



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD

DOCTORADO EN CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS Y SALUD HUMANA

TESIS

Evaluación de la actividad biológica de nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con extracto de ajo
(*Allium sativum*)

PRESENTA:

M. en C. Sara Madai Chavarría Fernández

Comité:

Director

Dr. Rubén Jiménez Alvarado

Co-directora

Dra. Raquel Cariño Cortés

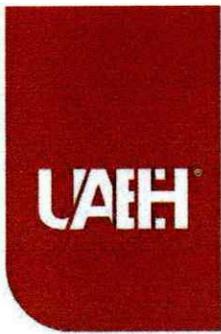
Integrantes

Dra. Eva María Santos López

Dra. Aurora Quintero Lira

Dra. Jesica Esther Escobar Cabrera

Tulancingo de Bravo, Hidalgo, Marzo-2025



Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

Instituto de Ciencias de la Salud

School of Medical Sciences

Área Académica de Nutrición

Department of Nutrition

San Agustín, Tlaxiaca, Hgo., 10 de marzo de 2025

Asunto: Autorización de impresión

Mtra. Ojuky del Rocío Islas Maldonado
Directora de Administración Escolar

Por este medio se informa que el comité tutorial asignado a la M. en C. Sara Madai Chavarría Fernández con número de cuenta 162818, estudiante del Doctorado en Ciencias de los Alimentos y Salud Humana ha terminado el trabajo de tesis titulado "Evaluación de la actividad biológica de nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con extracto de ajo (*Allium sativum*)", y por lo tanto se autoriza la impresión del documento en extenso propuesto por el/la estudiante después de haber sido revisado, analizado y evaluado de acuerdo a lo estipulado en el Artículo 73, VI del Reglamento General de Estudios de Posgrado. Lo anterior, en función de que, el/la estudiante realizó todas las correcciones, adiciones y/o modificaciones sugeridas por el comité en la revisión previa con fecha 06 de marzo de 2025. Por tal motivo, solicitamos a usted tenga a bien permitir al doctorando dar continuidad al proceso necesario que conlleve a la obtención del grado de Doctor en Ciencias de los Alimentos y Salud Humana.

DR. RUBÉN JIMÉNEZ ALVARADO

Director de tesis

DRA. RAQUEL CARIÑO CORTÉS

Codirectora

DRA. EVA MARÍA SANTOS LÓPEZ

Integrante Comité tutorial

DRA. AURORA QUINTERO LIRA

Integrante Comité tutorial

ATENTAMENTE
"Amor, Orden y Progreso"

M.C. Esp. Enrique Espinosa Aquino
Director del Instituto de Ciencias de la Salud
Dean

Dra. Nelly del Socorro Cruz Cansino
Jefa del Área Académica de Nutrición
Chair of Academic Area of Nutrition

Dra. Lydia López Pontigo
Coordinadora de Posgrado del ICSa
Director of Graduate Studies of ICSa

Dra. Esther Ramírez Moreno
Representante del Programa Educativo ICSa
Representative of Graduate Studies



Circuito ex-Hacienda La Concepción s/n
Carretera Pachuca Actopan, San Agustín
Tlaxiaca, Hidalgo, México. C.P. 42160
Teléfono: 52 (771) 71 720 00 Ext. 41524 y
41528
nutricion@uaeh.edu.mx



I. AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

Parte de este trabajo se llevó a cabo en el Instituto de Ciencias Agropecuarias (ICAP) en el Centro de Investigación en Ciencia y Tecnología de los Alimentos en el Laboratorio de Aprovechamiento Agroalimentario Integral. También se realizó parte experimental en el Área de Investigación del Instituto de Ciencias de la Salud, campus “Ramírez Ulloa”.

Agradezco a la Universidad Autónoma de Querétaro.

Las pruebas de citotoxicidad, migración celular y viabilidad celular *in vitro* se realizaron en el Laboratorio de Investigación de Química Biomolecular del Posgrado en Ciencias Químico-Biológicas perteneciente a la Facultad de Química de la UAQ.

Agradezco al Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT)

El presente trabajo fue realizado con el apoyo otorgado por la SECIHTI con el número de beca 797746.

II. DEDICATORIA

A los seres más importante de mi vida, a mi esposo José Manuel y a mi pequeña hija Romina, gracias por permitirme vivir esta experiencia, por acompañarme y apoyarme, por estar siempre para mí, por animarme cuando pensaba en desistir, por siempre tener una palabra de aliento, una sonrisa, por su paciencia y amor. Este logro también es suyo.

A mi papa Boris por animarme e impulsarme en cada paso y decisión que tomé, por formarme como persona de bien.

A mi Mamá Clarita por aconsejarme, cuidarme y velar por mí, porque a pesar del miedo y angustia, siempre tuvo confianza en mí y me apoyo en este gran camino.

A mis hermanos Boris, Bere, Diana, por el apoyo y por acompañarme en esta etapa de mi vida.

A mis amigas, Grace, Izanami, y Paloma por ayudarme y hacer mis días agradables, por esas horas en laboratorio, por esas horas y horas de pláticas, por sus consejos.

A Dios mi motor de vida, mi fe en cada paso que doy. Gracias por cada día y experiencia vivida.

III. RESUMEN

En la última década, México ha experimentado un aumento en los casos de enfermedades crónicas no transmisibles. La incorporación de compuestos bioactivos en la dieta para prevenir o tratar estas enfermedades ha ganado relevancia. El ajo (*Allium sativum*) contiene compuestos bioactivos, como la alicina, con propiedades antioxidantes, antimicrobianas e hipoglucemiantes. No obstante, debido a su limitada estabilidad, se han explorado alternativas biotecnológicas para mejorar su eficacia. El uso de nanopartículas biocompatibles y biodegradables con características fisicoquímicas favorables, como alta área superficial, tamaño nanométrico y estabilidad, continua en proceso de investigación. Las nanopartículas de óxido de hierro, además, poseen propiedades magnéticas que permiten una mayor especificidad hacia tejidos. Este estudio evaluó la actividad biológica de nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con extracto de *Allium sativum* mediante ensayos *in vitro*. Se sintetizaron nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con TEOS (NP Fe₃O₄@TEOS) y con extracto de ajo (Fe₃O₄@TEOS@Ajo) mediante coprecipitación asistida por ultrasonido. La actividad antioxidante se determinó mediante la inhibición de los radicales ABTS•⁺ y DPPH•, obteniendo inhibiciones máximas de 17.3% y 12.6%, respectivamente, a una concentración de 50 µg/mL con las NP Fe₃O₄@TEOS@Ajo. El monitoreo de su actividad enzimática frente a la α-glucosidasa con diversas concentraciones de NP Fe₃O₄@TEOS@Ajo fue significativamente más alta a las concentraciones más pequeñas (5 µg/mL), es decir un efecto dependiente de la concentración, pero inverso. Por su parte, la inhibición de la enzima convertidora de angiotensina alcanzó un 57.2% a 400 µg/mL de NP Fe₃O₄@TEOS@Ajo. La actividad anticancerígena se evaluó mediante el ensayo de exclusión con azul de tripán en las líneas celulares MCF-7 (cáncer de mama) y HT-29 (cáncer de colon) a concentraciones de 0.5 a 500 µg/mL. Las NP Fe₃O₄@TEOS mostraron baja citotoxicidad, con una viabilidad celular del 68% en MCF-7 y 72% en HT-29 a 500 µg/mL. En contraste, las NP Fe₃O₄@TEOS@Ajo exhibieron mayor citotoxicidad, reduciendo la viabilidad celular al 38% en MCF-7 y al 40% en HT-29 en la concentración más alta. Estos

resultados sugieren que los compuestos organosulfurados del extracto de ajo en las nanopartículas inhiben el crecimiento celular e inducen la muerte celular en ambas líneas, lo que podría implicar la ferroptosis como mecanismo de muerte celular programada dependiente de hierro para la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS). En cuanto a la migración celular en MCF-7, se observó un efecto antimigratorio con NP Fe₃O₄@TEOS y NP Fe₃O₄@TEOS@Ajo a concentraciones de 200 y 300 µg/mL. Las NP Fe₃O₄@TEOS@Ajo mostraron una mayor disminución en la migración celular a partir de las 6 horas, con diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$) respecto al control. Tras 24 horas de exposición, se evidenció una notable inhibición en la propagación de las células tumorales, manteniéndose la herida abierta.

Palabras clave: Ajo, nanopartículas, actividad anticancerígena, MCF-7, HT-29.

IV. ABSTRACT

In the past decade, Mexico has seen an increase in cases of non-communicable chronic diseases. Incorporating bioactive compounds into the diet to prevent or treat these diseases has become increasingly important. Garlic (*Allium sativum*) contains bioactive compounds, such as allicin, with antioxidant, antimicrobial, and hypoglycemic properties. However, due to its limited stability, biotechnological alternatives have been explored to enhance its effectiveness. The use of biocompatible and biodegradable nanoparticles with favorable physicochemical characteristics, such as high surface area, nanoscale size, and stability, has increased. Iron oxide nanoparticles also possess magnetic properties that allow for greater tissue specificity. This study evaluated the biological activity of iron oxide nanoparticles functionalized with *Allium sativum* extract through *in vitro* assays.

Iron oxide nanoparticles functionalized with TEOS (NP Fe₃O₄@TEOS) and with garlic extract (Fe₃O₄@TEOS@Garlic) were synthesized via ultrasound-assisted coprecipitation. Antioxidant activity was determined by inhibiting ABTS•⁺ and DPPH• radicals, achieving maximum inhibitions of 17.3% and 12.6%, respectively. Monitoring its enzymatic activity against α-glucosidase with various concentrations of Fe₃O₄@TEOS@Garlic NPs was significantly higher at the lowest concentrations (5 µg/mL), i.e. a concentration-dependent but inverse effect. At a concentration of 50 µg/mL with NP Fe₃O₄@TEOS@Garlic. Angiotensin-converting enzyme inhibition reached 57.2% at 400 µg/mL of NP Fe₃O₄@TEOS@Garlic.

Anticancer activity was assessed using the trypan blue exclusion assay on MCF-7 and HT-29 cell lines at concentrations ranging from 0.5 to 500 µg/mL. NP Fe₃O₄@TEOS exhibited low cytotoxicity, with cell viability of 68% in MCF-7 and 72% in HT-29 at 500 µg/mL. In contrast, NP Fe₃O₄@TEOS@Garlic showed higher cytotoxicity, reducing cell viability to 38% in MCF-7 and 40% in HT-29 at the highest concentration. These results suggest that the organosulfur compounds from the garlic extract in the nanoparticles inhibit cell growth and induce cell death in both lines, potentially implicating ferroptosis as a programmed cell death mechanism dependent on iron for reactive oxygen species (ROS) generation.

Regarding cell migration in the MCF-7 line, an antimigratory effect was observed with NP Fe₃O₄@TEOS and NP Fe₃O₄@TEOS@Garlic at concentrations of 200 and 300 µg/mL. NP Fe₃O₄@TEOS@Garlic showed a greater reduction in cell migration over time, starting at 6 hours, with statistically significant differences ($p \leq 0.05$) compared to the control. After 24 hours of exposure, a notable inhibition in tumor cell propagation was observed, as the wound remained open.

Keywords: Garlic, nanoparticles, anticancer activity, MCF-7, HT-29.

V. ÍNDICE GENERAL

1. Introducción.....	18
2. Antecedentes	20
2.1 Nanotecnología	20
2.2 Nanomateriales	20
2.3 Nanopartículas	21
2.3.1 Tipos de nanopartículas y nanofabricación	21
2.3.2 Nanopartículas de Óxido de Hierro	23
2.4 Nanotecnología y compuestos bioactivos.....	26
2.5 Ajo (<i>Allium sativum</i>).....	27
2.5.1 Clasificación Taxonómica.....	27
2.5.2 Importancia	28
2.5.3 Composición química	31
2.5.4 Tiosulfinatos	32
2.5.5 Alicina	34
2.5.6 Actividades biológicas del ajo	35
2.5.7 Cáncer	37
2.5.7.1 Cáncer de mama	39
2.5.7.2 Cáncer de colon.....	41
2.5.7.3 Migración	43
3. Justificación.....	47
4. Objetivos	48
4.1 Objetivo general	48
4.2 Objetivos específicos	48

5. Hipótesis.....	49
6. Materiales y Métodos.....	50
6.1 Reactivos	50
6.2 Métodos	51
6.2.1 Preparación de las muestras.....	51
6.2.1.1 Obtención del extracto de ajo.	51
6.2.1.2 Síntesis de nanopartículas.....	51
6.2.2 Ensayos de actividad biológica	52
6.2.2.1 Actividad antioxidante	52
6.2.2.1.1 Determinación de la actividad antioxidante por decoloración del radical 1-1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH [•])	52
6.2.2.2 Determinación de actividad antioxidante por ABTS ^{•+}	53
6.2.3 Actividad antimicrobiana	54
6.2.4 Actividad inhibidora de la α -glucosidasa.....	54
6.2.5 Actividad inhibidora de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) ...	55
6.2.6 Actividad anticancerígena	56
6.2.6.1 Proceso de esterilización de las nanopartículas.....	56
6.2.6.2 Ensayo de proliferación celular: exclusión con azul de tripán.....	56
6.2.6.3 Ensayo de citotoxicidad	57
6.2.6.4 Ensayo de migración celular	58
7. Resultados y Discusión	59
7.1 Actividad Antioxidante de las nanopartículas de óxido de hierro	59
7.2 Actividad antimicrobiana del extracto de ajo.....	61
7.3 Actividad inhibidora de la α -glucosidasa.....	64
7.4 Inhibición de la enzima convertidora de angiotensina (ECA)	67

7.5	Actividad anticancerígena	69
7.5.1	Ensayo de proliferación celular	69
7.5.2	Ensayo de citotoxicidad.....	80
7.5.3	Ensayo de migración celular	84
8.	Conclusiones.....	88
9.	Perspectivas.....	90
10.	Referencias	91

Índice de tablas

Tabla 1. Producción de ajo a nivel nacional	29
Tabla 2. Elementos traza presentes en el ajo fresco	32
Tabla 3. Concentración mínima inhibitoria (CMI) y Concentración mínima bactericida (CMB) del extracto hidroalcohólico de ajo	62

Índice de figuras

Figura 1. Clasificación taxonómica del ajo (Elaboración propia)	28
Figura 2. Principales estados productores de México. (SIAP, 2022)	30
Figura 3. Composición química del ajo fresco g / 100g. Base húmeda (Fuente: Ourouadi et al., 2016).....	31
Figura 4. Principales compuestos orgánicos de azufre del ajo. (Tomado de: Bhatwalkar et al., 2021)	33
Figura 5. Generación de alicina (A) y compuestos secundarios (B. (Elaboración propia).....	34
Figura 6. Modelos de estudio del cáncer de mama (Tomado y editado de Harbeck et al., 2019; Hou et al., 2022).....	40
Figura 7. Diseño metodológico (Elaboración propia).....	50
Figura 8. Porcentaje de inhibición de los radicales ABTS•+ y DPPH• de nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con TEOS@AJO. a) Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las concentraciones del tratamiento con respecto al radical DPPH•; b) Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las concentraciones del tratamiento con respecto al radical ABTS•+	60
Figura 9. Actividad inhibitoria de la alfa glucosidasa de nanopartículas funcionalizadas con extracto de ajo (NP Fe ₃ O ₄ @TEOS@Ajo), su efecto dependiente de concentración. Se utilizó Acarbosa como control positivo (200 µg/mL).....	65
Figura 10. Actividad inhibitoria de la ECA de nanopartículas funcionalizadas con extracto de ajo (NP Fe ₃ O ₄ @TEOS@Ajo), su efecto dependiente de concentración. Se utilizó Captopril como control positivo (10 µg/mL).....	68
Figura 11. Efecto de nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con TEOS (NP Fe ₃ O ₄ @TEOS) sobre células MCF-7 que fueron tratadas durante 24 h.....	70
Figura 12. Efecto de nanopartículas funcionalizadas con extracto de ajo (NP Fe ₃ O ₄ @TEOS@Ajo) sobre células MCF-7 que fueron tratadas durante 24 h.....	71

Figura 13. Efecto de nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con TEOS (NP Fe ₃ O ₄ @TEOS) sobre células HT-29 que fueron tratadas durante 24 h.	72
Figura 14. Efecto de nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con extracto de ajo (NP Fe ₃ O ₄ @TEOS@Ajo) sobre células HT-29 que fueron tratadas durante 24 h.	74
Figura 15. Células MCF-7 tratadas con NP Fe ₃ O ₄ @TEOS a diferentes concentraciones (100 X)	77
Figura 16. Células MCF-7 tratadas con NP Fe ₃ O ₄ @TEOS@Ajo a diferentes concentraciones (100 X)	78
Figura 17. Células HT-29 tratadas con NP Fe ₃ O ₄ @TEOS@Ajo a diferentes concentraciones (100 X)	79
Figura 18. Efecto de nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con TEOS (NP Fe ₃ O ₄ @TEOS) y extracto de ajo (NP Fe ₃ O ₄ @TEOS@AJO) sobre células MCF-7 que fueron tratadas durante 24 h.	81
Figura 19. Efecto de nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con TEOS (NP Fe ₃ O ₄ @TEOS) y extracto de ajo (NP Fe ₃ O ₄ @TEOS@Ajo) sobre células HT-29 que fueron tratadas durante 24 h.	82
Figura 20. Efecto de nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con TEOS (NP Fe ₃ O ₄ @TEOS) y nanopartículas funcionalizadas con extracto de ajo (NP Fe ₃ O ₄ @TEOS@Ajo) y extracto de ajo hidroalcohólico (EA) sobre la migración celular de células MCF-7	85
Figura 21. Efecto de nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con TEOS (NP Fe ₃ O ₄ @TEOS) y nanopartículas funcionalizadas con extracto de ajo (NP Fe ₃ O ₄ @TEOS@Ajo) y extracto de ajo hidroalcohólico (EA) sobre la migración celular de células MCF-7	86

LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

ABREVIATURA	SIGNIFICADO
ABTS•+	Ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AgNPs	Nanopartículas de plata
AI	Angiotensina I
AII	Angiotensina II
AT1	Receptores de angiotensina I
AT2	Receptores de angiotensina II
AuNPs	Nanopartículas de oro
BHI	Agar infusión cerebro corazón
CAM	Moléculas de adhesión celular
CI₅₀	Concentración Inhibitoria Media
CMB	Concentración mínima bactericida
CMI	Concentración mínima inhibitoria
CO₂	Dióxido de carbono
°C	Grados celcius
DMEM	Medio Eagle Modificado de Dulbecco
DNS	Ácido 3,5 dinitro salicílico
DPPH•	(2,2-difenil-1-picrilhidracilo)
EA	Extracto de ajo
ECA	Enzima convertidora de Angiotensina

ECV	Enfermedad cardiovascular
FDA	Food and Drug Administration
Fe₃O₄@TEOS	Nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con tetraetil ortosilicato
Fe₃O₄@TEOS@ajo	Nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con tetraetil ortosilicato y extracto de ajo.
HT-29	Línea celular de cáncer de colon.
IONPs	Nanopartículas de óxido de hierro
IRM	Imagen por resonancia magnética
MCF-7	Línea celular de cáncer de mama
µg	Microgramos
MCF	Michigan Cancer Foundation
MEC	Matriz extracelular
mg	Miligramos
mL	Mililitros
MTT	(Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5 difeniltetrazolio)
NF-κB	Factor nuclear kappa B
OXPHOS	Fosforilación oxidativa
PTT	Terapia fototérmica
PDT	Terapia fotodinámica
PBS	Buffer de fosfatos
RASS	Sistema renina angiotensina aldosterona
ROS	Especies reactivas de Oxígeno

SEM	Microscopia electrónica de barrido
SFB	Suero fetal bovino
SIAP	Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera
TEOS	Tetraetil ortosilicato
TSD	Terapia sonodinámica
TiO₂NPs	Nanopartículas de dióxido de titanio
TNF-α	Factor de necrosis tumoral alfa
VCAM-1	Proteína de adhesión celular vascular 1

1. Introducción

Las nanopartículas de óxido de hierro (IONPs) han cobrado gran interés y atraído la atención debido a las características físico-químicas y biológicas únicas que presentan, así como también a su capacidad magnética. Las IONPs tienen un amplio potencial en las ciencias biológicas como la biomedicina y la remediación del medio ambiente (Ali et al., 2016). En el área de la biomedicina se ha utilizado principalmente en el tratamiento y diagnóstico de diferentes tipos de cáncer, actuando como agentes de contraste para los estudios de resonancia magnética, en procedimientos de termoablación o hipertermia magnética, así como sistemas de acarreo y liberación dirigida de fármacos. Además, permiten la evaluación no invasiva de su biodistribución en tejidos diana mediante técnicas avanzadas de imagen como la resonancia magnética y la magnetometría (Jain et al., 2008; Dini et al., 2021). Las IONPs poseen características físico-químicas únicas en escala nanométrica, descritas como “efecto de tamaño cuántico”, como una alta relación superficie-volumen, características magnéticas, eléctricas o estructurales, que no existen en otros materiales. Los IONPs magnéticos son dependientes del tamaño y la forma, así mismo la morfología, la distribución del tamaño y las características físico-químicas son controlables mediante los procedimientos de síntesis (Nowak-Jary & Machnicka, 2022).

Las IONPs poseen un diámetro entre 1 y 100 nm y consisten generalmente en partículas de hematita (Fe_2O_3) o magnetita ($\gamma\text{Fe}_2\text{O}_3$) (VG & Prem, 2018). Las nanopartículas de hierro presentan una elevada área superficial la cual está relacionada con su estabilidad coloidal, aunque también puede propiciar la aglomeración debido a interacciones magnéticas dipolares. Para mitigar este efecto y mejorar su estabilidad en suspensión se funcionalizan con diversos materiales. Al respecto, Hernández-Hernández et al. (2021), mencionan que los IONPs sin recubrimiento tienden a aglomerarse debido a su alta área superficial específica y a las fuertes interacciones dipolares magnéticas inherentes, lo que facilita una rápida eliminación por parte del sistema reticuloendotelial. Por lo tanto, es común funcionalizarlas o recubrirlas con diversos agentes.

La funcionalización de estas nanopartículas para su uso como transportadores de fármacos enfrenta desafíos relacionados con posibles efectos adversos para la salud. Por ello, se ha explorado el uso de compuestos fitoquímicos naturales, presentes en extractos de plantas y frutos, como alternativas en la funcionalización de este tipo de nanopartículas buscando minimizar los efectos negativos (Dini et al., 2021).

El ajo es rico en compuestos azufrados como la alicina, sulfuros de dialilo, ajoenos etc., responsables de las propiedades terapéuticas atribuibles desde la antigüedad a este alimento. Se han reportado diversos efectos terapéuticos del ajo en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, diabetes y cáncer, aunado a esto se ha reportado que presenta una baja toxicidad (Tesfaye et al., 2021). Estas características lo posicionan como un candidato viable para su uso en la funcionalización de nanopartículas de óxido de hierro, potenciado su eficacia en estudios *in vitro*.

2. Antecedentes

2.1 Nanotecnología

La nanotecnología se define como la aplicación del conocimiento científico para manipular y controlar la materia en el rango de nanoescala para hacer uso de propiedades y fenómenos dependientes del tamaño y la estructura (Luo et al., 2020). Por otra parte, un nanomaterial se considera como un producto natural, incidental o manufacturado que contiene partículas, en estado no unido o agregado/aglomerado, donde el 50% o más de las partículas están en un rango de 1-100 nm según la definición de la Comisión de la Unión Europea (Recomendación 2011/696/EU) (Gallocchio et al., 2015; Hernández-Hernández et al., 2021).

Dentro de los usos que ofrece la nanotecnología, en el área de la biomedicina se utilizan en nanoencapsulados, nanosuspensiones, microemulsiones, nanogeles, liposomas y niosomas para la administración y liberación de fármacos, enzimas, biosensores, genes y oligonucleótidos en el tratamiento de enfermedades como el cáncer o en procesos infecciosos (Gallocchio et al., 2015; Bano et al., 2017).

En el área de la industria alimentaria se utilizan como: aditivos alimentarios para potenciar el color y sabor, como complementos alimenticios para aumentar la biodisponibilidad de hierro u otros oligoelementos y/o como nuevas estructuras alimentarias con características antimicrobianas y antioxidantes. La nanotecnología en la industria alimentaria ha cobrado importancia permitiendo mejorar la estabilidad fisicoquímica y la eficacia biológica de un sinnúmero de compuestos bioactivos ya que permiten incorporarlos como fortificantes de un alimento durante su procesamiento. Sin embargo, los nanomateriales deben adaptarse a las características físicas, químicas y estructurales de los compuestos bioactivos a incorporar, mejorando de esta manera su encapsulación y liberación (Luo et al., 2020).

2.2 Nanomateriales

Un nanomaterial (material nanocristalino) es una sustancia que posee el tamaño de la milmillonésima parte de un metro. Exhiben propiedades químicas, físicas y mecánicas únicas y benéficas dependientes de las áreas de aplicación (Gajanan & Tijare, 2018).

El uso de nanomateriales en materia de alimentos ofrece la oportunidad de mejorar las propiedades de los nutrientes que promueven la salud y la liberación de compuestos bioactivos, por ejemplo, por medio de la liberación controlada y sostenida de ingredientes (hidrogeles basados en biopolímeros y tecnologías de encapsulación), mediante la promoción de la interacción reducida entre ingredientes dentro de un sistema alimentario. También, pueden mejorar la dispersión y suspensión de ingredientes insolubles en agua usando liposomas, nano dispersiones y nano emulsiones (Magnuson et al., 2011).

2.3 Nanopartículas

2.3.1 Tipos de nanopartículas y nanofabricación

Nanopartículas de plata (AgNPs): Debido a sus propiedades la plata, es uno de los metales más importante en la nanotecnología, ha sido utilizada desde la época antigua como un agente antimicrobiano contra bacterias, hongos y virus, para el control de infecciones, heridas entre otros usos. Las nanopartículas de plata son los nanomateriales más utilizados y ya se han usado como agentes antimicrobianos con buena eficacia contra bacterias y virus. Sus aplicaciones abarcan desde la industria textil y el tratamiento de aguas, hasta productos médicos y alimentarios. Además, las AgNPs destacan por su excelente conductividad eléctrica, estabilidad química y actividad catalítica. (Li et al., 2008; Mikhalovsky & Khajibaev, 2011).

Nanopartículas de oro (AuNPs): Las nanopartículas de oro presentan propiedades físicas, químicas y biológicas excepcionales. Pueden ser funcionalizadas con diversas biomoléculas, como anticuerpos, fármacos y material genético, lo que las hace ideales para aplicaciones médicas. Se utilizan en estudios inmunoquímicos para la identificación de interacciones proteicas, detectar antibióticos aminoglucósidos (estreptomycin, gentamicina y neomicina) y células madre cancerosas, facilitando el diagnóstico oncológico, así como la identificación de diferentes clases de bacterias. En la industria alimentaria, las AuNPs se integran en nanocompuestos poliméricos para fabricar envases con propiedades antimicrobianas (Mateo et al., 2013; Hasan, 2015).

Nanopartículas de dióxido de titanio (TiO₂NPs): Estas destacan por su biocompatibilidad y baja toxicidad en comparación con otras nanopartículas (Al₂O₃, SiO₂). Se utilizan en biodetección, administración de fármacos, implantes y aplicaciones antibacterianas. En oncología, su funcionalización superficial permite la terapia dirigida contra el cáncer mediante interacción con especies reactivas de oxígeno (ROS), lo que induce la destrucción de células cancerosas. También se emplean en terapia fototérmica (PTT), fotodinámica (PDT) y sonodinámica (SDT) para la liberación controlada de agentes anticancerígenos. Su toxicidad se asocia más a su efecto físico (“efecto de partícula”) que a su “efecto químico” (Rashid et al., 2021) Las TiO₂NPs son también conocidas por su actividad fotocatalítica y capacidad para absorber radiación UV, por lo que se emplean en la fabricación de recubrimientos autolimpiables, pinturas en la industria textil y protectores solares. Sin embargo, en cuanto al uso del TiO₂ en el campo de la medicina, se necesitan estudios en profundidad sobre la compatibilidad de los materiales basados en TiO₂ (implantes y stents) con los componentes del cuerpo humano (tejidos, cartílagos y huesos) (Gartner et al., 2023).

Nanopartículas de dióxido de zinc (ZnONPs): El zinc es un oligoelemento esencial presente en todos los tejidos corporales y participa en funciones vitales como la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos, la hematopoyesis y la neurogénesis. Las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO), debido a su reducido tamaño, mejoran la absorción de zinc en el organismo y de hecho ya se emplean como suplemento dietético y aditivo alimentario. Reconocidas por la FDA (Food and Drug Administration) como sustancias “GRAS” (generalmente reconocidas como seguras), estas nanopartículas han ganado atención en aplicaciones biomédicas por su bajo costo y relativa baja toxicidad en comparación con otras nanopartículas de óxidos metálicos. Sus aplicaciones incluyen propiedades anticancerígenas, administración de fármacos, actividad antibacteriana, tratamiento de la diabetes, efectos antiinflamatorios, cicatrización de heridas y bioimágenes (Anjum et al., 2021; Fujihara & Nishimoto 2024).

Nanopartículas magnéticas (MNP): Considerando que son aquellas nanopartículas (NP) que muestran alguna respuesta a un campo magnético

aplicado; la nanotecnología permite sintetizar sistemas con tamaños nanométricos donde las leyes clásicas de la física son diferentes a esa pequeña escala. A medida que disminuye el tamaño de la partícula, aumenta la relación entre el área de superficie y el volumen de la partícula. En el caso de las nanopartículas, esta relación se vuelve significativamente grande, lo que hace que una gran parte de los átomos residan en la superficie en comparación con los que se encuentran en el núcleo de la partícula. Es decir, a medida que el tamaño de las nanopartículas disminuye, la relación superficie-volumen y, en consecuencia, la fracción de átomos de la superficie con respecto a los átomos en masa, aumenta. La gran relación superficie-volumen de las nanopartículas es el factor clave para las nuevas propiedades físicas, químicas y mecánicas (Issa et al., 2013). Predominantemente compuestas por las partículas con núcleo magnético formado por óxido de hierro como magnetita (Fe_3O_4), y maghemita ($\gamma\text{Fe}_2\text{O}_3$), estas nanopartículas exhiben propiedades magnéticas notables y son biocompatibles. Para mejorar su funcionalidad y estabilidad, suelen recubrirse con polímeros que permiten la conjugación con proteínas, anticuerpos, ácidos nucleicos o fármacos, etc., otorgándoles especificidad hacia células objetivo. Sus aplicaciones incluyen el tratamiento selectivo del cáncer mediante hipertermia magnética (Ashikbayeva et al., 2019), la clasificación y manipulación de células madre, la terapia génica, la administración dirigida de medicamentos y su uso como agentes de contraste para imagen por resonancia magnética (IRM) (Ramos & Castillo, 2011; Hasan, 2015).

2.3.2 Nanopartículas de Óxido de Hierro

Las nanopartículas de óxido de hierro por su carácter magnético, se ha utilizado en el tratamiento y diagnóstico de cáncer, como medio de contraste para resonancia magnética, termoablaciones, sistema de acarreo de fármacos para administración dirigida con ciertas ventajas, debido a sus propiedades magnéticas que permiten su seguimiento y la determinación cuantitativa de su biodistribución en el tejido diana mediante resonancia magnética no invasiva y magnetometría (Jain et al., 2008; Dini et al., 2021).

La biodistribución de las nanopartículas magnéticas depende de las propiedades que presente y que pueden afectar las interacciones con las proteínas del suero

(opsonización) tales como tipo de superficie, tamaño y forma. Las nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con fármacos para tratamientos biomédicos como es el caso del cáncer, se han relacionado con efectos negativos adversos para la salud, de aquí surge la importancia en la utilización de otros compuestos fitoquímicos presentes en extractos de plantas como uso alternativo en la funcionalización de este tipo de nanopartículas que eviten los efectos negativos. Por ejemplo, en el tratamiento de diabetes con fármacos químicos comúnmente se tienen efectos secundarios graves y se ha reportado que, al introducir suplementos de antioxidantes exógenos, especialmente en la etapa inicial de la diabetes se mejora la sintomatología presentada a causa de la enfermedad en el paciente (Dini et al., 2021).

La nanofabricación implica procesos y métodos de construcción de nanoestructuras y dispositivos diseñados con dimensiones mínimas inferiores a 100 nm. Esta tecnología es la base de casi todos los aspectos de la investigación y el desarrollo de nanomateriales, con un enfoque en su uso para dispositivos multifuncionales complejos con aplicaciones que abarcan un amplio campo tecnológico, desde la recolección y el almacenamiento de energía, la electrónica, la detección, la medicina y la atención de la salud humana, etc. (Biswas et al., 2012; Salehi et al., 2019).

La síntesis de nanopartículas generalmente se agrupa en 2 categorías, las aproximaciones de arriba hacia abajo o “top-down” en las cuales ocurre un rompimiento de materiales de gran tamaño para generar nanopartículas de diversos tamaños y morfologías (uso en elaboración de cerámica); y las de abajo hacia arriba o “bottom-up” que se logra por la unión de átomos o moléculas para la formación de nanopartículas con una composición química más homogénea (uso en aplicaciones biomédicas) (Rao et al., 2006; Biswas et al., 2012; Joudeh & Linke, 2022).

Los procedimientos de síntesis tipo bottom up que se han demostrado ser los más exitosos en la fabricación de este tipo de nanopartículas son: coprecipitación química, reacciones en entornos restringidos, reacciones hidrotermales, alta temperatura, reacciones sol-gel, métodos de polirol, métodos electroquímicos, de aerosol / vapor, descomposición térmica, reacción solvotérmica, métodos de

química húmeda hidrolíticos y no hidrolíticos, síntesis de fase líquida, microemulsión y evaporación láser, biomineralización (Tombácz et al., 2015)

La síntesis de nanopartículas puede ser también de manera física, química o biológica. Destacando en los últimos años el uso de alternativas ecológicas o ecofriendly en el cual se utilizan microorganismos, hongos, enzimas o extractos de plantas, con lo cual se evitan muchos efectos adversos por el uso de químicos tóxicos y dañinos para el medio ambiente. El desarrollo de estos métodos ecológicos para la síntesis de nanopartículas está evolucionando hacia una rama importante de la nanotecnología, especialmente las nanopartículas de plata, las cuales han tomado importancia en el área biomédica donde son utilizadas principalmente como agentes antimicrobianos y antivirales, en otras aplicaciones de la ciencia tienen aplicación en el tratamiento de agua, la industria de pinturas, dispositivos médicos, entre otros (Hasan 2015; Sreelakshmy et al., 2016).

La síntesis de nanopartículas por métodos químicos se lleva a cabo por pirólisis, transición sol-gel, síntesis de fluidos supercríticos y depósito químico en fase de vapor; por métodos físicos como pueden ser por grabado, fresado mecánico, ablación láser, descomposición térmica y litografía (Wu et al., 2015); y por último por métodos como la síntesis biológica que no utilizan productos químicos que pudieran ser tóxicos y que son llamados métodos ecológicos que logran nanopartículas con alto grado de pureza (formas variadas – prismas, hojas, esferas) a partir de compuestos bioactivos de hongos, bacterias y plantas mediante técnicas sencillas, rápidos, efectivos y económicas (Abdullah et al., 2020).

Durante la síntesis, la morfología de las nanopartículas puede verse afectado por varios factores, como la presencia de tensoactivos (por ejemplo, oleilamina o amina adamantano), concentración de los reactivos, la temperatura de reacción o el tiempo (Hernández-Hernández et al., 2021).

Como se vislumbra, la síntesis de nanopartículas constituye un área de gran interés en el campo biomédico, industria alimentaria, ciencias ambientales. Con el surgimiento de las nanotecnologías, la comunidad científica accede a herramientas que renuevan enfoques para el descubrimiento de nuevas estructuras utilizando sustancias activas (Novelles et al., 2019).

2.4 Nanotecnología y compuestos bioactivos

La nanotecnología tiene el potencial de incluir compuestos bioactivos en la producción de alimentos funcionales, sin afectar su percepción sensorial y mejorar de esta forma la absorción de ciertos componentes. Muchos compuestos bioactivos o nutrientes pueden obtenerse como parte de nanopartículas biocompatibles y biodegradables, mejorando su estabilidad, biodisponibilidad y tiempo de circulación (Bigliardi & Galati, 2013).

Un compuesto bioactivo se define como aquel componente que aporta un beneficio a la salud más allá de los considerados como nutrición básica. Generalmente los encontramos en pequeñas cantidades en productos de origen animal, cereales, vegetales, etc. Un ejemplo de compuestos bioactivos presentes en frutas, verduras y granos enteros, son los fitoquímicos. Son sustancias químicas vegetales no nutritivas, bioactivas que pueden proporcionar beneficios para la salud y reducir así el riesgo de enfermedades crónicas. Los fitoquímicos dietéticos se pueden clasificar en varias categorías como: fenólicos, alcaloides, compuestos que contienen nitrógeno, compuestos orgánicos de azufre, fitoesteroles y carotenoides principalmente (Liu 2013; Herrera-Chale, 2014).

Diversos estudios han utilizado nanomateriales como es el caso de las nanopartículas para la funcionalización y transporte de compuestos bioactivos de diversas fuentes alimentarias. Nosrati et al. (2018) funcionalizaron nanopartículas de óxido de hierro con albúmina de suero y curcumina (NP de F@BSA@CUR) para evaluar su citotoxicidad en células de cáncer de mama MCF-7, obteniendo una actividad citotóxica significativa en esta línea celular, la concentración inhibitoria media (CI₅₀) a las 72 y 96 horas fueron de 915 y 275 μ M, respectivamente.

Shah et al. (2017) también funcionalizaron nanopartículas de magnetita, pero con ácido gálico (IONP@GA) para la evaluación de su actividad antioxidante y antimicrobiana, la CI₅₀ de las IONP@GA se evaluaron en el ensayo antirradical con 2,2- difenil- 1- picrilhidrazilo (DPPH^{*}) y revelaron una disminución de 2 a 4 veces la absorbancia a 517 nm en comparación con nanopartículas de óxido de hierro no funcionalizadas, es decir; una eliminación mejorada de radicales libres para IONP@GA como efecto sinérgico entre IONP y GA. Además, las nanopartículas

funcionalizadas con ácido gálico demostraron una excelente actividad antimicrobiana en diferentes cepas bacterianas y fúngicas.

Sin duda el uso de extractos de plantas para la síntesis y funcionalización de nanoestructuras constituye un área de interés creciente con fines diversos. Plantas como el ajo se ha reportado que posee un amplio abanico de propiedades y efectos benéficos para la salud a considerar (Salehi et al., 2019; Shang et al., 2019; Bhatwalkar et al., 2021).

2.5 Ajo (*Allium sativum*)

El ajo (*Allium Sativum*), pertenece a la familia *Liliaceae* (Santhosha et al., 2013). El término *allium* procede de la palabra celta *all*, que significa ardiente o caliente, mientras que *sativum* es un término latino que significa cultivado (García-Gómez & Sánchez-Muniz, 2000). El ajo es un alimento muy popular que se ha utilizado como agente aromatizante, así como especie como parte de una comida e ingrediente en la medicina tradicional de algunas culturas. Cabe destacar que el ajo se utilizó para alimentar a los atletas y aumentar sus niveles de resistencia durante los primeros juegos olímpicos de Grecia o en la antigua China e India lo utilizaban para tratar enfermedades infecciosas y para mejorar la respiración y la digestión (Amarakoon & Jayasekara, 2017; Bhatwalkar et al., 2021). El ajo tiene una amplia variedad de compuestos bioactivos, destacan los orgánicos de azufre, saponinas, compuestos fenólicos y polisacáridos (Shang et al., 2019).

El consumo per cápita de dos libras por año en todo el mundo; China e India ocupan el primer y segundo lugar respectivamente en la producción de ajo según la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (Bhatwalkar et al., 2021).

2.5.1 Clasificación Taxonómica

El ajo (*Allium sativum* L) fue enumerado en el 1974 por Carlos Linneo en su libro *Species Plantarum* siendo esta la primera clasificación taxonómica de este cultivo, ya en el tiempo actual Takhtajan (1997), propuso la siguiente clasificación:

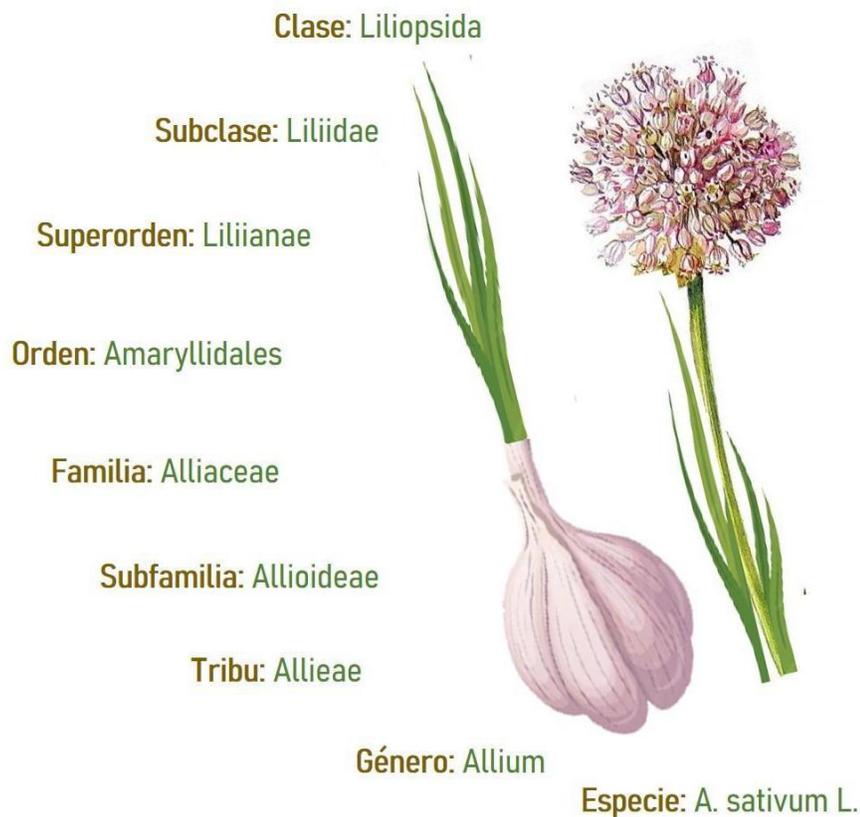


Figura 1. Clasificación taxonómica del ajo (Elaboración propia)

2.5.2 Importancia

El ajo es una de las hortalizas más conocidas y de mayor consumo en el ámbito internacional. Es un cultivo muy importante a nivel mundial ya que actualmente se produce en más de 100 países, donde se ha incrementado su producción considerablemente en la última década siendo los países asiáticos los principales productores a nivel global. La producción nacional de ajo creció 4.3 por ciento al cierre de 2020, con un volumen de 86 mil 500 toneladas, lo que ha permitido al país ubicarse como el noveno exportador mundial de esta hortaliza, resaltó la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SIAP, 2021).

A nivel mundial México ocupa el lugar 18° con respecto a la superficie de siembra de ajo registrando un aproximado de 6,492 ha., al año. Se trata de una de las

hortalizas más rentables con mejor retorno económico a nivel nacional, se cultiva en 15 entidades del país (ver tabla 1).

Tabla 1. Producción de ajo a nivel nacional

Estado	Superficie (ha)	Producción (Tn)	Rendimiento (Tn/ha)
Aguascalientes	201	4,166	15.17
Baja California	144	2,181	11.09
Baja California Sur	16	298	13.45
Coahuila	5	26	4.75
Chihuahua	26	463	12.77
Guanajuato	1,034	12,471	12.44
Guerrero	5	27	3.98
Jalisco	20	391	14.65
Michoacán	3	37	8.33
Nuevo León	344	4,331	8.86
Oaxaca	195	2,029	7.61
Puebla	600	6,275	8.45
Querétaro	84	692	6
San Luis Potosí	69	795	8.44
Sonora	641	5,878	7.51
Tlaxcala	43	217	6.4
Zacatecas	3,032	49,749	15.94

(SIAP, 2021)

Los principales estados productores son Zacatecas, Guanajuato, Puebla, Baja California y Sonora, aportan el 87.1 % de la producción nacional, otras entidades que también producen este alimento son, Aguascalientes, Nuevo León, Oaxaca, Durango, San Luis Potosí, entre otras. La producción nacional de ajo creció 5.9 % al cierre de 2022, comparado con el año anterior, con una producción de 90,020 tn, lo que ha permitido al país ubicarse como el noveno exportador mundial de esta hortaliza (SIAP, 2022). Según datos de la FAO se ha observado un aumento

considerable en la superficie cultivada la cual pasó de 1.3 millones de ha a 1.57 millones de ha, y en rendimiento el cual va de 20 millones de toneladas a 28 millones de toneladas. En la figura 2 se muestran los estados con mayor producción: Zacatecas con 49,749 tn, Guanajuato con 12,471, Puebla con 6,275 tn y Sonora con 5,878 tn (SIAP, 2022).



Figura 2. Principales estados productores de México. (SIAP, 2022)

Al igual que a nivel mundial este cultivo ha tenido un crecimiento en su producción en la última década ya que la producción va de 52,924 tn en 2009 a 89,390 en 2018 representando esto un aumento en la producción de más de 36 mil toneladas, esto aunado igual a el aumento en la superficie sembrada la cual tuvo un crecimiento de 1,461 has durante el mismo período (SIAP, 2022).

2.5.3 Composición química

El ajo intacto contiene principalmente S-alquenil-L-sulfóxidos de cisteína responsables de su olor y sabores pungente. Estos sulfóxidos incluyen S-Metil-L-cisteína sulfóxido (Metiína), S-Alil-L-cisteína sulfóxido (Aliína), S-propil-L-cisteína sulfóxido (propiína), S-propenil-L-cisteína sulfóxido (Isoalliína), S-etil-L-cisteína sulfóxido (Etiína) y S-n butil-L-cisteína sulfóxido (Butiína) (Ourouadi et al., 2016; Bhatwalkar et al., 2021).

El ajo contiene aproximadamente 65% de agua, 28% de carbohidratos (polisacáridos: 85% fructosa, 14% glucosa y 1% galactosa) (Shang et al., 2019), 2.3% de compuestos orgánicos de azufre, 2% de proteínas (aliinasa), 1,2% de aminoácidos libres (arginina) y 1,5% de fibra, ver figura 3 (Shantosha et al., 2013).

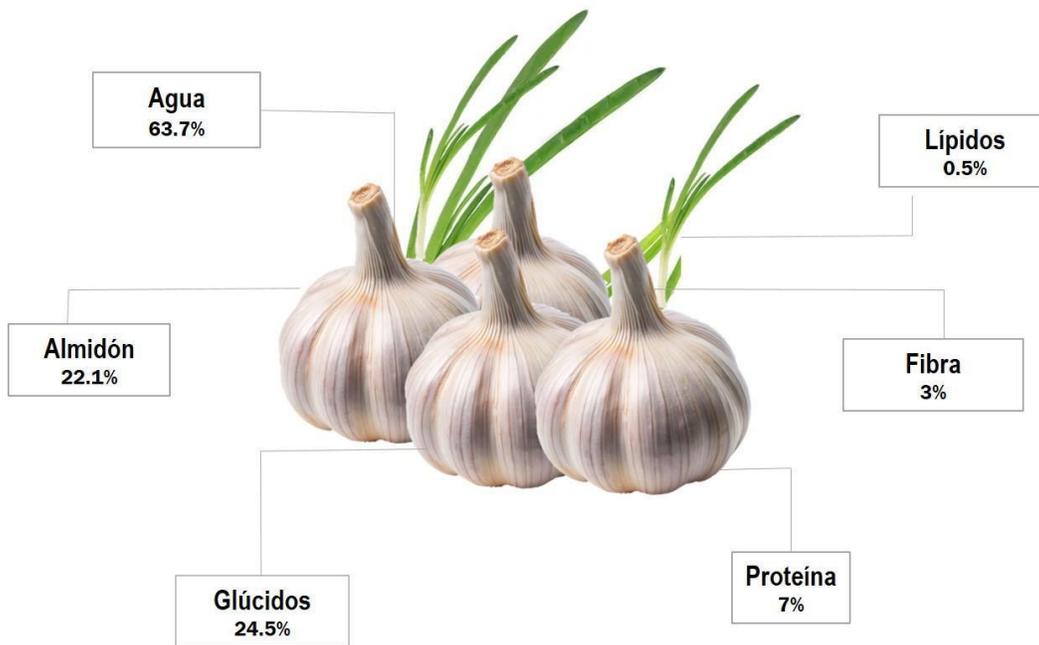


Figura 3. Composición química del ajo fresco g / 100g. Base húmeda (Fuente: Ourouadi et al., 2016)

Contiene alrededor de 20 compuestos fenólicos, siendo el ácido β -resorcílico el principal, seguido del pirogalol, el ácido gálico, la rutina, el ácido protocatecuico y la quercetina (Shang et al., 2019). En la tabla 2 se presenta los elementos traza presentes en el ajo fresco.

Tabla 2. Elementos traza presentes en el ajo fresco

Elementos traza	Cantidad (%) *
Sodio (Na)	8.0 mg \pm 2%
Potasio (K)	373.0 mg \pm 9%
Calcio (Ca)	18.0 mg \pm 3%
Fósforo (P)	64.0 \pm 3%
Hierro (Fe)	2.2 mg \pm 5%
Magnesio (Mg)	8.0 mg \pm 4%
Manganeso (Mn)	1.3 mg \pm 2%
Zinc (Zn)	0.9 μ g \pm 5%
Cobalto (Co)	0.9 μ g \pm 3%
Selenio (Se)	77.1 μ g \pm 2%
Flúor (F)	22.0 μ g \pm 2%
Iodo	94 μ g \pm 4%

*Base húmeda (Tomado de Ourouadi et al., 2016)

2.5.4 Tiosulfinatos

El ajo, específicamente los bulbos, contienen compuestos orgánicos azufrados, como las γ -glutamilcisteínas y los sulfóxidos de cisteína. Durante el almacenamiento las γ -glutamilcisteínas se convierten en los sulfóxidos de cisteína (precursores de tiosulfinatos). Los tiosulfinatos se forman tras una reacción enzimática catalizada por aliinasa (Shantosha et al., 2013).

Los más conocidos son 8 compuestos; el alil-2-propeniltiosulfinato (alicina) considerada como el más abundante (50-90% mol), otros son: alilmetano-TS, trans-1-propenil-2-propeno-TS, metil-2-propeno-TS, aliltrans-1-propeno-TS, metilmetano-TS, trans-1-propenilmetano-TS, metil-trans-1-propeno-TS (Ourouadi et al., 2016). El calor forma tiosulfinatos volátiles como los sulfuros de dialilo, disulfuros de dialilo y trisulfuros de dialilo (figura 4) estos compuestos organosulfurados antioxidantes inhiben el daño ocasionado por reacciones oxidativas generadas por la vejez o enfermedades, reducen los niveles sanguíneos de LDL, tienen un efecto anti-inflamatorio, antiaterogénico y antitrombótico

relacionado a su capacidad de inhibir la síntesis de prostanoideos (Shantosha et al., 2013).

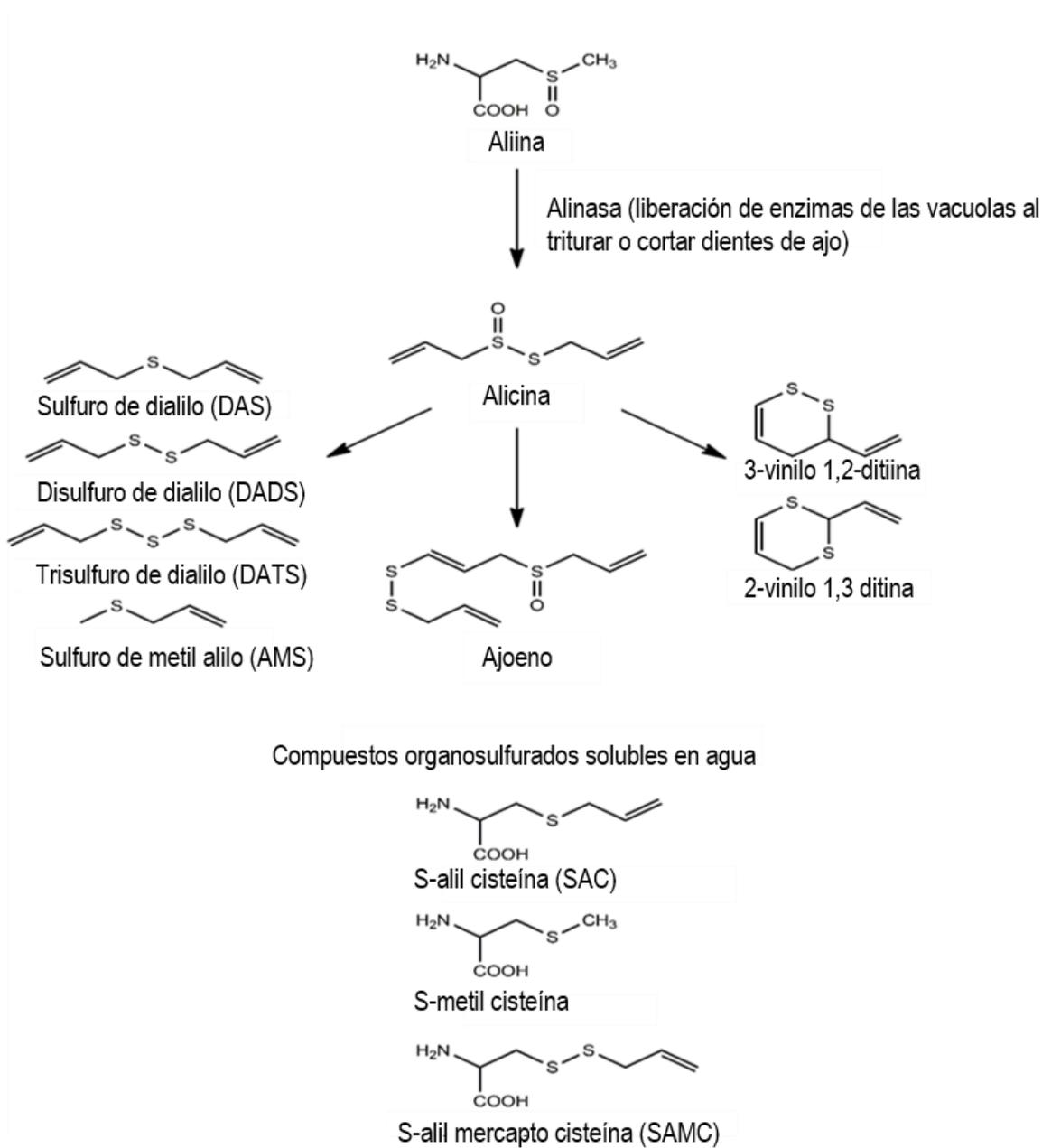


Figura 4. Principales compuestos orgánicos de azufre del ajo. (Tomado de: Bhatwalkar et al., 2021)

2.5.5 Alicina

Cavallito y Bailey (1994) reportaron por primera vez la presencia de alicina en el ajo (Salehi et al., 2019). La alicina no está presente en la planta intacta. La aliina (aminoácido no proteico) es el precursor estable que se convierte en alicina por la acción de una enzima denominada aliinasa (figura 5) (Ourouadi et al., 2016). Es cuestión de segundos para que se lleve a cabo la transformación de la aliina en la molécula de alicina biológicamente activa al triturar un diente de ajo. La enzima responsable de la lisis es la aliinasa (EC 4.4.1.4), una glicoproteína dependiente de piridoxal 5-fosfato que consta de dos subunidades. La aliinasa está presente en cantidades inusualmente altas en los dientes de ajo: al menos el 10% del contenido total de proteínas (10 mg / g de peso fresco) (Ankri, 1999). La aliina, con la ayuda de la enzima aliinasa, primero se convierte en ácido alilsulfénico y luego se condensa en dos grupos alilo que contienen tiosulfinato, llamado alicina (alil 2-propenetiosulfinato).

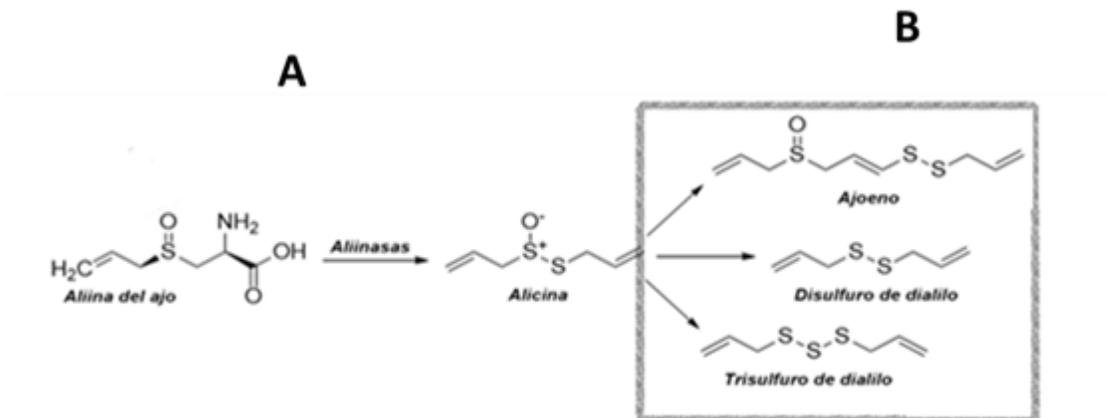


Figura 5. Generación de alicina (A) y compuestos secundarios (B). (Elaboración propia)

Posteriormente se pueden formar compuestos sulfurados como el sulfuro de dialilo, disulfuro de dialilo, trisulfuro de dialilo, vinidiltiínas y ajoenos (figura 4) (Varga-Visi et al., 2019). La alicina es un aceite incoloro con baja solubilidad en agua, poco estable y de vida corta y su contenido en un diente de ajo fresco oscila entre los 4 y 5 mg con un olor único y característico. Debido a su naturaleza hidrófoba la alicina

puede atravesar las membranas celulares reaccionando rápidamente con los grupos tiol libres, la descomposición de la alicina da origen a una amplia variedad de productos como ácido 2-propensulfénico, tioacroleína y alcohol alílico, y estos intermedios de vida corta se transforman rápidamente en moléculas grandes, como vinilditiínas, disulfuros y ajoenos. (Salehi et al., 2019).

Esta estructura alicina al igual que sus derivados pertenecientes a los compuestos organosulfurados presentes en el ajo se han relacionado con diversas actividades biológicas, como las que se describen en el siguiente apartado.

2.5.6 Actividades biológicas del ajo

Se ha reportado el efecto benéfico del ajo (*Allium sativum*), atribuido principalmente a los compuestos de azufre volátiles como la aliina, alicina, sulfuro de dialilo, disulfuro de dialilo, trisulfuro de dialilo, S-alil cisteína, alil mercaptano y ajoenos (Olech, 2012).

a) Actividad anticancerígena

La alicina exhibe actividad anticancerígena al inducir apoptosis en muchas células cancerosas (Salehi et al., 2019). El mecanismo de acción es mediante la activación de enzimas metabolizadoras inhibiendo especies reactivas de oxígeno, captura de radicales previniendo el daño del ADN e inhibición tumoral (Bhatwalkar et al., 2021). Son distintos mecanismos por los cuales el ajo actúa como anticancerígeno, entre los cuales destacan la eliminación de radicales libres, el aumento de los niveles de glutatión, por aumento de las actividades de algunas enzimas como la glutatión S-transferasa, la catalasa, la inhibición del citocromo P4502E1, los mecanismos de reparación del ADN, la prevención del daño cromosómico, entre otros (Durak et al., 2004).

b) Actividad antioxidante.

El mecanismo de acción antioxidante del ajo está relacionado con una mejora de las actividades de las enzimas antioxidantes, específicamente la alicina reacciona con el grupo tiol que posee enzimas para funcionar como un antioxidante eficaz. Su

acción se explica por la inhibición de radical hidroxilo y superóxido y por la inhibición en la formación de óxido nítrico (Salehi et al., 2019; Shang et al., 2019).

Locatelli et al. (2017) reportan que el ajo crudo presenta una actividad antioxidante más fuerte que el ajo cocido, esto debido a que los procesos de cocción originan pérdidas de los compuestos organosulfurados presentes por volatilización, lixiviación o transformación a otra molécula diferente. Sin embargo, a pesar del proceso de cocción se pueden encontrar compuestos estables con importante actividad como es el caso de los disulfuros de dialilo, los ajoenos y las vinilditiínas (Locatelli et al., 2017; Salehi, 2019).

c) Actividad cardioprotectora

Salehi et al. (2019) mencionan que la alicina ayuda en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares (ECV), ya que aumenta un estado antioxidante, previniendo la hiperlipidemia y la hipertrofia cardíaca, induciendo vaso relajación, inhibiendo la angiogénesis e incluso suprimiendo la agregación plaquetaria.

La presión arterial en el cuerpo humano está regulada por el sistema renina angiotensina aldosterona (RASS). Este sistema comienza con la activación de la renina. La renina activará el angiotensinógeno y se liberará la angiotensina I (AI) después intervendrá la enzima convertidora de angiotensina (ECA) para convertir la AI en angiotensina II, la cual es la responsable del incremento de la presión arterial a nivel sistémico, actuando como un potente vasoconstrictor (Lima et al., 2010). La AII (angiotensina II) es la responsable de interactuar con receptores de membrana incluyendo al AT1 y AT2 ubicados en distintos órganos (riñón, cerebro, glándulas) del sistema renal y del sistema nervioso (Barber & Barber, 2003).

d) Actividad antidiabética

La diabetes es una enfermedad caracterizada por hiperglucemia como resultado de una producción insuficiente de insulina por las células β pancreáticas y/o pérdida de eficacia de la insulina para regular el metabolismo de la glucosa, derivando en una resistencia a la insulina (Liu et al., 2007). Los beneficios del ajo sobre la diabetes

mellitus se atribuyen principalmente a la presencia de compuestos de azufre volátiles, como aliína, alicina, disulfuro de dialilo, trisulfuro de dialilo, sulfuro de dialilo, S-alil cisteína, ajoeno y alil mercaptano. Se ha demostrado también que los extractos de ajo pueden ser eficaces para reducir la resistencia a la insulina (Durak et al., 2004; Sadeghi et al., 2021; Yan et al., 2021). Algunos estudios realizados *in vivo* como el caso de Mathew y Augusti (1974) quienes estudiaron el efecto de la alicina sobre la glucosa en sangre en ayunas en animales tratados con este compuesto y aloxana como fármaco, concluyeron que la alicina podía ejercer un efecto hipoglucemiante por estimulación de las células β pancreáticas. La alicina también se ha reportado benéfica al aumentar la cantidad de catalasa y glutatión peroxidasa que estimulan la secreción de insulina en las células β pancreáticas de ratas normales (Liu et al., 2007; Santhosha et al., 2013).

e) *Actividad Antimicrobiana*

Los compuestos orgánicos de azufre presentes en el ajo han demostrado propiedades antibacterianas como lo son: actividad bactericida, antitoxina, *anti-quórum* y antibiofilm. Lo que lleva a la hipótesis de que la alicina podría ejercer su efecto antibacteriano al reaccionar con los grupos sulfhidrilo de manera irreversible de las proteínas bacterianas. La acción de la alicina es en su mayoría inespecífica, ya que se ha descubierto que inhibe la ureasa, la papaína, la amilasa y la alcohol deshidrogenasa (Bhatwalkar et al., 2021). Además, Li et al. (2016) mencionan el efecto que tiene el aceite de ajo como agente antifúngico contra *Candida albicans* y *Penicillium funiculosum*, al penetrar en células y orgánulos y causar la expresión diferencial de genes que son críticos para el metabolismo celular.

2.5.7 Cáncer

Los cánceres son un grupo grande y heterogéneo de tumores malignos que, en conjunto en 2020 causaron casi 10 millones de muertes en el mundo (Sung et al., 2021). En 2022, hubo 20 millones de casos nuevos y 9.7 millones de muertes por cáncer en el mundo. Se anticipa que en 2040 el número de casos nuevos de cáncer

por año, aumentará a 29.9 millones y el número de muertes relacionadas con el cáncer aumentará a 15.3 millones. Para el año 2050 esta cifra de nuevos casos seguirá en aumento con una predicción de 35 millones. Las estimaciones sugieren que aproximadamente uno de cada cinco hombres o mujeres desarrolla cáncer en su vida, mientras que alrededor de uno de cada nueve hombres y una de cada 12 mujeres mueren por esta causa (Ferlay et al., 2020; Bray et al., 2024).

En general, las tasas más altas de cáncer se encuentran en los países con poblaciones que tienen el nivel más alto de esperanza de vida, de educación y de estándar de vida. Pero para algunos tipos de cáncer, como el cáncer de cuello uterino, se observa lo contrario. La tasa de incidencia más alta para este cáncer se encuentra en países cuya población tiene niveles bajos de estos indicadores (Lopes et al., 2023). El costo económico mundial estimado de los cánceres de 2020 a 2050 es de 25.2 billones de dólares internacionales (a precios constantes de 2017), equivalente a un impuesto anual del 0.55% sobre el producto interno bruto mundial. Los cinco cánceres con los costos económicos más altos son el cáncer de tráquea, bronquios y pulmón (15.4%); el cáncer de colon y recto (10.9%); el cáncer de mama (7.7%); el cáncer de hígado (6.5%); y la leucemia (6.3%). China y los Estados Unidos enfrentan los mayores costos económicos de los cánceres en términos absolutos, representando el 24.1% y el 20.8% de la carga mundial total, respectivamente. Aunque el 75.1% de las muertes por cáncer ocurren en países de ingresos bajos y medios, su participación en el costo económico de los cánceres es menor, el 49.5%. La contribución relativa de los costos del tratamiento al costo económico total de los cánceres es mayor en los países de ingresos altos que en los de ingresos bajos (Chen et al., 2023; Bray et al., 2024).

Las causas de comportamiento o hábitos más importantes de cáncer son el consumo de tabaco, el consumo excesivo de alcohol, la obesidad, la falta de actividad física, las dietas bajas en frutas y verduras, los agentes infecciosos y la exposición al sol. Sin embargo, la detección temprana puede reducir las probabilidades de que una persona muera de cáncer de mama femenino, cuello uterino, colon y recto, pulmón y próstata (Schwartz, 2024). El Plan de Acción Mundial para la Prevención y el Control de las Enfermedades No Transmisibles

2013-2020 de la Organización Mundial de la Salud (OMS) propuso una meta de reducción relativa del 25% en la mortalidad prematura por enfermedades cardiovasculares, cáncer, diabetes y enfermedades respiratorias crónicas para este año, 2025. Además, la meta 3.4 de los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) de las Naciones Unidas es reducir en un tercio la mortalidad prematura por enfermedades no transmisibles, incluido el cáncer, para 2030, en comparación con 2015, y promover la salud mental y el bienestar (Chen et al., 2023).

2.5.7.1 Cáncer de mama

El cáncer de mama es la neoplasia maligna más frecuente en mujeres en todo el mundo y es curable en aproximadamente 70-80% de las pacientes con enfermedad no metastásica en etapa temprana. El cáncer de mama avanzado con metástasis en órganos distantes se considera incurable con las terapias disponibles actualmente. A nivel molecular, el cáncer de mama es una enfermedad heterogénea; las características moleculares incluyen la activación del receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2, codificado por ERBB2), la activación de los receptores hormonales (receptor de estrógeno y receptor de progesterona) y/o mutaciones BRCA. Las estrategias de tratamiento difieren según el subtipo molecular (Harbeck et al., 2019).

El manejo del cáncer de mama es multidisciplinario e incluye enfoques de terapia regional (cirugía y radioterapia) y sistémica. Las terapias sistémicas incluyen terapia endocrina para la enfermedad con receptores hormonales positivos, quimioterapia, terapia anti-HER2 para la enfermedad con HER2 positivo, agentes estabilizadores óseos, inhibidores de la poli(ADP-ribosa) polimerasa para portadores de mutaciones BRCA y, muy recientemente, inmunoterapia (Hong and Hu., 2022). Algunos factores aumentan el riesgo de padecer cáncer de mama, entre ellos el envejecimiento, la obesidad, el consumo nocivo de alcohol, los antecedentes familiares de cáncer de mama, el historial de exposición a radiación, el historial reproductivo (como la edad de inicio de los periodos menstruales y la edad en el primer embarazo), el consumo de tabaco y el tratamiento hormonal posterior a la menopausia. Alrededor de la mitad de los casos de cáncer de mama corresponden a mujeres sin ningún factor

de riesgo identificable, a excepción del género (mujer) y la edad (más de 40 años) (OMS, 2023). El cáncer de mama, es un desafío para la salud mundial, necesita una investigación continua para comprender la complejidad de los mecanismos y mejorar las estrategias terapéuticas y diagnósticas. Las líneas celulares de cáncer de mama son de suma importancia, ya que contribuyen significativamente a comprender la biología del cáncer. Las líneas celulares bidimensionales (2-D) hasta modelos de xenoinjertos derivados de pacientes en este momento avanzan tanto en la investigación fundamental como en la traslacional. Los xenoinjertos derivados de pacientes, los xenoinjertos derivados de líneas celulares, los cultivos tridimensionales, los organoides y los modelos de células tumorales circulantes brindan alternativas prometedoras que capturan las complejidades del microambiente tumoral (Figura 6) (Hou et al., 2022).

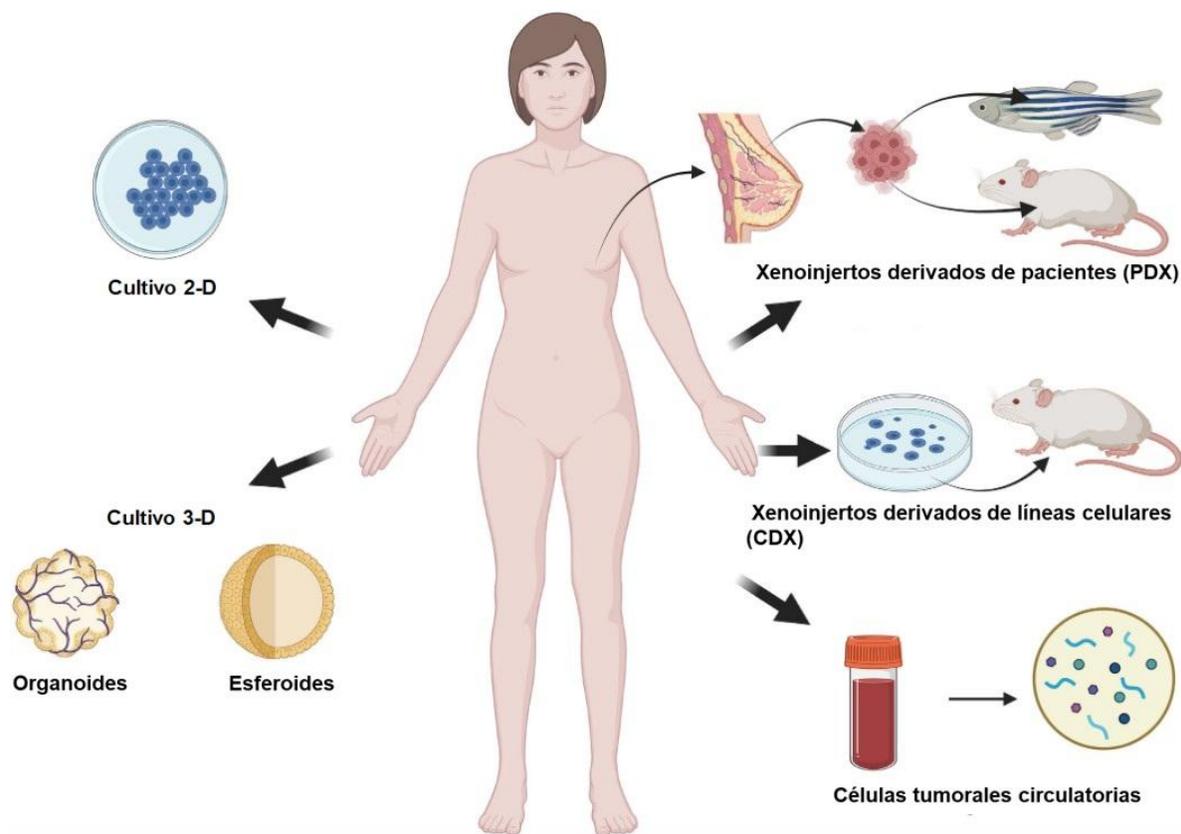


Figura 6. Modelos de estudio del cáncer de mama (Tomado y editado de Harbeck et al., 2019; Hou et al., 2022)

La línea celular MCF-7 se derivó del derrame pleural de una mujer de 69 años que sufría un adenocarcinoma de mama. Recibió su nombre de la Michigan Cancer Foundation (MCF) y es la línea celular de cáncer de mama humano más estudiada del mundo. La paciente se había sometido a una mastectomía de su mama derecha por un tumor benigno 7 años antes de que se iniciara el cultivo primario de células y a una mastectomía radical consecutiva de su mama izquierda por un adenocarcinoma maligno 4 años después (UKHSA, 2025; Comşa et al., 2015).

Las células MCF-7 son de interés porque mantienen una serie de características similares al epitelio mamario. La línea celular tiene una morfología similar a la epitelial y las monocapas forman estructuras en forma de cúpula debido a la acumulación de líquido entre la placa de cultivo y la monocapa celular. Es receptor de estrógenos (ER)-positiva y receptor de progesterona (PR)-positiva y pertenece al subtipo molecular luminal A (Lee et al., 2015). La línea celular MCF-7 es poco agresiva y no invasiva y normalmente se considera que tiene un potencial metastásico bajo. Las células también expresan receptores de andrógenos y glucocorticoides, lo que las convierte en herramientas valiosas en la investigación médica. Más allá de los estudios relacionados con las hormonas, las células MCF-7 son fundamentales para explorar el cáncer de mama a nivel molecular. Su aplicación abarca desde el análisis del perfil molecular de los tumores hasta el estudio de la proliferación y progresión de las células cancerosas en cultivos 2D y microtejidos tridimensionales en andamios, que reflejan fielmente el microentorno tumoral in vivo (UKHSA, 2025, Comşa et al., 2015).

2.5.7.2 Cáncer de colon

El cáncer de colon, también conocido como cáncer colorrectal (CCR), es un tipo de cáncer que comienza en las células del colon, que es una parte del intestino grueso. Por lo general, comienza como pequeños grupos de células no cancerosas llamados pólipos adenomatosos. Con el tiempo, algunos de estos pólipos pueden volverse cancerosos. Hace varias décadas, el cáncer colorrectal se diagnosticaba

con poca frecuencia. Hoy en día, es el cuarto cáncer más mortal del mundo, con casi 900,000 muertes anuales (Dekker et al., 2019).

Los factores de riesgo para desarrollar CCR incluyen la edad (mayor a 50 años), antecedentes familiares de CCR, antecedentes personales de pólipos colorrectales o enfermedad inflamatoria intestinal, ciertas condiciones genéticas, una dieta alta en carnes rojas o procesadas, falta de actividad física, obesidad, tabaquismo y consumo excesivo de alcohol (Di Giammarco et al., 2024).

El CCR se diagnostica con mayor frecuencia entre las edades de 65 y 74 años con una edad media en el momento del diagnóstico de 66 años. Sin embargo, la incidencia del CCR en adultos jóvenes (edad menor de 50 años, denominado CCR de inicio temprano), ha estado aumentando. Se predice que la incidencia del cáncer de colon aumentará en un 90% para los pacientes de 20 a 34 años de edad, y en un 27.7% para los pacientes de 35 a 49 años de edad para 2030 (Jin et al., 2021). Los avances en el conocimiento fisiopatológico han aumentado la variedad de opciones de tratamiento para la enfermedad local y avanzada, lo que ha dado lugar a planes de tratamiento individuales. Los tratamientos incluyen la escisión local endoscópica y quirúrgica, la radioterapia preoperatoria de reducción de estadio y la terapia sistémica, la cirugía extensa para la enfermedad localizada y metastásica, las terapias ablativas locales para las metástasis y la quimioterapia paliativa, la terapia dirigida y la inmunoterapia (Dekker et al., 2019).

La línea celular de adenocarcinoma de colon humano HT29 fue aislada de un tumor primario de una mujer caucásica de 44 años en 1964. Desde entonces, muchas líneas celulares se han derivado de cánceres de colon humanos. Inicialmente, esta línea celular se utilizó para estudiar diferentes aspectos de la biología de los cánceres humanos. Sin embargo, estas células han atraído la atención debido al hecho de que eran capaces de expresar características de células intestinales maduras, como enterocitos o células productoras de moco. Esta línea celular en su fenotipo diferenciado es similar a los enterocitos del intestino delgado con respecto a su estructura, la presencia de hidrolasas asociadas al borde en cepillo y el curso temporal del proceso de diferenciación que también es comparable al encontrado

en el intestino delgado. En los últimos años, ha surgido una nueva línea celular, HT29-MTX, que forma células caliciformes que producen moco. El cocultivo de células HT29-MTX con células Caco-2 genera modelos epiteliales gastrointestinales con perfiles de expresión genética similares a los del tejido gastrointestinal, y da como resultado una capa de moco sobre el epitelio (Gagnon et al., 2013).

Una característica definitoria del cáncer es la rápida creación de células anormales que crecen más allá de sus límites habituales y que luego pueden invadir partes adyacentes del cuerpo y propagarse a otros órganos; este último proceso se conoce como metástasis. Las metástasis generalizadas son la principal causa de muerte por cáncer (Schwartz, 2024; Sanjai et al., 2024).

Las integrinas son receptores de adhesión que participan como moléculas de señalización, mecanotransductores como agentes activos en la migración celular. Participan en la progresión de células cancerígenas. En el proceso oncogénico favorecen la señalización del receptor del factor de crecimiento oncogénico (GFR) en células cancerosas dependientes de este factor de crecimiento hasta alcanzar la etapa de invasión tumoral (Hamidi & Ivaska, 2018).

2.5.7.3 Migración

A pesar de los notables avances en la investigación del cáncer, la focalización terapéutica de la migración de células cancerosas ha resultado un desafío, y los esfuerzos por inhibir selectivamente la metástasis han tenido un éxito clínico limitado. La migración de células, como leucocitos, células madre, fibroblastos y células tumorales, está involucrada en una variedad de procesos fisiológicos y patofisiológicos (Justus et al., 2023). Las interacciones mecánicas entre las células cancerosas y su microambiente influyen en el metabolismo celular para facilitar la migración y la metástasis. Las células cancerosas detectan y responden a las propiedades mecánicas de la matriz extracelular (MEC) a través de procesos de mecanotransducción. Estos procesos alteran la arquitectura del citoesqueleto y la función de las enzimas metabólicas, ajustando la producción de energía según las demandas migratorias. Durante la migración, las células exhiben una notable plasticidad metabólica, adaptando dinámicamente sus vías bioenergéticas para

satisfacer las necesidades energéticas fluctuantes. La rigidez y composición de la MEC modulan las vías de señalización mecánica y, en consecuencia, el metabolismo celular. Por ejemplo, una MEC más rígida puede promover la glucólisis a través de la activación de la vía Liver Kinase B1; también conocida como Serine/Threonine Kinase 11 - STK11/ proteína quinasa activada por AMP (LKB1/AMPK) y fosfoinositol 3-quinasas o fosfoinosítido-3-quinasas (PI3K), mientras que una MEC más suave puede reducir la actividad glicolítica. La reprogramación metabólica inducida por señales mecánicas no solo soporta la migración celular, sino que también facilita la invasión y la formación de metástasis al proporcionar la energía necesaria y los intermediarios metabólicos requeridos para estos procesos (Zanotelli et al., 2021).

En esta interacción participan moléculas de adhesión celular (CAM), como la E-cadherina, la NCAM (molécula de adhesión celular neuronal), la ICAM-1 (molécula de adhesión celular intracelular -1) y la molécula de adhesión celular endotelial plaquetaria-1 (PECAM-1) (Lee et al., 2015). La cascada de invasión-metástasis es un proceso biológico complejo que consta de los siguientes eventos principales: (1) invasión local de la membrana basal y migración celular, (2) intravasación en la vasculatura y/o el sistema linfático, (3) supervivencia en la circulación, (4) detención en el sitio del órgano distante y extravasación, y (5) colonización en sitios metastásicos (Wilde et al., 2017).

La cascada de invasión y metástasis se inicia cuando las células cancerosas penetran la membrana basal circundante y la MEC para lo cual las células tumorales primarias pueden experimentar una transición epitelial-mesenquimal previa (TME). Al migrar por una matriz con alta plasticidad mecánica, las células extienden invadopodios y aplican una combinación de fuerzas protrusivas y contráctiles para abrir físicamente espacios en la matriz y desplazarse a través de ellos, facilitando la invasión a través del estroma que los rodea. La invasión local de las células tumorales y la diseminación metastásica a menudo se facilitan por fibroblastos asociados al cáncer (CAF) o componentes específicos de la matriz extracelular, que pueden aumentar la invasión o modular el sistema inmunológico. Esto ocurre en

parte a través de la liberación de proteasas y heparanasa, que alteran la integridad de la membrana basal (MB). La actividad basada en el complejo actomiosina y la polimerización de actina durante la migración, generan fuerzas mecánicas y son procesos altamente dependientes de energía. Se estima que hasta aproximadamente el 50% del ATP celular se utiliza para mantener el citoesqueleto de actina. Este proceso implica el tráfico de mitocondrias hacia el borde líder de las células migratorias, facilitado por la proteína Miro1 y regulado por la actividad de la proteína quinasa activada por AMP (AMPK). La AMPK actúa como un sensor metabólico y mecánico, vinculando la adhesión celular con la dinámica del citoesqueleto y la migración. Aunque la glucólisis produce ATP a una velocidad mayor que la fosforilación oxidativa, su rendimiento energético es menor, lo que representa una compensación termodinámica entre la rapidez y la eficiencia de producción de energía. Es decir, las células migratorias adaptan su metabolismo energético mediante la regulación de la localización mitocondrial y la modulación de vías metabólicas como la glucólisis, coordinando así la producción y distribución de energía para satisfacer las demandas específicas durante la migración (Elgundi et al., 2020; Zanutelli et al., 2021). Las células tumorales circulantes (CTC) deben sobrevivir al tránsito a sitios secundarios de metástasis y pueden ser asistidas por la activación plaquetaria, así como por los CAF acompañantes. Para salir del vaso, las células se extravasan al tejido circundante y se siembran en tejidos claramente diferentes del tumor primario. Las células cancerosas extravasadas típicamente tienen tres destinos: colonizar y proliferar para formar metástasis manifiestas, entrar en un estado reversible de latencia o, en la mayoría de los casos, morir (Gerstberger et al., 2023)

La migración celular colectiva es un proceso coordinado en el que las células líderes desempeñan un papel fundamental al enfrentar mayores demandas energéticas para guiar al grupo a través de la MEC. La adaptación metabólica de estas células es esencial para mantener la eficiencia y dirección del movimiento colectivo, y factores tanto genéticos como energéticos influyen en la elección del modo de migración celular. Se ha observado que las células líderes pueden modificar su metabolismo para favorecer la fosforilación oxidativa (OXPHOS), permitiendo una

producción energética eficiente incluso con una menor captación de glucosa. Además de los determinantes genéticos, como la expresión de E-cadherina, que influyen en la decisión de las células de migrar de forma individual o colectiva, se propone que los costos energéticos asociados con la migración en diferentes microambientes físicos también son factores importantes. Por ejemplo, en entornos donde la densidad de la matriz es alta y, por lo tanto, el costo energético de la migración individual es elevado, las células cancerosas pueden optar por modos de invasión colectiva más eficientes energéticamente (Zanotelli et al., 2021; Wang et al., 2023). Actualmente, se pueden detectar cientos a miles de metabolitos en tejidos y biofluidos en diferentes etapas de la cascada de invasión-metástasis a través de la creciente tecnología metabolómica (Martinez-Outschoorn et al., 2017).

Una caracterización metabólica extensa permitirá una mejor comprensión del papel de los diferentes metabolitos en la migración y la metástasis del cáncer y ayudará a identificar posibles dianas farmacológicas.

3. Justificación

En México en la última década las cifras de nuevos casos de enfermedades crónicas no transmisibles como, obesidad, hipertensión arterial, diabetes y cáncer van en aumento, por lo cual, la búsqueda de alternativas como la incorporación de compuestos bioactivos en la alimentación que ayuden en la prevención y/o tratamiento de estas enfermedades han cobrado gran importancia.

Son numerosos los estudios que evidencian la estrecha relación que existe entre alimentación y salud, por el efecto benéfico de los compuestos presentes en los alimentos como vitaminas, ácidos grasos, probióticos, compuestos fenólicos y fitoquímicos. El ajo (*Allium sativum*) contiene compuestos bioactivos de interés como la alicina, considerada como uno de los compuestos de mayor concentración en este alimento y de la cual se han reportado propiedades inmunomoduladoras, antimicrobianas, hipoglucemiantes, antioxidantes entre otras. Sin embargo, debido a la poca estabilidad que presentan los compuestos bioactivos como la alicina, se han buscado alternativas biotecnológicas para un mayor aprovechamiento que potencien su efectividad. Una opción que puede ser viable, es la incorporación de estos compuestos bioactivos en nanopartículas biocompatibles y biodegradables que mejoren su estabilidad, biodisponibilidad y tiempo de circulación en el organismo debido a sus características y propiedades fisicoquímicas. Una mayor área superficial y un tamaño nanométrico, puede permitir mejorar la estabilidad y retención de los compuestos presentes. Se han reportado nanopartículas funcionalizadas de oro, plata, zinc y óxido de hierro, estas últimas debido a su capacidad magnética tiene la posibilidad de generar especificidad a tejidos y células. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es evaluar la actividad biológica de nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con extracto de *Allium sativum* mediante pruebas *in vitro* que determinen su interacción con blancos terapéuticos que participan en la regulación de la glucemia; así como en la citotoxicidad y migración de células de cáncer de mama y de colon (MCF-7 y HT-29), para su viabilidad en uso potencial como coadyuvante en la prevención y/o tratamiento de algunas enfermedades

4. Objetivos

4.1 Objetivo general

Evaluar la actividad biológica de nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con extracto de *Allium sativum* mediante pruebas *in vitro* para su uso potencial como coadyuvante en la prevención y o tratamiento de algunas enfermedades.

4.2 Objetivos específicos

- Determinar la capacidad antioxidante de nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con extracto de ajo *Allium sativum*, mediante las pruebas de ABTS^{•+} y DPPH[•] para determinar los porcentajes de inhibición con cada uno de los radicales.
- Evaluar la actividad antimicrobiana de nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con extracto de ajo *Allium sativum* determinando la Concentración mínima inhibitoria (CMI) y la Concentración mínima bactericida (CMB) para establecer concentraciones efectivas.
- Determinar el efecto de las nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con extracto de ajo *Allium sativum* sobre la actividad inhibitoria de la enzima alfa glucosidasa *in vitro*, para establecer alternativas en la mejora de la absorción y liberación de glucosa proveniente de fuentes de carbohidratos.
- Determinar la actividad inhibitoria de nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con extracto de ajo *Allium sativum* de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) *in vitro*.
- Determinar la actividad anticancerígena de nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con extracto de ajo *Allium sativum*, evaluando el efecto citotóxico, la capacidad de cicatrización por migración celular y los cambios morfológicos sobre líneas celulares MCF-7 y HT-29, para establecer las concentraciones medias inhibitorias y los cambios morfo-estructurales posteriores a cada ensayo.

5. Hipótesis

La funcionalización de las nanopartículas de óxido de hierro con extracto de “*Allium sativum*”, permiten potenciar su funcionalidad en diferentes actividades biológicas como antioxidante, antimicrobiana, en la inhibición de enzimas clave reguladoras de la glucemia y la presión arterial; así como su efecto anticancerígeno *in vitro*.

6. Materiales y Métodos

En la figura 7 se presenta el diagrama metodológico que se llevó a cabo en el presente trabajo y el cual está dividido en dos etapas experimentales.

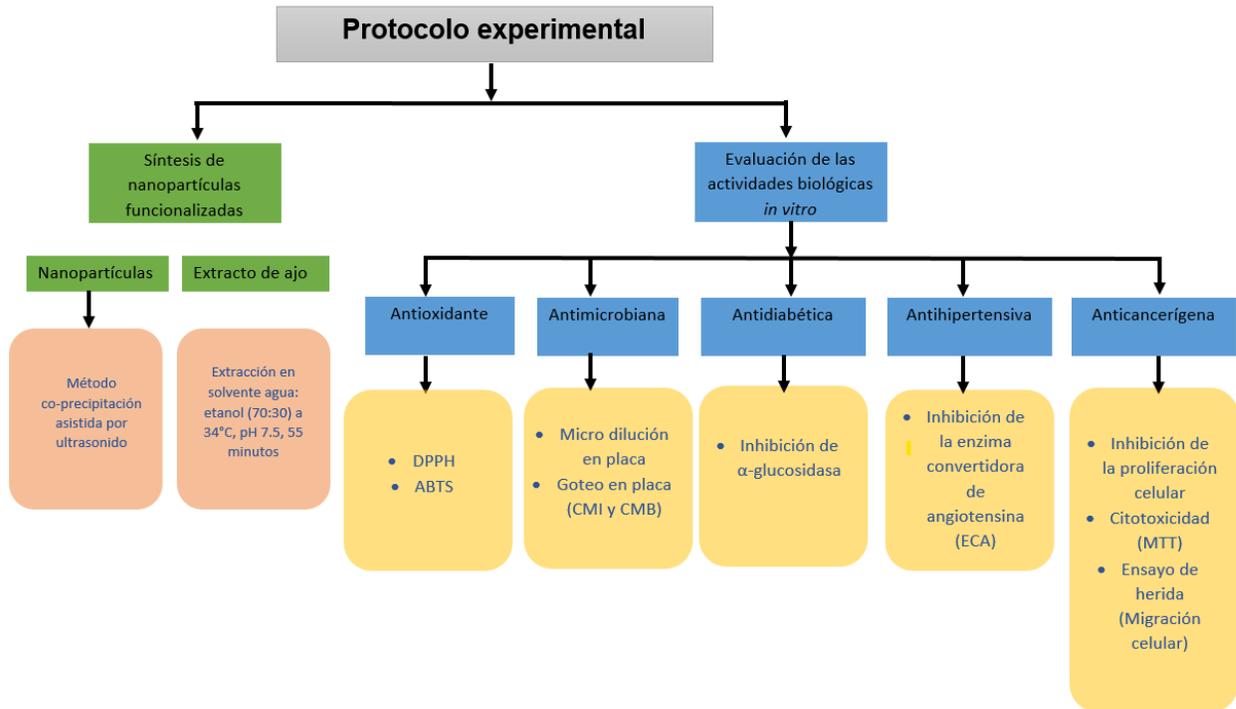


Figura 7. Diseño metodológico (Elaboración propia)

6.1 Reactivos

La sal de cloruro férrico hexahidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) y sal de cloruro ferroso tetrahidratado ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) se adquirieron de Química Meyer (Ciudad de México, México), el tetraetilo ortosilicato (TEOS) de Sigma Aldrich (St. Louis, MO, EE. UU.) y el hidróxido de amonio (NH_4OH) de J.T. Baker (Pensilvania, EE.UU.). Los radicales $\text{ABTS}^{+\cdot}$ y DPPH^\cdot fueron de la marca de Sigma Aldrich (St. Louis, MO, EE. UU.). Los medios de cultivo Agar Agar de Química Meyer (Ciudad de México, México), y el medio de cultivo BHI de Merck (Darmstadt, Alemania).

Las líneas celulares MCF-7 y HT-29 se cultivaron en medio DMEM (Dubelcco's Modified Eagle's Medium, Gibco y Ultra Cruz) con 10% de suero fetal bovino

(BIOWEST) y 1% de antibiótico (penicilina-estreptomicina, Gibco). La enzima convertidora de angiotensina de pulmón de conejo, la enzima α -glucosidasa de *Saccharomyces cerevisiae* y los sustratos enzimáticos N-Hipuril-histidil-leucina, el p-Nitrofenil- α -D-glucopiranosido, se adquirieron de Sigma Aldrich (St. Louis, MO, EE. UU.).

6.2 Métodos

6.2.1 Preparación de las muestras

6.2.1.1 Obtención del extracto de ajo.

El ajo fresco se limpió removiendo tallo, raíces y tierra, dejando únicamente los bulbos (dientes) para su almacenamiento a temperatura ambiente en un lugar seco para su uso posterior. Los bulbos de ajo sin cáscara, se trituraron antes de utilizarlos antes de utilizarlos y se siguió el procedimiento que a continuación se detalla. Cabe destacar que se utilizaron ajos de diferentes temporadas del año, ya que el procedimiento se realizó tantas veces como fue necesario realizar los experimentos, con la finalidad de obtener extracto fresco.

La extracción se realizó siguiendo la metodología de Hernández-Hernández (2021) considerando las condiciones estandarizadas óptimas: temperatura 34 °C, pH 7.5, tiempo de 55 min y con una relación masa-solvente de 1:10. El solvente utilizado fue agua: etanol (70:30) ya que los extractos de alicina presentaron una mayor estabilidad en esas condiciones. Se pesó 1 g de ajo fresco (previamente picado) y se mezcló con 10 mL de la solución de agua: etanol (70:30). Posteriormente la suspensión se agitó durante 55 minutos y se filtró.

6.2.1.2 Síntesis de nanopartículas

La síntesis y funcionalización de nanopartículas $\text{Fe}_3\text{O}_4@$ TEOS se realizó por el método de coprecipitación asistida con ultrasonido (Hernández-Hernández, 2021)

a) Síntesis de NP $\text{Fe}_3\text{O}_4@$ TEOS:

- 1) Se mezclaron 4.2 g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y 1.5 g de $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, adicionando 50 mL de agua destilada en un matraz bola con termopozo. La solución

se colocó en un baño ultrasónico (40KHz) a 50 °C. Las partículas obtenidas se separaron con un imán de neodimio (se realizaron lavados con etanol al 70%). Posteriormente se secaron en una estufa a 70 °C.

- 2) Se pesaron las nanopartículas y por cada 100 mg de IONPs se adicionaron 10 mL de etanol, 2 mL de agua destilada, 800 µL de NH₄OH y 200 µL de tetraetilortosilicato (TEOS). Se colocaron en un baño ultrasónico a 40 KHz, por 15 minutos a 60 °C. Para terminar, las partículas se lavaron con etanol al 70% y se secaron en una estufa a 70 °C.

b) Síntesis de NP de Fe₃O₄@TEOS@ajo.

Se pesaron 500 mg de nanopartículas de Fe₃O₄@TEOS (a condiciones óptimas), y fueron mezcladas con 1 mL del extracto optimizado de *Allium Sativum* durante 30 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente las nanopartículas se separaron con un imán de neodimio y se lavaron con agua destilada. Para terminar, se secaron en la estufa a 35 °C por 24 horas.

6.2.2 Ensayos de actividad biológica

6.2.2.1 Actividad antioxidante

6.2.2.1.1 Determinación de la actividad antioxidante por decoloración del radical 1-1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH')

Se determinó la actividad antioxidante utilizando el método por transferencia de electrones DPPH' (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) siguiendo la metodología citada por Re et al (1999), con algunas modificaciones. Para corroborar la presencia de compuestos antioxidantes en las nanopartículas de hierro funcionalizadas con ajo. Este método se fundamenta en la decoloración del radical (posee un electrón desapareado) de color azul-violeta hacia amarillo pálido por la presencia de un compuesto antioxidante (Llica et al., 2008).

Se prepararon las nanopartículas de óxido de hierro a diferentes concentraciones. Se colocaron 300 µL de la muestra y 2300 µL del radical DPPH' inmediatamente

después de añadir la solución metanólica de DPPH[•], se mantuvieron en la oscuridad todas las muestras durante 30 minutos. Transcurrido el tiempo de reacción se procedió a leer la absorbancia a 517 nm para determinar el porcentaje de inhibición del radical DPPH[•].

El porcentaje de inhibición de DPPH[•] de las muestras de prueba se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Porcentaje de inhibición (\%)} = \left(\frac{A_c - A_s}{A_c} \right) \times 100$$

As= Absorbancia de la muestra; Ac= la absorbancia del control (solución DPPH[•]).

6.2.2.2 Determinación de actividad antioxidante por ABTS^{•+}

La determinación de la actividad antioxidante por ABTS^{•+} se realizó siguiendo la metodología propuesta por Re et al. (1999), la cual implica la producción directa del cromóforo ABTS^{•+} verde-azul a través de la reacción entre ABTS^{•+} y el persulfato de potasio. La captación de radicales libres es el mecanismo de acción ya que se trata de una reacción de transferencia de electrones. El fundamento implica la cuantificación de la decoloración del radical causada por la presencia de donadores de hidrógeno o de electrones procedentes de compuestos antioxidantes. En presencia de estos compuestos el ABTS^{•+} reacciona y cambia de color azul a un ABTS^{•+} no coloreado.

La solución de ABTS^{•+} al 7 mmol/L se preparó con persulfato de potasio al 2.45 mmol/L y se incubó por 16 horas a temperatura ambiente en un lugar oscuro, posteriormente se diluyó con metanol (proporción 1:15) hasta obtener una absorbancia de 0.7±0.02.

Para las muestras con nanopartículas se tomaron 100 µL de la muestra más 3.9 mL de solución ABTS^{•+}, (se agitó el vial en un vórtex y dejó reposar durante 7 min, posteriormente se midieron las absorbancias a 734 nm (se utilizó metanol como

blanco). Se calculó el porcentaje de inhibición mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Porcentaje de inhibición (\%)} = \frac{Ac - As}{Ac} \times 100$$

6.2.3 Actividad antimicrobiana

La actividad antimicrobiana se determinó tanto a las nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con el extracto de ajo como al extracto de ajo, utilizando el método de microdilución en placa reportado por González et al. (2020). En ambos casos se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB) contra *Staphylococcus aureus* (ATCC 29740), *Salmonella entérica* Typhimurium y *Escherichia coli* (ATCC 8783).

Se utilizó agar infusión cerebro corazón (BHI) como caldo nutritivo y solución de fosfatos (PBS). Se utilizaron placas de 96 pocillos, en cada pocillo se colocaron 50 μL del medio de cultivo, 10 μL de la suspensión de microorganismos (ajustada al 0.5 McFarland) y 140 μL de cada muestra para un volumen final de 200 μL por pozo. Posteriormente se incubaron a 37 °C durante 24 horas.

Después del tiempo de incubación se utilizó la técnica de micro goteo que consistió en colocar 10 μL de cada pocillo en una placa Petri (agar nutritivo) con una separación entre gota de 1 cm^3 . Posteriormente se incubaron nuevamente a 37 °C durante 24 y 48 horas (Herigstad et al., 2001). Se determinó la Concentración mínima inhibitoria (CMI) la cual se define como la mínima concentración de un fármaco o agente capaz de inhibir el crecimiento visible de un microorganismo después de 24 h, se utilizaron placas de agar para estas determinaciones. En el caso de la Concentración mínima bactericida (CMB) la cual nos permite evaluar la mínima concentración de un agente antimicrobiano capaz de eliminar más del 99.9% de microorganismos también fue determinada utilizando placas de agar.

6.2.4 Actividad inhibidora de la α -glucosidasa

La actividad inhibidora de la α -glucosidasa con $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TEOS}@$ ajo se determinó siguiendo la metodología de Kim (2001) con algunas modificaciones. La α -glucosidasa se mezcló con las nanopartículas en diversas concentraciones (5, 25,

50, 100 y 200 µg/mL) en una placa de 96 pocillos (previamente a la incorporación de la enzima las nanopartículas fueron sonicadas a temperatura ambiente durante 15 minutos para evitar la aglomeración). Posteriormente para iniciar la reacción, se añadió a la mezcla el p-nitrofenil-α-D-glucopiranosido (5 mM) como sustrato en tampón de fosfato 100mM (pH 6.8). La reacción se incubó a 37 °C durante 30 minutos. Las absorbancias se tomaron inmediatamente después de la última incubación. La actividad de la α-glucosidasa se determinó midiendo la liberación de p-nitrofenil-α-D-glucopiranosido a 405 nm. Las tasas de inhibición se calcularon como controles porcentuales utilizando la siguiente fórmula:

$$I_{\alpha\text{-Glucosidasa}(\%)} = \frac{(A_{CN} - A_B) - (A_M - A_{CNEm})}{(A_{CN} - A_B)} \times 100$$

Donde:

A_{CN} : Absorbancia del control negativo

A_B : Absorbancia del blanco del control negativo

A_M : Absorbancia de la muestra

A_{CNEm} : Absorbancia del control no enzimático de la muestra

Se utilizó acarbosa (un fármaco antidiabético utilizado para tratar la diabetes mellitus tipo 2) como control positivo para esta prueba.

6.2.5 Actividad inhibidora de la enzima convertidora de angiotensina (ECA)

Se determinó por la inhibición de la actividad de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) *in vitro* mediante la conversión de hipuril-histidil-leucina en ácido hipúrico con una enzima inhibidora, siguiendo la metodología citada por Cushman y Cheung con algunas modificaciones (1971). Se tomaron 40 µL de las nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con el extracto de ajo ($Fe_3O_4@TEOS@ajo$) y se mezclaron con 20 µL de la ECA (2.5 mU/mL) previamente preparada con el buffer de boratos (pH 8.2) para su incubación a 37 ° C durante 5 minutos. A continuación, se añadieron 100 µL de hipuril-histidil-leucina (5 mM) y se incubaron durante 30 minutos. Se detuvo la reacción enzimática añadiendo 150 µL de HCl (1 M). Se utilizó 1 mL de acetato de etilo para extraer el ácido hipúrico

resultante. Después de centrifugar durante 10 min a 4 °C, el disolvente se evaporó a 92 °C y se volvió a disolver en 800 µL de agua bidestilada. La cantidad de ácido hipúrico se determinó midiendo la absorbancia a 228 nm.

Se determinó el porcentaje de inhibición utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Inhibición ECA (\%)} = \frac{(A \text{ muestra} - A \text{ blanco}) - (A \text{ control} - A \text{ blanco de muestra})}{(A \text{ muestra} - A \text{ blanco})} \times 100$$

6.2.6 Actividad anticancerígena

6.2.6.1 Proceso de esterilización de las nanopartículas

Las nanopartículas en seco se pesaron y esterilizaron mediante irradiación con luz ultravioleta por un tiempo de 30 minutos. Pasado el tiempo dentro de la campana de flujo laminar estéril, se adicionó etanol al 70%. Las nanopartículas se centrifugaron durante 10 min a 1500 rpm, para poder retirar el etanol por decantación. Posteriormente se adicionó el medio de cultivo DMEM para obtener la concentración deseada. Luego las nanopartículas se dispersaron con un vortex, seguido de sonicación durante 15 minutos para deshacer los agregados. Parte de la metodología fue tomada de Ma et al. (2019), Bernal-Chávez et al. (2021) y Tapia-Guerrero et al., (2020), se realizaron algunas modificaciones previamente ya descritas.

6.2.6.2 Ensayo de proliferación celular: exclusión con azul de tripán

Las células MCF-7 y HT-29 fueron sembradas (1.5×10^5 células) con suero DMEM (adicionado con 5% SFB y 0.01% penicilina-estreptomicina) en placas de 24 pozos durante 24 horas a 37 °C y 5% CO₂. Posteriormente se agregó el tratamiento con nanopartículas a las siguientes concentraciones 0.5, 5, 10, 50, 100, 200, 300, 400 y 500 µg/mL. Después de las 24 h de incubación, se agregaron 400 µL de la suspensión celular a 400 µL de la solución azul de tripán (0.4%). Las células vivas

y muertas se contaron utilizando una cámara de Neubauer (hemocitómetro) y un microscopio óptico. Las células vivas no absorben el tinte, mientras que las células muertas son teñidas de azul.

El porcentaje de viabilidad celular se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ células muertas} = \frac{\text{Número de células muertas}}{\text{Suma de células muertas y células vivas}} \times 100$$

6.2.6.3 Ensayo de citotoxicidad

El efecto antiproliferativo de las Fe₃O₄@TEOS y Fe₃O₄@TEOS@ajo en varias líneas celulares (MCF-7, HT-29) se cuantificó utilizando un kit de bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5 difenil tetrazolio (MTT). La función mitocondrial de las enzimas deshidrogenasas provoca la reducción de la sal de bromuro de tetrazolio a cristales de formazan insolubles. Se mide la cantidad de células viables a absorbancia de 570 nm por espectrofotometría (Sanjai et al., 2024).

Se evaluó la citotoxicidad y la actividad anticancerígena, siguiendo la metodología citada por Carmichael (1987). Las células fueron cultivadas en medio DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) con 10% de FBS y 0.01% de antibiótico (penicilina-estreptomicina), se incubaron a 37 °C en 5% de CO₂. Posteriormente se agregaron 25 µL de suspensión de las células MCF-7 o HT-29 (2 × 10⁴ células/mL) a cada pocillo de una placa de microcultivo de 96 pocillos y se incubaron durante 24 horas. Después del tiempo de incubación, se añadieron a las células las siguientes concentraciones de nanopartículas: 0.5, 5, 10, 50, 100, 200, 300, 400, 500 µg/mL. Transcurridas las 24 horas de incubación con el tratamiento, se retiró el tratamiento en cada uno de los pocillos y se lavaron por triplicado con PBS, inmediatamente después se reemplazó con 100 µL de medio DMEM y se agregaron 10 µL de reactivo MTT a cada pocillo. El medio que contenía la solución de MTT fue removido después de 4 horas. A cada pocillo se le añadió 50 µL de DMSO para solubilizar el

formazán formado. La absorbancia se midió a 570 nm. Se calculó el porcentaje de toxicidad celular y el valor de CI_{50} .

6.2.6.4 Ensayo de migración celular

La cicatrización de heridas se fundamenta en la medición de la capacidad migratoria de las células. Una migración acelerada-anómala es característica de las enfermedades como el cáncer provocando metástasis (Pijuan et al., 2019). Este ensayo se realizó siguiendo la metodología citada por Martínez-Rojo et al. (2020) con algunas modificaciones.

Las células MCF-7 fueron sembradas en placas de 6 pocillos (3.5×10^5). Después de 24 horas al tener un 90 % de confluencia se realizaron tres heridas sobre la monocapa celular en cada pocillo y se lavaron con 1 mL de PBS. Posteriormente se agregaron los tratamientos a las siguientes concentraciones 100, 200, 300 $\mu\text{g/mL}$ (se evaluaron 3 tratamientos: Extracto de ajo, NP $\text{Fe}_3\text{O}_4@TEOS$, NP $\text{Fe}_3\text{O}_4@TEOS@Ajo$).

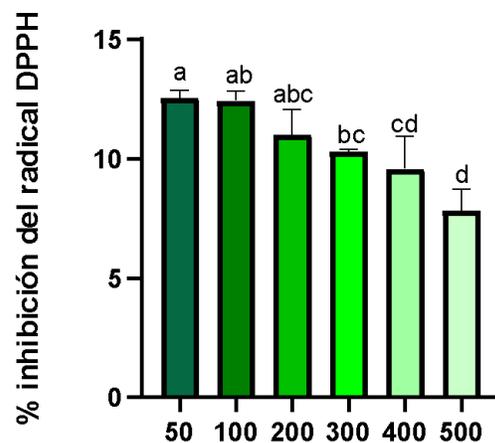
El cierre de la herida se evidenció mediante la toma de micrografías a las 0, 6, 12 y 24 horas. El avance del movimiento celular después de la herida se obtuvo midiendo los píxeles (%) utilizando el software ImagenJ®.

7. Resultados y Discusión

7.1 Actividad Antioxidante de las nanopartículas de óxido de hierro

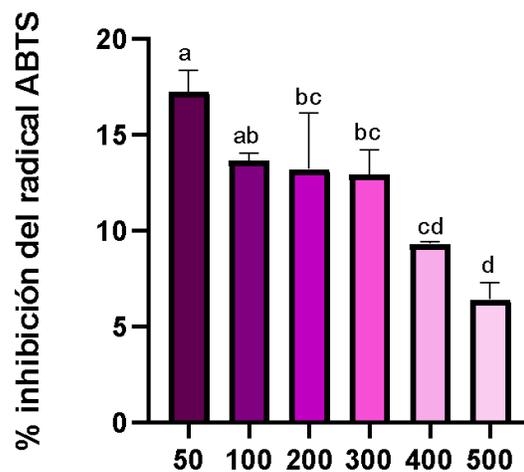
Estudios preliminares realizados por Hernández-Hernández., (2021) corroboraron la funcionalización del extracto de ajo mediante microscopia electrónica de barrido (SEM) obteniendo estructuras hexagonales con un tamaño de partícula de 16 nm. Las gráficas 8a y 8b, muestran el porcentaje de inhibición de los radicales libres DPPH[•] y ABTS^{•+} en función de la concentración de nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con extracto de ajo (NP Fe₃O₄@TEOS@Ajo) (µg/mL). En la figura 8a, se observa una disminución en la actividad antioxidante conforme aumenta la concentración de las NP Fe₃O₄@TEOS@Ajo. La inhibición más alta se presenta a 50 µg/mL (12.5%) y disminuye progresivamente hasta ~6% en 500 µg/mL. En la figura 8b, se presenta una tendencia similar a la del DPPH: la mayor inhibición ocurre a 50 µg/mL (17.3%) y disminuye conforme aumenta la concentración de nanopartículas. La inhibición más baja se registra en 500 µg/mL (~7%). En un estudio realizado por Neupane et al. (2019), en el sistema radical DPPH, la actividad antiradical de la miel del Himalaya (HHL), las IO-NP libres y las funcionalizadas HHLIO-NP, variaron entre 7.93-35.99 %, 11.02-52.02 % y 16.10-80.52 % respectivamente, con valores de IC₅₀ correspondientes de 1.36 mg/mL, 1.09 mg/mL y 0.52 mg/mL. El porcentaje de eliminación de DPPH de las HHLIO-NP aumentó rápidamente del 16 al 80 % para concentraciones entre 0.20 y 1 mg/mL, respectivamente. Los resultados obtenidos sugieren que las nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con extracto de ajo presentan una actividad antioxidante dependiente de la concentración, con una eficacia mayor en bajas concentraciones. Esta tendencia podría explicarse por un posible efecto de agregación de las nanopartículas a concentraciones elevadas, lo que podría reducir la disponibilidad de los compuestos antioxidantes activos. En estudios con nanopartículas de hierro funcionalizadas con otros extractos vegetales, como cúrcuma y té verde, se ha observado que la actividad antioxidante puede disminuir a altas concentraciones debido a la interferencia en la reactividad del radical o la posible oxidación de los compuestos.

a)



Concentración de nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con extracto de ajo (µg/mL)

b)



Concentración de nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con extracto de ajo (µg/mL)

Figura 8. Porcentaje de inhibición de los radicales ABTS^{•+} y DPPH[•] de nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con TEOS@AJO. a) Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las concentraciones del tratamiento con respecto al radical DPPH[•]; b) Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las concentraciones del tratamiento con respecto al radical ABTS^{•+}

bioactivos (Rastogi et al., 2019). A concentraciones más altas, incluso las NPs funcionalizadas pueden formar agregados, lo que disminuye su área superficial efectiva y, por ende, su capacidad antioxidante (Nikolova & Chavali, 2020). A pesar de que la actividad antioxidante reportada para compuestos bioactivos presentes en el aceite esencial del ajo (quercetina, kaempferol, allina, disulfuro de dialilo, trisulfuro de dialilo etc) también se ha reportado efecto prooxidante a una concentración >1,6 mg EAG, al formar aductos altamente reactivos (Nieto et al., 2012). En este mismo estudio mencionan que este efecto ha sido reportado en compuestos naturales como la pulpa de cereza, con un metabolito secundario de origen terpenoide procedente de *Olea europea* como la oleuropeína, con hojas destiladas de romero y tomillo y con ajo añadido en carne de pollo presurizada y posteriormente envasada en congelación. Por lo tanto, es importante considerar que las NP $\text{Fe}_3\text{O}_4@TEOS@Ajo$ pueden tener propiedades antioxidantes debido a su capacidad para donar electrones y neutralizar radicales libres. Sin embargo, a concentraciones elevadas, podrían crear un ambiente prooxidante, generando especies reactivas de oxígeno. El ajo, por su parte, contiene compuestos como alicina, aliina, ajoenos, vinilditiínas y flavonoides como la quercetina que actúan como antioxidantes. Cuando se combinan, es posible que sus efectos antioxidantes se potencien, pero también podrían interactuar de manera que alteren su actividad. Por ejemplo, el ajo podría reducir el hierro en las nanopartículas, facilitando reacciones prooxidantes. Por lo tanto, la interacción entre estos tres componentes podría resultar en un efecto antioxidante o prooxidante, dependiendo de las concentraciones en que se encuentren. Estos hallazgos refuerzan la idea de que la funcionalización con extractos naturales puede conferir una actividad antioxidante relevante, pero es necesario optimizar la concentración para evitar efectos adversos en la estabilidad y funcionalidad de las nanopartículas.

7.2 Actividad antimicrobiana del extracto de ajo

Los resultados se muestran en la tabla 3 e indican que *Salmonella enterica* Typhimurium es la más susceptible al extracto de ajo, ya que requiere las

concentraciones más bajas para su inhibición y eliminación, lo que sugiere que es más susceptible a los compuestos del extracto hidroalcohólico del ajo. En contraste, *Staphylococcus aureus* muestra la mayor resistencia, necesitando el doble de concentración en comparación con *E. coli* y aproximadamente 16 veces más que *Salmonella*, observándose diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre las tres bacterias. Este comportamiento fue el mismo con respecto a los valores para la CMB en el cual *Staphylococcus aureus* presentó valores de 100 mg/mL, *Escherichia coli* de 50 mg/mL y para *Salmonella enterica* Typhimurium de 6.25 mg/mL.

Tabla 3. Concentración mínima inhibitoria (CMI) y Concentración mínima bactericida (CMB) del extracto hidroalcohólico de ajo

<i>Extracto de ajo hidroalcohólico (mg/mL)</i>		
<i>Bacteria</i>	CMI	CMB
<i>Staphylococcus aureus</i>	50 ^a	100 ^a
<i>Escherichia coli</i>	25 ^b	50 ^b
<i>Salmonella enterica</i> Typhimurium	3.12 ^c	6.25 ^c

CMI: Concentración mínima inhibitoria, CMB: Concentración mínima bactericida. Las diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$) se expresan con las letras minúsculas en cada columna. El experimento se realizó por triplicado

Se compararon resultados de la CMI de *Staphylococcus aureus* con el extracto de ajo, obtenidos por Johnson et al. (2016) y Khashan (2014) quienes encontraron una CMI de 80 mg/mL muy parecida a los datos obtenidos en esta investigación. Para *Escherichia coli*, Durairaj et al., (2009), reportan una CMI de 18 mg/mL. Otros estudios han mostrado CMI entre 16-32 mg/mL para extractos de ajo contra *E. coli* (Bakri & Douglas, 2005).

Por último, para *Salmonella enterica* Typhimurium, los datos se compararon con los reportados por Durairaj et al. (2009), quienes reportaron valores de 14 mg/mL superiores a los mencionados en este trabajo, esto puede ser atribuible a las condiciones de extracción y al tipo de extracto utilizado.

Con respecto a los datos de la CMB se compararon los resultados de *Staphylococcus aureus* con los datos obtenidos por Johnson et al. (2016) quien reporta un CMB de 104 mg/mL y Khashan. (2014) de 100 mg/mL semejante a los datos obtenidos en esta investigación.

Se ha reportado el efecto que tienen en específico los compuestos organosulfurados del ajo principalmente el de la alicina, alicina, disulfuros de dialilo y vinilditina contra bacterias gram positivas (*Staphylococcus*, *Streptococcus*) y gram negativas (*Escherichia*, *Salmonella*) (Durairaj et al., 2009). La alicina tiene la capacidad de reaccionar con el compuesto tiol (L-cisteína) para formar el S-tiol, S-alil mercaptocisteína. El efecto antimicrobiano de la alicina se debe a su reacción química con grupos tiol de enzimas como la alcohol deshidrogenasa, tioredoxina reductasa y ARN polimerasa que afecta el metabolismo cisteína proteinasa de la bacteria ya que estas enzimas son fundamentales para mantener el estado redox (Ankri & Mirelman, 1999).

El extracto hidroalcohólico de ajo muestra actividad antimicrobiana dependiente de la especie bacteriana. *Salmonella enterica* Typhimurium es la más susceptible, seguida de *E. coli*, mientras que *S. aureus* es la más resistente. Los valores obtenidos son comparables con la literatura, respaldando el uso potencial del ajo como antimicrobiano natural.

Con respecto a los resultados obtenidos en la determinación de las NP Fe₃O₄@TEOS y las NP Fe₃O₄@TEOS@Ajo estas no presentaron actividad antimicrobiana por los métodos utilizados a las concentraciones de 250, 375, 500, 1000, 2000 y 4000 µg/mL. Concluyendo su nula actividad sobre las bacterias *Salmonella enterica* Typhimurium, *E. coli*, *S. aureus*

Las nanopartículas de óxido de hierro (IONPs) como ya se mencionó tienen la particularidad de agregarse y más aún a concentraciones elevadas debido a las interacciones magnéticas y fuerzas de Van der Waals. La agregación excesiva de las nanopartículas provoca un aumento en el tamaño tendiendo partículas más grandes que comprometería su eficiencia en cuanto a la interacción con los microorganismos de estudio.

Otro factor a considerar es el método de síntesis ya que estos pueden afectar significativamente la actividad antimicrobiana de las IONPs, tal es el caso de Ismail et al. (2015), quienes sintetizaron nanopartículas de NP Fe₃O₄ mediante ablación láser de pulso descendente en dos tipos de soluciones dodecil sulfato de sodio (SDS) y dimetilformamida (DMF) y si tuvieron un efecto biocida contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Serratia marcescens* con inhibición en ambas cepas bacterianas por el método de difusión de pozos de agar. La actividad antimicrobiana también puede depender de las propiedades fisicoquímicas como el tamaño, la estabilidad y la concentración del medio de crecimiento, así como del método de síntesis utilizado (Ismail et al., 2015). En nuestro caso es importante verificar la estabilidad de las nanopartículas funcionalizadas mediante técnicas espectroscópicas y de potencial Z para garantizar las condiciones idóneas de las nanopartículas.

7.3 Actividad inhibidora de la α -glucosidasa

Una alternativa terapéutica con carácter antidiabético, es aquel fármaco o compuesto bioactivo que tiene la capacidad de reducir la hiperglucemia postprandial, mediante el bloqueo de las dos enzimas hidrolizadoras de carbohidratos presentes en el tracto gastrointestinal, la α -amilasa y α -glucosidasa (Zafar et al., 2022). La inhibición de la enzima α -glucosidasa con diversas concentraciones de NP Fe₃O₄@TEOS@Ajo fue significativamente más alta a las concentraciones más pequeñas (5 μ g/mL), es decir un efecto dependiente de la concentración, pero inverso (figura 9). Este efecto podría deberse a que las nanopartículas a bajas concentraciones interactúan eficazmente con la enzima,

bloqueando su actividad. Pero, a concentraciones mayores, podría ocurrir una agregación de nanopartículas y saturación de sitios activos, reduciendo con ello la eficacia en la unión enzima-sustrato, este comportamiento fue evidenciado en experimentos posteriores. Además, se debe considerar que la matriz de nanopartículas involucran un conjunto de compuestos que estereoquímicamente podrían presentar un impedimento estérico y con ello favorecer la formación de complejos moleculares que difícilmente podrían establecer la unión específica enzima-sustrato. Por lo tanto, es importante establecer la concentración óptima de las nanopartículas que establecen la unión con la enzima.

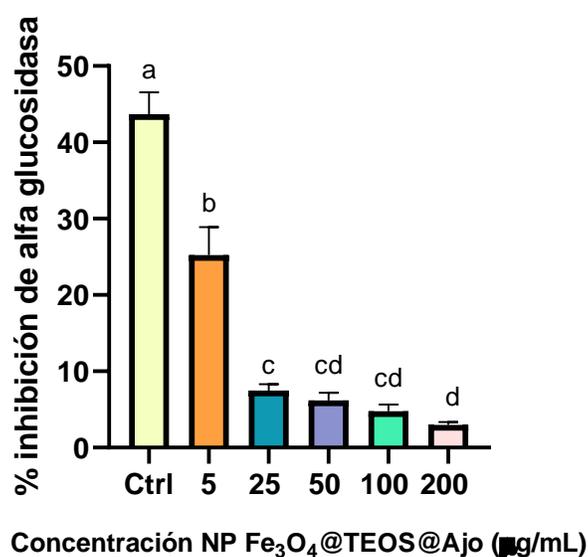


Figura 9. Actividad inhibitoria de la alfa glucosidasa de nanopartículas funcionalizadas con extracto de ajo (NP Fe₃O₄@TEOS@Ajo), su efecto dependiente de concentración. Se utilizó Acarbose como control positivo (200 µg/mL)

No se encontraron evidencias previas reportadas en el mismo contexto de prueba, sin embargo, el papel del ajo en la reducción del azúcar en sangre se ha reportado en evidencias *in silico*, preclínicas y clínicas, este efecto es atribuido a compuestos fenólicos y de azufre volátiles. En el análisis de la interacción molecular entre la α -glucosidasa y los compuestos de *A. sativum* L., todos los compuestos azufrados y fenólicos seleccionados: La alicina (con dos átomos de azufre) y el metionol (con un

átomo de azufre) son importantes por su potencial aplicación terapéutica, el ácido ferúlico, el ácido cafeico y el ácido p-cumárico de *A. sativum* L. siguieron las reglas de Lipinski, tuvieron una energía de enlace aceptable y carecieron de toxicidad (Sadeghi et al., 2021). Entre estos compuestos, el metionol y el ácido cafeico mostraron la energía de enlace más baja y el mayor efecto inhibitor sobre la enzima α -glucosidasa con -3.9 y -4.8 kcal/mol, respectivamente. Estos compuestos también indicaron la energía de enlace más baja que el inhibidor estándar (miglitol). Entre los compuestos de azufre y fenólicos en *A. sativum* L., se predijo que el metionol y el ácido cafeico serían los inhibidores más potentes, debido a que tenían más enlaces de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas con el sitio activo de la α -glucosidasa (Sadeghi et al., 2021). Se ha reportado una IC_{50} de 2 mg/mL, para los extractos en etanol de ajo y de 1 mg/mL para la acarbosa con la misma técnica utilizada en el presente estudio (Yan et al., 2021). La alicina (dialiltiosulfato) es uno de los compuestos de tiosulfato más importantes del ajo, cuyo efecto hipoglucemiante a nivel preclínico, se atribuye a su acción antioxidante al favorecer la acción la catalasa y glutatión peroxidasa y la secreción de insulina en las células β pancreáticas (Liu et al., 2007; Santhosha et al., 2013). En este contexto, la intervención dietética del alil metil sulfuro del ajo (100 mg/kg de peso corporal) resultó en una atenuación significativa de la glucosa en sangre y de la expresión de marcadores proinflamatorios TNF- α , IL-6, unidad p65 de NF- κ B y una elevación significativa del nivel de insulina plasmática (Sujithra et al., 2018). En humanos, se ha reportado que los suplementos de ajo pueden reducir la hiperglucemia y el colesterol en sangre (TG, TC y LDL) en pacientes diabéticos (Ramadaini et al., 2024).

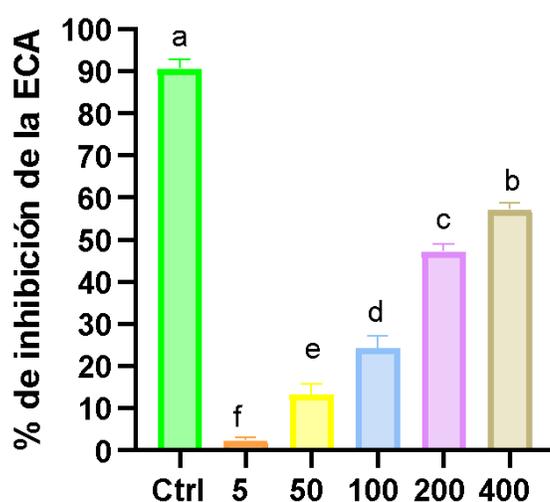
En otro estudio, cuyo enfoque fue la síntesis de un biocatalizador mediante la inmovilización de la β -glucosidasa en nanopartículas de óxido ferroso con el objetivo de promover la hidrólisis de celobiosa y producir azúcares fermentables (Agudelo, 2020), la β -glucosidasa adquirida de Novozymes® se inmovilizó en nanopartículas de magnetita funcionalizadas mediante el método de unión covalente. Aproximadamente 122 unidades de la enzima se inmovilizaron en 100 mg de nanopartículas utilizadas (a pH 4 y 60 ° C). Hay que considerar que en este estudio ofrece un enfoque diferente, ya que las condiciones de la prueba estándar que

empleamos fueron a pH 6.8 y 37 ° C, además se utilizó TEOS como estrategia de estabilización. En otro estudio, se estudió la estabilidad enzimática de β -glucosidasa y β -glucosidasaNP a la temperatura corporal fisiológica de 37 °C, y mostró una mayor retención de la actividad enzimática, con el aumento del tiempo de incubación a 37 °C. Por ejemplo, aproximadamente el 89% de la actividad inicial fue retenida por β -Glu-NP después de 10 h, mientras que la de β -Glu cayó a solo el 52% de la inicial, lo que permite que β -Glu inmovilizado sea más adecuado para el estudio *in vivo* que el de la enzima libre mejor termorresistencia de β -Glu inmovilizado también lo ayuda a mantener su actividad *in vivo*. Estas investigaciones en β -Glu proporcionan un punto de partida que, aunque diferente, podrían ofrecer pistas sobre cómo las moléculas inhibitorias podrían actuar sobre la α -glucosidasa, destacando que la inhibición específica aún no ha sido reportada en el contexto evaluado. Cabe destacar que deben considerarse las similitudes en el mecanismo de acción hidrolítica y la forma en que se podrían inhibir ambas enzimas, aunque en diferente tipo de enlace. Por lo tanto, realmente si existe un acoplamiento entre las estructuras tetrahédricas de NP Fe₃O₄, sin embargo, no se ha reportado dicha interacción entre NP Fe₃O₄@TEOS@Ajo, y la α -glucosidasa, esto enfatiza lo novedoso del presente estudio y la importancia de optimizar las condiciones para encontrar las condiciones de una inhibición eficaz bajo las condiciones fisiológicas, para fines biomédicos.

7.4 Inhibición de la enzima convertidora de angiotensina (ECA)

La inhibición de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) se determinó expresando el porcentaje de inhibición después de evaluada la muestra (figura 10). Las nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con extracto de ajo fueron evaluadas de diferentes concentraciones (5, 50, 100, 200, 400 μ g/mL). El control tiene la inhibición más alta (~95%). La tendencia indica que a mayor concentración de nanopartículas funcionalizadas, mayor inhibición de la ECA, mostrando un efecto dependiente de la concentración, pero sin alcanzar el nivel del control positivo (Captopril). Se obtuvieron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre todas las concentraciones. A las concentraciones de 200 y 400 μ g/mL se obtuvieron los

porcentajes de inhibición más altos de 47% y 57% respectivamente. Estos resultados evidencian el potencial que podría tener el uso de nanopartículas para mejorar la biodisponibilidad y disminuir el consumo de medicamentos con efectos secundarios adversos. Además, las nanopartículas funcionalizadas con extracto de ajo alcanzan hasta 70% de inhibición a 400 $\mu\text{g/mL}$, lo que sugiere un posible efecto terapéutico como alternativa natural o complemento en el tratamiento de la hipertensión. En la literatura no se encontraron reportes respecto a la actividad de esta naturaleza de nanopartículas, sin embargo, existen reportes del efecto antihipertensivo de los compuestos bioactivos del extracto del ajo que pueden inhibir la ECA con valores IC_{50} en el rango de 100-400 $\mu\text{g/mL}$ (Mikaili et al., 2013), similar a las encontradas con las NP $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TEOS}@Ajo$.



Concentración de nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con extracto de ajo ($\mu\text{g/mL}$)

Figura 10. Actividad inhibitoria de la ECA de nanopartículas funcionalizadas con extracto de ajo (NP $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TEOS}@Ajo$), su efecto dependiente de concentración. Se utilizó Captopril como control positivo (10 $\mu\text{g/mL}$)

Se considera que en esta prueba al realizar la extracción del ácido hipúrico acorde con la técnica estandarizada las nanopartículas no interfieren en la medición

espectrofotométrica, caso contrario en la determinación de la alfa glucosidasa donde la solución inicial es la que nos determina los valores de inhibición.

7.5 Actividad anticancerígena

7.5.1 Ensayo de proliferación celular

Para determinar la concentración media inhibitoria (IC_{50}) de las nanopartículas sobre las células de cáncer de mama, se realizaron ensayos de viabilidad celular.

La figura 11 muestra el porcentaje de viabilidad celular en células MCF-7 tratadas con NP $Fe_3O_4@TEOS$ a diferentes concentraciones (0.5 - 500 $\mu g/mL$) durante 24 h. El control (sin tratamiento) muestra una viabilidad celular del 100%. A partir de 10 $\mu g/mL$, la viabilidad empieza a disminuir gradualmente (95%), alcanzando su punto más bajo (68%) a 500 $\mu g/mL$. Se reporta un IC_{50} de 936.3 $\mu g/mL$, lo que indica que la concentración necesaria para reducir la viabilidad celular en un 50% es bastante alta, lo cual sugiere que las nanopartículas sin funcionalizar no tienen un efecto citotóxico importante sobre las células MCF-7 dentro del rango de concentraciones evaluadas. En un estudio previo se ha demostrado que nanopartículas de óxido de hierro sin funcionalizar tienen baja toxicidad en células tumorales a concentraciones inferiores a 500 $\mu g/mL$, lo cual coincide con estos resultados (Gupta & Gupta, 2005). Bai et al., (2018) demostró que a concentraciones de 50 $\mu g/mL$ nanopartículas de óxido de hierro solo exhibieron una citotoxicidad de 26.98% en comparación a nanopartículas de oro y nanopartículas de zinc. Además, se ha reportado que el recubrimiento con TEOS disminuye la toxicidad de las nanopartículas al prevenir la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y reducir la degradación de hierro libre en el medio celular (Mahmoudi et al., 2011). Esto explicaría por qué las NP $Fe_3O_4@TEOS$ no muestran un efecto antiproliferativo pronunciado.

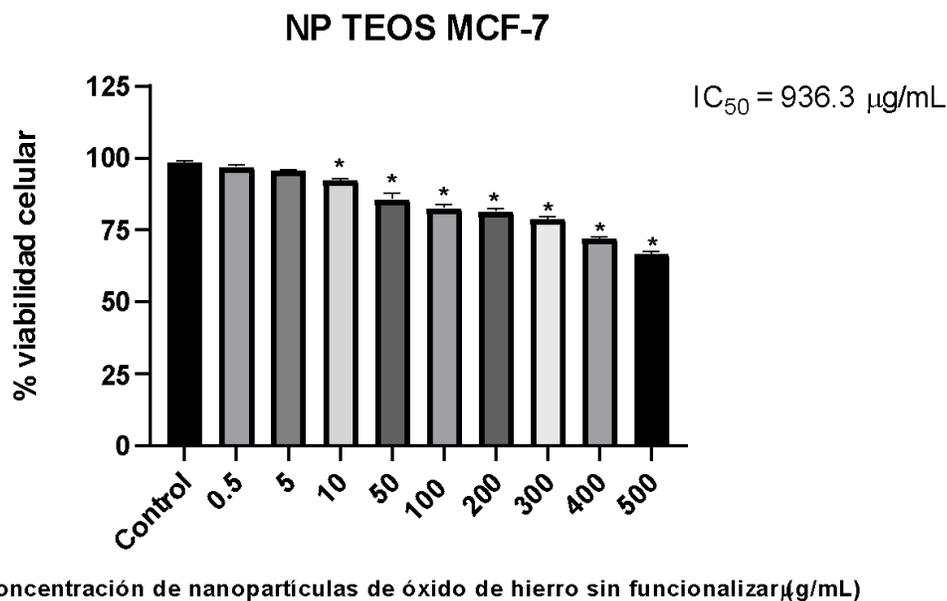
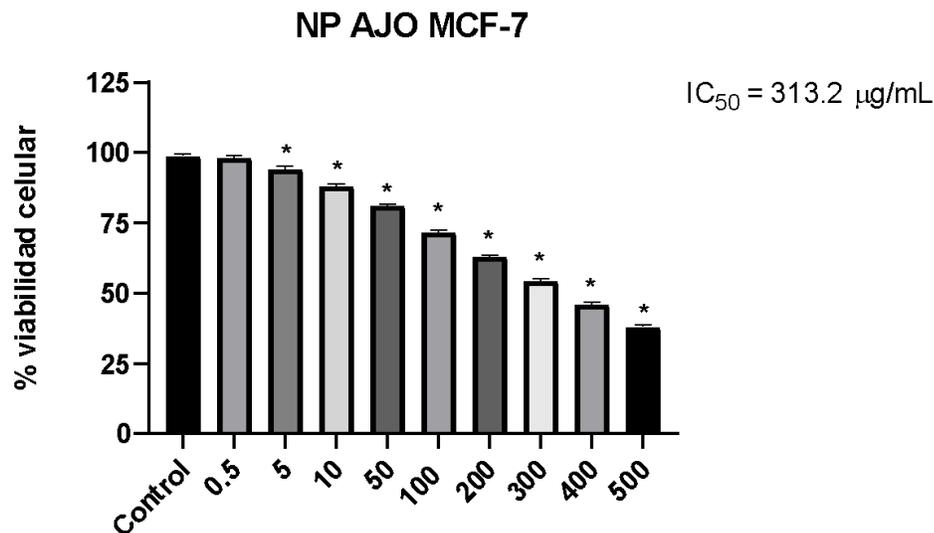


Figura 11. Efecto de nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con TEOS (NP $\text{Fe}_3\text{O}_4@TEOS$) sobre células MCF-7 que fueron tratadas durante 24 h

La figura 12 muestra el porcentaje de viabilidad celular en células MCF-7 (línea celular de cáncer de mama) tratadas con nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con extracto de ajo (NP $\text{Fe}_3\text{O}_4@TEOS@Ajo$) a diferentes concentraciones (0.5 - 500 $\mu\text{g/mL}$) durante 24 horas. A la misma concentración de 10 $\mu\text{g/mL}$, la viabilidad disminuyó gradualmente (88%). A concentraciones de 100 a 500 $\mu\text{g/mL}$, la viabilidad celular sigue reduciéndose significativamente, alcanzando su punto más bajo (38%) a 500 $\mu\text{g/mL}$, con un IC_{50} de 313.2 $\mu\text{g/mL}$, es decir 3 veces menor que con las nanopartículas sin funcionalizar. Estos resultados sugieren que la funcionalización con extracto de ajo aumenta la citotoxicidad de las nanopartículas en comparación con las nanopartículas sin funcionalizar. Reportes previos han demostrado que, a las 3 h de incubación, 4 mg/mL de extracto de ajo seco resultó en un arresto completo del crecimiento y una proliferación reducida. El valor estimado de IC_{50} de los extractos de ajo fue 2,5 mg/mL de masa seca de la planta (Modem et al., 2012). El ajo es conocido por sus propiedades anticancerígenas, atribuidas principalmente a sus compuestos organosulfurados como la alicina y el dialil disulfuro y dialil trisulfuro, los efectos anticancerígenos



Concentración de nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con ajo (µg/mL)

Figura 12. Efecto de nanopartículas funcionalizadas con extracto de ajo (NP Fe₃O₄@TEOS@Ajo) sobre células MCF-7 que fueron tratadas durante 24 h

reportados son multifacéticos e incluyen la inducción de la apoptosis, la inhibición de la proliferación celular, la supresión de la angiogénesis y la modulación de las respuestas inmunitarias (Iwar et al., 2024).

Se ha reportado que el trisulfuro de dialilo, alicina, disulfuro de dialilo de alilmercaptano y sulfuro de dialilo pueden inducir apoptosis, inhibir la proliferación celular y generar especies reactivas de oxígeno (ROS) en diversas líneas celulares de cáncer, incluidas MCF-7 (Pandey et al., 2023). El extracto de ajo potencia el efecto citotóxico de las IONPs sobre las células MCF-7. Para que las nanopartículas sean efectivas en terapia contra el cáncer, deben tener un IC₅₀ relativamente bajo en células tumorales y un efecto selectivo sobre estas células sin afectar significativamente células sanas. En este caso, la reducción en la viabilidad celular sugiere que la funcionalización con ajo podría mejorar el efecto anticancerígeno de las nanopartículas de óxido de hierro. Es importante mencionar que, aunque no se realizaron pruebas de citotoxicidad en células sanas, ya existen reportes que explican el efecto de estas IONPs. Khan et al. (2012) evaluaron la citotoxicidad de IONPs en células de cáncer de pulmón A549 (células enfermas) y en fibroblastos

de pulmón IMR-90 (células sanas) obteniendo citotoxicidad únicamente en las células de cáncer por un proceso de autofagia por aumento en la producción de ROS y daño a nivel mitocondrial. No ocurrió este mismo suceso en las células sanas, es decir no se presentó apoptosis en esta línea celular de fibroblastos. Este antecedente nos da un indicio sobre el posible comportamiento que tendrían sobre este tipo de células.

La figura 13 muestra el porcentaje de viabilidad celular en células HT-29 tratadas con NP Fe₃O₄@TEOS, a diferentes concentraciones (0.5 - 500 µg/mL). El control (sin tratamiento) mantiene una viabilidad del 100%. A partir de 50 µg/mL, la viabilidad comienza a disminuir de forma gradual, con una disminución más notable en 500 µg/mL, con una viabilidad del 72% y con un IC₅₀ de 1123 µg/mL, lo que indica que se requiere una concentración relativamente alta para reducir la viabilidad celular en un 50%. Estos resultados sugieren que las NP Fe₃O₄@TEOS tienen un efecto citotóxico leve en las células HT-29.

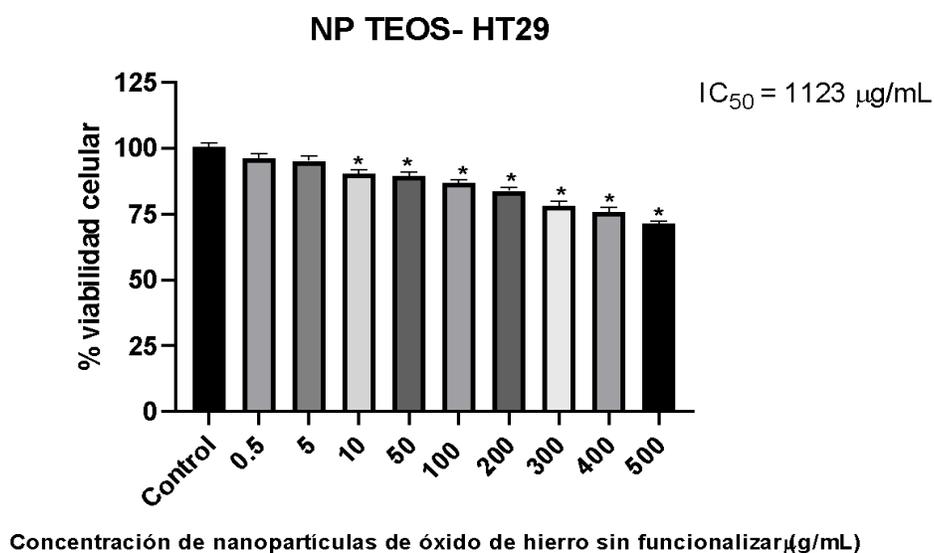


Figura 13. Efecto de nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con TEOS (NP Fe₃O₄@TEOS) sobre células HT-29 que fueron tratadas durante 24 h.

Otros estudios como el de Nosrati et al. (2018) quienes funcionalizaron nanopartículas de óxido de hierro con albumina de suero y curcumina para evaluar su citotoxicidad en células de cáncer de mama MCF-7 obtuvieron una actividad citotóxica significativa, con valores de CI_{50} de las nanopartículas a las 72 y 96 horas de 915 y 275 μM respectivamente.

El hecho de que las NP $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TEOS}$ tengan un IC_{50} de 1123 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en HT-29, en comparación con 936.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en MCF-7, sugiere que las células HT-29 son más resistentes a la citotoxicidad de estas nanopartículas que las MCF-7. Esto podría deberse a diferencias en la expresión de proteínas antioxidantes, mecanismos de reparación del daño celular o tasas de endocitosis de las nanopartículas (Szewczyk et al., 2022). Se ha demostrado que las nanopartículas de óxido de hierro recubiertas con TEOS pueden inducir un daño celular dependiente de la dosis en células cancerígenas, aunque en algunos casos requieren combinaciones con agentes citotóxicos para potenciar su efecto (Iranpour et al., 2021). En este caso, un IC_{50} sugiere que estas nanopartículas tienen una citotoxicidad baja y podrían necesitar funcionalización con agentes bioactivos para mejorar su efecto anticancerígeno en HT-29.

La Figura 14 muestra el porcentaje de viabilidad celular en células HT-29 tratadas con nanopartículas de NP $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TEOS}@\text{Ajo}$ a diferentes concentraciones (0.5 - 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$). El control (sin tratamiento) mantiene una viabilidad del 100%. A partir de 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, la viabilidad comienza a disminuir más notablemente (90%), en concentraciones de 100 a 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$, la viabilidad celular sigue reduciéndose de manera dependiente de la dosis, alcanzando aproximadamente 50% a 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y cerca del 40% a 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Se obtuvo un IC_{50} de 408.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Estos resultados sugieren que las NP $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TEOS}@\text{Ajo}$ tienen un efecto citotóxico más pronunciado en células HT-29 en comparación con las nanopartículas sin ajo, requiriendo 2.75 veces más dosis de nanopartículas sin ajo para lograr el mismo efecto, mostrando que la combinación de nanopartículas de óxido de hierro con extracto de ajo mejora su capacidad para reducir la viabilidad celular en células HT-29. Se ha demostrado que extractos de ajo pueden reducir la viabilidad de células de cáncer colorrectal, dependiendo de la pureza y la formulación utilizada (Mondal

et al., 2022). En modelos de cáncer colorrectal, los compuestos del ajo han mostrado efectos proapoptóticos y antiproliferativos al inducir estrés oxidativo, inhibir vías de señalización oncogénicas y modular la expresión de genes relacionados con la apoptosis (Dong et al., 2014). Además, nanopartículas funcionalizadas con compuestos bioactivos del ajo han mostrado mayor eficacia citotóxica en modelos de cáncer, lo que respalda estos resultados (Alrumaihi et al., 2022). Al respecto, una patente vigente (Redondo-Calvo et al., 2019) ha proporcionado una opción terapéutica en la que el extracto de ajo liofilizado y extracto de ajo negro están combinados con fármacos antineoplásicos en la línea HT-29. Esta combinación mantiene el efecto citotóxico deseable sobre las células tumorales, permitiendo reducir la 10 dosis del/los fármacos antitumorales de uso habitual en la clínica y disminuyendo los efectos adversos (tóxicos) de la administración rutinaria de dichos fármacos a las concentraciones estándar. Es decir, aún faltaría valorar también el efecto coadyuvante para valorar el riesgo-beneficio en el tratamiento antitumoral.

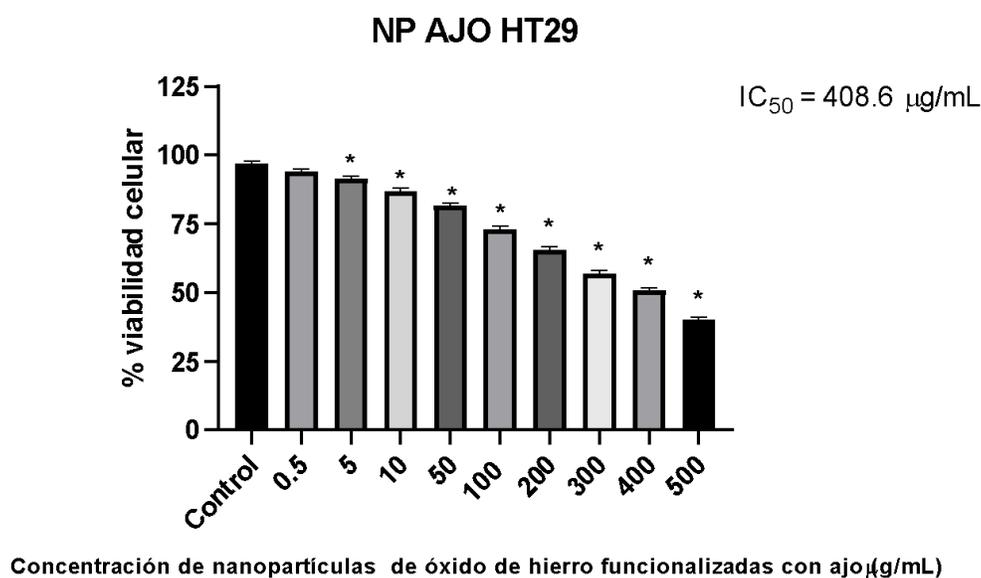


Figura 14. Efecto de nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con extracto de ajo (NP $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TEOS}@\text{Ajo}$) sobre células HT-29 que fueron tratadas durante 24 h.

Los resultados anteriores mostraron un efecto citotóxico dependiente de la concentración de los compuestos organosulfurados presentes en las nanopartículas ya que inhibieron el crecimiento celular, tanto en células de cáncer de mama (MCF-7) como en células de cáncer de colon (HT-29). Adicionalmente este efecto generó un cambio en cuanto a la morfología e integridad de las células cancerígenas (figuras 15-17). Las células MCF-7 tienen una morfología poligonal con dimensiones irregulares y tienden a formar grandes agregados tridimensionales multicelulares que pueden madurar hasta convertirse en formas esferoidales (figuras 15 y 16). Esta morfología característica se puede observar en los controles y las concentraciones más bajas de las microfotografías 100X. A partir de 10 µg/mL se observaron agregados de nanopartículas en forma de sedimentos, a medida que aumentaron las concentraciones las células comenzaron a alterar su morfología, se volvieron morfológicamente distintas, con pérdida de la delimitación membranal y del contacto de célula a célula. Aunque no se observan diferencias visuales del efecto morfológico con nanopartículas funcionalizadas con y sin ajo, su viabilidad si fue significativa. Las alteraciones morfológicas y la reducción del crecimiento de las células MCF-7 han sido reportadas previamente por Modem et al. (2012), quienes argumentaron que están asociadas con una expresión alterada de la molécula de adhesión celular (E-cadherina), las proteínas del citoesqueleto (citoqueratinas) y la molécula de señalización asociada a la morfología (β -catenina). Además, los datos demuestran que el extracto de ajo inhibe la progresión del ciclo celular y contribuye a la reducción del crecimiento modulando los niveles de ciclina D1, PCNA, p21 y p27.

Otro efecto común en ambos ensayos fue la agregación y precipitación de nanopartículas. Al respecto Nikolova y Chavali., (2020) indican que debido a las fuerzas de van-der-Waals, una mayor energía superficial y/o atracción magnética, las nanopartículas de nanoóxidos muestran una marcada tendencia hacia la aglomeración y cuando se usan en una concentración de 1000 ppm, tienden a formar agregados, alterando las funciones metabólicas y por ende la capacidad proliferativa de las células.

Además, la funcionalización de NPs con extractos naturales, como el ajo, puede influir en su estabilidad y comportamiento químico. Sin embargo, a concentraciones más altas, incluso las NPs funcionalizadas pueden formar agregados, lo que disminuye su área superficial efectiva y, por ende, su capacidad antioxidante y su interacción con sistemas biológicos también se verá alterado, incluyendo los enzimáticos, lo cual también involucra interferencias con rutas metabólicas. Aunque no se encontraron estudios específicos sobre NPs de óxido de hierro funcionalizadas con extracto de ajo y su interacción con sistemas enzimáticos, es razonable inferir que la funcionalización con compuestos bioactivos del ajo podría modificar estas interacciones. Los compuestos del ajo, como la alicina, poseen propiedades antioxidantes y pueden influir en la actividad enzimática. Por lo tanto, la conjugación de estos compuestos con NPs de óxido de hierro podría potenciar o, en algunos casos, inhibir funciones enzimáticas específicas, dependiendo de factores como la dosis y el entorno biológico.

En resumen, tanto la agregación de las NPs a altas concentraciones como su interacción con sistemas enzimáticos son factores críticos que determinan su eficacia y seguridad en aplicaciones biomédicas y alimentarias. La funcionalización con extractos naturales, como el ajo, puede ofrecer ventajas al modificar estas interacciones, pero es esencial considerar las concentraciones utilizadas para evitar efectos adversos. Es importante mencionar también que el proceso de esterilización previo al uso de las nanopartículas sobre las líneas celulares, pudo haber tenido un impacto desfavorable sobre las propiedades fisicoquímicas de las nanopartículas al haber utilizado irradiación y sonicación en conjunto. Se ha demostrado ya en otros estudios, que con frecuencia los procesos de esterilización pueden alterar las propiedades fisicoquímicas de las nanopartículas, la estabilidad del fármaco o compuesto adherido, los perfiles de liberación y la toxicidad (Bernal-Chávez et al., 2021).

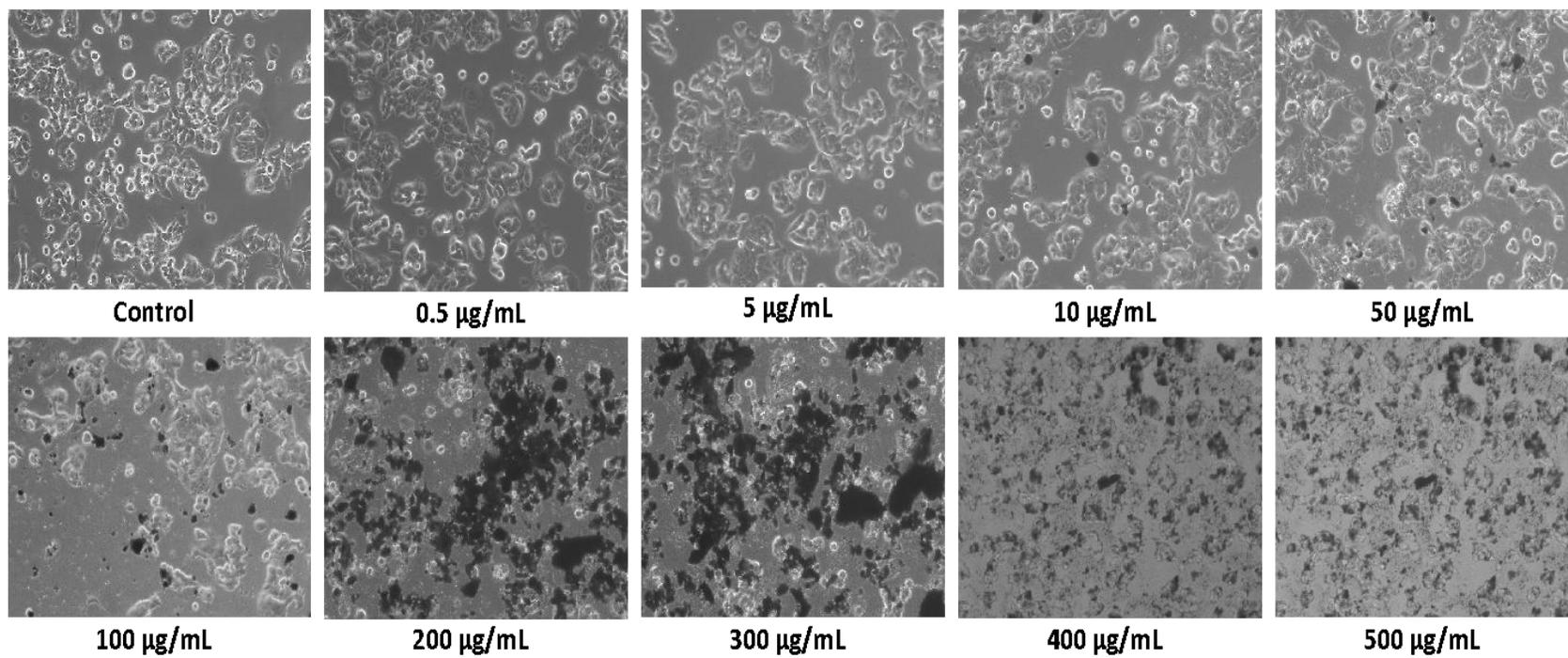


Figura 15. Células MCF-7 tratadas con NP Fe₃O₄@TEOS a diferentes concentraciones (100 X)

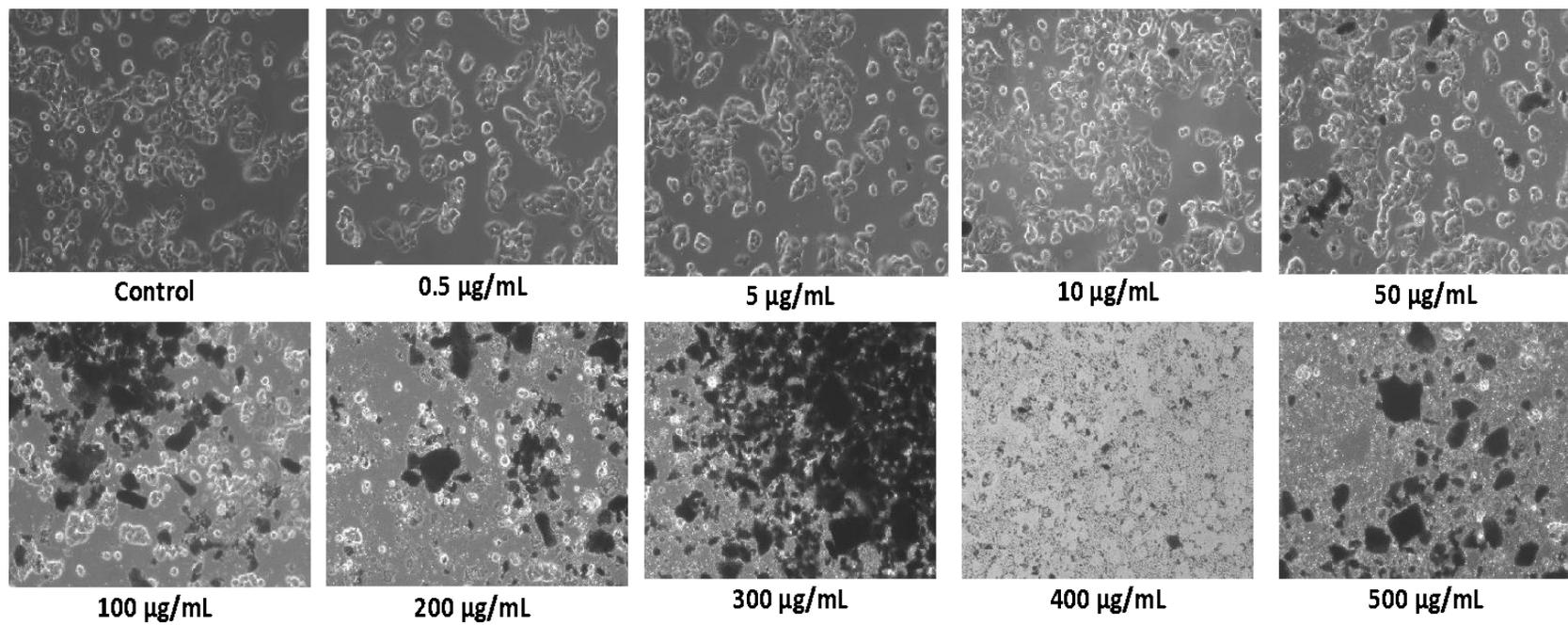


Figura 16. Células MCF-7 tratadas con NP Fe₃O₄@TEOS@Ajo a diferentes concentraciones (100 X)

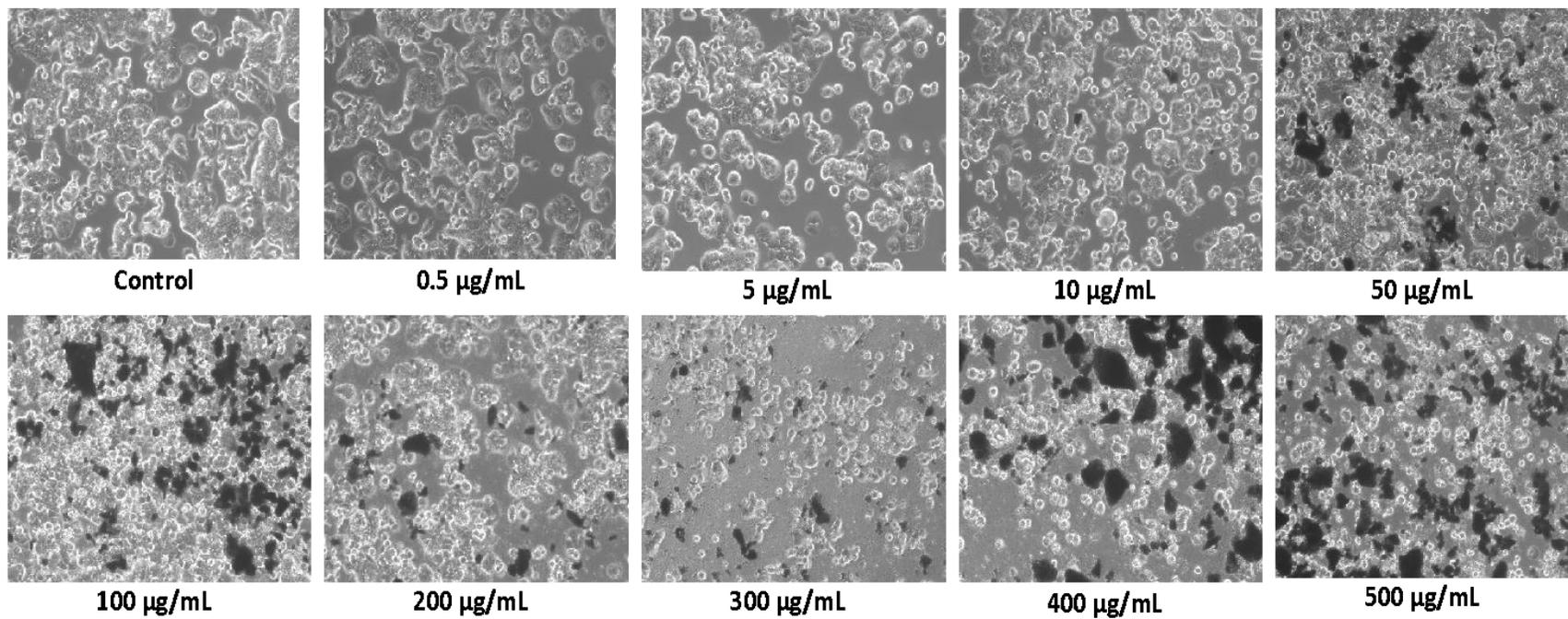


Figura 17. Células HT-29 tratadas con NP Fe₃O₄@TEOS@Ajo a diferentes concentraciones (100 X)

7.5.2 Ensayo de citotoxicidad

El ensayo de viabilidad celular se realiza inicialmente porque ayuda a determinar si las células en cultivo siguen vivas y funcionales después de la exposición a una sustancia. Este ensayo es importante para establecer el rango de concentraciones de la sustancia que se evaluará en los siguientes ensayos, como el de citotoxicidad. El ensayo de viabilidad permite identificar las concentraciones que son no tóxicas o subletales, lo cual es necesario para seleccionar las concentraciones adecuadas a probar en los ensayos de citotoxicidad. En este sentido, se busca identificar una concentración que sea lo suficientemente alta como para causar un efecto observable, pero no tan alta como para matar a las células, de modo que puedan observarse daños antes de la muerte celular (Adan et al., 2016; Khalef et al., 2024)

La figura 18 muestra el efecto de las NP $\text{Fe}_3\text{O}_4@TEOS$ (barras negras) y NP $\text{Fe}_3\text{O}_4@TEOS@AJO$ (barras grises) sobre la viabilidad de células MCF-7, con respecto a las diferentes concentraciones estudiadas (0.5-500 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Se observa un efecto dependiente de la concentración. A concentraciones bajas (0.5 - 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$), la actividad celular se mantiene cercana al 100 %, sin diferencias significativas con el control. A partir de 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, comienza a observarse una reducción en la viabilidad celular, que es más pronunciada en el grupo tratado con NP $\text{Fe}_3\text{O}_4@TEOS@AJO$. A concentraciones de 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$, la viabilidad celular cae por debajo del 50 %, indicando un efecto citotóxico metabólico más fuerte con 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (36%), especialmente en la formulación con extracto de ajo versus 67% sin ajo, sugiriendo que los compuestos bioactivos del ajo, como la alicina y los compuestos organosulfurados, contribuyen al efecto citotóxico. Los resultados se compararon con resultados obtenidos por Kanagesan et al. (2013), en donde el porcentaje de viabilidad celular disminuyó hasta tener un 36% de células vivas a una concentración de 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

MTT MCF-7

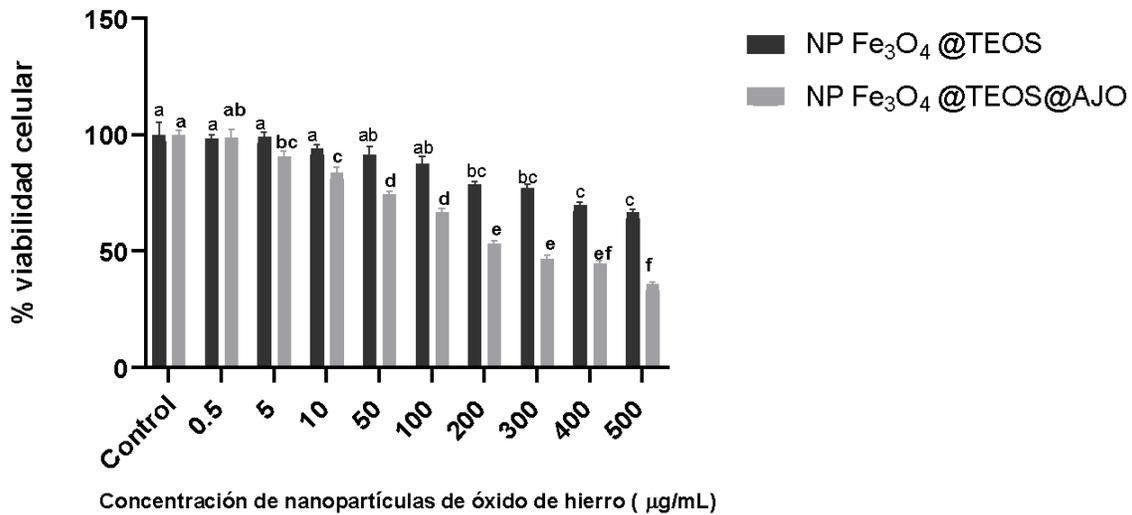


Figura 18. Efecto de nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con TEOS (NP Fe₃O₄@TEOS) y extracto de ajo (NP Fe₃O₄@TEOS@AJO) sobre células MCF-7 que fueron tratadas durante 24 h.

El compuesto organosulfurado mayoritariamente presente es la alicina, la cual se ha reportado que en la línea celular de MCF-7 inhibe la actividad de la telomerasa, bloqueando así la proliferación celular que finaliza en la muerte de las células en la fase G1 o G2 del ciclo celular. Maitisha et al (2021) menciona que la alicina es capaz de inducir la apoptosis en las células de cáncer de mama MCF-7 mediante la activación de p53 y caspasa 3.

Además, se ha reportado que la toxicidad proveniente del hierro se debe a la facilidad que tiene este metal de unirse al oxígeno y generar radicales hidroxilos con capacidad inminente de peroxidar las membranas lipídicas celulares (Pérez et al., 2005). Otro aspecto a considerar es que debido a las propiedades que presentan las nanopartículas de óxido de hierro, como su tamaño nanométrico, su elevada área superficial y su mayor reactividad, estas pueden atravesar las membranas biológicas y barreras tisulares, causar estrés celular, y activar una serie de reacciones capaces de inducir citotoxicidad potencial. El aumento de especies

reactivas de oxígeno se puede ver alterada a altas concentraciones de nanopartículas de óxido de hierro y este aumento podría inducir la muerte celular (apoptosis). En las células de cáncer se ve alterado el equilibrio redox, elevándose los niveles de ROS al grado que puede ser letal (Zhou, et al., 2020). También se ha sugerido que el efecto antiproliferativo de la alicina se debe a la capacidad que tiene la alicina para deplecionar de manera transitoria los depósitos de glutatión intracelular (Redondo-Calvo et al., 2019).

De manera similar, la figura 19 muestra el porcentaje de viabilidad celular en células HT-29 tratadas con NP Fe₃O₄@TEOS (barras negras) y con NP Fe₃O₄@TEOS@AJO (barras grises) durante 24 h. Se observa una disminución en la viabilidad celular a medida que aumenta la concentración de nanopartículas, con un efecto más marcado en las células tratadas con NP Fe₃O₄@TEOS@AJO versus con NP Fe₃O₄@TEOS solo. La viabilidad celular disminuye significativamente a partir de 100 µg/mL para ambas nanopartículas. A 400-500 µg/mL, la viabilidad es menor al 50 %, sugiriendo un posible efecto tóxico, indicando que los compuestos bioactivos del ajo pueden potenciar el efecto citotóxico.

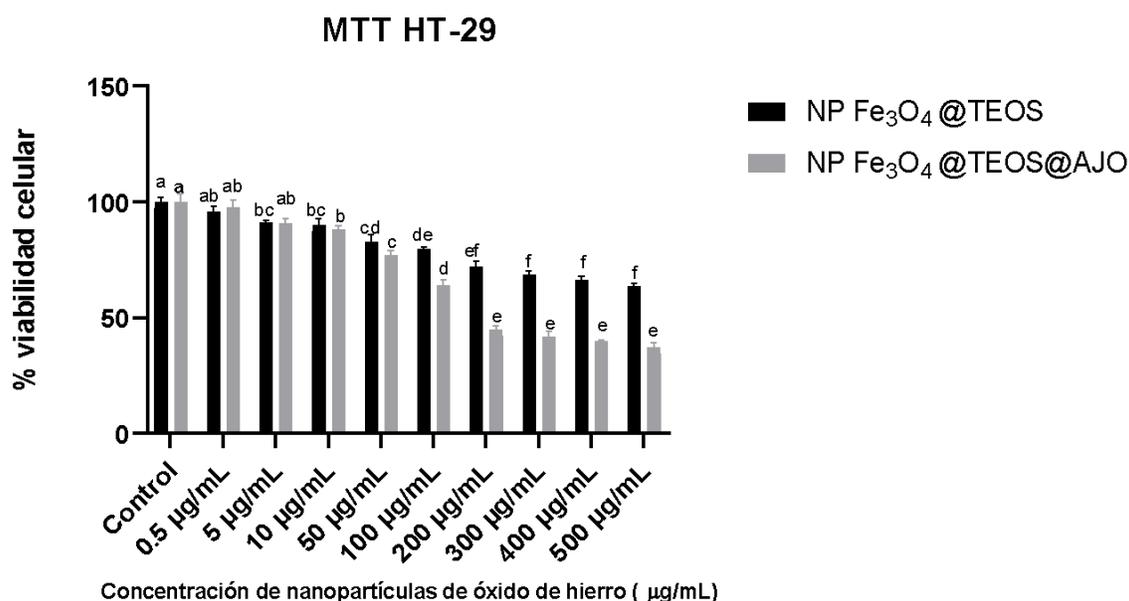


Figura 19. Efecto de nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con TEOS (NP Fe₃O₄@TEOS) y extracto de ajo (NP Fe₃O₄@TEOS@Ajo) sobre células HT-29 que fueron tratadas durante 24 h.

Estudios previos en líneas celulares de cáncer colorrectal han demostrado que las nanopartículas funcionalizadas con extractos naturales pueden potenciar el efecto antitumoral debido a la sinergia entre las nanopartículas y los compuestos bioactivos. Los compuestos presentes en los extractos de ajo, en particular sus efectos anticancerígenos, han sido respaldados por datos clínicos y de laboratorio, lo que sugiere su potencial para mejorar la eficacia del 5-fluorouracilo como fármaco de primera línea en el tratamiento del cáncer colorrectal (Ozalp y Sel, 2024). Actualmente, según el Instituto Americano de Investigación del Cáncer, el consumo regular de ajo se asocia con un menor riesgo de cáncer colorrectal (Jiang et al., 2023).

Este efecto de las NP $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TEOS}@AJO$, abre la puerta al uso de nuevos tratamientos contra el cáncer como la ferroptosis dirigida como mecanismo de muerte celular programada, dependiente del hierro (ejemplo Fe^{2+}) para la generación de ROS. Esta terapia se basa en reacciones de Fenton que son reacciones redox entre el hierro (II) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2). El peróxido de hidrogeno atraviesa la membrana celular y reacciona con el hierro intracelular (Fe^{2+} y Fe^{3+}) para producir radicales hidroxilos ($\text{OH}\cdot$), (Zhou, et al., 2020, Abe, et al., 2022). Después de que las nanopartículas de óxido de hierro atraviesan las membranas hacia el interior de la célula, éstas se degradan en iones de hierro por hidrólisis enzimática dentro de los lisosomas, el hierro libre en forma de iones ferrosos (Fe^{2+}) son los que penetran la membrana mitocondrial y pueden reaccionar con el peróxido de hidrógeno y el oxígeno presente en la mitocondria produciendo de esta manera radicales hidroxilos altamente reactivos y iones férricos (Fe^{3+}) derivada de la reacción de Fenton (Muranov, 2024). El hierro tiene la capacidad de unirse al oxígeno libre y generar especies reactivas de oxígeno (ROS). Estos compuestos son capaces de causar la peroxidación de las membranas lipídicas celulares y alterar la función mitocondrial, afectar la proliferación o activación de procesos proinflamatorios, dañando el ADN.

7.5.3 Ensayo de migración celular

La migración celular al ser un indicativo de la motilidad celular, mide la capacidad de las células tumorales anómalas para provocar metástasis (Pijuan et al., 2019). Seguido de los ensayos de proliferación se realizó el ensayo herida con la finalidad de conocer el efecto de cada tratamiento en la migración celular sobre la línea celular MCF-7, en función del tiempo. Cabe resaltar que se usaron las mismas concentraciones que en los ensayos de proliferación para cada tratamiento (figura 20).

Se observa un aumento en el % de cierre de herida con el tiempo, lo cual es esperable en estudios de migración celular. El control muestra la tasa de cierre natural de las células. El extracto de ajo a 200 y 300 $\mu\text{g/mL}$ no mostraron diferencias estadísticas vs. control a lo largo del tiempo monitoreado (figura 20), logrando un cierre completo a las 24 h, es decir que no presentó un efecto antimigratorio. Cabe destacar que la migración implica el movimiento local de las células tumorales en los tejidos circundantes y metástasis es el proceso de diseminación de células tumorales a sitios distantes de su origen, donde pueden formar nuevos tumores. Ambos procesos se dan en la progresión del cáncer, pero la metástasis es un paso más avanzado y crítico en el desarrollo de cánceres más agresivos y que implican procesos de reprogramación metabólica. En el caso de las células tratadas con TEOS (NP $\text{Fe}_3\text{O}_4@$ TEOS) estas migraron ligeramente más lento a partir de las 12 horas con respecto al control mostrando diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en ambas concentraciones (200 y 300 $\mu\text{g/mL}$), esto significa que éstas pueden modificar la migración dependiendo de su concentración, siendo mayor a las 24 h., con la concentración más alta.

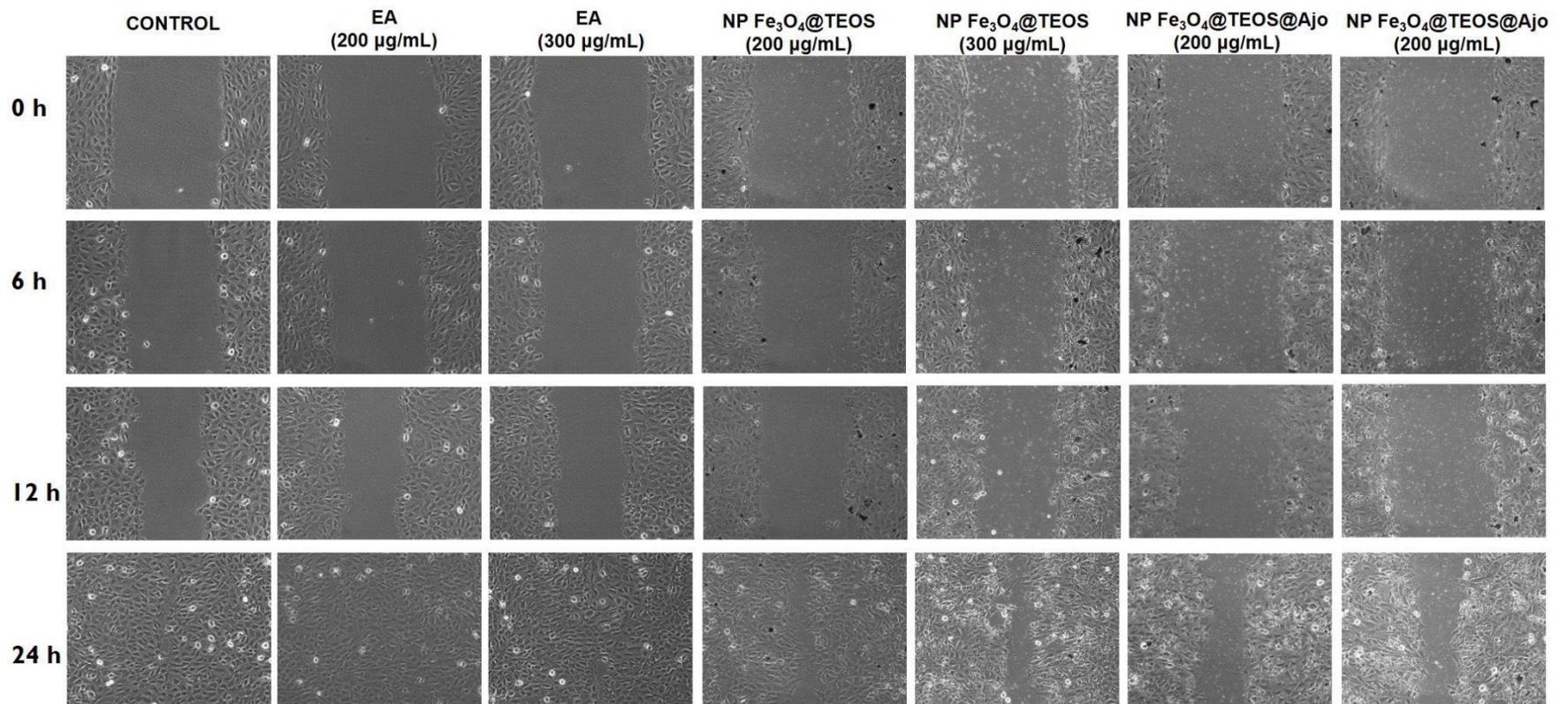


Figura 20. Efecto de nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con TEOS (NP Fe₃O₄@TEOS) y nanopartículas funcionalizadas con extracto de ajo (NP Fe₃O₄@TEOS@Ajo) y extracto de ajo hidroalcohólico (EA) sobre la migración celular de células MCF-7

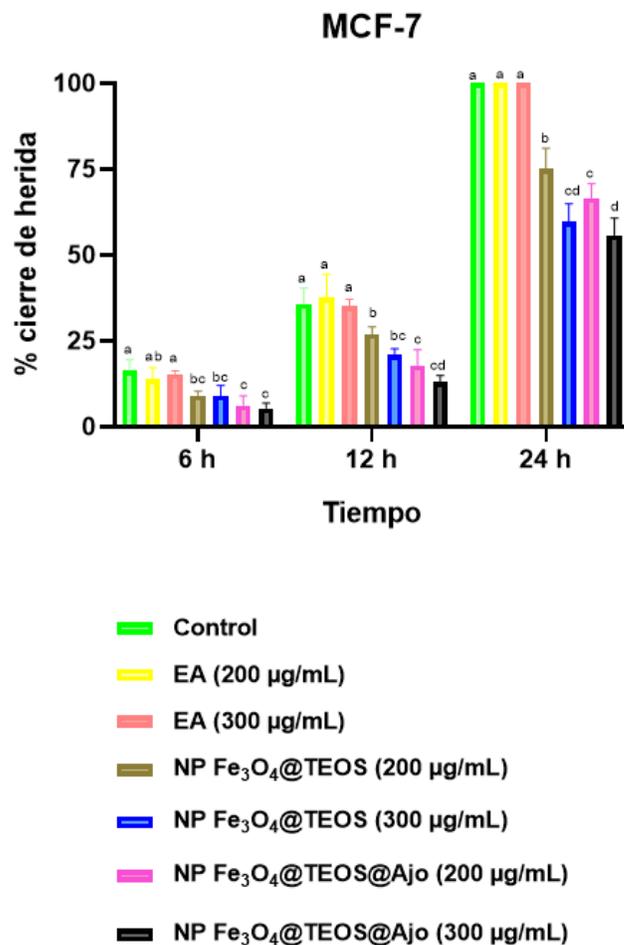


Figura 21. Efecto de nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con TEOS (NP Fe₃O₄@TEOS) y nanopartículas funcionalizadas con extracto de ajo (NP Fe₃O₄@TEOS@Ajo) y extracto de ajo hidroalcohólico (EA) sobre la migración celular de células MCF-7

Por su parte, las MCF-7 tratadas con nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con TEOS y extracto de ajo (NP Fe₃O₄@TEOS@AJO) en ambas concentraciones (200 y 300 µg/mL) registraron una disminución en la migración celular notable a partir de las 6 h de exposición con respecto al control y esta diferencia fue estadísticamente significativa ($p \leq 0.05$) (figura 21). Con respecto al

tiempo se observó un efecto antiproliferativo ya que a las 24 horas de exposición la herida permaneció abierta.

Lee et al. (2015) evaluaron el efecto de la alicina sobre la migración celular específicamente mediante la supresión de la VCAM-1 en líneas celulares de cáncer de mama (MCF-7 y MDA-MB-231). La alicina inhibió la expresión de VCAM-1 mediada por TNF- α mediante el bloqueo de las vías de señalización de ERK1/2 y NF- κ B, evitando la invasión y metástasis en células de cáncer de mama (MCF-7). Además, la alicina alteró la expresión de NF- κ B y ER- α y suprimió la activación de ERK1/2 inducida por TNF- α .

La VCAM-1 participa activamente en la progresión y migración tumoral en cáncer de mama). La VCAM-1 se expresa en y une leucocitos capaces de expresar a 4 integrinas que favorecen el proceso de metástasis (Lee et al., 2015). Las integrinas son proteínas compuestas por 18 subunidades α y 8 β que se unen a las proteínas de la matriz extracelular, facilitando la adhesión de células epiteliales a la membrana basal (Haake et al., 2024). Esta adhesión ocurre a través de mecanismos dependientes e independientes de la matriz extracelular. Las integrinas pueden: a) inhibir el fenotipo del cáncer, o b) promover el desarrollo, crecimiento e invasión (Haake et al., 2024). Por lo tanto, se requiere dilucidar los mecanismos de señalización involucrados en la inhibición de cierre de herida por parte de las NP Fe₃O₄@TEOS@AJO.

8. Conclusiones

- Las nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con extracto de ajo presentaron actividad antioxidante limitada y sólo a bajas concentraciones de 12.5% como efecto antirradical con DPPH• y de 17.3% con ABTS•+.
- La inhibición de la enzima α -glucosidasa con diversas concentraciones de NP Fe₃O₄@TEOS@Ajo fue significativamente más alta a las concentraciones más pequeñas (5 μ g/mL), es decir un efecto dependiente de la concentración, pero inverso, es decir a menores concentraciones mayor efecto y viceversa.
- Las NP Fe₃O₄@TEOS@Ajo inhibió la ECA de manera dependiente de la concentración. A concentraciones elevadas (200-400 μ g/mL), la inhibición es significativa de 60% de inhibición a 400 dependiente de la concentración. A concentraciones elevadas (200-400 μ g, aunque menor que la del captopril, de 95% con 10 μ g/mL).
- *Salmonella enterica* Typhimurium fue la bacteria más susceptible al extracto de ajo, ya que requiere las concentraciones más bajas para su inhibición y eliminación. En contraste, *Staphylococcus aureus* mostró la mayor resistencia, necesitando el doble de concentración en comparación con *Escherichia coli* y aproximadamente 16 veces más que Salmonella. Todos los microorganismos mostraron sensibilidad al extracto de ajo siendo mayor el efecto en *Salmonella* que en *E. coli*, y en especial *S. aureus* que fue la resistente.
- Las nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con extracto de ajo no presentaron efecto antibacteriano en ninguna de las cepas evaluadas.
- Las nanopartículas de óxido de hierro sin funcionalizar mostraron baja inhibición de la viabilidad en células MCF-7 y HT-29 en el rango de concentraciones evaluadas.
- Las nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con TEOS y extracto de ajo tienen un efecto citotóxico dependiente de la concentración en células

MCF-7 (IC₅₀ de 313.2 µg/mL) y HT-29 (IC₅₀ de 408.6 µg/mL) en comparación con NP Fe₃O₄@TEOS solas.

- Las nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con TEOS y extracto de ajo tuvieron un efecto citotóxico dependiente de la dosis más pronunciado en células MCF-7 que en HT-29.

9. Perspectivas

- Determinar el potencial Z de las NP $\text{Fe}_3\text{O}_4@$ TEOS ajo, previo a su evaluación en cada una de las pruebas biológicas.
- Optimizar las determinaciones enzimáticas mediante la evaluación de concentraciones en el orden nanomolar.
- Realizar la citotoxicidad de las NP $\text{Fe}_3\text{O}_4@$ TEOS ajo en fibroblastos para valorar su toxicidad en células sanas.
- Desarrollar cultivos 3D como una nueva metodología para las evaluaciones nanotoxicológicas.
- Optimizar las condiciones de uso de las NP $\text{Fe}_3\text{O}_4@$ TEOS como coadyuvante en la terapia de hipertermia en cáncer de mama y colon.

10. Referencias

Abe, C., Miyazawa, T., & Miyazawa, T. (2022). Current use of Fenton reaction in drugs and food. *Molecules*, 27(17), 5451. <https://doi.org/10.3390/molecules27175451>

Abdullah, J. A. A., Eddine, L. S., Abderrhmane, B., Alonso-González, M., Guerrero, A., & Romero, A. (2020). Green synthesis and characterization of iron oxide nanoparticles by *Pheonix dactylifera* leaf extract and evaluation of their antioxidant activity. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 17, 100280. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2020.100280>

Adan, A., Kiraz, Y., & Baran, Y. (2016). Cell Proliferation and Cytotoxicity Assays. *Current pharmaceutical biotechnology*, 17(14), 1213–1221. <https://doi.org/10.2174/1389201017666160808160513>

Agudelo Amaya, I. (2020). Inmovilización de β -glucosidasa en nanopartículas de óxido de hierro para la hidrólisis enzimática de celobiosa. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/77970>. Fecha de consulta: 01 marzo 2025.

Ali, A., Zafar, H., Zia, M., ul Haq, I., Phull, A. R., Ali, J. S., & Hussain, A. (2016). Synthesis, characterization, applications, and challenges of iron oxide nanoparticles. *Nanotechnology, Science and Applications*, 49-67. <https://doi.org/10.2147/NSA.S99986>

Alrumaihi, F., Khan, M. A., Babiker, A. Y., Alsaweed, M., Azam, F., Allemailem, K. S., Almatroudi, A. A., Ahamad, S. R., Alsugoor, M. H., Alharbi, K. N., Almansour, N. M., & Khan, A. (2022). Lipid-Based Nanoparticle Formulation of Diallyl Trisulfide Chemosensitizes the Growth Inhibitory Activity of Doxorubicin in Colorectal Cancer Model: A Novel *In Vitro*, *In Vivo* and *In Silico* Analysis. *Molecules*, 27(7), 2192. <https://doi.org/10.3390/molecules27072192>

Amarakoon, S. & Jayasekara, D. (2017). Una revisión sobre el ajo (*Allium sativum* L.) como alimento funcional. *Revista de Farmacognosia y Fitoquímica*, 6 (6), 1777-1780.

Anjum, S., Hashim, M., Malik, S. A., Khan, M., Lorenzo, J. M., Abbasi, B. H., & Hano, C. (2021). Recent Advances in Zinc Oxide Nanoparticles (ZnO NPs) for Cancer Diagnosis, Target Drug Delivery, and Treatment. *Cancers*, 13(18), 4570. <https://doi.org/10.3390/cancers13184570>

- Ankri, S., & Mirelman, D. (1999). Antimicrobial properties of allicin from garlic. *Microbes and Infection*, 1(2), 125-129. [https://doi.org/10.1016/s1286-4579\(99\)80003-3](https://doi.org/10.1016/s1286-4579(99)80003-3)
- Ashikbayeva, Z., Tosi, D., Balmassov, D., Schena, E., Saccomandi, P., & Inglezakis, V. (2019). Application of Nanoparticles and Nanomaterials in Thermal Ablation Therapy of Cancer. *Nanomaterials (Basel, Switzerland)*, 9(9), 1195. <https://doi.org/10.3390/nano9091195>
- Bai Aswathanarayan, J., Rai Vittal, R., & Muddegowda, U. (2018). Anticancer activity of metal nanoparticles and their peptide conjugates against human colon adenorectal carcinoma cells. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 46(7), 1444-1451. <https://doi.org/10.1080/21691401.2017.1373655>
- Bakri, I. M., & Douglas, C. W. (2005). Inhibitory effect of garlic extract on oral bacteria. *Archives of Oral Biology*, 50(7), 645-651. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2004.12.002>
- Bano, F., Baber, M., Ali, A., Shah, Z., & Muhammad S. A. (2017). Biosynthesis, characterization, and biological activities of iron nanoparticles using *Sesamum indicum* seeds extract. *Pharmacognosy Magazine*, 13(Suppl 1), S33. <https://doi.org/10.4103/0973-1296.203985>
- Barber Fox, M. O., & Barber Gutiérrez, E. (2003). El sistema renina-angiotensina y el riñón en la fisiopatología de la hipertensión arterial esencial. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 22(3), 192-198.
- Bernal-Chávez, S. A., Del Prado-Audelo, M. L., Caballero-Florán, I. H., Giraldo-Gomez, D. M., Figueroa-Gonzalez, G., Reyes-Hernandez, O. D., González-Del Carmen, M., González-Torres, M., Cortés, H., & Leyva-Gómez, G. (2021). Insights into Terminal Sterilization Processes of Nanoparticles for Biomedical Applications. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(7), 2068. <https://doi.org/10.3390/molecules26072068>
- Bhatwalkar, S. B., Mondal, R., Naidu Krishna, S. B., Adam, J. K., Govender, P., & Anupam, R. (2021). Antibacterial properties of organosulfur compounds of garlic (*Allium sativum*). *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.613077>
- Bigliardi, B., & Galati, F. (2013). Innovation trends in the food industry: the case of functional foods. *Trends in Food Science & Technology*, 31(2), 118-129. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.03.006>

Biswas, A., Bayer, I.S., Biris, A.S., Wang, T., Dervishi, E. & Faupel, F. (2012). Advances in top–down and bottom–up surface nanofabrication: Techniques, applications & future prospects. *Advances in Colloid and Interface Science*, 170 (1-2), 2-27. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2011.11.001>

Bray, F., Laversanne, M., Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Soerjomataram, I., & Jemal, A. (2024). Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 74(3), 229–263. <https://doi.org/10.3322/caac.21834>

Carmichael, J., DeGraff, W. G., Gazdar, A. F., Minna, J. D., & Mitchell, J. B. (1987). Evaluation of a tetrazolium-based semiautomated colorimetric assay: assessment of chemosensitivity testing. *Cancer Research*, 47(4), 936–942.

Cavallito, C. J., & Bailey, J. H. (1944). Allicin, the antibacterial principle of *Allium sativum*. I. isolation, physical properties and antibacterial action. *Journal of the American Chemical Society*, 66(11). <https://doi.org/10.1021/ja01239a048>

Chen, S., Cao, Z., Prettnner, K., Kuhn, M., Yang, J., Jiao, L., Wang, Z., Li, W., Geldsetzer, P., Bärnighausen, T., Bloom, D. E., & Wang, C. (2023). Estimates and Projections of the Global Economic Cost of 29 Cancers in 204 Countries and Territories From 2020 to 2050. *JAMA Oncology*, 9(4), 465–472. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2022.7826>

Comşa, Ş., Cîmpean, A. M., & Raica, M. (2015). The Story of MCF-7 Breast Cancer Cell Line: 40 years of Experience in Research. *Anticancer Research*, 35(6), 3147–3154. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26026074/>

Cushman, D. W., & Cheung, H. S. (1971). Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochemical Pharmacology*, 20(7), 1637-1648. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(71\)90292-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(71)90292-9)

Dekker, Evelien., Tanis, J. P., Vleugels., L.A.J., Kasi M.P., Wallace, B.M. (2019). Colorectal cancer. *The Lancet*, 394 (10207), 1467 - 1480. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)32319-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)32319-0)

Di Giammarco, M., Martinelli, F., Santone, A., Cesarelli, M., & Mercaldo, F. (2024). Colon cancer diagnosis by means of explainable deep learning. *Scientific Reports*, 14(1), 15334. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-63659->

Dini S, Zakeri M, Ebrahimpour S, Dehghanian F, Esmaili A. (2021). Quercetin- conjugated superparamagnetic iron oxide nanoparticles modulate glucose metabolism-related genes and miR-29 family in the hippocampus of diabetic rats. *Scientific Reports*, 11(1):8618. doi: 10.1038/s41598-021-87687-w. PMID: 33883592; PMCID: PMC8060416.

Dong, M., Yang, G., Liu, H., Liu, X., Lin, S., Sun, D., & Wang, Y. (2014). Aged black garlic extract inhibits HT29 colon cancer cell growth via the PI3K/Akt signaling pathway. *Biomedical Reports*, 2(2), 250–254. <https://doi.org/10.3892/br.2014.226>.

Durairaj, S., Srinivasan, S., & Lakshmanaperumalsamy, P. (2009). In vitro antibacterial activity and stability of garlic extract at different pH and temperature. *Electronic Journal of Biology*, 5(1), 5-10. <https://www.semanticscholar.org/paper/In-vitro-Antibacterial-Activity-and-Stability-of-at-Durairaj-Srinivasan/70425fe4ac5bfbf4ac9a51c4869496331ce1dbc9>

Durak, I., Kavutcu, M., Aytaç, B., Avci, A., Devrim, E., Özbek, H. & Öztürk, H.S. (2004). Effects of garlic extract consumption on blood lipid and oxidant/antioxidant parameters in humans with high blood cholesterol. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 15 (6), 373-377. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2004.01.005>

Elgundi Z, Papanicolaou M, Major G, Cox TR, Melrose J, Whitelock JM, Farrugia BL. (2020). Cancer Metastasis: The Role of the Extracellular Matrix and the Heparan Sulfate Proteoglycan Perlecan. *Frontiers in Oncology*, 17;9:1482. doi: 10.3389/fonc.2019.01482.

FAOSTAT. (2020, 2021, 2022). Food and Agriculture Organization of the United Nations, Statistics Division. Información disponible en línea: <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>. Última fecha de consulta: 2 de marzo de 2025.

Ferlay J, Ervik M, Lam F, Colombet M, Mery L, Piñeros M, et al. Global Cancer Observatory: Cancer Today. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2020 (<https://gco.iarc.fr/today>, fecha de consulta: 23 febrero 2025).

Fujihara, J., & Nishimoto, N. (2024). Review of Zinc Oxide Nanoparticles: Toxicokinetics, Tissue Distribution for Various Exposure Routes, Toxicological Effects, Toxicity Mechanism in Mammals, and an Approach for

Toxicity Reduction. *Biological Trace Element Research*, 202(1), 9–23.
<https://doi.org/10.1007/s12011-023-03644-w>

Gagnon, M., Zihler Berner, A., Chervet, N., Chassard, C., & Lacroix, C. (2013). Comparison of the Caco-2, HT-29 and the mucus-secreting HT29-MTX intestinal cell models to investigate Salmonella adhesion and invasion. *Journal of microbiological methods*, 94(3), 274–279.
<https://doi.org/10.1016/j.mimet.2013.06.027>

Gajanan, K.; Tijare, S.N. . (2018). Applications of nanomaterials. *Materials Today: Proceedings*, 5(1), 1093–1096. doi:10.1016/j.matpr.2017.11.187

Gallocchio, F., Belluco, S., & Ricci, A. (2015). Nanotechnology and food: brief overview of the current scenario. *Procedia Food Science*, 5, 85-88.
<https://doi.org/10.1016/j.profoo.2015.09.022>

García-Gómez, L. J., & Sánchez-Muniz, F. J. (2000). Revisión: Efectos cardiovasculares del ajo (*Allium sativum*). *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 50(3), 219-229.
https://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S0004-06222000000300002&script=sci_abstract

Gartner, M., Szekeres, A., Stroescu, H., Mitrea, D., & Covei, M. (2023). Advanced Nanostructured Coatings Based on Doped TiO₂ for Various Applications. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 28(23), 7828.
<https://doi.org/10.3390/molecules28237828>

Gerstberger, S., Jiang, Q., & Ganesh, K. (2023). Metastasis. *Cell*, 186(8), 1564–1579. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2023.03.003>

González, E. (2020) Antibacterial effect of the methanol extract of *Salix babylonica* against important bacteria in public Health, *Abanico Veterinario*, 10(3), 2448-6132.
<https://doi.org/10.21929/abavet2020.1>

Gupta, A. K., & Gupta, M. (2005). Cytotoxicity suppression and cellular uptake enhancement of surface modified magnetic nanoparticles. *Biomaterials*, 26(13), 1565-1573.
[10.1016/j.biomaterials.2004.05.022](https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.05.022). PMID: 15522758.

Haake, S. M., Rios, B. L., Pozzi, A., & Zent, R. (2024). Integrating integrins with the hallmarks of cancer. *Matrix Biology*.
<https://doi.org/10.1016/j.matbio.2024.04.003>

Hamidi, H., Ivaska, J. (2018). Every step of the way: integrins in cancer progression and metastasis. *Nature Reviews Cancer* 18, 533–548. <https://doi.org/10.1038/s41568-018-0038-z>

Harbeck, N., Penault-Llorca, F., Cortes, J., Gnant, M., Houssami, N., Poortmans, P., Ruddy, K., Tsang, J., & Cardoso, F. (2019). Breast cancer. *Nature Reviews. Disease Primers*, 5(1), 66. <https://doi.org/10.1038/s41572-019-0111-2>

Hasan, S. (2015). Una revisión sobre nanopartículas: su síntesis y tipos. *Research Journal of Recent Sciences*, 4, 1-3. https://www.researchgate.net/publication/273203342_A_Review_on_Nanoparticles_Their_Synthesis_and_Types

Herigstad, B., Hamilton, M., & Heersink, J. (2001). How to optimize the drop plate method for enumerating bacteria. *Journal of Microbiological Methods*, 44(2), 121-129. [https://doi.org/10.1016/S0167-7012\(00\)00241-4](https://doi.org/10.1016/S0167-7012(00)00241-4)

Hernández-Hernández, A.A., Aguirre-Álvarez, G., Cariño-Cortés, R., Mendoza-Huizar, LH & Jiménez-Alvarado, R. (2021). Iron oxide nanoparticles: synthesis, functionalization, and applications in diagnosis and treatment of cancer. *Chemical Papers*, 74, 3809-3824. <https://doi.org/10.1007/s11696-020-01229-8>

Herrera-Chalé, F., Betancur-Ancona, D., & Segura-Campos, M.R. (2014). Compuestos bioactivos de la dieta con potencial en la prevención de patologías relacionadas con sobrepeso y obesidad: péptidos biológicamente activos. *Nutrición Hospitalaria*, 29(1), 10-20. <https://dx.doi.org/10.3305/nh.2014.29.1.6990>

Hettiarachchi, S. D., Kwon, Y. M., Omid, Y., & Speth, R. C. (2023). Nanoparticle approaches for the renin-angiotensin system. *Heliyon*, 9(6). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e16951>

Hong, R., & Xu, B. (2022). Breast cancer: an up-to-date review and future perspectives. *Cancer communications (London, England)*, 42(10), 913–936. <https://doi.org/10.1002/cac2.12358>.

Hou, X., Du, C., Lu, L. et al. Opportunities and challenges of patient-derived models in cancer research: patient-derived xenografts, patient-derived organoid and patient-derived cells. *World J Surg Onc* 20, 37 (2022). <https://doi.org/10.1186/s12957-022-02510-8>

Iranpour, S., Bahrami, A. R., Nekooei, S., Sh Saljooghi, A., & Matin, M. M. (2021). Improving anti-cancer drug delivery performance of magnetic mesoporous silica nanocarriers for more efficient colorectal cancer therapy. *Journal of Nanobiotechnology*, 19(1), 314. <https://doi.org/10.1186/s12951-021-01056-3>

Ismail, R. A., Sulaiman, G. M., Abdulrahman, S. A., & Marzoog, T. R. (2015). Antibacterial activity of magnetic iron oxide nanoparticles synthesized by laser ablation in liquid. *Materials Science & Engineering. C, Materials for Biological Applications*, 53, 286–297. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.04.047>

Issa, B., Obaidat, I. M., Albiss, B. A., & Haik, Y. (2013). Magnetic nanoparticles: surface effects and properties related to biomedicine applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(11), 21266–21305. <https://doi.org/10.3390/ijms141121266>

Iwar, K., Ochar, K., Seo, Y. A., Ha, B.-K., & Kim, S.-H. (2024). *Alliums* as Potential Antioxidants and Anticancer Agents. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(15), 8079. <https://doi.org/10.3390/ijms25158079>

Jain, T. K., Reddy, M. K., Morales, M. A., Leslie-Pelecky, D. L., & Labhsetwar, V. (2008). Biodistribution, clearance, and biocompatibility of iron oxide magnetic nanoparticles in rats. *Molecular Pharmaceutics*, 5(2), 316-327. <https://doi.org/10.1021/mp7001285>

Jang, H. J., Lee, H. J., Yoon, D. K., Ji, D. S., Kim, J. H., & Lee, C. H. (2018). Antioxidant and antimicrobial activities of fresh garlic and aged garlic by-products extracted with different solvents. *Food Science and Biotechnology*, 27, 219-225. [10.1007/s10068-017-0246-4](https://doi.org/10.1007/s10068-017-0246-4).

Jiang, Z., Chen, H., Li, M., Wang, W., Long, F., & Fan, C. (2023). Garlic consumption and colorectal cancer risk in US adults: a large prospective cohort study. *Frontiers in Nutrition*, 10, 1300330. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1300330>.

Jin, Z., Dixon, J. G., Fiskum, J. M., Parekh, H. D., Sinicrope, F. A., Yothers, G., Allegra, C. J., Wolmark, N., Haller, D., Schmoll, H. J., de Gramont, A., Kerr, R., Taieb, J., Van Cutsem, E., Tweleves, C., O'Connell, M., Saltz, L. B., Sadahiro, S., Blanke, C. D., Tomita, N., ... Shi, Q. (2021). Clinicopathological and Molecular Characteristics of Early-Onset Stage III Colon Adenocarcinoma: An Analysis of the ACCENT Database. *Journal of the*

National Cancer Institute, 113(12), 1693–1704.
<https://doi.org/10.1093/jnci/djab123>

Johnson, M., Olaleye, O. N., & Kolawole, O. S. (2016). Antimicrobial and antioxidant properties of aqueous garlic (*Allium sativum*) extract against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *British Microbiology Research Journal*, 14(1):1-11.10.9734/BMRJ/2016/24095

Joudeh, N., & Linke, D. (2022). Nanoparticle classification, physicochemical properties, characterization, and applications: a comprehensive review for biologists. *Journal of Nanobiotechnology*, 20(1), 262.
<https://doi.org/10.1186/s12951-022-01477-8>.

Justus, C. R., Marie, M. A., Sanderlin, E. J., & Yang, L. V. (2023). Transwell In Vitro Cell Migration and Invasion Assays. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 2644, 349–359. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3052-5_22

Kanagesan, S., Hashim, M., Tamilselvan, S., Alitheen, N. B., Ismail, I., Hajalilou, A., & Ahsanul, K. (2013). Synthesis, characterization, and cytotoxicity of iron oxide nanoparticles. *Advances in Materials Science and Engineering*, 2013(1), 710432. <https://doi.org/10.1155/2013/710432>

Khalef, L., Lydia, R., Filicia, K., & Moussa, B. (2024). Cell viability and cytotoxicity assays: Biochemical elements and cellular compartments. *Cell biochemistry and function*, 42(3), e4007. <https://doi.org/10.1002/cbf.4007>

Khan, M. I., Mohammad, A., Patil, G., Naqvi, S. A. H., Chauhan, L. K. S., & Ahmad, I. (2012). Induction of ROS, mitochondrial damage and autophagy in lung epithelial cancer cells by iron oxide nanoparticles. *Biomaterials*, 33(5), 1477-1488. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.10.080>

Khashan, A. A. (2014). Antibacterial activity of garlic extract (*Allium sativum*) against *Staphylococcus aureus* in vitro. *Global Journal of Bio-Science and Biotechnology*, 3(2), 346-348.https://www.researchgate.net/profile/Atheer-Khashan/publication/349456556_ANTIBACTERIAL_ACTIVITY_OF_GARLIC_EXTRACT_ALLIUM_SATIVUM_AGAINST_STAPHYLOCOCCUS_AUREUS_IN_VITRO/links/6030d7b7299bf1cc26da0337/ANTIBACTERIAL-ACTIVITY-OF-GARLIC-EXTRACT-ALLIUM-SATIVUM-AGAINST-STAPHYLOCOCCUS-AUREUS-IN-VITRO.pdf

Lee, C. G., Lee, H. W., Kim, B. O., Rhee, D. K., & Pyo, S. (2015). Allicin inhibits invasion and migration of breast cancer cells through the suppression

of VCAM-1: Regulation of association between p65 and ER- α . *Journal of Functional Foods*, 15, 172-185. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.03.017>

Li, Q., Mahendra, S., Lyon, D. Y., Brunet, L., Liga, M. V., Li, D., & Alvarez, P. J. (2008). Antimicrobial nanomaterials for water disinfection and microbial control: Potential applications and implications. *Water Research*, 42(18), 4591–4602. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.08.015>

Li, W.R., Shi, Q.S., Dai, H.Q., Liang, Q., Xie, X.B., Huang, X.M., Zhao, G.Z., & Zhang, L.X. (2016). Antifungal activity, kinetics and molecular mechanism of action of garlic oil against *Candida albicans*. *Science Reports*. 6:22805. 10.1038/srep22805. PMID: 26948845; PMCID: PMC4779998.

Lima, M. M., Nuccio, J. C., Villalobos, M., Torres, C., & Balladares, N. (2010). Sistema renina angiotensina y riesgo cardio-Metabólico. *Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo*, 8(1), 3-10. https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1690-31102010000100002

Liu, C. T., Sheen, L. Y., & Lii, C. K. (2007). Does garlic have a role as an antidiabetic agent?. *Molecular Nutrition & Food Research*, 51(11), 1353-1364. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200700082>

Liu, R. H. (2013). Dietary bioactive compounds and their health implications. *Journal of Food Science*, 78(s1), A18-A25. 10.1111/1750-3841.12101. PMID: 23789932.

Llica, Q. F., Ramos, E., Castañeda, B., & Vásquez, L. (2008). Evaluación de la capacidad antioxidante de plantas medicinales peruanas nativas e introducidas. *Revista Académica Perú Salud*, 15(1), 42-46. <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.redalyc.org/pdf/3716/371637117004.pdf>

Locatelli, D.A, Nazareno, M.A, Fusari, C.M & Camargo, A.B. (2017). Cooked garlic and antioxidant activity: Correlation with organosulfur compound composition. *Food Chemistry*, 220, 219-224. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.001>

Lopes G. The Global Economic Cost of Cancer—Estimating It Is Just the First Step!. *JAMA Oncology*. 2023;9(4):461–462. doi:10.1001/jamaoncol.2022.7133

Luo, Y., Wang, Q., & Zhang, Y. (2020). Biopolymer-based nanotechnology approaches to deliver bioactive compounds for food applications: A perspective on the past, present, and future. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(46), 12993-13000. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c00277>

Ma, W., Gehret, P. M., Hoff, R. E., Kelly, L. P., & Suh, W. H. (2019). The investigation into the toxic potential of iron oxide nanoparticles utilizing rat pheochromocytoma and human neural stem cells. *Nanomaterials*, 9(3), 453. <https://doi.org/10.3390/nano9030453>

Magnuson, B. A., Jonaitis, T. S., & Card, J. W. (2011). A brief review of the occurrence, use, and safety of food- related nanomaterials. *Journal of Food Science*, 76(6), R126-R133. [10.1111/j.1750-3841.2011.02170.x](https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02170.x). PMID: 22417518.

Mahmoudi, M., Simchi, A., & Imani, M. (2011). Cytotoxicity of uncoated and polyvinyl alcohol coated superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *Journal of Physical Chemistry C*, 113(22), 9573-9580. <https://doi.org/10.1021/jp9001516>

Maitisha, G., Aimaiti, M., An, Z., & Li, X. (2021). Allicin induces cell cycle arrest and apoptosis of breast cancer cells *in vitro* via modulating the p53 pathway. *Molecular Biology Reports*, 48, 7261-7272. [10.1007/s11033-021-06722-1](https://doi.org/10.1007/s11033-021-06722-1).

Martinez-Outschoorn, U. E., Peiris-Pagés, M., Pestell, R. G., Sotgia, F., & Lisanti, M. P. (2017). Cancer metabolism: a therapeutic perspective. *Nature reviews. Clinical Oncology*, 14(1), 11–31. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2016.60>

Martínez-Rojo, E., Cariño-Cortés, R., Berumen, L. C., García-Alcocer, G., & Escobar-Cabrera, J. (2020). *Stevia eupatoria* and *Stevia pilosa* extracts inhibit the proliferation and migration of prostate cancer cells. *Medicina*, 56(2), 90. [10.3390/medicina56020090](https://doi.org/10.3390/medicina56020090).

Mateo, D., Morales, P., Ávalos, A., & Haza, A. I. (2013). Nanopartículas de oro: aplicaciones y citotoxicidad *in vitro*. *Acta Toxicológica Argentina*, 21(2), 102-109. https://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-37432013000200005

Mathew, P. T & Augusti, K. T. (1974) Studies on the effect of Allicin (Diallyl Disulphide-Oxide) on Alloxan Diabetes: Part I-Hypoglycaemic action & enhancement of serum insulin effect & Glycogen synthesis, *Indian Journal*

Biochemistry and Biophysics, 10, 209 – 212.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4792931/>

Mikaili, P., Mojaverrostami, S., Moloudizargari, M., Aghajanshakeri, S., & Sarahroodi, S. (2013). Pharmacological and therapeutic effects of *Allium sativum* and its active constituents: A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(2), 156-161.
<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3874089/>

Mikhailovsky, S., & Khajibaev, A. (Eds.). (2011). Biodefence: Advanced Materials and Methods for Health Protection. *Springer*. Pág.170.

Modem, S., DiCarlo, S. E., & Reddy, T. R. (2012). Fresh garlic extract induces growth arrest and morphological differentiation of MCF7 breast cancer cells. *Genes & Cancer*, 3(2), 177-186.
[10.1177/1947601912458581](https://doi.org/10.1177/1947601912458581).

Mondal, A., Banerjee, S., Bose, S., Mazumder, S., Haber, R. A., Farzaei, M. H., & Bishayee, A. (2022). Garlic constituents for cancer prevention and therapy: From phytochemistry to novel formulations. *Pharmacological research*, 175, 105837. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2021.105837>

Muranov K. O. (2024). Fenton Reaction in vivo and in vitro. Possibilities and Limitations. *Biochemistry. Biokhimiia*, 89(Suppl 1), S112–S126.
<https://doi.org/10.1134/S0006297924140074>

Neupane, B. P., Chaudhary, D., Paudel, S., Timsina, S., Chapagain, B., Jamarkattel, N., & Tiwari, B. R. (2019). Himalayan honey loaded iron oxide nanoparticles: synthesis, characterization and study of antioxidant and antimicrobial activities. *International Journal of Nanomedicine*, 14, 3533–3541. <https://doi.org/10.2147/IJN.S196671>

Nieto, G., Skibsted, L. H., Andersen, M. L., & Ros, G. (2012). Actividad antioxidante y prooxidante del aceite esencial de ajo por resonancia de spin electrónica. In *Anales de Veterinaria de Murcia*, 28, 23-33.
<https://doi.org/10.6018/j/188691>

Nikolova, M. P., & Chavali, M. S. (2020). Metal Oxide Nanoparticles as Biomedical Materials. *Biomimetics*, 5(2), 27.
<https://doi.org/10.3390/biomimetics5020027>.

Nosrati, H., Sefidi, N., Sharafi, A., Danafar, H., & Kheiri Manjili, H. (2018). Bovine Serum Albumin (BSA) coated iron oxide magnetic nanoparticles as

biocompatible carriers for curcumin-anticancer drug. *Bioorganic Chemistry*, 76, 501–509. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2017.12.033>Shah

Novelles, M.C.T., Ortega, A.R., & Pérez, O.P. (2019). Las nanopartículas a partir de plantas como base para el diseño de nuevos antimicrobianos. *Revista Cubana de Farmacia*, 51(4).

Nowak-Jary, J., & Machnicka, B. (2022). Pharmacokinetics of magnetic iron oxide nanoparticles for medical applications. *Journal of Nanobiotechnology*, 20(1), 305. <https://doi.org/10.1186/s12951-022-01510-w>

Olaoye, A. B., Owoeye, S. S., & Nwobegu, J. S. (2024). Facile green synthesis of plant-mediated selenium nanoparticles (SeNPs) using *Moringa oleifera* leaf and bark extract for targeting α -amylase and α -glucosidase enzymes in diabetes management. *Hybrid Advances*, 7, 100281.

Olech, Z., & Zaborska, W. (2012). A Spectrophotometric assay for total garlic thiosulfinates content: kinetic aspects of reaction with chromogenic thiols. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 62(1).10.2478/v10222-011-0042-4

OMS. Organización Mundial de la Salud. (2023). Detalles del cáncer de mama 2023. Fecha de consulta: 23 febrero 2025. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/breast-cancer>

Ourouadi, S., Moumene, H., Zaki, N., Boulli, A. A., Ouattmane, A., y Hasib, A. (2016). Garlic (*Allium sativum*): A source of multiple nutraceutical and functional components. *Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences (JCBPS)*, 7(1), 9. https://www.researchgate.net/profile/Aziz-Hasib/publication/309788659_Garlic_Allium_Sativum_A_Source_of_Multiple_Nutraceutical_and_Functional_Components_Review/links/582384c708ae b45b58895c66/Garlic-Allium-Sativum-A-Source-of-Multiple-Nutraceutical-and-Functional-Components-Review.pdf?origin=publication_detail&_tp=eyJjb250ZXh0Ijp7ImZpcnN0UGFnZSI6InB1Ym xpY2F0aW9uIiwicGFnZSI6InB1Ym xpY2F0aW9uRG93bm xvYWQ iLCJwcmV2aW91c1BhZ2UiOiJwdWJsaWNhdGl vbiJ9fQ&__cf_chl tk=ob rdsQO3yV4hRQJAGXVI3my7ekgmSpu_O3.BD8wQGKg-1740788393-1.0.1.1-UU7wZp4kxr4Moty0.4WCfrw2ONItZFWJsFOk1tqzifl

Ozalp Unal, D., & Sel, T. (2024). Investigation of Antiproliferative Effects of Combinations of White and Black Garlic Extracts with 5-Fluorouracil (5-FU)

on Caco-2 Colorectal Adenocarcinoma Cells. *Molecular Nutrition & Food Research*, 68(8), e2300820. <https://doi.org/10.1002/mnfr.202300820>.

Pandey, P., Khan, F., Alshammari, N., Saeed, A., Aqil, F., & Saeed, M. (2023). Updates on the anticancer potential of garlic organosulfur compounds and their nanoformulations: Plant therapeutics in cancer management. *Frontiers in Pharmacology*, 14, 1154034. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1154034>

Pérez, G., Vittori, D., Pregi, N., Garbossa, G., & Nesse, A. (2005). Homeostasis del hierro.: Mecanismos de absorción, captación celular y regulación. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 39(3), 301-314. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=53539305>

Perlecan. *Frontiers in oncology*, 9, 1482. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.01482>

Pijuan, J., Barceló, C., Moreno, D. F., Maiques, O., Sisó, P., Marti, R. M., ... & Panosa, A. (2019). *In vitro* cell migration, invasion, and adhesion assays: from cell imaging to data analysis. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 7, 107. <https://doi.org/10.3389/fcell.2019.00107>

Ramos, M., & Castillo, C. (2011). Aplicaciones biomédicas de las nanopartículas magnéticas. *Ide@s CONCYTEG*, 6(72), 629-646. [chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://oa.upm.es/13652/1/INVE_MEM_2011_114886.pdf](https://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://oa.upm.es/13652/1/INVE_MEM_2011_114886.pdf)

Rao, C. N. R., Müller, A., & Cheetham, A. K. (Eds.). (2006). The chemistry of nanomaterials: synthesis, properties and applications. *John Wiley & Son*, 94-104. [10.1007/BF02708778](https://doi.org/10.1007/BF02708778)

Ramadaini, T., Sumiwi, S. A., & Febrina, E. (2024). The Anti-Diabetic Effects of Medicinal Plants Belonging to the Liliaceae Family: Potential Alpha Glucosidase Inhibitors. *Drug design, development and therapy*, 18, 3595–3616. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S464100>

Rashid, M. M., Forte Tavčer, P., & Tomšič, B. (2021). Influence of Titanium Dioxide Nanoparticles on Human Health and the Environment. *Nanomaterials (Basel, Switzerland)*, 11(9), 2354. <https://doi.org/10.3390/nano11092354>

Rastogi, L., Sharma, M., & Soni, V. (2019). Biogenic synthesis of iron oxide nanoparticles using *Murraya koenigii* leaves extract and their antimicrobial activity. *Applied Nanoscience*, 9(4), 703-716.

Redondo-Calvo, J., Pérez-Ortiz, J.M., Padilla-Valverde, D., Sánchez-Mateos, L.S., Gracia-Fernández, I., Rodríguez-Romero, P., Villarejo-Campos, J.R., Muñoz-Rodríguez, E.M., Galán-Moya, L.A., Gómez-Fernández, L.A. (2019). Composición que comprende extractos de ajo, uso para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades, y procedimiento de obtención (ES. Patent No.[ES2675282B1](https://patents.google.com/patent/ES2675282B1)). ESP Patent Office. <https://patents.google.com/patent/ES2675282B1/es>

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology & medicine*, 26(9-10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(98)00315-3)

Sadeghi, M., Moradi, M., Madanchi, H., & Johari, B. (2021). In silico study of garlic (*Allium sativum* L.)-derived compounds molecular interactions with α -glucosidase. *In silico Pharmacology*, 9(1), 11. <https://doi.org/10.1007/s40203-020-00072-9>

Salehi, B., Zucca, P., Orhan, I. E., Azzini, E., Adetunji, C. O., Mohammed, S. A. & Ahmad, Z. (2019). Allicin and health: A comprehensive review. *Trends in Food Science & Technology*, 86, 502-516. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.03.003>

Sanjai, C., Hakkimane, S. S., Guru, B. R., & Gaonkar, S. L. (2024). A comprehensive review on anticancer evaluation techniques. *Bioorganic Chemistry*, 142, 106973. [10.1016/j.bioorg.2023.106973](https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2023.106973)

Santhosha, S. G., Jamuna, P., y Prabhavathi, S. N. (2013). Bioactive components of garlic and their physiological role in health maintenance: A review. *Food Bioscience*, 3, 59-74. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2013.07.001>

Schwartz S. M. (2024). Epidemiology of Cancer. *Clinical Chemistry*, 70(1), 140–149. <https://doi.org/10.1093/clinchem/hvad202>.

Shah, S. T., A Yehya, W., Saad, O., Simarani, K., Chowdhury, Z., A Alhadi, A., & Al-Ani, L. A. (2017). Surface functionalization of iron oxide nanoparticles with gallic acid as potential antioxidant and antimicrobial agents. *Nanomaterials*, 7(10), 306. [10.3390/nano7100306](https://doi.org/10.3390/nano7100306).

Shang, A., Cao, S. Y., Xu, X. Y., Gan, R. Y., Tang, G. Y., Corke, H. & Li, H. B. (2019). Bioactive compounds and biological functions of garlic (*Allium sativum* L.). *Foods*, 8(7), 246. <https://doi.org/10.3390/foods8070246>

SIAP. (2018, 2021, 2022). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Información disponible en <https://www.gob.mx/agricultura/prensa/se-ubica-mexico-como-el-noveno-exportador-mundial-de-ajos?idiom=es> Última fecha de consulta 23 de febrero de 2025.

Sreelakshmy, V., Deepa, M. K. y Muridula, P. (2016). Green synthesis of silver nanoparticles from *Glycyrrhiza glabra* root extract for the treatment of gastric ulcer. *Journal of Developing Drugs*, 5: 152. <https://doi.org/10.4172/2329-6631.1000152>

Sujithra, K., Srinivasan, S., Indumathi, D., & Vinothkumar, V. (2018). Allyl methyl sulfide, an organosulfur compound alleviates hyperglycemia mediated hepatic oxidative stress and inflammation in streptozotocin - induced experimental rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy Biomedecine & Pharmacotherapie*, 107, 292–302. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.07.162>

Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, 71(3), 209-249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>

Szewczyk, O. K., Roszczenko, P., Czarnomysy, R., Bielawska, A., & Bielawski, K. (2022). An overview of the importance of transition-metal nanoparticles in cancer research. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(12), 6688. <https://doi.org/10.3390/ijms23126688>

Tapia-Guerrero, Y. S., Del Prado-Audelo, M. L., Borbolla-Jiménez, F. V., Gomez, D. M. G., García-Aguirre, I., Colín-Castro, C. A., Morales-González, J. A., Leyva-Gómez, G., & Magaña, J. J. (2020). Effect of UV and Gamma Irradiation Sterilization Processes in the Properties of Different Polymeric Nanoparticles for Biomedical Applications. *Materials (Basel, Switzerland)*, 13(5), 1090. <https://doi.org/10.3390/ma13051090>

Takhtajan, A., 1997. Diversity and Classification of Flowering Plants. New York, Columbia University Press: 643 p.

Tesfaye A. (2021). Revealing the Therapeutic Uses of Garlic (*Allium sativum*) and Its Potential for Drug Discovery. *Scientific World Journal*, 30, 8817288. doi: 10.1155/2021/8817288. PMID: 35002548; PMCID: PMC8739926.

Tombácz, E., Turcu, R., Socoliuc, V., Vékás, L. (2015). Magnetic iron oxide nanoparticles: recent trends in design and synthesis of magneto responsive nanosystems. *Biochemical Biophysical Research Communications* 468:442–453. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.08.030>

UKHSA. Agencia de Seguridad Sanitaria del Reino Unido. Perfil de la línea celular MCF7. Disponible en: <https://www.culturecollections.org.uk/products/cell-cultures/ecacc-cell-line-profiles/mcf7/>. Fecha de consulta: 24 febrero 2025.

Varga-Visi, É., Jócsák, I., Ferenc, B., & Végvári, G. (2019). Effect of crushing and heating on the formation of volatile organosulfur compounds in garlic. *CyTA-Journal of Food*, 17(1), 796-803. <https://doi.org/10.1080/19476337.2019.1656288>

VG, V. K., & Prem, A. A. (2018). Green synthesis and characterization of iron oxide nanoparticles using *Phyllanthus niruri* extract. *Oriental Journal of Chemistry*, 34(5), 2583. <http://dx.doi.org/10.13005/ojc/340547>

Wang, X. C., Tang, Y. L., & Liang, X. H. (2023). Tumour follower cells: A novel driver of leader cells in collective invasion (Review). *International Journal of Oncology*, 63(4), 115. <https://doi.org/10.3892/ijo.2023.5563>

Wilde, L., Roche, M., Domingo-Vidal, M., Tanson, K., Philp, N., Curry, J., & Martinez-Outschoorn, U. (2017). Metabolic coupling and the Reverse Warburg Effect in cancer: Implications for novel biomarker and anticancer agent development. *Seminars in Oncology*, 44(3), 198–203. <https://doi.org/10.1053/j.seminoncol.2017.10.004>

Wu, W., Wu, Z., Yu, T., Jiang, C., Kim, W. (2015). Recent progress on magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, Surface functional strategies and biomedical applications. *Science and Technology of Advanced Materials*, 16:1. <https://doi.org/10.1088/1468-6996/16/2/023501>

Yan, J. K., Wang, C., Yu, Y. B., Wu, L. X., Chen, T. T., & Wang, Z. W. (2021). Physicochemical characteristics and in vitro biological activities of polysaccharides derived from raw garlic (*Allium sativum* L.) bulbs via three-phase partitioning combined with gradient ethanol precipitation method. *Food chemistry*, 339, 128081. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128081>

Zafar, S., Faisal, S., Jan, H., Ullah, R., Rizwan, M., Alotaibi, A., Bibi, N., Rashid A.U., & Khattak, A. (2022). Development of iron nanoparticles (FeNPs) using biomass of enterobacter: Its characterization, antimicrobial,

anti-Alzheimer's, and enzyme inhibition potential. *Micromachines*, 13(8), 1259. <https://doi.org/10.3390/mi13081259>

Zanotelli, M. R., Zhang, J., & Reinhart-King, C. A. (2021). Mechanoresponsive metabolism in cancer cell migration and metastasis. *Cell Metabolism*, 33(7), 1307–1321. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2021.04.002>

Zhou, Z., Ni, K., Deng, H., & Chen, X. (2020). Dancing with reactive oxygen species generation and elimination in nanotheranostics for disease treatment. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 158, 73–90. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2020.06.006>