



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE FÍSICA Y MATEMÁTICA

**SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN Y FUNCIONALIZACIÓN DE
NANO-PARTÍCULAS MAGNÉTICAS EN GRAFENO OXIDADO
VISANDO APLICACIONES EN TERAPIA FOTODINÁMICA.**

TRABAJO DE TITULACIÓN

TIPO: PROYECTO EXPERIMENTAL

Previo a la obtención del título de:

BIOFÍSICO

AUTOR: MARIO ANDRÉS LIMAICO ÁLVAREZ

TUTOR: DR. RICHARD PACHACAMA

Riobamba-Ecuador

2017

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE FÍSICA Y MATEMÁTICA
CARRERA DE BIOFÍSICA

El Tribunal de la Comisión de Trabajo de Titulación certifica que: El trabajo experimental: **SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN Y FUNCIONALIZACIÓN DE NANO-PARTÍCULAS MAGNÉTICAS EN GRAFENO OXIDADO VISANDO APLICACIONES EN TERAPIA FOTODINÁMICA**, de responsabilidad del señor Mario Andrés Limaico Álvarez, ha sido minuciosamente revisado por los miembros de Tribunal del Trabajo de Titulación, quedando autorizada su presentación.

Dr. Richard Pachacama Ch.

**DIRECTOR DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN**

Dr. Cristian Vacacela.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Biof. Dalinda Quingatuña.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Yo, Mario Andrés Limaico Álvarez declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y que los resultados del mismo son auténticos y originales. Los textos constantes en el documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Como autor asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación.

Mario Andrés Limaico Álvarez, Riobamba.

AGRADECIMIENTO

Agradezco de manera muy humilde a Dios por darme la posibilidad de levantarme cada día y superarme mental y físicamente como profesional y persona.

De manera especial agradezco a mi Madre por su apoyo incondicional a lo largo de mi formación académica y personal, su amor y temple han sido un regalo que aprecio infinitamente. De igual manera agradezco a mi padre por su apoyo moral, su aprecio y consejos en los momentos adecuados. A mi hijo que ha tenido la paciencia y la fuerza para verme estar lejos por cumplir un propósito que es en visión y misión de nuestro bienestar.

En el espacio académico, agradezco a mi anterior Directora de trabajo de titulación, la Dra. Paulina Romero Obando, PhD, quien ha aportado conocimiento, disciplina profesional y una amplia visión del mundo y la comunidad científica y el arduo trabajo que conlleva llegar a él; y que ha sido un pilar primordial en la culminación del presente trabajo de titulación.

Resalto la acogida brindada por el Dr. Francisco Quiroz, PhD, quién abrió las puertas de su laboratorio, CIAP, para realizar investigación y compartir conocimiento, el cual facilitó el trabajo conjunto con el Dr. Antonio Díaz, PhD, quién impartió el conocimiento necesario acerca de los hidrogeles utilizados.

De igual manera al Dr. Luis Borrero, PhD, quien junto con su experiencia profesional ha sido una mano amiga importante en la culminación de la carrera y un apoyo confiable al realizar el trabajo de titulación.

Agradezco también a la Escuela Politécnica Nacional (EPN), por el espacio que me ha otorgado para realizar la culminación de mis prácticas pre-profesionales, cuyos resultados se reflejan en el trabajo de titulación que ahora presento.

A mi institución de educación superior, ESPOCH, le agradezco la oportunidad de dar el siguiente paso en mi formación académica dejando atrás la interesante etapa colegial.

A mi familia por su apoyo preciso y su constante interés en mi bienestar y mi progreso. A mis amigos, por su presencia social y confiable para recordar los buenos momentos y olvidar los malos, y por ser aquellos hermanos que no tuve; hermanos de madres distintas.

Con cariño y respeto, Mario.

ABREVIATURAS

- **GO:** Grafeno Oxidado
- **rGO:** reducción de Grafeno Oxidado.
- **Fe:** Hierro.
- **NPFes:** Nano-Partículas de Hierro.
- **AFM (siglas en inglés):** Microscopia de Fuerza Atómica.
- **SEM (siglas en inglés):** Microscopia Electrónica de Barrido
- **FTIR (siglas en inglés):** Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier.
- **TFD:** Terapia Fotodinámica.
- **FS:** Fotosensibilizador o Fotosensibilizante.
- **FSS:** Fotosensibilizadores o Fotosensibilizantes.
- **CTP:** Camptothecin.
- **MTX:** Methotrexate
- **PEG:** Polietilen Glicol.
- **ROS (siglas en inglés)::** Especies Reactivas de Oxígeno
- **VCLPEGDA:** Vinil CaproLactama - Polietilen Glicol Diacrilato.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	x
ABSTRACT	xi
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I	8
1. MARCO TEÓRICO	8
1.1 Síntesis de NPFes en láminas de GO por el Método de Co-precipitación	8
1.2 Grafeno y Óxido de Grafeno.....	9
1.3 Terapia fotodinámica.....	12
1.4 Sistemas de Nano-Transporte de fármaco.....	17
1.5 Hidrogel VCLPEGDA	21
CAPÍTULO II.....	23
2. METODOLOGÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	23
2.1 Obtención del nanocompósito GO-NPFes.	23
2.2 Caracterización del nanocompósito GO-NPFes.	24
2.3 Síntesis De Diacrilato De Polietilenglicol- Vinilcaprolactama	24
2.4 Funcionalización de GO-NPFes con el fotosensibilizante Mentil ZnPC en presencia del gel VCLPEGDA y obtención del nanocompósito GO-NPFes-VCLPEGDA-Mentil ZnPc25	
2.5 Caracterización del nanocompósito GO-NPFes-VCLPEGDA-Mentil ZnPc.....	25
CAPÍTULO III	29
3. Resultados y Discusión.....	29
3.1 Caracterización del nanocompósito GO-NPFes.	29
3.2 Caracterización del nanocompósito GO-NPFes-VLCPEGDA-Mentil ZnPc.....	33
CONCLUSIONES	41
RECOMENDACIONES	42
BIBLIOGRAFÍA	
ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 : Parámetros y sus respectivos indicadores.....	6
Tabla 1-1: Descripción de la importancia de las distribuciones estructurales del Grafeno oxidado.....	11
Tabla 2-1: Fotosensibilizantes de acuerdo a la generación que pertenecen (Yeh, 2015).	14
Tabla 1-2: Contenido de las muestras VCLPEGDA-Mentil ZnPc, en suero fisiológico.	26
Tabla 2-2: Contenido de las muestras GO-NPFes-VCLPEGDA, en suero fisiológico.	27
Tabla 3-2: Contenido de las muestras GO-NPFes-VCLPEGDA-Mentil ZnPc, en suero fisiológico.....	27
Tabla 4-2: Análisis de estabilidad en el tiempo de la absorción entre 2 nanocompuestos manteniendo su concentración.....	28
Tabla 1-3: Valores de concentración diluida Cd para GO, Mentil ZnPc y Total.....	34

INDICE DE FIGURAS

Figura 1-1: Modificaciones del Grafeno 2D. Fullerenos 0D (Verde), Nanotubos de carbono 1D (Rojo), Grafito 3D (Azul).....	10
Figura 2-1: Oxidación de una lámina de grafeno para formar GO.....	11
Figura 3-1: Mecanismo de acción de la TFD.....	13
Figura 4-1: FSs con estructuras basadas en porfirinas.....	15
Figura 5-1: Estructura química de FSs de 2da generación.....	15
Figura 6-1: Estructura de FSs de 2da generación de algunas no-porfirinas.....	16
Figura 7-1: Estructura química del FS Mentil-ZnPc.....	16
Figura 8-1: Esquema de transporte de fármaco en presencia de Luz-visible.....	22

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-3: Muestra de Óxido de Grafeno.....	29
Gráfico 2-3: GO-NPFes (Final) purificados magnéticamente, pH neutro.....	30
Gráfico 3-3: FTIR del Nanocompósito de GO-NPFes.....	31
Gráfico 4-3: AFM Precipitado del nanocompósito GO-NPFes.....	32
Gráfico 5-3: FTIR del Nanocompósito GO-NPFes-VCLPEGDA-Mentil ZnPc.	33
Gráfico 6-3: Saturación del nanocompósito GO-NPFes-VCL PEGDA-MentilZnPC.	35
Gráfico 7-3: Comparación total entre espectros que evidencian Mentil ZnPc y GO.....	36
Gráfico 8-3: VCLPEGDA-Mentil ZnPc.	37
Gráfico 9-3: VCLPEGDA-Mentil ZnPc, Tiempo vs. Absorbancia.	38
Gráfico 10-3: GO-NPFes-VCLPEGDA-Mentil ZnPc	38
Gráfico 11-3: GO-NPFes-VCLPEGDA-Mentil ZnPc Tiempo vs Absorbancia.....	39
Gráfico 12-3: Comparación entre diagramas Tiempo vs. Absorbancia.	40

RESUMEN

El objetivo de este trabajo de titulación fue estudiar la estabilidad temporal del nanocompuesto GO-NPFes-Mentil ZnPc-VCLPEGDA. Para ello se utilizó el método de co-precipitación para sintetizar las NPFes fijando los parámetros de síntesis como el pH, la concentración de las sales de hierro involucrada (Hierro II y Hierro III) y la temperatura. El proceso de síntesis del nanogel VCL PEGDA se obtuvo mediante la polimerización de una emulsión (SDS) en un reactor continuo (Nitrógeno) utilizando un iniciador catiónico (Persulfato de Amonio). La caracterización del nanocompuesto se obtuvo mediante 4 diferentes métodos. La caracterización Raman permitió corroborar la existencia de material nanoparticulado (hematita y magnetita recalentada) y las resonancias propias del Grafeno Oxidado por sus bandas D y G en 1342cm^{-1} y 1587.47cm^{-1} respectivamente. Los diversos grupos funcionales y enlaces entre compuestos químicos del nanocompuesto se obtuvieron por caracterización FTIR, presenciando enlaces C-O, H-O, C=O asimétrico y carboxílico y enlaces de hierro Fe-O. La características morfológicas y dimensión de las NPFes y GO fueron evidenciadas por caracterización AFM, cuyos resultados evidencian láminas de GO de $0.1023\ \mu\text{m}$ de largo, con NPFes cuyas dimensiones de espesor promedio es de $30.105\ \text{nm}$, y una desviación estándar de 1.15, lo cual es un error presente debido a la agregación entre NPFes y posibles impurezas. Por último se realizó un estudio espectroscópico por UV/Vis para analizar la saturación y evolución de la absorbancia en el tiempo del nanocompuesto con un 68% de intensidad de absorbancia al cabo de 2 días de duración del estudio en relación a los primeros minutos de sintetizado. Se obtuvo y estudió a dicho nanocompuesto abriendo la posibilidad de estudiar a futuro su eficiencia como biosensor y transportador no tóxico al cuerpo humano y así visar su aplicación como nano-vehículo en la Terapia Fotodinámica (TFD).

Palabras Clave: <BIOFÍSICA MOLECULAR>, <NANOPARTICULAS>, <NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS>, <TERAPIA FOTODINÁMICA (TFD)>, <GRAFENO OXIDADO (GO)>, <MÉTODO DE CO-PRECIPITACIÓN>, <FOTOSENSIBILIZANTE>, <HIDROGEL>.



ABSTRACT

The objective of this thesis was to study the temporal stability of the nanocomposite GO-NPFes-Mentil ZnPc-VCLPEGDA aiming applications in Photodynamic Therapy (PDT). For this, the co-precipitation method was used to synthesize the NPFes, setting the synthesis parameters such as the pH, the concentration of the iron salts involved (Iron II and Iron III) and the temperature. The synthesis process of the VCL PEGDA nanogel was obtained by the polymerization of an emulsion (SDS) in a continuous reactor (Nitrogen) using a cationic initiator (Ammonium Persulfate). The chemical identification of the nanocomposite was obtained by Raman characterization, which allowed corroborating the existence of nanoparticulate material (hematite and reheated magnetite) and of the GO by its D and G bands at approximately 1350 cm^{-1} and 1600 cm^{-1} respectively. The electronic configurations and structural distributions of the nanocomposite were obtained by FTIR characterization, observing asymmetric and carboxylic C-O, H-O, C = O bonds and Fe-O iron bonds. The chemical and physical properties, as well as the dimensions of the nanocomposite were evidenced by AFM characterization, whose results show GO sheets of 1,023 μm long, with NPFes whose average thickness is 30,105 nm, and a standard deviation of 1.15, which is a present error due to the aggregation between NPFes and possible impurities. Finally, a UV / Vis spectroscopic study was carried out to analyze the saturation and evolution of the absorbance over time of the nanocomposite with 68% absorbance intensity after 2 days of study in relation to the first minutes of synthesis. . The nanocomposite was obtained as a nano-vehicle in Photodynamic Therapy (PDT), since it makes it an excellent biosensor and drug transporter in the future.

Palabras Clave: <MOLECULAR BIOPHYSICS>, <NANOPARTICLES>, <MAGNETIC NANOPARTICLES>, <PHOTODYNAMIC THERAPY (PDT)>, <GRAPHENE OXIDE (GO)>, <CO-PRECIPIATION METHOD>, <PHOTOSENSITIZIER>, <HYDROGEL>.



INTRODUCCIÓN

El grafeno, GO y rGO son candidatos prometedores en el desarrollo de la ciencia y la tecnología debido a sus propiedades optoelectrónicas, de transporte de fármaco y fotoluminiscentes (Aguirre et al., 2014, pp. 4569). La combinación del grafeno y sus derivados con biomoléculas como proteínas, ácidos nucleicos, elementos orgánicos e inorgánicos en suelos y en otros sistemas de carácter biológico, químico y físico dan lugar a una gran variedad de materiales con estructuras y propiedades muy distintas y la opción de poder obtener un nanocompósito estable y funcional (Di y Yoshihiro, 2014, pp. 1-12).

Por otro lado, las NPFes son estructuras de tamaño nanométrico (10^{-9} m) que de acuerdo a sus precursores presentan propiedades magnéticas, hidrofílicas, biocompatibilidad, oxidación, entre otras. Debido a su dimensión reducida, las convierten en buenas candidatas para sintetizarlas con otros elementos de dimensiones iguales o similares y así obtener un mejoramiento en las propiedades del nanocompósito final.

Los métodos de sintetización de las Nanopartículas de Hierro (NPFes) tales como coprecipitación, solvotermal y por ablación láser permiten obtener las mejores características y propiedades para ser combinados con otros nanomateriales como grafeno y sus derivados permitiendo obtener nanocompuestos. Este hecho se debe a las dimensiones nanométricas, estabilidad mecánica y propiedad conductora adecuadas (Wang et al., 2011, pp. 205-12).

Para la síntesis de NPFes en GO requiere obtener información química y morfología. Los métodos de caracterización de dicha síntesis son varios y diferenciados de acuerdo al tipo de análisis que se desea realizar como por ejemplo en los últimos años, la Microscopía de Fuerza Atómica (AFM) se ha convertido en una técnica útil para el estudio de la estructura de la superficie ya que existe una influencia de la rugosidad y topografía de un biomaterial en su citocompatibilidad *in vivo* e *in vitro*. Por otro lado el análisis micro y nano estructural se lo ha venido realizando por el método de caracterización por Microscopia Electrónica de Barrido (SEM, siglas en inglés) (Morant et al., 2003, pp. 79-87).

Referente a los grupos funcionales (estructura) de los materiales, así como de los picos de absorbancia representativos se los obtiene mediante Espectroscopia Infrarroja por transformada

de Fourier (FTIR) y Espectroscopia Raman respectivamente. Ambos métodos también han sido empleados como sondas para investigar cambios en los procesos de síntesis y para medir la calidad de los resultados (Kizil, Irudayaraj y Seetharaman, 2002, pp. 3912-3918). El presente trabajo de investigación detalla un proceso de obtención del nanocompuesto GO-NPFes-VCLPEGDA-Mentil ZnPc visando aplicaciones en TFD.

La Terapia Fotodinámica (TFD) implica la administración de un Fotosensibilizador (FS) seguido de la irradiación local del tumor con luz de una longitud de onda específica para activar el FS. Dicho FS excitado transfiere su energía al oxígeno molecular, generando oxígeno singlete (1O_2) que puede oxidar macromoléculas celulares clave que conducen a la muerte de células tumorales (mecanismo tipo II) (Lucky, Soo y Zhang, 2015, pp. 1990-2042). Se pueden llevar a cabo otros procesos que generen radicales libres (mecanismo tipo I). Todos estos productos se denominan Especies Reactivas de Oxígeno (ROSs)

El Mentil ZnPc es uno de los más prometedores FSs para la TFD como resultado de su relativamente alta absorción óptica en el dominio de la ventana fototerapéutica (600-800 nm), en comparación con otros FSs a base de porfirina (Dong et al., 2010, pp. 2265-2271).

Sin embargo, el uso de la TFD presenta diferentes problemas en su aplicación debido a las características de hidrofobicidad de los FSs que dificultan la administración y eficiencia del tratamiento.

El uso de hidrogeles tales como el Vinil CaproLactama - Polietilen Glicol Diacrilato (VCLPEGDA) contrarresta el efecto hidrofóbico del FS lo cual permite el adecuado acoplamiento entre el nanocompuesto GO-NPFes y el Mentil ZnPc en presencia de dicho hidrogel (Cortez-Lemus y Licea-Claverie, 2016, pp. 1-51).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

ANTECEDENTES

Los compuestos a base de GO-NPFes se han sintetizado por varios grupos de investigadores y se ha utilizado para una variedad de propósitos, como por ejemplo en nanotransportadores de fármacos, así como también para diagnóstico en resonancia magnética (MR) T2- ponderada como agente de contraste para el etiquetado de células in vitro (Ma et al., 2012, pp. 199-212).

Ma, X. et al., (2012); obtuvieron el nanocompósito GO-NPFes-Polietilenglicol (PEG). Para la síntesis del nanocompósito GO-NPFes se utilizó el método de co-precipitación a temperatura ambiente, mediante cloruros férrico y ferroso y una base de hidróxido de amonio. El nanocompósito en presencia del PEG presentó una superficie de funcionalización biocompatible, estable en ambientes fisiológicos y con ausencia de toxicidad in vitro a las concentraciones celulares probadas mediante transporte de fármaco y terapia fototermal orientada magnéticamente (Ma et al., 2012, pp. 199-212).

Shen, J. et al., (2014); sintetizaron NPFes sobre Grafeno Oxidado ultrafino (uGO) mediante el método de co-precipitación, junto con el acoplamiento de dos fármacos anticancerígenos, Camptothecin (CTP) y Methotrexate (MTX). Obtuvieron primero el nanocompósito uGO-MNP-OA (OA, Ácido Oleico) con características superparamagnéticas, además de la acumulación específica del nanocompósito en el sitio del tumor por la inducción de un campo magnético externo. Luego encapsularon ambos fármacos CTP y MTX en el nanocompósito uGO-MNP-OA gracias a la inducción del OA y a la modificación de grupos COOH en el uGO, obteniendo así el nuevo CTP-uGO-MNP-OA-MTX que otorga un mejoramiento en la inhibición de crecimiento tumoral y muerte del mismo, lo cual mostró un patrón de liberación de los fármacos en tejido tumoral. Dicho estudio se realizó visando aplicaciones de combinación entre quimioterapia e Hipertermia (Shen et al., 2014, pp. 18473-18484).

El desarrollo de esta Tesis implica el desarrollo del nanocompósito GO-NPFes funcionalizado con Mentil ZnPc en presencia de VLCPEGDA como agente nano-vehículo de fármaco visando aplicaciones en TFD.

La colaboración de universidades como la ESPOCH con caracterizaciones UV, la EPN con AFM, PUC (Rio de Janeiro-Brasil) con SEM, TEM y Raman, así también con laboratorios químicos y basados en polímeros presentes en la EPN, han permitido llevar a cabo la obtención y análisis del nano-vehículo del nanocompósito GO-NPFes.

Formulación Del Problema

¿Es eficiente el nanocompósito GO-NPFes-VCLPEGDA como agente de transporte del fotosensibilizante Mental ZnPc visando aplicaciones en TFD?

Sistematización Del Problema

¿Se obtiene un adecuado acoplamiento entre las NPFes y las láminas de GO?

¿Se considera que la síntesis de NPFes-GO-Mental ZnPc genera un nanocompósito con características adecuadas para su uso en TFD?

¿Se obtiene una eficiente dispersión del nanocompósito NPFes-GO-Mental ZnPc en presencia del gel VCLPEGDA?

JUSTIFICACION DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

El avance de la tecnología, así como el de las afecciones tumorales requieren la aplicación de métodos cada vez menos invasivos y agresivos para el diagnóstico y tratamiento de las mismas. Por lo tanto se busca eliminar células u órganos cancerígenos y mantener la integridad de las células sanas.

Varios trabajos basados en GO y NPFes se han realizado para estudiar su estructura, propiedades y su compatibilidad con otros bioelementos, por lo que el presente trabajo de titulación busca la obtención de un nanocompósito de GO-NPFes que mantenga sus características pero a su vez que pueda ser sometido a mejora de las mismas.

El uso de un hidrogel VCLPEGDA justifica el uso del Fs Mental ZnPc, ya que contrarresta su hidrofobicidad y permite su correcto acoplamiento sobre el sustrato GO-NPFes y así obtener el nanocompósito final GO-NPFes-Mental ZnPc-VCLPEGDA.

Obteniendo las características y propiedades del nanocompósito final mediante caracterización Raman, FTIR, AFM y UV/Vis y corroborando la información obtenida con trabajos realizados en los últimos 10 años, se considera como cumplido el objetivo planteado para el presente trabajo de titulación.

La visión futura del nanocompósito será utilizarlo en la TFD en tratamientos cancerígenos. Dicho método supone ser completamente compatible y amigable con el cuerpo humano en general.

OBJETIVOS

- *Objetivo General*

Sintetizar, caracterizar y funcionalizar Nano-Partículas Magnéticas en Grafeno Oxidado visando aplicaciones en Terapia Fotodinámica.

- *Objetivos Específicos*

- Caracterizar el nanocompósito GO-NPFes con técnicas como AFM, Raman, FTIR, UV-Vis.
- Funcionalizar el nanocompósito GO-NPFes con el FS Mentil-ZnPc en presencia del gel VCLPEGDA.
- Realizar un estudio espectroscópico del nanocompósito GO-NPFes-VCLPEGDA-Mentil ZnPc con la técnica UV/Vis.

PLANTEAMIENTO DE LAS HIPÓTESIS

Hipótesis

La síntesis de NPFes en Láminas de GO permite obtener un nanocompósito final funcionalizándolo con el FS Mentil-ZnPc en presencia del hidrogel VCLPEGDA.

Verificación de la Hipótesis

La Hipótesis del presente trabajo de titulación se realizó mediante observación científica y por documentación, lo cual se detalla a continuación:

Tabla 1: Parámetros y sus respectivos indicadores.

Parámetro	Indicador
Morfología y estructura del Nanocompósito GO-NPFes.	Caracterización Raman, AFM y FTIR.
Concentración de FS en presencia del Gel VCLPEGDA.	Espectros UV/Vis.
Evolución de la absorbancia en el tiempo del nanocompósito GO-NPFes-VCLPEGDA-Mentil ZnPc.	Diagrama Absorción vs. Tiempo.

Realizado por: Mario Limaico, 2017.

El primer indicador refiere a la identificación química del nanocompósito GO-NPFes mediante caracterización Raman, lo cual permitió corroborar la existencia de material nanoparticulado (hematita y magnetita recalentada) y del GO por sus bandas D y G en 1342 cm^{-1} y 1587.47 cm^{-1} en promedio, respectivamente (Iqbal et al., 2012, pp. 335301). Las configuraciones electrónicas y distribuciones estructurales del nanocompósito se obtuvieron por caracterización FTIR, presenciando enlaces C-O, H-O, C=O asimétrico y carboxílico y enlaces de hierro Fe-O (Oh et al., 2014, pp. 15836-15845). Las propiedades químicas y físicas, así como las dimensiones del compósito fueron evidenciadas por caracterización AFM, cuyos resultados evidenciaron láminas de GO de $0,102\text{ }\mu\text{m}$ de largo, con NPFes situadas en la periferia de las láminas con un espesor promedio de 30.105 nm , y una desviación estándar de 1.15755102 , lo cual es un error presente debido a la agregación entre NPFes y posibles impurezas (Jabeen et al., 2011, pp. 3583).

El segundo indicador detalla la presencia del FS, Mentil ZnPc, en su forma no agregada, GO-NPFes en presencia del hidrogel VCLPEGDA. El estudio espectroscópico realizado muestra por

un lado que en la saturación del nanocompósito GO-NPFes-VCLPEGDA-Mentil ZnPc tanto como las intensidades de absorbancia, lo cual se evidenció tanto para los 2 picos correspondientes al GO-NPFes (229 nm y 276.1 nm) (Huang, 2011, pp. 240), como para los 3 picos del Mentil-ZnPc (350 nm, 636 nm y 682 nm)(Romero et al., 2013, pp. 22-29).

El tercer indicador se basa en la evolución de intensidad de absorbancia del nanocompósito en el tiempo, lo cual demostró que el FS perdió un 32 % de intensidad en promedio al cabo de 2 días de duración del estudio, es decir, el nanocompósito GO-NPFes-VCLPEGDA-Mentil ZnPc evidenció 68% de intensidad de absorbancia en relación a los primeros minutos de sintetizado dicho nanocompósito.

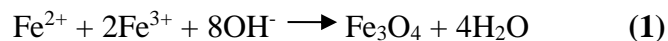
CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Síntesis de NPFes en láminas de GO por el Método de Co-precipitación

El método de co-precipitación cuenta con ventajas sobre otros métodos de sintetización de NPFes que incluyen, buena homogeneidad, bajo costo, alta pureza del producto y no requiere disolventes orgánicos y tratamiento térmico. En los últimos 10 años, el método de co-precipitación se ha desarrollado para la preparación de nanopartículas de magnetita, hematita y manghemita usando precursores metal-orgánicos (Nazari et al., 2014, pp. 99).

El método se basa en una mezcla estequiométrica con relación 2:1 entre sales férricas y ferrosas respectivamente en un medio acuoso. La preparación de óxidos de hierro como magnetita o manghemita se llevan a cabo por medio de la reacción química siguiente.



Acorde a la termodinámica de la reacción en (1), la completa precipitación del Fe_3O_4 se consigue con un pH entre 8-14, en una atmósfera anaerobia de manera de evitar la posible oxidación en presencia de una base (del Rio Clar, 2013).

Debido a la inestabilidad de la magnetita, la presencia de oxígeno la convierte en manghemita.



Según la ecuación (2), la oxidación con el aire no solo provoca la transformación de magnetita en manghemita sino que además transfiere varios electrones o iones dependiendo del pH, formando así nanocompuestos hexa-hidratados en la solución y reacciones redox en la superficie para condiciones ácidas y básicas anaerobias respectivamente lo que provoca la adición de aniones orgánicos quelantes (carboxilatos como ácido oleico, etc.) o polímeros superficiales que actúen como agentes complejantes (dextrano, alcohol polivinílico, etc.) durante la formación de la magnetita puede ayudar al control del tamaño de la nanopartículas (del Rio Clar, 2013).

Referente al presente trabajo, las NPFes basan sus características y propiedades en su composición química, tamaño, tipo de sales utilizadas (sulfatos, nitratos u óxidos), la temperatura de reacción, fuerza iónica, la relación entre tipos de sales y el valor pH (Lee et al., 2004, pp. 147-150).

Se han realizado varias modificaciones experimentales para facilitar el método de co-precipitación de partículas de hierro por mezcla rápida de manera continua. Esto se debe a los resultados de medir la tasa de crecimiento en tiempo real de las nanopartículas de hierro “magnéticas” (magnetita, hematita o manghemita) durante el proceso, a través de la susceptometría magnética integrada (Soto Lopez et al., 2012).

1.2 Grafeno y Óxido de Grafeno

El grafeno es una estructura bidimensional (2D) de 1 átomo de grosor. Debido a sus propiedades ha incursionado en el campo de la física, química y nanotecnología (Wang et al., 2011, pp. 205-12). Dicho material presenta una perspectiva plana de macromolécula aromática, lo cual se asemeja a un panal de abejas. Al ser un material maleable y modificable, el grafeno puede ser envuelto para tomar otras formas y perspectivas, como 0D para fullerenos, enrollado para obtener elementos de 1D para Nanotubos de carbono y apilado para obtener elementos 3D como el grafito.

Durante los últimos años, se han desarrollado varios métodos para producir grafeno, tales como exfoliación micromecánica de grafito, el crecimiento epitaxial o crecimiento epitaxial de deposición de vapor químico (CVD) y síntesis química a partir de grafito. La estrategia de la cinta y exfoliante también se considera como la exfoliación micromecánica o método de desprendimiento, que puede ser usado con éxito al tratar de romper la débil energía entre capas π que están apiladas en el grafito, para producir láminas de grafeno puros. Sin embargo, este proceso tiene una desventaja en términos de rendimiento en muestras pequeñas (Wang et al., 2011, pp. 205-12).

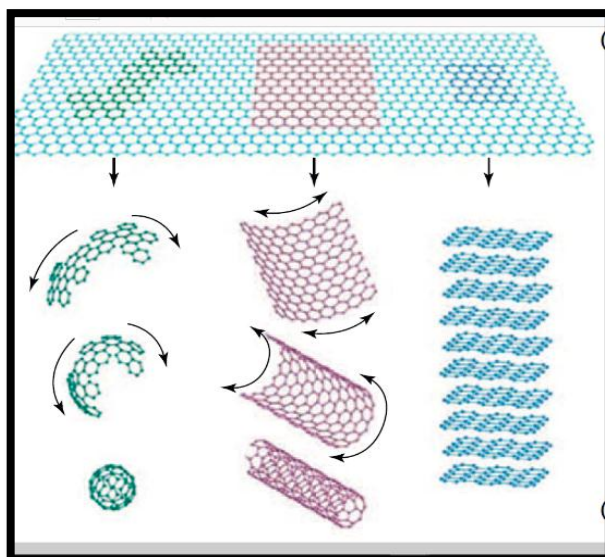


Figura 1-1: Modificaciones del Grafeno 2D, Fullerenos 0D (Verde), Nanotubos de carbono 1D (Rojo), Grafito 3D (Azul).
Fuente: (Wang et al., 2011, pp. 205-12).

La gran variedad de aplicaciones que ofrece el grafeno, han permitido la incursión de sus modificaciones y derivaciones químicas en el ámbito investigativo, tales como el óxido de grafeno (GO) y óxido de grafeno reducido (rGO). Dichas derivaciones buscan ampliar las investigaciones en especial en campos de la biomedicina y medio ambiente (Khan et al., 2015, pp. 18753-18808).

Desde el punto de vista de la biomedicina el GO representa un elemento innovador, debido a sus propiedades biocompatibles con organismos vivos, esto debido a la adición de enlaces de átomos de oxígeno con la estructura de carbono tal como se muestra en la **Figura 2-1**. El aumento de oxígeno le proporciona una propiedad hidrofílica al grafeno, lo cual lo vuelve fácil de dispersar en agua.

Debido a las distintas hibridaciones que presentan los materiales de carbono y sus derivaciones les otorgan la capacidad de formar distintos tipos de enlaces dando lugar a una gran variedad de materiales con estructuras y propiedades muy distintas (García Martínez et al., 2013).

Las distribuciones estructurales que evidencia el GO son la aromática (sp^2) y la alifática (sp^3), lo que aumenta la cantidad de interacciones que puedan ocurrir en la superficie. La relevancia de dichas distribuciones se explica en la siguiente tabla.

Tabla 1-1: Descripción de la importancia de las distribuciones estructurales del Grafeno oxidado.

Distribuciones	Características
Sp^2	Se evidencian 3 orbitales moleculares, donde cada átomo de carbono se une covalentemente a otros 3 átomos de carbono formando una red plana de tipo hexagonal.
Sp^3	Se evidencia 4 orbitales dispuestos en forma de tetraedro lo que da lugar a sólidos con estructuras tridimensionales rígidas e isotropas.

Fuente: (Georgakilas et al., 2016, pp. 5464-5519).

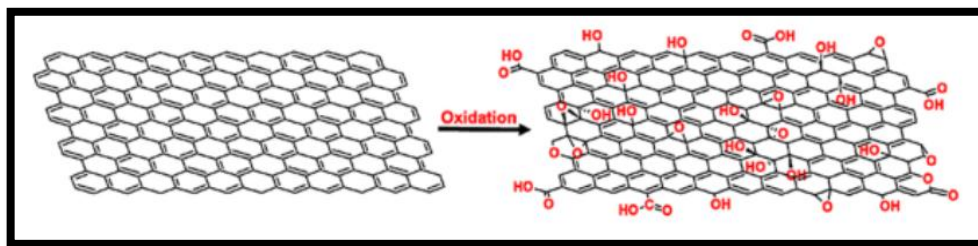


Figura 2-1: Oxidación de una lámina de grafeno para formar GO.

Fuente: (Georgakilas et al., 2016, pp. 5464-5519).

A pesar de las relevantes propiedades del GO, en la mayoría de los casos, el proceso de funcionalización es la mejor manera de obtener el más adecuado desempeño del mismo (Georgakilas et al., 2016, pp. 5464-5519).

La síntesis química del GO se ha ido modificando durante los últimos 30 años, tomando en cuenta uno de los primeros como el Método Hummers, el cual permite obtener un mayor y mejor rendimiento del producto final, el cual fue desarrollado por Hummers y Offeman en 1958 (Chen et al., 2015, pp. 826-834). Dicho método se basa en la oxidación de grafito por medio de la unión de grupos funcionales que permitan romper las interacciones moleculares (Fuerzas de Van der Waals) (Soto Lopez et al., 2012).

Las propiedades del GO obtenidas mediante el Método Hummers son las de higroscopicidad, hidrofiliidad y propiedad aislante eléctrico; esta última debido a la integración de grupos funcionales que ocasionan la pérdida de aromaticidad (pérdida de grupos hidroxilos, éteres y epóxidos en los dominios aromáticos), otorgando al GO la condición de aislante. (Soto Lopez et al., 2012).

1.3 Terapia fotodinámica

Las propiedades terapéuticas de la luz se conocen desde hace miles de años, pero fue sólo en el siglo pasado que se desarrolló la Terapia Fotodinámica (TFD). En la actualidad, la TFD está probando su uso clínico en oncología - para tratamiento de cáncer de cabeza, cuello, cerebro, pulmón, páncreas, cavidad intraperitoneal, mama, próstata y piel (Dolmans, Fukumura y Jain, 2003, pp. 380-387).

No obstante las aplicaciones de la TFD no solo abarcan diagnóstico y tratamiento de cáncer, sino que también tiene amplio uso en tratamientos de degeneración macular relacionados a la edad, enfermedades de los ojos relacionados a neo-vascularización, enfermedades cardiovasculares, dermatología (Dolmans, Fukumura y Jain, 2003, pp. 380-387).

La TFD usa la combinación de 3 componentes importantes, un fotosensibilizante (FS), una adecuada concentración de oxígeno molecular y luz para causar daño en una región específica de tejido u órgano (Brown, Brown y Walker, 2004, pp. 497-508).

La TFD aprovecha la energía de la luz para dañar y destruir un tejido u órganos específicos. El mecanismo de acción de la TFD (**Figura 5-1**) comienza con el FS en estado elemental (Ground state PS) absorbe directamente la energía de una fuente de luz (usualmente láser), y se dirige a un estado excitado ($^1PS^*$). A partir de este estado el FS puede sufrir un Cruce Entre Sistemas (ISC, por sus siglas en inglés) al estado ($^3PS^*$), para después reaccionar mediante 2 tipos de mecanismos (Brown, Brown y Walker, 2004, pp. 497-508).

El mecanismo Tipo I (Type I) involucra la generación de radicales libres y el mecanismo Tipo II (Type II) produce oxígeno singlete ($^1\text{O}_2^*$). El $^1\text{O}_2^*$ (cuyos productos son conocidos como ROSs) es el principal factor responsable del mecanismo de muerte de células cancerígenas. Esto debido a la alta reactividad que se forma dentro de la membrana celular, citoplasma u otros organelos celulares lo cual puede desencadenar reacciones peroxidativas y por ende la destrucción celular (Ferreira et al., 2016, pp. 160-171).

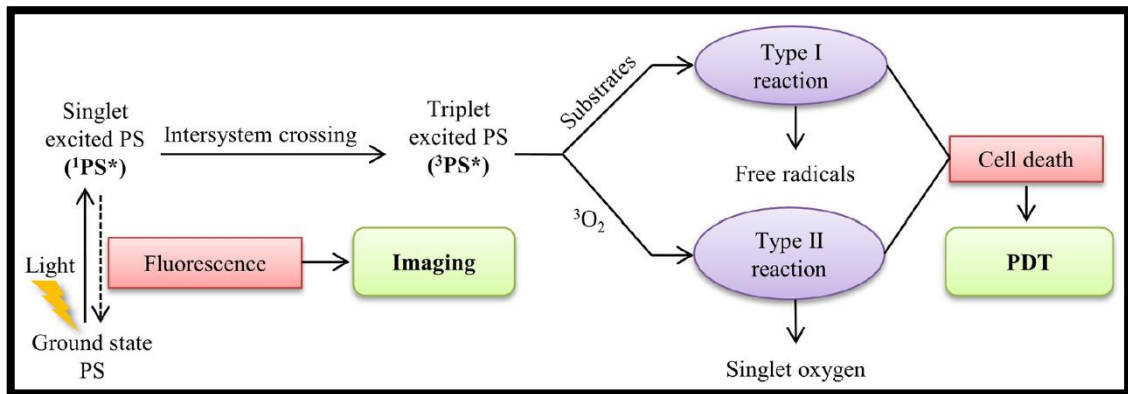


Figura 3-1: Mecanismo de acción de la TFD.

Fuente: (Lucky, Soo y Zhang, 2015, pp. 1990-2042).

1.3.1 Uso de Fotosensibilizantes en la TFD.

Los FSs presentan 3 propiedades como anfilicidad, hidrofobicidad y lipofilicidad, por lo que pueden acumularse en el tejido tumoral y purgarlo del tejido normal, en razón de obtener un éxito clínico incluyendo administración sistemática, tejido tumoral como objetivo y enlazamiento para las células tumorales respectivamente (Di y Yoshihiro, 2014, pp. 1-12).

La destrucción del tumor fotoinducida depende de varios factores tales como el tipo de FS, su concentración y la localización en el microambiente del tumor o su localización subcelular en el momento de la irradiación, el tiempo entre la administración de FS y la irradiación de luz (intervalo de luz con las drogas), la tasa de fluencia de la luz, la fluencia total, el tipo de tumor, y su nivel de oxigenación convirtiéndolos en causantes del daño irreversible a las células tumorales y la microvasculatura (Lucky, Soo y Zhang, 2015, pp. 1990-2042).

La longitud de onda de activación del FS se encuentra entre los 600-700 nm para una adecuada penetración en el tejido. La relevancia terapéutica de dicha longitud de onda posiciona a la TFD

como una técnica no invasiva debido a que longitudes de onda en el rango del visible no es peligrosa para tejidos y órganos sanos (Lucky, Soo y Zhang, 2015, pp. 1990-2042).

1.3.1.1 Clasificación de los FSs.

Debido a que no todos los FSs son considerados ideales a un determinado fármaco, se han obtenido varios de estos en razón de garantizar el mayor grado de compatibilidad. Los tipos de fotosensibilizantes se clasifican en tres grupos importantes, estos son los fotosensibilizantes de primera, segunda y tercera generación, los cuales basan sus estructuras y composición en compuestos llamados porfirinas. Éstas influyen en la citotoxicidad, respuesta inflamatoria e inmune y control tumoral en general (Yeh, 2015).

Tabla 2-1: Fotosensibilizantes de acuerdo a la generación que pertenecen (Yeh, 2015).

Tipo de FSs	Características
1ra Generación	Fotosensibilizantes basados en Porphirinas. (Figura 3-1.)
2da Generación	Porfirinoides, los cuales comprenden porfirinas, clorinas, bacterioclorinas, ftalocianinas, fenoforos, bacteriofenoforos y texafirinas (Figura 3-1, Figura 4-1.) Porfirinoides compuestos como antraquinonas, fenotiazinas, xantinas, cianinas, y curcuminoides (Figura 5-1)
3ra Generación	<ul style="list-style-type: none"> • Mayor Longitud de onda. • Mayor especificidad del tumor. • Uso de péptidos-antibióticos-antisensores conjugados. • Conjugación química/encapsulación. • Mejoramiento de transporte de fármaco. • Mejoramiento de targeting “in vitro”, incluso “in vivo”.

Fuente: (Lucky, Soo y Zhang, 2015, pp. 1990-2042).

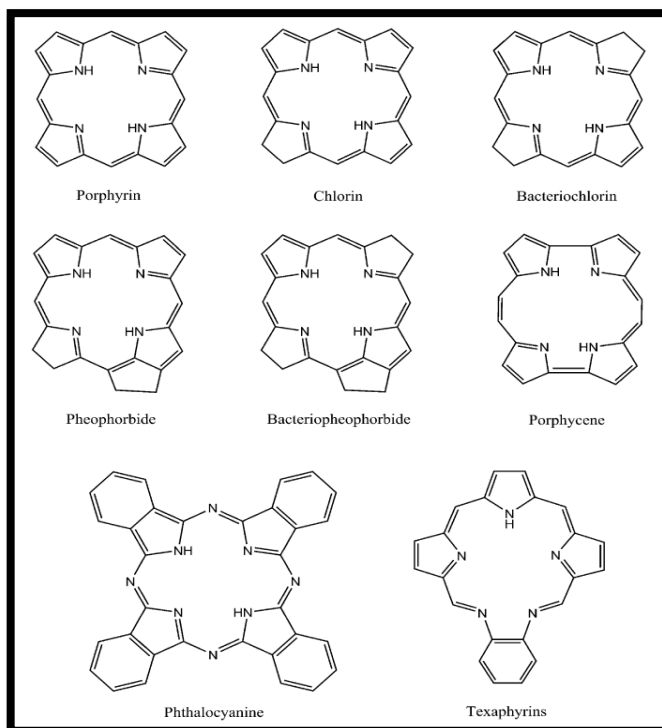


Figura 4-1: FSs con estructuras basadas en porfirinas.

Fuente: (Lucky, Soo y Zhang, 2015, pp. 1990-2042).

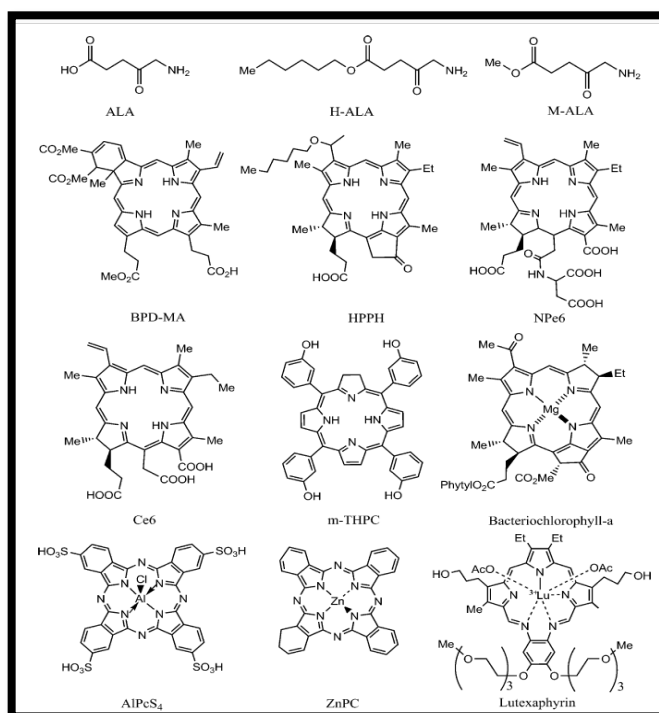


Figura 5-1: Estructura química de FSs de 2da generación.

Fuente: (Lucky, Soo y Zhang, 2015, pp. 1990-2042).

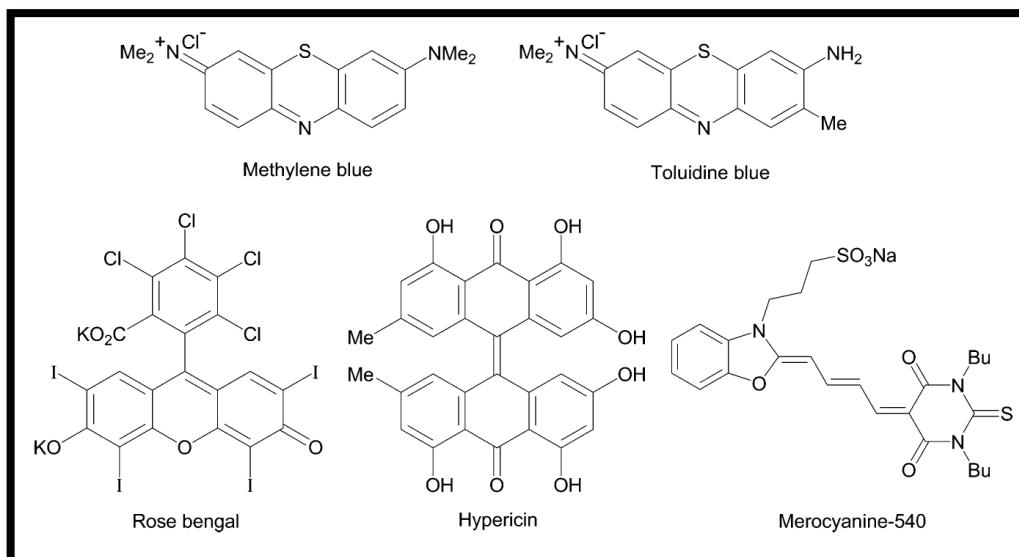


Figura 6-1: Estructura de FSs de 2da generación de algunas no-porfirinas.

Fuente: (Lucky, Soo y Zhang, 2015, pp. 1990-2042).

1.3.1.2 Fotosensibilizante Mentil-ZnPc

Algunos tipos de FSs ftalocianinas o basados en porfirinas han sido desarrollados para TFD. La estructura del Ftalocianina de Zinc con sustituyentes periféricos de Mentil (Mentil-ZnPc, **Figura -1**) lo convierte en uno de los FS más prometedores en el campo fototerapéutico en el dominio de absorción óptica de los 600-800 nm en comparación con otras ftalocianinas y porfirinas (Romero et al., 2013, pp. 22-29).

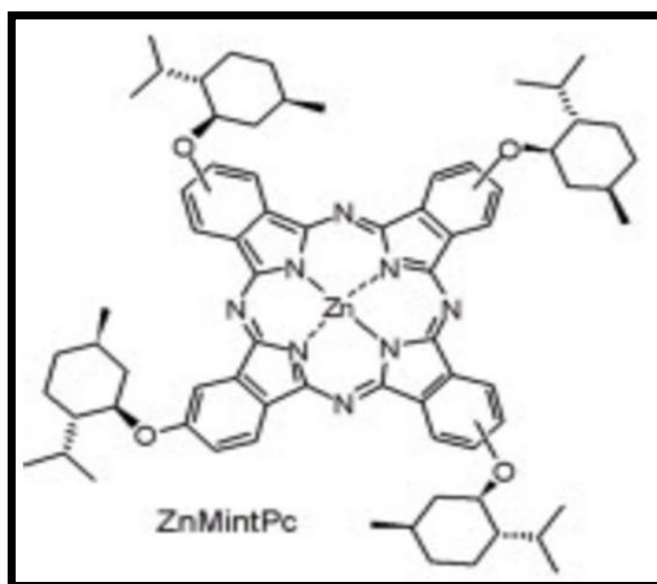


Figura 7-1: Estructura química del FS Mentil-ZnPc.

Fuente: (Romero et al., 2013, pp. 22-29)

Dicho FS presenta ciertos inconvenientes como su alta hidrofobicidad y alta posibilidad de auto-agregación en soluciones acuosas, lo cual conlleva a un decremento en la eficiencia de la fotosensibilidad, pobre biodisponibilidad y una desfavorable biodistribución en el tejido (Romero et al., 2013, pp. 22-29).

Este tipo de FS presenta alta solubilidad en solventes como la acetona, etanoato de etilo (EtOAc), hexano, dietiléter, diclorometano y DMF. El espectro de absorción (UV-Vis) del Mentil ZnPc en DMF presenta un espectro característico de las Ftalocianinas monoméricas con un pico intenso en una longitud de onda de 684 nm y una concentración de DMF proporcional a la intensidad de absorbancia (Ley de Beer-Lambert). No obstante, el espectro en EtOAc presenta una banda extra de picos a los 722 nm con un pico intenso en 680 nm, en la cual no se cumple con la Ley de Beer- Lambert (Romero et al., 2013, pp. 22-29).

1.4 Sistemas de Nano-Transporte de fármaco

El nano-transporte de fármaco puede realizarse por varios métodos acorde al tipo de material que se involucre. Además pueden prevenir la liberación prematura de FS, el potencial de inactivación del fármaco, la acumulación no-específica en tejido sano y reducción de fotosensibilidad característica (Lucky, Soo y Zhang, 2015, pp. 1990-2042).

1.4.1. Sistemas de nano-transporte lipídico.

Los lípidos como aceite de triglicéridos, glicéridos parciales surfactantes y co-surfactantes permiten una dispersión natural del nanocompuesto (Pouton, 2000, pp. S93-S98). Los estudios con lípidos como sistemas de transporte de fármaco datan de los años 80, sin embargo la literatura acerca de su mecanismo de acción, optimización y desempeño del mismo fue y ha sido superada por otros métodos como los polímeros e hidrogeles.

Craig et al. (2000) y Gershanik y Benita (2000) formularon estrategias de auto-emulsificación, obteniendo un amplio rango de propiedades, utilizando desde triglicéridos puros hasta mezclas de surfactantes hidrofílicos y solventes solubles en agua en general (Pouton, 2000, pp. S93-S98).

Huang et al. (2016) utilizaron NPFes junto con Polietilenglicol (PEG), polietilenimina (PEI) y Tween 80, surfactante hidrofílico, con propósitos de formar un nanocompuesto como agente

teranóstico enfocado a la barrera sanguínea del cerebro (BBB, por sus siglas en inglés), obteniendo el paso efectivo del nanocompuesto a través de venas inyectadas con dirección de BBB normal de ratas bajo un campo magnético externo (Huang et al., 2016, pp. 11336-11341).

1.4.2 Sistemas de nano-transporte polimérico.

- Termosensitivos

Se evidencia sistemas a base de polímeros termosensitivos, quienes han sido los mayormente estudiados de su categoría (polímeros sensibles a un estímulo).

La hipertermia ha sido usada como un auxiliar terapéutico para uso clínico por décadas combinando la radioterapia y quimioterapia en el diagnóstico y tratamiento de tumores cancerígenos sólidos como se evidencia en trabajos realizados por Field & Bleehen (1979); Law (1982); Urano et al., (1999); Coffey et al. (2006) (Ma y Tian, 2014, pp. 1971-1981). De igual manera la aplicación de hipertermia utilizando nanopartículas de óxido de hierro (IONPs) a través de un campo electromagnético alterno ha sido ampliamente estudiada. Wang et al. Estudiaron una combinación de IONPs y Pluronic F-127 (PF 127), un Polímero termosensible con propiedades de gelificación dependientes de la concentración, para el tratamiento del cáncer, lo que sugiere que el tratamiento combinado permitiría efectos a corto plazo, específicos de tumores e hipertermicos (Taghizadeh et al., 2015, pp. 145-155).

Gil & Hudson (2004), utilizaron NPFes como nano vehículo y a la temperatura como desencadenador de la liberación de fármaco en sitios tumorales, posterior a su transporte intravenoso (Taghizadeh et al., 2015, pp. 145-155).

Pradhan et al. (2010). Comprobaron que desencadenando la liberación de fármaco (MagFolDox, anticancerígeno) y la inducción de hipertermia (a 42.5 °C y 43.5 °C) por un campo magnético externo causan una sinergia positiva en contra de tumores cancerígenos (Taghizadeh et al., 2015, pp. 145-155).

Meenach et al. (2013), recientemente investigaron en células tumorales *in vitro* (de mama, glioblastoma y adenocarcinoma pulmonar) las propiedades del nanocompuesto a base de Polietilenglicol (PEG)- Óxidos de hierro y el uso de la hipertermia para transportar paclitaxel (fármaco alcaloide vegetal anticanceroso), obteniendo una respuesta citotóxica efectiva contra

dichas células al liberar el paclitaxel en sitios específicos tumorales (Taghizadeh et al., 2015, pp. 145-155).

- Polímeros sensibles al pH.

El trabajo considerado relevante en este ámbito está basado en el polímeros catiónico Polietilenimina (PEI, por sus siglas en inglés). Trabajo realizado por Fleige et al. (2012), quienes diferenciaron tejido normal del tumoral debido a una disminución de pH extracelular, debido a la razón glicólisis aeróbica y anaeróbica en células cancerígenas, obteniendo un transporte y liberación de fármaco sensible a pH, orientado al tumor (Ma y Tian, 2014, pp. 1971-1981).

- Polímeros sensibles a enzimas.

Trabajos importantes datan del año 1995 en adelante. Desale et al. (2013), utilizaron dos fármacos anticancerígenos (PTX y DDP) basados en el polímero (PEG-PGlu-PPhe), el cual fue degradado mediante la catepsina B obteniendo una sinergia citotóxica y aumento considerable de propiedades de transporte y liberación del fármaco (Ma y Tian, 2014, pp. 1971-1981).

- Polímeros sensibles a Ultrasonido.

El ultrasonido sirve como herramienta no-invasiva terapéutica para inducir hipertermia contra tumores que no se encuentren cerca de tejidos sanos críticos, así también como transporte de fármaco hacia tumores cancerígenos que se encuentren o no cerca de tejido u órganos sanos (Taghizadeh et al., 2015, pp. 145-155).

Ranjan et al. (2012), usaron una combinación de nanotransportadores (termo-sensibles) y ultrasonido enfocado en altas intensidades (HIFU, por sus siglas en inglés), lo cual permitió desencadenar el transporte y liberación de fármaco debido a un incremento de la temperatura. El estudio involucró el fármaco anticancerígeno conocido como Doxorubicin (DOX) encapsulado por liposomas sensibles a bajas temperaturas (LTSLs, por sus siglas en inglés), completando el nanocompósito de nanopartículas magnéticas de hierro. Esto resultó en una gran acumulación del fármaco DOX en un tumor modelo experimental comparado con otros controles no-irradiados. Experimentos similares fueron detallados posteriormente por Villa et al. (2013), y Yin et al. (2013) (Taghizadeh et al., 2015, pp. 145-155).

- Polímeros sensibles a Campos magnéticos externos.

Los estudios de nano-transporte de fármaco en TFD involucran directamente al uso de propiedades superparamagnéticas que evidencian las NPFes y esto a su vez a campos magnéticos permanentes externos quienes inducen la orientación de dichas NPFes para transportar y ayudar a la liberación de fármaco en un sitio localizado tumoral, tanto tejido como órgano. Las propiedades físicas y químicas que evidencia esta sinergia entre componentes del nanocompósito promueve el estudio en células *in vitro* e *in vivo* (Mura, Nicolas y Couvreur, 2013, pp. 991-1003).

Ta et al. (2010), evidenció el mejoramiento de desencadenamiento de liberación de fármaco mediante el uso de campos magnéticos externos en relación al de polímeros sensibles a pH. (Mura, Nicolas y Couvreur, 2013, pp. 991-1003).

Tales características evidencian una eficaz focalización y profunda penetración hacia el área de tejido deseada con la suficiente fuerza como para asegurar el alojamiento adecuado del nanocompósito en tejido tumoral, lo cual permitirá obtener resultados más eficaces al irradiar dicho nanocompósito con una longitud de onda específico y causar la liberación del fármaco determinado, con fin de controlar o eliminar el tejido tumoral cancerígeno.

1.4.3 Sistemas de nano-transporte a base de Hidrogeles.

La compensación existente entre la parte considerable hidrofóbica y la parte hidrofílica proporcionada por hidrogeles, tales como poli-vinil alcohol, poli etilenglicol, isopropilcrlamida, sirve para poder disolver, atrapar, encapsular o añadir el fármaco al nanocompósito dependiendo del método de preparación del mismo. (Hamidi, Azadi y Rafiei, 2008, pp. 1638-1649).

Los Hidrogeles en sinergia con NPFes le proveen al nanocompósito de propiedades como hidrofiliidad, flexibilidad, versatilidad, alta absorividad de agua, una alta e importante biocompatibilidad, larga vida en circulación y la posibilidad de ser activados, inactivados u orientados por campos magnéticos externos hacia sitios tumorales (Hamidi, Azadi y Rafiei, 2008, pp. 1638-1649).

1.5 *Hidrogel VCLPEGDA*

En años recientes se ha prestado mucha atención a las partículas coloidales reticuladas sensibles a condiciones ambientales como temperatura, fuerzas iónicas, campos magnéticos, biomoléculas, o pH, entre otras (Aguirre et al., 2014, pp. 4569).

Los nanogel poseen propiedad tales como hincharse rápidamente en un solvente termodinámico, tamaño reducido y estructura porosa que les permite superar las barreras biológicas así como contener pequeñas moléculas y liberarlas al modificar su volumen variando ciertas condiciones físicas iniciales por lo que les hace adecuados para ser usados como nanovehículo en el transporte de fármaco (Pikabea, Ramos y Forcada, 2014, pp. 101-109).

El Vinil Caprolactama Polietilenglicol Diacrilato (VCLPEGDA) es un hidrogel y nanogel considerado biológicamente inerte y biocompatible (Aguirre et al., 2014, pp. 4569). Dicho nanogel sirve como andamio emergente para la ingeniería de tejidos y medicina regenerativa ya que la polimerización puede ocurrir rápidamente a temperatura ambiente y requiere muy poca energía ya que posee alto contenido de agua, elasticidad, y se puede modificar para acoplarlo a una amplia variedad de moléculas biológicas (Di y Yoshihiro, 2014, pp. 1-12).

La síntesis del Vinil Caprolactama Polietilenglicol Diacrilato (VCLPEGDA), Poli (2-(dietilamino) Etil) metacrilato (PDEAEMA) o Polivinil Caprolactama (PVCL) se realiza mediante la polimerización de una emulsión en un reactor continuo utilizando un iniciador catiónico y Etilenglicol Dimetacrilato (EGDMA) como reticulante, de manera de obtener monómeros catiónicos en un sistema catiónico, es decir, un mejoramiento de la estabilidad. Además la polimerización carece de surfactantes, ya que estos son potencialmente tóxicos en los organismos e impiden las reacciones de las membranas biológicas. (Pikabea, Ramos y Forcada, 2014, pp. 101-109).

El VCLPEGDA posee un 95% de acrilato, es decir, el nanogel puede ser curado mediante la presencia de una fuente de luz (**Figura 8-1**) y así la generación de especies reactivas permitiendo la liberación de un foto-iniciador (o fotosensibilizante, FS) (Aguirre et al., 2014, pp. 4569). Además que se puede obtener un efecto sinérgico con elemento nanoparticulado magnético lo cual promueve a una separación electrónica efectiva y por lo tanto el nanocompósito formado es más hidrofílico después de la exposición a la fuente de luz (Li et al., 2017, pp. 00914037.2016.1276063; Jafarzadeh et al., 2016, pp. 154-162).

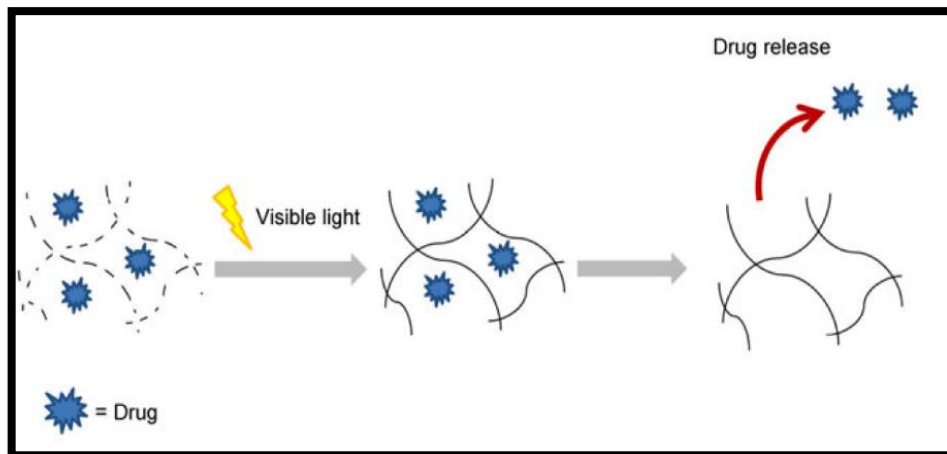


Figura 8-1: Esquema de transporte de fármaco en presencia de Luz-visible.

Fuente: (Di y Yoshihiro, 2014, pp. 1-12)

CAPÍTULO II

2. METODOLOGÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

El presente trabajo de titulación fue desarrollado bajo un método experimental investigativo. Dicho método fue realizado bajo 4 parámetros importantes:

- Obtención del nanocompósito GO-NPFes.
- Caracterización del nanocompósito GO-NPFes.
- Síntesis de Diacrilato De Poli Etilenglicol- Vinilcaprolactama (VCLPEGDA)
- Funcionalización de GO-NPFes con el fotosensibilizante Mentil ZnPC en presencia del Gel VCLPEGDA y obtención del nanocompósito GO-NPFes-VCLPEGDA-Mentil ZnPc.
- Caracterización del nanocompósito GO-NPFes-VCLPEGDA-Mentil ZnPc.

2.1 Obtención del nanocompósito GO-NPFes.

Se utilizó un método químico de co-precipitación para la síntesis de 450 mg de Sulfato de Hierro III $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ (**A**), 225 mg de Sulfato de Hierro II FeSO_4 (**B**) y 5.3 mg de GO (Nazari et al., 2014, pp. 99).

Se formó una solución acuosa con las cantidades de hierro y GO antes mencionadas en 18 mL de agua destilada, añadiéndole además un 5% (0.9 mL) de Tween 80 en la solución, para su posterior agitación térmica (50 °C) y magnética (200 rpm) durante 3 horas (del Rio Clar, 2013).

Al cabo de dicho proceso, se vertió dicha solución de manera dosificada (1 gota/segundo) en un Erlenmeyer de base redonda que contenía 150 mL de base de Hidróxido de Amonio (**C**). Dicho proceso se llevó a cabo en presencia de un ambiente cerrado de Nitrógeno líquido durante 3 minutos (**D**) (del Rio Clar, 2013).

La nueva solución se agitó magnéticamente durante 4 horas, para su posterior purificación magnética mediante el uso de un imán de Neodimio de fuerte campo magnético. Este proceso se repitió 5 veces: 4 lavando la muestra con agua destilada y 1 final con etanol.

La muestra obtenida fue colocada en una caja Petri y secada en una estufa a 60 °C durante 4 horas, de manera de obtener el nanocompósito GO-NPFes (70 mg) (**E**).

2.2 Caracterización del nanocompósito GO-NPFes.

El nanocompósito GO-NPFes fue caracterizado tomando 0.5 mg del mismo para cada uno de los 3 métodos usados, los cuales fueron (Brown, Brown y Walker, 2004, pp. 497-508):

- Caracterización Raman: Se tomó espectros correspondientes al GO puro y Nanocompósito GO-NPFes.
- Caracterización FTIR (**F**): Nanocompósito GO-NPFes.
- Caracterización AFM (**G**): Precipitado del nanocompósito GO-NPFes, (muestra preparada en 1 mL de agua destilada).

2.3 Síntesis De Diacrilato De Polietilenglicol- Vinilcaprolactama

Para la obtención del nanogel VCLPEGDA se dispersó 235 mL de Agua destilada, 0.08g de emulsificante SDS, 2g de N-Vinilcaprolactama (VCL), 0.08g de Diacrilato de Polietilenglicol (PEGDA) Y 0.08 de NaHCO₃ (Díaz, D. 2015).

Posteriormente lentamente se coloca la solución anterior en el reactor, con corriente de Nitrógeno constante y con agitación a 200rpm. Se calienta a una temperatura de 70°C durante una hora.

Se añade a la solución el iniciador (0.03g de Persulfato de Amonio disuelto en 15 mL de Agua destilada). Dicha solución es mantenida 70°C durante 6 horas (Díaz, D. 2015).

Posteriormente se deja enfriar bajo agitación a 25°C para evitar agregación para finalmente realizar un filtrado del nanogel (Díaz, D. 2015).

2.4 Funcionalización de GO-NPFes con el fotosensibilizante Mentil ZnPC en presencia del gel VCLPEGDA y obtención del nanocompósito GO-NPFes-VCLPEGDA-Mentil ZnPc

Se colocó 1 mg de GO-NPFes en 10 mL de gel VCLPEGDA, para su posterior sonicación durante 3 horas, de manera de dispersar el nanocompósito GO-NPFes-VCLPEGDA (Romero et al., 2013, pp. 22-29).

Durante el proceso mencionado, se preparó 2 soluciones STOCK (Mentil ZnPc-DMF):

- **STOCK 1 ([Mentil ZnPC]=1 mM):** En un eppendorf de 2 mL se colocó 1.195 mg de Mentil ZnPc en 1 mL de DMF.
- **STOCK 2 ([Mentil ZnPC]=0.25 mM):** En un tubo de ensayo de 5mL se extrajo 0.25 mL de STOCK 1 para colocarlos en 1 mL de DMF.

Ambas soluciones fueron cubiertas con papel aluminio en su totalidad para evitar contacto con la luz natural o artificial, y se las sometió a sonicación por 4 horas una después de la otra (**H**). Finalizado dichos procesos, se colocó inmediatamente 0.333 mL de STOCK 2 en los 10 mL del nanocompósito GO-NPFes-VCLPEGDA y se sonicó durante 4 horas más. De esta manera se obtuvo el nanocompósito GO-NPFes-VCLPEGDA-Mentil ZnPc, el cual fue también envuelto en papel aluminio (**I**).

2.5 Caracterización del nanocompósito GO-NPFes-VCLPEGDA-Mentil ZnPc.

Se utilizó los equipos FTIR y UV/Vis para la caracterización del nanocompósito GO-NPFes-VCLPEGDA-Mentil ZnPc (Romero et al., 2013, pp. 22-29).

- **Caracterización FTIR:** Se analizó una gota de 20 μ L.
- **Caracterización UV/Vis:** Utilizando suero fisiológico como blanco y una celda de cuarzo (**J**).

Se consideró la siguiente ecuación:

$$C_c * V_c = C_d * V_d, \quad (3)$$

C_c (μM): Concentración inicial.

V_c (μL): Volumen inicial.

C_d (μM): Concentración diluida.

V_d (μL): Volumen diluido.

De manera de poder determinar el valor de C_d del GO, se tomó en cuenta que $C_c = 1\text{ mg}/10\text{ mL} \approx 8.375$ (μM), $V_c = (20-120)$ μL y $V_d = 3000$ μL (blanco).

De manera de poder determinar el valor de C_d del Mentil ZnPc, se tomó en cuenta que $C_c = 1$ (μM), $V_c = (20-120)$ μL y $V_d = 3000$ μL (blanco).

Para así poder determinar el valor de la C_d total de todo el nanocompósito C_d del GO + C_d del Mentil ZnPc (Romero et al., 2013, pp. 22-29).

La caracterización se la realizó en 2 procesos:

- **Titulación del nanocompósito GO-NPFes-VCLPEGDA-Mentil ZnPc.**

Este proceso se realizó para 4 compósitos y sus respectivos blancos (Romero et al., 2013, pp. 22-29):

- ❖ **Mentil ZnPc, en DMF.**
- ❖ **VCLPEGDA-Mentil ZnPc, en suero fisiológico.**
- ❖ **GO-NPFes-VCLPEGDA, en suero fisiológico.**
- ❖ **GO-NPFes-VCLPEGDA-Mentil ZnPc, en suero fisiológico.**

En 3ml de blanco se colocó alícuotas de 20 μL hasta obtener 120 μL , como se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 1-2: Contenido de las muestras VCLPEGDA-Mentil ZnPc, en suero fisiológico.

Muestra 1	0.0279 μM del “nanocompósito” en 3ml de blanco
Muestra 2	0.0558 μM del “nanocompósito” en 3ml de blanco
Muestra 3	0.0838 μM del “nanocompósito” en 3ml de blanco
Muestra 4	0.1117 μM del “nanocompósito” en 3ml de blanco
Muestra 5	0.1396 μM del “nanocompósito” en 3ml de blanco
Muestra 6	0.1675 μM del “nanocompósito” en 3ml de blanco

Realizado por: Mario Limaico, 2017.

Tabla 2-1: Contenido de las muestras GO-NPFes-VCLPEGDA, en suero fisiológico.

Muestra 1	0.0558	μM del “nanocompósito” en 3ml de blanco
Muestra 2	0.1117	μM del “nanocompósito” en 3ml de blanco
Muestra 3	0.1675	μM del “nanocompósito” en 3ml de blanco
Muestra 4	0.2233	μM del “nanocompósito” en 3ml de blanco
Muestra 5	0.2792	μM del “nanocompósito” en 3ml de blanco
Muestra 6	0.3350	μM del “nanocompósito” en 3ml de blanco

Realizado por: Mario Limaico, 2017.

Tabla 3-2: Contenido de las muestras GO-NPFes-VCLPEGDA-Mentil ZnPc, en suero fisiológico.

Muestra 1	0.0838	μM del “nanocompósito” en 3ml de blanco
Muestra 2	0.1675	μM del “nanocompósito” en 3ml de blanco
Muestra 3	0.2513	μM del “nanocompósito” en 3ml de blanco
Muestra 4	0.3350	μM del “nanocompósito” en 3ml de blanco
Muestra 5	0.4188	μM del “nanocompósito” en 3ml de blanco
Muestra 6	0.5025	μM del “nanocompósito” en 3ml de blanco

Realizado por: Mario Limaico, 2017.

Se realizó un análisis espectroscópico de los compósitos comparando la intensidad de absorción de luz en relación a la concentración de cada alícuota entre compósitos presentes de Mentil ZnPc.

- **Estabilidad en el tiempo de la absorción del nanocompósito GO-NPFes-VCLPEGDA-Mentil ZnPc.**

Este proceso se llevó por 3 días (76 horas), con concentración del Fs y del GO constante, para el cual se realizó un análisis espectroscópico de la intensidad de absorción de luz representada en la siguiente tabla.

Tabla 4-2: Análisis de estabilidad en el tiempo de la absorción entre 2 nanocompuestos manteniendo su concentración.

Hora	Nanocompuesto GO-NPFes-Mentil ZnPc- VCLPEGDA.	Nanocompuesto Mentil ZnPc- VCLPEGDA.
24, 25, 26, 50, 76	0.2513 μM en 3ml de suero fisiológico	0.0838 μM en 3ml de suero fisiológico

Realizado por: Mario Limaico, 2017.

Nota 1: El nanocompuesto Mentil ZnPc-VCLPEGDA fue obtenido colocando 0.333 mL \approx 0.1874 μM de STOCK 2 en 10 mL de gel VCLPEGDA

Nota 2: Ambos nanocompuestos fueron analizados 1 día después de haber sido obtenidos.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Caracterización del nanocompuesto GO-NPFes.

- **Caracterización Raman:** A continuación se presenta los 2 espectros obtenidos, así como los picos característicos de cada uno.

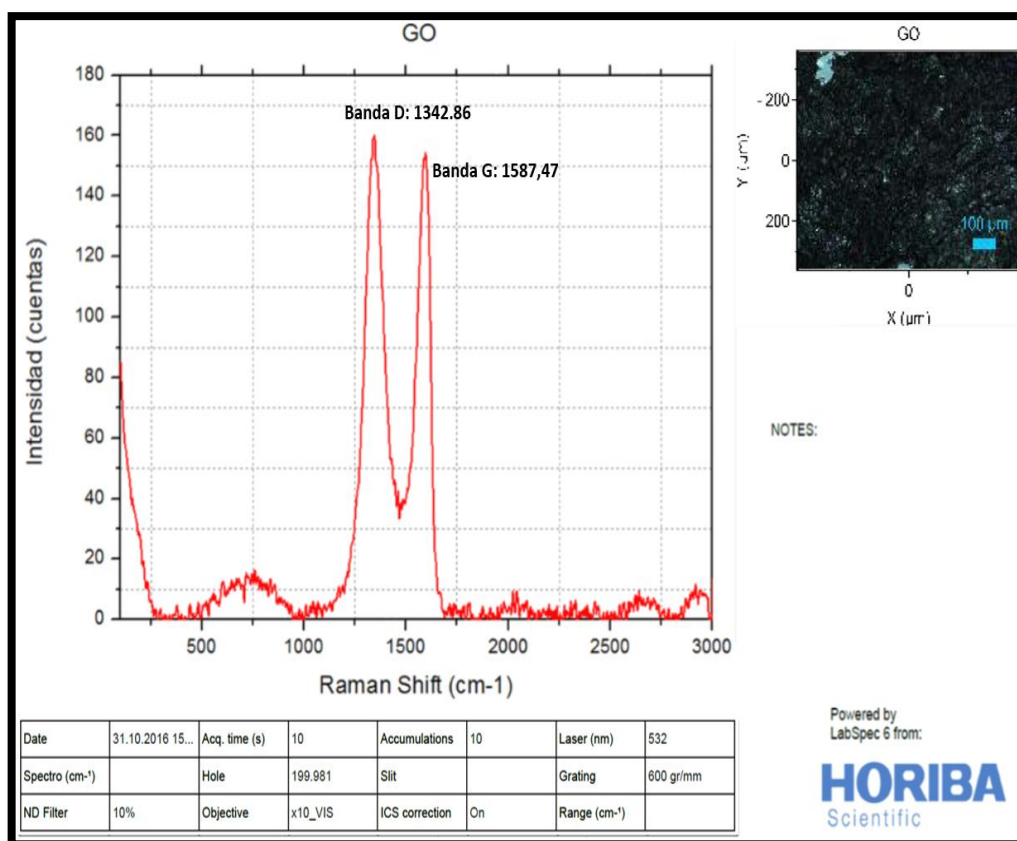


Gráfico 1-3: Muestra de Óxido de Grafeno

Realizado por: Mario Limaico Á. 2017

El **Gráfico 1-3**, presenta picos en 1342 cm^{-1} para la banda D y 1587.47 cm^{-1} para la banda G correspondientes a GO, lo cual presenta un corrimiento de 8 cm^{-1} para la banda D y 12.53 cm^{-1} hacia la izquierda en relación a los valores de 1350 y 1600 cm^{-1} respectivamente (Stankovich et al., 2007, pp. 1558-1565; Kudin et al., 2008, pp. 36-41).

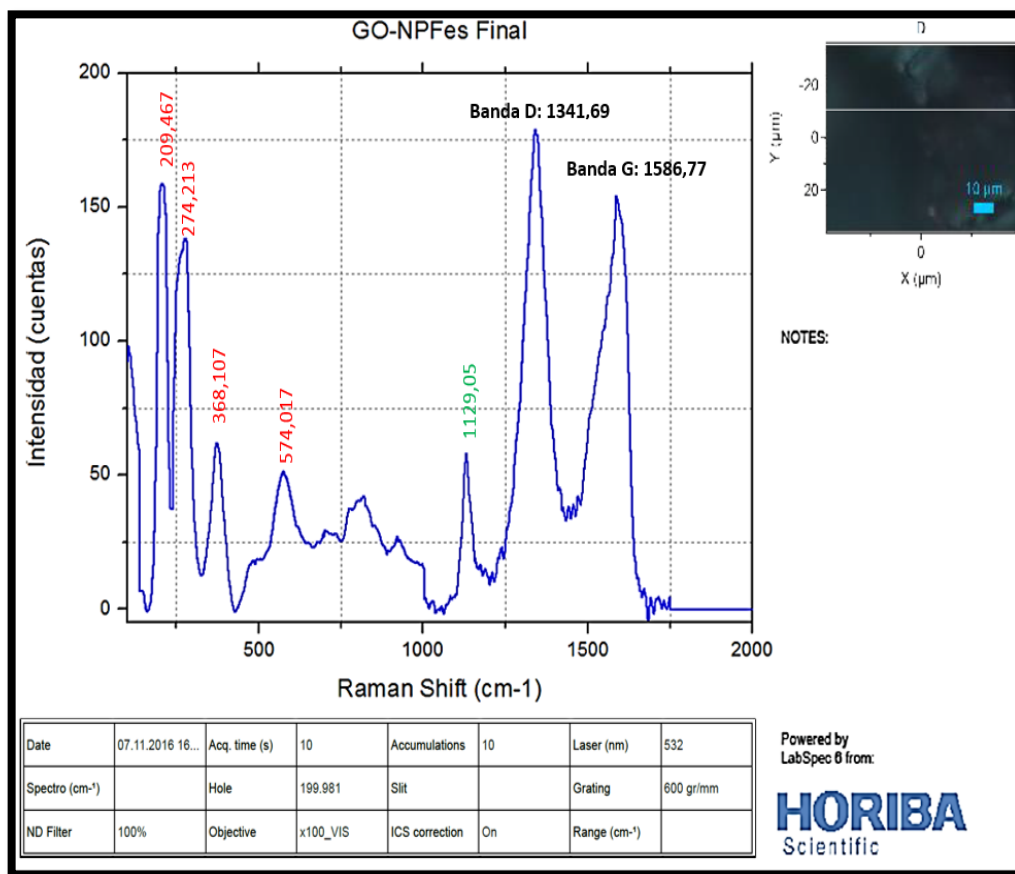


Gráfico 2-3: GO-NPFes (Final) purificados magnéticamente, pH neutro.

Realizado por: Mario Limaico Á. 2017

El **Gráfico 2-3**, presenta picos en 1341.69 para la banda D y 1586.77 cm⁻¹ para la banda G correspondientes al GO, lo cual presenta un corrimiento de 8.31 cm⁻¹ para la banda D y 13.33 cm⁻¹ hacia la izquierda en relación a los valores de 1350 y 1600 cm⁻¹ respectivamente (Iqbal et al., 2012, pp. 335301).

Se evidencian además 4 picos para la hematita en 209.467 cm⁻¹, 274.213 cm⁻¹, 368.107 cm⁻¹ y 574.017 cm⁻¹ (Chio, Sharma y Muenow, 2005, pp. 2428-2433)-(Murugappan et al., 2014, pp. 1211-1218) .

Un pico adicional se evidencia en 1129.05 cm⁻¹ correspondiente a magnetita recalentada, esto se debe al proceso de secado del nanocompósito GO-NPFes (Chio, Sharma y Muenow, 2005, pp. 2428-2433).

- **Caracterización FTIR:** Se obtuvo un espectro con 8 picos representativos.

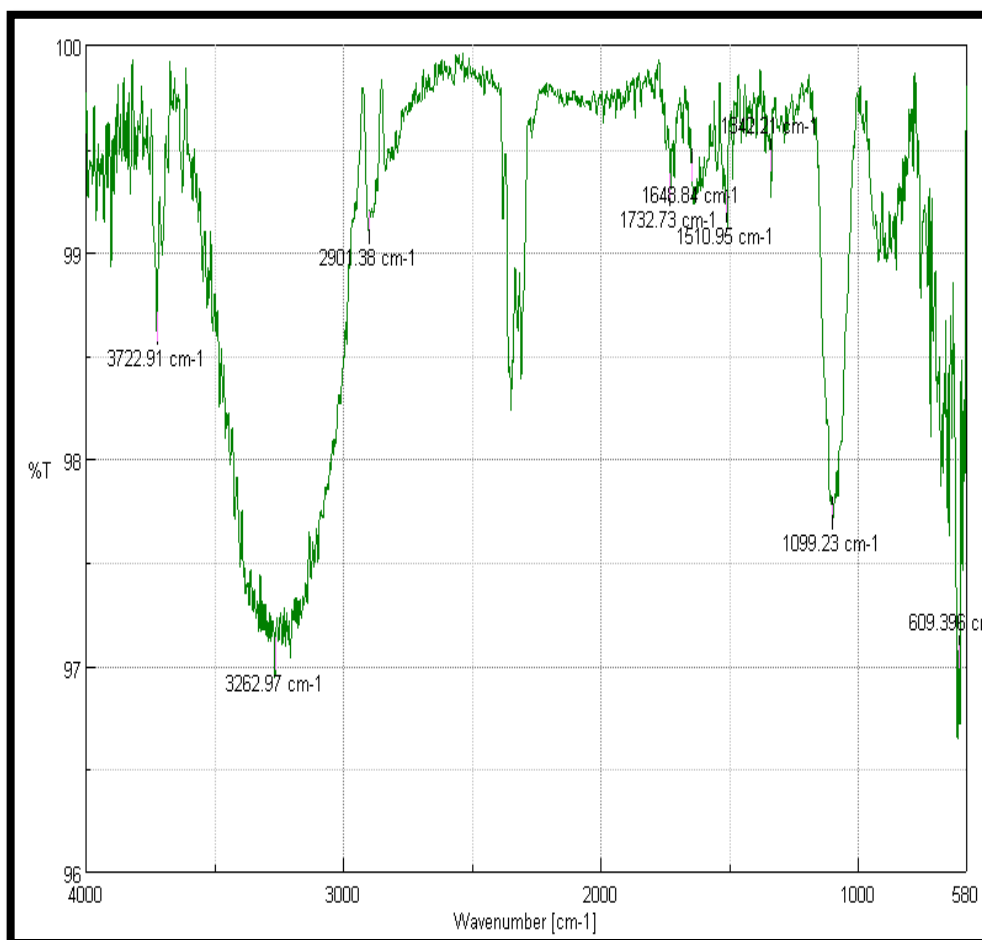


Gráfico 3-1: FTIR del Nanocompuesto de GO-NPFes.

Realizado por: Mario Limaico Á. 2017

En el **Gráfico 3-1** se presentan enlaces del GO como O-H en 3262.97 cm^{-1} , C-H en 2901.38 cm^{-1} , CO_2 en 2350 cm^{-1} , C=O en 1732.73 cm^{-1} , C=C en 1648.84 cm^{-1} y C-O en 1099.23 cm^{-1} (Sudesh et al., 2013, pp. 95008).

De igual manera se evidencian los enlaces correspondientes a la hematita como C=O carboxílico entendiéndose en 1732.73 , C=O asimétrico (extendiéndose del grupo COO) en $(1342.21-1510.95)\text{ cm}^{-1}$ y enlace Fe-O en 609.396 cm^{-1} (Oh et al., 2014, pp. 15836-15845).

- **Caracterización AFM:** Muestra de una gota de 20 μL secada a temperatura ambiente durante 1 hora.

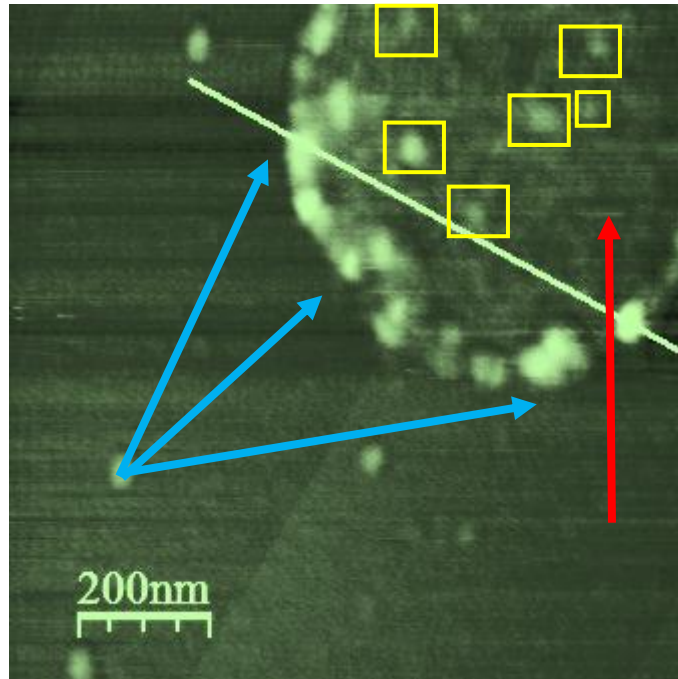


Gráfico 4-3: AFM Precipitado del nanocompósito GO-NPFes.

Realizado por: Mario Limaico Á. 2017

Tal como se presenta en la **Gráfico 4-3** se evidencia una imagen a escala de $0.2 \mu\text{m}$. Se visualizó una lámina de GO (flecha roja) de $0,1023 \mu\text{m}$ de longitud en una sección determinada de la muestra en cuya periferia (flecha azul) se encuentran acopladas varias NPFes, mientras que otras (6) se encuentran en su interior (cuadros amarillos). Imágenes AFM similares se evidencian en trabajos como el de Yang, X. et al. (2009) (Yang et al., 2009, pp. 2710).

Se destacan NPFes en la periferia y sobre la lámina de GO cuyas dimensiones de espesor promedio es de 30.105 nm , y una desviación estándar de 1.15755102 , lo cual es un error presente debido a la agregación entre NPFes y posibles impurezas. (Jabeen et al., 2011, pp. 3583).

3.2 Caracterización del nanocompósito GO-NPFes-VLCPEGDA-Mentil ZnPc.

- Caracterización FTIR: Se obtuvo 1 espectro.

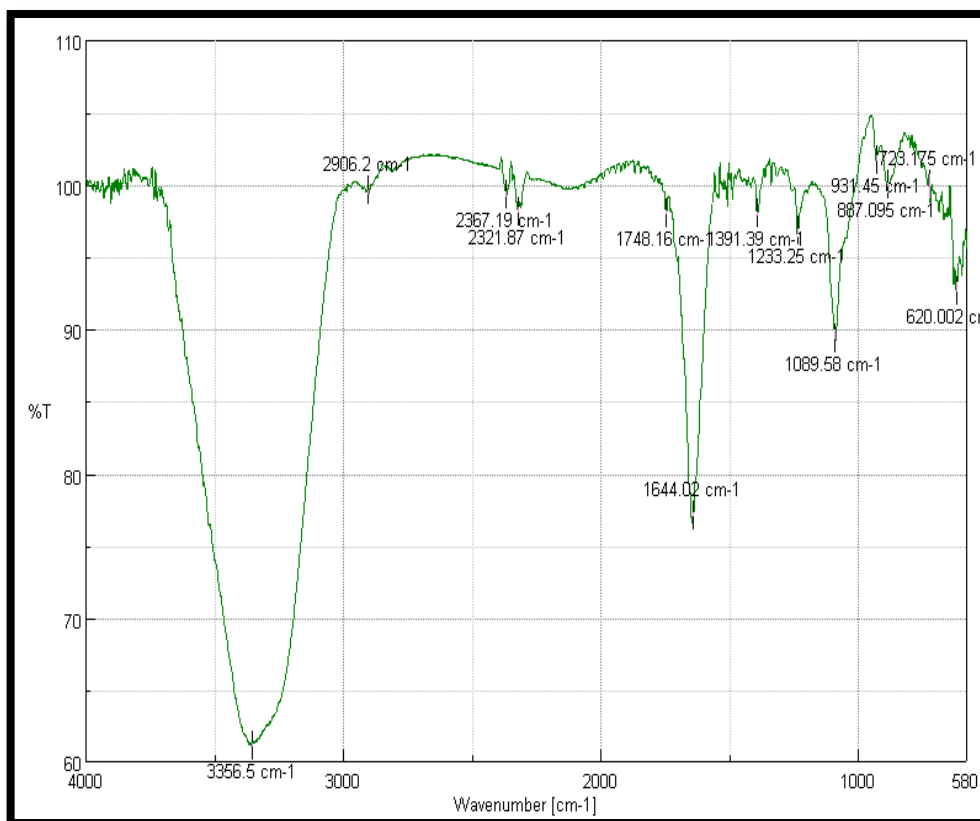


Gráfico 5-3: FTIR del Nanocompósito GO-NPFes-VCLPEGDA-Mentil ZnPc.

Realizado por: Mario Limaico Á. 2017

En el **Gráfico 5-3** se presentan enlaces del GO como O-H en 3356.5 cm^{-1} , C-H en 2906.2 cm^{-1} , CO_2 en $(2321.87\text{-}2367.19) \text{ cm}^{-1}$, C=O en 1732.73 cm^{-1} , C=C en 1644.02 cm^{-1} y C-O en 1089.58 cm^{-1} (Sudesh et al., 2013, pp. 95008).

De igual manera se evidencian los enlaces correspondientes a la hematita como C=O carboxílico entendiéndose en 1748.16 , C=O asimétrico (extendiéndose del grupo COO) en 1391.39 cm^{-1} y enlace Fe-O en 620.002 cm^{-1} (Oh et al., 2014, pp. 15836-15845).

Se evidencia además una diferencia notable en la intensidad de los picos 3356.5 cm^{-1} , $(2321.87\text{-}2367.19) \text{ cm}^{-1}$ y 1644.02 cm^{-1} , en comparación con las intensidades de sus similares en el **Gráfico 3-1**. Esto debido a que el equipo utilizado analiza de mejor manera muestras líquidas que muestras sólidas.

- **Caracterización UV/Vis:** Se realizó un estudio espectroscópico acorde a 2 procesos:

- **Titulación del nanocompósito GO-NPFes-VCLPEGDA-Mentil ZnPc.**

Se obtuvo los siguientes valores de Cd para GO, Mentil ZnPc y Total.

Tabla 1-3: Valores de concentración diluida Cd para GO, Mentil ZnPc y Total.

Vc (μL)	Cd (μM) GO	Cd (μM) Mentil ZnPc	Cd (μM) Total
20	0.0558	0.0279	0.0838
40	0.1117	0.0558	0.1675
60	0.1675	0.0838	0.2513
80	0.2233	0.1117	0.3350
100	0.2792	0.1396	0.4188
120	0.3350	0.1675	0.5025

Realizado por: Mario Limaico, 2017.

Acorde a los valores en la tabla anterior, se obtuvo 2 espectros.

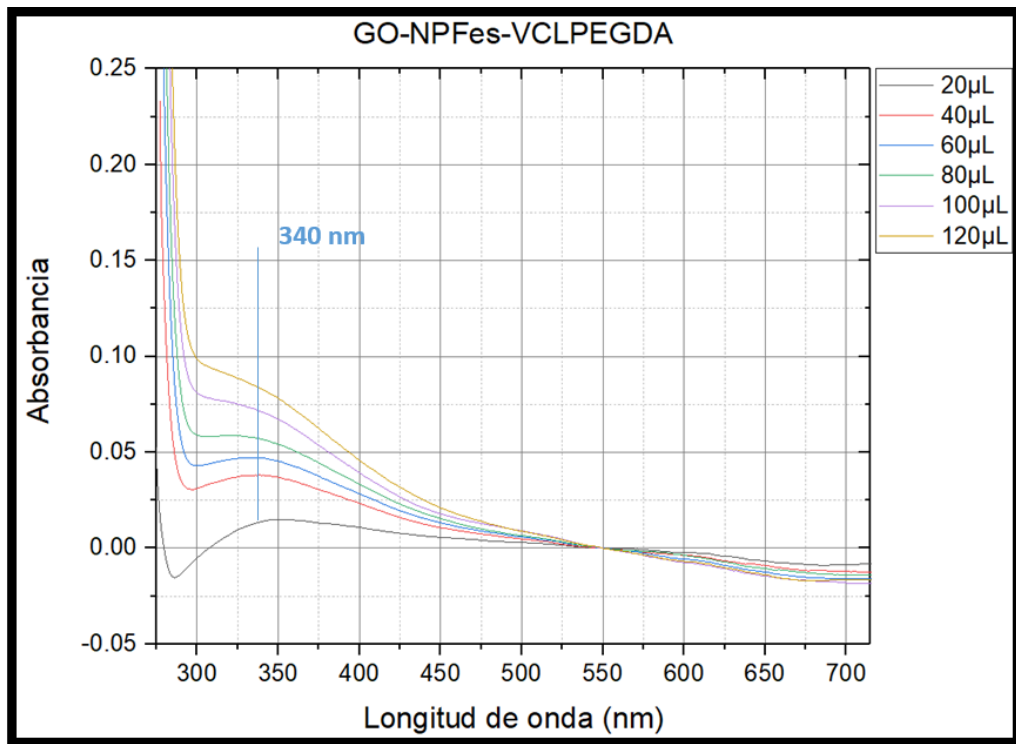


Gráfico 6-3: Saturación del nanocompósito GO-NPFes-VCLPEGDA.

Realizado por: Mario Limaico, 2017.

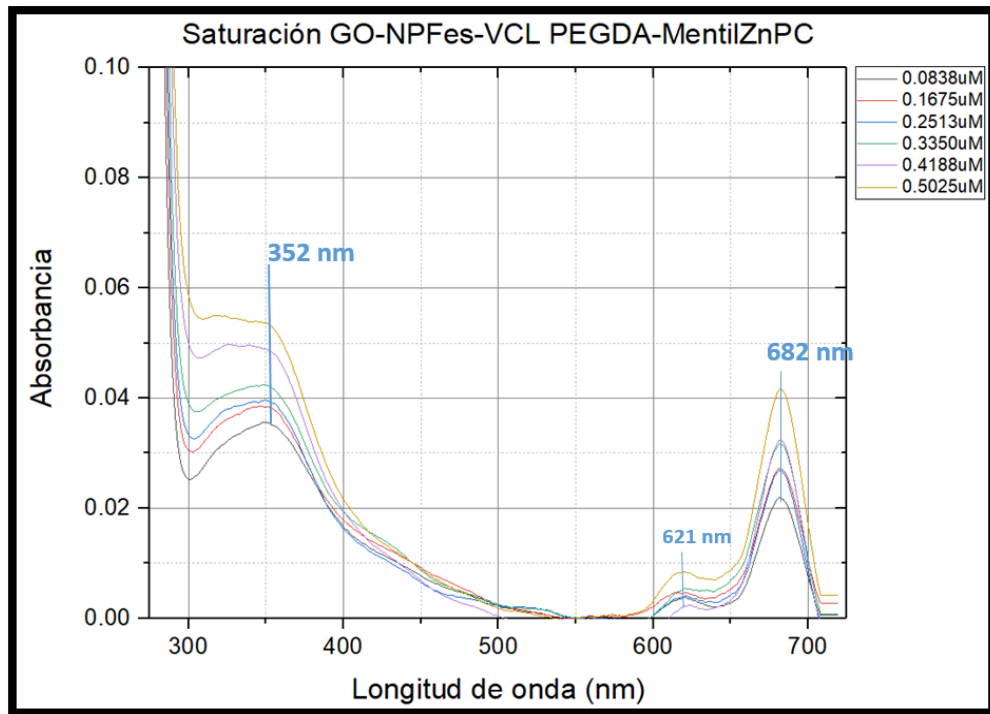


Gráfico 7-3: Saturación del nanocompuesto GO-NPFes-VCL PEGDA-MentilZnPC.

Realizado por: Mario Limaico Á. 2017

La media del pico máximo de absorbancia da un resultado de 682 nm.

En el **Gráfico 7-3** se evidencian 3 picos adicionales en 352 nm, 621 nm y 682 nm correspondientes al Mentil ZnPc (Romero et al., 2013, pp. 22-29).

Pese que a las intensidades de absorbancia (0.1185 para el pico más intenso) no coinciden con intensidades presentes el trabajo de Lai, Q. et al. (2012) (1.6 para el pico más intenso), la presencia de material nanoparticulado (GO-NPFes) es evidente (Lai et al., 2012, pp. 32146).

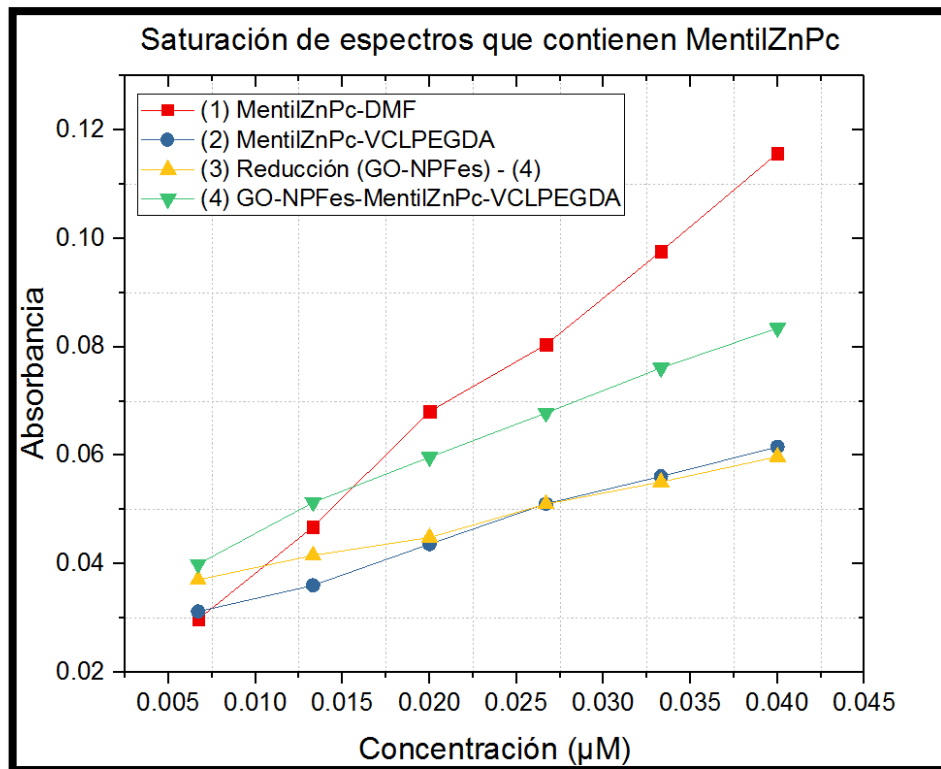


Gráfico 8-3: Comparación total entre espectros que evidencian Mentil ZnPc en las mismas concentraciones.

Realizado por: Mario Limaico Á. 2017

En el **Gráfico 8-3** se evidencia la proporcionalidad entre el incremento de concentración de material y la intensidad de absorbancia.

Los 4 espectros poseen las mismas cantidades de concentración por cada alícuota. En (4) se evidencia mejor dispersión del Mentil ZnPc, es decir, mayor absorción (presencia de monómeros del FS que conservan propiedades ópticas) en comparación con (2) (Romero et al., 2013, pp. 22-29).

En (2) se evidencia dispersión del Mentil ZnPc, sin embargo permite agregación entre moléculas del FS lo que disminuye su absorbancia. En comparación con (1), en (4) existe mejor dispersión tornándolo eficiente vehículo para llevar al PS a un blanco específico y óptimo candidato para la TFD, por lo que puede ser aplicado a futuro, posterior a pruebas *In Vitro* e *In Vivo* (Romero et al., 2013, pp. 22-29).

En (3) se hace referencia a la reducción entre el espectro representado en el **Gráfico 7-** (4) y del espectro correspondiente al nanocompuesto GO-NPFes-VCLPEGDA. Es debido a esta sustracción que el espectro resultante presenta similitudes en intensidad de absorbancia y

concentración con el espectro correspondiente al compuesto VCLPEGDA-Mentil ZnPc lo cual refiere a una dispersión de FS similar a (2), ya que el nanocompuesto pierde las propiedades del GO y de las NPFes.

- **Estabilidad en el tiempo de la absorción del nanocompuesto GO-NPFes-VCLPEGDA-Mentil ZnPc.**

Se obtuvo 4 espectros que presentan los picos representativos y los diagramas de evolución en el tiempo.

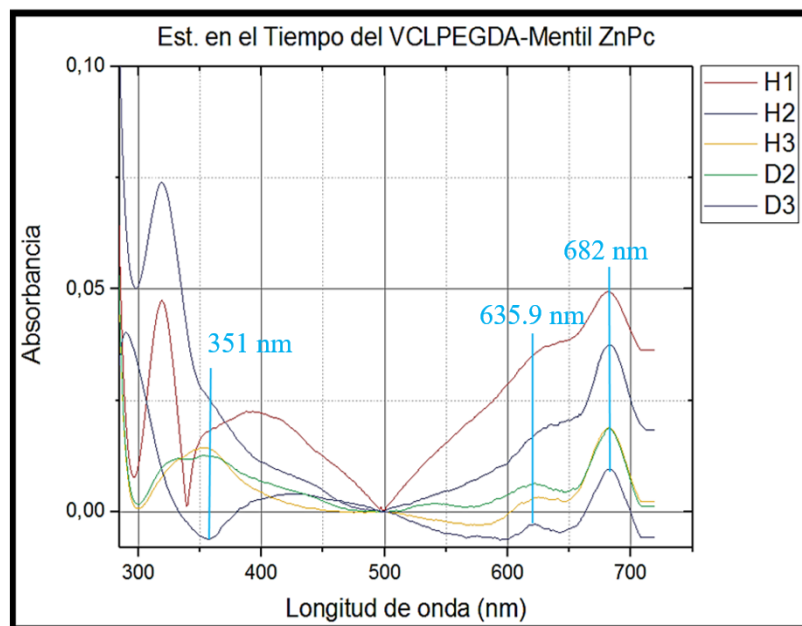


Gráfico 9-3: VCLPEGDA-Mentil ZnPc.

Realizado por: Mario Limaico Á. 2017

En el **Gráfico 9-3**, correspondiente al compuesto VCLPEGDA-Mentil ZnPc, evidencia un desfase de los picos para H1 y H2, los cuales se sitúan en 330 nm, en relación a los 351 nm característicos del primer pico del Mentil ZnPc. Dicho desfase se adjudica a algún tipo de impureza en la celda de cuarzo donde se colocó la muestra. Sin embargo en los picos 635.9 nm y 682 nm se detalla la pérdida de intensidad de absorbancia desde H1-D3.

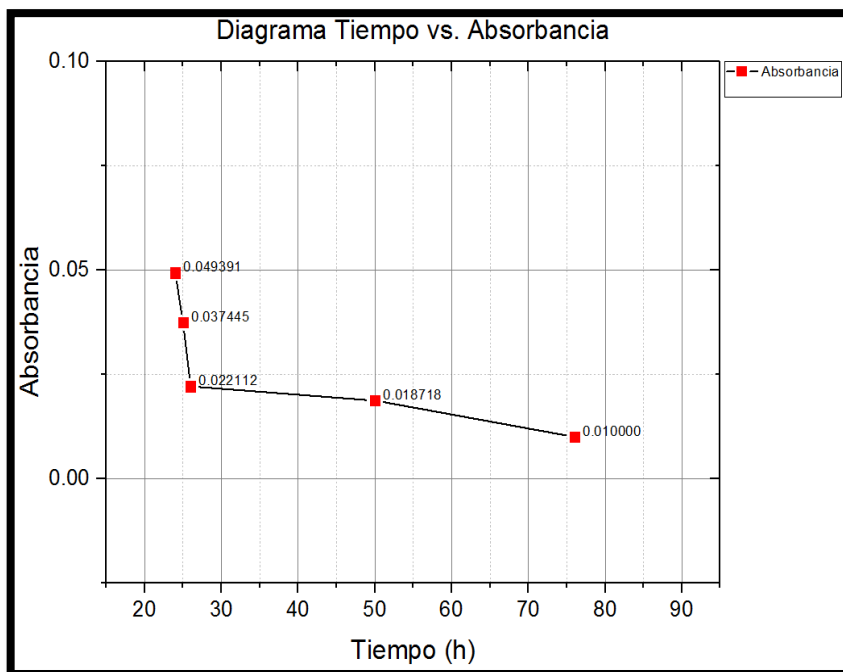


Gráfico 10-3: VCLPEGDA-Mentil ZnPc, Tiempo vs. Absorbancia.

Realizado por: Mario Limaico Á. 2017

En el **Gráfico 10-3** se confirma lo mencionado anteriormente, tomando como referencia la absorbancia a las 24 horas (0.049391 de Absorbancia) de preparación de muestra se obtiene que después de 4 días (0.01 de Absorbancia) la absorbancia disminuyera en un 69%.

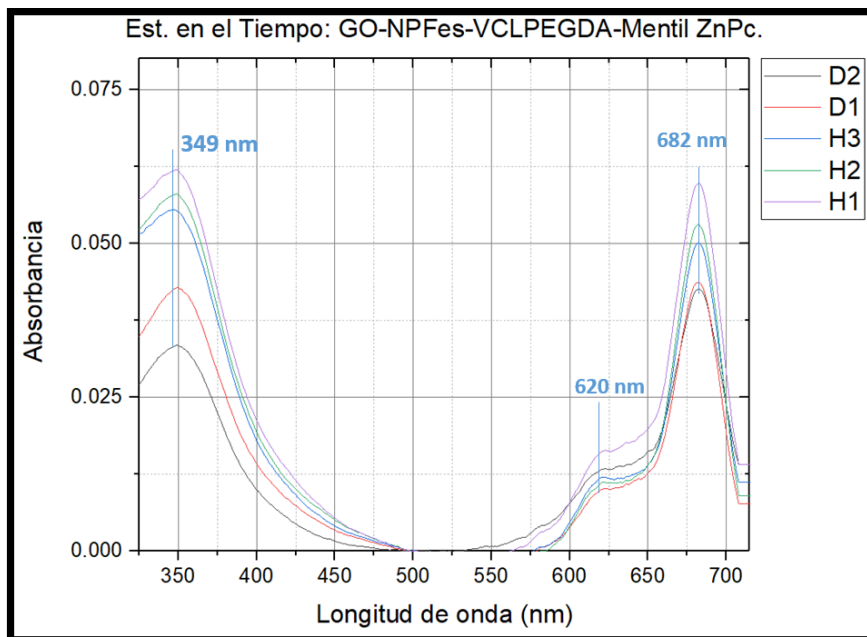


Gráfico 2-3: GO-NPFes-VCLPEGDA-Mentil ZnPc.

Realizado por: Mario Limaico Á. 2017

El **Gráfico 2-3**, correspondiente al nanocompuesto GO-NPFes-VCLPEGDA-Mentil ZnPc evidencia picos para GO y Mentil ZnPc con intensidades son más bajas con una diferencia de 0.04 entre los picos más intensos de cada espectro.

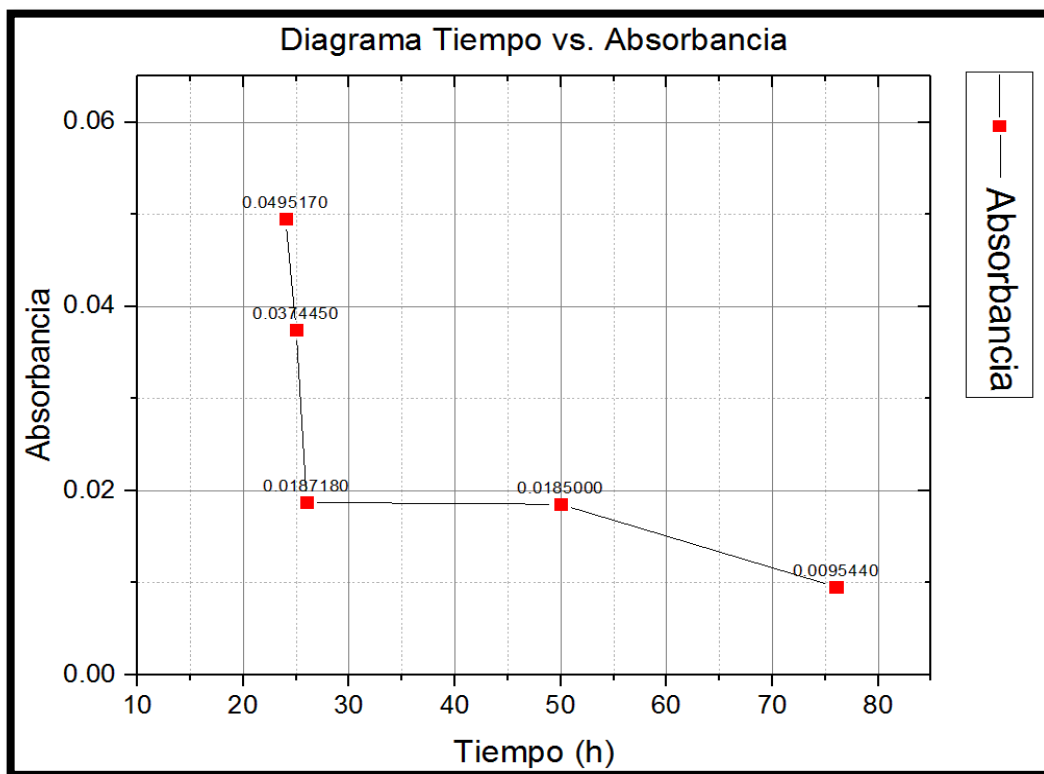


Gráfico 3-3: GO-NPFes-VCLPEGDA-Mentil ZnPc

Tiempo vs Absorbancia.

Realizado por: Mario Limaico Á. 2017

En el **Gráfico 3-3** se aprecia una disminución de intensidad de absorbancia desde el H1-D3 con un total de 63% de pérdida.

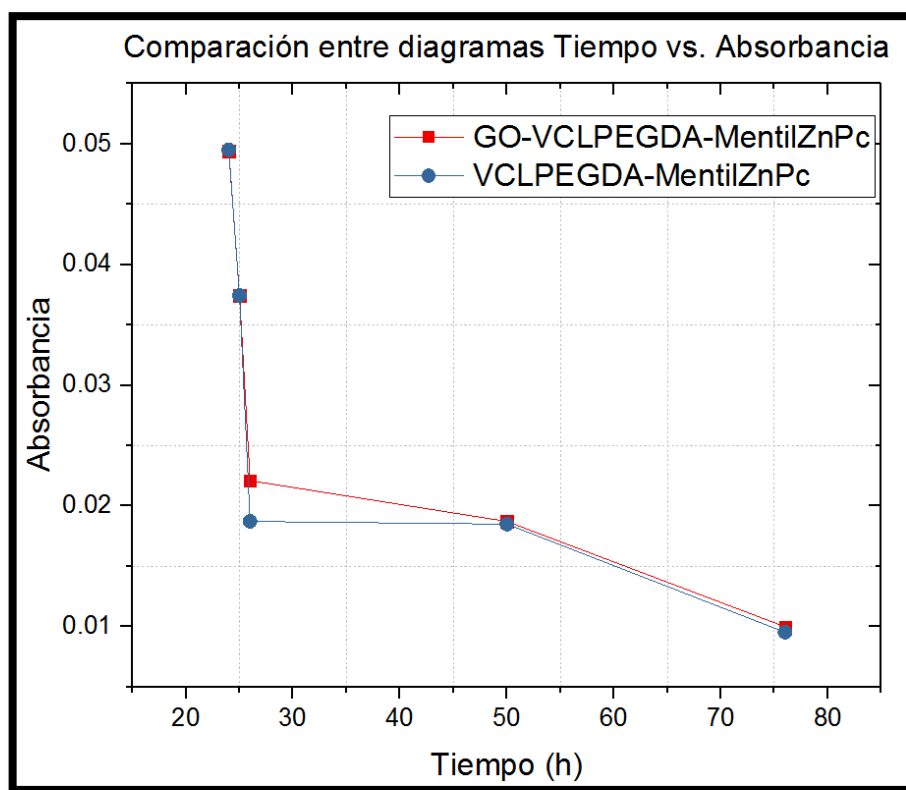


Gráfico 4-3: Comparación entre diagramas

Tiempo vs. Absorbancia.

Realizado por: Mario Limaico Á. 2017

El **Gráfico 4-3** demuestra que el nanocompuesto (GO-VCLPEGDA-MentilZnPc) pierde menos intensidad de absorbancia en comparación con el compuesto VCLPEGDA-MentilZnPc, al cabo de 86 h. Aunque la diferencia sea poca, es suficiente como para atribuir una mejor estabilidad del GO-VCLPEGDA-MentilZnPc acorde a su evolución de intensidad de absorbancia en el tiempo.

Al hacer una relación de 3 simple acorde a las horas de estudio, se obtiene que en 72 h., la el porcentaje de pérdida de intensidad de absorbancia del nanocompuesto es de 51.3 %.

CONCLUSIONES

Se obtuvo el nanocompósito final GO-NPFes-VCLPEGDA-Mentil ZnPc corroborando sus características mediante caracterización Raman, FTIR, AFM y UV/Vis.

Debido a la saturación del nanocompósito después de la quinta adición de muestra corrobora la adecuada relación de cantidad de entre precursores de GO, NPFes sintetizados y funcionalizados.

Los picos de Mentil ZnPc de baja intensidad de absorbancia evidencian una carencia de material suficiente de Mentil ZnPc en relación con el nanocompósito GO-NPFes.

Se concluye que el nanocompósito final GO-NPFes-VCLPEGDA-Mentil ZnPc podrá someterse posteriormente a análisis de eficiencia electroquímica, para su posible uso como biosensor y transportador de fármaco para la TFD.

RECOMENDACIONES

Se recomienda montar un sistema aislado para la síntesis de GO y NPFes, debido a que durante el uso de nitrógeno líquido y la adición de GO-NPFes la probabilidad de contaminación por impurezas es alta, así como la probabilidad de presenciar agregados de material.

Se sugiere realizar una caracterización STEM o TEM para obtener una visualización mejorada del nano-compósito, así también como dimensiones más exactas del material analizado (en comparación con la caracterización AFM).

En relación a la titulación del nanocompósito (caracterización UV/Vis), se recomienda siempre añadir alícuotas similares, para evitar desfases en las intensidades entre alícuotas de concentraciones iguales.

BIBLIOGRAFÍA

- AGUIRRE, G., et al.** Biocompatible and thermo-responsive nanocapsule synthesis through vesicle templating. *Polymer Chemistry* [en línea], 2014. pp. 4569. [Consulta: 21 octubre 2016]. ISSN 1759-9954. DOI 10.1039/c4py00297k. Disponible en: <http://xlink.rsc.org/?DOI=c4py00297k>.
- BROWN, S.B., et al.** The present and future role of photodynamic therapy in cancer treatment. *The Lancet Oncology* [en línea], 2004. pp. 497-508. [Consulta: 3 enero 2017]. ISSN 14702045. DOI 10.1016/S1470-2045(04)01529-3. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1470204504015293>.
- CHEN, J., et al.** High-yield preparation of graphene oxide from small graphite flakes via an improved Hummers method with a simple purification process. *Carbon* [en línea], 2015. pp. 826-834. [Consulta: 16 octubre 2016]. ISSN 00086223. DOI 10.1016/j.carbon.2014.10.033. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0008622314009956>.
- CHIO, C.H., SHARMA, S.K. y MUENOW, D.W.** Micro-Raman studies of hydrous ferrous sulfates and jarosites. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* [en línea], 2005. pp. 2428-2433. [Consulta: 25 noviembre 2016]. ISSN 13861425. DOI 10.1016/j.saa.2005.02.021. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1386142505000697>.
- CORTEZ-LEMUS, N.A. y LICEA-CLAVERIE, A.** Poly(N-vinylcaprolactam), a comprehensive review on a thermoresponsive polymer becoming popular. *Progress in Polymer Science* [en línea], 2016. pp. 1-51. [Consulta: 2 enero 2017]. ISSN 00796700. DOI 10.1016/j.progpolymsci.2015.08.001. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S007967001500091X>.
- DEL RIO CLAR, M.** Aplicación de Nanopartículas de Óxido de Hierro Funcionalizadas con Escuaramidas para Eliminar Mercurio de Aguas (tesis). Universitat del Illes Balears, Mallorca, España. 2013-2014. pp. 9-10.

DI, Z. y YOSHIHIRO, I. SCIENCE CHINA Chemistry Visible light-curable polymers for biomedical applications, 2014. pp. 1-12. DOI 10.1007/s11426-014-5069-z.

DOLMANS, D.E.J.G.J., FUKUMURA, D. y JAIN, R.K. TIMELINE: Photodynamic therapy for cancer. *Nature Reviews Cancer* [en línea], 2003. pp. 380-387. [Consulta: 16 octubre 2016]. ISSN 1474175X. DOI 10.1038/nrc1071. Disponible en: <http://www.nature.com/doi/10.1038/nrc1071>.

DONG, H., et al. Poly(ethylene glycol) conjugated nano-graphene oxide for photodynamic therapy. *Science China Chemistry* [en línea], 2010. pp. 2265-2271. [Consulta: 13 octubre 2016]. ISSN 1674-7291. DOI 10.1007/s11426-010-4114-9. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s11426-010-4114-9>.

FERREIRA, D.P., et al. Porphyrin dye into biopolymeric chitosan films for localized photodynamic therapy of cancer. *Carbohydrate Polymers* [en línea], 2016. pp. 160-171. [Consulta: 3 enero 2017]. ISSN 01448617. DOI 10.1016/j.carbpol.2016.05.060. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861716305823>.

GARCÍA MARTÍNEZ, V. ESTUDIO DE LA ESTABILIDAD DEL ÓXIDO DE GRAFENO CON EL TIEMPO (tesis). (Master) Universidad de Oviedo, Oviedo, España. 2014. pp 34-38.

GEORGAKILAS, V., et al. Noncovalent Functionalization of Graphene and Graphene Oxide for Energy Materials, Biosensing, Catalytic, and Biomedical Applications. *Chemical Reviews* [en línea], 2016. pp. 5464-5519. [Consulta: 12 octubre 2016]. ISSN 0009-2665. DOI 10.1021/acs.chemrev.5b00620. Disponible en: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.chemrev.5b00620>.

HAMIDI, M., AZADI, A. y RAFIEI, P. Hydrogel nanoparticles in drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews* [en línea], 2008. pp. 1638-1649. [Consulta: 21 noviembre 2016]. ISSN 0169409X. DOI 10.1016/j.addr.2008.08.002. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169409X08002275>.

HUANG, P. Folic Acid-conjugated Graphene Oxide loaded with Photosensitizers for Targeting Photodynamic Therapy. *Theranostics* [en línea], 2011. pp. 240. [Consulta: 4 enero 2017]. ISSN 1838-7640. DOI 10.7150/thno/v01p0240. Disponible en: <http://www.thno.org/v01p0240.htm>.

HUANG, Y., et al. Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles Modified with Tween 80 Pass through the Intact Blood–Brain Barrier in Rats under Magnetic Field. *ACS Applied Materials & Interfaces* [en línea], 2016. pp. 11336-11341. [Consulta: 22 noviembre 2016]. ISSN 1944-8244. DOI 10.1021/acsami.6b02838. Disponible en: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acsami.6b02838>.

IQBAL, M.W., et al. Raman fingerprint of doping due to metal adsorbates on graphene. *Journal of Physics: Condensed Matter* [en línea], 2012. pp. 335301. [Consulta: 4 enero 2017]. ISSN 0953-8984. DOI 10.1088/0953-8984/24/33/335301. Disponible en: <http://stacks.iop.org/0953-8984/24/i=33/a=335301?key=crossref.bfbd4b759ce4f98738977bc9577ce254>.

JABEEN, H., et al. Enhanced Cr(vi) removal using iron nanoparticle decorated graphene. *Nanoscale* [en línea], 2011. pp. 3583. [Consulta: 4 enero 2017]. ISSN 2040-3364. DOI 10.1039/c1nr10549c. Disponible en: <http://xlink.rsc.org/?DOI=c1nr10549c>.

KHAN, M., et al. Graphene based metal and metal oxide nanocomposites: synthesis, properties and their applications. *J. Mater. Chem. A* [en línea], 2015. pp. 18753-18808. [Consulta: 18 octubre 2016]. ISSN 2050-7488. DOI 10.1039/C5TA02240A. Disponible en: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C5TA02240A>.

KIZIL, R., IRUDAYARAJ, J. y SEETHARAMAN, K. Characterization of Irradiated Starches by Using FT-Raman and FTIR Spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [en línea], 2002. pp. 3912-3918. [Consulta: 13 octubre 2016]. ISSN 0021-8561. DOI 10.1021/jf011652p. Disponible en: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf011652p>.

KUDIN, K.N., et al. Raman Spectra of Graphite Oxide and Functionalized Graphene Sheets. *Nano Letters* [en línea], 2008. pp. 36-41. [Consulta: 4 enero 2017]. ISSN 1530-6984. DOI 10.1021/nl071822y. Disponible en: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/nl071822y>.

LAI, Q., et al. Ultraviolet-visible spectroscopy of graphene oxides. *AIP Advances* [en línea], 2012. pp. 32146. [Consulta: 4 enero 2017]. ISSN 23226. DOI 10.1063/1.4747817. Disponible en:
<http://aip.scitation.org/doi/10.1063/1.4747817>.

LEE, S.-J., et al. Synthesis and characterization of superparamagnetic maghemite nanoparticles prepared by coprecipitation technique. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* [en línea], 2004. pp. 147-150. [Consulta: 13 octubre 2016]. ISSN 03048853. DOI 10.1016/j.jmmm.2004.04.035. Disponible en:
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304885304004342>.

LUCKY, S.S., SOO, K.C. y ZHANG, Y. Nanoparticles in Photodynamic Therapy. *Chemical Reviews* [en línea], 2015. pp. 1990-2042. [Consulta: 13 octubre 2016]. ISSN 0009-2665. DOI 10.1021/cr5004198. Disponible en:
<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/cr5004198>.

MA, X., et al. A functionalized graphene oxide-iron oxide nanocomposite for magnetically targeted drug delivery, photothermal therapy, and magnetic resonance imaging. *Nano Research* [en línea], 2012. pp. 199-212. [Consulta: 13 octubre 2016]. ISSN 1998-0124. DOI 10.1007/s12274-012-0200-y. Disponible en:
<http://link.springer.com/10.1007/s12274-012-0200-y>.

MA, X. y TIAN, H. Stimuli-Responsive Supramolecular Polymers in Aqueous Solution. *Accounts of Chemical Research* [en línea], 2014. pp. 1971-1981. [Consulta: 4 enero 2017]. ISSN 0001-4842. DOI 10.1021/ar500033n. Disponible en:
<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ar500033n>.

MORANT, C., LÓPEZ, M., GUTIÉRREZ, A. y JIMÉNEZ, J. AFM and SEM characterization of non-toxic vanadium-free Ti alloys used as biomaterials. *Applied Surface Science* [en línea], 2003. pp. 79-87. [Consulta: 12 octubre 2016]. ISSN 01694332. DOI 10.1016/S0169-4332(03)00746-3. Disponible en:
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169433203007463>.

MURA, S., NICOLAS, J. y COUVREUR, P. Stimuli-responsive nanocarriers for drug delivery. *Nature Materials* [en línea], 2013. pp. 991-1003. [Consulta: 4 enero 2017]. ISSN 1476-1122. DOI 10.1038/nmat3776. Disponible en: <http://www.nature.com/doi/10.1038/nmat3776>.

MURUGAPPAN, K., et al. Electrochemical Characterization of an Oleyl-coated Magnetite Nanoparticle-Modified Electrode. *ChemElectroChem* [en línea], 2014. pp. 1211-1218. [Consulta: 15 enero 2017]. ISSN 21960216. DOI 10.1002/celc.201402012. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1002/celc.201402012>.

NAZARI, M., et al. Synthesis and characterization of maghemite nanopowders by chemical precipitation method. *Journal of Nanostructure in Chemistry* [en línea], 2014. pp. 99. [Consulta: 13 octubre 2016]. ISSN 2008-9244. DOI 10.1007/s40097-014-0099-9. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s40097-014-0099-9>.

OH, W.-D., et al. High surface area DPA-hematite for efficient detoxification of bisphenol A via peroxymonosulfate activation. *J. Mater. Chem. A* [en línea], 2014. pp. 15836-15845. [Consulta: 4 enero 2017]. ISSN 2050-7488. DOI 10.1039/C4TA02758B. Disponible en: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C4TA02758B>.

PIKABEA, A., RAMOS, J. y FORCADA, J. Production of Cationic Nanogels with Potential Use in Controlled Drug Delivery. *Particle & Particle Systems Characterization* [en línea], 2014. pp. 101-109. [Consulta: 2 mayo 2017]. ISSN 09340866. DOI 10.1002/ppsc.201300265. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1002/ppsc.201300265>.

POUTON, C.W. Lipid formulations for oral administration of drugs: non-emulsifying, self-emulsifying and 'self-microemulsifying' drug delivery systems. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* [en línea], 2000. pp. S93-S98. [Consulta: 21 noviembre 2016]. ISSN 09280987. DOI 10.1016/S0928-0987(00)00167-6. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0928098700001676>.

ROMERO, M.P. et al. Photophysical properties and photodynamic activity of a novel menthol-zinc phthalocyanine conjugate incorporated in micelles. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 2013. pp. 22-29. ISSN 10106030. DOI 10.1016/j.jphotochem.2012.12.009.

SHEN, J.M., et al. Graphene oxide-Fe₃O₄ nanocomposite for combination of dual-drug chemotherapy with photothermal therapy. *Rsc Advances*, 2014. pp. 18473-18484. ISSN 2046-2069. DOI 10.1016/S0928-0987(00)00167-6. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0928098700001676>.

SOTO LOPEZ, I., et al. Síntesis y caracterización del grafeno, a partir del método de hummers y reducción térmica con ácido ascórbico. 2013. pp. 147-150. [Consulta: 13 octubre 2016]. ISSN 03048853. DOI 10.1016/2004.04.035. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304885304004342>.

STANKOVICH, S., DIKIN, D.A., PINER, R.D., et al. 2007. Synthesis of graphene-based nanosheets via chemical reduction of exfoliated graphite oxide. *Carbon* [en línea], pp. 1558-1565. [Consulta: 4 enero 2017]. ISSN 00086223. DOI 10.1016/j.carbon.2007.02.034. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0008622307000917>.

SUDESH, KUMAR, N., DAS, S., BERNHARD, C. y VARMA, G.D. Effect of graphene oxide doping on superconducting properties of bulk MgB₂. *Superconductor Science and Technology* [en línea], 2013. pp. 95008. [Consulta: 4 enero 2017]. ISSN 0953-2048. DOI 10.1088/0953-2048/26/9/095008. Disponible en: <http://stacks.iop.org/09532048/26/i=9/a=095008?key=crossref.67f7b43c79eed12f6459e2f4bf063021>.

TAGHIZADEH, B., et al. Classification of stimuli-responsive polymers as anticancer drug delivery systems. *Drug Delivery* [en línea], 2015. pp. 145-155. [Consulta: 21 noviembre 2016]. ISSN 1071-7544. DOI 10.3109/10717544.2014.887157. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/10717544.2014.887157>.

WANG, Y., et al. Graphene and graphene oxide: biofunctionalization and applications in biotechnology. *Trends in biotechnology* [en línea], 2011. pp. 205-12. [Consulta: 12 octubre 2016]. ISSN 1879-3096. DOI 10.1016/j.tibtech.2011.01.008. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21397350>.

YANG, X., et al. Superparamagnetic graphene oxide-Fe₃O₄ nanoparticles hybrid for controlled targeted drug carriers. *Journal of Materials Chemistry* [en línea], 2009. pp. 2710. [Consulta: 4 enero 2017]. ISSN 0959-9428. DOI 10.1039/b821416f. Disponible en: <http://xlink.rsc.org/?DOI=b821416f>.

YEH, S.-C. Fluorescence of pdt photosensitizers for quantitative cancer diagnosis and treatment monitoring (tesis). (doctorado). McMaster University. Hamilton, Ontario. 2015. pp 51-52. [Consulta: 4 enero 2017]. ISSN 1530-6984. DOI 10.1021/nl071822y. Disponible en: <http://pubs.acs.org/10.1021/nl07182y>.

ANEXOS

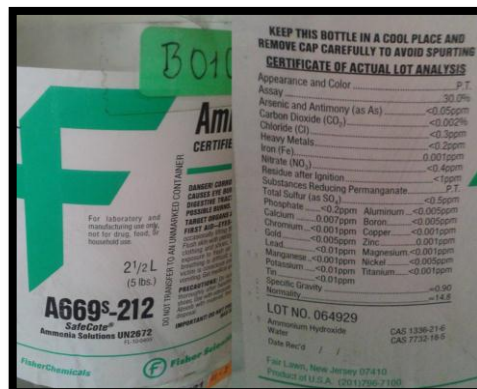
ANEXO A. PROCESO DE SÍNTESIS DE SULFATOS DE HIERRO III.



ANEXO B. FÓRMULA Y ASPECTO DEL SULFATO DE HIERRO II.

Aspecto: Sólido, gránulos o cristales de color gris o verde azulado o amarillo pardo. Sabor salino (solución en agua).
Olor: Inodoro.
Solubilidad: 48,6 g/100 g de agua @ 50C (122F). Soluble en agua. Insoluble en alcohol.
Densidad específica (agua=1): 1,90
pH: 3.7 (solución al 10%)
Punto de ebullición: > 300C (> 572F) se descompone.
Punto de fusión: 57C (135F) pierde agua
Densidad de vapor (Aire = 1): No se encontró información.
Presión de Vapor (mm Hg): No se encontró información.
Tasa de evaporación (BuAc = 1): No se encontró información.

ANEXO C. FÓRMULA Y CASA COMERCIAL DEL HIDRÓXIDO DE AMONIO.



ANEXO C. OBTENCIÓN DEL NANOCOMPÓSITO GO-NPFes.



ANEXO D. GO-NPFes.



ANEXO E. ESPECTRÓMETRO JASCO FT - IR 4100.



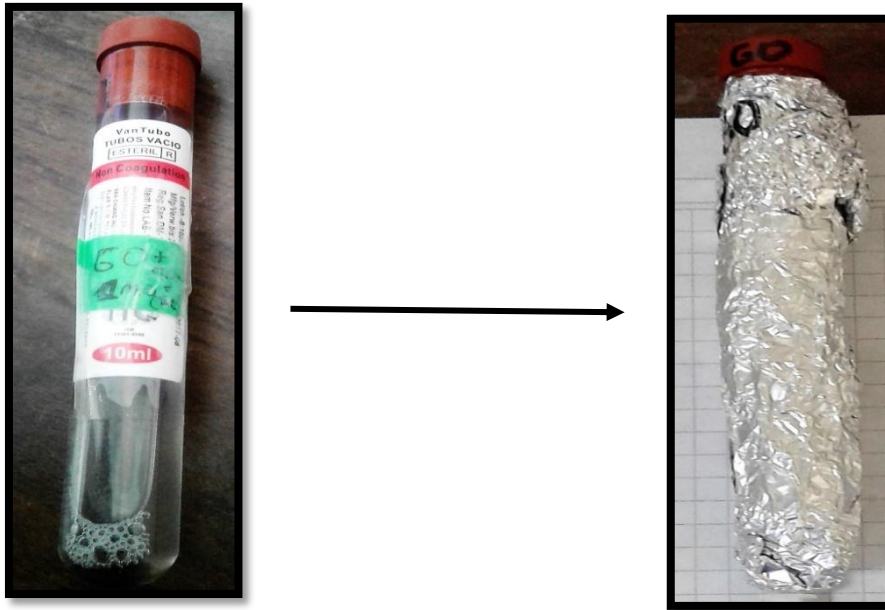
ANEXO F. NAIOAFM.



ANEXO G. UV/VIS, THERMO SCIENTIST, EVOLUTION 220.



ANEXO H. GO-NPFes-VCLPEGDA-Mentil ZnPc.



ANEXO I. VCLPEGDA-MENTIL ZnPc (IZQUIERDA), GO-NPFES-VCLPEGDA-MENTIL ZNPC (DERECHA); CADA UNO CON SU TOMA DE MUESTRA INDEPENDIENTE (JERINGUILLA ETIQUETADA).

