3.29 ppm correlaciona con 50.1 ppm asignadas como C-3 y C-2, respectivamente.

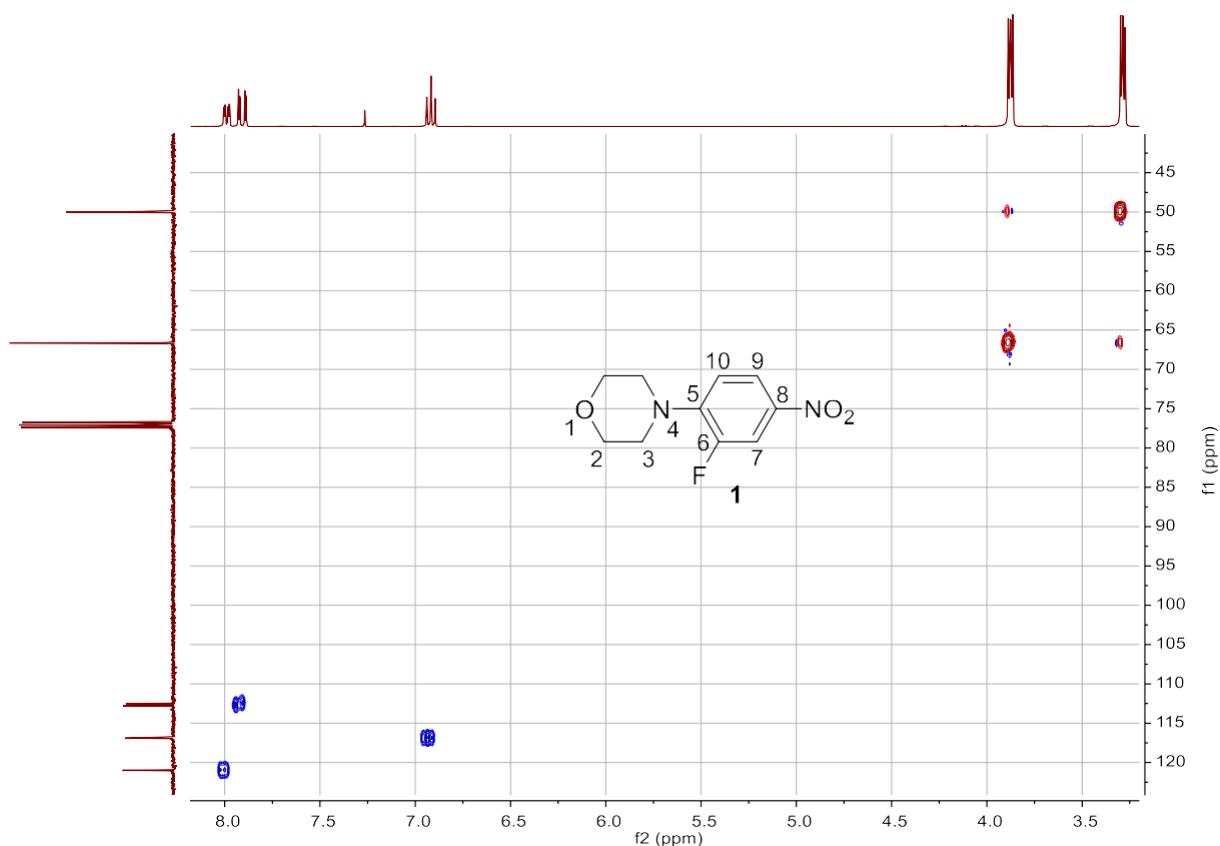


Figura 33. Análisis por HSQC del compuesto **1** en CDCl_3 .

En el espectro de HMBC (Figura 34) del compuesto **1** se observan las correlaciones ^1H - ^{13}C a dos y tres enlaces. El multiplete en 3.88 ppm H-2 correlaciona con C-2 y C-3 en 66.5 y 49.9 ppm, respectivamente. Por su parte el multiplete en 3.23 ppm H-3 correlaciona con C-2, C-3 y la señal en 140.5 ppm correspondiente al carbono ipso entre el 3-fluoronitrobenceno y el nitrógeno de la morfolina asignado como C-5. El doble de dobles en 6.92 ppm correlaciona con C-5, con 140.9 y 153.3 correspondientes a los carbonos ipso al nitro y al flúor y asignados como C-8, C-6 respectivamente; esta última asignación se confirma con base en los acoplamientos C-F en el espectro de ^{13}C . El doble de dobles en 7.91 ppm H-7 correlaciona con C-5, C-6, C-8 y C-9. Finalmente, el doble de doble de dobles en 7.99 ppm H-9 correlaciona con C-5, C-6 y C-7.

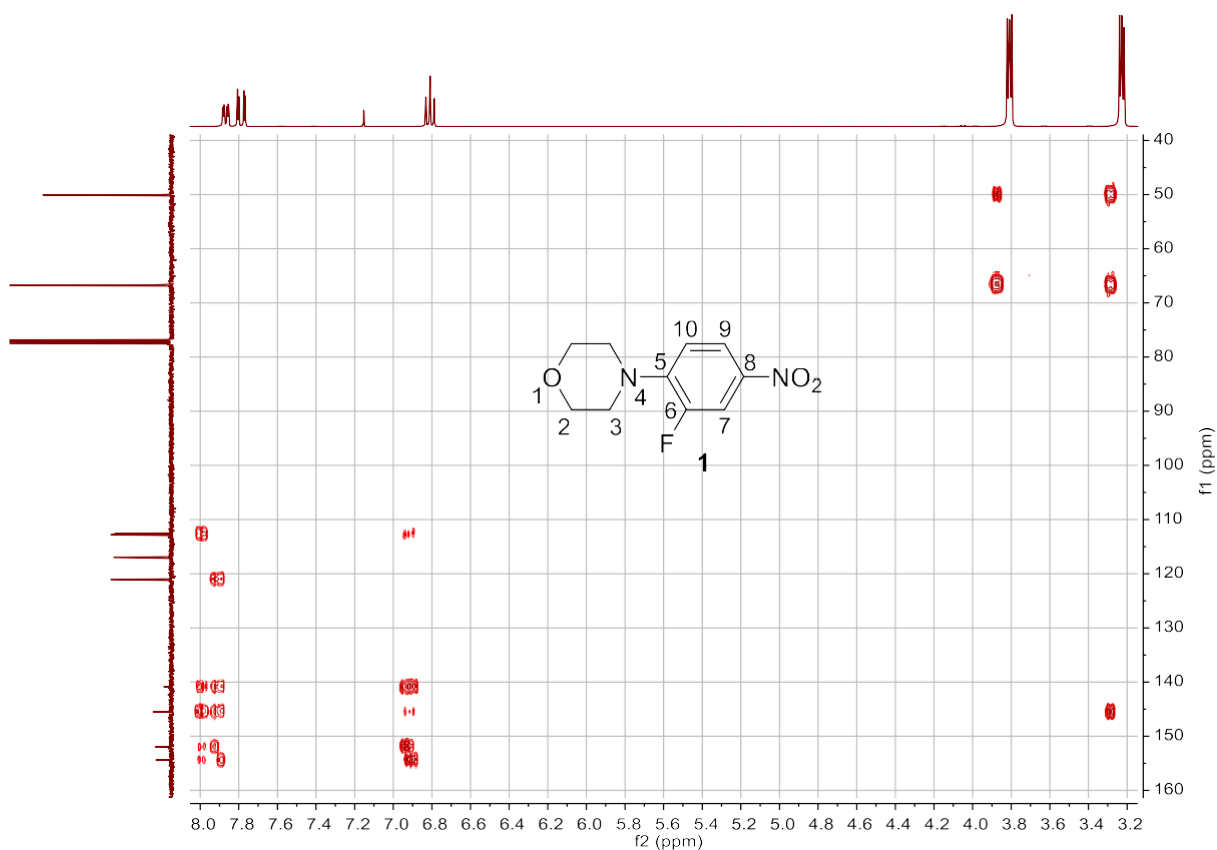


Figura 34. Análisis de HMBC de **1** en CDCl₃.

En el espectro de EMIE de **1** (Figura 35) se observa el ion molecular en 226 m/e correspondiente al peso molecular del compuesto. El pico base se observa en 168 m/e correspondiente a una fragmentación beta al grupo arilo y beta al nitrógeno de la morfolina lo que genera una apertura de este anillo siendo la ruptura más típica en este tipo de compuestos. Además, se observa la ruptura homolítica de HF en 138 m/e correspondiente a una pérdida a partir del fragmento en 168 m/e.

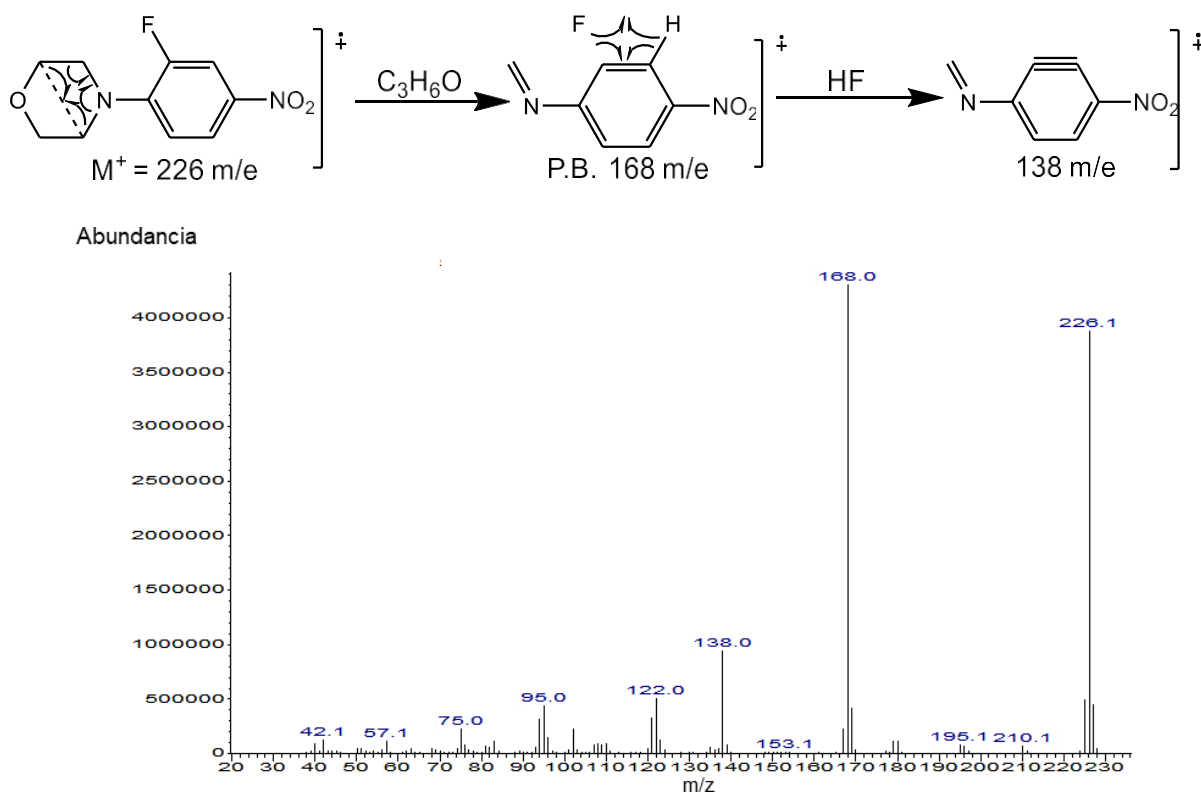


Figura 35. Patrón de fragmentación y espectro de EMIE del compuesto **1**.

4.1.2. Síntesis y caracterización del 3-fluoro-4-morfolinilina (**2**).

Para la obtención del compuesto **2** se realizó una hidrogenación del compuesto **1** empleando como catalizador Pd/C al 10% lo cual permitió la reducción del grupo nitro a amina. El producto de la reacción se obtuvo con un rendimiento del 68%.

En el espectro de FTIR de **2** (Anexo 2), se observa en 3417 cm^{-1} las dos bandas de estiramiento típicas del N-H, en 3052 y 2964 cm^{-1} se observan las bandas vibracionales de estiramiento C-H aromático y alifático, respectivamente, en 1602 cm^{-1} el estiramiento C=C aromático, en 1514 cm^{-1} el estiramiento vibracional del enlace N=O, en 1445 cm^{-1} la vibración del estiramiento C-F, en 1325 cm^{-1} la banda de vibración del enlace C-N y en 1242 y 1122 cm^{-1} las bandas de estiramiento C-O.

En espectro de RMN- ^1H del compuesto **2** (Figura 36) se genera un cambio en el desplazamiento de las señales del grupo arilo debido al cambio de un grupo desprotector fuerte (nitro) por un grupo protector fuerte (amina). En 6.79 ppm se observa un doble de dobles que integra para un hidrógeno correspondiente a H-10 el cual correlaciona con el hidrógeno H-9 en 6.39 ppm con una $J = 9.1$ Hz, que a su vez se correlaciona y solapa con H-7 en 6.42 ppm con una $J = 2.6$ Hz. Por su parte, como se observó en el compuesto los hidrógenos H-7, H-9 y H-10 correlacionan con el F en posición 6 con unas constantes de acoplamiento de 13.7, 1.0 y 8.6 Hz, respectivamente. El efecto de cambio de grupo afectó ligeramente el desplazamiento de las señales del anillo de morfolina en 3.84 y 2.93 ppm se observan dos multipletes que integran ambos para cuatro hidrógenos correspondientes a H-3 y H-2 del anillo de morfolina, respectivamente. Finalmente, en 3.55 ppm se observa un singulete ancho que integra para dos hidrógenos correspondientes al grupo amina.

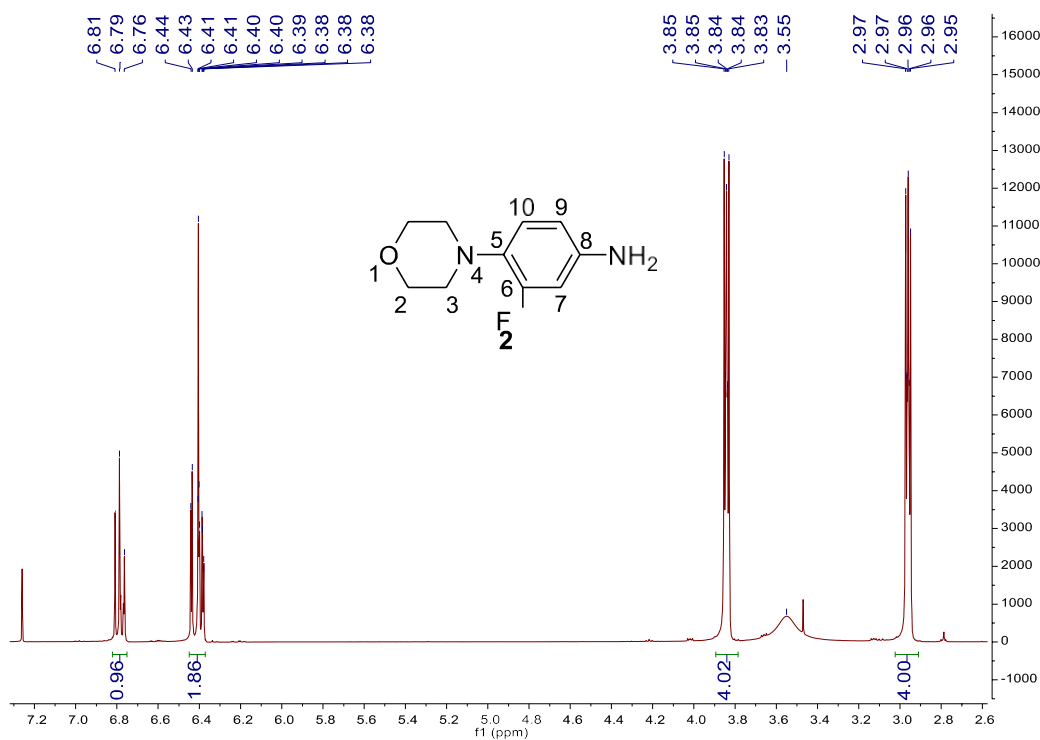


Figura 36. Espectro de RMN- ^1H del compuesto **2** en CDCl_3 .

En el espectro de RMN- ^{13}C del compuesto **2** (Figura 37) se observa el mismo efecto del cambio de grupo desprotector fuerte por un grupo protector fuerte el cual desplazó las señales del grupo arilo a campo alto siendo las posiciones más afectadas las posiciones orto y para. En 156.9 ppm se observa un doblete a correspondiente al carbono ipso al flúor con $J_{\text{C-F}} = 245.4$ Hz asignado como C-6 con base al acoplamiento mostrado en el compuesto **x**, en 143.0 ppm un doblete con $J_{\text{C-F}} = 10.3$ Hz, en 131.9 ppm un doblete con $J_{\text{C-F}} = 9.6$ Hz, en 120.3 ppm un doblete con $J_{\text{C-F}} = 4.4$ Hz, en 110.6 ppm un doblete con una $J_{\text{C-F}} = 3.0$ Hz, en 103.9 ppm un doblete con una $J_{\text{C-F}} = 23.8$ Hz asignada como C-7 con base al tipo de acoplamiento C-F. En 67.1 ppm se observa la señal correspondiente a los metilenos unidos al oxígeno del anillo de la morfolina asignados como C-2 y en 51.8 ppm se observa un doblete con $J_{\text{C-F}} = 5.0$ Hz de los metilenos unidos al nitrógeno de la morfolina asignados como C-3.

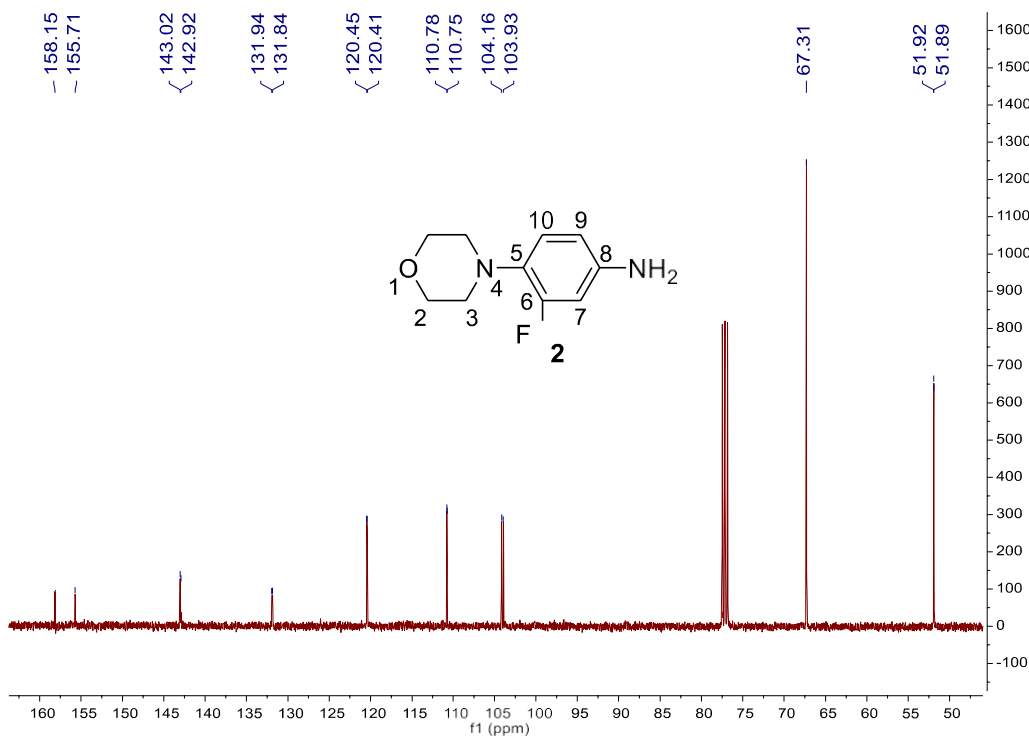


Figura 37. Espectro de RMN- ^{13}C del compuesto **2** en CDCl_3 .

Para realizar la asignación inequívoca de las señales se realizaron estudios en dos dimensiones de acoplamiento ^1H - ^{13}C por HSQC y HMBC.

En el espectro de HSQC de **2** (Figura 38) se observan las correlaciones ^1H - ^{13}C a un enlace del compuesto **2**. El doble de dobles en 6.79 ppm correlaciona con 120.3 ppm asignado como C-10, el doble de dobles en 6.42 ppm correlaciona con 103.9 ppm C-7 previamente asignada, el doble de dobles de dobles que se observa como triplete en 6.39 ppm correlaciona con 110.6 ppm asignado como C-9. Por parte del anillo de morfolina la señal en 3.84 ppm correlaciona con 67.1 ppm y la señal asignada como en 2.94 ppm correlaciona con 51.8 ppm asignadas como C-3 y C-2, respectivamente. Por último, la señal ancha a 3.55 ppm no correlaciona con ningún carbono, esto debido a que esta enlazado a un heteroátomo (nitrógeno).

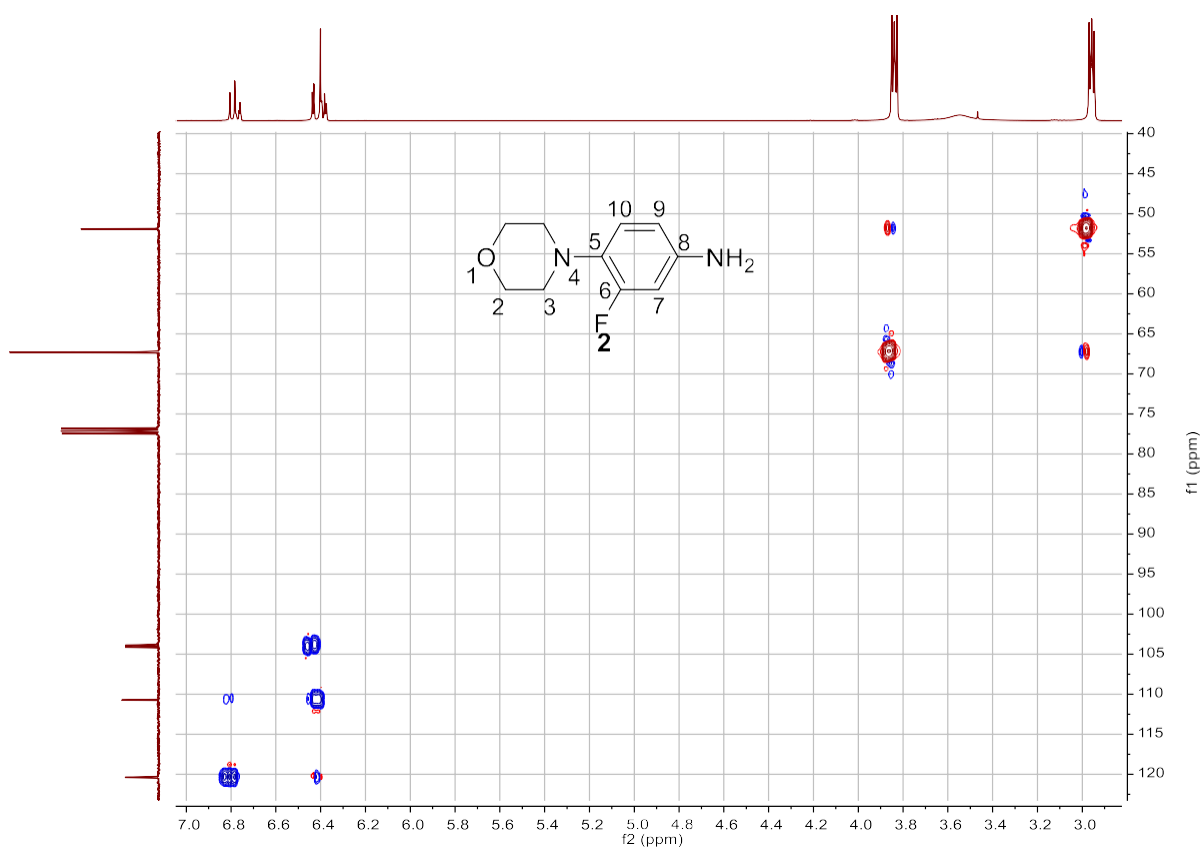


Figura 38. Análisis del HSQC del compuesto **2** en CDCl_3 .

En el espectro de HMBC de **2** (Figura 39) se observan las correlaciones ^1H - ^{13}C a dos y tres enlaces. El multiplete en 3.84 ppm H-2 correlaciona con C-2 y C-3 en 67.1 y 51.8 ppm, respectivamente. Por su parte, el multiplete en 2.96 ppm H-3 correlaciona con C-2, C-3 y la señal en 131.9 ppm asignado como C-5. El doble de dobles en 6.79 ppm H-10 correlaciona con C-5, con 143.0 y 156.9 ppm correspondientes a los carbonos ipso al amino y al flúor y asignados como C-8, C-6 respectivamente. El doble de dobles en 6.42 ppm H-7 correlaciona con C-5, C-6, C-8 y C-9. Finalmente, el doble de doble de dobles en 6.39 ppm H-9 correlaciona con C-5, C-7 y C-8.

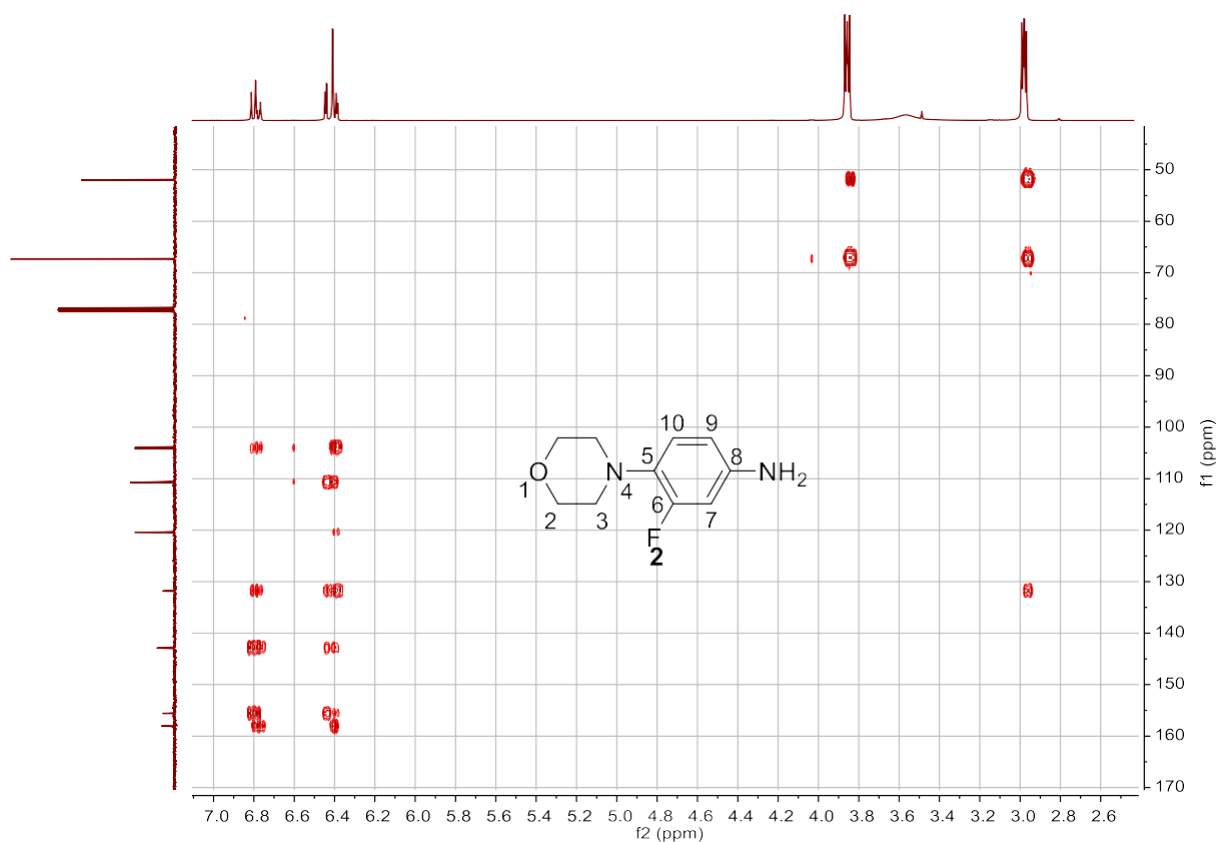


Figura 39. Análisis HMBC del compuesto **2** en CDCl_3 .

En el espectro de EMIE de **2** (Figura 40) se observa el ion molecular en 196 m/e correspondiente al peso molecular del compuesto. El pico base se observa en 138 m/e correspondiente a una fragmentación de apertura del anillo de morfolina.

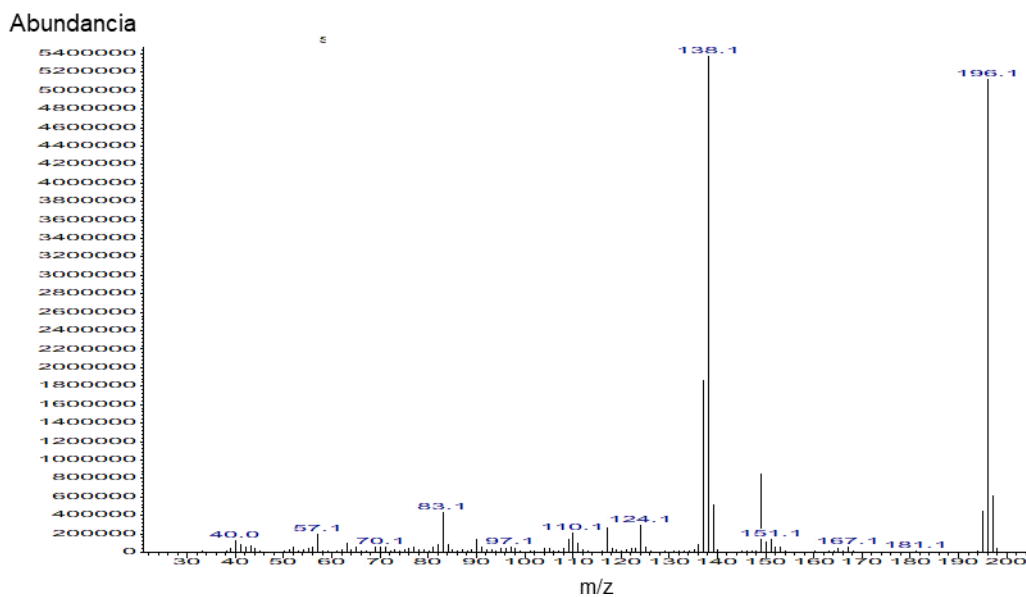


Figura 40. Espectro de EMIE de compuesto **2**.

4.1.3. Síntesis y caracterización del (3-fluoro-4-morfolinfenil)-etilcarbamato (**3'**).

Para la obtención del compuesto **3'** se hizo reaccionar el compuesto **2** en medio básico empleando TEA para favorecer el ataque nucleofílico del nitrógeno del compuesto **2** al carbonilo del cloroformato de etilo. El rendimiento de la reacción fue de un 85%.

En el espectro de FTIR de **3'** (Anexo 3) se observa la banda de estiramiento N-H en 3250 cm^{-1} de una amina secundaria y a su vez en 1710 cm^{-1} se observa la banda de estiramiento del carbonilo del carbamato siendo estas las que confirman la formación de este grupo funcional en la molécula. Entre 3080 y 2800 cm^{-1} se observan las bandas vibracionales de estiramiento C-H aromático y alifático. En 1602 cm^{-1} el estiramiento C=C aromático, en 1445 cm^{-1} la vibración del estiramiento C-F, en 1325 cm^{-1} la banda de vibración del enlace C-N y en 1242 y 1122 cm^{-1} las bandas de estiramiento C-O.

En el espectro de RMN- ^1H del compuesto **3'** (Figura 41) se observa un efecto desprotector por la formación del enlace entre el nitrógeno del grupo arilo y el carbonilo del carbamato. En 7.27 ppm se observa un doblete que integra para un hidrógeno el cual correlaciona con el F del grupo arilo con una $J = 12$ Hz asignado a H-7. En 6.97 ppm se observa un doblete de dobles que integra para un hidrógeno con una $J = 1.6$ Hz y que correlaciona con el doblete en 6.87 ppm que integra para un hidrógeno con una $J = 8.8$ Hz asignados como H-9 y H-10, respectivamente. La señal H-10 también correlaciona con el F con una $J = 9.0$ Hz. En 6.51 ppm se observa un singulete que integra para un hidrógeno correspondiente al nitrógeno del grupo carbamato asignado como H-11. En 4.22 ppm se observa un cuarteto que integra para dos hidrógenos correspondientes al metileno unido al carbonilo, que correlaciona con una $J = 7.1$ Hz con el metilo en 1.36 ppm que se observa como un triplete e integra para tres hidrógenos asignados como H-14 y H-15, respectivamente. Finalmente, en 3.86 y 3.03 ppm se observan dos multipletes que integran ambos para cuatro hidrógenos correspondientes a H-3 y H-2 del anillo de morfolina, respectivamente.

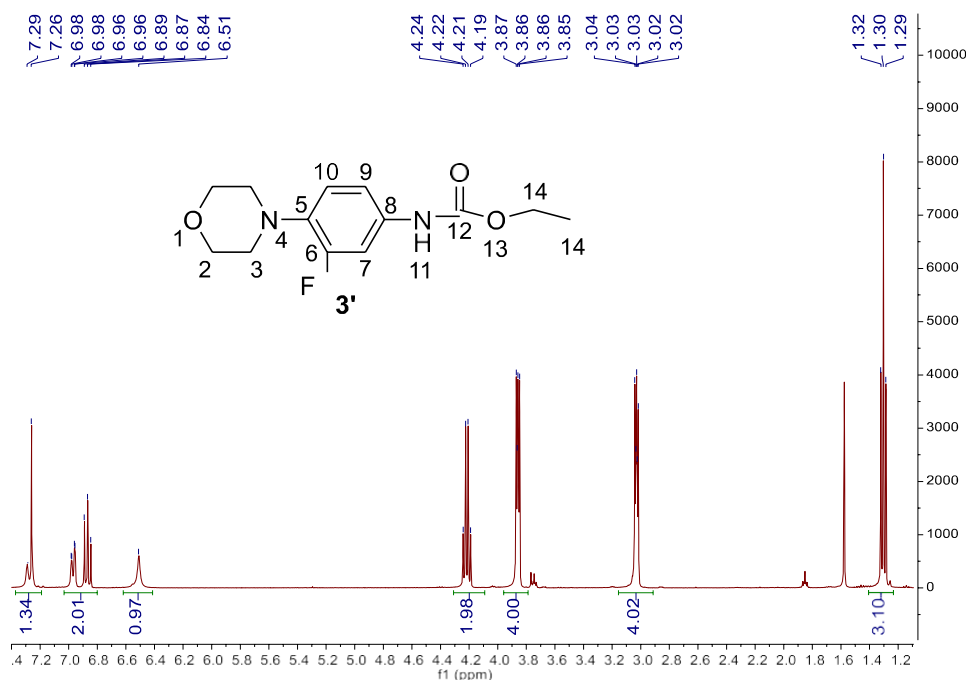


Figura 41. Espectro de RMN- ^1H del compuesto **3'** en CDCl_3 .

En el espectro de ^1H -COSY de **3'** (Figura 42) se observa el cuadro de correlación entre el hidrógeno en posición para en 6.97 ppm H-9 con el hidrógeno meta en 6.87 ppm H-10. Adicionalmente, se observa la correlación entre las señales de los hidrógenos del metileno en 4.22 ppm H-14 con los hidrógenos del metilo en 1.36 ppm H-15. Finalmente, se observa el cuadro de correlación entre los hidrógenos de los metilenos del anillo de morfolina en 3.86 y 3.03 ppm H-2 y H-3.

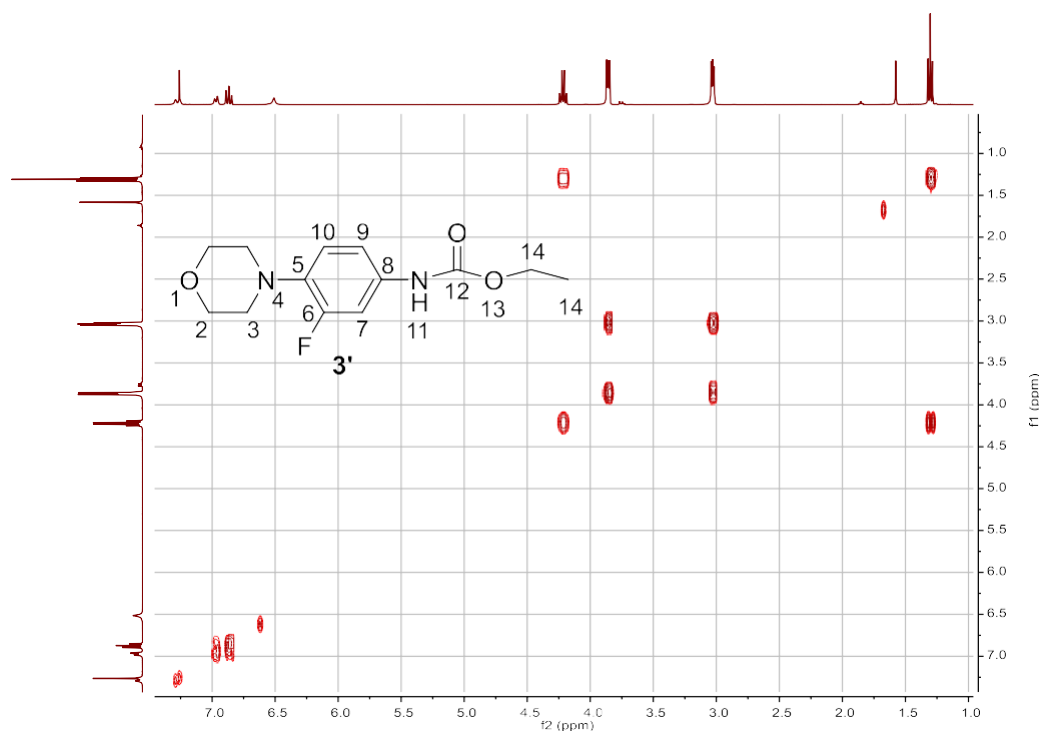


Figura 42. Espectro de RMN ^1H -COSY de **3'** en CDCl_3 .

En el espectro de RMN- ^{13}C del compuesto **3'** (Figura 43) se observa en 155.9 ppm se observa un doblete correspondiente al carbono ipso al flúor con $J_{\text{C-F}} = 245.7$ Hz asignado como C-6 con base al acoplamiento mostrado en el compuesto 1. En 153.7 ppm se observa el carbono de carbonilo. En 135.9 ppm un doblete con $J_{\text{C-F}} = 9.1$ Hz, en 133.5 ppm un doblete con $J_{\text{C-F}} = 10.9$ Hz, en 119.2 ppm un doblete con $J_{\text{C-F}} = 4.1$ Hz, en 114.6 ppm un doblete con una $J_{\text{C-F}} = 9.3$ Hz, en 108.0 ppm un doblete con una $J_{\text{C-F}} = 33.0$ Hz asignada como C-7 con base al tipo de acoplamiento C-F. En 67.2

ppm se observa la señal correspondiente a los metilenos unidos al oxígeno del anillo de la morfolina asignados como C-2. En 61.5 ppm se observa la señal correspondiente al metileno del etilcarbamato asignado como C-14. En 51.3 ppm se observa un doblete con $J_{C-F} = 3.0$ Hz de los metilenos unidos al nitrógeno de la morfolina asignados como C-3. Finalmente, en 14.7 ppm se observa una señal correspondiente al metilo del etilcarbamato asignada como C-15.

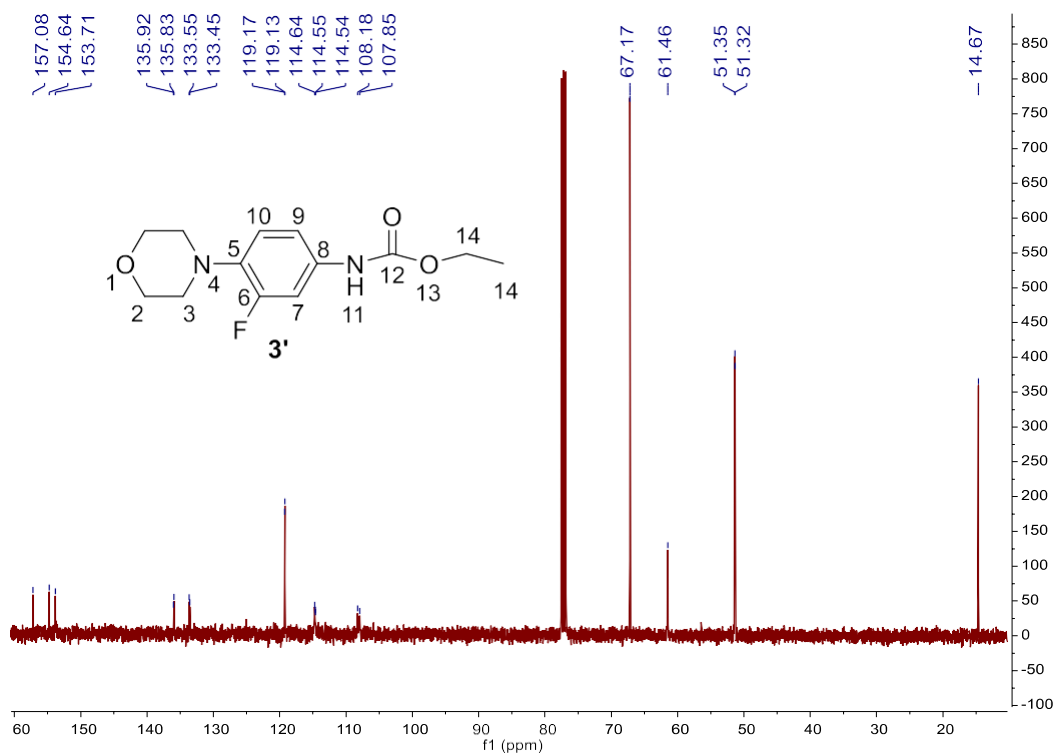


Figura 43. Espectro de RMN- ^{13}C del compuesto **3'** en CDCl_3 .

En el espectro de HSQC (Figura 44) se observan las correlaciones ^1H - ^{13}C a un enlace del compuesto **3'**. El doblete en 7.27 ppm correlaciona con 108.0 ppm previamente asignada, el doble de dobles en 6.97 ppm correlaciona con 114.6 ppm asignado como C-9, el doble de dobles que se observa como triplete en 6.87 ppm correlaciona con 119.2 ppm asignado como C-10, el cuarteto en 4.22 ppm correlaciona con 61.5 ppm asignado como C-14. Por parte del anillo de morfolina el multiplete en 3.86 ppm correlaciona con 67.2 ppm y el multiplete en 3.03 ppm correlaciona con 51.3

ppm asignadas como C-3 y C-2, respectivamente. El triplete en 1.36 ppm correlaciona con 14.7 ppm asignado como C-15. Por último, el singulete en 6.51 ppm H-11 no correlaciona con ningún carbono, éste debido a que está enlazado al nitrógeno del carbamato.

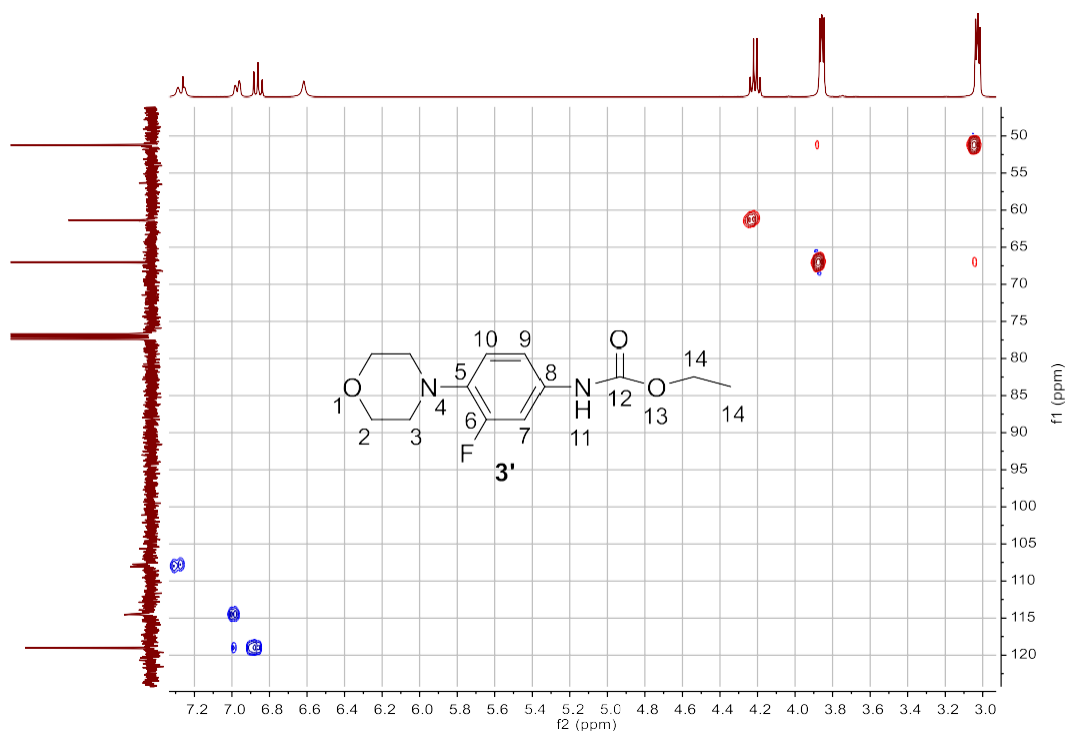


Figura 44. Análisis del HSQC del compuesto **3'** en CDCl_3 .

En el espectro de HMBC (Figura 45) del compuesto **3'** se observan las correlaciones ^1H - ^{13}C a dos y tres enlaces. El multiplete en 3.86 ppm H-2 correlaciona con C-2 y C-3 en 67.1 y 51.8 ppm, respectivamente. Por su parte, el multiplete en 3.03 ppm H-3 correlaciona con C-2, C-3 y la señal en 135.8 ppm asignado como C-5. El doble de dobles en 6.97 ppm H-9 correlaciona con C-5 y C-7. El doble de dobles que se observa como triplete en 6.87 ppm H-10 correlaciona con C-5, 133.3 y 135.7 ppm correspondientes a los carbonos ipso al nitrógeno y al flúor y asignados como C-8, C-6, respectivamente. El cuarteto en 4.22 ppm H-14 correlaciona con C-8, C-15 y con 153.7 correspondiente al carbonilo del carbamato C-12. Finalmente, el doblete en 7.27

ppm H-7 y el singulete en 6.51 ppm H-11 no presentaron correlación con ninguna otra señal por el efecto combinado del carbamato y el flúor.

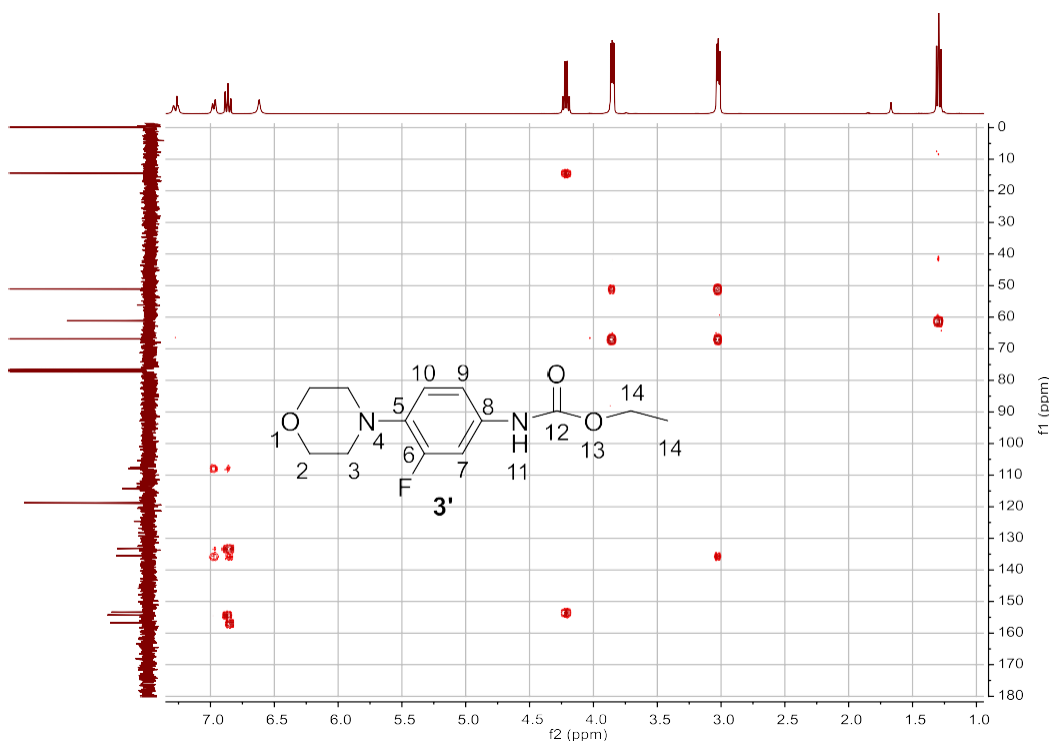


Figura 45. Análisis del HMBC del compuesto **3'** en CDCl_3 .

En el espectro de EMIE de **3'** (Figura 46) se observa el ion molecular que a su vez es el pico base en 268 m/e correspondiente al peso molecular del compuesto. Se observa un fragmento en 240 m/e correspondiente a un reordenamiento de McLafferty entre los hidrógenos del etilo del carbamato y el carbonilo que genera posteriormente el fragmento 222 m/e por la pérdida de H_2O del ácido carboxílico. El segundo fragmento más abundante se genera por la ruptura típica del anillo de la morfolina generando el fragmento 210 m/e y a partir del cual se generan el resto de los fragmentos más abundantes 195, 182, 164 y 137 m/e debidos a un reordenamiento de McLafferty y rupturas alfa y beta al carbonilo del carbamato.

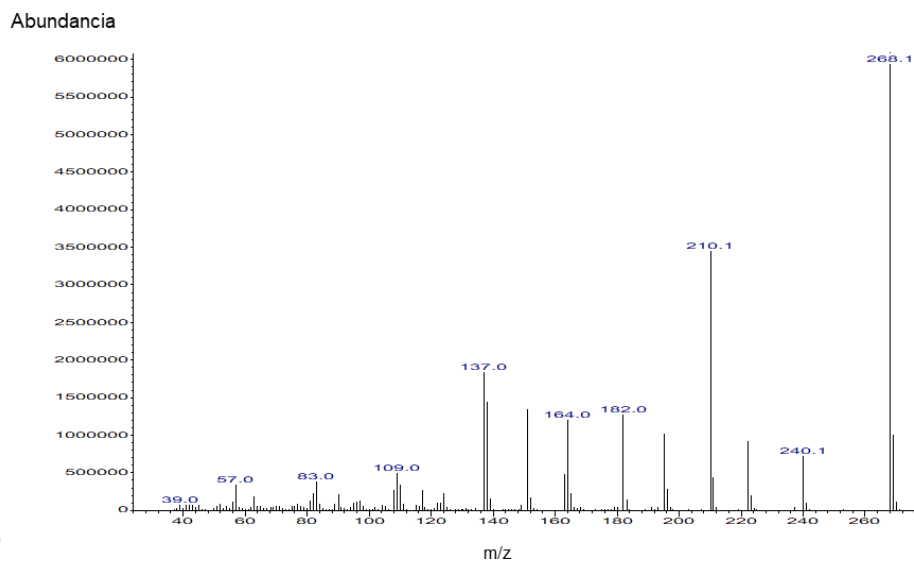
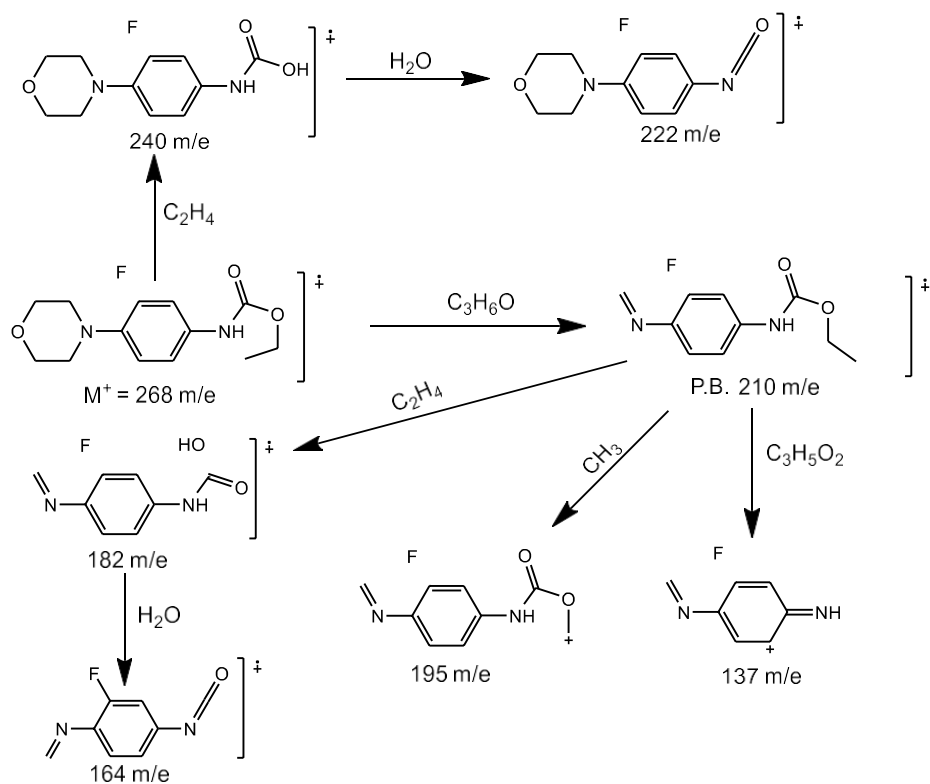


Figura 46. Patrón de fragmentación y espectro de EMIE del compuesto 3'.

4.1.4. Síntesis y caracterización (*R*)-3-(3-fluoro-4-morfolinofenil)-5-(hidroximetil)oxazolidin-2-ona (**4**).

Para la obtención del compuesto **4** se hizo reaccionar el compuesto **3'** en THF a $-77\text{ }^{\circ}\text{C}$ con n-BuLi para la formación de un intermedio de reacción que facilita el ataque nucleofílico del grupo epóxido del butirato de glicidilo al carbonilo del carbamato. El rendimiento de la reacción fue de un 50%.

En el espectro de FTIR de **4** (Anexo 4) se observa la banda de estiramiento O-H en 3397 cm^{-1} y la banda de estiramiento en 1732 cm^{-1} del C=O del ciclo de oxazolidinona. Estas vibraciones confirman la formación de este grupo funcional en la molécula. Entre 3100 y 2800 cm^{-1} se observan las bandas vibracionales de estiramiento C-H aromático y alifático. En 1515 cm^{-1} el estiramiento C=C aromático, en 1418 cm^{-1} la vibración del estiramiento C-F, en 1331 cm^{-1} la banda de vibración del enlace C-N y en 1227 y 1174 cm^{-1} las bandas de estiramiento C-O.

En el espectro de RMN- ^1H del compuesto **4** (Figura 47) se observa en 7.43 ppm un doble de dobles con una $J = 14.4\text{ Hz}$ y 2.6 Hz que integra para un hidrógeno asignado al hidrógeno H-2'. En 7.11 ppm se aprecia un doble de dobles de dobles con $J = 14.4, 9.0$ y 1.6 Hz que integra para el hidrógeno asignado como H-6'. En 6.91 ppm se encuentra un pseudotriplete que integra para un hidrógeno con $J = 9.0\text{ Hz}$ asignado a H-5'. Las señales H-2', H-5' y H-6' presentan una constante de $14.4, 9.0$ y 1.6 Hz las cuales se deben a un acoplamiento con el F del grupo arilo tipo orto, meta y para, respectivamente. En 4.73 ppm se observa un multiplete que integra para un hidrógeno correspondiente al metino de la oxazolidinona asignado como H-5. En 3.96 ppm se observa un multiplete que integra para uno de los hidrógenos del metileno diasterotópico del anillo de oxazolidinona y al metileno unido al hidroxilo, asignados como H-4a y H-6, respectivamente. En 3.74 ppm se observa un multiplete que integra para un hidrógeno correspondiente al hidrógeno del metileno diasterotópico del anillo de oxazolidinona restante H-4b. En 3.86 y 3.03 ppm se observan dos multipletes que integran ambos para cuatro hidrógenos correspondientes a H-9' y H-8' del anillo de

morfolina, respectivamente. Finalmente, en 2.96 se observa un multiplete que integra para un hidrógeno correspondiente al hidroxilo.

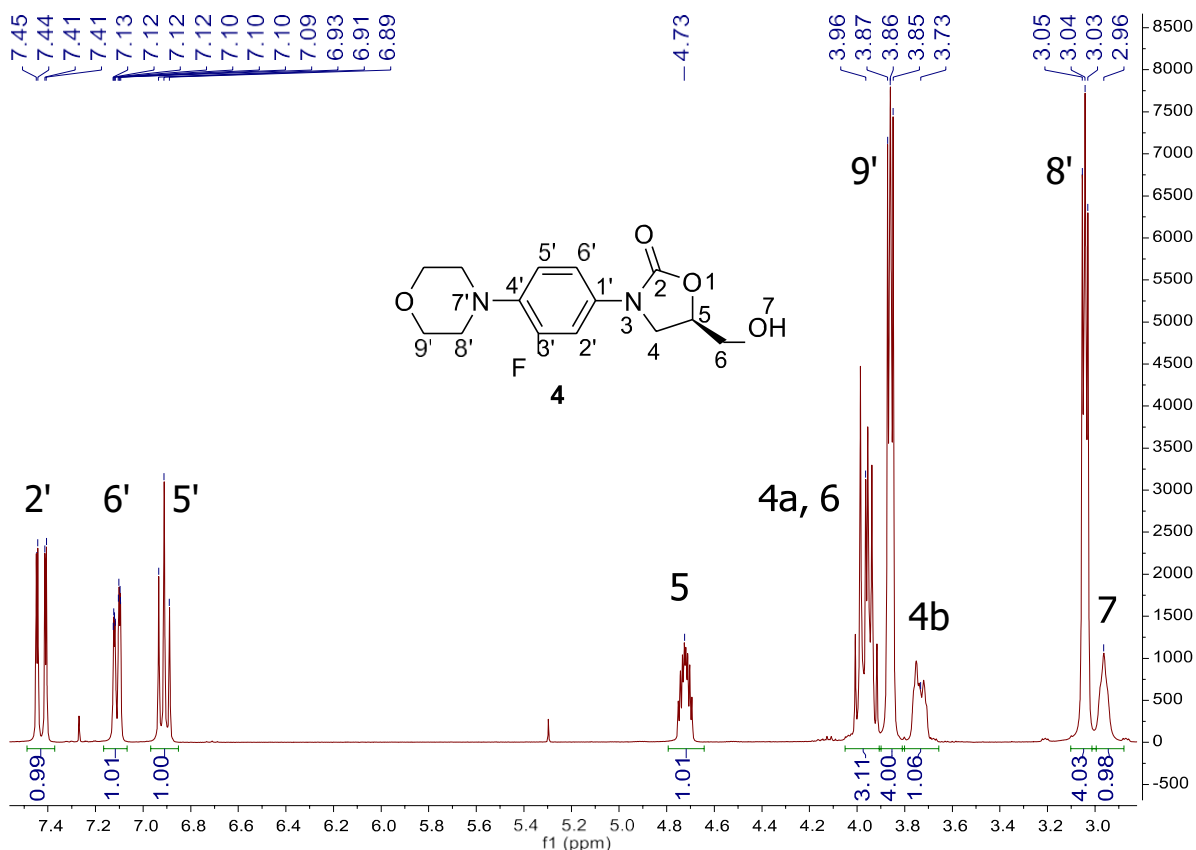


Figura 47. Espectro de RMN- ^1H del compuesto **4** en CDCl_3 .

El análisis bidimensional ^1H -COSY se realizó para confirmar la asignación de las señales correspondientes a los hidrógenos de la oxazolidinona. En el espectro de ^1H -COSY de **4** (Figura 48) se observa la correlación del hidrógeno H-6' en 7.11 ppm con los hidrógenos H-2' y H-5' en 7.43 y 6.91 ppm, respectivamente. Además, existe una correlación entre las señales de los hidrógenos del metino H-5 en 4.73 ppm con los hidrógenos diastereotópicos H-4a y H-4b del metileno en 3.96 y 3.74 ppm, respectivamente. También se observa correlación entre el H-5 con los hidrógenos del metileno H-6.

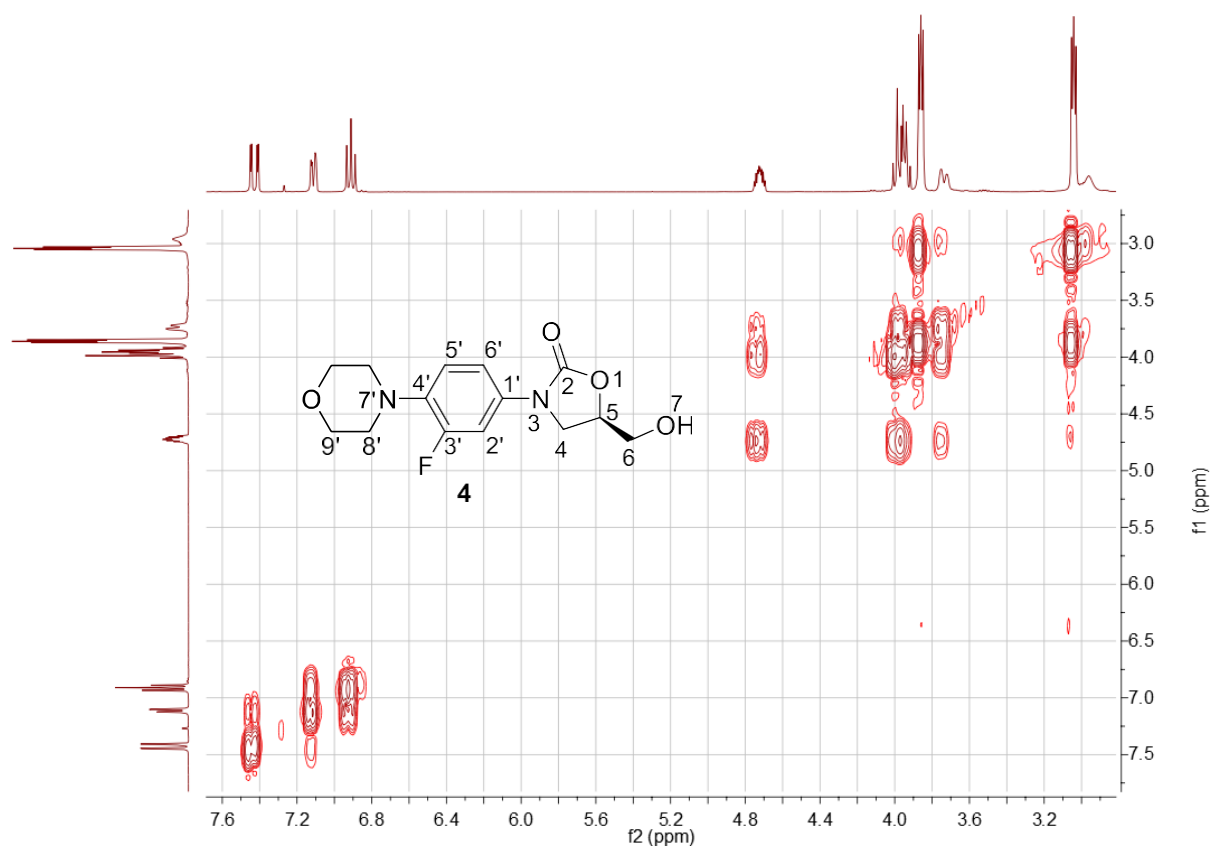


Figura 48. Espectro de RMN ^1H -COSY de **4** en CDCl_3 .

En el espectro de RMN- ^{13}C del compuesto **4** (Figura 49) se observa en 155.9 ppm un doblete correspondiente al carbono ipso al flúor con $J_{\text{C-F}} = 246.1$ Hz asignado como C-3' con base al acoplamiento mostrado en el compuesto **1**. En 154.8 ppm se observa el carbono de carbonilo del ciclo de oxazolidinona C-2. En 136.4 ppm un doblete con $J_{\text{C-F}} = 9.1$ Hz, en 133.2 ppm un doblete con $J_{\text{C-F}} = 10.4$ Hz, en 118.9 ppm un doblete con $J_{\text{C-F}} = 4.3$ Hz, en 114.0 ppm un doblete con una $J_{\text{C-F}} = 3.3$ Hz, en 107.5 ppm un doblete con una $J_{\text{C-F}} = 26.4$ Hz. Las señales antes mencionadas se asignaron como C-4', C-1', C-5', C-6', C-2' con base al tipo de acoplamiento C-F y las constantes de acoplamiento de los compuestos previos. En 73.0 ppm se observó una señal correspondiente al carbono del metino del ciclo de oxazolidinona C-5. En 67.0 ppm se observa la señal correspondiente a los metilenos unidos al oxígeno del anillo de la

morfolina asignados como C-9'. En 62.7 ppm se observa la señal correspondiente al metileno del hidroxilo asignado como C-6. En 51.0 ppm se observa un doblete con $J_{C-F} = 3.0$ Hz de los metilenos unidos al nitrógeno de la morfolina asignados como C-8'. Finalmente, en 46.4 ppm se observa una señal correspondiente al metileno del ciclo de oxazolidinona asignada como C-4.

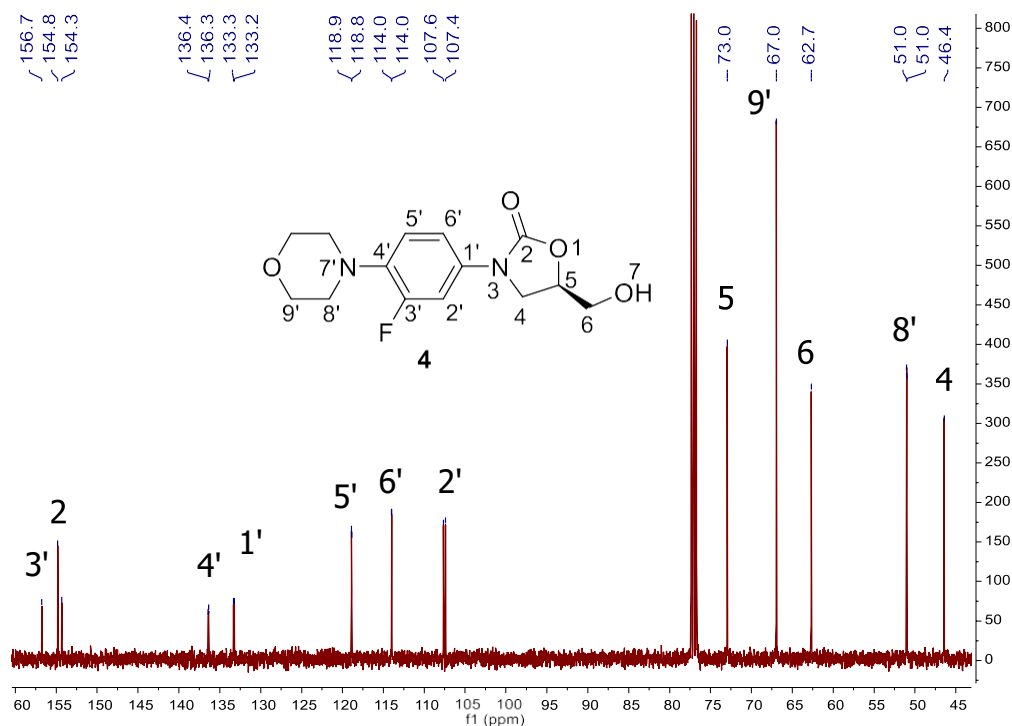


Figura 49. Espectro de RMN- ^{13}C del compuesto **4** en CDCl_3 .

El análisis bidimensional HSQC del compuesto **4** se realizó para analizar las correlaciones ^1H - ^{13}C a un enlace con la finalidad de asignar inequívocamente las señales del fragmento de oxazolidinona. En el espectro (Figura 50) el multiplete en 3.96 ppm y el doblete en 3.78 ppm presentan correlación con el C-4 en 62.7 ppm asignado al metileno diasterotópico de la oxazolidinona y a su vez, el multiplete en 3.96 ppm correlaciona con C-6 en 46.4 ppm correspondiente al metileno de hidroxilo.

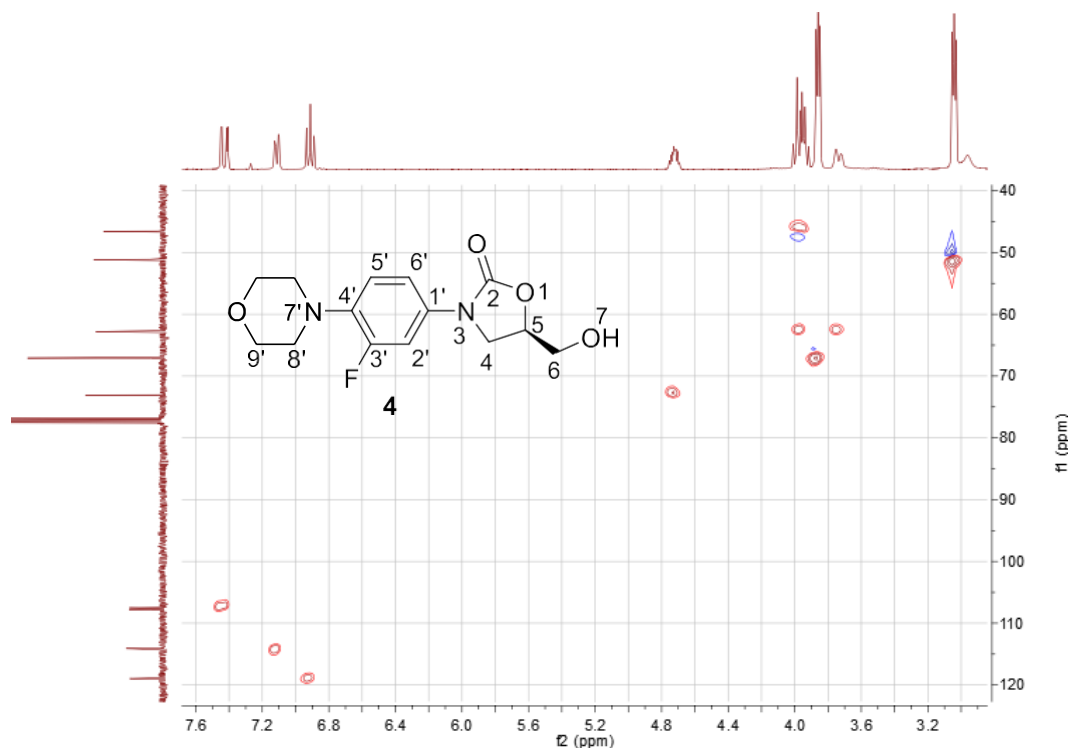


Figura 50. Espectro HSQC del compuesto **4** en CDCl_3 .

En el espectro de EMIE de **4** se observó el ion molecular y el pico base en 296 m/e correspondiente al peso molecular del compuesto. Se observa un fragmento en 238 m/e que se genera por la ruptura típica del anillo de la morfolina que posteriormente mediante una ruptura beta al arilo en el nitrógeno de oxazolidinona y alfa al carbonilo se genera el fragmento 164 m/e .

4.1.5. Síntesis y caracterización (*R*)-[*N*-3-(3-fluoro-4-morfolinilfenil)-2-oxo-5-oxazolidinil] metanosulfonato de metilo (**5**).

La síntesis del compuesto **5** se realizó haciendo reaccionar el compuesto **4** en DCM a 0 °C con TEA para permitir la sustitución del grupo hidroxilo por un grupo metanosulfonato mediante una sustitución nucleofílica empleando cloruro de metanosulfonilo. El rendimiento de la reacción fue de un 98%.

En espectro de RMN- ^1H del compuesto **5** (Figura 51) se observa en 7.50 ppm un doble de dobles con $J = 15.0$ Hz y 2.4 Hz que integra para el hidrógeno asignado como H-2'. En 7.21 ppm se observa un doble de dobles con $J = 9.1$, 2.4 Hz que integra para el hidrógeno asignado como H-6'. En 7.07 ppm se encuentra un pseudotriplete con $J = 9.1$ Hz que integra para el hidrógeno H-5'. En 4.99 ppm se aprecia un multiplete que integra para el hidrógeno correspondiente al metino del ciclo de oxazolidinona asignado como H-5. En 4.48 ppm un multiplete que integra para los dos hidrógenos del metileno asignado como H-6. En 4.16 y 3.80 ppm se observan un triplete con una $J = 9.3$ Hz y un doble de dobles con $J = 9.3$, 6.2 Hz que integran para los hidrógenos del metileno diasterotópico del anillo de oxazolidinona H-4a, H-4b. En 3.78 y 2.97 ppm se observan dos multipletes que integran ambos para cuatro hidrógenos correspondientes a H-9' y H-8' del anillo de morfolina, respectivamente. Finalmente, en 3.24 se observa un singulete que integra para tres hidrógenos correspondiente al metilo del sulfonato asignado como H-7.

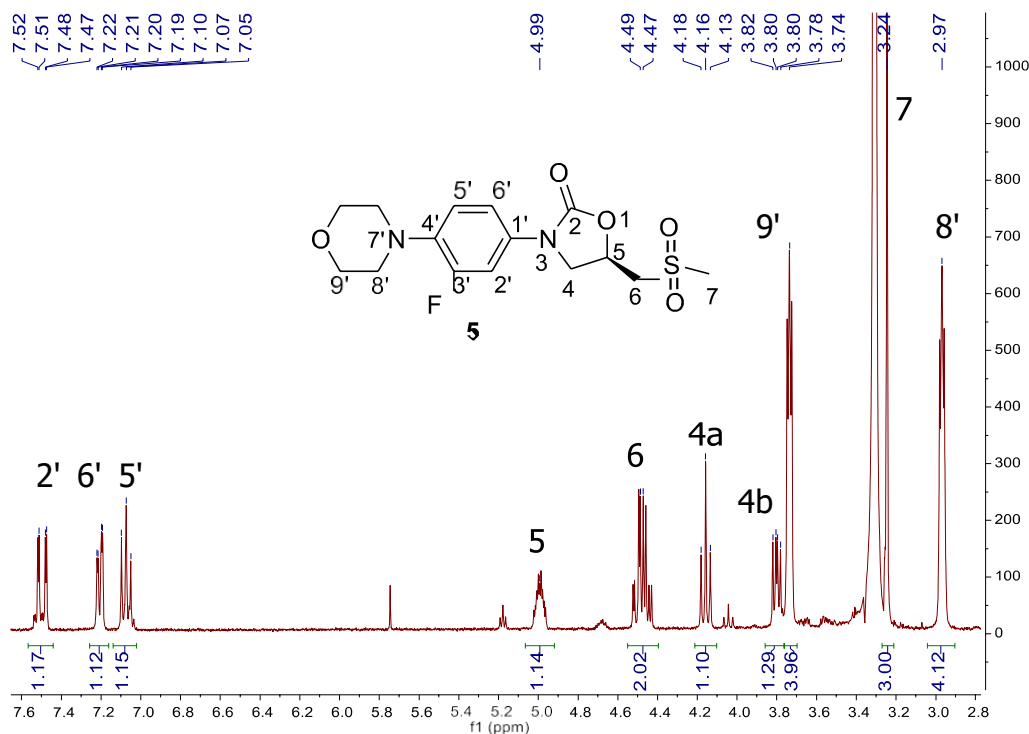


Figura 51. Espectro de RMN- ^1H del compuesto **5** en $\text{DMSO-}d_6$.

4.1.6. Síntesis y caracterización (*R*)-[*N*-3-(3-flúor-4-morfolinilfenil)]-5-azidometil-oxazolidin-2-ona (**6**).

El compuesto **6** se obtuvo mediante la reacción de **5** en DMF a 65 °C con azida de sodio para sustituir del grupo metanosulfonato mediante una sustitución nucleofílica. El rendimiento de la reacción fue 25%.

En espectro de RMN-¹H de **6** (Figura 52) muestra señales en 7.44, 7.12 y 6.93 ppm que se asignaron a H-2', H-6' y H-5', respectivamente. Esto se realizó con base en el desplazamiento químico, multiplicidad y constantes de acoplamiento observados en los compuestos previos. En 4.12 ppm se observa un triplete con una $J = 9.1$ Hz que integra para el hidrógeno H-4a, esta señal correlaciona con un doble de dobles en 3.90 ppm con $J = 9.1, 5.7$ Hz, que corresponde a H-4b. Estas dos señales corresponden al metileno diasterotópico de oxazolidinona. El doble de dobles en 3.77 ppm con $J = 5.2, 2.3$ Hz integra para los dos hidrógenos del metileno de azida. Finalmente, en 3.78 y 2.97 ppm se observan dos multipletes que integran cada uno para cuatro hidrógenos H-9' y H-8' del anillo de morfolina, respectivamente.

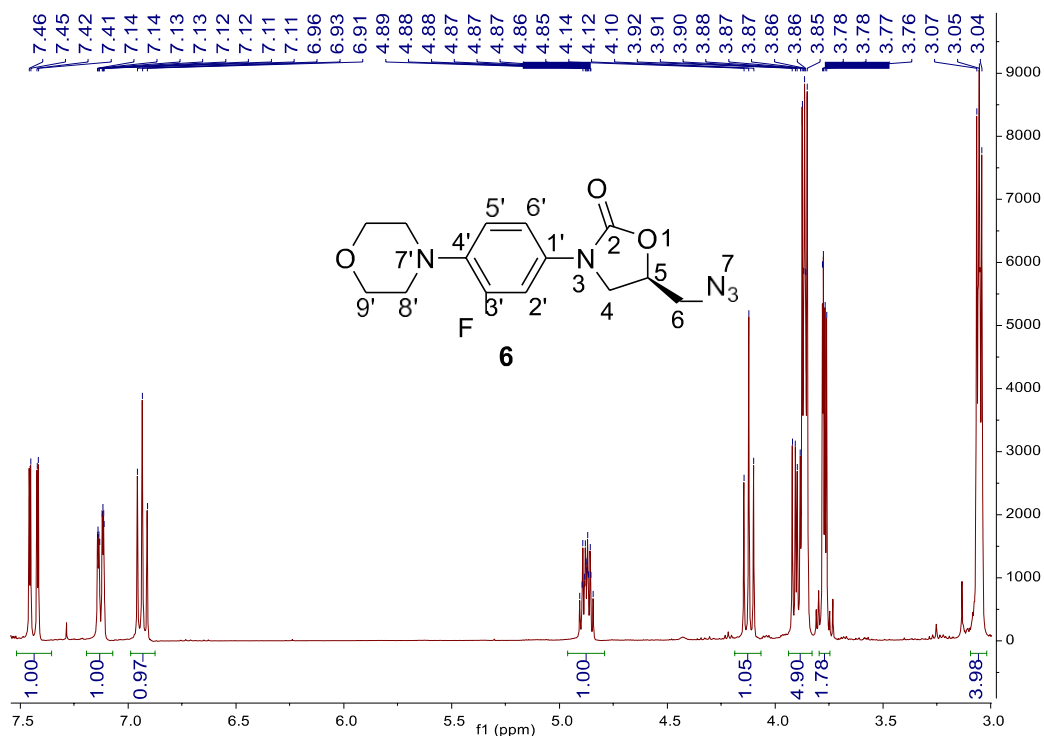


Figura 52. Espectro de RMN-¹H del compuesto **6** en CDCl₃.

En el espectro de RMN-¹³C del compuesto **6** (Figura 53) se observa en 155.5 ppm un doblete correspondiente al carbono ipso al flúor con $J_{C-F} = 246.5$ Hz asignado como C-3'. En 153.8 ppm se observa el carbono de carbonilo de oxazolidinona C-2. En 136.6 ppm se encuentra un doblete con $J_{C-F} = 9.0$ Hz, en 132.9 ppm un doblete con $J_{C-F} = 10.5$ Hz, en 118.9 ppm un doblete con $J_{C-F} = 4.2$ Hz, en 114.0 ppm un doblete con una $J_{C-F} = 3.4$ Hz y en 107.6 ppm un doblete con una $J_{C-F} = 26.3$ Hz, que son asignadas a los carbonos C-4', C-1', C-5', C-6', C-2', respectivamente. En 70.9 ppm se encuentra la señal del carbono del metino C-5 de la oxazolidinona. En 66.9 ppm se observa la señal correspondiente a los metilenos unidos al oxígeno del anillo de la morfolina asignados como C-9'. En 51.0 ppm se observa un doblete con $J_{C-F} = 3.0$ Hz de los metilenos unidos al nitrógeno de la morfolina asignados como C-8'. En 48.2 ppm se observa la señal del metileno de la oxazolidinona asignado como C-4. Finalmente, en 46.4 ppm se observa la señal correspondiente al metileno del azida C-6.

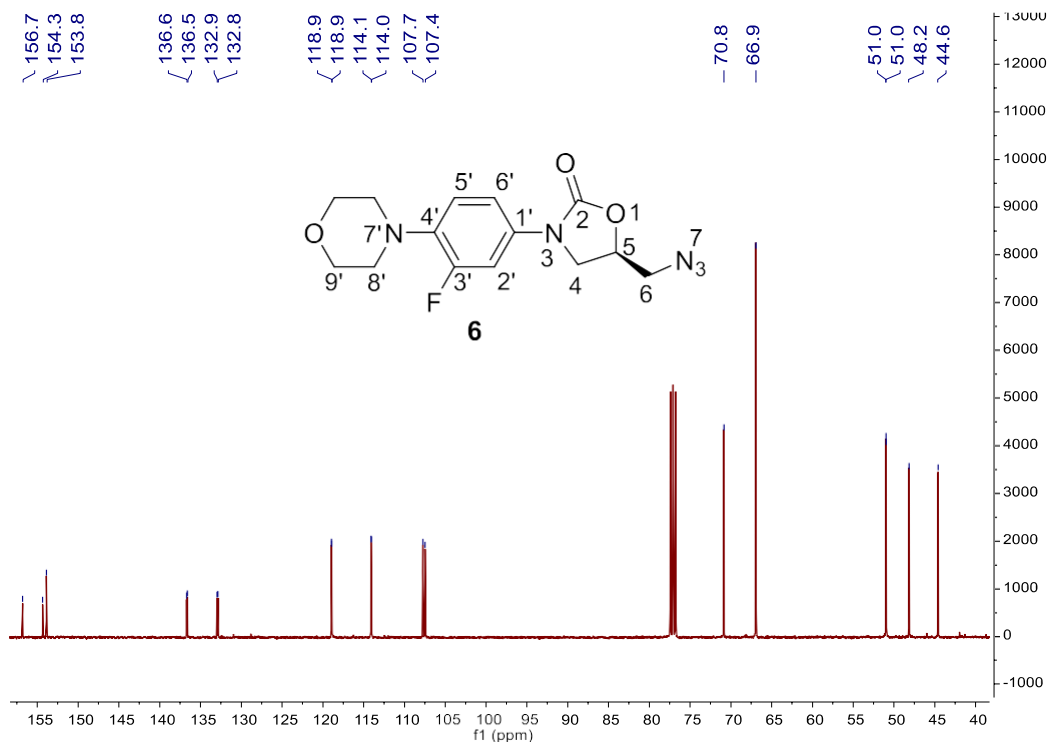


Figura 53. Espectro de RMN- ^{13}C del compuesto **6** en CDCl_3 .

En el espectro de HSQC (Figura 54) se observan las correlaciones ^1H - ^{13}C a un enlace del compuesto **6** las cuales permiten confirmar las asignaciones previamente realizadas destacando la asignación de la oxazolidinona. El multiplete en 4.87 ppm correlaciona con la señal en 70.9 asignada a C-5. El triplete en 4.12 ppm y el doble de dobles en 3.90 ppm correlacionan con la señal en 48.2 ppm, por lo que se asigna al metileno diasterotópico de la oxazolidinona C-4. Por su parte, el doblete en 3.77 ppm correlaciona con la señal en 44.6 ppm y se asigna al metileno de azida C-6.

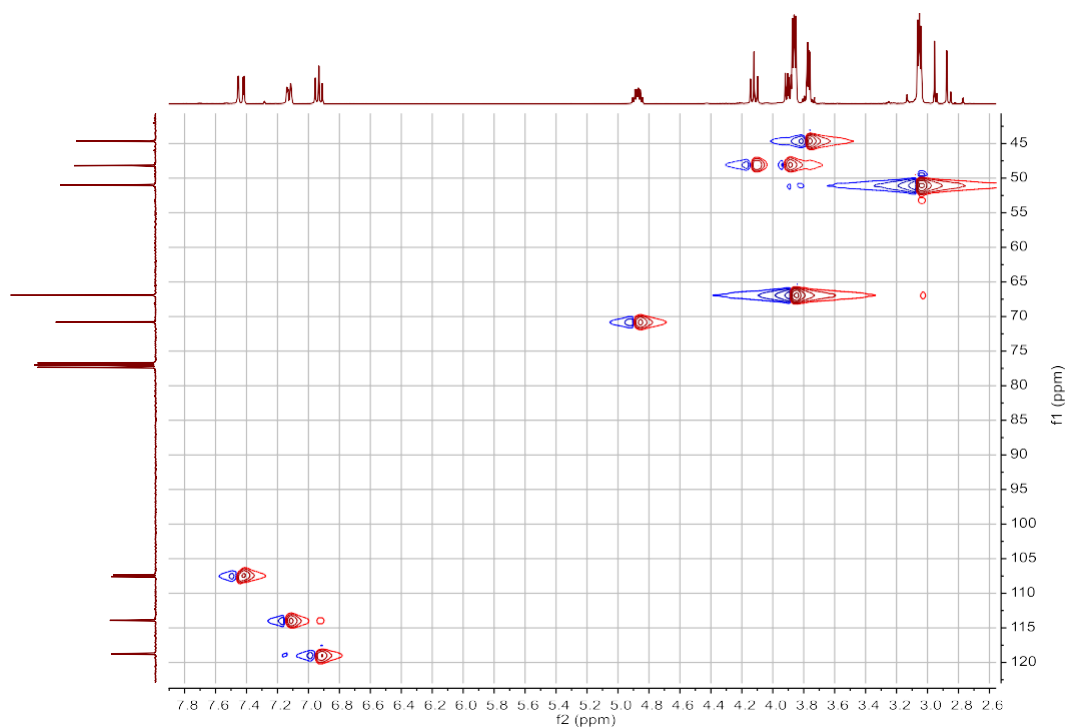


Figura 54. Análisis del HSQC del compuesto **6** en CDCl_3 .

En el espectro de EMIE de **6** (Figura 55) se observa el ion molecular que a su vez es el pico base en 321 m/e correspondiente al peso molecular del compuesto. Se observa un fragmento en 235 m/e correspondiente a la ruptura del fragmento de morfolina, que genera el fragmento en 191 m/e por la pérdida de CO_2 . El fragmento en 209 m/e corresponde a la ruptura del ciclo de oxazolidinona. El fragmento 263 m/e se genera por la ruptura típica del anillo de la morfolina y a partir del cual se generan el resto de los fragmentos más abundantes 151, 150 y 149 debidos a rupturas alfa y beta en el anillo de oxazolidinona.

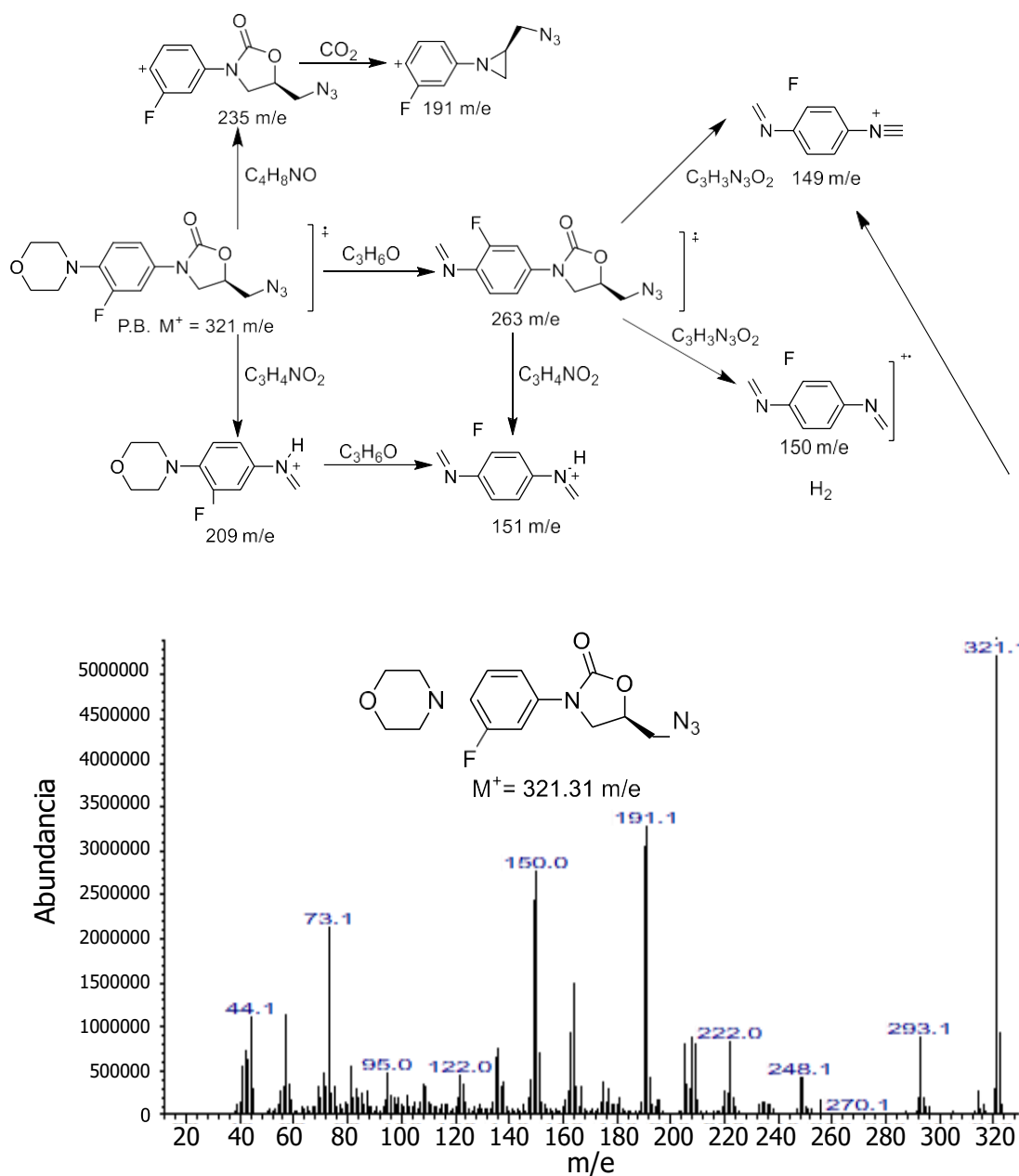


Figura 55. Patrón de fragmentación y espectro de EMIE del compuesto 6.

4.1.7. Síntesis y caracterización (*R*)-[*N*-3-(3-flúor-4-morfolinilfenil)]-5-aminometil-oxazolidin-2-ona (**7**).

La obtención del compuesto **7** se realizó mediante la hidrogenación del compuesto **6** empleando como catalizador Pd/C al 10% en metanol seco en atmósfera de H₂, lo cual permitió la reducción del grupo azida a amina. El producto de la reacción se obtuvo con un rendimiento del 28%.

En el espectro de RMN-¹H de **7** (Figura 56) se observa en 7.36 ppm un doblete que integra para el H-2'. Esta señal presenta acoplamiento *orto* con el F con magnitud $J_1 = 14.4$ Hz y un acoplamiento en *meta* con H-6' en 7.01 ppm con magnitud $J_2 = 2.6$ Hz. A su vez, el hidrógeno H-6' presenta una $J = 8.9, 1.1$ Hz que correlaciona con H-5' en 6.84 ppm y un acoplamiento *para* con el F del grupo arilo, respectivamente. En 4.86 ppm se observa un multiplete que integra para un hidrógeno correspondiente al metino de oxazolidinona asignado como H-5. En 4.07 ppm se observa un triplete que integra para el hidrógeno H-4a con una $J = 9.1$ Hz que correlaciona con el doblete de dobles H-4b en 3.81 ppm con una $J_1 = 9.1$ Hz correspondientes al metileno diasterotópico de oxazolidinona. En 3.73 ppm se observa un multiplete que integra para seis hidrógenos correspondientes al metileno de azida y los metilenos de morfolina, H-6 y H-9'. Finalmente, en 2.97 ppm se observan un multiplete que integran para cuatro hidrógenos correspondientes a H-8' del anillo de morfolina.

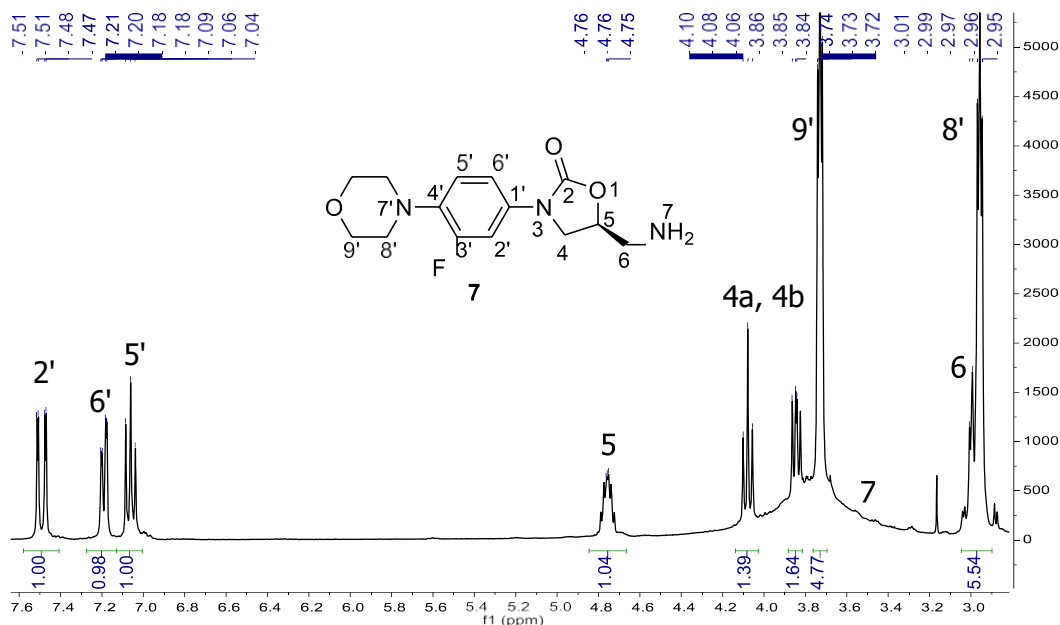


Figura 56. Espectro de RMN-¹H del compuesto **7** en DMSO-*d*₆.

En el espectro de RMN-¹³C del compuesto **7** (Figura 57) se observa en 153.6 ppm un doblete correspondiente al carbono ipso al flúor con $J_{C-F} = 243.9$ Hz asignado como C-3'. En 154.0 ppm se observa el carbono de carbonilo de oxazolidinona C-2. En 135.5 ppm se encuentra un doblete con $J_{C-F} = 8.9$ Hz, en 133.4 ppm un doblete con $J_{C-F} = 10.5$ Hz, en 119.2 ppm un doblete con $J_{C-F} = 4.3$ Hz, en 114.2 ppm un doblete con una $J_{C-F} = 3.1$ Hz y en 106.7 ppm un doblete con una $J_{C-F} = 26.1$ Hz, que son asignadas a los carbonos C-4', C-1', C-5', C-6', C-2', respectivamente. En 72.0 ppm se encuentra la señal del carbono del metino C-5 de la oxazolidinona. En 66.1 ppm se observa la señal correspondiente a los metilenos unidos al oxígeno del anillo de la morfolina asignados como C-9'. En 50.7 ppm se observa un doblete con $J_{C-F} = 3.0$ Hz de los metilenos unidos al nitrógeno de la morfolina asignados como C-8'. En 47.2 ppm se observa la señal del metileno de la oxazolidinona asignado como C-4. Finalmente, en 43.0 ppm se observa la señal correspondiente al metileno del amino C-6.

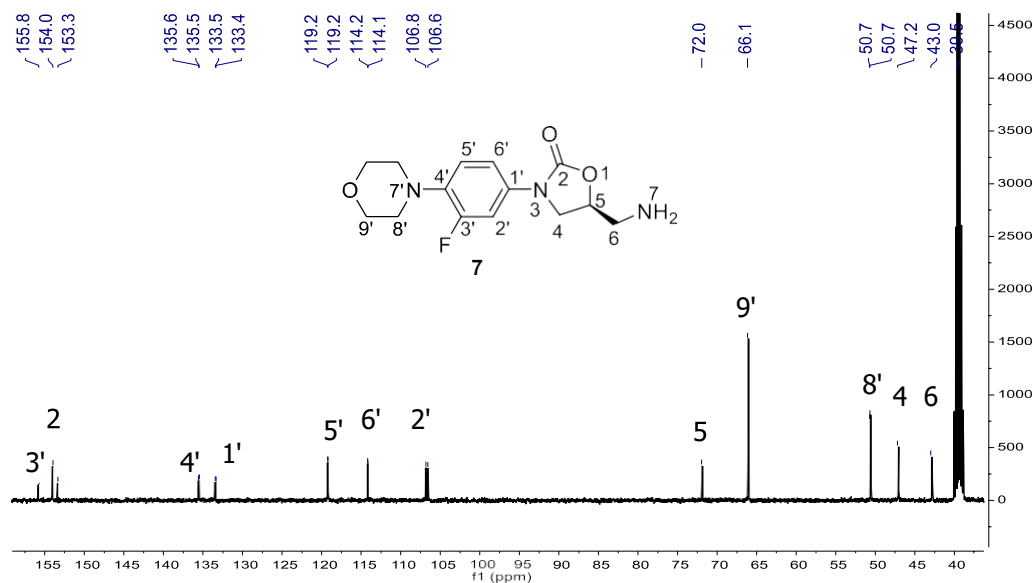


Figura 57. Espectro de RMN-¹H del compuesto **7** en DMSO-*d*₆.

En el espectro de EMIE de **7** (Figura 58) se observa el ion molecular que a su vez es el pico base en 295 m/e correspondiente al peso molecular del compuesto. Se observa un fragmento en 209 m/e correspondiente a la ruptura del fragmento de morfolina. El fragmento en 209 m/e corresponde a la ruptura del ciclo de oxazolidinona. El fragmento 237 m/e se genera por la ruptura típica del anillo de la morfolina y a partir del cual se generan el resto de los fragmentos más abundantes 151, 150 y 149 debidos a rupturas alfa y beta en el anillo de oxazolidinona.

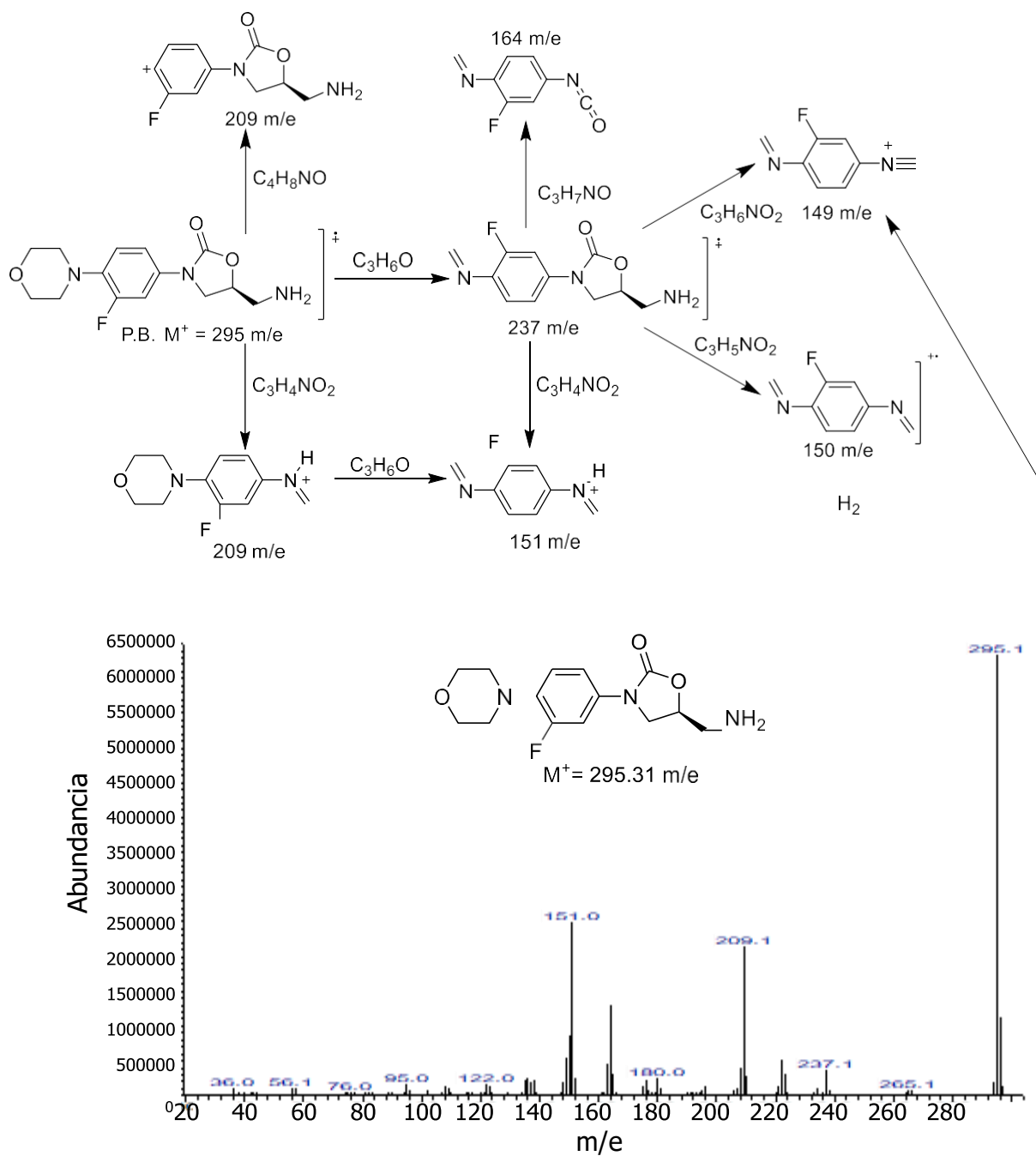


Figura 58. Patrón de fragmentación y espectro de EMIE del compuesto 7.

4.2 Síntesis y caracterización de MWCNT por nebulización pirolítica.

La obtención de los nanotubos de carbono de pared múltiple se realizó por la técnica de nebulización pirolítica la cual ofrece grandes ventajas como son producción en masa alta, tiempos de síntesis cortos y rendimientos altos con respecto a otras técnicas como ablación láser, métodos hidrotermales y solvotermales, etc.

En esta síntesis se estudió el efecto de la concentración con respecto al diámetro promedio de los nanotubos de carbono, los cuales se caracterizaron por RAMAN, TGA y SEM.

Se utilizó la metodología con mejores resultados reportada por Moreno Valle-Ramírez,⁵⁷ variando las concentraciones de 0.2 y 0.1 M de ferroceno en 6 mL de tolueno, manteniendo constante la longitud del tubo de cuarzo de 41 cm, la temperatura del horno en 850 °C, un flujo de argón moderado y una velocidad de flujo de 6 mL/h, obteniendo los nanotubos MWCNT-2 y MWCNT-1, respectivamente.

Al realizar el análisis de las imágenes obtenidas mediante SEM de los MWCNT-2 (Figura 59 A) y MWCNT-1 (Figura 59 B), se observa un diámetro promedio de 139.4 nm y 130.4 nm, respectivamente. Aparentemente se obtienen nanotubos de diámetro menor al disminuir la concentración del catalizador. Los histogramas obtenidos a partir del análisis de las imágenes SEM mostraron una monodispersidad aceptable para ambas muestras. Por otra parte, la longitud de los nanotubos fue similar independientemente de la concentración empleada en la síntesis con un valor de 121 μm .

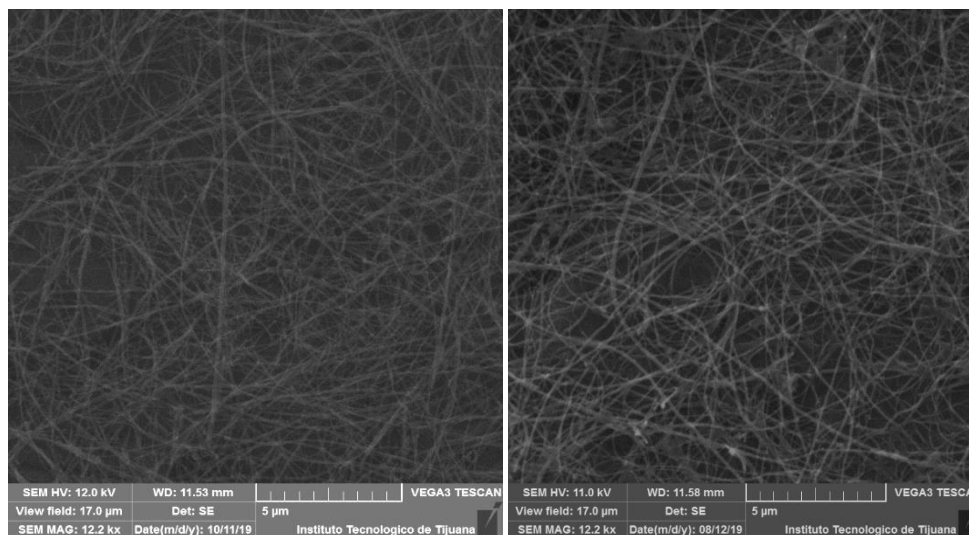


Figura 59. Imágenes SEM de las muestras A) MWCNT-2 y B) MWCNT-1.

La caracterización por espectroscopia RAMAN de los nanotubos MWCNT-2 y MWCNT-1 mostraron las bandas características de estos nanomateriales en 1318 cm^{-1} , 1585 cm^{-1} y 2621 cm^{-1} , correspondiente a las bandas D, G y G', respectivamente (Figura 60). La banda G está relacionada con el grado de grafitización u orden del material y la presencia de átomos de carbono con hibridación sp^2 , la banda G' también está relacionada con el orden y la cristalinidad. Por otra parte, la banda D está relacionada con la cantidad de desorden o defectos y presencia de átomos de carbono con hibridación sp^3 . A partir de la relación de intensidad entre la banda D/G se obtiene un valor que relaciona el desorden y orden del nanotubo de carbono, mientras que la relación de intensidades G'/G nos muestra el grado de cristalinidad del nanomaterial. Los valores de las relaciones D/G de las muestras MWCNT-2 y MWCNT-1 fueron 0.827 y 0.712, respectivamente. A su vez, los valores de las relaciones G'/G fueron de 1.349 y 1.401, lo cual es consistente con los reportados por Ochoa-Terán y colaboradores.⁷⁸

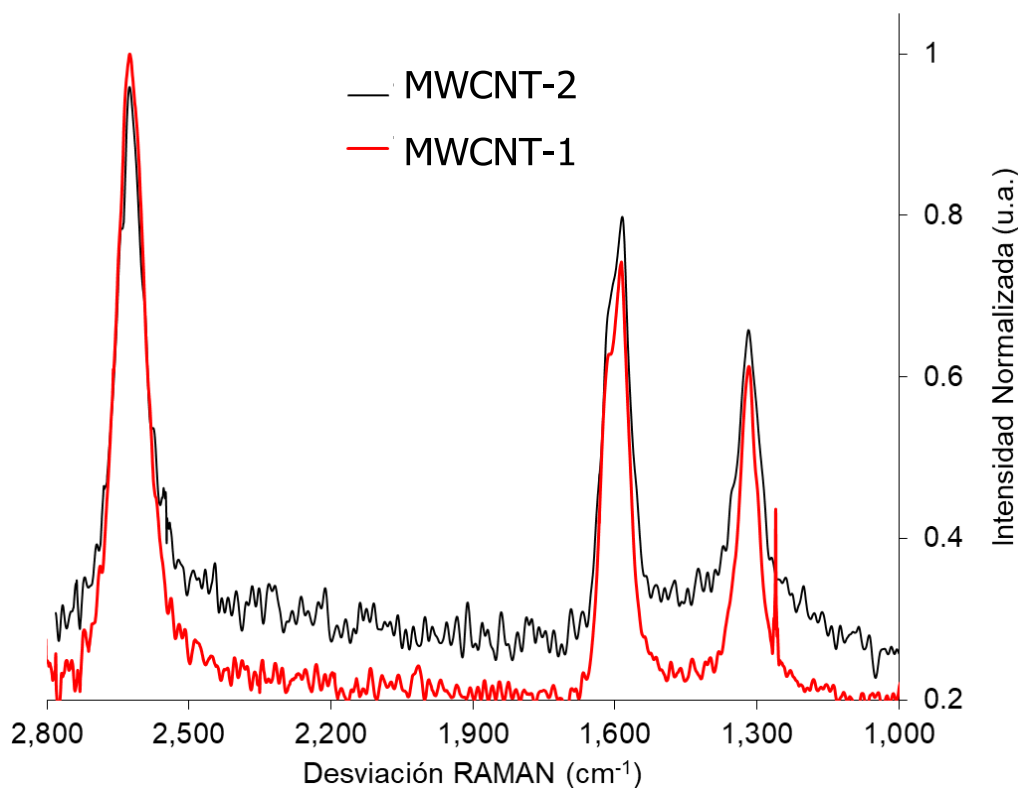


Figura 60. Espectros RAMAN de MWCNT-2 y MWCNT-1.

4.3 Oxidación y caracterización de MWCNT.

La oxidación de los MWCNT-2 y MWCNT-1 se utilizó siguiendo la metodología reportada por Moreno Valle-Ramirez.⁵⁷ Estas condiciones fueron 50 mg de CNT en ácido nítrico concentrado con agitación constante, a reflujo durante un periodo de 8 h, obteniéndose los nanotubos oxidados Ox-MWCNT-2 y Ox-MWCNT-1.

Las muestras Ox-MWCNT-2 y Ox-MWCNT-1 mostraron una disminución significativa en el diámetro y longitud de los nanotubos, lo cual se observó mediante SEM. El diámetro promedio de los Ox-MWCNT-2 y Ox-MWCNT-1 fueron de 117.8 nm y 105.6 nm, respectivamente (Figura 61).

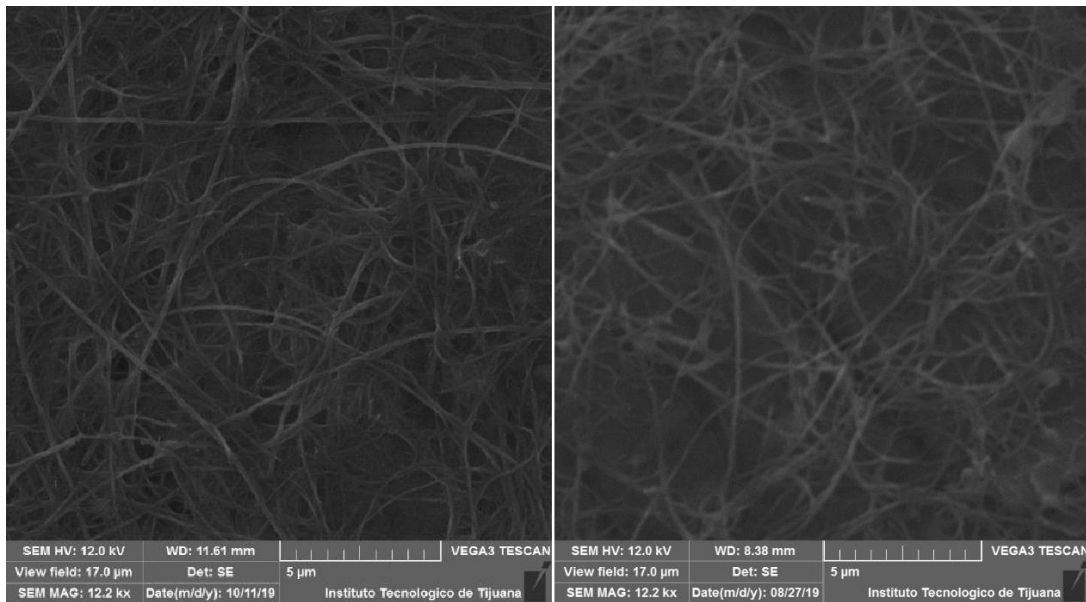


Figura 61. Imágenes SEM de nanotubos oxidados A) Ox-MWCNT-2 y B) Ox-MWCNT-1.

Los espectros de RAMAN de los MWCNT después de la oxidación (Figura 62) presentaron cambios considerables en la intensidad de sus bandas características, observándose una disminución de la banda G y G' y un aumento para la banda D. Lo anterior se explica debido a que en el tratamiento oxidante con ácido nítrico se generan grupos carboxilo, hidroxilo y epóxido sobre la superficie de los nanotubos mediante la ruptura de capas de grafeno, lo que conlleva a un aumento del desorden o mayor número de carbonos sp^3 . La relación D/G de los Ox-MWCNT-2 y Ox-MWCNT-1 fue 0.893 y 0.870, respectivamente; siendo mayores a los de los MWCNT prístinos.

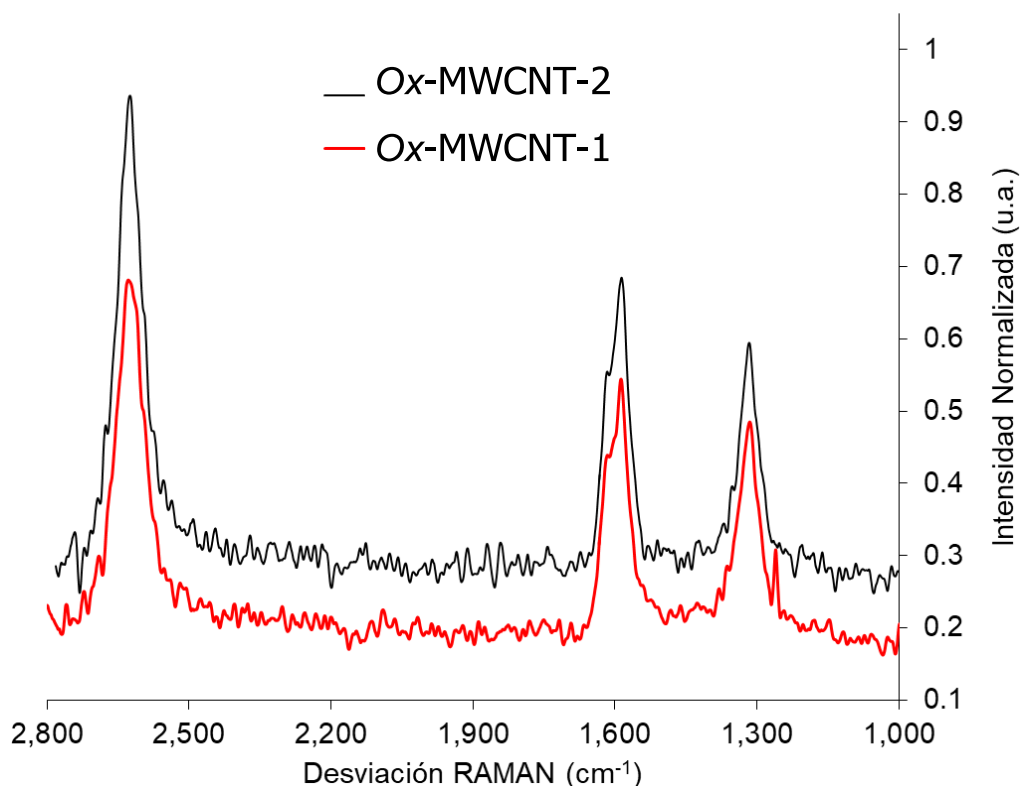


Figura 62. Espectros RAMAN de Ox-MWCNT-2 y Ox-MWCNT-1.

En el análisis termogravimétrico de los nanotubos antes de oxidar se observó la pérdida típica de los MWCNT alrededor de los 650 °C y un residuo metálico de Fe del 12.7% antes del tratamiento ácido. Por otro parte, habiendo realizado la oxidación se observó una pérdida en peso significativa desde los 150 °C a los 550 °C atribuida a la pérdida de los defectos superficiales o grupos carboxílicos sobre el MWCNT. Con este valor se calculó un grado de funcionalización aproximado de 1.4 $\mu\text{mol/mg}$. Posteriormente, se observó la pérdida en peso característico de los MWCNT y un residuo metálico menor de Fe del 6.8% (Figura 63). Estos valores estimados son importantes debido a que son datos necesarios para las aplicaciones biológicas.^{41-43,47,53}

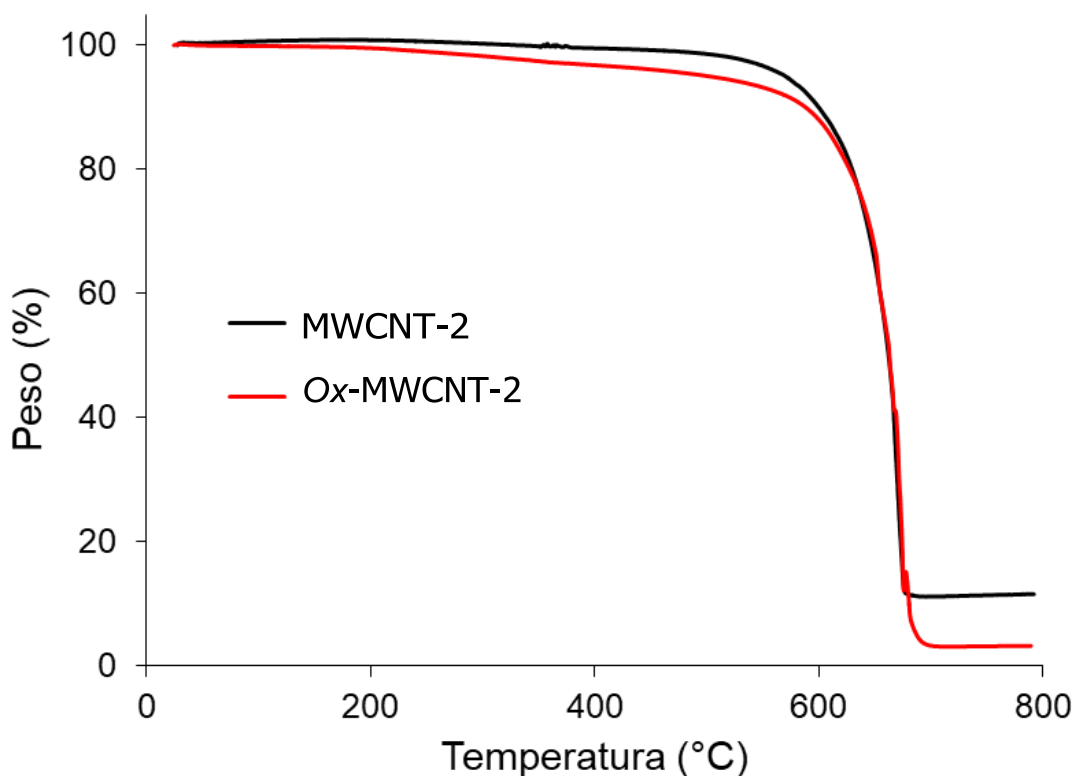


Figura 63. Termograma de los CNT antes y después del tratamiento ácido.

4.4 Funcionalización con espaciadores de longitud variable y caracterización de MWCNT.

En la funcionalización de los Ox-MWCNT-2 y Ox-MWCNT-1 se utilizó la metodología reportada por Moreno Valle-Ramirez.⁵⁷ Los Ox-MWCNT reaccionaron con bromuro de tionilo en THF seco durante 48 h en atmósfera inerte para llevar a la formación de bromuros de acilo sobre la superficie de los MWCNT. Una vez transcurrido el tiempo de reacción se realizaron lavados con THF seco para evitar la regeneración de los ácidos carboxílicos. Inmediatamente después de realizar los lavados se hicieron reaccionar con los espaciadores de longitud variable en THF seco en atmósfera inerte durante un periodo de 12 h. Finalmente, se filtraron los f -MWCNT- E_n -2 y f -MWCNT- E_n -1 con lavados de THF, agua, acetona y se dejaron secar en un horno a 70 °C.

En la Figura 64 y 65 se presentan las imágenes de SEM de los MWCNT-2 y MWCNT-1 oxidados (A), funcionalizados con el espaciador β -alanina (B), con ácido amino valérico (C) y con ácido aminoheptanoico (D). Aquí se observa que la integridad y morfología de los MWCNT se mantiene. Además, se observa un incremento en los diámetros de los MWCNT funcionalizados respecto a los oxidados.

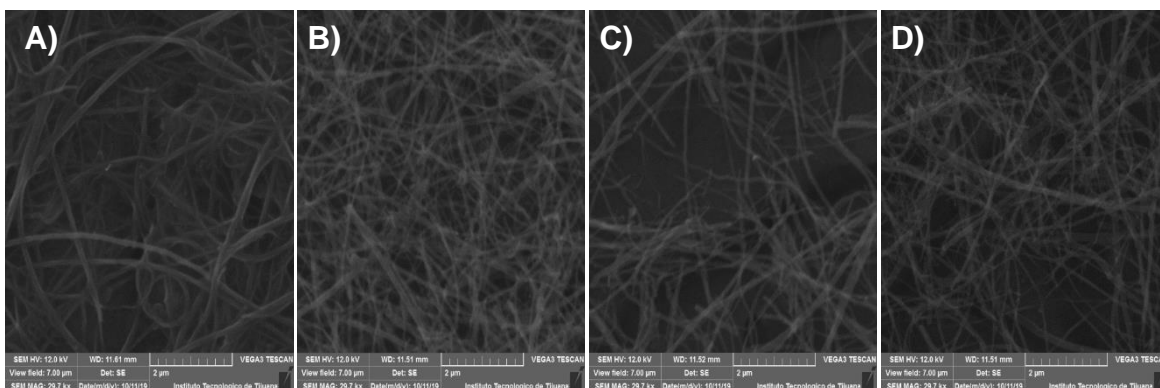


Figura 64. Imágenes SEM de nanotubos A) Ox-0.2, B) f -MWCNT- E_1 -2, C) f -MWCNT- E_2 -2 y D) f -MWCNT- E_3 -2.

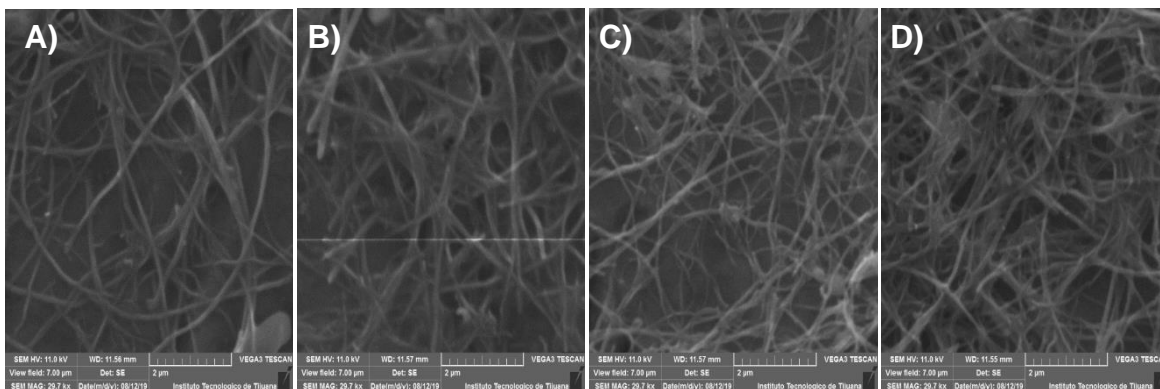


Figura 65. Imágenes SEM de nanotubos A) Ox-0.1, B) f -MWCNT- E_1 -1, C) f -MWCNT- E_2 -1 y D) f -MWCNT- E_3 -1.

En el análisis termogravimétrico de MWCNT-1 funcionalizados muestra que hay un aumento en la pérdida de peso conforme aumenta el tamaño (número de metilenos en la cadena alquílica) de la molécula funcionalizante f -MWCNT- E_1 -1 > f -MWCNT- E_2 -

1> f -MWCNT- E_3 -1>Oxidados>Prístino (Figura 66). Todos los MWCNT muestran pérdidas en peso significativas desde los 150 °C a los 600 °C atribuidas a la pérdida de los defectos superficiales, grupos carboxílicos y de amino ácidos sobre el MWCNT.

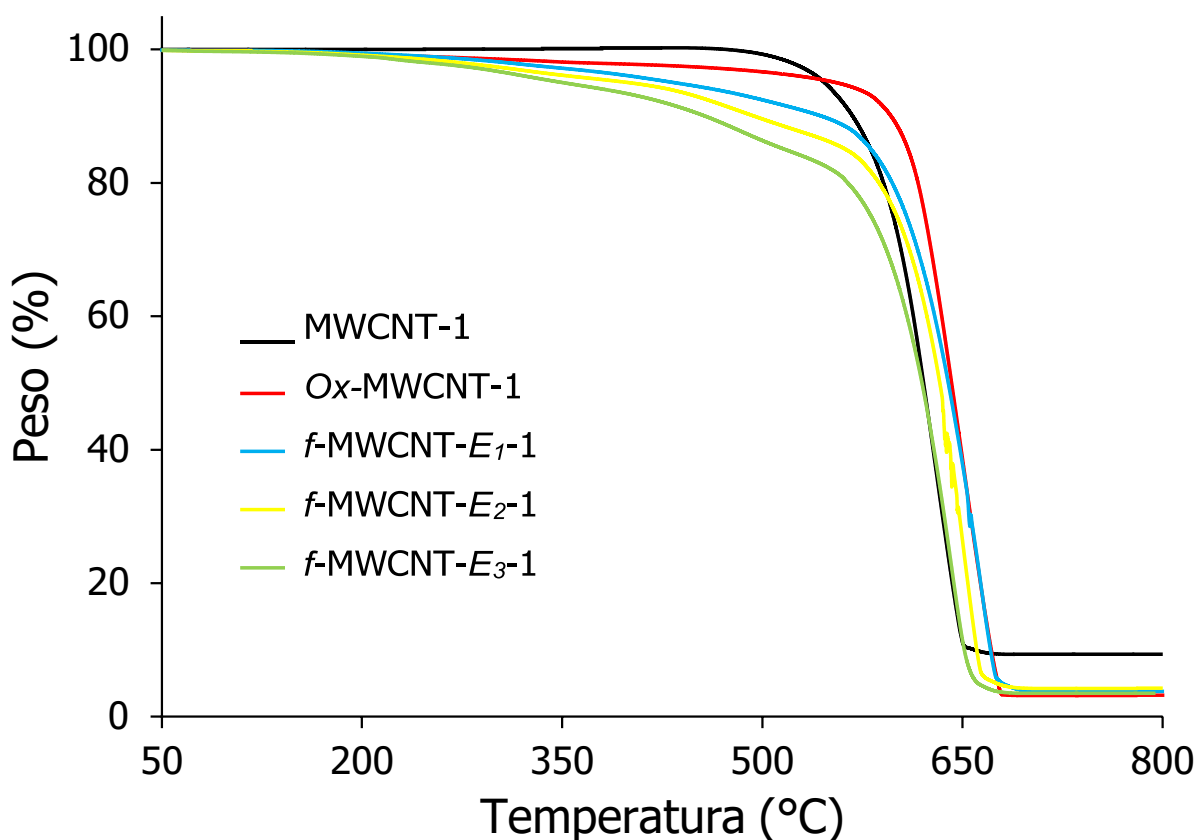


Figura 66. Termogramas de los MWCNT-1 antes y después de la funcionalización con aminoácidos de longitud variable.

En el análisis termogravimétrico de los MWCNT-2 funcionalizados se observó una similitud con la tendencia de la pérdida en peso comparado con los MWCNT-1, mostrando un aumento en la pérdida de peso conforme aumenta el tamaño (número de metilenos en la cadena alquílica) de la molécula funcionalizante f -MWCNT- E_1 -1> f -MWCNT- E_2 -1> f -MWCNT- E_3 -1>Oxidados>Prístino (Figura 67). Todos los MWCNT

muestran pérdidas en peso significativas desde los 150 °C a los 600 °C atribuidas a la pérdida de los defectos superficiales, grupos carboxílicos y de amino ácidos sobre el MWCNT.

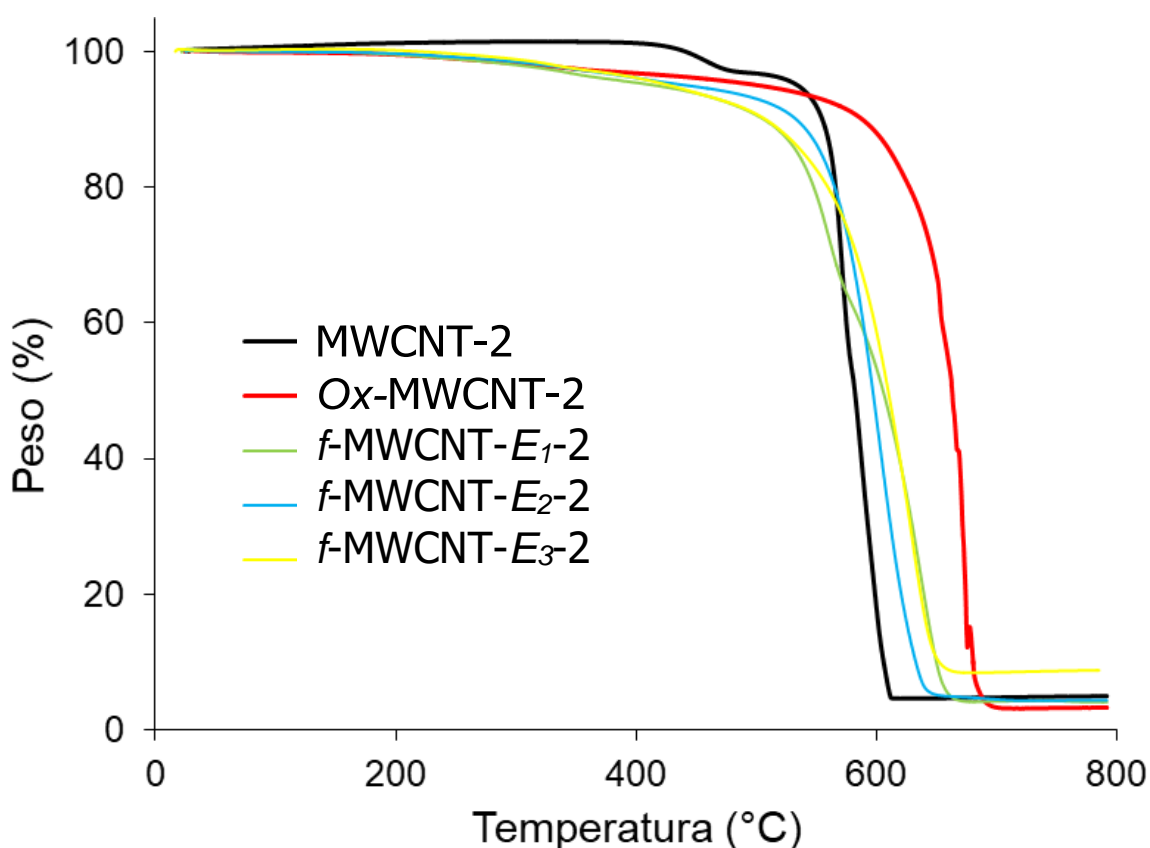


Figura 67. Termogramas de los MWCNT-2 antes y después de funcionalización con aminoácidos de longitud variable.

Los espectros de RAMAN de los MWCNT después de la funcionalización con los espaciadores diferentes presentaron cambios considerables en la intensidad de sus bandas características, observándose un incremento de las bandas D, G y G', pero una disminución en la relación I_D/I_G en comparación con su Ox-MWCNT-# (Figura 68).

Lo anterior se explica debido a que en la funcionalización se incorpora el espaciador sobre los grupos reactivos disminuyendo los defectos superficiales sobre la superficie de los nanotubos, lo que conlleva a un aumento del orden y una cristalinidad mayor. La relación I_D/I_G y I_G/I_G de todos los f -MWCNT- E_n -# se resume en la Tabla 4.

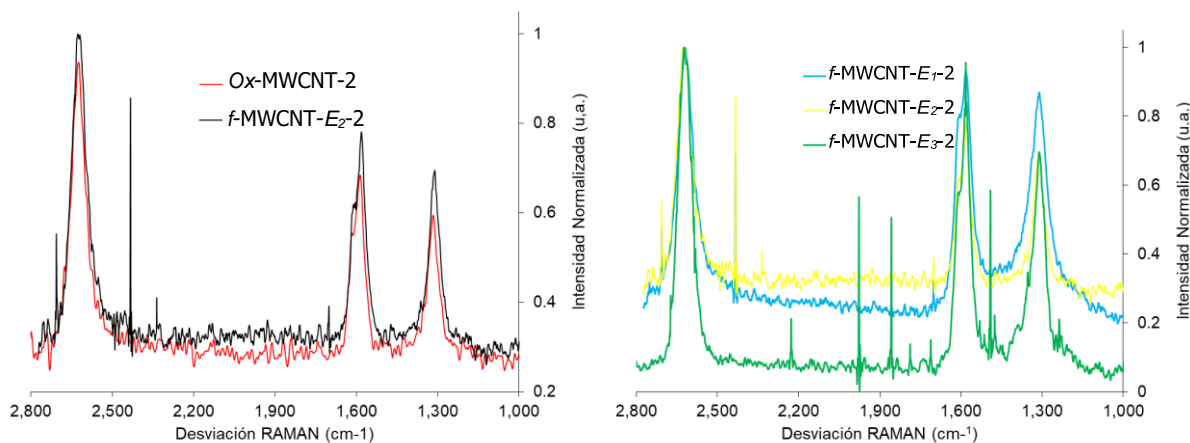


Figura 68. Espectros RAMAN de A) Ox-MWCNT-2 y f -MWCNT- E_2 -2, y B) comparación f -MWCNT- E_n -2.

Tabla 4. Comparación en I_G/I_G y I_D/I_G de lo f -MWCNT- E_n -#.

Muestra	I_G/I_G	I_D/I_G
f -MWCNT- E_1 -1	1.15	0.77
f -MWCNT- E_2 -1	1.30	0.77
f -MWCNT- E_3 -1	1.34	0.73
f -MWCNT- E_1 -2	1.07	0.93
f -MWCNT- E_2 -2	1.28	0.89
f -MWCNT- E_3 -2	1.18	0.84

Se realizó un análisis por TGA del intermedio de reacción en la etapa de funcionalización con grupos bromuro de acilo nombrado como f -MWCNT-COBr-2, y se comparó con las etapas de reacción del espaciador 1. Se observó que la pérdida en peso del f -MWCNT-COBr-2 presentó una pérdida desde los 150 °C con una caída

notoria en 350 °C atribuida a las pérdidas de los grupos bromados y carboxílicos en la superficie, seguido de la descomposición típica del MWCNT alrededor de los 650 °C. El porcentaje de pérdida en peso de *f*-MWCNT-COBr-2 se observó en medio de las etapas previa y posterior de reacción. Lo anterior demuestra que se está llevando a cabo de manera efectiva esta reacción sobre los MWCNT (Figura 69).

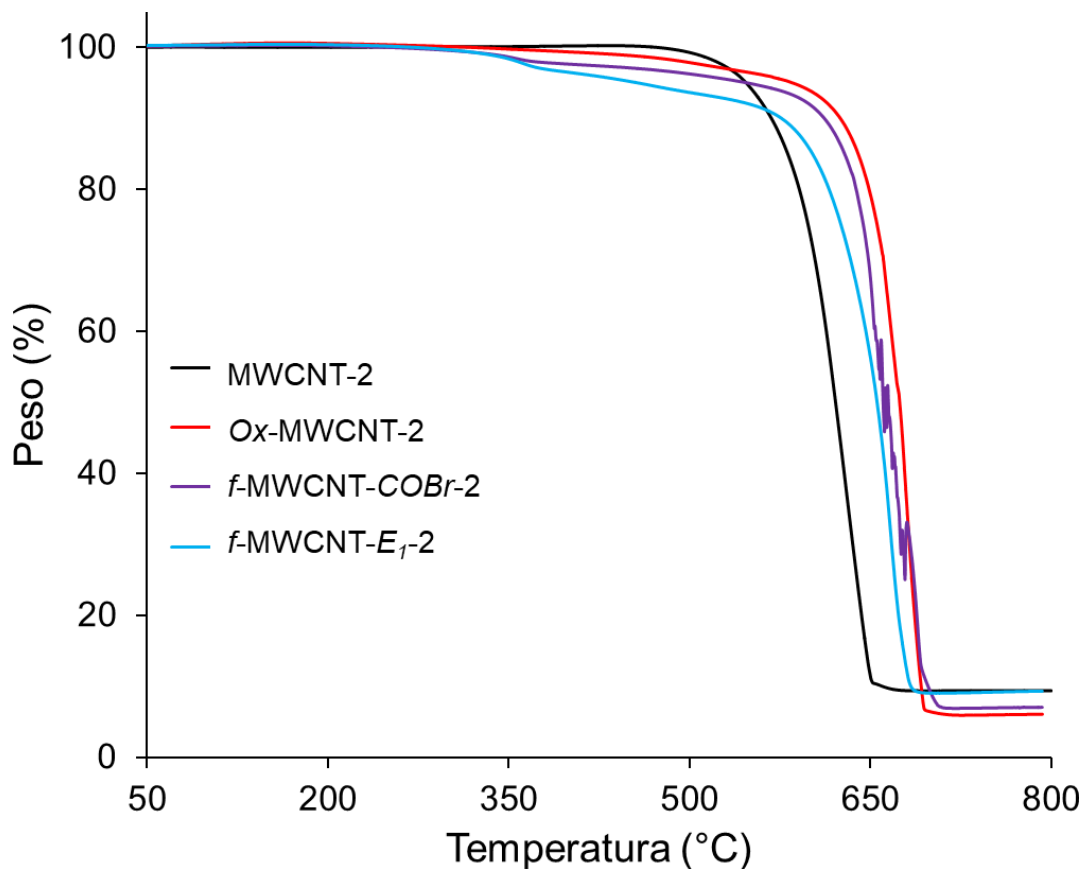


Figura 69. Comparación de los termogramas de los MWCNT-2 de todos los intermedios de reacción en la funcionalización con el espaciador 1.

Por otra parte, se realizó un estudio de reacción en la incorporación del espaciador 1 variando el tiempo de 24 h o 48 h obteniendo los *f*-MWCNT-*E*₁-24h-2 y *f*-MWCNT-*E*₁-48h-2, respectivamente. Se analizaron mediante TGA en atmósfera de aire y N₂ para observar el efecto de la atmósfera en los termogramas de ambos

MWCNT (Figura 70). Los termogramas de ambas muestras y atmósferas mostraron las mismas pérdidas en peso alrededor 215, 360, 472 y 660 °C, los cuales se observan con mayor claridad en atmósfera de N₂. Lo anterior demuestra que ambos MWCNT poseen las mismas moléculas incorporadas sobre el MWCNT. Por otra parte, los *f*-MWCNT-*E*₁-24h-2 tienen un grado de funcionalización mayor en comparación con *f*-MWCNT-*E*₁-48h-2.

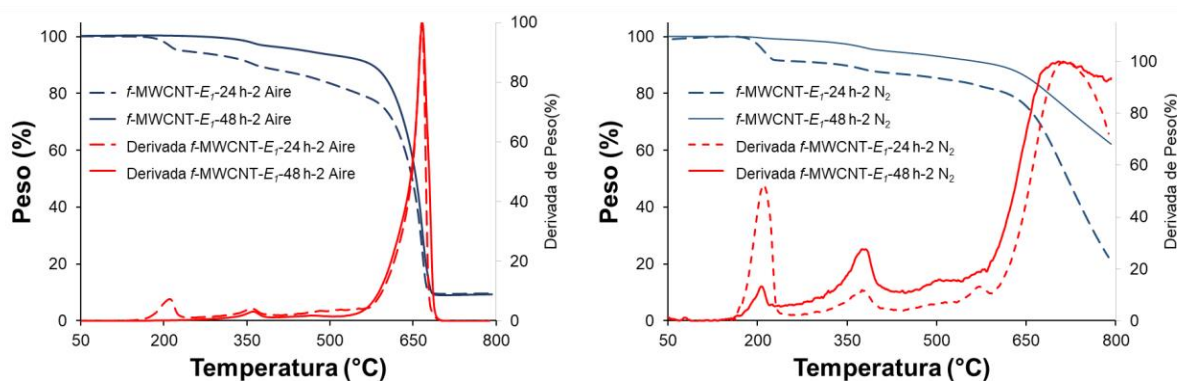


Figura 70. Termogramas de los *f*-MWCNT-*E*₁-24h-2 y *f*-MWCNT-*E*₁-48h-2 y derivadas en atmósfera de A) Aire y B) N₂.

Se realizaron microscopias SEM de los *f*-MWCNT-*E*₁-24h-2 y *f*-MWCNT-*E*₁-48h-2 (Figura 71) en donde se observó que con un tiempo de reacción menor hay una formación de una capa mayor sobre la superficie del MWCNT en comparación con los MWCNT que se funcionalizaron con un tiempo de reacción mayor. Los resultados coinciden con lo observado en los TGA, lo que sugiere que a un tiempo de reacción más prolongado ocurren reacciones indeseadas entre los espaciadores sin reaccionar; formando cadenas de aminoácidos de mayor tamaño que eliminan parte de las capas que se forman sobre la superficie del MWCNT debido a que los sitios reactivos ya no están disponibles.

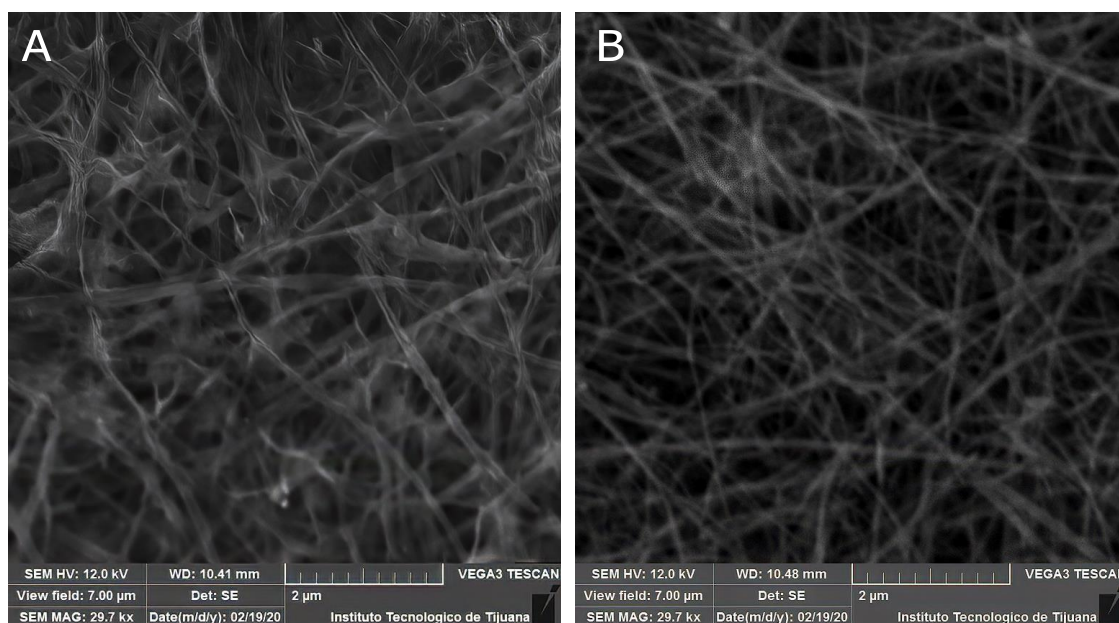


Figura 71. Imágenes SEM de nanotubos A) *f*-MWCNT- E_1 -24h-2 y B) *f*-MWCNT- E_1 -48h-2.

4.5 Funcionalización y caracterización del MWCNT-1 con el éster de linezólida.

La incorporación del compuesto **4** mediante la formación de un éster en el CNT-0.1 funcionalizado con β -alanina se realizó mediante la reacción con *N,N'*-diisopropilcarbodiimida (DIC) e hidróxido de benzotriazol (HoBt) en DMF por 4 h. Finalmente, se filtraron los *f*-MWCNT- E_1 -**4**-1 con lavados de THF, agua, acetona y se dejaron secar en un horno a 70 °C.

En la Figura 72 se presentan las imágenes SEM de los MWCNT-1 en las etapas de síntesis diferentes desde los MWCNT prístinos (A), oxidados (B), funcionalizados con el espaciador β -alanina (C) y el éster de linezólida (D), en donde se observó la formación de una película en la superficie de los MWCNT funcionalizados con el compuesto **4**, debido a la incorporación de varias moléculas en la superficie de los MWCNT.

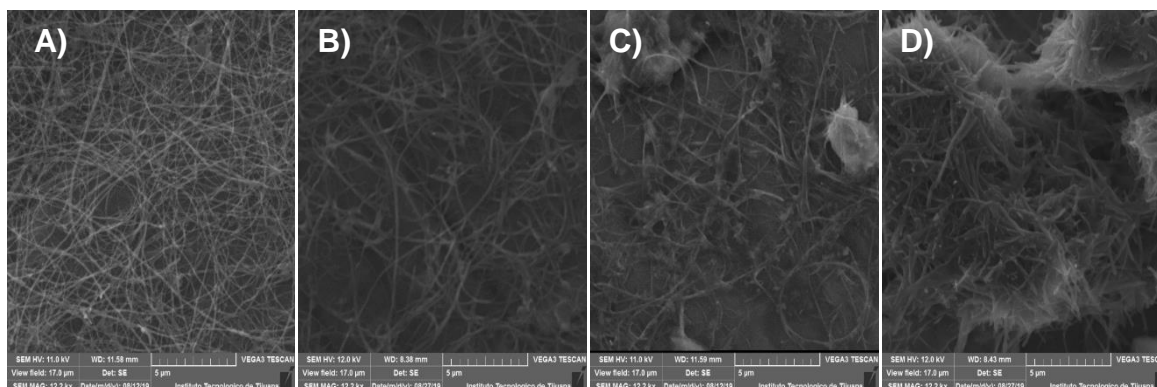


Figura 72. Imágenes SEM de nanotubos A) MWCNT-1 B) Ox-MWCNT-1, C) f -MWCNT- E_1 -1 y D) f -MWCNT- E_1 -4-1.

En el análisis termogravimétrico de los MWCNT-1 funcionalizados con el éster de linezólida (Figura 73) muestra la tendencia de pérdida en peso Prístino<Oxidados< E_n <Ester. Las pérdidas en peso en el intervalo de 150 °C a los 600 °C se deben a los defectos superficiales, grupos carboxílicos, amino ácidos y éster de linezólida sobre el MWCNT.

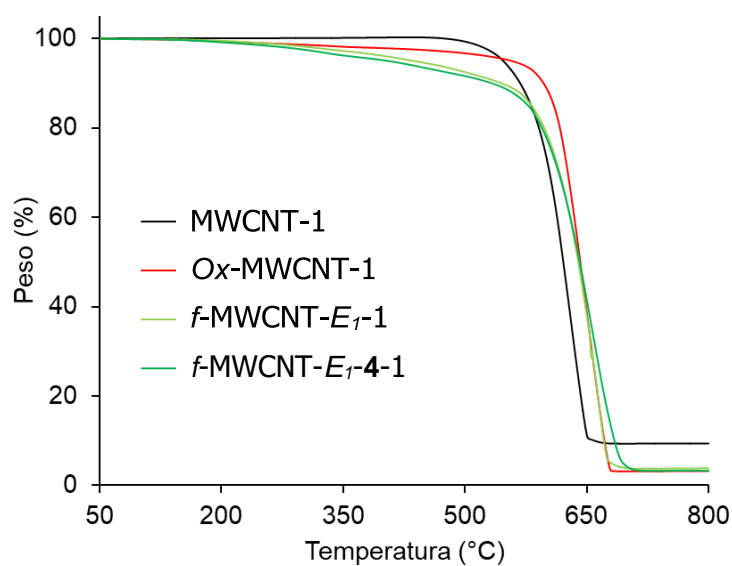


Figura 73. Termograma de los MWCNT antes y después de funcionalizados con el éster de linezólida.

4.6 Funcionalización y caracterización del MWCNT con la amida de linezólida.

La incorporación del compuesto **7** a los MWCNTs se realizó mediante la formación de una amida entre el grupo carboxílico de los espaciadores y el amino del compuesto **7** empleando la misma metodología que se utilizó en la incorporación del compuesto **4**, pero con un tiempo de reacción a 24 h. Con este procedimiento se obtuvieron seis nanomateriales derivados de los $f\text{-MWCNT-}E_n\text{-1}$ y $f\text{-MWCNT-}E_n\text{-2}$. Por otra parte, también se prepararon simultáneamente nanomateriales a partir de $f\text{-MWCNT-}E_1\text{-2}$ con tiempos de reacción de 24 y 48 horas bajo las mismas condiciones de reacción obteniendo los nanotubos $f\text{-MWCNT-}E_1\text{-7-24h-2}$ y $f\text{-MWCNT-}E_1\text{-7-48h-2}$. Los productos se filtraron y se lavaron con agua, metanol y acetona, y se dejaron secar en un horno a 70 °C.

En el análisis termogravimétrico de los MWCNT-2 funcionalizados con **7** (Figura 74) muestra la tendencia de pérdida en peso prístino < oxidados < E_n < **7**. Las pérdidas en peso en el intervalo de 150 °C a los 600 °C se deben a los defectos superficiales, grupos carboxílicos, amino ácidos y amida de oxazolidinona sobre el MWCNT.

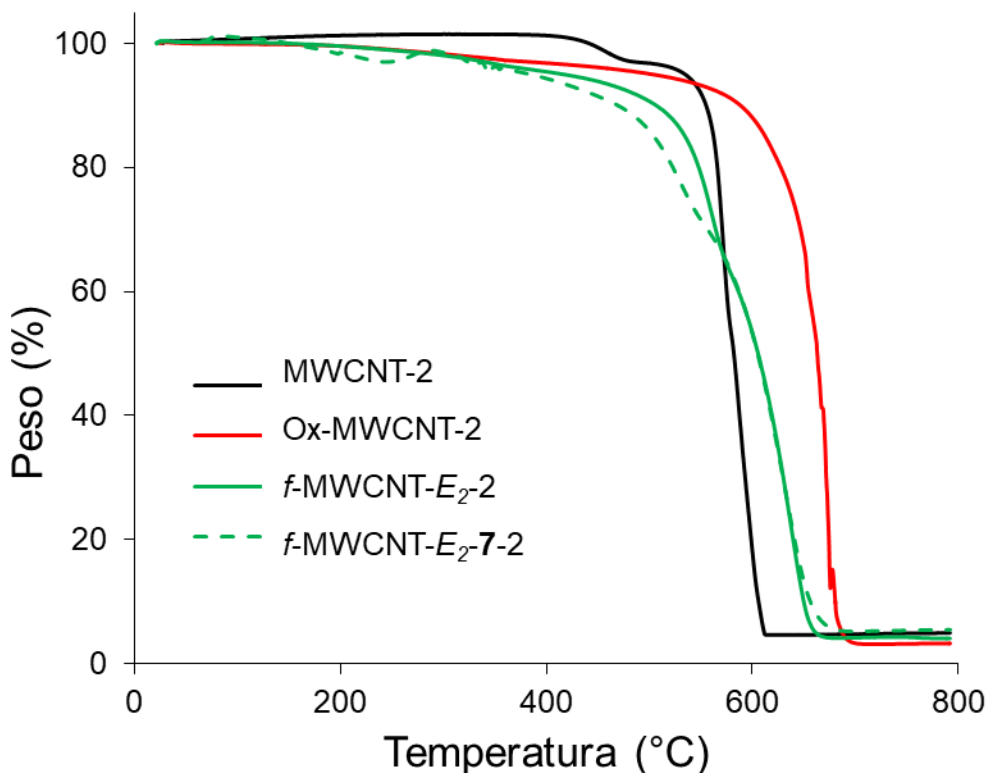


Figura 74. Termograma de los MWCNT-2 prístinos y funcionalizados con el espaciador E₂ y con la amino-linezólida 7.

En el análisis termogravimétrico de los *f*-MWCNT-E_{*n*}-7-2 muestra que la incorporación de la oxazolidinona sobre los MWCNT con espaciadores diferentes fue relativamente similar entre ellos y que existe una degradación térmica gradual de los nanomateriales entre 200 °C y 600 °C. En general, los cambios en la degradación térmica en cada paso indican características químicas estructurales diferentes en la superficie de los nanotubos de carbono. Finalmente, el MWCNT funcionalizado con el espaciador 2 (ácido aminovalérico) presentó una pérdida en peso mayor en comparación con los espaciadores 1 y 3. Esto puede deberse a una funcionalización incompleta con los espaciadores 2 y 3 (Figura 75).

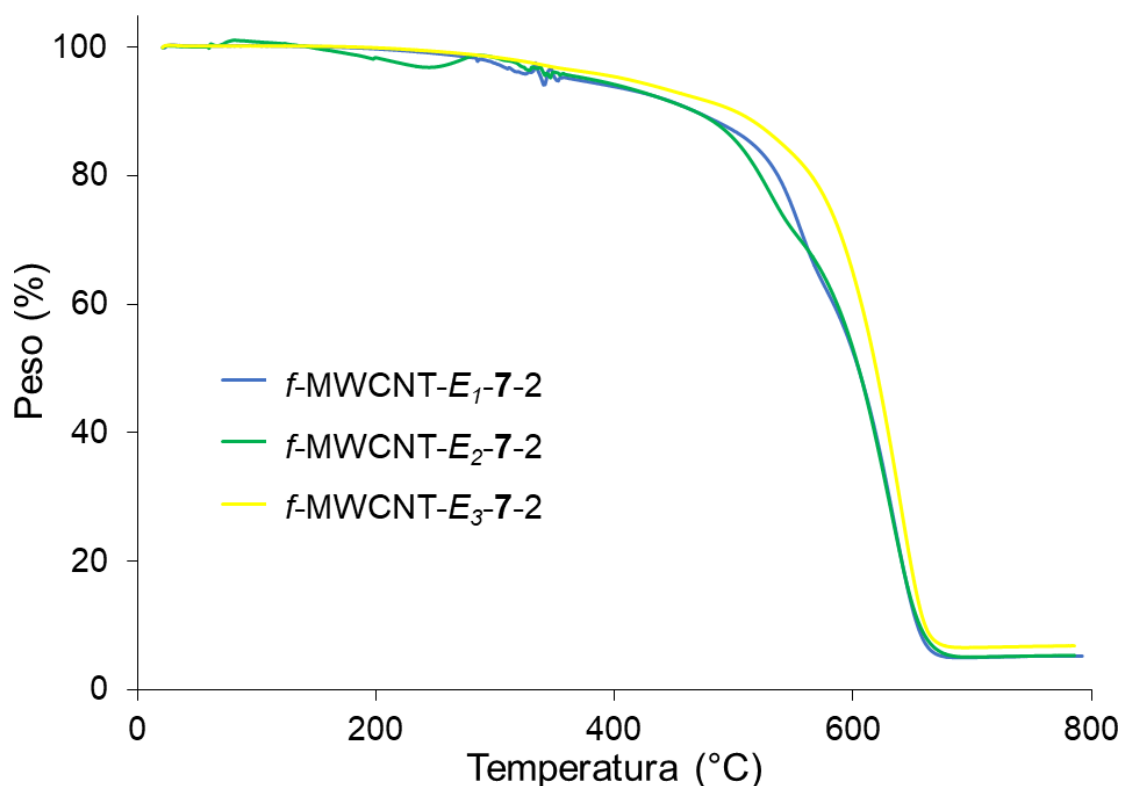


Figura 75. Termograma de los MWCNT funcionalizados con los espaciadores diferentes y el compuesto **7**.

Con base en el análisis por TGA de los $f\text{-MWCNT-}E_n\text{-7-2}$, los porcentajes de material orgánico incorporado, considerando el espaciador de alquilo y el resto de oxazolidinona, a la superficie de MWCNT es de aproximadamente 16.7, 14.2 y 15.6% para $f\text{-MWCNT-}E_1\text{-7-2}$, $f\text{-MWCNT-}E_2\text{-7-2}$ y $f\text{-MWCNT-}E_3\text{-7-2}$, respectivamente.

Los espectros de RAMAN de los MWCNT funcionalizados con los espaciadores diferentes y el compuesto **7** no presentaron cambios considerables en la intensidad de sus bandas características, observándose que los valores I_D/I_G y I_G/I_G son similares a sus precursores independientemente del espaciador (Figura 76). Estos resultados están relacionados con el hecho de que el acoplamiento del compuesto **7** ocurre sobre el grupo carboxílico en el espaciador, no en la superficie del nanotubo de carbono. La relación I_D/I_G y I_G/I_G de todos los $f\text{-MWCNT-}E_n\text{-7-#}$ se resumen en la Tabla 5.

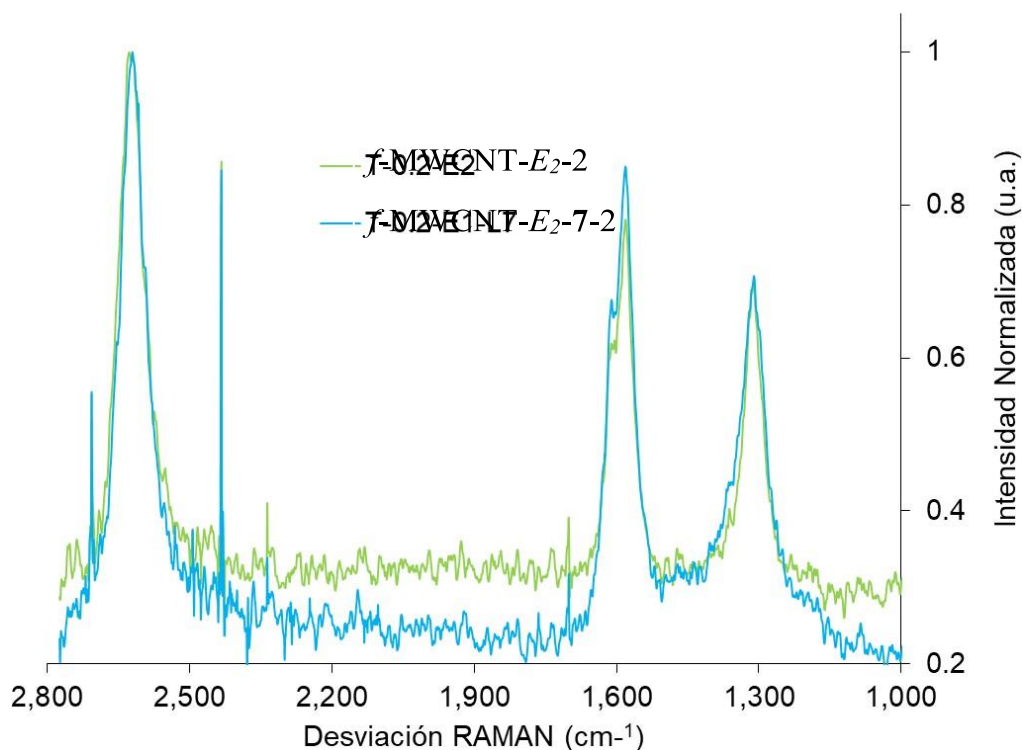


Figura 76. Espectros RAMAN de los nanomateriales f -MWCNT- E_2 -2 y f -MWCNT- E_2 -7-2.

Tabla 5. Comparación en I_G/I_G y I_D/I_G de los f -MWCNT- E_n -7-#.

Muestra	I_G/I_G	I_D/I_G
f -MWCNT- E_1 -7-1	1.08	0.67
f -MWCNT- E_2 -7-1	1.10	0.75
f -MWCNT- E_3 -7-1	1.18	0.84
f -MWCNT- E_1 -7-2	1.01	0.94
f -MWCNT- E_2 -7-2	1.18	0.83
f -MWCNT- E_3 -7-2	1.09	0.76

En la Figura 77 se presentan las imágenes SEM de los MWCNT-2 en las etapas de síntesis diferentes desde los MWCNT prístinos (A), oxidados (B), funcionalizados

con el ácido 7-aminoheptanoico (espaciador 3) (C) y la amida de oxazolidinona (D), en donde se observó la formación de una película en la superficie de los MWCNT funcionalizados con el compuesto 7, debido a la incorporación de varias moléculas en la superficie de los MWCNT comprobando que la funcionalización fue efectiva. En los Anexo 5 y 6 se presentan las imágenes SEM de las otras dos familias de MWCNT con los espaciadores 1 y 2.

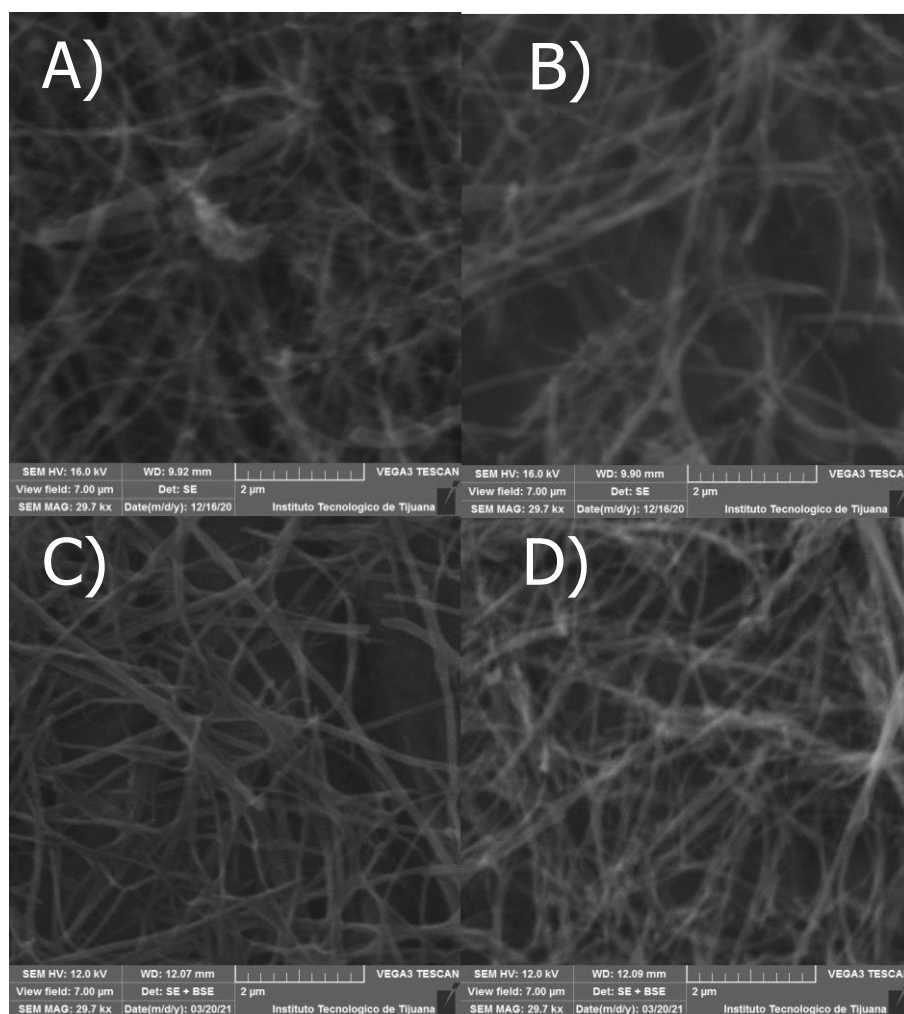


Figura 77. Imágenes por SEM de nanotubos A) MWCNT-2 B) Ox-MWCNT-2, C) *f*-MWCNT- E_3 -2 y D) *f*-MWCNT- E_3 -7-2.

En la Figura 78 se presentan las imágenes SEM de los nanotubos f -MWCNT- E_1 -7-24h-2 y f -MWCNT- E_1 -7-48h-2. En las micrografías se observó una capa más homogénea en los f -MWCNT- E_1 -7-48h-2 comparado con los f -MWCNT- E_1 -7-24h-2, lo cual no coincide con lo observado en la etapa de funcionalización anterior.

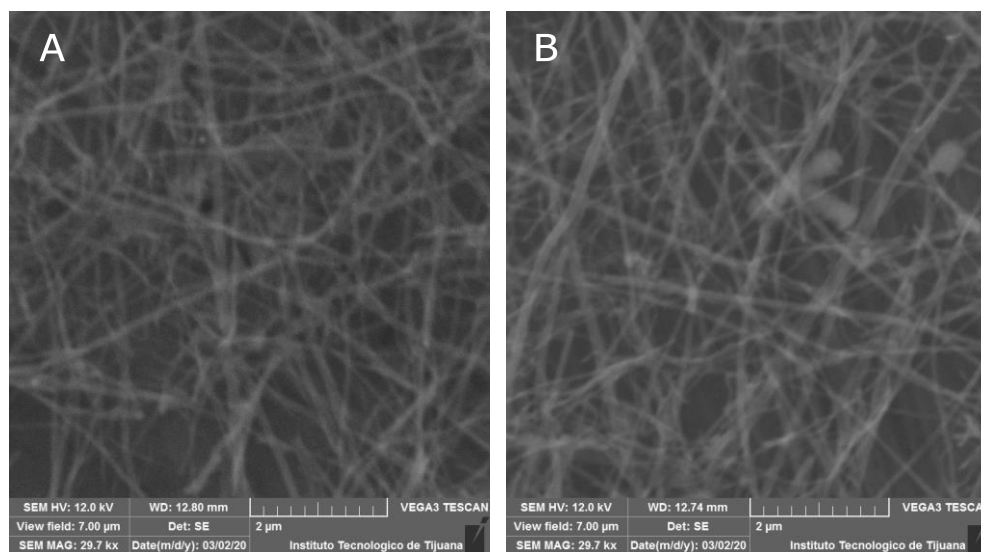


Figura 78. Imágenes SEM de nanotubos A) f -MWCNT- E_1 -7-24h-2 y B) f -MWCNT- E_1 -7-48h-2.

En la Figura 79 se presentan las imágenes TEM de los MWCNT-2 en las etapas de síntesis diferentes. El MWCNT-2 prístino tiene una superficie lisa (rojo) además de observarse en su interior una cantidad considerable de Fe (azul), mientras que el Ox-MWCNT-2 muestra una superficie rugosa y una disminución notoria del Fe en el interior de su estructura, (Figuras 79A y 79B) con 42.45 ± 5.52 nm y 35.29 ± 3.83 nm de diámetro, respectivamente; debido al tratamiento oxidativo las capas superficiales de MWCNT se ven deformadas además de eliminar gran parte del Fe tanto en el interior como exterior del MWCNT. Las micrografías de f -MWCNT- E_2 -2 y f -MWCNT- E_2 -7-2 presentan una capa orgánica homogénea en la superficie de los nanotubos como resultado de la incorporación de material orgánico (Figuras 79C y 79D), mostrando un 76.31 ± 16.06 nm y 62.41 ± 6.84 nm de diámetro, respectivamente. El aumento del diámetro de los MWCNT, en comparación con Ox-MWCNT-2 se atribuye a la

incorporación de las moléculas orgánicas en la superficie de MWCNT, mientras que su disminución después de la incorporación del compuesto **7** comparado con *f*-MWCNT-*E*₂-2, se atribuye a que parte de las cadenas de oligometilenos de la etapa anterior que pudieran estar solamente adsorbidos en la superficie del nanomaterial fueron eliminados durante la reacción y purificación.

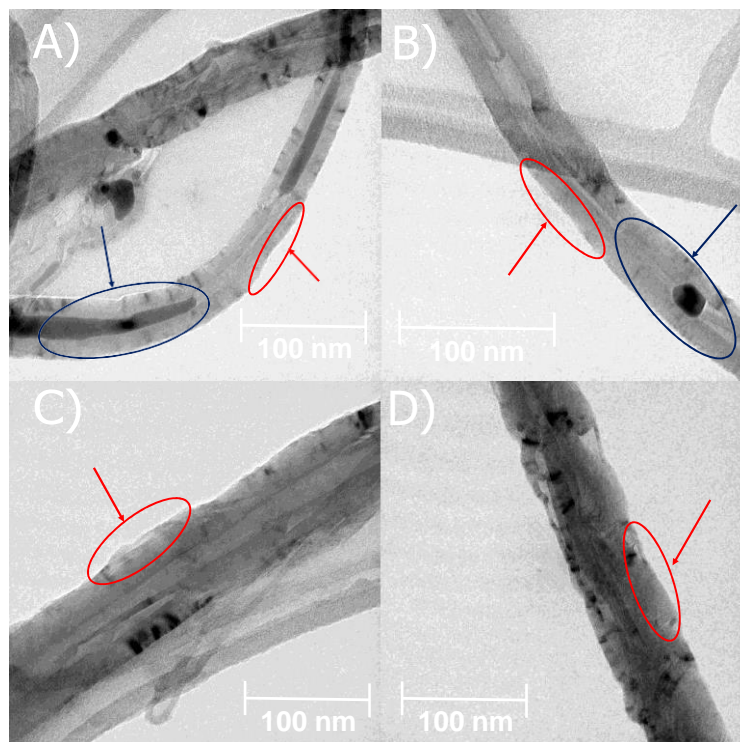


Figura 79. Imágenes TEM de nanotubos A) MWCNT-2 B) Ox-MWCNT-2, C) *f*-MWCNT-*E*₂-2 y D) *f*-MWCNT-*E*₂-7-2.

En el análisis termogravimétrico en atmósfera de aire mostró que el *f*-MWCNT-*E*₁-7-24h-2 presentan una pérdida en peso menor en comparación con su etapa anterior, mientras que, los *f*-MWCNT-*E*₁-7-48h-2 mostraron una pérdida en peso mayor en comparación con su etapa anterior (Figura 80).

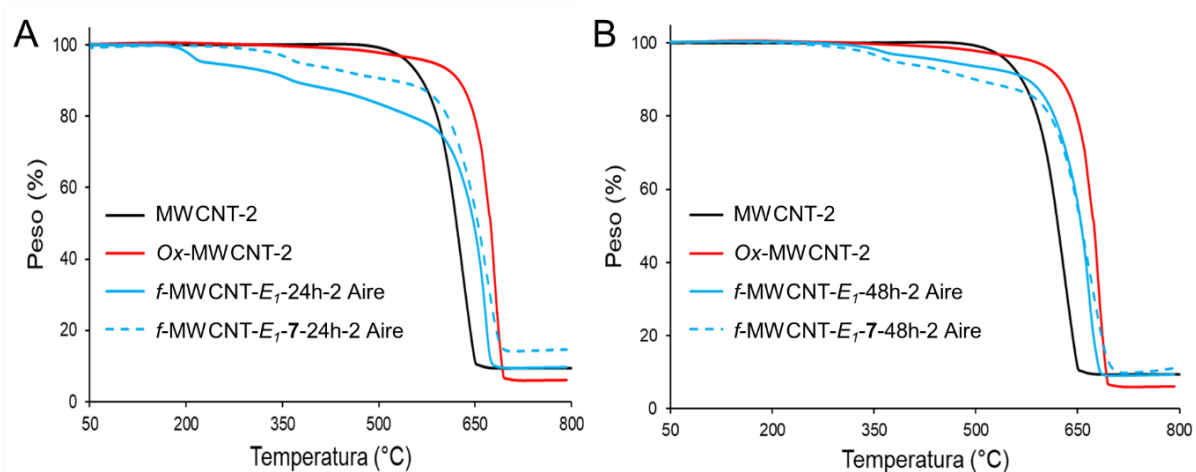


Figura 80. Termograma de los A) f -MWCNT- E_7 -7-24h-2 y B) f -MWCNT- E_7 -7-24h-2 antes y después de funcionalizar con la amida de linezólida en atmósfera de aire.

Lo anterior coincide con lo observado en las microscopias SEM y se atribuye a que los MWCNT con una capa mayor de material orgánico adsorbido sobre la superficie dificulta la reacción entre el compuesto **7** con los sitios reactivos. Además, reacciones alternas en la funcionalización con el compuesto **7** y la purificación eliminan parte de las capas que se forman sobre la superficie del MWCNT. Sin embargo, si se presenta una capa suave de las cadenas de oligometilenos sobre el MWCNT hay una disponibilidad mayor de los grupos reactivos para que ocurra la funcionalización con el compuesto **7**.

Por otra parte, se realizó la incorporación del compuesto **7** sobre los nanotubos Ox-MWCNT-#, con la finalidad de estudiar el efecto del espaciador en la actividad antibacteriana. La síntesis se realizó mediante la metodología empleada para la funcionalización con los espaciadores, pero en su lugar se utilizó el compuesto **7**.

Los espectros de RAMAN de los f -MWCNT-7-# presentaron cambios considerables en las relaciones de los valores I_D/I_G y I_G/I_G con respecto a sus MWCNT predecesores, como se reporta en la Tabla 6. Estos resultados se atribuyen a que de

igual forma que con la incorporación de los espaciadores, la reacción de compuesto **7** se lleva a cabo sobre los grupos reactivos, disminuyendo los defectos superficiales de los nanotubos, aumentando el orden del MWCNT, lo que se refleja en la disminución de la relación I_D/I_G comparado con los Ox-MWCNT-# (Figura 81).

Tabla 6. Comparación en I_G/I_G y I_D/I_G de los *f*-MWCNT-7-# con sus nanomateriales predecesores.

Muestra	I_G/I_G	I_D/I_G
MWCNT-1	1.35	0.82
MWCNT-2	1.20	0.83
Ox-MWCNT-1	1.25	0.89
Ox-MWCNT-2	1.37	0.87
<i>f</i> -MWCNT-7-1	1.27	0.71
<i>f</i> -MWCNT-7-2	1.25	0.70

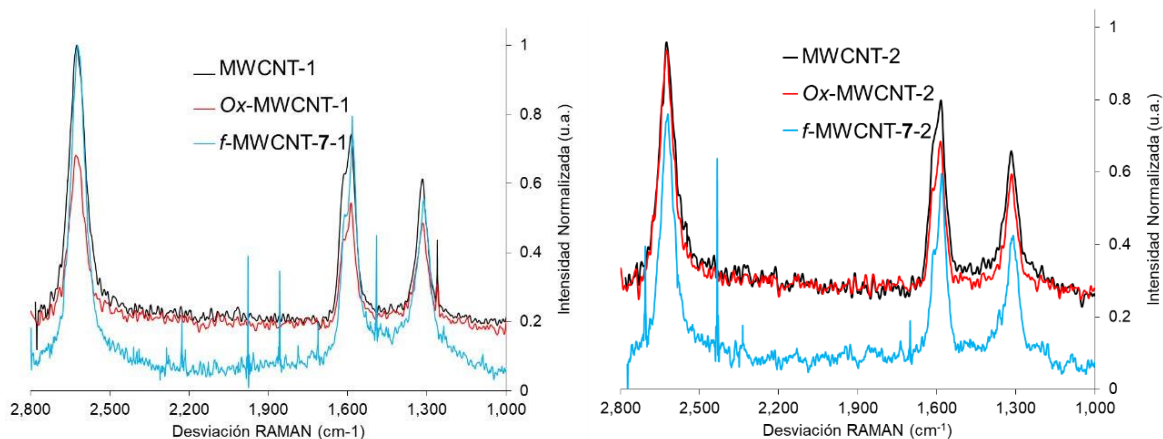


Figura 81. Espectros RAMAN comparativo de *f*-MWCNT- E_2 -2 y *f*-MWCNT- E_2 -7-2.

El análisis termogravimétrico de los *f*-MWCNT-7-# muestra que efectivamente se llevó a cabo la incorporación del compuesto **7** al observarse un aumento en la pérdida de peso comparado con los MWCNT de etapas anteriores (Figura 82). Todos los MWCNT muestran pérdidas en peso significativas desde los 150 °C a los 600 °C atribuidas a la pérdida de los defectos superficiales y materiales orgánicos sobre el MWCNT. Además, se observó que el porcentaje de material orgánico en ambos lotes *f*-MWCNT- 7-1 y *f*-MWCNT- 7-2 fue de 15.87 y 14.05 % por peso, respectivamente.

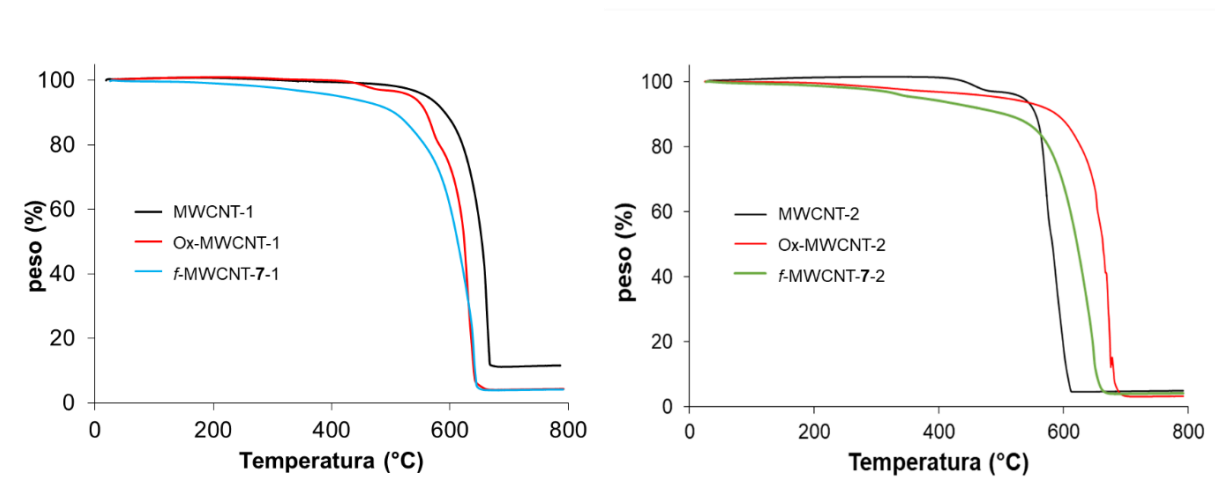


Figura 82. Comparación de los termogramas de los *f*-MWCNT-7-# con los nanomateriales de etapas de reacción previas.

4.7 Funcionalización y caracterización del MWCNT-2 con (*R*)-5-((*S*)-1-aminoetil)-oxazolidin-2-ona (**8**)

Por otra parte, se realizó la incorporación del compuesto (*R*)-5-((*S*)-1-aminoetil)-oxazolidin-2-ona (**8**) sobre los *f*-MWCNT- E_n -2, el cual posee actividad antibacteriana reportada en la literatura.¹⁰⁴ La metodología fue la misma empleada en la funcionalización con el compuesto **7** mediante la formación de una amida en los MWCNT con los espaciadores diferentes, obteniendo los *f*-MWCNT- E_n -**8**-2. Los productos se filtraron y lavaron con agua, metanol y acetona y se dejaron secar en un horno a 70 °C.

En el análisis termogravimétrico de los MWCNT-2 funcionalizados con **8** (Figura 83) muestra la tendencia de pérdida en peso Prístino < Oxidados < E_n < **8**. Las pérdidas en peso en el intervalo de 150 °C a los 600 °C se deben a los defectos superficiales, grupos carboxílicos, amino ácidos y amida de oxazolidinona sobre el MWCNT.

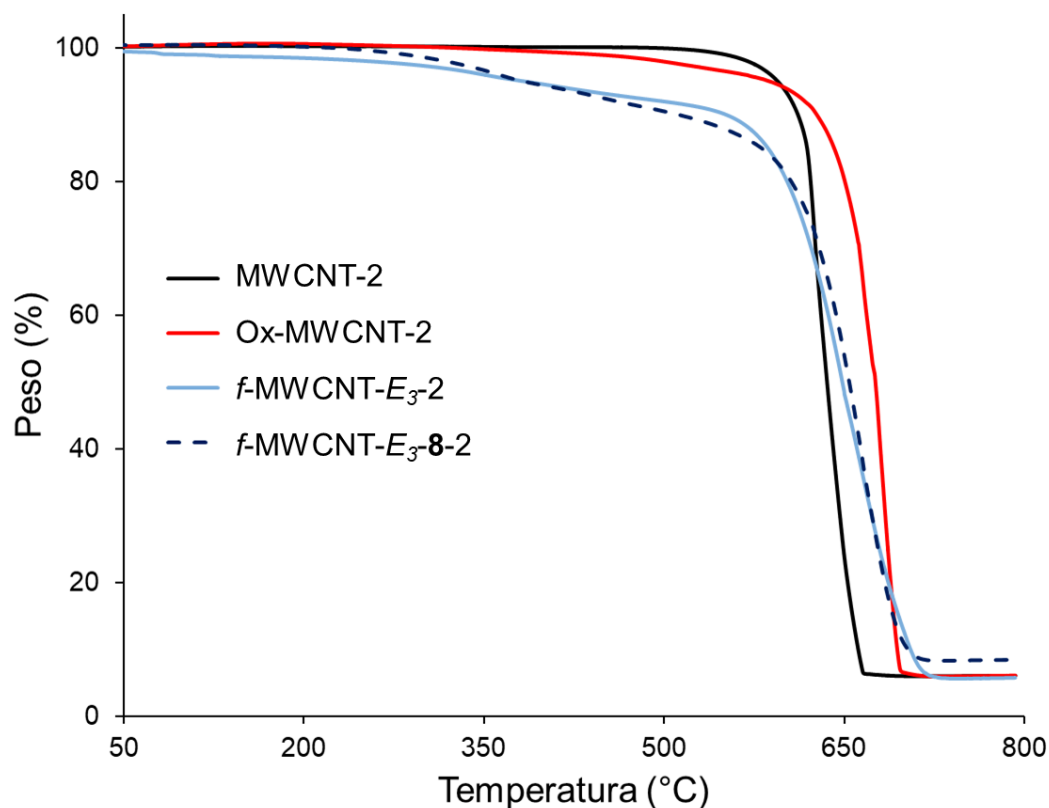


Figura 83. Termograma de los MWCNT antes y después de ser funcionalizados con el compuesto **8** y el espaciador 1.

En el análisis termogravimétrico de los *f*-MWCNT-*E_n*-**8**-2 muestra que la incorporación de la oxazolidinona sobre los MWCNT con espaciadores diferentes fue similar entre ellos. Los termogramas de *f*-MWCNT-*E_n*-**8**-2 indican una degradación térmica gradual de los nanomateriales comenzando a 200 °C y terminando a 600 °C. En general, los cambios en la degradación térmica en cada paso indican características químicas estructurales diferentes en la superficie de los nanotubos de carbono. Finalmente, el MWCNT funcionalizado con el espaciador 1 (β -alanina) presentó una pérdida en peso mayor en comparación con los espaciadores 2 y 3. Esto puede deberse a una funcionalización incompleta con los espaciador 2 y 3 (Figura 84).

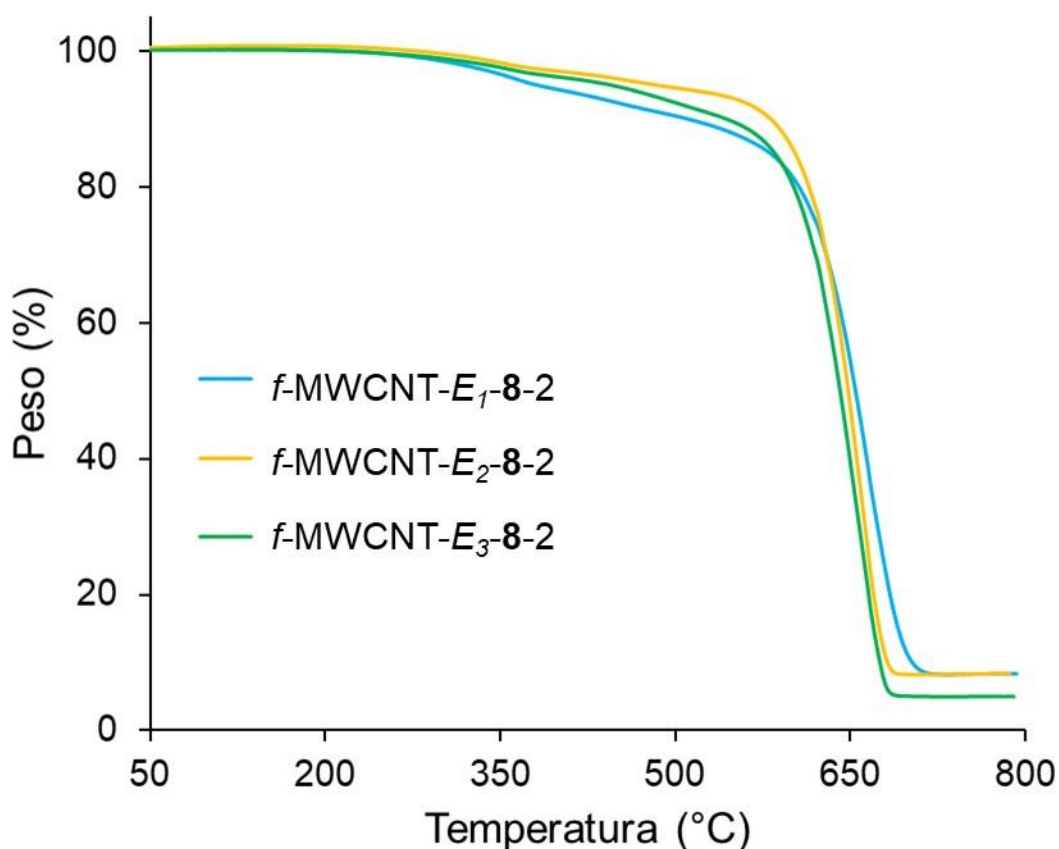


Figura 84. Termograma de los MWCNT funcionalizados con los espaciadores diferentes y el compuesto **8**.

Con base al análisis por TGA de los *f*-MWCNT-*EN*-**8**-2, los porcentajes dematerial orgánico incorporado, considerando el espaciador de alquilo y el resto de oxazolidinona, a la superficie de MWCNT es de aproximadamente 16.7, 14.2 y 15.6% para *f*-MWCNT-*E*₁-**8**-2, *f*-MWCNT-*E*₂-**8**-2 y *f*-MWCNT-*E*₃-**8**-2, respectivamente.

En la Figura 85 se presentan las imágenes SEM de los MWCNT-2 en las etapas de síntesis diferentes desde los MWCNT prístinos (A), oxidados (B), funcionalizados con el espaciador 3 ácido 7-aminoheptanoico (C) y la amida de oxazolidinona (D), en donde se observó la formación de una película en la superficie de los MWCNT funcionalizados con el compuesto **8**, debido a la incorporación de varias moléculas en la superficie de los MWCNT comprobando que la funcionalización fue efectiva. En los

Anexos 5 y 6 se presentan las imágenes SEM de las otras dos familias de MWCNT con los espaciadores 1 y 2.

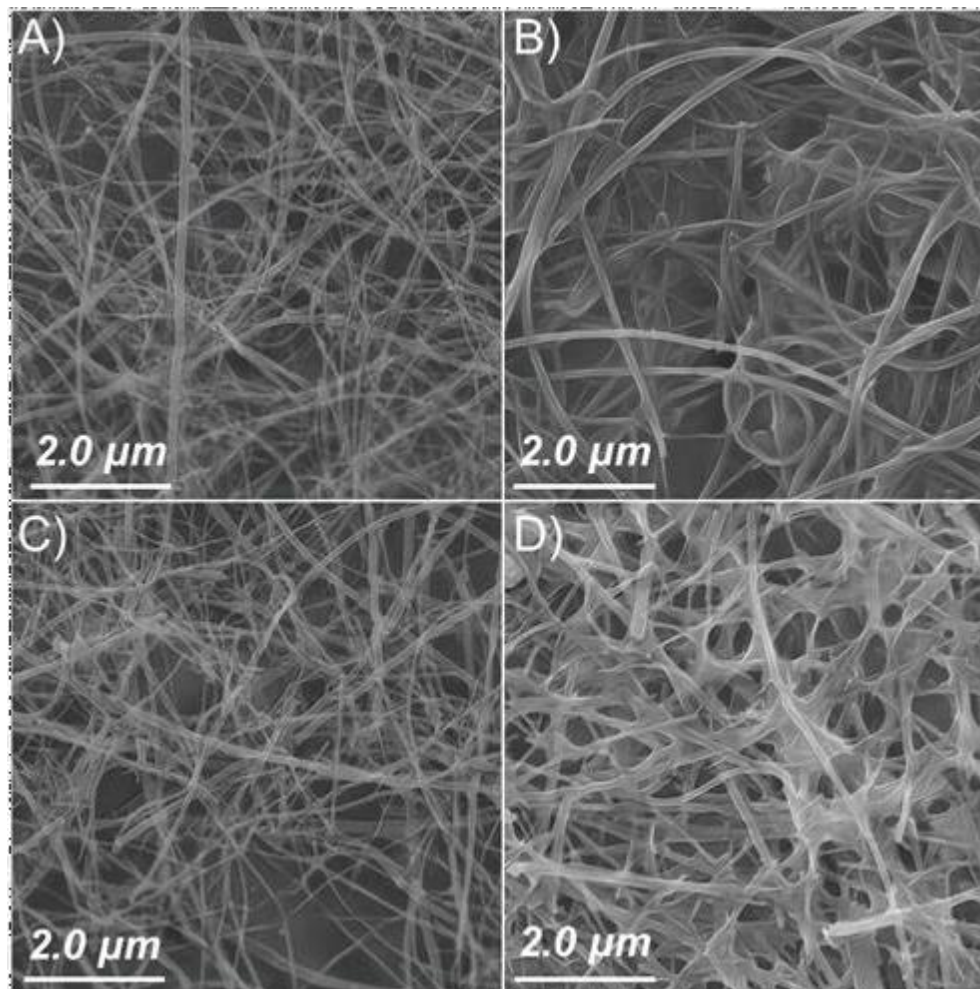


Figura 85. Imágenes SEM de nanotubos A) MWCNT-2 B) Ox-MWCNT-2, C) *f*-MWCNT- E_3 -2 y D) *f*-MWCNT- E_3 -8-2.

En la Figura 86, se presentan las imágenes TEM de los MWCNT-2 en las etapas de síntesis diferentes. El MWCNT-2 prístino tiene una superficie lisa, mientras que el Ox-MWCNT-2 muestra una superficie rugosa (Figuras 86A y 86B) con $52.76 \pm 5,60$ nm y $38.20 \pm 3,02$ nm de diámetro, respectivamente; debido al tratamiento oxidativo las capas superficiales de MWCNT se ven deformadas. Las micrografías de *f*-MWCNT- E_3 -2 y *f*-MWCNT- E_3 -8-2 presentan una capa orgánica homogénea en la superficie de

los nanotubos como resultado de la incorporación de material orgánico (Figuras 86C y 86D) mostrando un $68.32 \pm 1,51$ nm y 75.01 ± 11.32 nm de diámetro, respectivamente. El aumento del diámetro de los MWCNT funcionalizados en comparación con Ox-MWCNT-2 se atribuye a la incorporación de las moléculas orgánicas en la superficie de MWCNT.

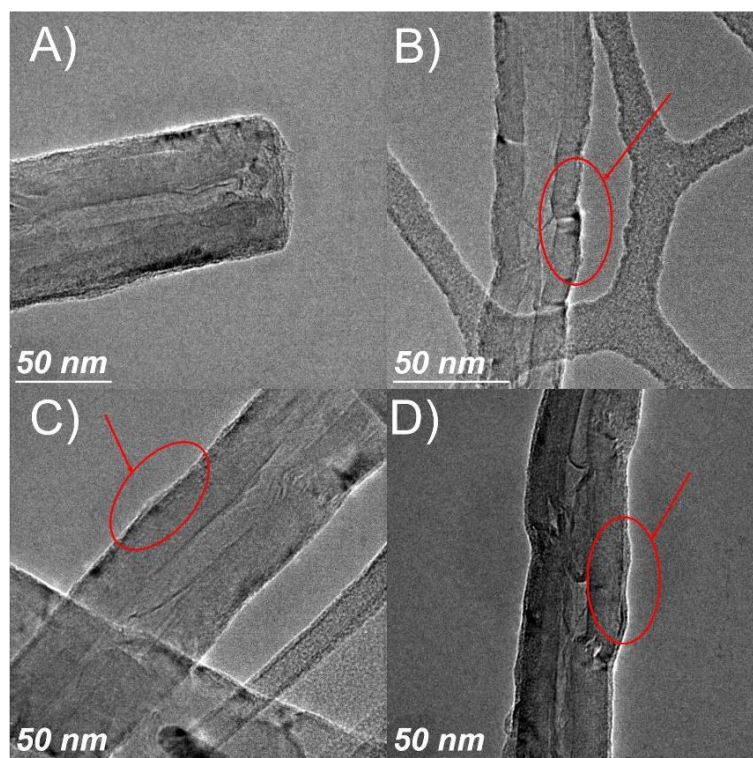


Figura 86. Imágenes TEM de nanotubos A) MWCNT-2 B) Ox-MWCNT-2, C) *f*-MWCNT- E_3 -2 y D) *f*-MWCNT- E_3 -8-2.

4.8 Síntesis y caracterización de CD

La síntesis de CD hidrofílicos (CDs) e hidrofóbicos (h-CDs) se realizó para observar el efecto en sus propiedades fotoluminiscentes y de citocompatibilidad en los nanoacarreadores.

La síntesis de los CD hidrofílicos se realizó empleando una variación de la metodología reportada por Wang y colaboradores,¹⁰⁵ con ácido ascórbico (AA) y como agente oxidante acetato de Cu (II) en agua. En lugar de realizar un calentamiento prolongado a 90 °C, se emplearon microondas para reducir los tiempos de reacción a unos minutos. También se realizó la síntesis sin acetato de Cu (II) para comprobar su efecto.

Durante la síntesis se observó un cambio de color de la solución de azul al anaranjado después de la adición del AA debido a la complejación del cobre. Después, del tratamiento hidrotermal por microondas se observó un cambio final de color a amarillo dorado claro con un residuo metálico rosado en el fondo del reactor correspondiente al Cu residual de la reacción.¹⁰⁵

Por otra parte, la síntesis de CD hidrofóbicos se realizó empleando el método reportado por Liu y colaboradores,⁹⁶ en la cual se utiliza 1-octadeceno (ODE) y 1-hexadecilamina (HDA) en atmósfera inerte y agitación magnética. La reacción se calentó hasta 300 °C y se agregó ácido cítrico y se mantuvieron las condiciones de reacción por 3 h. Posteriormente, el producto final se purificó realizando precipitaciones con acetona.

A su vez, se realizó la síntesis de CDs-NH₂ empleando la metodología reportada por Yang y colaboradores⁷² variando las condiciones de reacción como el tiempo de 5 o 20 h y temperaturas de 180 °C o 200 °C, obteniendo tres lotes diferentes de CDs-NH₂. Posteriormente, se dializaron para eliminar las impurezas y reactivos sin reaccionar de los CDs-NH₂, observándose un incremento de su fluorescencia a simple vista para después ser liofilizados obteniendo un promedio de rendimientos en peso de 78.5% y 51.2% con y sin dializar, respectivamente.

En el Figura 87 se aprecia las estructuras superficiales propuestas de los CDs, h-CDs y CDs-NH₂.

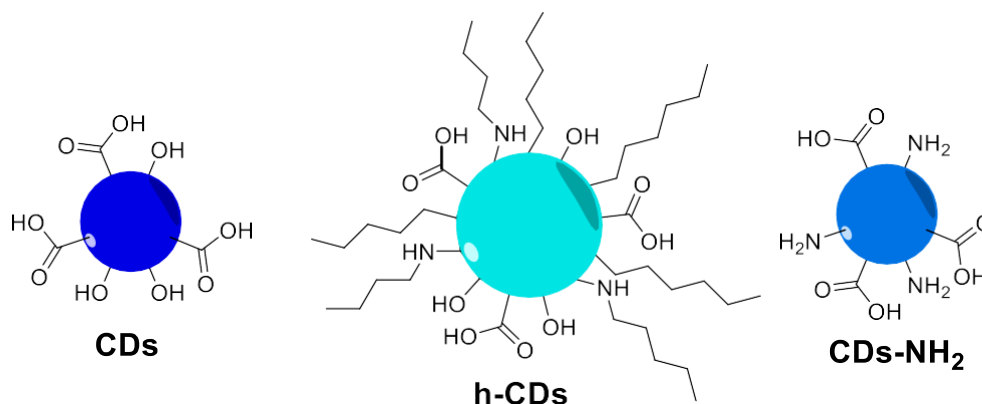


Figura 87. Estructuras de CD hidrofílicos e hidrofóbicos.

Las propiedades fotoluminiscentes de ambos CD se estudiaron mediante UV-vis y fluorescencia molecular, siendo esta última una técnica indirecta para comprobar la formación de los CD.

En los espectros de UV-vis de ambos CD se observan las bandas de transición π - π^* típicas de estos materiales. Los h-CD presentaron una banda más estrecha y desplazada hacia el rojo debido a la presencia de grupos amino en la superficie del punto cuántico de carbono (Figura 88), lo cual coincide con lo reportado en los trabajos de Wang, Liu y Yang, respectivamente.^{72, 96 y 104}

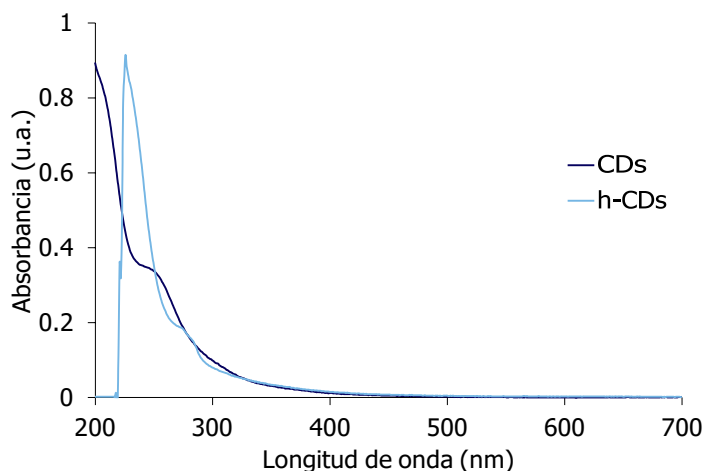


Figura 88. Espectros de absorbancia UV-vis de CDs y h-CDs.

Mediante fluorescencia molecular se encontraron las bandas de excitación y emisión máxima para ambos puntos cuánticos de carbono. Los CDs y CDs-NH₂ presentaron una banda de emisión de 444 nm y una banda de excitación en 357 y 366 nm, respectivamente; mientras que los h-CDs presentaron una banda de emisión en 478 nm y una banda de excitación en 394 nm, lo cual coincide con lo reportado en los trabajos de Wang, Liu y Yang, respectivamente.^{72, 96 y 104} A su vez, ambos puntos cuánticos presentaron la característica típica que poseen estos nanomateriales de tener más de una banda de excitación y emisión debido a su estructura conformada por distintas láminas de grafeno de tamaño diferente (Figura 89).

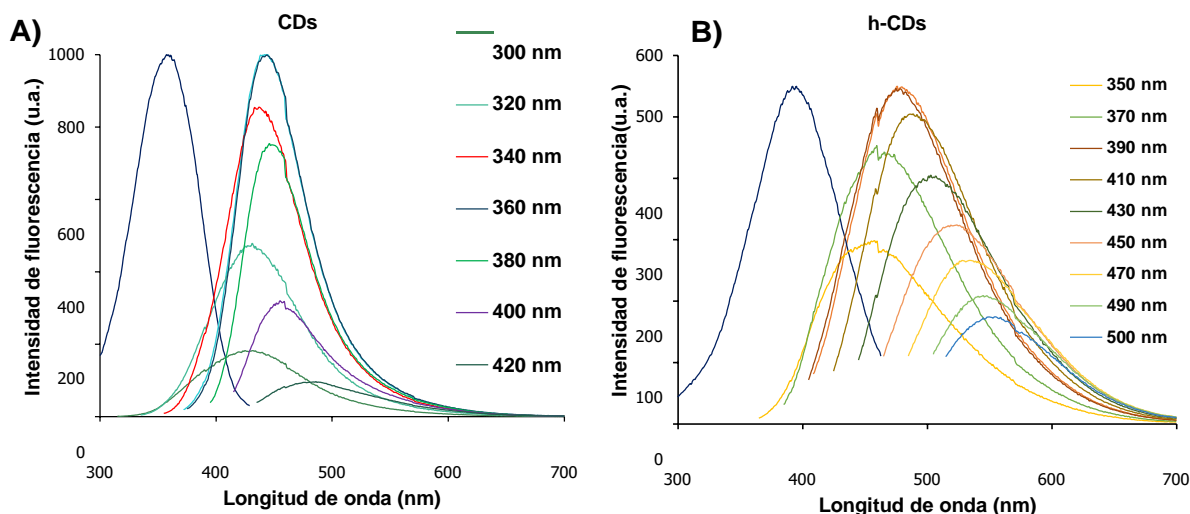


Figura 89. Espectro de emisión a longitudes de onda de excitación diferentes de A) CDs y B) h-CDs.

4.9 Funcionalización con espaciadores de longitud variable y caracterización de CDs

La funcionalización de los CDs-NH₂-2 y CDs-NH₂-3 se hizo con bromuro de tionilo en THF seco durante 48 h en atmósfera inerte para llevar a la formación de bromuros de acilo sobre la superficie de los CDs. Una vez transcurrido el tiempo de reacción se realizaron lavados con THF seco y evaporando el solvente a presión para evitar la regeneración de los ácidos carboxílicos. Inmediatamente después de realizar los lavados los CDs-Br se hicieron reaccionar con los espaciadores de longitud variable

en THF seco en atmósfera inerte durante un periodo de 24 h. Finalmente, se lavaron con THF y se colocaron en un horno a 70 °C.

Los espectros 3D de emisión y excitación de los CDs-NH₂-2 y CDs-NH₂-3 y sus respectivos puntos de carbono funcionalizados con los espaciadores diferentes CDs-NH₂-E_n-2 y CDs-NH₂-E_n-3, demostraron que la incorporación de éstos cambia las propiedades fotoluminiscentes dependiendo del espaciador (Figura 90). En general, la intensidad de fluorescencia se ve disminuida con todos los espaciadores pero solo se observó un desplazamiento hacia el rojo de las longitudes de excitación y emisión con los espaciadores de E₂ y E₃, las cuales se resumen en la Tabla 7.

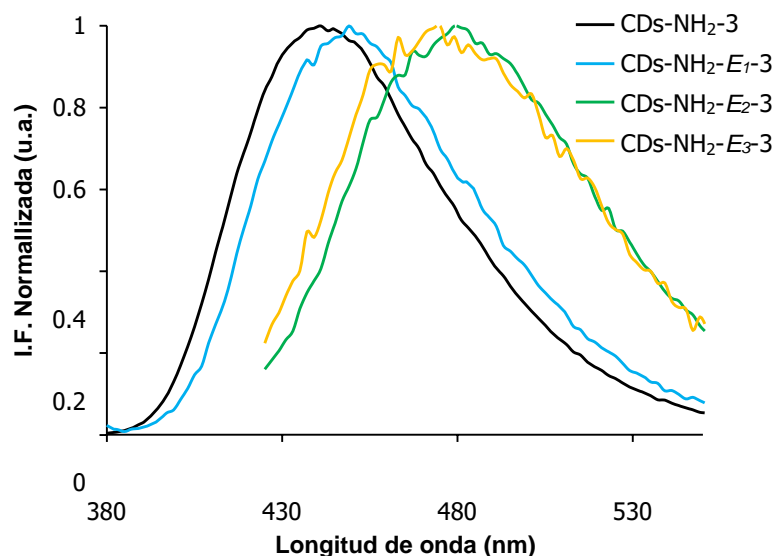


Figura 90. Comparación de espectros de emisión de CDs-NH₂ antes y después de la funcionalización con espaciadores de longitud variable.

Tabla 7. Longitudes de onda de excitación y emisión máxima de CDs-NH₂ antes y después de la funcionalización con los espaciadores diferentes.

Muestra	λ de ex. (nm)	λ de em.(nm)	Muestra	λ de ex. (nm)	λ de em. (nm)
CDs-NH ₂ -2	364	444	CDs-NH ₂ -3	364	445
CDs-NH ₂ -E ₁ -2	364	448	CDs-NH ₂ -E ₁ -3	368	447
CDs-NH ₂ -E ₂ -2	385	485	CDs-NH ₂ -E ₂ -3	394	477
CDs-NH ₂ -E ₃ -2	388	488	CDs-NH ₂ -E ₃ -3	398	477

4.10 Estudios de la actividad antibacteriana de MWCNT

La actividad antibacteriana de los nanomateriales preparados se evaluó frente a cepas bacterianas distintas; diez cepas Gram positivas y cuatro Gram negativas, seis cepas ATCC, ocho cepas aisladas clínicamente y cinco cepas resistentes a la metilina, utilizando el ensayo de difusión radial y la microdilución en caldo.

La actividad de los MWCNT-#, Ox-MWCNT-#, f-MWCNT-E_n-1, f-MWCNT-E_n-2, f-MWCNT-E₁-4-1, f-MWCNT-7-# y 7 se evaluó frente a todas las cepas y ninguno de estos materiales mostró inhibición del crecimiento bacteriano (halo de inhibición) en los ensayos por difusión radial (Figura 91).

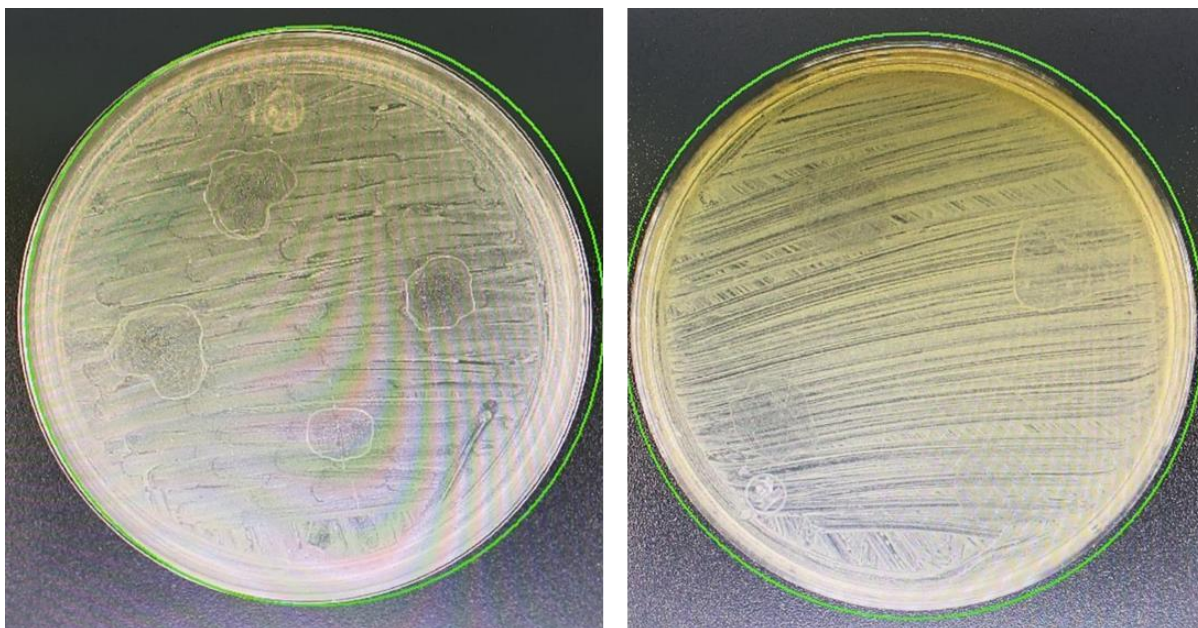


Figura 91. Ensayo de difusión radial para la actividad antibacteriana de *f*-MWCNT- E_1 -4-1 con A) *S. aureus* ATCC 29213 y B) *S. aureus* aislado clínico.

Este resultado demuestra que los MWCNT que no están funcionalizados con moléculas activas o moléculas que contienen grupos funcionales esenciales no tienen actividad antibacteriana. Por ejemplo, los MWCNT unidos con el compuesto **4** no poseen el grupo funcional (acetamida) esencial para favorecer la interacción intermolecular con el sitio de acción, lo cual es de importancia vital para inhibir la síntesis proteica de las bacterias. A su vez, los MWCNT con el compuesto **7** sin espaciador (*f*-MWCNT-**7**) al momento de ser liberado del nanomaterial tampoco posee en su estructura este grupo esencial.

Los estudios de los nanomateriales *f*-MWCNT- E_n -**7**-1 y *f*-MWCNT- E_n -**7**-2 mostraron que los nanomateriales conjugados que poseen los espaciadores E_1 y E_2 poseen actividad contra varias de las cepas evaluadas. Sin embargo, los nanotubos conjugados con el E_3 no presentaron actividad contra estas cepas.

La Tabla 8 muestra los diámetros de los halos de inhibición obtenidos en el ensayo de difusión radial de los *f*-MWCNT- E_n -**7**-#, en donde se emplearon como

control el compuesto **7** y linezólida, siendo destacable que **7** y *f*-MWCNT-*E*₃-**7**-# no mostraron actividad frente a las cepas evaluadas, mientras que linezólida mostró actividad contra todas las cepas evaluadas, excepto las cepas de *E. coli* y *S. typhi* debido a que estas bacterias son Gram negativas y este fármaco es selectivo hacia gram positivas. El nanomaterial mas destacado fue *f*-MWCNT-*E*₂-**7**-2 al ser activo contra un número mayor de cepas ATCC, cepas SARM e incluso Gram negativas como *Escherichia coli* y *Salmonella typhi*. Por otra parte, los *f*-MWCNT-*E*₁-**7**-1, *f*-MWCNT-*E*₂-**7**-1 y *f*-MWCNT-*E*₁-**7**-2 solo mostraron inhibición localizada contra estas mismas cepas, lo que indica que son menos activos.

Tabla 8. Halos de inhibición inducidos de *f*-MWCNT-*E*_{*n*}-**7**-# por ensayo de difusión radial frente a bacterias diversas de interés clínico.

Nanomaterial o compuesto	Halos de inhibición (mm)											
	1	5	9	13	29212	25922	R1	R2	R3	R4	43300	25923
linezólida	17	21	0	0	19	0	21	23	21	21	22	26
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>f</i> -MWCNT- <i>E</i> ₁ - 7 -1	0	L	L	L	L	L	0	0	0	L	L	L
<i>f</i> -MWCNT- <i>E</i> ₂ - 7 -1	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
<i>f</i> -MWCNT- <i>E</i> ₃ - 7 -1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>f</i> -MWCNT- <i>E</i> ₁ - 7 -2	0	0	0	0	0	0	L	L	L	L	L	L
<i>f</i> -MWCNT- <i>E</i> ₂ - 7 -2	7	11	11	14	L	L	L	11	12	L	L	L
<i>f</i> -MWCNT- <i>E</i> ₃ - 7 -2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Nota: X= No activo, L= inhibición localizada. (1)= *Streptococcus grupo A* aislado clínico, (5)= *S. aureus* aislado clínico, (9)= *E. coli* aislado clínico, (13) = *S. typhi* aislado clínico, (29212)=*E. faecalis* ATCC, (25922)= *E. coli* ATCC, (R1)= SARM-01, (R2)= SARM-02, (R3) = SARM-03, (R4)= SARM-04, (43300)= SARM ATCC, (25923)= *S. aureus* ATCC.

La Tabla 9 muestra las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) obtenidas mediante el ensayo por microdilución en caldo con los *f*-MWCNT que mostraron actividad mediante el método de difusión radial y como control linezólida y el compuesto **7**. Como se observó anteriormente, los *f*-MWCNT con el *E*₂ destacaron entre los demás debido a que mostraron actividad contra un número mayor de cepas con valores CMI entre 25 y <0.78 µg/mL. Por otra parte, el *f*-MWCNT-*E*₁-**7**-2 mostró

una CMI entre 25 y 6.25 $\mu\text{g/mL}$, mientras que el *f*-MWCNT-*E*₁-7-1 no se logró determinar su CMI contra estas mismas cepas. Además, como se observó anteriormente el compuesto **7** libre no muestra actividad y linezólida solo muestra actividad contra las bacterias Gram positivas.

Tabla 9. Ensayo antibacteriano por microdilución en caldo de *f*-MWCNT-*E*₁-7-2 frente a bacterias diversas de interés clínico.

Nanomaterial o compuesto	CMI ($\mu\text{g/mL}$)											
	1	5	9	13	29212	25922	R1	R2	R3	R4	43300	25923
linezólida	0.5	4	>16	>16	4	>16	0.5	4	8	8	4	4
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>f</i> -MWCNT- <i>E</i> ₁ -7-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>f</i> -MWCNT- <i>E</i> ₂ -7-1	0	12.5	12.5	6.25	0	25	25	25	25	25	6.25	25
<i>f</i> -MWCNT- <i>E</i> ₁ -7-2	0	0	0	6.25	0	12.5	12.5	0	0	0	6.25	25
<i>f</i> -MWCNT- <i>E</i> ₂ -7-2	6.25	6.25	6.25	<0.78	0	0	50	6.25	6.25	6.25	6.25	12.5

Nota: (1)= *Streptococcus grupo A* aislado clínico, (5)= *S. aureus* aislado clínico, (9)= *E. coli* aislado clínico, (13) = *S. typhi* aislado clínico, (29212)=*E. faecalis* ATCC, (25922)= *E. coli* ATCC, (R1)= SARM-01, (R2)= SARM-02, (R3) = SARM-03, (R4)= SARM-04, (43300)= *SARM* ATCC, (25923)= *S. aureus* ATCC.

En la Figuras 92 y 93 se presentan imágenes obtenidas en los experimentos de evaluación de la actividad antibacteriana del *f*-MWCNT-*E*₂-7-2 contra las cepas SARM (R4) y *S. aureus* ATCC 25923, respectivamente.

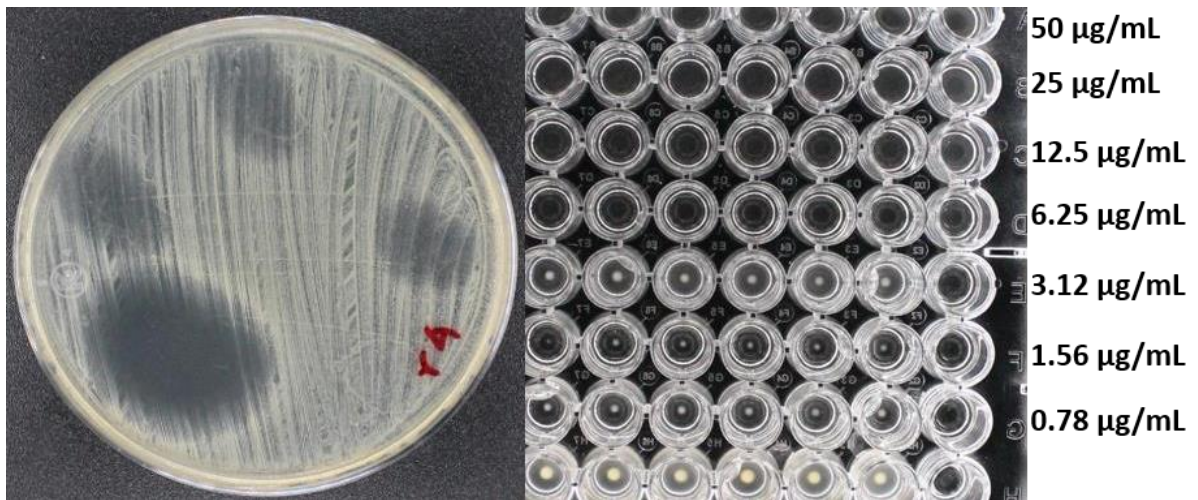


Figura 92. Actividad antibacteriana de *f*-MWCNT-*E*₂-7-2 frente R4 mediante difusión radial (12 mm de diámetro) y mediante microdilución en caldo con CMI de 6.25 µg/mL.

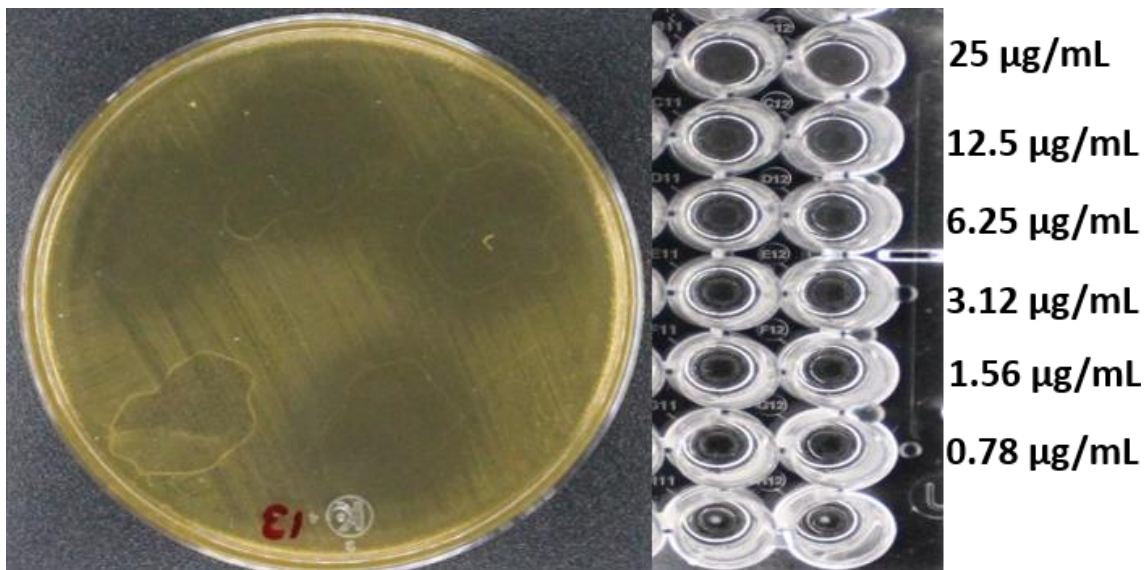


Figura 93. Actividad antibacteriana de *f*-MWCNT-*E*₂-7-2 frente *S. typhi* aislado clínico mediante difusión radial (14 mm de diámetro) y mediante microdilución en caldo a CMI menor de 0.78 µg/mL.

Es importante señalar que al comparar con el control de linezólida, los halos de inhibición y CMI obtenidos con estos nanomateriales son bastante prometedores tomando en cuenta que la cantidad de material orgánico incorporado en los *f*-MWCNT-*E_n*-**7**-# es apenas de un 15% del peso total en promedio; puntualizando el *f*-MWCNT-*E₂*-**7**-2 posee un 17.17% en peso de material orgánico, lo que equivale aproximadamente a una quinta parte de material activo en comparación con linezólida, y aun así, este material presentó actividad similar o mayor contra un número mayor de bacterias, indicando un potencial antimicrobiano alto de estos nanomateriales y destacando la importancia de la presencia de moléculas bioactivas en los nanomateriales para presentar la propiedad antibacteriana. Además, los resultados anteriores demuestran que la longitud de la cadena del espaciador es determinante. Los nanomateriales que no tienen espaciador, no mostraron actividad y los nanomateriales con el espaciador más corto no presentan actividad antibacteriana importante. Por otro lado, los nanomateriales con el espaciador más largo tampoco presentan actividad. Esto indica que hay una longitud de espaciador óptima que favorece la liberación del compuesto del nanomaterial, la internalización dentro de la bacteria y la interacción con el sitio activo o el sitio donde se intercala la molécula. Un resultado sumamente importante es el hecho que estos nanomateriales presentaron actividad contra bacterias Gram negativas, incluso mayor a linezólida, lo cual indica que la incorporación de una cadena hidrocarbonada en la estructura del fármaco (linezólida) facilita su internalización a través de la doble membrana celular característica de estas bacterias.

Asimismo, los estudios de los *f*-MWCNT-*E_n*-**8**-2 mostraron que los nanomateriales conjugados con **8** también poseen actividad contra una variedad de las cepas evaluadas. En las Figuras 94 se muestra que el *f*-MWCNT-*E₁*-**8**-2 presentó actividad contra cuatro cepas (*Streptococcus* grupo A, *S. aureus* aislado clínico, *S. aureus* ATCC 29213 y SARM). Es importante señalar que en comparación con el control de linezólida, los halos de inhibición obtenidos son bastante prometedores tomando en cuenta a la cantidad pequeña de material orgánico incorporado en los

MWCNT, indicando una potencia alta para este tipo de nanomaterial y destacando la importancia de esta molécula en los nanomateriales para presentar la propiedad antibacteriana. Los Anexos 7 y 8 muestran las imágenes de los ensayos de difusión radial de los *f*-MWCNT-*E*₂-8-2 y *f*-MWCNT-*E*₃-8-2, respectivamente.

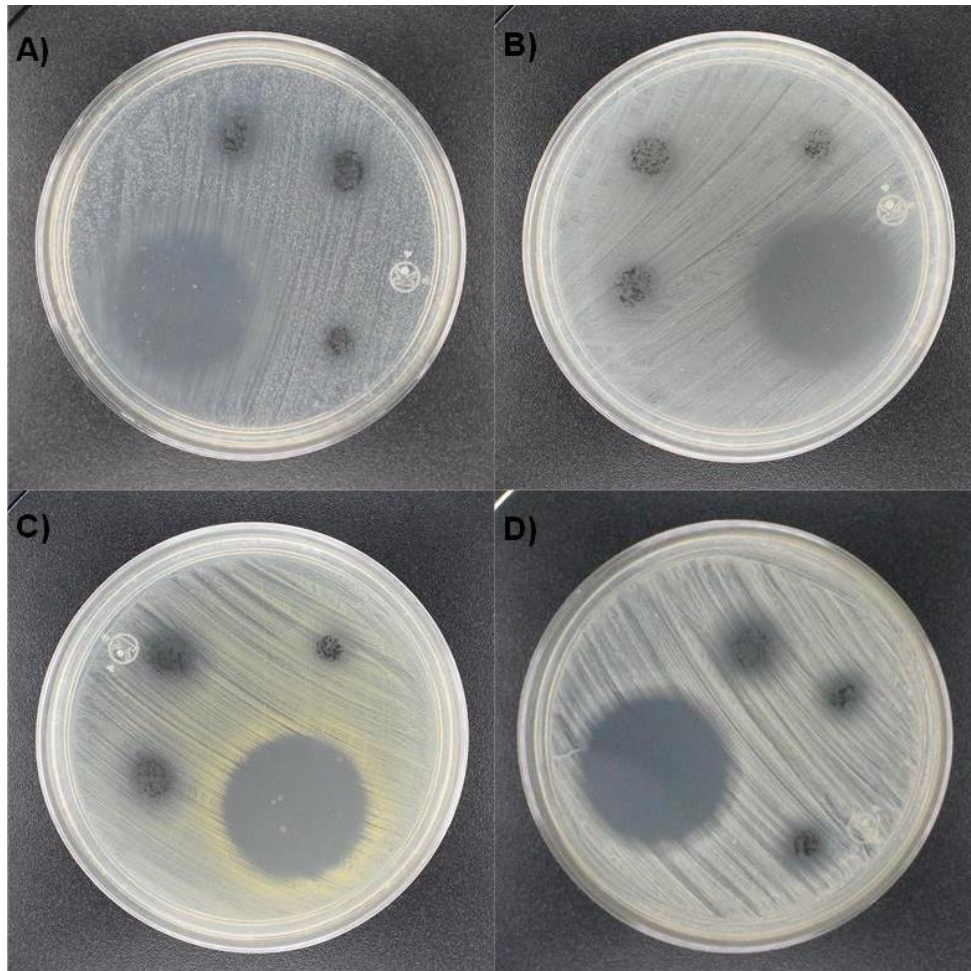


Figura 94. Ensayo de difusión radial de la actividad antibacteriana de *f*-MWCNT-*E*₁-8-2 contra a) *Streptococcus* grupo A, b) *S. aureus* aislado clínico, c) *S. aureus* ATCC 29213 y d) SARM.

La Tabla 9 muestra los diámetros de inhibición obtenidos en el ensayo de difusión radial destacando que el *f*-MWCNT-*E*₁-8-2 resulta más activo contra las cepas SARM y *Streptococcus* del grupo A, mientras que los *f*-MWCNT-*E*₂-8-2 y *f*-MWCNT-*E*₃-8-2 no

mostraron actividad o solo actividad localizada contra estas mismas cepas. Por otra parte, la actividad antibacteriana contra las cepas *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 y *Staphylococcus aureus* clínicamente aislada fue similar con todos los *f*-MWCNT- E_n -**8**-2.

Tabla 10. Halos de inhibición inducidos de *f*-MWCNT- E_n -**8**-2 por ensayo de difusión radial contra cepas Gram positivas diferentes.

Cepa <i>Streptococcus</i> grupo A	Halo de Inhibición (mm)	Cepa SARM	Halo de Inhibición (mm)
linezólida	34.0	linezólida	32.0
<i>f</i> -MWCNT- E_1 - 8 -2	11.6	<i>f</i> -MWCNT- E_1 - 8 -2	14.7
Cepa <i>S. aureus</i> ATCC 29213	Halo de Inhibición (mm)	Cepa <i>S. aureus</i> aislado clínico	Halo de Inhibición (mm)
linezólida	32.0	linezólida	31.0
<i>f</i> -MWCNT- E_1 - 8 -2	8.7	<i>f</i> -MWCNT- E_1 - 8 -2	9.3
<i>f</i> -MWCNT- E_2 - 8 -2	L	<i>f</i> -MWCNT- E_2 - 8 -2	11.8
<i>f</i> -MWCNT- E_3 - 8 -2	L	<i>f</i> -MWCNT- E_3 - 8 -2	14.8

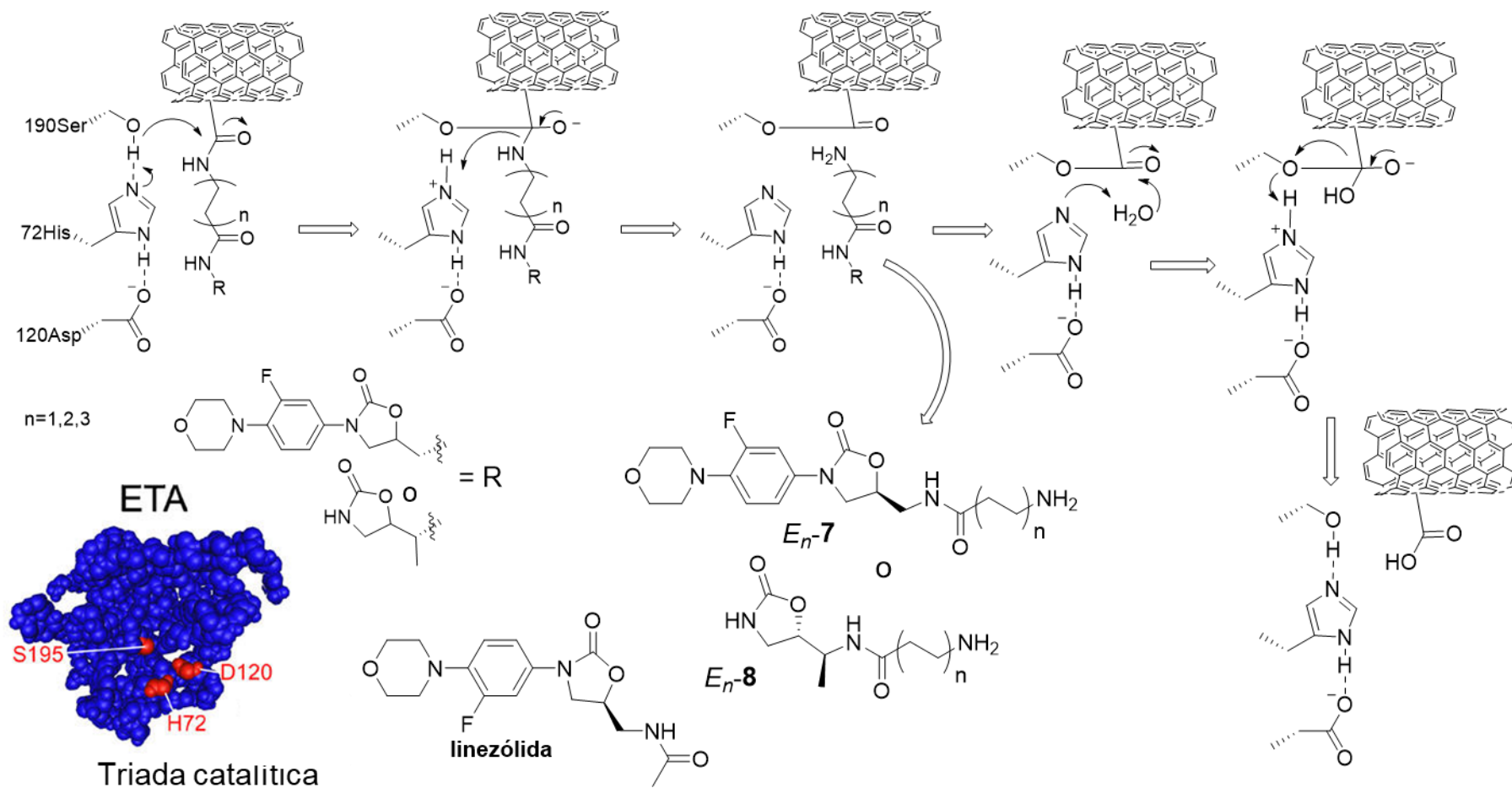
La actividad del *f*-MWCNT- E_1 -**8**-2 frente a todas las cepas se puede atribuir a una mayor cantidad del compuesto **8** incorporado sobre la superficie del MWCNT en comparación con los *f*-MWCNT- E_2 -**8**-2 y *f*-MWCNT- E_3 -**8**-2, lo cual coincide con lo observado en el análisis termogravimétrico de estos nanomateriales aunado al efecto de la cadena espaciadora de oligometileno (E_n). A su vez, los resultados contra la cepa de *Staphylococcus aureus* de aislada clínico se atribuyen a un efecto de la longitud de la cadena de espaciadora de oligometileno, más que a un efecto de la cantidad del compuesto **8** sobre los nanomateriales.

En la Tabla 11 se muestran los resultados del estudio de macrodilución en caldo del *f*-MWCNT- E_2 -**8**-2 frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* de aislada clínico, el cual tiene una actividad inhibidora significativa que alcanza un 99.8% de inhibición del crecimiento bacteriano a 41.6 $\mu\text{g/mL}$ del nanomaterial, lo que equivale a 6.9 $\mu\text{g/mL}$ de material orgánico.

Tabla 11. Porcentajes de inhibición obtenidos con *f*-MWCNT-*E*₂-**8**-2 frente a cepa de *S. aureus* de un aislado clínico.

Concentración(µg/mL)	Porcentaje de inhibición
5.2	84.3
10.4	91.1
20.8	97.9
41.6	99.8
83.3	99.9
166	99.9
333	99.9
666	99.99

El mecanismo por el cual se propone la liberación de los compuestos con actividad antibacteriana (**7** y **8**), podría ser atribuido a la toxina exfoliativa ETA, comúnmente liberada por bacterias Gram positivas como *S. aureus*, las cuales poseen una triada catalítica de Serina, Histidina y ácido Aspártico capaces de romper los enlaces amida de varias moléculas, y causante del síndrome de piel escaldada; o alguna otra toxina y/o proteasa en algunas otras bacterias (Esquema 12).



Esquema 12. Mecanismo de liberación de los compuestos funcionalizados sobre los MWCNT.

4.11. Modelado molecular de análogos de linezólida incorporados a los MWCNT.

Con la intención de explicar las diferencias en la actividad antibacteriana a nivel molecular, y comprobar indirectamente el método de liberación de los compuestos activos se realizó un estudio de acoplamiento molecular automatizado o *docking* en el sitio de la fosforil transferasa (SFT) de *E. coli*, el cual es utilizado comúnmente para estudiar las interacciones fármaco-receptor que inhiben la síntesis proteica en las bacterias.^{106,107} La estructura de la amino-linezólida **7**, sus derivados con espaciador diferente (E_n -**7**) y las formas protonadas de éstos (E_n -**7**-H⁺) se modelaron en el SFT. En la Tabla 12 se muestra la puntuación (*score*) y las energías de conformación y colocación (kcal/mol) de linezólida y la amino-linezólida **7**, donde valores de puntuación menores o mas negativos indican una afinidad mayor o acoplamiento con el sitio de acción.

Primero, se realizó el modelado molecular de **7** en donde se seleccionaron seis poses con valor de acoplamiento más negativo en el sitio acción y que mantiene similitud con la pose de linezólida en el sitio de acoplamiento. En la Figura 95 se muestra la pose 6 de **7** que presentó el grupo amino en la misma orientación que el grupo amida de linezólida y un enlace de hidrógeno H---O con G2505 y un segundo enlace σ --- π con G2061. Sin embargo, espacialmente los anillos de morfolina y oxazolidinona se encuentran desplazados al compararse con el *docking* de linezólida. Por otra parte, la mayoría de las poses con puntuación mejor no mostraron las mismas interacciones o posición que la linezólida, lo cual afecta directamente en su interacción, conformación y puntuación (Anexos 9-11).

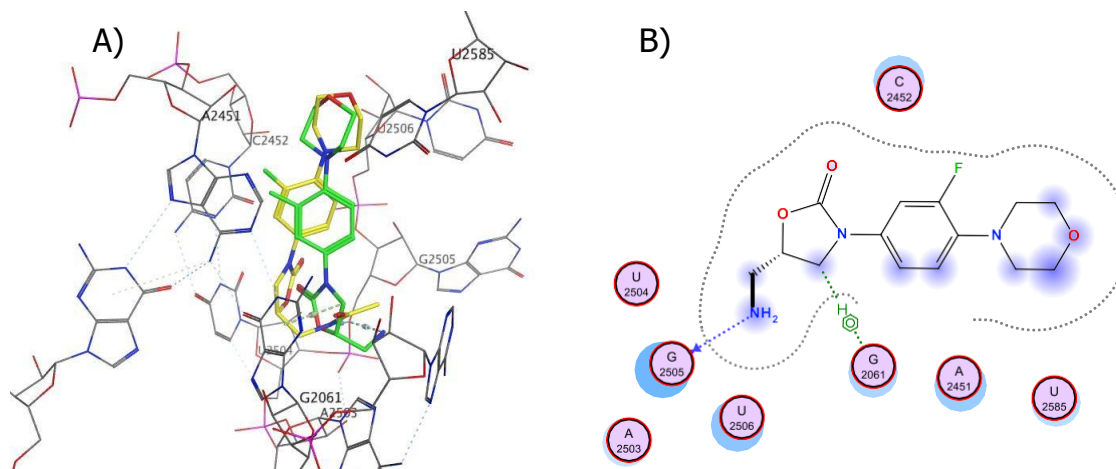


Figure 95. A) Modelado molecular de **7** (pose 6, amarillo) y linezólida (verde) y B) mapa de interacciones de **7** en el SFT en la estructura cristalina del RNAr de *E. coli*.

En la Tabla 12 se muestran los valores de puntuación, energía de conformación y colocación del linezólida y las poses mejores de **7**, donde se observa que linezólida es la estructura con valores más negativos con respecto a las conformaciones diferentes de **7**. La estructura de linezólida es conformacionalmente más estable y con una energía de colocación más baja, lo que le confiere mayores posibilidades de permanecer acoplada en el sitio al compararse con las poses de **7**. Lo anterior, explica por qué el compuesto **7** a pesar de poseer una estructura similar a la linezólida no muestra actividad en los ensayos antibacterianos.

Tabla 12. Valores de puntuación, energías de conformación y colocación de las poses de **7** y de linezólida.

Compuesto (pose)	Puntuación	Energía conformación	Energía de colocación
	(kcal/mol)		
7(1)	-6.94	65.61	-54.28
7(2)	-6.67	66.10	-50.64
7(3)	-6.28	63.37	-61.88
7(4)	-6.00	63.86	-43.98
7(5)	-5.89	63.95	-53.66
7(6)	-5.86	62.84	-44.71
linezólida	-7.21	-3.11	-70.35

Por otra parte, la mayoría de las estructuras modeladas de $E_n\text{-7}$ y $E_n\text{-7-H}^+$ (a pH fisiológico las aminas libres pueden estar parcialmente protonadas) presentaron una puntuación menor a linezólida, lo que indica que podrían presentar actividad bacteriana si solo se toma en cuenta este parámetro. Sin embargo, existen diferencias significativas en la energía de conformación y energía de colocación, las estructuras $E_1\text{-7}$ y $E_2\text{-7}$ presentan valores más positivos que la linezólida (Tabla 13). Las estructuras análogas protonadas $E_1\text{-7-H}^+$ y $E_2\text{-7-H}^+$ presentan en cambio una energía más negativa, incluso la energía de colocación de $E_2\text{-7-H}^+$ es más negativa o favorable que la de linezólida. Como se puede observar, la estructura $E_2\text{-7-H}^+$ tiene una puntuación y energía de colocación más favorables que linezólida, lo que justifica la actividad antimicrobiana observada en los ensayos de difusión radial y microdilución en caldo. Es interesante que las estructuras $E_3\text{-7}$ y $E_3\text{-7-H}^+$ también muestran puntuación y energías de colocación termodinámicamente favorables, pero no muestran actividad en los ensayos biológicos. Esto puede atribuirse a factores diversos como interacciones intermoleculares diferentes involucradas en los complejos

supramoleculares o efecto estérico de la longitud de la cadena espaciadora con número de metilenos mayor.

Tabla 13. Puntuación y energías de posicionamiento de los E_n-7 y E_n-7-H^+ .

Compuesto	Puntuación (kcal/mol)	Energía de Conformación. (kcal/mol)	Energía de colocación (kcal/mol)
Linezólida	-7.21	-3.11	-70.35
E_1-7	-7.52	8.24	-36.95
E_1-7-H^+	-7.71	11.60	-65.68
E_2-7	-6.90	17.78	-64.94
E_2-7-H^+	-8.55	21.58	-83.14
E_3-7	-7.92	24.84	-73.47
E_3-7-H^+	-7.03	19.83	-90.48

Las estructuras E_1-7-H^+ y E_2-7-H^+ (amarillo) presentaron la interacción típica de enlace de hidrógeno con (Figura 96 y 97) y una ubicación similar a la linezólida (verde) en el SFT, de hecho se observa un traslape casi perfecto con la estructura de linezólida, lo cual está directamente relacionado con sus valores de puntuación favorables, mientras que la estructura E_3-7-H^+ no presenta interacción de enlace de hidrógeno (Figura 98) y la estructura está muy desplazada respecto a la de linezólida. Esto mismo se observa con las estructuras E_n-7 modeladas (ver Anexo 12-14). Como se describió anteriormente, estos resultados concuerdan con los resultados obtenidos en los estudios de actividad antibacteriana contra una variedad de cepas bacterianas, a mayor número de interacciones intermoleculares y similitud con la pose de linezólida, se observa una actividad mayor, mientras que compuestos con pocas o nulas interacciones o con poses desplazadas respecto a linezólida, no presentarán actividad antibacteriana. En conclusión, no necesariamente puntuaciones menores a la de linezólida como E_3-7 , indican un acoplamiento favorable o bueno, ya que la colocación de la molécula en el SFT influye directamente en la actividad antibacteriana.

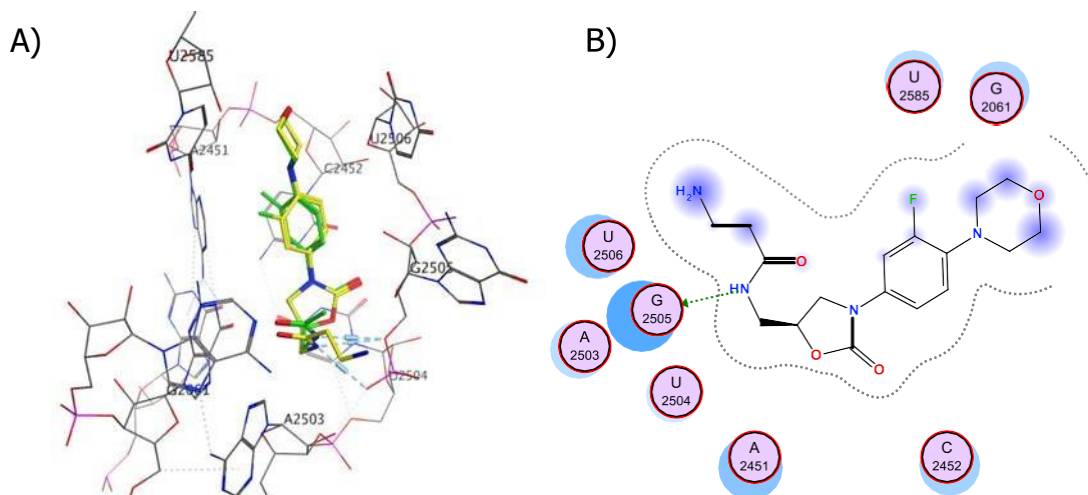


Figura 96. A) Modelado molecular E_1-7-H^+ (amarillo) y linezólida (verde) y B) mapa de interacciones de E_1-7-H^+ en el SFT en la estructura cristalina del RNAr de *E. coli*.

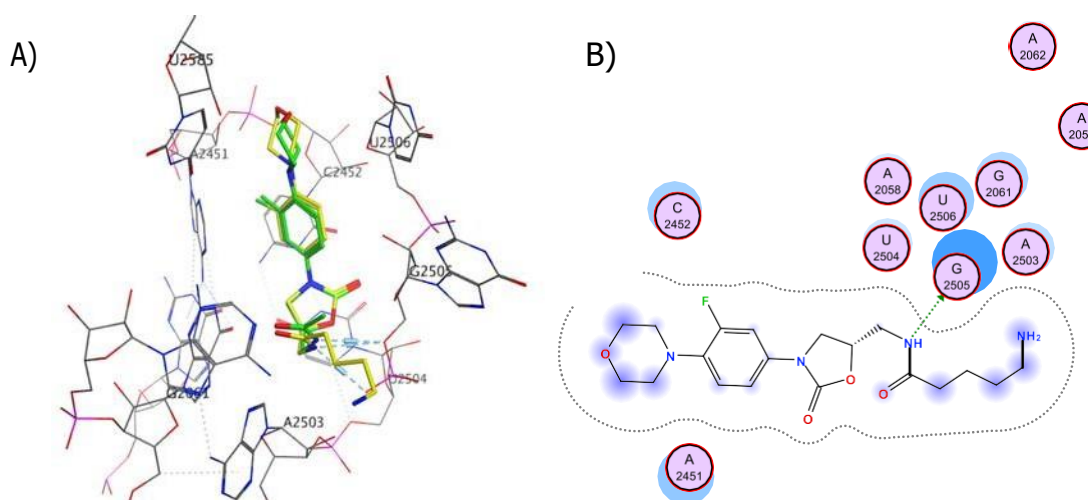


Figura 97. A) Modelado molecular de E_2-7-H^+ (amarillo) y linezólida (verde) y B) mapa de interacciones de E_2-7-H^+ en el SFT en la estructura cristalina del RNAr de *E. coli*.

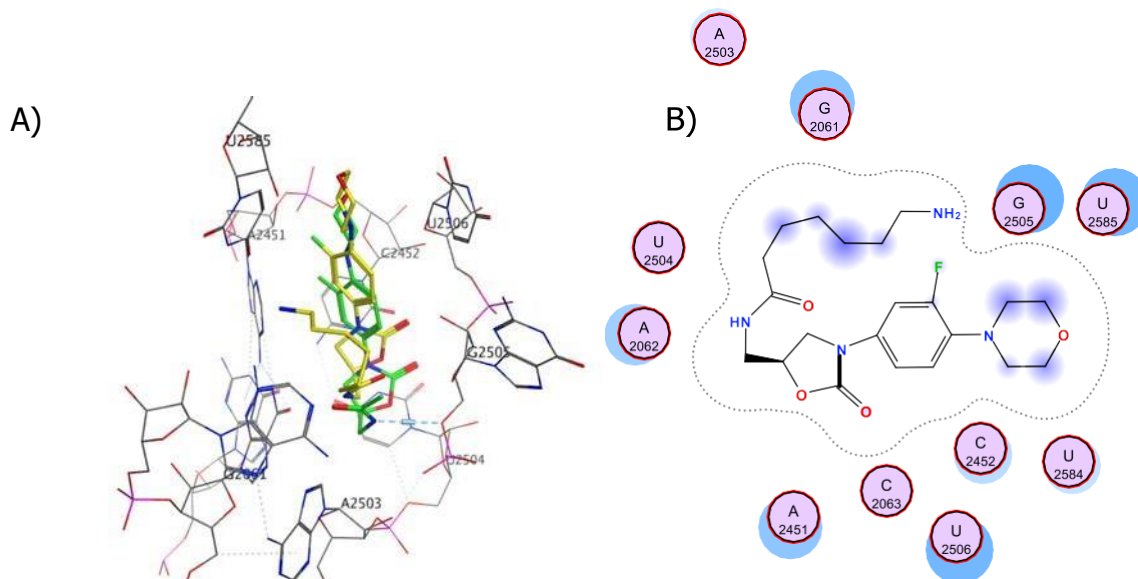


Figure 98. A) Modelado molecular de E_3-7-H^+ (amarillo) y linezólida (verde) y B) mapa de interacciones de E_3-7-H^+ en el SFT en la estructura cristalina del RNAr de *E. coli*.

Un cálculo que se realiza para predecir si un fármaco o compuesto libre puede suministrarse vía oral es aplicando los criterios de la regla de Lipinski, la cual establece ciertos parámetros que se deben cumplir para poder emplear un compuesto mediante esta vía. Esta regla posee 4 condiciones:

1. No tener más de 10 átomos aceptores de enlace de hidrógeno.
2. No tener más de 5 átomos donadores de enlace de hidrógeno.
3. Poseer un coeficiente de partición octanol-agua ($\text{LogP}_{(o/a)}$) inferior a 5.
4. Poseer un peso molecular inferior a 500.

En caso de que dos o más de estos parámetros estén fuera de su intervalo, el compuesto probablemente presentará solubilidad baja, adsorción pobre y permeabilidad, lo cual estará directamente relacionado con la capacidad de difusión pasiva a través de membranas como la membrana gastrointestinal y la barrera hematoencefálica, entre otros factores importantes. Como se observa en la Tabla 14 los compuestos antes mencionados cumplen con la regla de Lipinski y la superficie

polar (TPSA) se encuentra dentro de los parámetros para poder difundirse por membrana celular, incluso algunos al encontrarse por debajo de 90 angstroms son potenciales para atravesar la barrera hematoencefálica.

Tabla 14. Comprobación de la regla de Lipinski para los compuestos E_n-7 y E_n-7-H^+ .

Compuestos	Aceptor-H	Donador-H	LogP _(o/a)	Peso Molecular.	TPSA
E_1-7	8	3	-0.58	366.39	97.13
E_1-7-H^+	8	3	-0.58	366.39	97.13
E_2-7	8	3	0.30	394.45	97.13
E_2-7-H^+	8	3	0.30	394.45	97.13
E_3-7	8	3	1.18	422.50	97.13
E_3-7-H^+	8	3	1.18	422.50	97.13
Valores óptimos	<10	<5	<5	<500	<140

V. EXPERIMENTAL

5.1. Generalidades

En esta sección se describen los materiales, reactivos y metodología experimental que se realizó para cumplir con los objetivos planteados. El desarrollo experimental de este proyecto se realizó en Centro de Graduados e Investigación en Química del Instituto Tecnológico de Tijuana.

5.1.1. Materiales y reactivos

Cada uno de los reactivos que se emplearon en esta propuesta se obtuvo de Sigma-Aldrich. Los solventes que se utilizaron en las reacciones diferentes y estudios son de pureza HPLC y anhidros de ser requeridos.

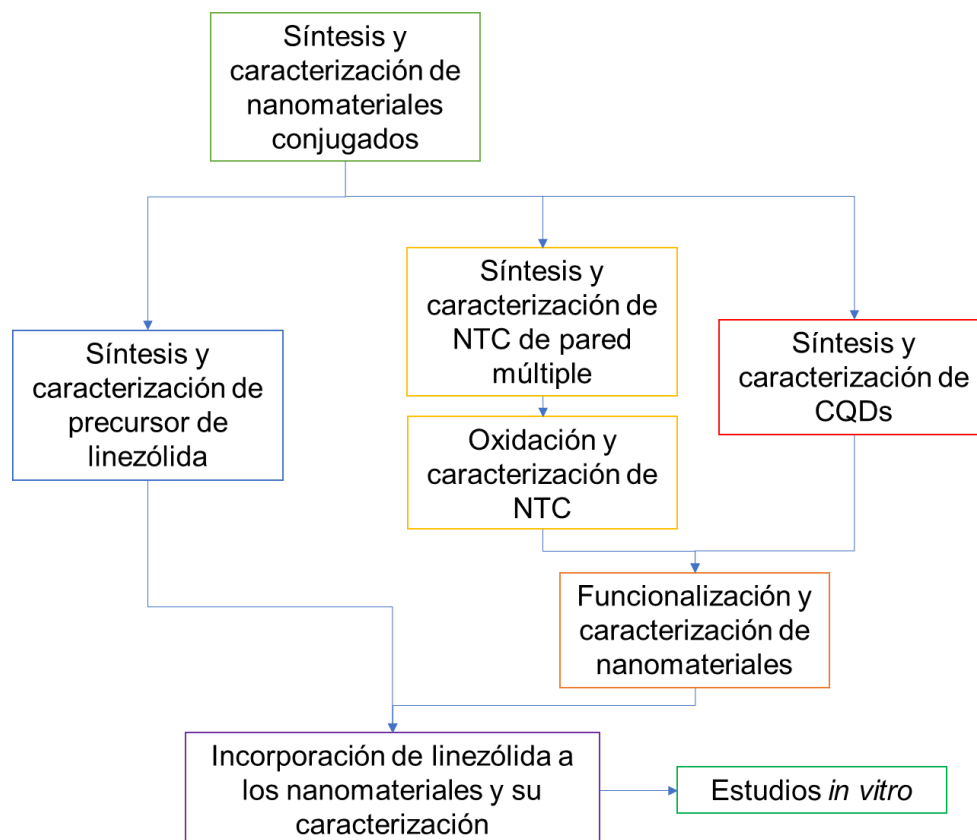
5.1.2. Equipos

1. Destilador a presión reducida, Buchi Rotavapor R110
2. Espectrofotómetro de Infrarrojo, Perkin Elmer FT-IR Spectrum 400
3. Espectrómetro de Resonancia Magnética Nuclear: Bruker Avance III HD 400 MHz
4. Espectrómetro de Masas Agilent 5975C
5. Espectrómetro de Masas JEOL MStation JM-700
6. Espectrofotómetro de fluorescencia Varian, modelo Eclipse Cary
7. Espectrofotómetro de UV/visible de doble haz Shimadzu, modelo UV2700

5.2. Metodología

En el Esquema 13 se aprecian las etapas diferentes en las que se divide este proyecto, siendo la primera la obtención del precursor de linezólida. La segunda sección se divide en la obtención y caracterización de ambos nanomateriales nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNTs) y puntos cuánticos de carbono (CD) así como su respectivas funcionalizaciones. La tercera sección se centra en la incorporación del precursor de linezólida a los nanomateriales funcionalizados.

Finalmente, la última sección de este proyecto se centra en la realización de las pruebas biológicas como estudios de actividad biológica contra bacterias de importancia clínica, como SAMR y *E. coli* MDR por los métodos de microdilución y macrodilución en caldo y difusión radial.

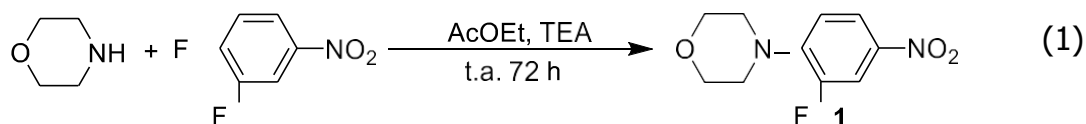


Esquema 13. Metodología de desarrollo de nanoacarreadores con base a MWCNT-Lin y CD-Lin.

5.2.1 Síntesis y caracterización de precursor de linezólida

En esta sección se describe a detalle cada una de las etapas diferentes de síntesis para obtener el precursor de linezólida con grupo amino terminal.

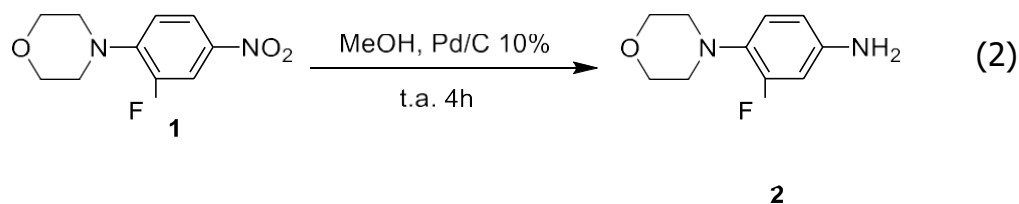
5.2.1.1. Síntesis de 4-(2-flúor-4-nitrofenil)morfolina (1)



En un matraz de fondo redondo de 250 mL se colocó morfolina (2 g, 22.95 mmol) disuelta en 100 mL de acetato de etilo seco provisto de agitación magnética. Se adicionó gota a gota TEA (11.61 g, 16 mL, 114.75 mmol) durante 15 min. Posteriormente se agregó gota a gota 3,4-difluoronitrobenceno (3.65 g, 22.95 mmol, 2.54 mL) durante 30 min y se mantuvo la reacción a temperatura ambiente por 72 h. Al término de la reacción se evaporó el solvente por medio de evaporación rotativa y el sólido obtenido se purificó por cromatografía en columna de sílice utilizando como fase móvil éter de petróleo/acetato de etilo (3:1) (3 × 100 mL) obteniendo el compuesto **1**.

4-(2-flúor-4-nitrofenil)morfolina (1). Rendimiento de 90%, sólido amarillo (4.67 g, 20.66 mmol). FTIR: 3052, 2964, 2852, 1602, 1514, 1492, 1445, 1325, 1242, 1122 cm^{-1} . RMN- ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7.99 (ddd, $J = 9.0, 2.6, 1$ Hz, 1H), 7.90 (dd, $J = 13.1, 2.6$ Hz, 1H), 6.91 (dd, $J = 9, 8.8$ Hz, 1H), 3.87 (m, 4H), 3.28 (m, 4H). RMN- ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 153.3 (d, $J_{\text{C-F}} = 249.4$ Hz), 145.6 (d, $J_{\text{C-F}} = 7.6$ Hz), 141.0 (d, $J_{\text{C-F}} = 9.5$ Hz), 121.1 (d, $J_{\text{C-F}} = 3.1$ Hz), 117.0 (d, $J_{\text{C-F}} = 3.9$ Hz), 112.7 (d, $J_{\text{C-F}} = 26.3$ Hz), 66.7, 50.1 (d, $J_{\text{C-F}} = 5.0$ Hz). EMIE m/e 226(90), 168(100), 138(20), 122(10), 95(10), 75(5).

5.2.1.2. Síntesis de 3-fluoro-morfonilinanilina (2)

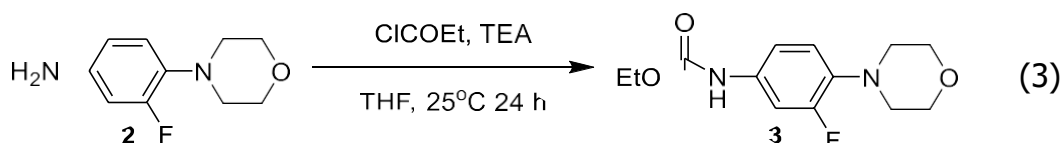


En un matraz de fondo redondo de 250 mL provisto de agitación magnética y atmósfera inerte de argón se agregó el compuesto **1** (2 g, 8.85 mmol) y Pd/C al 10% (0.018 g, 1.77 mmol) y se disolvieron en 100 mL de metanol seco. Después se colocó una atmósfera de hidrógeno y se dejó reaccionar por 4 h a temperatura ambiente. El producto obtenido se filtró realizando lavados con metanol (3 × 50 mL), y se eliminó el solvente a presión reducida. Finalmente, el producto obtenido se purificó por

cromatografía en columna de sílice utilizando como fase móvil éter de petróleo/acetato de etilo (3:2) (3 × 100 mL) obteniendo el compuesto **2**.

3-fluoro-morfonilinanilina (2). Sólido morado. Rendimiento de 68%, (1.18 g, 6.02 mmol). FTIR: 3417, 3052, 2939, 1638, 1514, 1492, 1449, 1335, 1220, 1110 cm^{-1} . RMN- ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 6.79 (dd, $J = 9.1, 8.6$ Hz, 1H), 6.41 (m, 2H), 3.84 (m, 4H), 3.55 (sa, 2NH), 2.96 (m, 4H). RMN- ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 156.9 (d, $J_{\text{C-F}} = 245.4$ Hz), 143.0 (d, $J_{\text{C-F}} = 10.3$ Hz), 131.9 (d, $J_{\text{C-F}} = 9.6$ Hz), 120.3 (d, $J_{\text{C-F}} = 4.4$ Hz), 110.6 (d, $J_{\text{C-F}} = 3.0$ Hz), 103.9 (d, $J_{\text{C-F}} = 23.8$ Hz), 67.1, 51.8 (d, $J_{\text{C-F}} = 2.5$ Hz). EMIE m/e 196 (90), 149 (15), 138 (100).

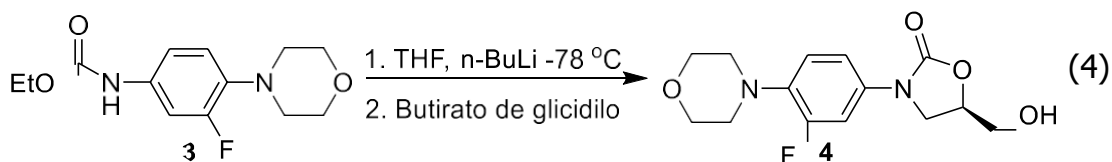
5.2.1.3. Síntesis de (3-fluoro-4-morfolinfenil)-etilcarbamato (3')



En un matraz de fondo redondo de 100 mL se colocó el compuesto **2** (0.200 g, 1.02 mmol) y se disolvió en 30 mL de THF seco provisto de agitación magnética y atmósfera de argón. Después se agregó gota a gota TEA (0.511 g, 0.71 mL, 5.10 mmol) durante 15 min. Posteriormente se agregó gota a gota cloroformato de etilo (0.122 g, 0.107 mL, 1.12 mmol) durante 15 min y se dejó la reacción a temperatura ambiente durante 4 h. Finalmente, al producto obtenido se filtró realizando lavados con agua desionizada (3 × 50 mL) y se dejó secar en un horno a 70 °C durante 4 h.

(3-fluoro-4-morfolinfenil)-etilcarbamato (3'). Rendimiento de 85%, sólido cristalino café, (0.232 g, 0.866 mmol). FTIR: 3324, 2995, 1692, 1115 cm^{-1} . RMN- ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7.27 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H), 6.97 (dd, $J = 8.6, 1.6$ Hz, 1H), 6.87 (dd, $J = 9.0, 8.8$ Hz, 1H), 6.51 (s, 1NH), 4.22 (c, $J = 7.1$ Hz, 2H), 3.86 (m, 4H), 3.03 (m, 4H), 1.30 (t, $J = 7.1$ Hz). RMN- ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 155.7 (d, $J_{\text{C-F}} = 245.7$ Hz), 153.7, 135.7 (d, $J_{\text{C-F}} = 9.1$ Hz), 133.5 (d, $J_{\text{C-F}} = 10.9$ Hz), 119.2 (d, $J_{\text{C-F}} = 4.1$ Hz), 114.6 (d, $J_{\text{C-F}} = 9.3$ Hz), 108.0 (d, $J_{\text{C-F}} = 33.0$ Hz), 67.2, 61.5, 51.3 (d, $J_{\text{C-F}} = 3.0$ Hz), 14.7. EMIE m/e: 268 (100) 240(10), 222(15), 210(60), 195(15), 182(20), 164(20), 137(30).

5.2.1.4. Síntesis de 3-(3-fluoro-4-morfolinofenil)-5-(hidroximetil)oxazolidin-2-ona (4)

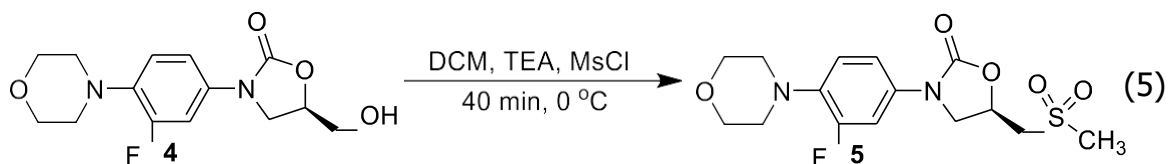


En un matraz de fondo redondo de 50 mL se colocó el compuesto 3 (0.200 g, 0.75 mmol) y se disolvió en 25 mL de THF seco provisto de agitación magnética y atmósfera de argón a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Después se agregó gota a gota n-BuLi (0.33 mL, 0.82 mmol) durante 15 min. Posteriormente se agregó gota a gota el butirato de glicidilo (0.118 g, 0.115 mL, 0.82 mmol) durante 15 min a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se dejó la reacción a temperatura ambiente durante 12 h. Después, al producto se agregó una solución saturada de cloruro de amonio para amortiguar la reacción y posteriormente se realizaron extracciones con acetato de etilo ($3 \times 50\text{ mL}$). Finalmente, el producto obtenido se purificó por cromatografía en columna de sílice utilizando como fase móvil éter de petróleo/acetato de etilo (2:3) ($3 \times 200\text{ mL}$) obteniendo el compuesto 4.

(R)-[N-3-(3-fluoro-4-morfolinilfenil)-2-oxo-5-oxazolidinil]metanol (4).

Rendimiento de 50%, sólido blanco. (0.110 g, 0.373 mmol). FTIR: 3404, 3246, 2933, 2840, 1732, 1514, 1451, 1418, 1227 cm^{-1} . RMN- ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 7.43 (dd, $J = 14.4, 2.6\text{ Hz}$, 1H), 7.11 (ddd, $J = 9.0, 2.6, 1.2\text{ Hz}$, 1H), 6.91 (t, $J = 9.0\text{ Hz}$, 1H), 4.72 (m, 1H), 3.96 (m, 3H), 3.86 (m, 4H), 3.74 (m, 1H), 3.03 (m, 4H), 2.96 (m, 1H). RMN- ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 155.5 (d, $J = 246.1\text{ Hz}$), 154.8, 136.4 (d, $J = 9.1\text{ Hz}$), 133.2 (d, $J = 10.4\text{ Hz}$), 118.9 (d, $J = 4.3\text{ Hz}$), 114.0 (d, $J = 3.3\text{ Hz}$), 107.5 (d, $J = 26.4\text{ Hz}$), 72.9, 67.0, 62.7, 51.0 (d, $J = 3.0\text{ Hz}$), 46.4. EMIE m/e : 296 (100) 238 (50), 164 (13), 149 (40).

5.2.1.5. Síntesis de (R)-3-(3-fluoro-4-morfolinofenil)-5((metiltio)metil)oxazolidin-2-ona (5)

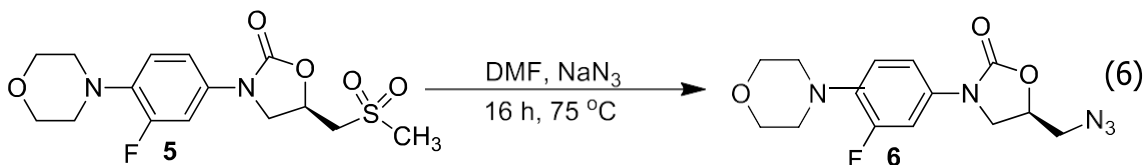


En un matraz de fondo redondo de 50 mL se colocó el compuesto **4** (0.100 g, 0.338 mmol) y se disolvió en 25 mL de DCM seco provisto de agitación magnética y atmósfera de argón. Después se agregó gota a gota TEA (0.067 g, 0.093 mL, 0.67 mmol) durante 15 min. Posteriormente se agregó gota a gota cloruro de metanosulfonilo (0.054 g, 0.037 mL, 0.47 mmol) durante 15 min y se dejó la reacción a 0 °C durante 40 min. Finalmente, al producto obtenido se filtró realizando lavados con agua desionizada (3 × 50 mL) y se dejó secar en un horno a 70 °C durante 4 h.

(R)-3-(3-fluoro-4-morfolinofenil)-5((metiltio)metil)oxazolidin-2-ona (5).

Rendimiento de 98%, sólido blanco. (0.124 g, 0.330 mmol). RMN-¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.50 (dd, *J* = 15.0, 2.4 Hz, 1H), 7.21 (dd, *J* = 9.1, 2.4 Hz, 1H), 7.07 (t, *J* = 9.1 Hz, 1H), 4.99 (m, 1H), 4.48 (m, 2H), 4.16 (t, *J* = 9.3 Hz, 1H), 3.80 (dd, *J* = 9.3, 6.2 Hz, 1H), 3.78 (m, 4H), 3.24 (s, 3H), 2.97 (m, 4H).

5.2.1.6. Síntesis de (R)-3-(3-fluoro-4-morfolinofenil)-5(azidometil)oxazolidin-2-ona (6)



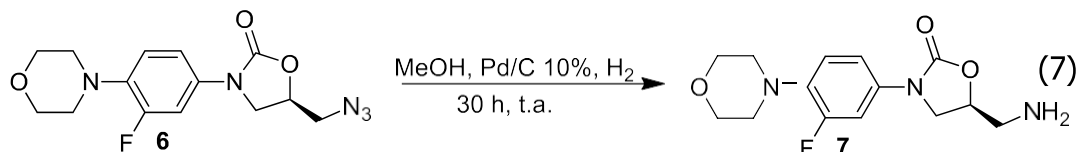
En un matraz de fondo redondo de 50 mL se colocó el compuesto **5** (0.100 g, 0.267 mmol) con azida de sodio (0.070 g, 1.069 mmol) y se disolvió en 25 mL de DMF provisto de agitación magnética y atmósfera de argón. Después se calentó la reacción a 75 °C durante 16 h. Finalmente, al producto obtenido se le realizó una extracción con 50 mL de una solución acuosa saturada de cloruro de sodio y DCM (3 × 50 mL). La

fase orgánica se secó con sulfato de magnesio y posteriormente se evaporó en un horno de vacío para eliminar todo el solvente posible.

(R)-3-(3-fluoro-4-morfolinofenil)-5(azidometil)-oxazolidin-2-ona (6)

Rendimiento de 25%, sólido rojo brillante. (0.021 g, 0.067 mmol). RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7.44 (dd, *J* = 14.4, 2.6 Hz, 1H), 7.13 (ddd, *J* = 9.0, 2.6, 1.2 Hz, 1H), 6.93 (t, *J* = 9.0 Hz, 1H), 4.87 (m, 1H), 4.12 (t, *J* = 9.0 Hz, 1H), 3.90 (dd, *J* = 9.0, 5.5 Hz, 1H), 3.62 (m, 4H), 3.77 (d, *J* = 5.5 Hz, 2H), 3.01 (m, 4H). RMN-¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ 155.5 (d, *J* = 246.5 Hz), 153.8, 136.6 (d, *J* = 9.0 Hz), 132.9 (d, *J* = 10.5 Hz), 118.9 (d, *J* = 4.2 Hz), 114.0 (d, *J* = 3.4 Hz), 107.6 (d, *J* = 26.3 Hz), 70.9, 66.9, 51.0 (d, *J* = 3.0 Hz), 48.2, 44.6. EMIE *m/e*: 321 (100) 235 (5), 209(10), 191(35), 151 (11), 150(30), 149 (25).

5.2.1.7. Síntesis de (R)-3-(3-fluoro-4-morfolinofenil)-5(aminometil)-oxazolidin-2-ona (7)



En un matraz de fondo redondo de 50 mL provisto de agitación magnética y atmósfera inerte de argón se agregó el compuesto 6 (0.020 g, 0.061 mmol) y Pd/C al 10% (0.060 g, 0.563 mmol) y se disolvieron en 15 mL de metanol seco. Después se colocó una atmósfera de hidrógeno y se dejó reaccionar a temperatura ambiente por 24 h. Se evacuó la reacción y se agregó más atmósfera de hidrógeno y se dejó por 12 h más a temperatura ambiente. El producto obtenido se filtró realizando lavados con metanol (3 × 20 mL), y se eliminó el solvente a presión reducida.

(R)-3-(3-fluoro-4-morfolinofenil)-5(aminometil)-oxazolidin-2-ona (7)

Rendimiento de 28%, sólido blanco. (0.005 g, 0.017 mmol). RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7.36 (dd, *J* = 14.4, 2.6 Hz, 1H), 7.00 (ddd, *J* = 9.0, 2.6, 1.1 Hz, 1H), 6.84 (t, *J* = 9.0 Hz, 1H), 4.86 (m, 1H), 4.07 (t, *J* = 9.0 Hz, 1H), 3.81 (dd, *J* = 9.0, 5.8 Hz, 1H), 3.73 (m,

6H), 3.01 (m, 4H). RMN-¹³C (100 MHz, DMSO-d₆) δ 154.6 (d, *J* = 243.9 Hz), 154.0 , 135.5 (d, *J* = 8.9 Hz), 133.4 (d, *J* = 10.5 Hz), 119.2 (d, *J* = 4.3 Hz), 114.2 (d, *J* = 3.1 Hz), 106.7 (d, *J* = 26.1 Hz), 72.0 , 66.1 , 50.7 (d, *J* = 3.0 Hz), 47.2 , 43.0. EMIE m/e: 321 (100) 235 (5), 209(22), 164 (13), 151 (21), 150(9), 149 (6).

5.3. Síntesis de nanomateriales

5.3.1. Síntesis de nanotubos de carbono de pared múltiple

La síntesis de MWCNT se realizó por medio del método nebulización pirolítica, con base a lo reportado por Moreno Valle-Ramirez.⁵⁷ Se prepararon dos soluciones 0.2 y 0.1 M de ferroceno en 6 mL de tolueno. Individualmente se pasaron cada una de las soluciones a una jeringa de 10 mL y colocó en una bomba de flujo conectado al sistema de nebulización con un flujo en la entrada de argón moderado. La solución se hizo pasar por el nebulizador adaptado en un tubo de cuarzo de longitud de 41 cm colocado en un horno tubular a una temperatura de 850 °C durante 30 minutos. Finalmente, al producto se purificó realizando lavados con tolueno, agua y acetona y se secó en un horno a 100 °C durante 8 h obteniendo los nanotubos de carbono MWCNT-2 y MWCNT-1.

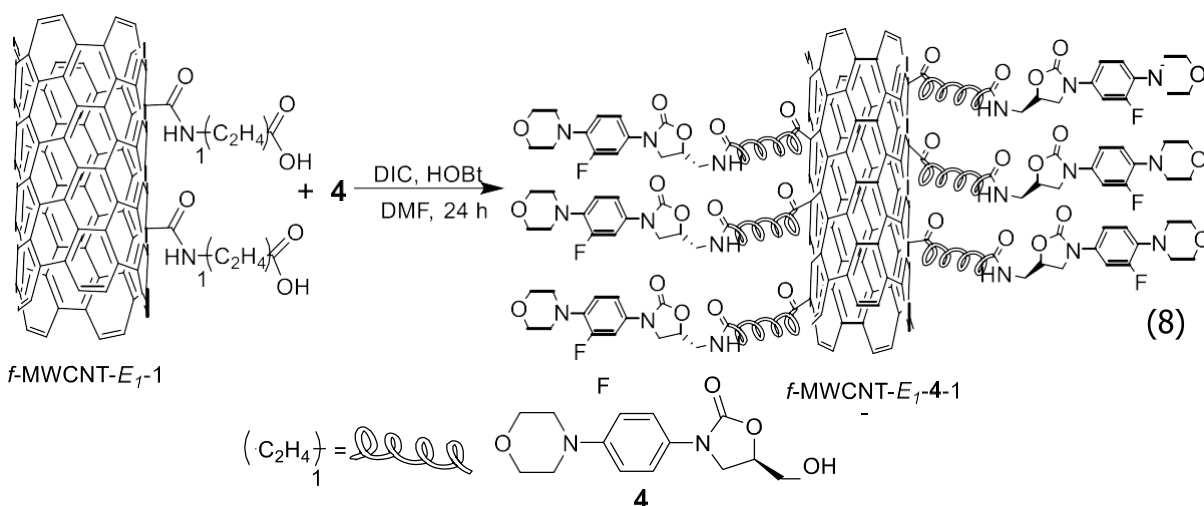
5.3.2. Oxidación de nanotubos de carbono de pared múltiple

Para la oxidación de los nanotubos de carbono en un matraz de fondo redondo se colocaron 50 mg de MWCNT en 20 mL de ácido nítrico concentrado. Para una mejor dispersión se colocó el matraz con la solución en ultrasonido por 20 min, y posteriormente se calentó la reacción a 90 °C durante 8 h en agitación constante. Habiendo terminado el tiempo de reacción el producto se filtró al vacío empleando una malla de microfiltración resistente a medio ácido con agua desionizada (5 × 100 mL) y acetona (2 × 100 mL). Finalmente, se secarán en un horno a 80 °C y se obtuvieron las muestras Ox-MWCNT-2 y Ox-MWCNT-1

5.3.3. Funcionalización de Nanotubos de carbono de pared múltiple con espaciadores de longitud variable

Para funcionalizar los MWCNT oxidados con espaciadores de longitud variable β -alanina, ácido 5-aminopentanoico y ácido 7-aminoheptanoico se utilizó la metodología reportada por Moreno Valle-Ramirez.⁵⁷ Primero, 30 mg de MWCNT-1 y MWCNT-2 en THF seco y atmósfera inerte se hicieron reaccionar con bromuro de tionilo durante 48 h a temperatura ambiente provisto de agitación magnética; después se incorporaron los espaciadores diferentes y se hicieron reaccionar en THF seco y atmósfera inerte durante 12 horas a temperatura ambiente, obteniendo finalmente los nanotubos funcionalizados f -MWCNT- E_n -1 y f -MWCNT- E_n -2.

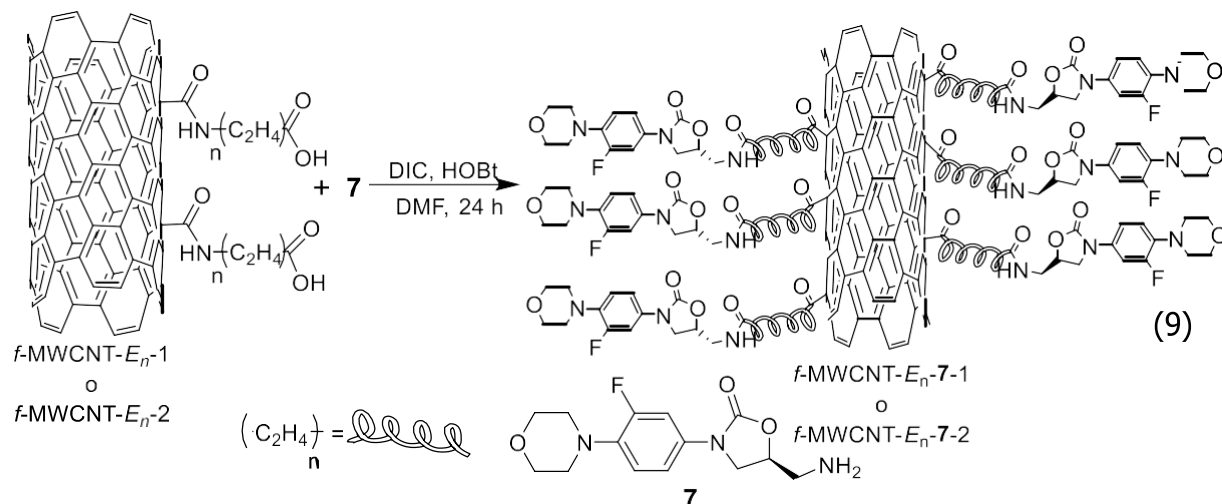
5.3.4. Funcionalización de nanotubos de carbono de pared múltiple con el compuesto **4**



Los MWCNT funcionalizados con β -alanina se hicieron reaccionar con el hidroxilo de linezólida **4** utilizando la metodología reportada por Moreno Valle-Ramírez.⁵⁷ Primero, 20 mg de f -MWCNT- E_1 -1 en DMF y atmósfera inerte se hicieron reaccionar con DIC durante 15 min a temperatura ambiente provisto de agitación magnética; después se incorporaron HoBt y posteriormente se hicieron reaccionar con **4** durante

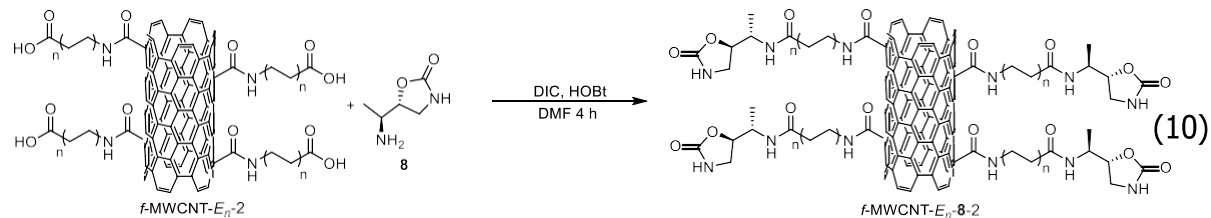
4 h a temperatura ambiente, obteniendo finalmente los nanotubos funcionalizados mediante la formación de un éster entre el hidroxilo y los ácidos carboxílicos .

5.3.5 Funcionalización de nanotubos de carbono de pared múltiple con el compuesto 7.



Los MWCNT funcionalizados con los espaciadores de longitud variable se hicieron reaccionar con el amino de linezólida **7** utilizando la metodología reportada por Moreno Valle-Ramírez.⁵⁷ Primero, 20 mg de $f\text{-MWCNT-}E_n\text{-1}$ o $f\text{-MWCNT-}E_n\text{-2}$ en DMF y atmósfera inerte se hicieron reaccionar con DIC durante 15 min a temperatura ambiente provisto de agitación magnética; después se incorporaron HoBt y posteriormente se hicieron reaccionar con **7** durante 24 h a temperatura ambiente, obteniendo finalmente los nanotubos funcionalizados mediante la formación de un amida entre el amino y los ácidos carboxílicos.

5.3.6 Funcionalización de nanotubos de carbono de pared múltiple con el compuesto 8.



Los MWCNT-2 funcionalizados con los espaciadores de longitud variable se hicieron reaccionar con el compuesto **8** utilizando la metodología reportada por Moreno Valle-Ramírez.⁵⁷ Primero, 20 mg de *f*-MWCNT-*E_n*-2 en DMF y atmósfera inerte se hicieron reaccionar con DIC durante 15 min a temperatura ambiente provisto de agitación magnética; después se incorporaron HoBt y posteriormente se hicieron reaccionar con **8** durante 24 h a temperatura ambiente, obteniendo finalmente los nanotubos funcionalizados mediante la formación de un amida entre el amino y los ácidos carboxílicos.

5.3.7 Síntesis de los puntos cuánticos de carbono (CD)

Se realizó la síntesis de dos tipos de CDs para estudiar el efecto de las características hidrofílicas o hidrofóbicas en las propiedades de fotoluminiscentes y citocompatibilidad de los futuros nanocompositos.

La síntesis de CD hidrofílicos se realizó empleando la metodología reportado por Wang y colaboradores,⁴⁷ variando el calentamiento clásico por un calentamiento mediado por microondas.

Se prepararon dos soluciones de ácido ascórbico disolviendo 0.18 g de en 19 mL de agua y posteriormente se agregó 1.0 mL de una solución de acetato de cobre (II) 0.1 M y se aforó a 20 mL. Lo anterior, se realizó por triplicado y las mezclas se colocaron en tres reactores. Después, los reactores se colocaron en un horno de microondas en donde se emplearon una rampa de calentamiento de 5 min hasta 90 °C y manteniendo esta temperatura por 15 min. Finalmente, se dejó enfriar los reactores durante 30 min y las soluciones obtenidas se centrifugaron a 5000 rpm por 30 min y se filtraron realizando lavados con agua (2 × 100 mL) para eliminar el residuo metálico de Cu. Los CD presentaron una banda de absorción ancha a 200 nm, una λ_{ex} max = 357 nm y una λ_{em} max = 444 nm.

La síntesis de los CD hidrofóbicos se realizó colocando 15 mL de ODE y 1.5 g de HDA en un matraz de tres bocas de 100 mL provisto de argón durante 10 minutos.

Se calentó la reacción a 300 °C y se agregaron rápidamente 1 g de ácido cítrico a la solución con agitación vigorosa y luego manteniendo la reacción a 300 °C durante 3 h. La solución resultante se enfrió a temperatura ambiente. Finalmente, el producto se purificó realizando tres lavados con acetona. Los h-CD presentaron una banda de absorción ancha 230 nm, una $\lambda_{\text{ex max}} = 394$ nm y una $\lambda_{\text{em max}} = 478$ nm.

También se sintetizaron tres lotes de CDs-NH₂ utilizando el método reportado por Yang y colaboradores.⁷² Se agregaron 1.26 g de ácido cítrico (6.56 mmol) y 1.61 mL de etilendiamina (1.45 g, 24.07 mmol) en 30 mL de agua. Luego, la solución se transfirió a un reactor autoclave revestido con Teflón de 100 mL. El primer lote se obtuvo con un tiempo de reacción de 5 h y temperatura 200 °C, el segundo de 5 h y 180 °C, el tercer de 24 h y 180 °C. El reactor se enfrió hasta bajar a temperatura ambiente y parte de las soluciones obtenidas se dializaron durante 30 min. Posteriormente, las soluciones sin dializar y dializadas se liofilizaron durante un periodo de 12 h, obteniendo finalmente los CDs-NH₂ puros. Las soluciones sin dializar mostraron un rendimiento en peso de los CDs-NH₂ 77%, 79% y 80% en los lotes 1, 2 y 3, respectivamente. Por otra parte, los rendimientos en peso de las soluciones dializadas fueron de 1%, 57% y 47% para los lotes 1, 2 y 3, respectivamente. El rendimiento tan bajo del lote uno se debe a que el tiempo de diálisis fue de 24 h.

5.3.7 Funcionalización de CD con espaciadores de longitud variable

En la funcionalización de CD con los espaciadores β -alanina, ácido 5-aminopentanoico y ácido 7-aminoheptanoico se utilizó la metodología reportada por Moreno-Valle.⁵⁷ Primero, 20 mg de CDs-NH₂-3 liofilizados se dispersaron mediante ultrasonido en THF seco y atmósfera inerte, después se hicieron reaccionar con bromuro de tionilo (40 mg) durante una hora en ultrasonido, la mezcla de reacción se mantuvo en agitación constante por 48 h a temperatura ambiente; después se añadió el aminoácido alquílico correspondiente (18 mg) y se mantuvo en agitación y atmósfera inerte durante 12 h a temperatura ambiente, obteniendo finalmente los puntos cuánticos de carbono funcionalizados (CDs-NH₂-E_n-#).

5.4 Estudios de actividad antibacteriana

El efecto antibacteriano de los nanomateriales sintetizados se evaluó mediante el ensayo de difusión radial y macrodilución en caldo contra las cepas listadas en la Tabla 15 y utilizando como control linezólida.

Tabla 15. Cepas utilizadas en ensayos biológicos.

Cepas Gram positivas	Cepas Gram negativas
<i>Streptococcus</i> grupo A (aislado clínico)	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Escherichia coli</i> (aislado clínico)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	<i>Salmonella typhi</i> (aislado clínico)
<i>Staphylococcus aureus</i> (aislado clínico)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853
SARM ATCC 43300	
SARM-01 (aislado clínico)	
SARM-02 (aislado clínico)	
SARM-03 (aislado clínico)	
SARM-04 (aislado clínico)	
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	
SARM: <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina	

5.4.1 Ensayo de difusión radial

Primero, se realizó el cultivo de las cepas a evaluar en medio tripteína soya agar (TSA) y luego se incubó durante 18-20 h a 37 °C. Después, se prepararon suspensiones de inóculo en 4 mL de caldo Mueller Hinton ajustando su turbidez a 0.5 del estándar de McFarland (1×10^8 UFC/mL; %A = 0.08 ± 0.1 a una longitud de onda de 625 nm). Un hisopo estéril se humedeció con la solución; el exceso se retiró y se colocó en la caja con medio del agar sobre toda la superficie. Una vez secado el inóculo

(3-5 min), se colocaron en la superficie del agar 15 μ L de una dispersión equivalente a 20 μ g de nanomaterial y control en la misma placa. Después de 15 min la placa de Petri se invirtió y se incubó (37 °C/16-18 h). Finalmente, se midieron visualmente los halos de inhibición.

5.4.2 Ensayo de microdilución en caldo de Mueller Hinton

Primero se hizo el sembrado de las bacterias en medio de agar soya tripteína (TSA) y luego se incubó durante 18-20 h a 37 °C. A partir de estos cultivos, se prepararon suspensiones de los inóculos en 2 mL de solución salina (0.85 % p/v) ajustando su turbidez a 0.5 del estándar de McFarland (1×10^8 UFC/mL; %T=62.7 \pm 0.5). Finalmente, se preparó el inóculo tomando 0.1 mL de las suspensiones y se añadieron a 9.9 mL de medio Mueller Hinton (1×10^6 UFC/mL).

Para el ensayo se utilizaron placas tipo ELISA fondo en U de 96 pocillos con tapa, y se llenaron de la siguiente manera. Se añadieron 50 μ L de la suspensión del nanomaterial a una concentración doble a la concentración a evaluar en todas las columnas de las filas A a G, mientras que en todos los pozos de la fila H se añadieron 50 μ L del solvente utilizado en las dispersiones de NTC. Posteriormente se añadieron 50 μ L del inóculo de la bacteria problema en todas las filas en las columnas 2 a 12, mientras que en la columna 1 se añadieron 50 μ L de caldo Mueller Hinton. La columna 1 se utilizó como blanco, ya que no contenía inóculo, y la fila H se usó como control de crecimiento debido a que no contenía el nanomaterial a evaluar. Al terminar de llenar las placas se procedió a taparlas y sellarlas con parafilm, y se incubaron a 37 °C durante 18-20 h. Por último, se llevó a cabo la lectura de las placas. La presencia de turbidez y/o un botón de crecimiento bacteriano en el fondo de los pocillos indicó crecimiento de bacterias, mientras que la ausencia de éstos, indicaba actividad antibacteriana del nanomaterial evaluado.

5.4.3 Ensayo de macrodilución en caldo de Mueller Hinton

Primero, se realizó el cultivo de las cepas a evaluar en medio TSA y luego se incubó durante 18-20 h a 37 °C. A partir de estos cultivos, se preparó una suspensión en 2.0 mL de solución salina (0.85% p/v) ajustando su turbidez a 0.5 del estándar de

McFarland (1×10^8 UFC/mL; %A=0.08 \pm 0.1 a una longitud de onda de 625 nm). Finalmente, se preparó el inóculo tomando 0.1 mL de la suspensión anterior y diluido con 9.9 mL del medio Mueller Hinton (1×10^6 UFC/mL).

En el ensayo se utilizaron celdas de espectrofotómetro con tapa. En la celda blanco (A_1), se mezcló una alícuota de dispersión de nanomateriales (600 μ L) al doble de la concentración a evaluar con 600 μ L del caldo Mueller Hinton. La celda de control de crecimiento (A_2) se preparó mezclando 600 μ L del inóculo bacteriano y 600 μ L del caldo Mueller Hinton. La celda de evaluación (A_3) se preparó mezclando 600 μ L de la dispersión de nanomateriales (al doble de la concentración a evaluar) y 600 μ L del inóculo bacteriano. La absorbancia a 625 nm se midió en el espectrofotómetro para cada celda antes de la incubación. Después, todas las celdas se incubaron en un baño de agitación a 37 °C y 100 rpm durante 18-20 h. Después del tiempo de incubación, se volvió a medir la absorbancia de las celdas en el espectrofotómetro. El porcentaje de crecimiento o inhibición de las bacterias se calculó considerando la absorbancia de las celdas antes y después de la incubación utilizando la ecuación 11.

$$\% \text{ Inhibición} = \left(1 - \frac{(A_3 - A_{3_o}) - A_1}{A_2 - A_{2_o}} \right) \times 100 \quad (11)$$

Donde:

A_1 Absorbancia de la celda blanco

A_{2_o} Absorbancia inicial de la celda de control de crecimiento

A_2 Absorbancia final de la celda de control de crecimiento

A_{3_o} Absorbancia inicial de la celda de evaluación

A_3 Absorbancia final de la celda de evaluación.

5.5. Estudio de acoplamiento molecular automatizado o *docking*.

Los estudios de acoplamiento molecular automatizado se realizaron con la estructura cristalográfica de ARN ribosomal (ARNr) de *E. coli* en el programa MOE 2018. La estructura cristalina de ARNr ribosomal se obtuvo del *Protein Data Bank* (PDB) para realizar el *docking* con los compuestos empleando la estructura PDB ID: 4V4Q. Para preparar la estructura cristalográfica se eliminaron todos los ligandos (porejemplo, ion magnesio, moléculas de agua y proteínas ribosomales) y una cadena repetida de ARN ribosomal. Una vez que la estructura del ARN ribosomal de *E. coli* fue arreglada, la geometría de los modelos se optimizó con la aplicación QuickPrep implementada en MOE que agrega átomos de hidrógeno y establece los estados de protonación, fija los átomos del receptor lejos del ligando y deja los átomos del receptor cerca del ligando.

5.5.1. Estudio de acoplamiento molecular automatizado de linezólida con MOE 2018.

Posteriormente de haberse preparado la estructura del ARN ribosomal se minimizó la energía de la estructura de linezólida, considerando flexibles los átomos, tanto del ligando como del receptor en el *docking*. El acoplamiento molecular se realizó con el campo de fuerza Amber10:EHT empleando las opciones pre-determinadas. Finalmente, se guardó el resultado del acoplamiento mejor. El *docking* con MOE reveló que el software es capaz de acoplar linezólida en el sitio de la fosforiltransferasa (SFT), la cual es la base para realizar los estudios de los compuestos obtenidos.

En el *docking* con MOE de linezólida se observó la interacción señalada por el programa (enlace de hidrógeno) entre el hidrógeno del amino de linezólida y el oxígeno 5' del grupo fosfato del residuo G2505 del ARN ribosomal (ARNr). En este acoplamiento la puntuación fue buena con un valor de -7.21. También se realizó un segundo *docking* de linezólida en SFT del mismo fragmento de ARNr de *E. coli*, pero ahora con el programa LEDOCK 2018, obteniendo una pose similar al obtenido por MOE.

Por último, se determinaron los valores de puntuación, energía de conformación y energía de colocación de las estructuras **7**, $E_n\text{-7}$ y $E_n\text{-7-H}^+$. Estos valores los asigna el programa después de realizar varios cálculos y están relacionados con la calidad del acoplamiento, donde, puntajes más bajos (valores más negativos) indican los acoplamientos más favorables. Finalmente, se seleccionaron y visualizaron las estructuras con los valores mejores.

VI. CONCLUSIONES

1. Las condiciones experimentales empleadas permiten la síntesis del precursor de linezólida **7** mediante una secuencia de siete reacciones con rendimientos desde bajos hasta altos (25 a 90 %).
2. La concentración de ferroceno en tolueno en la solución precursora afecta las características morfológicas y superficiales de los MWCNT prístinos. Sin embargo, esta diferencia no influye en las propiedades antibacterianas porque esta actividad está relacionada con el material orgánico incorporado en la superficie del MWCNT.
3. El tratamiento oxidativo con ácido nítrico utilizado permite obtener un grado razonable de funcionalización sin comprometer la integridad de los MWCNT, generando defectos superficiales y reduciendo el residuo metálico (4.8-6.8%), con un grado de funcionalización considerable de 1.3 $\mu\text{mol}/\text{mg}$.
4. La metodología de funcionalización de los MWCNT permite la unión con espaciadores de longitud diferente, así como la incorporación de diversos compuestos con actividad antibacteriana (**7** y **8**) con porcentajes de material orgánico incorporado entre el 14.2-16.8%.
5. El tiempo de reacción influye en el grado de funcionalización con los espaciadores y la incorporación del compuesto **7** mostrando la formación de una membrana de mayor tamaño sobre la superficie de los MWCNT a mayores tiempos.
6. La síntesis de CDs y funcionalización con compuestos orgánicos mediante la metodología empleada en este proyecto permite la obtención de manera efectiva con propiedades espectroscópicas y fotoluminiscentes diferentes las

cuales pueden ser exploradas con detalle mayor en algún proyecto de investigación a futuro.

7. Los ensayos de actividad antibacteriana mostraron que los MWCNT prístinos, Ox-MWCNT-#, f -MWCNT- E_n -#, el f -MWCNT- E_1 -4-1 y f -MWCNT-7-# no poseen actividad, al no presentar una molécula con los grupos funcionales necesarios para establecer las interacciones y conformación favorables con el sitio de acción.
8. Los ensayos de actividad antibacteriana de los f -MWCNT- E_n -7-# y el modelado molecular de las estructuras libres E_n -7, sugieren que la actividad antibacteriana está relacionada con la longitud de la cadena de oligometileno (E_n), la similitud de la pose de la molécula respecto a la de linezólida y las interacciones intermoleculares en el SFT.
9. Estos nanomateriales presentan una potencia significativa ya que tienen un contenido de alrededor del 15% de la molécula bioactiva sobre el nanomaterial y su actividad es similar o incluso mayor que la observada por linezólida en algunas de las cepas estudiadas.
10. La presencia de una cadena alquílica en la estructura de estos análogos de linezólida aumenta la actividad contra cepas de bacterias Gram negativas.
11. Los ensayos de actividad antibacteriana por difusión radial muestran que el nanomaterial antibacteriano mejor fue el f -MWCNT- E_1 -8-2 en comparación al resto de f -MWCNT- E_n -8-2 al ser activo contra varias cepas bacterianas, debido a una carga del compuesto activo mayor en el MWCNT.

12. Los resultados antibacterianos obtenidos con la serie f -MWCNT- E_n -**8**-2 contra la cepa de *Staphylococcus aureus* de aislada clínico demuestran un efecto significativo de la longitud de la cadena de oligometileno (E_n).

13. Los ensayos de actividad antibacteriana por macrodilución en caldo de Mueller Hinton del f -MWCNT- E_2 -**8**-2 mostraron que su incorporación sobre el nanomaterial mejora la actividad en comparación al compuesto libre ya que presenta un porcentaje de inhibición del 99.8% incluso con una carga de aproximadamente un 16.6% del compuesto **8** por peso del nanomaterial.

VII. REFERENCIAS y/o BIBLIOGRAFÍA

1. Ponce, S. P.; Molinar-Ramos, F.; Domínguez-Cherit, G.; Rangel-Frausto, M. S.; Vazquez-Ramos, V. G. Prevalence of infections in intensive care units in México: a multicenter study. *Crit. Care Med.* **2000**, *28*, 1316-1321.
2. Murray, P. R.; Tenover, M. C.; Tenover, M. A. *Microbiología Médica*; Elsevier Mosby: Madrid, 2006; p 963.
3. Arreguín, R.; González, R.; De-La-Torre, A. Infecciones adquiridas en los hospitales ¿cuánto cuestan y como se calculan? *Rev. Digit. Univ.* **2012**, *13*, 3-10.
4. Lawe-Davie O. y Bennett S. Cibercita. En: Organización Mundial de la Salud (OMS). Página virtual, <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/bacteria-antibiotics-needed/es/>, 2017
5. Dixit, P. P.; Nair, P. S.; Patil, V. J.; Jain, S.; Arora, S. K.; Sinha, N. Synthesis and antibacterial activity of novel (un)substituted benzotriazolyl oxazolidinone derivatives. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *15*, 3002-3005.
6. Ippolito, J. A.; Kanyo, Z. F.; Zoltan F. Wang, D. Franceschi, F. J.; Moore, P. B.; Steitz, T. A.; Duffy, E. M. Crystal Structure of the Oxazolidinone Antibiotic Linezolid Bound to the 50S Ribosomal Subunit. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 3353-3356.
7. Ferrari, M. Cancer nanotechnology: Opportunities and challenges. *Nat. Rev. Cancer* **2005**, *5*, 161-171.
8. Fortina, P.; Kricka, L. J.; Surrey, S.; Grodzinski, P. Nanobiotechnology: The promise and reality of new approaches to molecular recognition. *Trends. Biotechnol.* **2005**, *23*, 168-173.
9. Kang, S.; Herzberg, M.; Rodrigues, D. F.; Elimelech, M. Antibacterial Effects of Carbon Nanotubes: Size Does Matter. *Langmuir* **2008**, *24*, 6409-6413.
10. Lim, S. Y.; Shen, W.; Gao, Z. Carbon quantum dots and their applications. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 362-381.

11. Renslo, A. R.; Jaishankar, P.; Venkatachalam, R.; Hackbarth, C.; Lopez, S. Conformational Constraint in Oxazolidinone Antibacterials. Synthesis and Structure-Activity Studies of (Azabicyclo[3.1.0]hexylphenyl)oxazolidinones. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 5009-5024.
12. Brickner, S. J.; Barbachyn, M. R.; Hutchinson, D. K.; Manninen, P.R. Linezolid (ZYVOX), the First Member of a Completely New Class of Antibacterial Agents for Treatment of Serious Gram-Positive Infections. *J. Med. Chem.* **2008**, *41*, 1981-1990.
13. Brickner, S. J.; Hutchinson, D. K.; Barbachyn, M. R.; Manninen, P. R.; Ulanowicz, D. A.; Garmon, S. A.; Grega, K. C.; Hendges, S. K.; Toops, D. S.; Ford, C. W.; Zurenko, G. E. Synthesis and Antibacterial Activity of U-100592 and U-100766, Two Oxazolidinone Antibacterial Agents for the Potential Treatment of Multidrug-Resistant Gram-Positive Bacterial Infections. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 673-679.
14. Gitanjali, A.; Brahmkhatri, V.P.; Atreya, H.S. Nanomaterial based Magnetic Resonance Imaging of Cancer. *J. Indian I. Sci.* **2014**, *94*, 423-453.
15. Li, Y.; Zhang, X.; Liu, X.; Pan, W.; Li, N.; Tang, B. Designing and Engineering of Nanocarriers for Bioapplication in Cancer Immunotherapy. *ACS Appl. Bio Mater.* **2020**, *3*, 8321-8337.
16. Hossen, S.; Khalid-Hossain, M.; Basher, M.K.; Mia, M.N.H.; Rahman, M.T.; Jalal Uddin, M. Smart nanocarrier-based drug delivery systems for cancer therapy and toxicity studies: A review. *Journal of Advanced Research* **2019**, *15*, 1-18.
17. Zhu, S.; Huang, A.; Luo, F.; Li, J.; Li, J.; Zhu, L.; Zhao, L. Bin Zhu, Fei Ling, Gao-Xue Wang. Application of Virus Targeting Nanocarrier Drug Delivery System in Virus-Induced Central Nervous System Disease Treatment. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2019**, *11*, 19006-19016.
18. Arzeni, C.; M.R. Pilosof, A Bioaccessibility of folic acid in egg white nanocarriers and protein digestion profile in solution and in emulsion. *LWT Food Sci. Technol.* **2019**, *111*, 470-477.
19. Gonçalves-Carvalho, S. Sousa-Araujo, V.H.; Dos Santos, A.; Lobato-Duarte, J.; Polli-Silvestre, A. L.; Fonseca-Santos, B.; Oliveira-Villanova, J. C.; Daflon

- Gremião, J. P.; Chorilli, M. Advances and challenges in nanocarriers and nanomedicines for veterinary application. *Inter. J. Pharma.* **2020**, *580*, 119214.
20. Jaudoin, C.; Agnely, F.; Nguyen, Y.; Ferrary, E.; Bocho, A. Nanocarriers for drug delivery to the inner ear: physicochemical key parameters, biodistribution, safety and efficacy. *Inter. J. Pharma.* **2021**, *592*, 120038.
21. Bobo, D.; Robinson, K. J.; Islam, J.; Thurecht, K. J.; Corrie, S. R. Nanoparticle-Based Medicines: A Review of FDA-Approved Materials and Clinical Trials to Date. *Pharm. Res.* **2016**, *33*, 2373-2387.
22. Patra, J. K.; Das, G.; Fernandes, L.; Ramos-Campos, E. V.; Rodriguez-Torres, M. P.; Acosta-Torres, L. S.; Diaz-Torres, L. A.; Grillo, R.; Kumara-Swamy, M.; Sharma, S.; Habtermariam, S.; Shin, H. S. Nano based drug delivery systems: recent developments and future prospects. *J. Nanobiotechnol.* **2018**, *16*, 1-33.
23. Prasada, M.; Lambea, U.P; Brara, B.; Shaha, I.; Ja, M.; Ranjanb, K.; Raoc, R.; Kumarc, S.; Mahantd, S.; Khuranae, S.K.; Iqbalf, H.; Dhamag, K.; Misrih, J.; Prasadi, G. Nanotherapeutics: An insight into healthcare and multi-dimensional applications in medical sector of the modern world. *Biomed. Pharmacother.* **2018**, *97*, 1521-1537.
24. Jones III, A.D.; Mi, G.; Webster. T.J. A Status Report on FDA Approval of Medical Devices Containing Nanostructured Materials. *Trends Biotechnol.* **2019**, *37*, 117-120.
25. Shanmugapriya, K.; Wook-Kang, H. Engineering pharmaceutical nanocarriers for photodynamic therapy on wound healing: Review. *Mater. Sci. Eng. C* **2019**, *105*, 110110.
26. Bahgata, M.; Farghalib, A. A.; El Roubyb, W. M. A.; Khedr, M. H. Synthesis and modification of multi-walled carbon nano-tubes (MWCNTs) for water treatment applications. *J. Anal. Appl. Pyrol.* **2011**, *92*, 307-313.
27. Aguilar-Elguézabal, A.; Antúnez, W.; Alonso, G.; Paraguay-Delgado, F.; Espinosa, F.; Miki-Yoshida, M. Study of carbon nanotubes synthesis by spray pyrolysis and model of growth. *Diam. Relat. Mater.* **2006**, *15*, 1329-1335.

28. Annu, A.; Bhattacharya, B.; Singh, P. K.; Shukla, P.K.; Rhee, H. W. Carbon nanotube using spray pyrolysis: Recent scenario. *J. Alloy. Compd.* **2017**, *691*, 970-982.
29. Tapasztó, L.; Kertész, K.; Vértesy, Z.; Horváth, Z. E.; Koós, A. A.; Osváth, Z.; Sárközi, Zs.; Darabont, Al.; Biró, L. P. Diameter and morphology dependence on experimental conditions of carbon nanotube arrays grown by spray pyrolysis. *Carbon* **2005**, *43*, 970-977.
30. Biró, L. P.; Z Biró, L. P.; Koós, A. A.; Osváth, Z.; Vértesy, Z.; Darabont, Al.; Kertész, K.; Neamțu, C.; Sárközi, Zs.; Tapasztó, L. Direct synthesis of multi-walled and single-walled carbon nanotubes by spray-pyrolysis. *J. Optoelectron. Adv. M.* **2003**, *5*, 661-666.
31. Darabont, Al.; Nemes-Incze, P.; Kertész, K.; Tapasztó, L.; Koós, A. A.; Osváth, Z.; Sárközi, Zs.; Vértesy, Z.; Horváth, Z. E.; Biró, L. P. Synthesis of carbon nanotubes by spray pyrolysis and their investigation by electron microscopy. *J. Optoelectron. Adv. M.* **2005**, *7*, 631-636.
32. Alshehri, R.; Ilyas, A. M.; Hasan, A.; Arnaout, A.; Ahmed, F.; Memic, A. Carbon Nanotubes in Biomedical Applications: Factors, Mechanisms, and Remedies of Toxicity. *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 8149-8167.
33. Sireesha, M.; Babu, V. J.; Ramakrishna, S. Functionalized carbon nanotubes in bio-world: Applications, limitations and future directions. *Mater. Sci. Eng. B-Adv.* **2017**, *223*, 43-63.
34. Visalli, G.; Curro, M.; Iannazzo, D.; Pistone, A.; Ciarllo, M. P.; Acri, G.; Testagrossa, B.; Bertuccio, M. P.; Squeri, R.; Pietro, A. D. In vitro assessment of neurotoxicity and neuroinflammation of homemade MWCNTs. *Environ. Toxicol. Phar.* **2017**, *56*, 121-128.
35. Meng, J.; Li, X.; Wang, C.; Guo, H.; Liu, J.; Xu, H. Carbon Nanotubes Activate Macrophages into a M1/M2 Mixed Status: Recruiting Naïve Macrophages and Supporting Angiogenesis. *ACS Appl. Mater. Inter.* **2015**, *7*, 3180–3188.
36. Comparetti, E. J.; Pedrosa, V. A.; Kaneno, R. Carbon Nanotube as a Tool for Fighting Cancer. *Bioconjugate Chem.* **2018**, *29*, 709–718.

37. Takagi, A.; Hirose, A.; Nishimura, T.; Fukumori, N.; Ogata, A.; Ohashi, N.; Kitajima, S.; Kanno, J. Induction of mesothelioma in p53+/- mouse by intraperitoneal application of multi-wall carbon nanotube. *J. Toxicol. Sci.* **2008**, *33*, 105-116.
38. Chakoli, A. N.; He, J. M.; Huang, Y. D. Collagen/aminated MWCNTs nanocomposites for biomedical applications. *Mater. Today Comm.* **2018**, *15*, 128-133.
39. Prajapati, V. K.; Awasthi, K.; Gautam, S.; Yadav, T. P.; Rai, M.; Srivastava, O. N.; Sundar, S. Targeted killing of Leishmania donovani in vivo and in vitro with amphotericin B attached to functionalized carbon nanotubes. *J. Antimicrob. Chemother* **2011**, *66*, 874-879.
40. Kim, S. W.; Park, J. Y.; Lee, S.; Kim, S. H.; Khang, D. Destroying Deep Lung Tumor Tissue through Lung-Selective Accumulation and by Activation of Caveolin Uptake Channels Using a Specific Width of Carbon Nanodrug. *ACS Appl. Mater. Inter.* **2018**, *10*, 4419-4428.
41. Gu, Z.; Biswas, A.; Zhao, M.; Tang, Y. Tailoring nanocarriers for intracellular protein delivery. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 3638-3655.
42. Marchesan, S.; Kostarelos, K.; Bianco, A.; Prato, M. The winding road for carbon nanotubes in nanomedicine. *Mater. Today* **2015**, *18*, 13-19.
43. Kane, A. B.; Hurt, R. H.; Gao, H. The asbestos-carbon nanotube analogy: An update. *Toxicol. Appl. Pharm.* **2018**, *361*, 68-80.
44. Hassanzadeh, P.; Arbabi, E.; Atyabi, F.; Dinarvand, R. Application of carbon nanotubes as the carriers of the cannabinoid, 2-arachidonoylglycerol: Towards a novel treatment strategy in colitis *Life. Sci.* **2017**, *179*, 66-72.
45. Zhao, X.; Chang, S.; Long, J.; Li, J.; Li, X.; Cao, Y. The toxicity of multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs) to human endothelial cells: The influence of diameters of MWCNTs. *Food Chem. Toxicol.* **2019**, *126*, 169-177.
46. Marchi, L. D.; Neto, V.; Pretti, C.; Figueira, E.; Chiellini, F.; Morelli, A.; S, A.M.V.M.; Freitas, R. Toxic effects of multi-walled carbon nanotubes on

- bivalves: Comparison between functionalized and nonfunctionalized nanoparticles. *Sci. Total Environ.* **2018**, 622-623, 1532-1542.
47. Adeli, M.; Soleyman, R.; Beiranvand, Z.; Madani, F. Carbon nanotubes in cancer therapy: a more precise look at the role of carbon nanotube–polymer interactions. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, 42, 5231-5256.
48. P.J. H.; Thotakura, N.; Kumara, M.; Sharma, S.; Anupama Mittal, A.; Khurana, R.K.; Singh, B.; Negi, P.; Kaisar Raza, K. A novel PEGylated carbon nanotube conjugated mangiferin: An explorative nanomedicine for brain cancer cells. *J. Drug. Deliv. Sci. Tec.* **2019**, 53, 1-9.
49. Ahlawat, J.; Guillama-Barroso, G.; Masoudi-Asil, S.; Alvarado, M.; Armendariz, I.; Bernal, J.; Carabaza, X.; Chavez, S.; Cruz, P.; Escalante, V.; Estorga, S.; Fernandez, D.; Lozano, C.; Marrufo, M.; Ahmad, N.; Negrete, S.; Olvera, K.; Parada, X.; Brianna Portillo, B.; Ramirez, A.; Ramos, R.; Rodriguez, V.; Paola Rojas, P.; Romero, J.; Suarez, D.; Urueta, G.; Viel, S.; Narayan, M. Nanocarriers as Potential Drug Delivery Candidates for Overcoming the Blood–Brain Barrier: Challenges and Possibilities. *ACS Omega* **2020**, 5, 12583-12595.
50. Huda, S.; Aftab-Alam, M.; Kumar-Sharma, P. Smart nanocarriers-based drug delivery for cancer therapy: An innovative and developing strategy. *J. Drug Deliv. Sci. Tec.* **2020**, 60, 102018.
51. Wang, C.; Xu, L.; Liang, C.; Xiang, J.; Peng, R.; Liu, Z. Immunological Responses Triggered by Photothermal Therapy with Carbon Nanotubes in Combination with Anti-CTLA-4 Therapy to Inhibit Cancer Metastasis. *Adv. Mater.* **2014**, 26, 8154-8162.
52. Raza, K.; Kumar, D.; Kiran, C.; Kumar, M.; Santosh Kumar-Guru, S.; Kumar, P.; Arora, S.; Sharma, G.; Bhushan, S.; Katare, O. P. Conjugation of Docetaxel with Multiwalled Carbon Nanotubes and Codelivery with Piperine: Implications on Pharmacokinetic Profile and Anticancer Activity. *Mol. Pharmaceutics* **2016**, 13, 2423-2432.
53. Shikha Lohan, Kaisar Raza, S.K. Mehta, Gurjit Kaur, Bhatti, Sumant Saini, Bhupinder Singh. Anti-Alzheimer's potential of berberine using surface

- decorated multi-walled carbon nanotubes: A preclinical evidence. *Int. J. Pharm.* **2017**; *530*, 263-278.
54. Zare-Zardini, H.; Davarpanah, M.; Shanbedi, M.; Amiri, A.; Maghrebi, M.; Ebrahimi, L. Microbial toxicity of ethanolamines—Multiwalled carbon nanotubes. *J. Biomed. Mater. Res. A* **2014**, *6*, 1774-1781.
55. Liu, C.; Shi, H.; Yang, H.; Yan, S.; Luan, S.; Li, Y.; Teng, M.; Khan, A. F.; Yin, J. Fabrication of antibacterial electrospun nanofibers with vancomycin-carbon nanotube via ultrasonication assistance. *Mat. Design* **2017**, *120*, 128-134.
56. Bains, D.; Singh, G.; Bhinder, J.; Agnihotri, P.K.; Singh, N. Ionic Liquid Functionalized Multiwalled Carbon Nanotubes Based Hydrophobic Coatings for Robust Antibacterial Applications. *ACS Appl. Bio. Mater.* **2020**, *3*, 2092-2103.
57. Moreno Valle-Ramirez, Bibiana. Síntesis de nanomateriales conjugados con Oxazolidinonas activas biológicamente. Tesis de Maestría en Ciencias en Química, Instituto Tecnológico de Tijuana, Centro de Graduados e Investigación, Tijuana, B.C., 2001, pp 38-46.
58. Goryacheva, I. Y.; Sapelkin, A. V.; Sukhorukov G. B. Carbon nanodots: Mechanisms of photoluminescence and principles of application. *Tr. Anal. Chem.* **2017**, *90*, 27-37.
59. Chandraa, S.; Mahtoa, T. K.; Chowdhuria, A. R.; Dasb, B.; Sahu, S. k. One step synthesis of functionalized carbon dots for the ultrasensitivedetection of Escherichia coli and iron (III). *Sen. and Actuat. B* **2017**, *245*, 835-844.
60. Lua, X.; Zhang, Z.; Xia, Q.; Hou, M.; Yan, C.; Chen, Z.; Yikai Xu, Y.; Liu, R. Glucose functionalized carbon quantum dot containing organic radical for optical/MR dual-modality bioimaging. *Mat. Sci. Eng. C* **2018**, *82*, 190-196.
61. Zhang, J.; Yu, S. H. Carbon dots: large-scale synthesis, sensing and bioimaging. *Mater. Today* **2016**, *19*, 383-393.
62. Kumar, R.; Kumar, V. B.; Gedanken, A. The Sonochemical Synthesis of Carbon Dots: Synthetic Route, Effect of Parameters, and Catalytic, Energy, Biomedical and Tissue Engineering Applications. *Ultrason. Sonochem.* **2020**, *64*, 105009.

63. Saini, B.; Singh, R. R.; Nayak, D.; Mukherjee, T. K. Biocompatible pH-Responsive Luminescent Coacervate Nanodroplets from Carbon Dots and Poly (diallyldimethylammonium chloride) Toward Theranostic Applications. *ACS Appl. Nano Mater.* **2020**, *3*, 5826-5837.
64. Wang, J.; Xu, M.; Wang, D.; Li, Z.; Primo, F. L.; Tedesco, A. C.; Bi, H. Copper-Doped Carbon Dots for Optical Bioimaging and Photodynamic Therapy. *Inorg. Chem.* **2019**, *58*, 13394-13402.
65. Chung, Y. J.; Kim, J.; Park, C. B. Photonic Carbon Dots as an Emerging Nanoagent for Biomedical and Healthcare Applications. *ACS Nano* **2020**, *14*, 6470-6497.
66. Skaltsas, T.; Stergiou, A.; Chronopoulos, D.D.; Zhao, S.; Shinohara, H.; Tagmatarchis, N. All-Carbon Nanosized Hybrid Materials: Fluorescent Carbon Dots Conjugated to Multiwalled Carbon Nanotubes. *J. Phys. Chem. C* **2016**, *120*, 8550-8558.
67. Yang, Z.-C.; Li, X.; Wang, J. Intrinsically fluorescent nitrogen-containing carbon nanoparticles synthesized by a hydrothermal process. *Carbon* **2011**, *49*, 5207-5212.
68. Wu, H.; Mi, C.; Huang, H.; Han, B.; Li, J.; Xu, S. Solvothermal synthesis of green-fluorescent carbon nanoparticles and their application. *J. Lumin.* **2012**, *132*, 1603-1607.
69. Sahu, S.; Behera, B.; Tapas K. Maiti, T. K.; Mohapatra, S. Simple one-step synthesis of highly luminescent carbon dots from orange juice: application as excellent bio-imaging agents. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 8835-8837.
70. Sarkar, N.; Sahoo, G.; Das, R.; Prusty, G.; Swain, S. K. Carbon quantum dot tailored calcium alginate hydrogel for pH responsive controlled delivery of vancomycin. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2017**, *109*, 359-371.
71. Jia, X.; Li, J.; Wang, E. One-pot green synthesis of optically pH sensitive carbon dots with upconversion luminescence *Nanoscale* **2012**, *4*, 5572-5575.

72. Zhu, S.; Meng, Q.; Wang, L.; Zhang, J. Song, Y.; Jin, H.; Zhang, K.; Sun, H.; Wang, H.; Yang, B. Highly Photoluminescent Carbon Dots for Multicolor Patterning, Sensors, and Bioimaging. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 1-6.
73. Chung, Y. J.; Kim, J.; Park, C. B. Photonic Carbon Dots as an Emerging Nanoagent or Biomedical and Healthcare Applications. *ACS Nano* **2020**, *14*, 6, 6470-6497.
74. Hsin, T.; Dhenadhayalan, N.; Lin, K. Ligusticum Striatum-Derived Carbon Dots as Nanocarriers to Deliver Methotrexate for Effective Therapy of Cancer Cells. *ACS Appl. Bio Mater.* **2020**, *3*, 8786-8794.
75. Massaro, M.; Barone, G.; Biddeci, G.; Cavallaro, G.; Di Blasi, F.; Lazzara, G.; Nicotra, G.; Spinella, C.; Spinelli, G.; Serena Riela, S. Halloysite nanotubes-carbon dots hybrids multifunctional nanocarrier with positive cell target ability as a potential non-viral vector for oral gene therapy. *J. Col. Inter. Sci.* **2019**, *552*, 236-246.
76. Zhou, Y.; Mintz, K.J.; Cheng, L.; Chen, J.; C.L.B. Ferreira, B.; Hettiarachchi, S. D.; Liyanage, P. Y.; S. Seven, E. S.; Miloserdov, N.; Pandey, R. R.; Quiroga, B.; Blackwelder, P.; Chusuei, C.C.; Li, S.; Peng, Z.; Leblanc, R. M. Direct conjugation of distinct carbon dots as Lego-like building blocks for the assembly of versatile drug nanocarriers. *J. Col. Inter. Sci.* **2020**, *576*, 412-425.
77. Feng, T.; Ai, X.; An, G.; Yang, P.; Zhao, Y. Charge-Convertible Carbon Dots for Imaging-Guided Drug Delivery with Enhanced in Vivo Cancer Therapeutic Efficiency. *ACS Nano* **2016**, *10*, 4410-4420.
78. Li, J.; Li, M.; Tian, L.; Qiu, Y.; Yu, Q.; Wang, X.; Guo, R.; He, Q. Facile strategy by hyaluronic acid functional carbon dot-doxorubicin nanoparticles for CD44 targeted drug delivery and enhanced breast cancer therapy. *Int. J. Pharmaceut.* **2020**, *578*, 119122.
79. Jaleel, J. A.; Pramod, K. Artful and multifaceted applications of carbon dot in biomedicine. *J. Control. Release* **2018**, *269*, 302-321.
80. Wang, H. Z.; Ning, L. G.; Lv, W. Y.; Xiao, L.; Li, C. M.; Lu, Z. S.; Wang, B.; Xu, L. Q. Green synthesis of perylene diimide-based nanodots for carbon dioxide

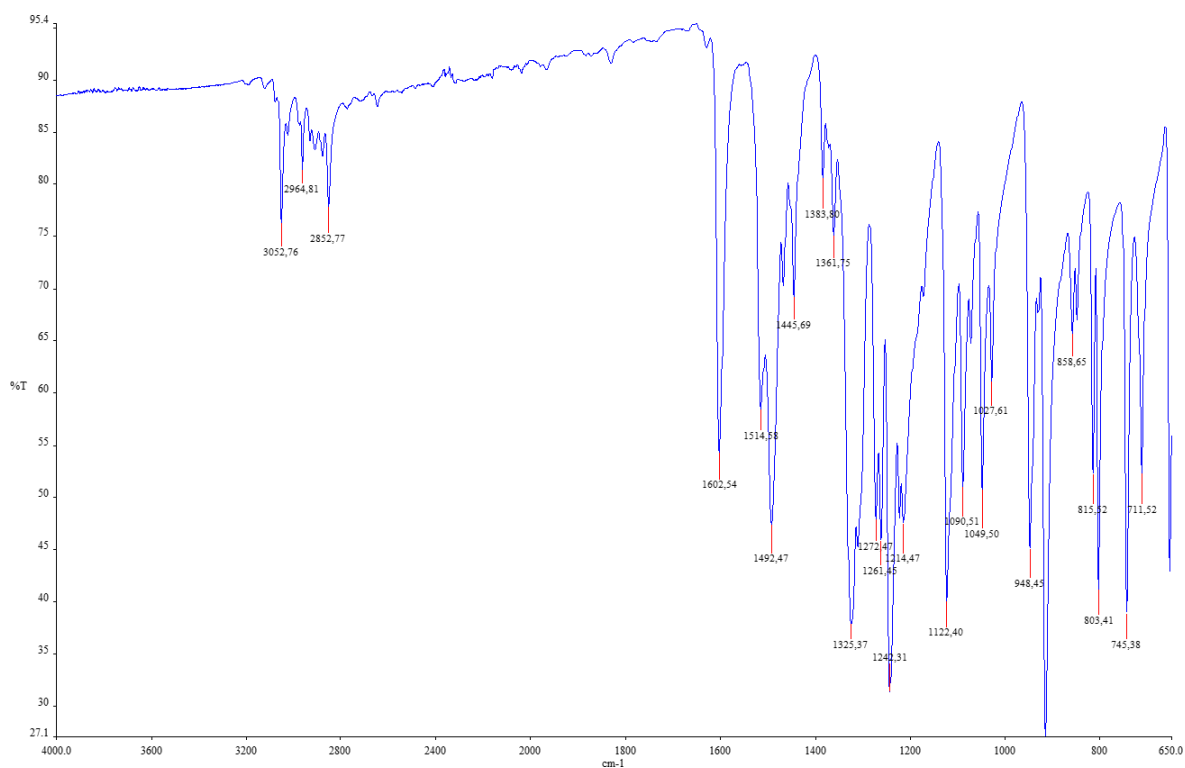
- sensing, antibacterial activity prediction and bacterial discrimination. *Dyes Pigments* **2020**, *176*, 108245.
81. Lakshmanan, A.; Surendran, P.; Manivannan, N.; Sathish, M.; Balalakshmi, C.; Suganthi, N.; Rameshkumar, P.; Kaviyarasu, K.; Ramalingam, G. Superficial preparation of biocompatible carbon quantum dots for antimicrobial applications. *Mater. Today-Proc.* **2020**, Just Accepted Manuscript•DOI: 10.1016/j.matpr.2020.02.694.
82. Jian, H. J.; Yu, J.; Li, Y. J.; Unnikrishnan, B.; Huang, Y. F.; Luo, L. J.; Ma, D. H-K.; Harroun, S. G.; Chang, H-T.; Lin, H-J.; Lai, J. Y.; Huang, C-C. Highly adhesive carbon quantum dots from biogenic amines for prevention of biofilm formation. *Chem. Eng. J.* **2020**, *386*, 123913.
83. Li, P.; Han, F.; Cao, W.; Zhang, G.; Li, J.; Zhou, J.; Gong, X.; Turnbull, G.; Shud, W.; Xia, L.; Fang, B.; Xing, X.; Fang, B. Carbon quantum dots derived from lysine and arginine simultaneously scavenge bacteria and promote tissue repair. *Appl. Mater. Today* **2020**, *19*, 100601.
84. Chu, X.; Wu, F.; Sun, B.; Zhang, M.; Song, S.; Zhang, P.; Wang, Y.; Zhang, Q.; Zhou, N.; Shen, J. Genipin cross-linked carbon dots for antimicrobial, bioimaging and bacterial discrimination. *Colloid. Surface. B* **2020**, 110930.
85. Maruthapandi, M.; Sharma, K.; Luong, J. H.; Gedanken, A. Antibacterial activities of microwave-assisted synthesized polypyrrole/chitosan and poly (pyrrole-N-(1-naphthyl) ethylenediamine) stimulated by C-dots. *Carbohydr. Poly.* **2020**, *243*, 116474.
86. Cui, F.; Ye, Y.; Ping, J.; Sun, X. Carbon dots: Current advances in pathogenic bacteria monitoring and prospect applications. *Biosens. Bioelectron.* **2020**, *156*, 112085.
87. Koulivand, H.; Shahbazi, A.; Vatanpour, V.; Rahmandoust, M. Novel antifouling and antibacterial polyethersulfone membrane prepared by embedding nitrogen-doped carbon dots for efficient salt and dye rejection. *Mat. Sci. Eng. C* **2020**, *111*, 110787.

88. Nie, X.; Wu, S.; Mensah, A.; Lu, K.; Wei, Q. Carbon quantum dots embedded electrospun nanofibers for efficient antibacterial photodynamic inactivation. *Mat. Sci. Eng. C* **2020**, *108*, 110377.
89. Nie, X.; Jiang, C.; Wu, S.; Chen, W.; Lv, P.; Wang, Q.; Liu, J.; Narh, C.; Cao, X.; Ghiladi, R.A.; Wei, Q. Carbon quantum dots: A bright future as photosensitizers for in vitro antibacterial photodynamic inactivation. *J. Photoch. Photobio. B* **2020**, *206*, 111864.
90. Wang, H., Song, Z., Gu, J., Li, S., Wu, Y., & Han, H. Nitrogen-Doped Carbon Quantum Dots for Preventing Biofilm Formation and Eradicating Drug-Resistant Bacteria Infection. *ACS Biomater. Sci. Eng.* **2019**, *5*, 4739-4749.
91. Yang, J.; Zhang, X.; Ma, Y. H.; Gao, G.; Chen, X.; Jia, H. R.; Li, Y-H.; Chen, Z.; Wu, F. G.. Carbon dot-based platform for simultaneous bacterial distinguishment and antibacterial applications. *ACS Appl. Mater. Inter.* **2016**, *8*, 32170-32181.
92. Travlou, K. A.; Algarra, M.; Alcoholado, C.; Cifuentes-Rueda, M.; Labella, A.; Lázaro-Martínez, J. M.; Rodriguez-Castellon, E.; Bandosz, T.J. CarbonQuantum Dot Surface-Chemistry-Dependent Ag Release Governs the HighAntibacterial Activity of Ag-Metal–Organic Framework Composites. *ACS Appl. Bio Mater.* **2018**, *1*, 693-707.
93. Otis, G.; Bhattacharya, S.; Malka, O.; Kolusheva, S.; Bolel, P.; Porgador, A.; Jelinek, R. Selective labeling and growth inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* by aminoguanidine carbon dots. *ACS Infect. Dis.* **2019**, *5*, 292-302.
94. Goh, E. J.; Kim, K. S.; Kim, Y. R.; Jung, S. J.; Beack, S.; Kong, W. H. Scarcelli, G. Yun, S. H.; Hahn, S. K. Bioimaging of Hyaluronic Acid Derivatives Using Nanosized Carbon Dots. *Biomacromolecules* **2012**, *13*, 2554–2561.
95. Kováčová, M.; Zoran M. Marković, Z. M.; Humpolíček, P.; Mičušík, M.; Švajdlenková, H.; Kleinová, A.; Danko, M.; Kubát, P.; Vajdák, J.; Capáková, Z.; Lehocký, M.; Münster, L.; Todorović-Marković, B. M.; Špitalský, Z. Carbon Quantum Dots Modified Polyurethane Nanocomposites as Effective Photocatalytic and Antibacterial Agents. *ACS Biomater. Sci. Eng.* **2018**, *12*, 3983-3993.

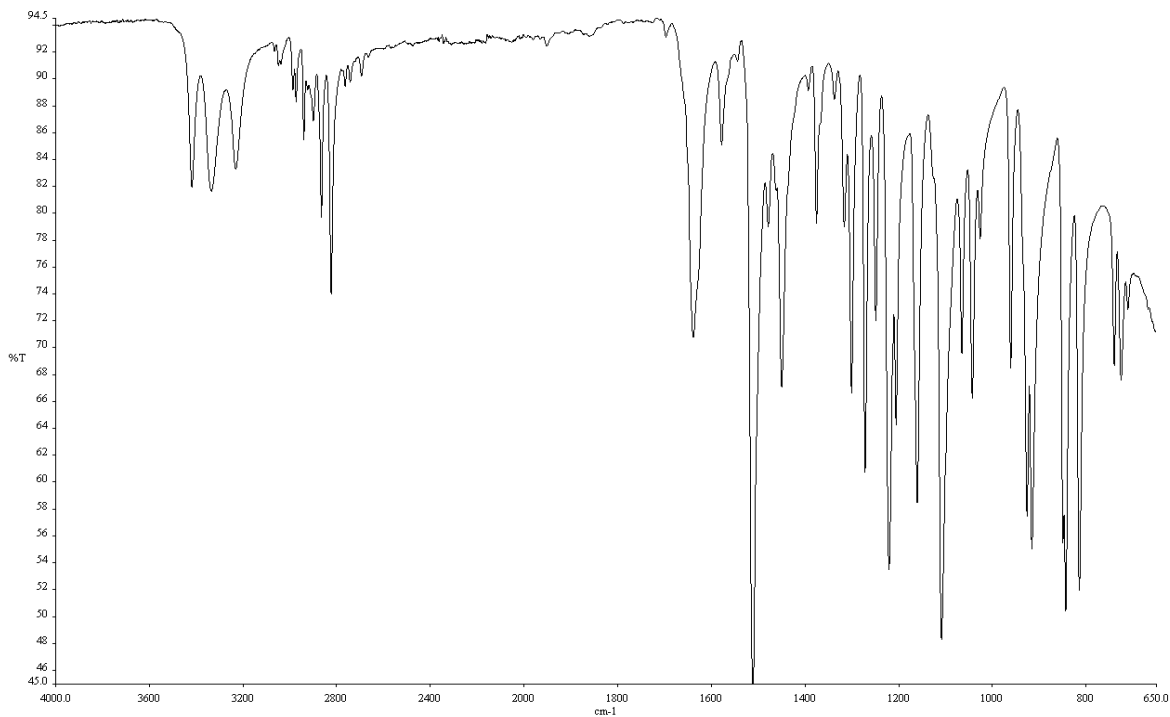
96. Zhao, C.; Wu, L.; Wang, X.; Weng, S.; Ruan, Z.; Liu, Q.; Lin, L.; Lin, X. Quaternary ammonium modified carbon quantum dots as an antimicrobial agent against gram-positive bacteria for the treatment of MRSA-infected pneumonia in mice. *Carbon* **2020**, *163*, 70-84.
97. Jijie, R.; Barras, A.; Bouckaert, J.; Dumitrascu, N.; Szunerits, S.; Boukherroub, R. Enhanced antibacterial activity of carbon dots functionalized with ampicillin combined with visible light triggered photodynamic effects, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **2018**, *170*, 347-354.
98. Guzel Kaya, G.; S. Medaglia, V.; Candela-Noguera, M. A.; Tormo-Mas, M. D.; Marcos, E.; Aznar, H.; Deveci Martínez-Mañez, R. Antibacterial Activity of Linezolid against Gram-Negative Bacteria: Utilization of ξ -Poly-L-Lysine Capped Silica Xerogel as an Activating Carrier. *Pharmaceutics* **2020**, *12*, 1126.
99. Antony, E. J.; Shibu, A.; Ramasamy, S.; Paulraj, M. S.; Enoch, I. V. M. V. Loading of atorvastatin and linezolid in β -cyclodextrin-conjugated cadmium selenide/silica nanoparticles: A spectroscopic study. *Mat. Sci. Eng. C* **2016**, *65*, 194-198.
100. Akram, F. E.; El-Tayeb, T.; Abou-Aisha, K.; El-Azizi, M. A combination of silver nanoparticles and visible blue light enhances the antibacterial efficacy of ineffective antibiotics against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* **2016**, *15*, 48.
101. Han, H.-W.; Patel, K. D.; Kwak, J.-H.; Jun, S.-K.; Jang, T.-S.; Lee, S.-H.; Campbell Knowles, J.; Kim, H.-W.; Lee, H.-H.; Lee, J.-H. Selenium Nanoparticles as Candidates for Antibacterial Substitutes and Supplements against Multidrug-Resistant Bacteria. *Biomolecules* **2021**, *11*, 1028.
102. Makled, S.; Boraie, N.; Nafee, N. Nanoparticle-mediated macrophage targeting—a new inhalation therapy tackling tuberculosis. *Drug Deliv. and Transl. Res.* **2021**, *11*, 1037-1055.
103. De Maio, F.; Palmieri, V.; Santarelli, G.; Perini, G.; Salustri, A.; Palucci, I.; Sali, M.; Gervasoni, J.; Primiano, A.; Ciasca, G.; Sanguinetti, M.; De Spirito, M.;

- Delogu, G.; Papi, M. Graphene Oxide-Linezolid Combination as Potential New Anti-Tuberculosis Treatment *Nanomaterials* **2020**, *10*, 1431,
104. Córdova-Guerrero, J.; Hernández-Guevara, E.; Ramírez-Zatarain, S.; Núñez-Bautista, M.; Ochoa-Terán, A.; Muñiz-Salazar, R.; Montes-Ávila, J.; López-Angulo, G.; Paniagua-Michel, A.; Torres, G.A.N. Antibacterial Activity of New Oxazolidin-2-One Analogues in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strains. *Int. J. Mol. Sci.* **2014**, *15*, 5277-5291.
105. Wang, F.; Pang, S.; Wang, L.; Li, Q.; Kreiter, M.; Liu, C. One-Step Synthesis of Highly Luminescent Carbon Dots in Noncoordinating Solvents *Chem. Mater.* **2010**, *22*, 4528-4530.
106. García-Olaiz, G. D.; Alcántar-Zavala, E.; Ochoa-Terán, A.; Cabrera, A.; Muñiz-Salazar, R.; Montes-Ávila, J.; Salazar-Medina, A. J.; Alday, E.; Velazquez, C.; Medina-Franco, J. L.; Laniado-Laborín, R. Design, synthesis and evaluation of the antibacterial activity of new Linezolid dipeptide-type analogues. *Bioorganic chemistry* **2020**, *95*, 103483.
107. Alcántar-Zavala, E.; Hernández-Guevara, E.; Ochoa-Terán, A.; Montes-Ávila, J.; Estrada-Zavala, E. A.; Salazar-Medina, A. J.; Alday, E.; Cabrera, A.; Aguirre, G.; Mirando-Soto, V.; Velazquez, C.; Díaz-Camacho, S.P.; Medina-Franco, J. L. Novel Linezolid analogues with antiparasitic activity against *Hymenolepis nana*. *Bioorganic Chemistry* **2020**, *105*, 104359.

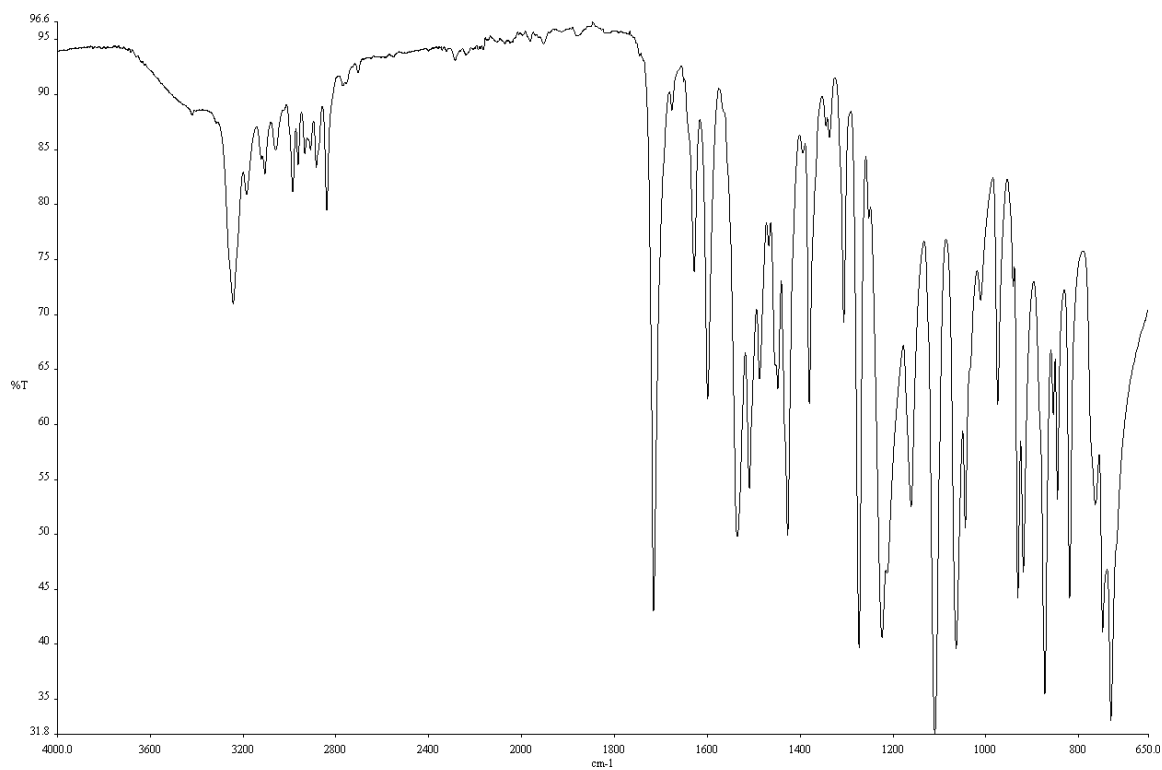
IX.ANEXOS



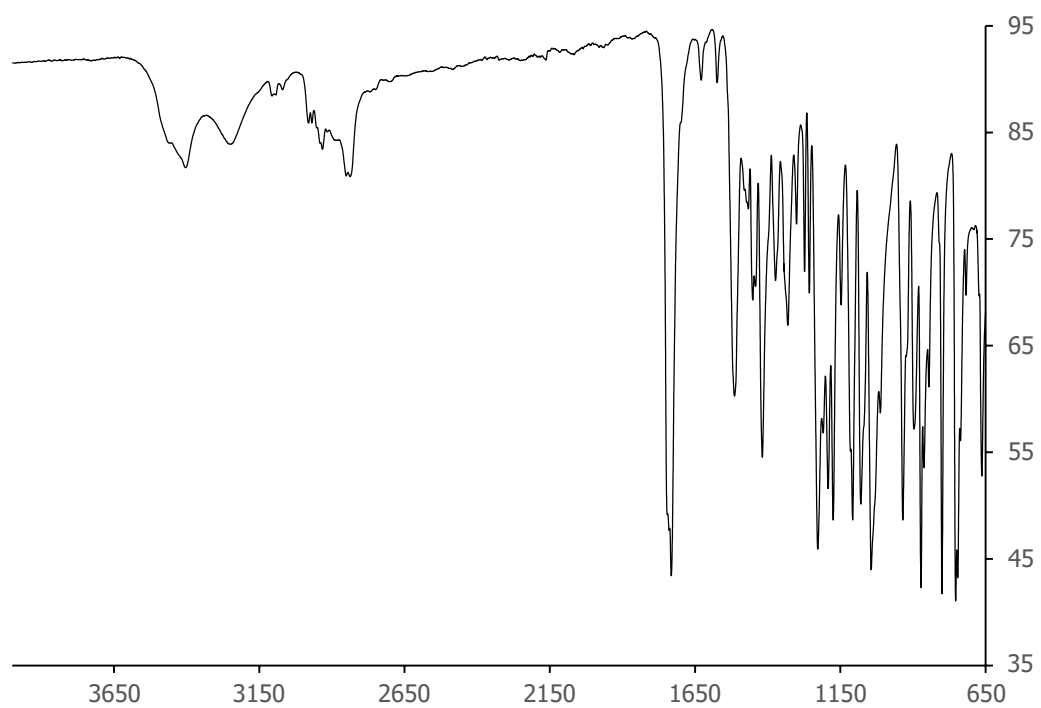
Anexo 1. Espectro de IR de compuesto 1.



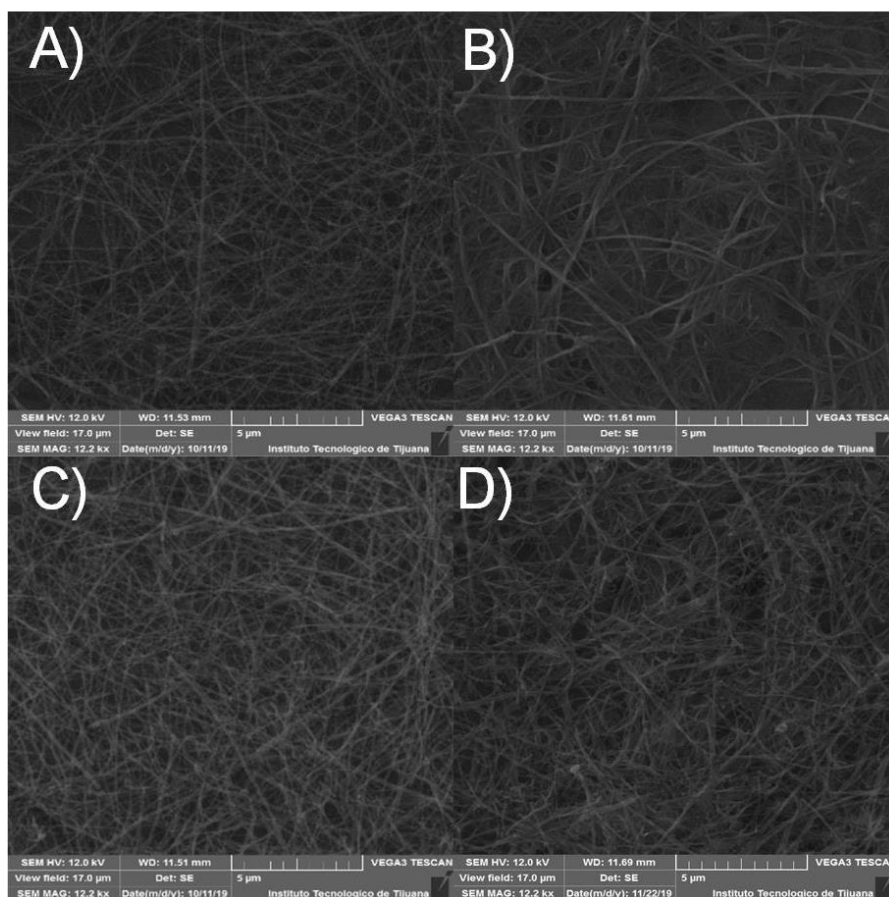
Anexo 2. Espectro de IR de compuesto 2.



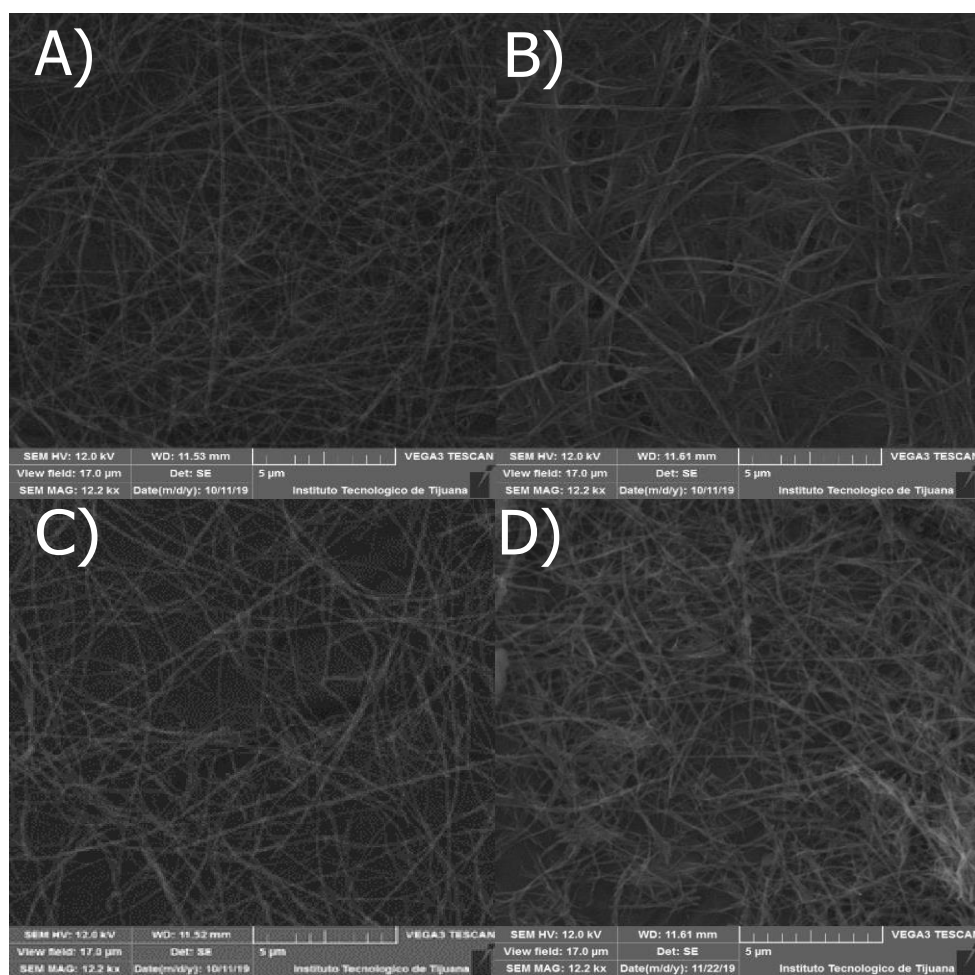
Anexo 3. Espectro de IR del compuesto 3'.



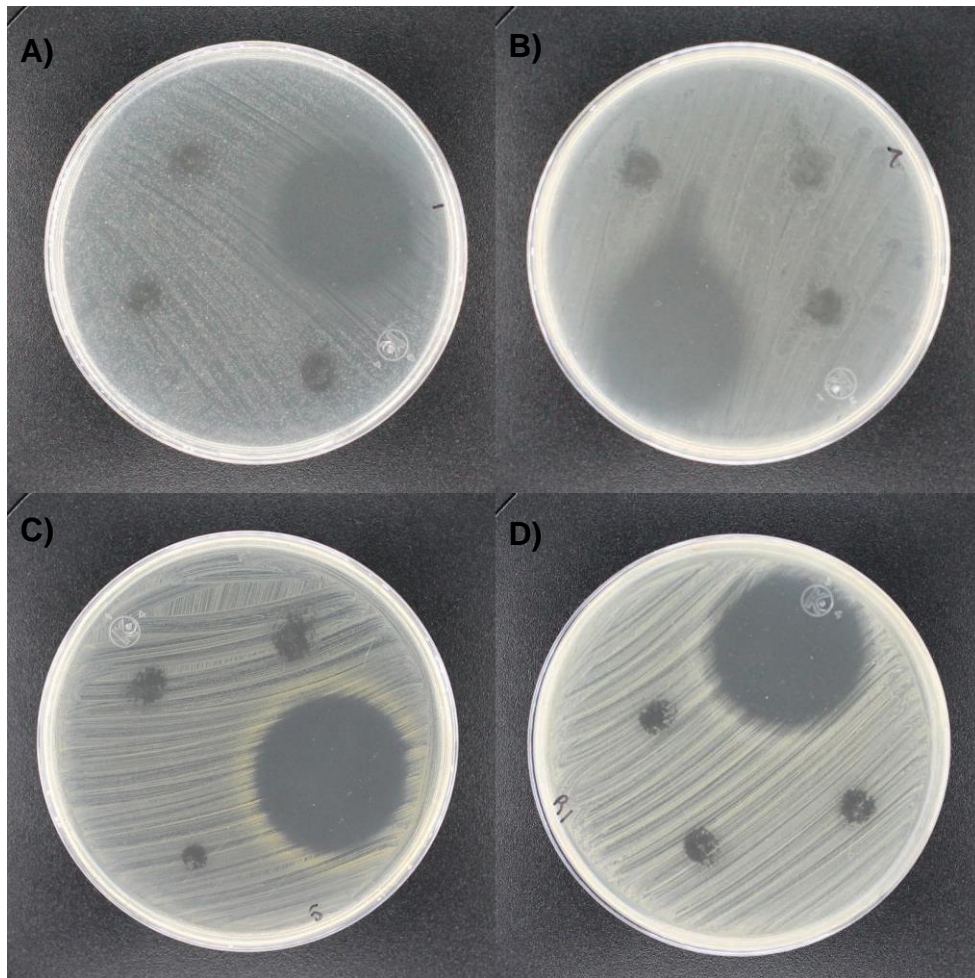
Anexo 4. Espectro de IR del compuesto **4**.



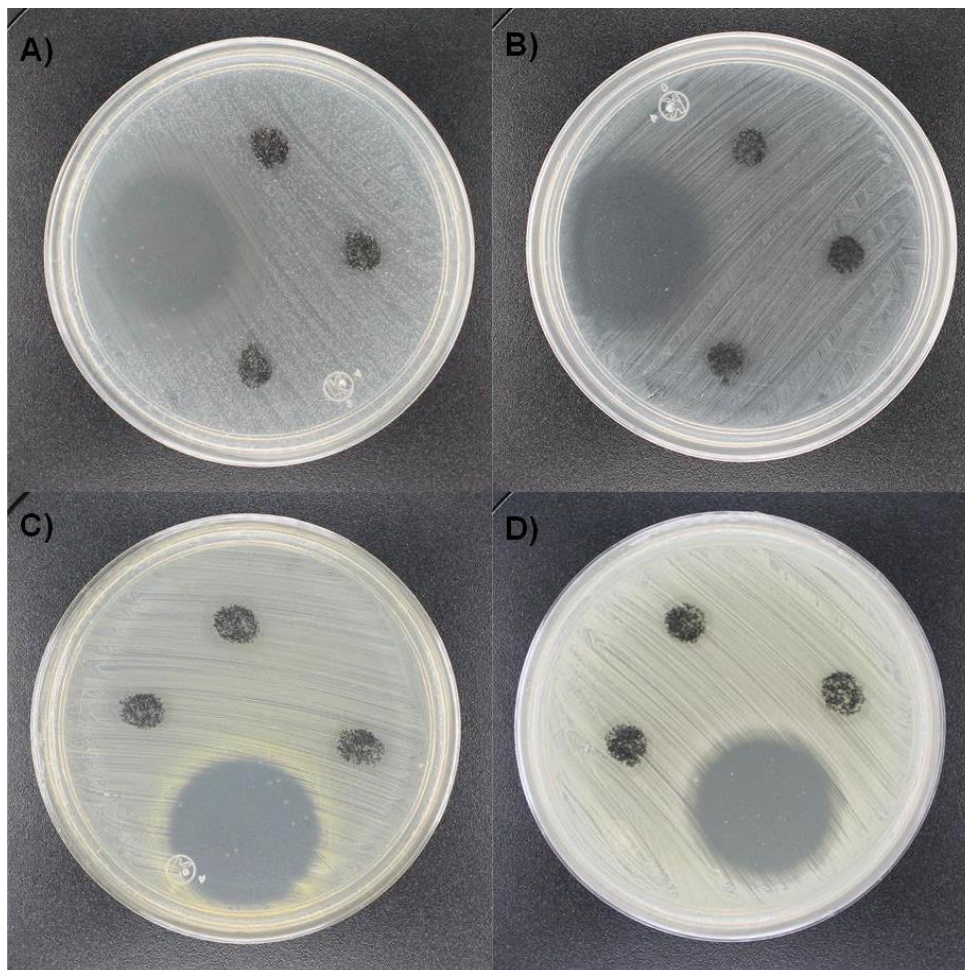
Anexo 5. Imágenes SEM de nanotubos A) MWCNT-1 B) Ox-MWCNT-1, C) *f*-MWCNT- E_1 -2 y D) *f*-MWCNT- E_1 -8-2.



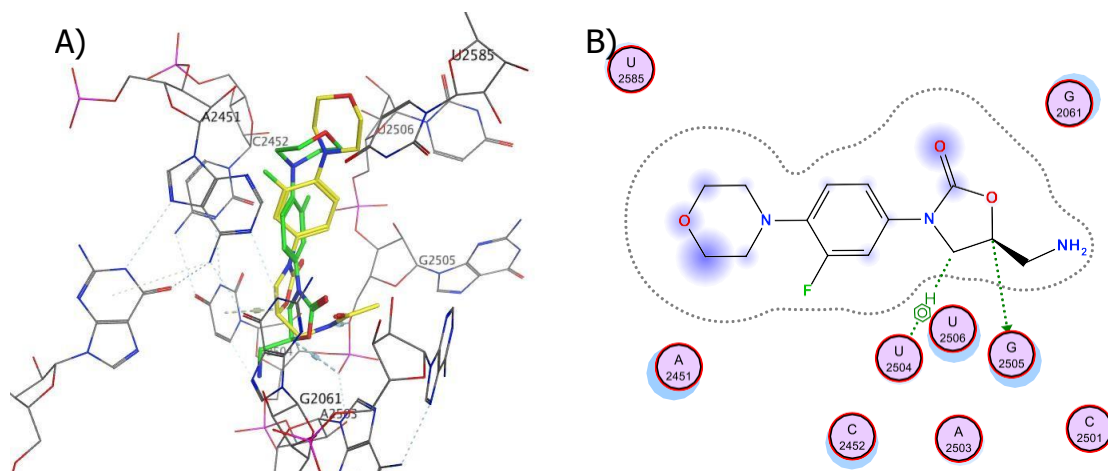
Anexo 6. Imágenes SEM de nanotubos A) MWCNT-1 B) Ox-MWCNT-1, C) *f*-MWCNT- E_2 -2 y D) *f*-MWCNT- E_2 -8-2.



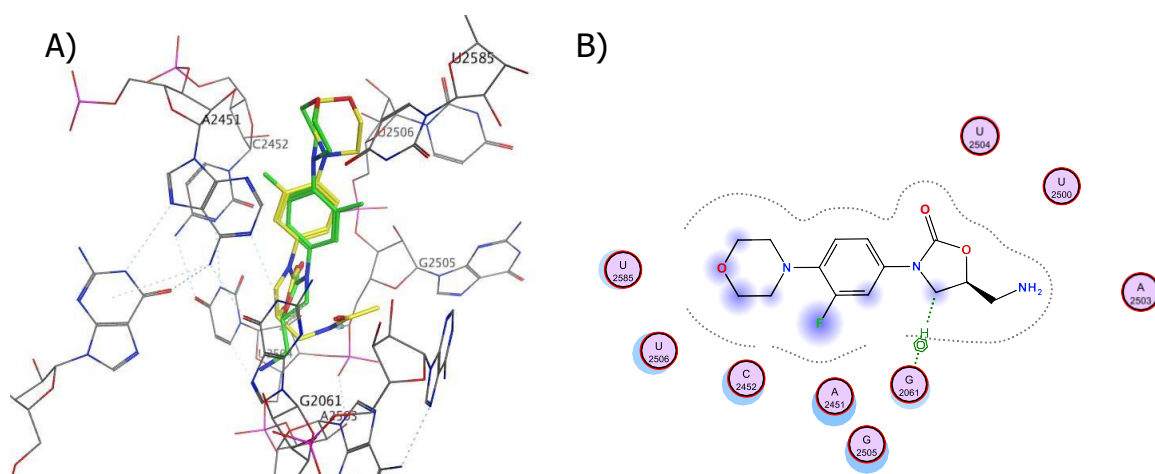
Anexo 7. Ensayo de difusión radial de la actividad antibacteriana de *f*-MWCNT-*E*₂-8-2 contra a) *Streptococcus* grupo A, b) *S. aureus* aislado clínico, c) *S. aureus* ATCC 29213 y d) SARM.



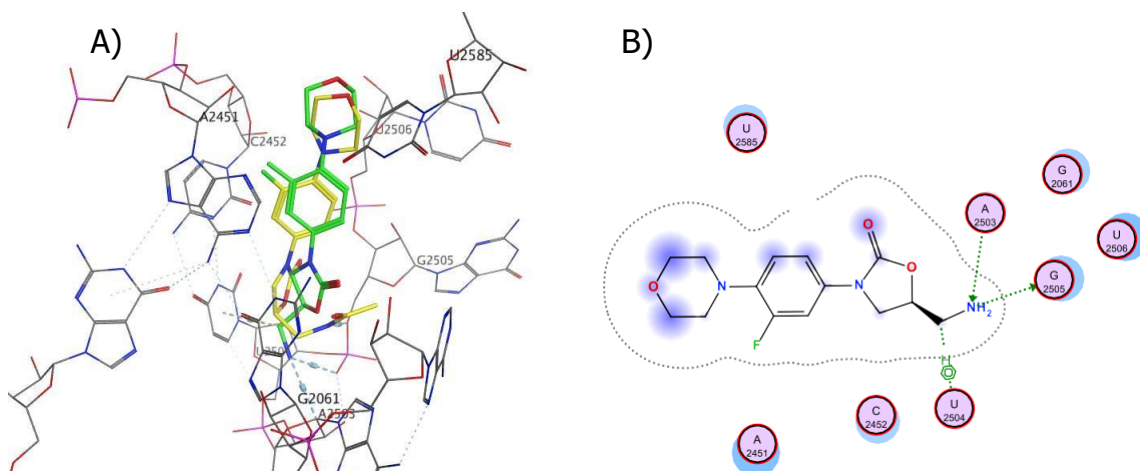
Anexo 8. Ensayo de difusión radial de la actividad antibacteriana de *f*-MWCNT-*E*₃-8-2 contra a) *Streptococcus* grupo A, b) *S. aureus* aislado clínico, c) *S. aureus* ATCC 29213 y d) SARM.



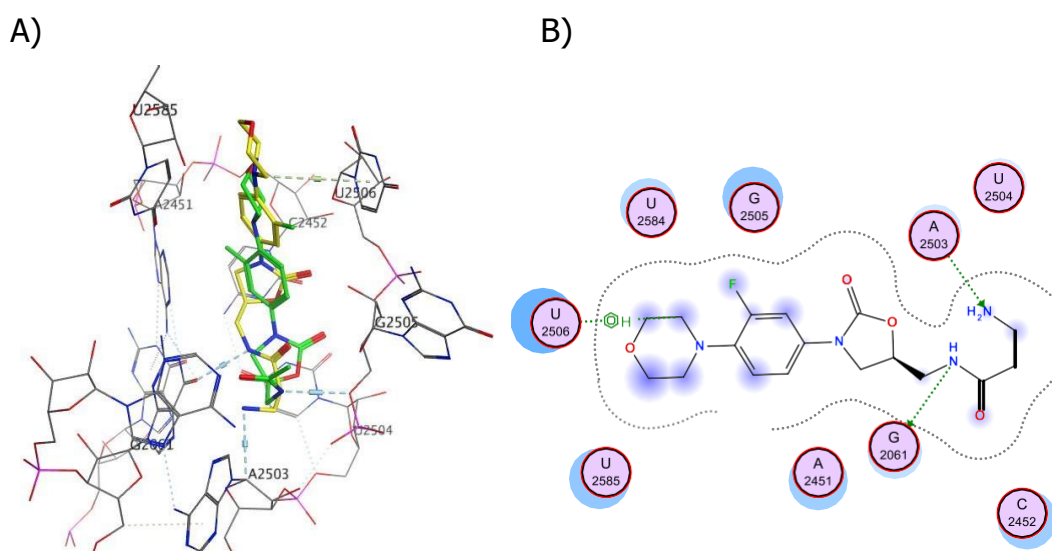
Anexo 9. A) Modelado molecular de **7** (pose 1, amarillo) y linezólida (verde) y B) mapa de interacciones de **7** en el SFT en la estructura cristalina del RNAr de *E. coli*.



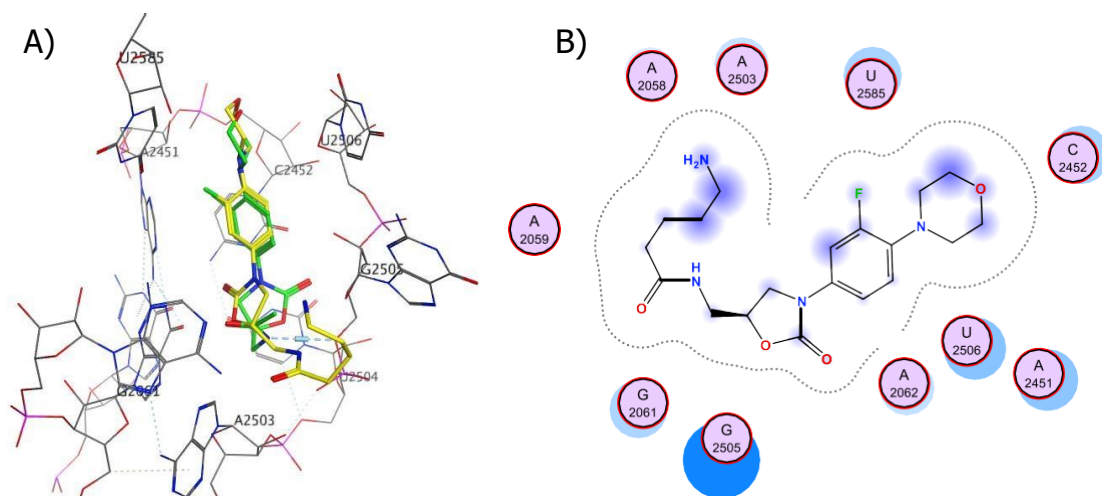
Anexo 10. A) Modelado molecular de **7** (pose 2, amarillo) y linezólida (verde) y B) mapa de interacciones de **7** en el SFT en la estructura cristalina del RNAr de *E. coli*.



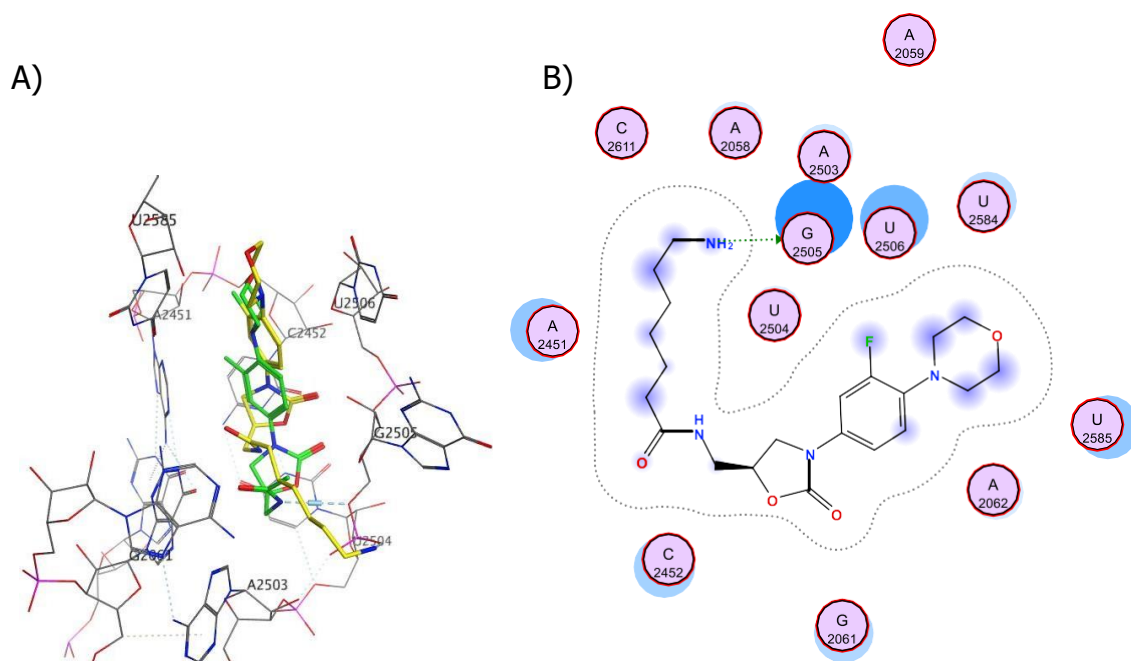
Anexo 11. A) Modelado molecular de **7** (pose 3, amarillo) y linezólida (verde) y B) mapa de interacciones de **7** en el SFT en la estructura cristalina del RNAr de *E. coli*.



Anexo 12. A) Modelado molecular E_1-7 (amarillo) y linezólida (verde) y B) mapa de interacciones de E_1-7 en el SFT en la estructura cristalina del RNAr de *E. coli*.



Anexo 13. A) Modelado molecular *E*₂-7 (amarillo) y linezólida (verde) y B) mapa de interacciones de *E*₂-7 en el SFT en la estructura cristalina del RNAr de *E. coli*.



Anexo 14. A) Modelado molecular *E*₃-7 (amarillo) y linezólida (verde) y B) mapa de interacciones de *E*₃-7 en el SFT en la estructura cristalina del RNAr de *E. coli*.