



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE FÍSICA Y MATEMÁTICA

“SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN Y FUNCIONALIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS EN NANOTUBOS DE CARBONO DE PARED MÚLTIPLE VISANDO APLICACIONES EN TERAPIA FOTODINÁMICA”

Trabajo de titulación presentado para optar al grado académico de:

BIOFÍSICA

AUTORA: Coralía Fabiola Cuadrado Pumalema

TUTORA: PhD. María Paulina Romero Obando

Riobamba-Ecuador

2017

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

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El trabajo experimental: **“Síntesis, Caracterización y Funcionalización de Nanopartículas Magnéticas en Nanotubos de Carbono de Pared Múltiple visando Aplicaciones en Terapia Fotodinámica”**, de responsabilidad de la señorita Coralía Fabiola Cuadrado Pumalema, ha sido minuciosamente revisado por los miembros de Tribunal del Trabajo de Titulación, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Dra. María Paulina Romero Obando
**DIRECTORA DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN**

Dr. Richard Williams Pachacama Choca
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

“Yo, Coralía Fabiola Cuadrado Pumalema, declaro que soy la autora del presente Trabajo de Titulación el cual fue elaborado por mi persona bajo la dirección de la PhD. María Paulina Romero Obando y con la colaboración interna del PhD. Luis José Borrero González, haciéndome responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en este trabajo experimental y el patrimonio intelectual del presente Trabajo de Titulación pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.”

CORALÍA FABIOLA CUADRADO PUMALEMA

DEDICATORIA

El presente Trabajo de Titulación va dedicado a mi Padre Dios, por bendecirme, guiarme protegerme y demostrarme su amor día a día.

A mi madre, que me ha brindado todo su tiempo, amor, sabiduría, comprensión y con sus consejos ha sabido alimentar ese deseo de superación y a mi querido hijo Mateo Sebastián Limaico que ha llenado de alegría mis días. Ambos constituyen los pilares fundamentales de mi vida y la razón de mí existir.

Coralía.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a mi Padre Dios, por haberme guiado a lo largo de mi camino y permitirme concluir una etapa más de mi vida. Por bendecirme con una familia, un Hijo y unas buenas amigas, que han permanecido a mi lado, en las buenas y en las malas llenándome de amor y alegría.

A las autoridades de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo y en particular a la Planta Docente de la Escuela de Física y Matemática de la Facultad de Ciencias, por haberme brindado la oportunidad de recibir sus sabios conocimientos, los mismos que serán de utilidad en el desarrollo de mi vida profesional.

Al Departamento de Materiales de la Escuela Politécnica Nacional, por abrirme sus puertas para la realización de la presente investigación.

A la Doctora Paulina Romero, por su valioso apoyo y acertada dirección durante la ejecución de mi trabajo de investigación.

A mis Padres: Edwin Cuadrado y Fabiola Pumalema, quienes confiaron en mí plenamente apoyándome día a día con amor y sabiduría para salir adelante y llegar a la culminación de mi carrera profesional.

Coralía.

ABREVIATURAS

1. **CNTs:** Carbon Nanotubes (Nanotubos de Carbono)
2. **CVD:** Chemical Vapor Deposition (Deposición Química de Vapor)
3. **DOX:** Doxorrubicina
4. **DMF:** N-N Dimetilformamida
5. **FDA:** Food and Drug Administration:
6. **LCST:** Lower Critical Solution Temperature (Temperatura Mínima Crítica de Solución o Temperatura de Transición Térmica)
7. **LU-TEX:** Lutetium Texaphyrin (Texafirinas)
8. **MNPs:** Magnetic Nanoparticles (Nanopartículas Magnéticas)
9. **MWCNTs:** Multi-Walled Carbon Nanotubes (Nanotubos de Carbono de Pared Múltiple)
10. **NPs:** Nanoparticles (Nanopartículas)
11. **PC:** Phthalocyanine (ftalocianina).
12. **PDT:** Photodynamic therapy (Terapia Fotodinámica)
13. **PEG:** Poli(etilenglicol).
14. **PEGDA:** Vinilcaprolactama-Diacrilato de Polietilenglicol
15. **PS:** Photosensitizer (Fotosensibilizante)
16. **RNM:** Resonancia Magética Nuclear
17. **SEM:** Scanning Electron Microscope (Microscopio electrónico de Barrido)
18. **SWCNTs:** Single Walled Carbon Nanotubes (Nanotubos de Carbono de Pared Simple)
19. **TEM:** Transmission Electron Microscopy (Microscopia de Transmisión Electrónica)
20. **VCL:** Vinil Caprolactama
21. **ZnMintPc:** Mentol-Ftalocianina De Zinc

ÍNDICE DE CONTENIDO

DEDICATORIA	IV
AGRADECIMIENTO.....	V
ABREVIATURAS.....	VI
ÍNDICE DE FIGURAS	X
ÍNDICE DE GRÁFICOS	XI
ÍNDICE DE TABLAS	XIII
ÍNDICE DE ANEXOS.....	XIV
RESUMEN	XV
SUMMARY	XVI
INTRODUCCIÓN	1

CAPÍTULO I

1. MARCO REFERENCIAL	2
1.1. Antecedentes	2
1.2. Planteamiento del Problema	3
1.2.1. <i>Formulación del Problema</i>	3
1.2.2. <i>Sistematización del Problema</i>	3
1.3. Justificación.....	4
1.4. Objetivos	5
1.4.1. <i>Objetivo General</i>	5
1.4.2. <i>Objetivos Específicos</i>	5

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO	6
2.1. Nanotubos de Carbono	6
2.1.1. <i>Estructura y Morfología de CNT</i>	6
2.1.2. <i>Clasificación de CNT</i>	8
2.1.3. <i>Método de Producción de CNT</i>	8
2.1.4. <i>Purificación</i>	9
2.1.5. <i>Funcionalización de CNT</i>	10
2.1.5.1. <i>Covalente</i>	10
2.1.5.2. <i>No Covalente</i>	10
2.1.6. <i>Toxicidad de CNT</i>	12
2.2. Nanopartículas Magnéticas.....	12

2.3.	Síntesis de Nanopartículas Magnéticas en Nanotubos de Carbono.....	13
2.3.1.	<i>Método de Co-precipitación</i>	13
2.3.2.	<i>Método Solvotermal</i>	14
2.4.	Técnicas de Caracterización	15
2.4.1.	<i>Espectroscopia Raman</i>	15
2.4.2.	<i>Microscopia Electrónica de Barrido (SEM)</i>	15
2.5.	Terapia Fotodinámica	16
2.5.1.	<i>Mecanismo de Acción</i>	16
2.5.2.	<i>Historia</i>	17
2.5.3.	<i>Fotosensibilizante</i>	18
2.5.4.	<i>Mentol-Ftalocianina de Zinc</i>	21
2.6.	Sistemas de Suministro de Fármacos.....	22
2.6.1.	<i>Sistemas de Nanopartículas</i>	23
2.6.2.	<i>Liposomas</i>	25
2.6.3.	<i>Hidronanogeles</i>	25
2.6.3.1	<i>Hidronanogel Vinilcaprolactama-Diacrilato de Polietilenglicol</i>	29
2.6.4.	<i>Sistemas de Cristales líquidos</i>	30
2.6.5.	<i>Dendrímeros</i>	30
2.6.6.	<i>Ciclodextrinas</i>	31
2.6.7.	<i>Nanotubos de Carbono</i>	31
2.6.8.	<i>Nanotubos de Carbono con Nanopartículas Magnéticas</i>	32

CAPÍTULO III

3.	MARCO METODOLÓGICO	33
3.1.	Materiales.....	33
3.2.	Métodos.....	39
3.2.1.	<i>Purificación de MWCNTs</i>	39
3.2.2.	<i>Síntesis y Funcionalización de MNPs- MWCNTs</i>	40
3.2.3.	<i>Síntesis de Diacrilato de Polietilenglicol- Vinilcaprolactama</i>	41
3.2.4.	<i>Funcionalización de MWCNTs-MNPs CON ZnMintPc</i>	42
3.3.	Técnicas	44
3.3.1.	<i>Espectroscopia Raman</i>	44
3.3.2.	<i>Espectroscopia FT-IR</i>	44
3.3.3.	<i>Espectroscopia UV-VIS</i>	45
3.4.	Hipótesis.....	45
3.4.1.	<i>Demostración de la Hipótesis</i>	45

CAPITULO IV

4.	ANÁLISIS Y RESULTADOS	47
4.1.	Resultados de la Síntesis del Nanovehículo MWCNTs-MNPs.....	47
4.2.	Resultados de la Funcionalización MWCNTs-MNPs con ZnMintPc	50
4.2.1.	<i>Titulación de VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs-ZnMintPc</i>	<i>50</i>
4.2.2.	<i>Estabilidad en el tiempo de VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs-ZnMintPc.</i>	<i>55</i>
	CONCLUSIONES	58
	RECOMENDACIONES	59
	BIBLIOGRAFÍA	
	ANEXOS	

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-2: A) Tipos de estructuras de los Nanotubos de Carbonos. B) Imágenes STM de Nanotubos de Carbono de Pared Simple.	7
Figura 2-2: Nanotubo de Carbono de pared Simple. B: Nanotubo de Carbono de Pared Múltiple.	8
Figura 3-2: Funcionalización Covalente de CNTs.	10
Figura 4-2: DOX(color rojo) cargado a lo largo de la superficie de un CNT. a) Funcionalización No-Covalente. b) Funcionalización Covalente con PEG(color azul).	11
Figura 5-2: a) TEM de MNPs de Fe ₃ O ₄ . b) Esquema de NP con un núcleo de Fe ₃ O ₄ cubierta con SiO ₂ . c) Esquema de una MNP con Foscan (PS) para aplicación en Terapia Fotodinámica.	13
Figura 6-2: a) TEM MWCNTs-MNPs y b) Raman: a. MWCNTs Puros, b. MWCNTs Tratados con ácidos y c. MWCNTs-MNPs.	14
Figura 7-2: a. TEM y b. SEM de MWCNTs-MNPs.	15
Figura 8-2: Esquema de la Terapia Fotodinámica.	17
Figura 9-2: Estructura del ZnMintPc.	21
Figura 10-2: (1) Espectro de emisión del LED rojo. (2) Espectro de absorción del ZnMintPc en DMF (color azul). (3) Espectro de absorción del ZnMintPc en acetato de etilo (color rojo).	22
Figura 11-2: Tipos de Sistemas para administración de fármacos.	23
Figura 12-2: Factores que afectan el estado de hinchazón de un nanogel.	26
Figura 13-2: Liberación controlada de Fármacos por nanogeles.	27
Figura 14-2: Métodos usados para la liberación de fármacos.	28
Figura 15-2: Nanogel cargado de Nanopartículas Magnéticas.	29
Figura 16-2: a) VCL. b) PEGDA.	29
Figura 17-2: Proceso de administración de fármaco por CNTs.	32
Figura 18-2: MNPs-MWCNTs como nanotransporte de gemcitabina.	32

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-3: a) MWCNTs en agua destilada con Tween 80 (5%). b) MWCNTs en ácidos. c) Equipo de Filtración Micropore. d) MWCNTs lavados.	40
Gráfico 2-3: a) Muestra P1 b) Muestra P1 en NH ₄ OH en atmósfera inerte. c) Purificación magnética de MWCNTs-MNPs. d) MWCNTs-MNPs purificados magnéticamente.	41
Gráfico 3-3: MWCNTs-MNPs.	41
Gráfico 4-3: a) Agua Destilada+emulsificante+monómero+polímero.b) Reactor de atmósfera inerte y control de temperatura. c) Nanogel filtrado.	42
Gráfico 5-3: a) MWCNTs-MNPs en VCL-PEGDA. b) MWCNTs-VCL-PEGDA sonicados. ...	43
Gráfico 6-3: a) ZnMintPc 1mM. b) VCL-PEGDA-MWCNTs-MNPs-ZnMintPc y ZnMintPc 0.25 mM.	44
Gráfico 1-4: Espectro FT-IR de: A) MWCNTs y B) MWCNTs-MNPs.	47
Gráfico 2-4: Comparación del espectro Raman de MWCNTs-MNPs con espectros de referencia del equipo de Grafito y de Hematita. $E_{\text{láser}}=2.33\text{eV}$, $\lambda=532\text{ nm}$	48
Gráfico 3-4: Espectros Raman: A) MWCNTs sin Tratar, B) MWCNTs Tratados con ácidos nítrico y sulfúrico, C) MWCNTs-MNPs. $E_{\text{láser}}=2.33\text{eV}$, $\lambda=532\text{ nm}$	49
Gráfico 4-4: Espectro UV-VIS de titulación ZnMintPc en 3mL de DMF.	50
Gráfico 5-4: Espectro UV-VIS de titulación VCL/PEGDA-ZnMintPc, en 3mL de suero fisiológico +20 μL de VCL/PEGDA.	51
Gráfico 6-4: Espectro UV-VIS de titulación VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs, en 3mL de suero fisiológico +20 μL de VCL/PEGDA.	52
Gráfico 7-4: Espectro UV-VIS de titulación VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs- ZnMintPc, en 3mL de suero fisiológico + 20 μL de VCL/PEGDA	52
Gráfico 8-4: Espectro resultante de la resta de los espectros del Gráfico 7-4 (VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs- ZnMintPc) menos el Gráfico 6-4 (VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs).....	53
Gráfico 9-4: Curva de Calibración de nanocompósito VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs-ZnMintPc y de ZnMintPc-DMF en 684nm.	54
Gráfico 10-4: Curva de Calibración de nanocompósito VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs-ZnMintPc y de VCL/PEGDA -ZnMintPc en 684 nm.	54
Gráfico 11-4: Espectro UV-VIS de Estabilidad en el tiempo de VCL/PEGDA-ZnMintPc (a 0.27 μM de ZnMintPc) en 3ml de Suero fisiológico + 20 μL de VCL/PEGDA.	55
Gráfico 12-4: Espectro UV-VIS de Estabilidad en el tiempo de VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs-ZnMintPc (a 0.27 μM de ZnMintPc y 0.0033mg/mL de MWCNTs-MNPs) en 3ml de Suero fisiológico + 20 μL de VCL/PEGDA.	56

Gráfico 13-4: Curva de Estabilidad en el tiempo de VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs-ZnMintPc(a 0.27 μ M de ZnMintPc y 0.0033mg/mL de MWCNTs-MNPs) y de VCL/PEGDA- ZnMintPc(a 0.27 μ M de ZnMintPc) en 3mL de suero fisiológico + 20 μ L de VCL/PEGDA.57

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-2: Derivados de la Clorina.	20
Tabla 1-3: Compuestos y Reactivos	33
Tabla 2-3: Materiales	36
Tabla 3-3: Tabla de Equipos	37

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A: Cálculo del peso de ZnMintPc para una solución a 1mM

ANEXO B: Cálculo de concentración y volumen de ZnMintPc o de MWCNTs a partir de una solución concentrada.

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue funcionalizar Nanotubos de Carbono de Pared Múltiple con Nanopartículas Magnéticas para transportar el fotosensibilizante ZnMintPc, para futuras aplicaciones en Terapia Fotodinámica. Para lo cual inicialmente se realizó la purificación de los Nanotubos de Carbono de Pared Múltiple (MWCNTs) empleando un ataque ácido con HNO₃ y H₂SO₄ para la posterior síntesis por el método de Co-precipitación de Nanopartículas Magnéticas de Hematita (MNPs) en presencia de los MWCNTs para obtener el nanovehículo MNPs-MWCNTs. Finalmente se realizó su funcionalización con el fotosensibilizante Mentol-Ftalocianina De Zinc (fármaco sintetizado para ser utilizado en Terapia Fotodinámica, ZnMintPc) por métodos físicos y en presencia del nanogel biocompatible Vinilcaprolactama-Diacrilato de Polietilenglicol (VCL/PEGDA). La función del VCL-PEGDA fue encapsular el nanovehículo MNPs-MWCNTs con el fotosensibilizante ZnMintPc y así obtener el nanocompósito VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc. El nanovehículo fue caracterizado por Espectroscopia FT-IR y Raman en donde se evidenció que las MNPs obtenidas son de Hematita y que se encuentran ancladas a los MWCNTs a través de enlaces covalentes formados entre los grupos carboxílicos de los MWCNTs y los grupos superficiales de la Hematita. El nanocompósito fue evaluado por Espectroscopia UV-VIS, en donde se demostró que las concentraciones utilizadas para los análisis (0.197 a 0.547 μM) no provocan agregaciones del fotosensibilizante cuando forma parte del nanocompósito sintetizado. Al realizar la evaluación del nanocompósito en función del tiempo y compararlo con VCL/PEGDA-ZnMintPc, el primero evidenció una mejor estabilidad en el tiempo del ZnMintPc lo que permitirá que el nanocompósito llegue hacia el sitio específico de tratamiento e ingrese en las células blanco y permita realizar Terapia Fotodinámica manteniendo las características fotofísicas del fotosensibilizante. Se observó que durante las 24 horas de evaluación no había agregación del fotosensibilizante, características que demuestran ser un nanovehículo óptimo para el transporte ZnMintPc, por lo cual sería recomendable poder aplicarlo en la Terapia Fotodinámica.

Palabras Clave: <TECNOLOGÍA Y CIENCIAS MÉDICAS>, <BIOFÍSICA>, <BIOMEDICINA>, <TERAPIA FOTODINÁMICA>, <NANOTUBOS DE CARBONO>, <NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS>, <FOTOSENSIBILIZANTE>, <NANOGELO>.

SUMMARY

The objective of this work was to functionalize Multiple-Walled Carbon Nanotubes with Magnetic Nanoparticles to transport photosensitizing ZnMintPc, for future applications in Photodynamic Therapy. For that, it was done the purification of the Multiple-Walled Carbon Nanotubes (MWCNTs) by using an acid attack with HNO₃ and H₂SO₄ for the subsequent photosynthesis through the method of Co-Precipitation of Magnetic Nanoparticles of Hematite (MNPs) in presence of the MWCNTs to get the nanovehicle MNPs- MWCNTs. Finally, it was done its functionalization with the photosensitizing Menthol-Zinc Phthalocyanine (drug synthesized to be used in Photodynamic Therapy, ZnMintPc) by physical methods in presence of the biocompatible nanogel Vinylcaprolactam-Diacrylate of Polyethylene Glycol (VCL/PEGDA). The function of the VCL-PEGDA was to encapsulate the nanovehicle MNPs-MWCNTs with the photosensitizing ZnMintPc to get the nanocomposite VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc. The nanovehicle was characterized by FT-IR and Raman Spectroscopy where it was on evidence that the obtained MNPs are made of Hematite and they are rooted to the MWCNTs through covalent bounds formed among the carboxylic groups of the MWCNTs and the superficial groups of Hematite. The nanocomposite was evaluated by UV-VIS Spectroscopy, where it was demonstrated that the concentrations used for the analysis (0.197 to 0.547 μ M) do not cause aggregations of the photosensitizing when being part of the synthesized nanocomposite. At the moment of evaluating the nanocomposite in relation with the time and comparing it with VCL/PEGDA-ZnMintPc, the first revealed better stability in time with ZnMintPc that will allow the nanocomposite to arrive to the specific area of treatment and enter in the white cells and allow to do the Photodynamic Therapy maintaining the photophysical characteristics of the photosensitizing. It was observed that during the 24 hours of evaluation, there was no aggregation of the photosensitizing, by this characteristic, it demonstrates to be an optimum vehicle to transport ZnMintPc, therefore is would be recommended to apply it in Photodynamic Therapy.

KEY WORDS: <TECHNOLOGY AND MEDICAL SCIENCES>, <BIOPHYSICS>, <BIOMEDICINE>, <PHOTODYNAMIC THERAPY>, <CARBON NANOTUBES>, <MAGNETIC NANOPARTICLES>, <PHOTOSENSITIZING>, <NANO GEL>.

INTRODUCCIÓN

Los nanotubos de carbono (CNTs por sus siglas en inglés Carbon Nanotubes) han sido producido desde hace muchos años atrás pero solamente se los pudo observar a partir de 1991 cuando Iijima los sintetizó por el método de Descarga de Arco y los observó en un microscopio electrónico en donde estudió estructuras cilíndricas que alcanzaban longitudes micrométricas y diámetros nanométricos; posteriormente él mismo identificó dos tipos de CNTs: los de pared simple (SWCNTs) y los de pared múltiple (MWCNTs) (Iijima, 1991, p. 56-58).

A partir de este acontecimiento han generado gran interés en varios campos entre ellos el de la biomedicina ya que gracias a sus propiedades ópticas, cinéticas, eléctricas pueden ser utilizados para diferentes aplicaciones entre ellas se encuentra marcador biológico, biosensor y el transporte de fármacos para tratamiento de cáncer; aplicaciones que son posibles gracias a su carácter lipofílico que le permite penetrar fácilmente en la célula por difusión de la bicapa lipídica o durante endocitosis (Smalley, Dresselhaus y Dresselhaus, 2003; Smart et al., 2006, p. 1034-1047).

Las Nanopartículas Magnéticas (MNPs por sus siglas en inglés Magnetic Nanoparticles) son estructuras que poseen propiedades catalíticas, eléctricas y magnéticas y son ampliamente utilizadas en bioaplicaciones como transportador de fármacos y como medio de contraste en la adquisición de imágenes en MR, las MNPs pueden mejorar sus propiedades al funcionalizarse con algunos compósitos como por ejemplo al ser adsorbidas en los CNTs forman un compósito con mejores propiedades superparamagnéticas, lo cual le permitirá ser un nanovehículo capaz de ser dirigido por un campo magnético externo.

Tanto los CNTs como las MNPs son utilizados como nanovehículos par transporte de Fotosensibilizantes usados en Terapia Fotodinámica con el fin de que el PS sea aprovechado solo en sitios a tratar. La PDT consiste en la interacción de tres elementos fundamentales: el fotosensibilizante (PS por sus siglas en inglés), la luz (a una determinada longitud de onda) y el oxígeno, para generar ROS (Especies Reactivas de Oxígeno) que provocan la muerte celular.

En el presente trabajo se realizó un Nanovehículo compuesto de MNPs de Hematita adsorbidas en MWCNTs, el cual se cargó con el PS ZnMintPc utilizado en Terapia Fotodinámica y se encapsuló con VCL-PEGDA, el Nanovehículo fue caracterizado por Espectroscopia FT-IR, Raman y se evaluó funcionalización con el PS utilizando Espectroscopia UV-VIS.

CAPÍTULO I

1. MARCO REFERENCIAL

1.1. Antecedentes

Los Nanotubos de Carbono (CNTs por sus siglas en inglés Carbon Nanotubes) son estructuras alotrópicas del carbono formadas a partir de una lámina de grafito enrollada sobre sí misma. Los CNTs fueron sintetizados por primera vez por Iijima en el año de 1991 descubriendo así que los átomos de carbono pueden presentarse en forma de tubos cilíndricos (Iijima, 1991, p. 56-58) de diez nanómetros de diámetro con varias capas coaxiales denominándolos Nanotubos de Carbono de Pared Múltiple (MWCNTs por sus siglas en inglés Multi-walled Carbon Nanotubes).

La síntesis de CNTs se ha realizado mediante varios procesos uno de los primeros fue por arco de descarga eléctrica en donde han logrado obtener los dos tipos de estructuras cilíndricas que poseen los CNTs: la primera de nanotubos de carbono de pared simple (SWCNTs) y otra ya nombrada Nanotubos de Carbono de Pared Múltiple (MWCNTs) (Iijima y Ichihashi, 1993, p. 603-605).

A partir del descubrimiento de los CNT se han logrado sintetizar una nueva clase de materiales como son: nanoruedas, nanobastones, fullerenos, hojas de grafeno, etc; que se han utilizado en una amplia variedad de aplicaciones incluyendo: farmacia, biología, ciencia de materiales, tribología ambiental, ingeniería aeroespacial, etc. (Rapoport, Fleischer y Tenne, 2005, p. 1782; Georgakilas et al., 2015, p. 4744-4822; Baughman, Zakhidov y Heer, 2002).

Uno de los primeros trabajos en donde se funcionalizaron CNTs con Nanopartículas Magnéticas (MNPs por sus siglas en inglés Magnetic Nanoparticles) fue realizado por Sun, Z., et al. (2005, p. 2993-2997); lograron preparar por descomposición térmica el nanocompósito con nanopartículas de Fe_2O_3 para utilizarlos como un sensor altamente eficaz de H_2S . Posteriormente en el 2009 se realizaron varios trabajos entre ellos están:

Liu, Y. et al.(2009, p. 408-412) donde prepararon mediante precipitación química in situ el compuesto magnético Fe_3O_4 -CNTs en el cual se logró demostrar que este complejo tenía propiedades superparamagnéticas.

Balacianu, F., et al. (2009, p. 219-222) en el mismo año prepararon nanopartículas magnéticas por el método de co-precipitación, las cuales posteriormente fueron sintetizadas por funcionalización covalente directa con MWCNTs.

En el campo de la Biomedicina se han realizado trabajos en donde los CNTs-MNPs son utilizados como agente de contraste en Resonancia Magnética (Wu et al., 2011, p. 4867-4876, 2011, p. 3496-3504) y también como nanovehículos transportadores de fármacos especialmente para tratamiento de diferentes tipos de cáncer, como por ejemplo:

Lu, Y., et al. (2012, p. 1-9) funcionalizaron a los MWCNTs con poli(ácido acrílico), luego los decoraron con MNPs y conjugaron con ácido fólico como orientador del nanovehículo, este complejo transportó Doxorubicina (DOX) y fue dirigido a través de un campo magnético externo, donde se demostró que hay una mayor citotoxicidad para células de glioblastoma(U87).

Hosseini, L., et al. (2016, p. 176-182) desarrollaron el nanovehículo PLA/MWCNT/Fe₃O₄ para transportar Daunorrubicina un fármaco para tratamiento de leucemia, la liberación del fármaco se realizó por el método No Fickiano y mostró un efecto citotóxico para células K562 de leucemia.

1.2. Planteamiento del Problema

1.2.1. Formulación del Problema

¿Los Nanotubos de Carbono de Pared Múltiple funcionalizados con Nanopartículas Magnéticas son eficientes transportando el fármaco ZnMintPc utilizado en la Terapia Fotodinámica?

1.2.2. Sistematización del Problema

¿El método de co-precipitación permite un buen acoplamiento de las nanopartículas magnéticas en los Nanotubos de Carbono de Pared Múltiple?

¿La Espectroscopia Raman proporciona una caracterización total del nanovehículo MWCNT's-MNP's?

¿La Espectroscopia UV-VIS proporciona toda la información acerca del nanocompósito MWCNT's-MNP's-ZnMintPc?

¿El nanogel VCL/PEGDA dispersa eficientemente el nanocompósito?

1.3. Justificación

El descubrimiento de los Nanotubos de Carbono se ha convertido en una innovación de la nanotecnología durante las últimas dos décadas especialmente utilizándolos para el desarrollo de nanosistemas útiles en biomedicina (Wu et al., 2011, p. 3496-3504; Hosseini, Mahboobnia y Irani, 2016, p. 176-182; Chen et al., 2012, p. 16469-16476).

Debido a las propiedades ópticas, catalíticas y superparamagnéticas (Liu et al., 2009, p. 408-412; Demir et al., 2014, p. 75-80; Zuo et al., 2009, p. 617-623) que adquiere el nanosistema al ser funcionalizado con diversos compuestos, se ha generado una amplia variedad de aplicaciones entre las cuales tenemos: sensor de hidrácidos (Sun et al., 2005, p. 2993-2997), extracción de colorantes orgánicos (Qu et al., 2008, p. 643-647) y especialmente como nanotrasportador en tratamiento de cáncer (Mönch et al., 2005, p. 276-278; Li et al., 2011, p. 1797-1805; Yang et al., 2011, p. 1873-1882).

La presente investigación se enfoca en la aplicación de los Nanotubos de Carbono en el campo de la biomedicina, pretendiendo así realizar la funcionalización de los Nanotubos de Carbono de Pared Múltiple con Nanopartículas Magnéticas de Hierro con el fin de obtener un nanosistema que podrá ser usado en un el futuro en la Terapia Fotodinámica (PDT por sus siglas en inglés) como un nanovehículo de fármaco ya que gracias a las propiedades superparamagnéticas le permitirán ser dirigido mediante un campo magnético externo hacia el sitio donde se encuentre el tumor.

Se ha elegido utilizar MWCNTs ya que gracias a su estructura pueden transportar grandes cargas de fármacos y por su facilidad de penetrar la célula ya sea a través de la bicapa lipídica o durante la endocitosis (Kam et al., 2004; Lu et al., 2012, p. 1-9). El ZnMintPc y los MWCNTs son fuertemente hidrofóbicos y tiende a agregarse en medios acuosos (Soares et al., 2009; Garcia et al., 2011, p. 507-14; Hummer, Rasaiah y Noworyta, 2001, p. 188-190) por lo que necesitan un vehículo lipofílico para transportarlo en un medio acuoso (Xia, Monteiro-Riviere y Riviere, 2010, p. 671-675; Montes, 2009; Kam y Dai, 2005, p. 6021-6026). El VCL-PEGDA es una nanogel biocompatible y es capaz de pasar de un estado hinchado a uno colapsado al estar expuesto a un cambio físico, químico o bioquímico (Forcada et al., 2011).

Este nanocompósito se podrá utilizar en la PDT vía intravenosa y se lo puede dirigir al órgano a tratar a través de un campo magnético externo, para la liberación del fármaco el nanogel debe

pasar a un estado colapsado por aumento de temperatura lo cual se logra a través de un aumento de la intensidad del campo magnético el cual inducirá un aumento de temperatura en la parte del cuerpo aplicado (Rayo y Guerrero, 2014, p. 17-38), una vez liberado el fármaco se lo dejará actuar durante un tiempo y posteriormente este será irradiado con luz visible de una adecuada longitud de onda.

La PDT consiste en la interacción de la luz con el fotosensibilizante (PS, Photosensitizer), lo cual provoca que el PS pasen de un estado fundamental S_0 a un estado excitado S_1 , donde se puede tener varios mecanismo de decaimiento hacia S_0 como un cruce intersistemas hacia un estado triplete con emisión de fluorescencia y que interacciona con moléculas de oxígeno molecular generando ROS, especialmente oxígeno singlete que es el causante de la muerte de las células tratadas (Castano, Mroz y Hamblin, 2006; Ackroyd, Kelty y Brown, 2001, p. 425; Dai et al., 2012, p. 120).

La PDT puede ser utilizada para tratamiento de enfermedades de piel como es la queratosis actínica o varios tipos de cáncer entre ellos de piel, cerebro, cabeza, cuello, mamas, pulmón, próstata, páncreas y cavidad intraperitoneal (Dolmans, Fukumura y Jain, 2003, p. 380-387; Agostinis, Berg y Cengel, 2011; Dougherty, 2002, p. 3-7).

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo General

Funcionalizar Nanotubos de Carbono de Pared Múltiple con Nanopartículas magnéticas para transportar el fotosensibilizante ZnMintPc, visando aplicaciones en Terapia Fotodinámica.

1.4.2. Objetivos Específicos

- Sintetizar y caracterizar el nanovehículo MWCNT's-MNP's
- Funcionalizar y caracterizar el compuesto MWCNT's-MNP's con el fotosensibilizante ZnMintPc encapsulado en nanogel VCL/PEGDA.
- Estudiar la eficiencia del nanocompósito resultante VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs-ZnMintPc.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Nanotubos de Carbono

Los Nanotubos de Carbono (CNTs por sus siglas en inglés Carbon Nanotubes) son estructuras bidimensionales alotrópicas del carbono, como el grafito, diamante y fullerenos. Los CNTs se consideran como láminas de grafito enrolladas sobre sí mismas de diámetros nanométricos y longitudes micrométricas, en el año de 1991 fueron observados por primera vez con la ayuda de un microscopio electrónico por Iijima, el cual los sintetizó utilizando el método de descarga de arco, un método similar al usado para la síntesis de fullerenos (Iijima, 1991, p. 56-58).

Los CNTs poseen propiedades ópticas (Wan, Dong y Xing, 1998), eléctricas (Hong y Myung, 2007, p. 207-8), térmicas (Pop et al., 2006, p. 96-100), físicas (Saito, Dresselhaus y Dresselhaus, 1998) y cinéticas (Guan, Suenaga y Iijima, 2008, p. 459-62). Son utilizados en una variedad de bioaplicaciones entre las cuales tenemos: nanotransportador de fármaco, biosensor electroquímico, marcador biológico, entre otras (Bianco, Kostarelos y Prato, 2005, p. 674; Yang et al., 2007).

2.1.1. Estructura y Morfología de CNT

La estructura de una pared de un CNT viene expresada en términos de su ángulo quiral (θ) y su vector quiral $\vec{C} = n \vec{a}_1 + m \vec{a}_2$ en donde n y m (índices de Hamada) son números enteros que indican el número de pasos que existe entre los enlaces de la red hexagonal de carbonos de nanotubo y \vec{a}_1 y \vec{a}_2 son los vectores unitarios .

Según los índices de Hamada podemos encontrar tres tipos de estructuras: armchair ($m=n$, $\theta=30^\circ$), zig-zag ($m=0$, $\theta=0^\circ$) y quiral ($m \neq n \neq 0$, $0^\circ < \theta < 30^\circ$) (Smalley, Dresselhaus y Dresselhaus, 2003). En la Figura 1-2A se observa un CNT desenrollado en donde al unir los bordes de las líneas entrecortadas en amarillo se forma la estructura cilíndrica, el primer borde se lo nombrara vector T e indica la dirección de crecimiento del nanotubo y será perpendicular al vector quiral, mientras que el vector H indica la dirección de las filas hexagonales marcadas con puntos negros que se encuentran más cercanas al vector T.

Si tomamos un átomo de carbono de la red que interseque con el vector T (línea amarilla) da lugar al índice (0,0) a partir del cual se trazará una línea que corte a la mitad cada hexágono de la red a esta línea se la llama línea de sillón (armchair, línea punteada).

Del punto donde intersecó la línea sillón con la línea amarilla se busca el átomo de Carbono más cercano que interseque exactamente con la línea amarilla, el índice (0,0) con este nuevo índice marcaran el inicio y fin del vector quiral \vec{C} ya mencionado y el módulo de este vector corresponderá al diámetro del CNT. Finalmente trazamos un vector horizontal desde (0,0) de manera que pase tocando un átomo de carbono de una fila de manera que encima de este vector se forme una estructura zigzag.

El ángulo formado entre los vectores A y C se denomina ángulo quiral θ y al ángulo formado entre C y la línea silla se lo denomina ϕ . Si tomamos la medida del ángulo quiral y la trasladamos a C bajo el ángulo ϕ logramos formar el vector B. Estos dos vectores corresponden a una prolongación de los vectores unitarios \vec{a}_1 y \vec{a}_2 es decir cada vector unitario multiplicado por su respectivo índice de Hamada $n\vec{a}_1 + m\vec{a}_2$.

Estas estructuras nos ayudan a conocer las propiedades de conductividad eléctrica, densidad entre otras, definida por la quiralidad del CNT, por ejemplo cuando $\frac{n-m}{3}$ es igual a un número entero el CNT es metálico y por lo tanto será un buen conductor eléctrico de lo contrario será un CNT semiconductor (Smalley, Dresselhaus y Dresselhaus, 2003; Poole y Owens, 2007).

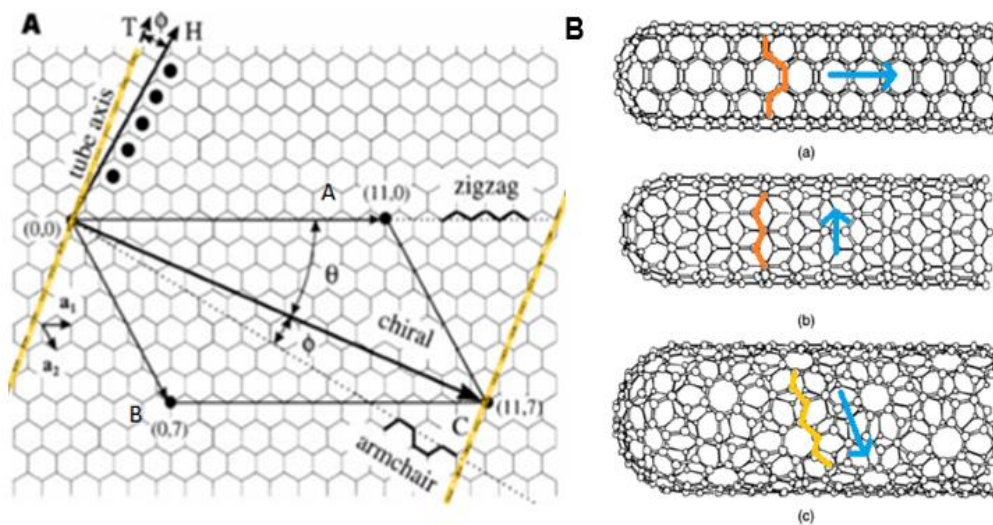


Figura 1-2: A) Tipos de estructuras de los Nanotubos de Carbonos. B) Imágenes STM de Nanotubos de Carbono de Pared Simple.

Fuente: Wilder, J. et.al., 1998; Poole, C. et.al. 2007.

2.1.2. Clasificación de CNT

En la Figura 2-2, se puede observar una representación de dos tipos de nanotubos, en la Figura 2-2A se encuentra un Nanotubo de Carbono de Pared Simple (SWCNTs por sus siglas en inglés: Single-Walled Carbon Nanotubes) los cuales presentan un diámetro de entre 0.4 a 2 nm y una longitud en el orden de los micrómetros (0.2 a 5 μm), en Figura 2-2B se presenta un Nanotubo de Carbono de Pared Múltiple (MWCNTs por sus siglas en inglés Multi-Walled Carbon Nanotubes) los cuales presentan diámetros entre 2 a 100 nm y se consideran como SWCNTs de diferente diámetro envuelto uno sobre otro a manera de capas con una separación entre capa de 0.34 a 0.36 nm aproximadamente (Cheung et al., 2010, p. 633-649; Reilly, 2007, p. 1039-42).

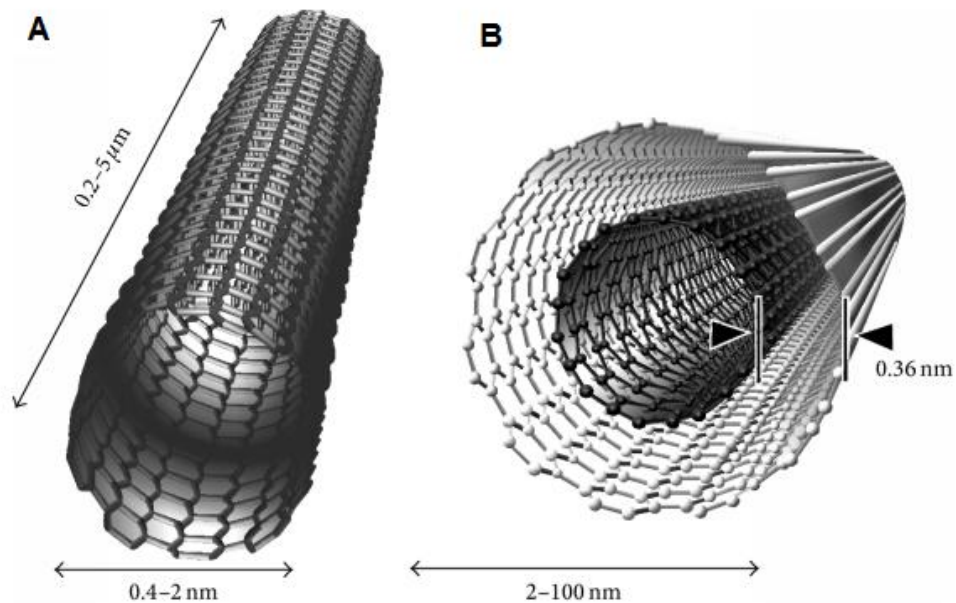


Figura 2-2: Nanotubo de Carbono de pared Simple. B: Nanotubo de Carbono de Pared Múltiple.

Fuente: Reilly, R., 2007, p. 1040.

2.1.3. Método de Producción de CNT

Los métodos más utilizados para producir CNTs son los siguientes:

- **Deposición Química en fase de Vapor de hidrocarburos (CVD):** Consiste en la utilización de un reactor con un ambiente inerte a baja presión el cual posee un sustrato a base de metales que pueden ser: Fe, Ni, Co, Au (espesor =1-50 nm), los cuales actúan como catalizador, el reactor se calienta a altas temperaturas (600°C-700°C) y se añade poco a poco carbono en forma de gases como metano, acetileno o etileno, durante el proceso de mezcla del gas inerte con el hidrocarburo, se liberan átomos de carbono sobre el catalizador metálico provocando

que se desprendan partículas catalíticas y estas sirvan como centro para la formación de los CNTs, de esta manera el diámetro de los CNTs dependerá del tamaño de las partículas catalíticas, posteriormente estas partículas se pueden eliminar con un tratamiento ácido (Fan et al., 1999; Rodney Andrews et al., 2002; Smalley, Dresselhaus y Dresselhaus, 2003).

- **Ablación Láser:** Consiste en bombardear con pulsos intensos de láser, láminas de grafito dentro de un reactor de alta temperatura en atmósfera inerte, los MWCNTs se forman cuando el gas caliente de carbono llega a condensarse en las paredes frías del reactor. Se han utilizado catalizadores como Cu, Ni o Co para mejorar el diámetro de SWCNTs (Journet y Bernier, 1998, p. 1-9; Smalley, Dresselhaus y Dresselhaus, 2003).
- **Arco de Descarga Eléctrica:** Esa técnica fue utilizada en la primera producción de MWCNTs realizada por Iijima en 1991 (Iijima, 1991, p. 56-58). Este método consiste en la formación de un arco eléctrico que se produce cuando en una atmósfera inerte a baja presión se enfrentan dos electrodos de grafito a una distancia menor a 1mm. Cuando se hace pasar una corriente intensa (del orden de cientos de Amperios) por los electrodos se produce plasma caliente de carbono formado por la sublimación de la superficie de los electrodos y el cual al enfriarse forma los CNTs (Ando y Zhao, 2006)

2.1.4. Purificación

La purificación de los CNTs se puede realizar por métodos químicos o físicos:

- Un método muy utilizado, es el método de oxidación química en el cual se usa un ataque ácido que genera una reacción de alta temperatura provocando la eliminación de impurezas en los CNTs, se puede usar H_2SO_4 y HNO_3 para el ataque ácido (Chiang, Brinson y Smalley, 2001; Stobinski et al., 2010; Hiura, Ebbesen y Tanigaki, 1995).
- Dentro de los métodos físicos tenemos:
 1. El ultrasonido donde las impurezas se dispersaran debido a la vibración este proceso deberá ser acompañado de centrifugación.
 2. La microfiltración es un método poco eficiente ya que algunas partículas amorfas en los CNTs pueden tener un tamaño mayor al del diámetro del poro filtro.
 3. La separación magnética en donde impurezas metálicas son atraídas por un campo magnético logrando separarlas de los CNTs.

Para lograr una mayor pureza de los CNTs se puede utilizar un método mixto como por ejemplo: la filtración con un ataque ácido (Shelimov, Esenaliev y Rinzler, 1998; Bandow et al., 1997).

2.1.5. Funcionalización de CNT

2.1.5.1. Covalente

Esta funcionalización se realiza durante reacciones de oxidación siguiendo el mismo proceso de la purificación, es decir por ataque ácido, lo que da lugar a la formación de grupos hidrófilos en los CNTs (Rosca et al., 2005), en el caso de usar ácido nítrico y sulfúrico se observa que existe una introducción de grupos carboxilo a los extremos y en la periferia de los CNTs como se puede observar en la Figura 3-2, los cuales permitirán la unión con otras moléculas a través de uniones covalentes, que dependiendo del tipo de molécula con que interaccione el CNT, dará lugar a un enlace amida, amina, ester o tiol (Banerjee, Hemraj-Benny y Wong, 2005; Lariza et al., 2012; Choudhary y Gupt, 2011).

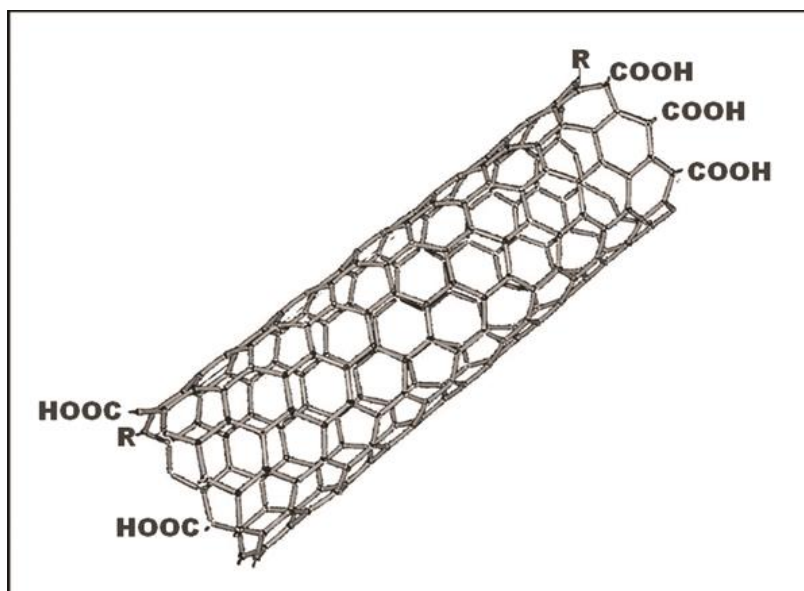


Figura 3-2: Funcionalización Covalente de CNTs.

Fuente: Choudhary, V. y Gupt, A., 2011. 2011, p. 71

2.1.5.2. No Covalente

Esta funcionalización permite conservar las propiedades de los nanotubos, no los altera ni destruye, es decir se puede considerar una funcionalización no destructiva y se da por la adsorción de moléculas en la superficie de los CNTs, produciéndose aparentemente interacciones electrostáticas, de Van del Waals o de apilamiento π - π , estas interacciones se pueden dar con

surfactantes, polímeros o compuestos aromáticos como porfirinas y ftalocianinas (Lariza et al., 2012; Banerjee, Hemraj-Benny y Wong, 2005).

Los surfactantes y polímeros pueden evitar la aglomeración de los CNTs, logrando así su individualización en un medio acuoso, es decir serán capaces de actuar como una envoltura y conservar propiedades de conductividad térmica y eléctrica (Valerie C. Moore et al., 2003; O'Connell et al., 2001, p. 265-271). Al interactuar los CNTs con aromáticos se da lugar a interacciones π - π que permiten un buen anclaje de las moléculas a las paredes de los CNTs, lo que hace posible crear una funcionalización no-covalente supramolecular que es utilizada principalmente para sistemas de entrega de fármacos (Tasis et al., 2006, p. 1105-1136; Chacko et al., 2012, p. 836-851).

Un ejemplo de funcionalización covalente y no covalente se puede observar en la Figura 4-2 en donde se utiliza un nanogel de PEG para dispersar y envolver al nanovehículo (SWCNTs) y lograr llevar DOX (doxorubicina, fármaco utilizado para tratamiento de cáncer). Se usó ácido fólico como un marcador de dirección. En b) muestra la funcionalización covalente entre los grupos carboxílicos de un SWCNT y los grupos superficiales del polímero PEG (en color azul, Polietilenglicol) utilizada para lograr una dispersión de los SWCNTs en un medio acuoso, mientras que en a) se da una funcionalización no covalente supramolecular entre el SWCNT y los fosfolípidos-PEG a través de interacciones hidrofóbicas, además también se utilizó esta funcionalización para lograr el anclaje de DOX(en color rojo) en la superficie del SWCNT por medio de interacciones π - π (Chacko et al., 2012, p. 836-851).

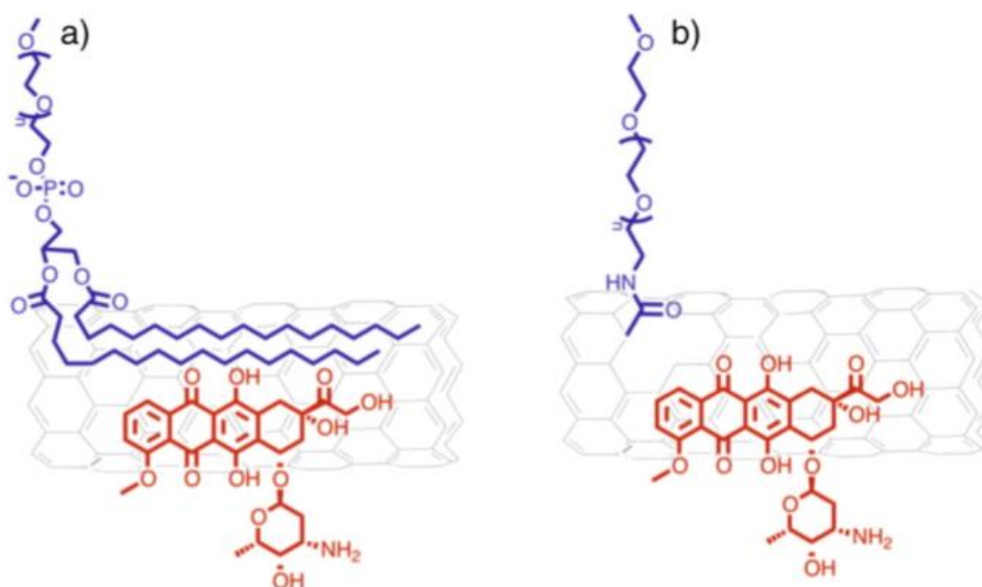


Figura 4-2: DOX(color rojo) cargado a lo largo de la superficie de un CNT. a) Funcionalización No-Covalente. b) Funcionalización Covalente con PEG(color azul).

Fuente: Chacko, R. et.al., 2012, p. 839.

2.1.6. Toxicidad de CNT

Se han realizado pruebas especialmente de la toxicidad de los CNTs en tejido pulmonar de ratas y truchas donde se ha administrado dosis de 0.5 a 5 mg de CNTs dando lugar a lesiones en las vías respiratorias, reacciones inflamatorias y fibróticas (Muller et al., 2005; Smith, Shaw y Handy, 2007). Esta reacción es provocada por un exceso de tensioactivos usados en la dispersión de los CNTs, algunos de ellos tóxicos para el organismo (Dong et al., 2008, p. 255702). Según estudios realizados por Sayes, C. et al. (2006) demuestra que los CNTs funcionalizados o decorados con ciertos elementos en su superficie pueden disminuir la toxicidad de estos en el organismo incluso en dosis altas. (Sayes et al., 2006, p. 135-142)

2.2. Nanopartículas Magnéticas

Las nanopartículas magnéticas (MNPs por sus siglas en inglés Magnetic Nanoparticles) son sistemas de tamaño nanométrico que poseen propiedades ópticas, eléctricas, catalíticas y magnéticas las cuales dependen de la relación Área Superficial –Volumen; es decir, mientras más pequeña sea la MNP, mayor cantidad de átomos habrán en la superficie y estos serán átomos disponibles para unión con ligandos, además que al tener carácter magnético mientras más pequeña sus átomos tendrán una sola orientación magnética, es decir formarán un monodominio magnético (Kodama, 1999, p. 359-372; Lu, Salabas y Schüth, 2007, p. 1222-1244).

Además, las MNPs pueden tener anclado diferentes ligandos que pueden ser: fármacos, genes, entre otros. Las MNPs son utilizadas especialmente en la Biomedicina ya que gracias a sus propiedades magnéticas son útiles en el transporte de fármacos, terapia del cáncer y adquisición de imágenes en MR (Fang y Zhang, 2009, p. 6258; Scarberry et al., 2008, p. 10258-62; Pankhurst et al., 2003, p. R167-R181).

En la Figura 5-2 se puede observar en la parte a) la TEM de MNPs de Fe_3O_4 , en la parte b) se encuentra un esquema de una Nanopartícula de núcleo de Fe_3O_4 cubierta con una capa de SiO_2 transportando Rutenio Tris-2,2-Bipiridina (Rubpy, colorante orgánico), que sirve para dar luminiscencia al compósito, por lo cual poseerá propiedades superparamagnéticas y luminiscentes y en la parte c) se puede observar una MNPs de Fe_3O_4 a la cual se encuentra anclada fotosensibilizante que puede ser zinc ftalocianina o termoporfin (Foscan) usados para la Terapia Fotodinámica.

La síntesis de este último nanocompósito se realizó con el fármaco disperso en un medio oleoso debido a su carácter hidrofóbico y las MNPs en un medio acuoso con surfactante. Finalmente

fueron mezclados formando un complejo capaz de ser dirigido a través de un campo magnético externo (Reddy et al., 2012, p. 5818-5878).

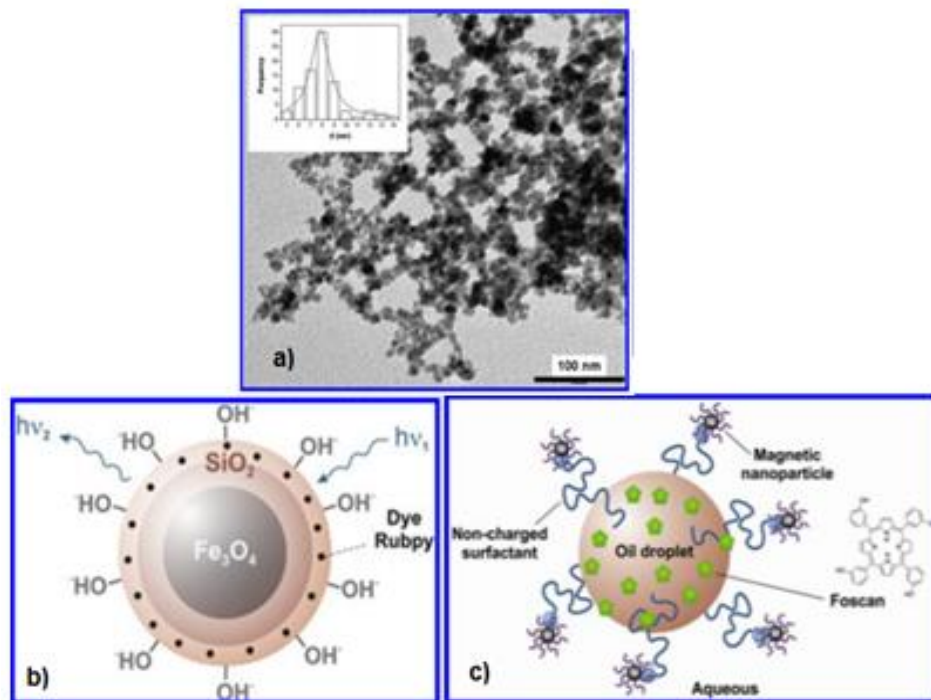


Figura 5-2: a) TEM de MNPs de Fe_3O_4 . b) Esquema de NP con un núcleo de Fe_3O_4 cubierta con SiO_2 . c) Esquema de una MNP con Foscan (PS) para aplicación en Terapia Fotodinámica.

Fuente: Reddy, L. et. al., 2012., pp. 5820, 5826, 5847.

2.3. Síntesis de Nanopartículas Magnéticas en Nanotubos de Carbono

Para la síntesis de MNPs existen métodos físicos como: condensación de gas inerte y molienda mecánica y métodos químicos como: Co-precipitación, Solvotermal, hidrottermal, sol-gel, oxidoreducción y técnica del polioliol, pero los entre los más utilizados para aplicaciones biomédicas tenemos el de Co-precipitación y el Solvotermal. El anclaje de MNPs en los CNT se da a la par durante su síntesis. Para estos procedimientos es necesario que los MWCNTs sean purificados mediante ataque ácido con H_2SO_4 y HNO_3 en una relación 3:1 (Kong, Lu y Zhang, 2008, p. 628-636).

2.3.1. Método de Co-precipitación

Este método consiste en la dispersión de los MWCNTs en agua pura. Luego se dispersan sales de hierro que pueden ser: sulfato de Hierro II ($FeSO_4$) y sulfato de Hierro III ($Fe_2(SO_4)_3$) (Castrillón García, Irusta Alderete y Meier, 2012) o Cloruro de Hierro II tetrahidratado ($FeCl_2 \cdot 4 H_2O$) y

Cloruro de Hierro III Hexahidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$) (en relación 1:2) en agua pura (Răcuci, Creangă y Airinei, 2006, p. 117-121; Teymourian, Salimi y Hallaj, 2012, p. 60-68).

Posteriormente se unen las dos muestras y se las dispersa en un medio básico en una atmósfera inerte a baja presión, luego se somete la muestra a sonicación. La solución resultante es purificada por filtración y neutralizada el pH, finalmente es centrifugada y solo se conserva la solución del fondo que es donde se encuentran las nanopartículas magnéticas en MWCNTs (FAN y LI, 2012, p. 111-116). Con este método se obtienen CNTs de 100 a 150 nm diámetro y aproximadamente $1 \mu\text{m}$ de largo y MNPs de 17 a 20 nm de diámetro (Qu et al., 2008, p. 643-647; Balacianu et al., 2009, p. 219-222).

En la Figura 6-2 se muestra los resultados obtenidos según Kong, L. et.al (2008) al utilizar el método de Co-precipitación. El literal a) muestra una imagen TEM del compuesto en donde se observa que las MNPs se encuentran funcionalizadas en los MWCNTs mientras que en la parte b) se observa la caracterización por espectroscopia Raman de las MWCNTs puros y tratados y del compuesto final. Se puede observar que no existe una variación de las bandas D y G de los MWCNTs puros y tratados y del compuesto final lo que indica que los MWCNTs al modificar su superficie por las MNPs no afectan a su estructura (Kong, Lu y Zhang, 2008, p. 628-636).

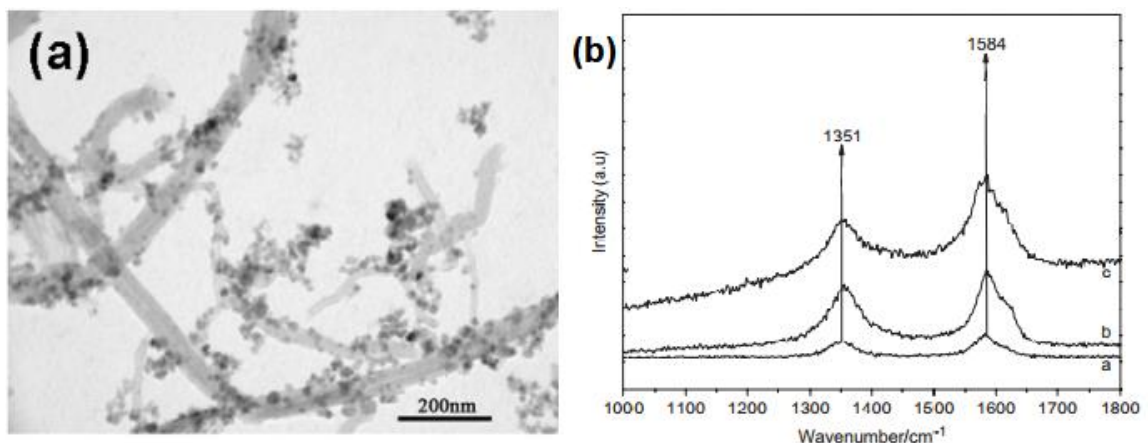


Figura 6-2: a) TEM MWCNTs-MNPs y b) Raman: a. MWCNTs Puros, b. MWCNTs Tratados con ácidos y c. MWCNTs-MNPs.

Fuente: Kong, L., et. al., 2008, pp.631, 635.

2.3.2. Método Solvotermal

El método consiste en la dispersión de sales de Hierro y MWCNTs tratados en un solvente orgánico como puede ser el etilenglicol o/y dietilenglicol los cuales a la vez actuarán como un reductor del compuesto. La muestra se coloca en el autoclave a una temperatura de

aproximadamente 200°C y en baño de aceite por 30 min. Finalmente el compuesto es lavado con agua pura o etanol (Wu et al., 2011, p. 3496-3504; Xiao et al., 2012).

En la Figura 7-2 se muestra la caracterización TEM y SEM del compuesto MWCNTs-MNPs, en donde se observa que las MNPs se encuentran acopladas en los MWCNTs y las MNPs poseen diámetros entre 14 y 40 nm (Deng, Wen y Wang, 2012, p. 3369-3376).

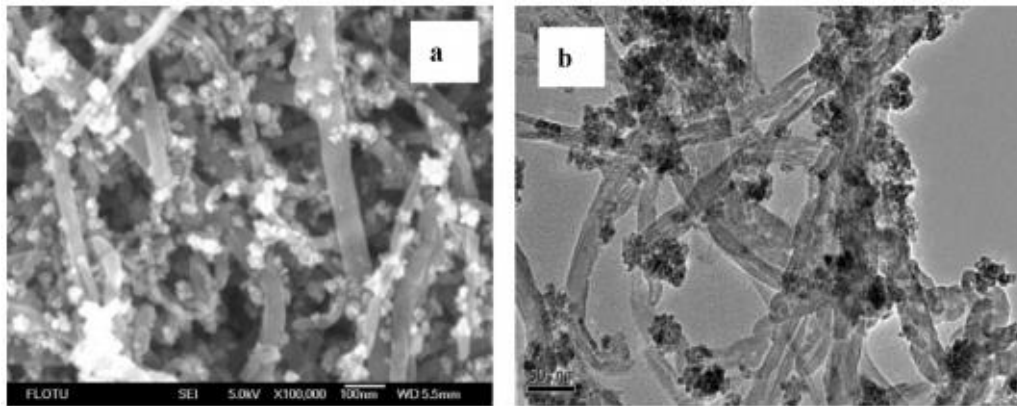


Figura 7-2: a. TEM y b. SEM de MWCNTs-MNPs.

Fuente: Deng, J., et.al, 2012, p. 3372

2.4. Técnicas de Caracterización

2.4.1. Espectroscopia Raman

Esta técnica se basa en los fenómenos de dispersión inelástica de un haz monocromático sobre el material a analizar, realizando así un análisis de los modos vibracional y rotatorio de las moléculas proporcionando finalmente información estructural y química del nanocompuesto (Lobo et al., 2008, p. 98-103). Como por ejemplo en la Figura 6-2b se muestra el espectro Raman de los MWCNTs puros y tratados y del compuesto MWCNTs-MNPs en donde se observa que la relación entre las bandas D (banda a 1351 que indica la presencia de una estructura desordenada de grafito) y G (banda a 1584 se atribuye a la banda de grafito que indica la presencia de un sistema sp^2) no tienen una variación significativa lo que significa que el material al ser tratado con ácidos y funcionalizado con las nanopartículas no sufre cambios estructurales.

2.4.2. Microscopia Electrónica de Barrido (SEM)

Esta caracterización conocida como SEM (por sus siglas en inglés Scanning Electron Microscope) nos brinda información morfológica y química del nanocompuesto (Oatley, Nixon y Pease, 1966). En

la Figura 7-2b se puede observar la imagen SEM de MWCNTs-MNPs en donde se visualizan las MNPs acopladas en los MWCNTs existiendo un contraste diferente para cada estructura.

2.5. Terapia Fotodinámica

La Terapia Fotodinámica (PDT por sus siglas en inglés de Photodynamic Therapy) es una técnica que consiste en la interacción de luz, fotosensibilizante (PS por sus siglas en inglés Photosensitizer) y oxígeno, que al combinarse producen ROS (Especies reactivas de oxígeno) los cuales son capaces de provocar la muerte celular. Es mínimamente invasiva y tóxica por lo cual es generalmente usada para tratar enfermedades de la piel y algunos tipos de cáncer como de piel, próstata, cuello, pulmón, mamas, entre otros (Triesscheijn et al., 2006, p. 1034-44; Hopper, 2000, p. 212-219; Dolmans, Fukumura y Jain, 2003, p. 380-387).

2.5.1. Mecanismo de Acción

La PDT tiene como objetivo la foto-oxidación de células cancerígenas de un órgano o tejido. Comienza con la administración del PS que puede ser vía tópico o intravenoso. Posteriormente se procede a irradiar la zona a tratar con luz visible de una adecuada longitud de onda, provocando que las moléculas del PS absorban fotones los cuales promoverán al PS a un orbital de energía superior, es decir el PS pasa de un estado fundamental S_0 a un estado excitado S_1 lo cual se puede observar en la Figura 8-2 (a). El PS puede decaer a su estado fundamental con emisión de fluorescencia (b) o por conversión interna (IC) que se dará en un tiempo muy corto (nanosegundos), o puede someterse a un cruce intersistemas (c) promoviendo el PS a un estado triplete (T_1) menos energético que el estado S_1 , pero con un tiempo de vida más largo (microsegundos), en donde el electrón excitado emite energía en forma de fosforescencia (d), además el PS en estado Triplete podrá reaccionar con Oxígeno molecular (O_2) por medio de dos tipos de mecanismos:

- Tipo I: El PS en estado T_1 reacciona directamente con sustratos biológicos vecinos en células cancerígenas para formar radicales e iones radicales. Los radicales pueden interactuar con oxígeno formando ROS como son los radicales: superóxido O_2^- , hidroxilo $-OH$ y peróxido de Hidrógeno H_2O_2 (e).
- Tipo II: El PS en estado T_1 reacciona directamente con oxígeno molecular para formar oxígeno singlete 1O_2 , un ROS altamente citotóxico (f).

Los ROS pueden interactuar con lípidos insaturados, restos de ácidos nucleicos y aminoácidos y si se produce suficiente daño oxidativo son capaces de matar las células diana que se encuentran dentro de la zona irradiada. (Castano, Mroz y Hamblin, 2006; Ackroyd, Kelty y Brown, 2001, p. 425; Dai et al., 2012, p. 120).

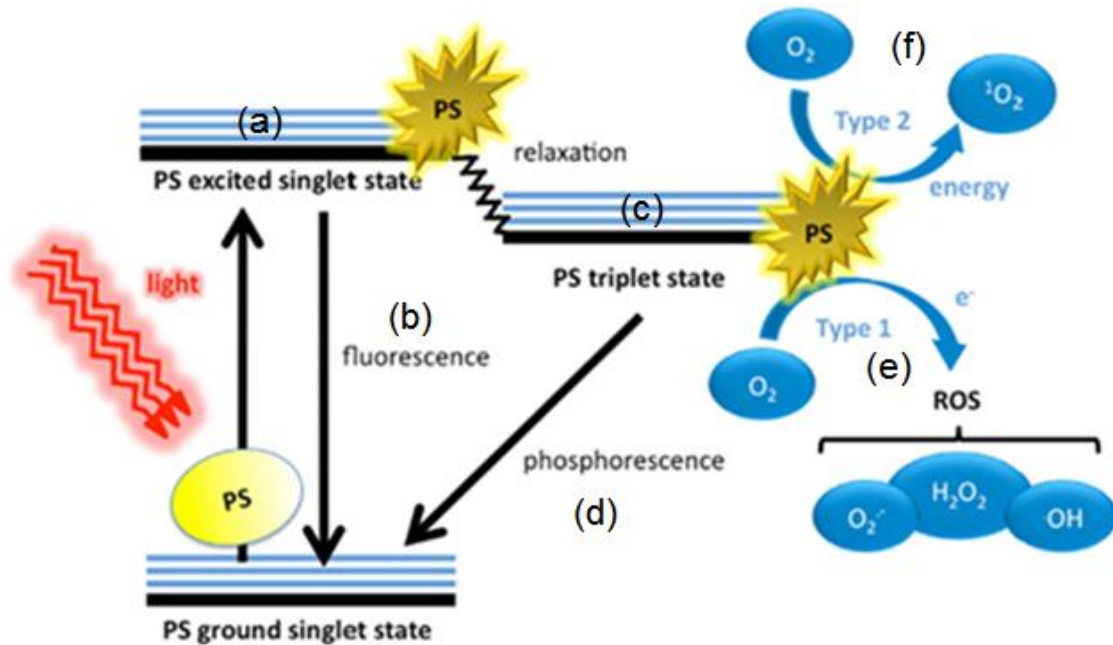


Figura 8-2: Esquema de la Terapia Fotodinámica.

Fuente: Dai, T. et. al., 2012.

2.5.2. Historia

El uso de la luz para curar enfermedades se remonta desde aproximadamente 3000 años atrás donde griegos, chinos, indios y egipcios utilizaban la luz para curar enfermedades como el vitiligo, cáncer a la piel, entre otros. En Grecia Heródoto en el siglo II a.C le brindó el nombre Helioterapia a la cura de enfermedades utilizando la luz solar. Y para el final de este siglo ya se practicaba la fototerapia en hospitales de Londres (Harber, 1983, p. 303-304).

En Múnich a inicios del siglo XX el profesor Von Tappeiner comenzó a hacer uso de la PDT sin darse cuenta, por lo cual se le considera como el pionero de la PDT, ya que intentaba descubrir el proceso de acción que ocurre al tratar el paludismo con quinina, además que se preguntaba por qué la acridina en comparación a otros compuestos era más tóxica para los protozoos al usarla in vitro pero este no era eficaz in vivo.

Posteriormente su alumno Oscar Raab, continuó con esta investigación y descubrió que el naranja de acridina expuesta a luz tenía un efecto letal sobre los paramecios, posteriormente se dio cuenta que durante este proceso había la emisión de fluorescencia lo cual le llevo a deducir que el causante de la toxicidad in vitro fue algún producto de la fluorescencia.

En 1900 Prime un neurólogo Francés presentó el primer reporte de Fotosensibilizantes administrados vía parenteral, cuando observó que las al tratar la epilepsia con eosina los pacientes que estuvieron expuestos al sol tendían a contraer dermatitis, información que fue utilizada con Von Tapperiner y el dermatólogo Jesionek para comenzar a utilizar la eosina tópica para eliminar tumores de la piel. Prime, Tappeiner y Jodlbauer demostraron que es necesario el oxígeno durante este proceso. Finalmente en 1907 se logró poner el nombre de “Terapia Fotodinámica” a este fenómeno (Daniell y Hill, 1991; Taub, 2003; Ackroyd, Kelty y Brown, 2001, p. 425)

En 1913 el alemán Friedrich Meyer-Betz fotosensibilidad presentó un informe sobre la porfirinas como fotosensibilizante en humanos (Meyer-Betz, 1913, p. 476-503.), posteriormente en 1924 se reportó la primera aplicación de hematoporfirinas para localización de tumores malignos realizada por el Francés Policard, quien observó que la hematoporfirina producía una fluorescencia roja en un sarcoma de una rata al ser expuesta a luz ultravioleta (Policard, 1924, p. 1423-1424; Policard y Leulier, 1924). Figge, F., Weiland G., Manganiello, L. (1948) aplicaron porfirinas como hematoporfirina, hematoporfirina de zinc, protoporfirina y coproporfirina en 240 ratones que poseían tumores y 50 que no los poseían y observó el tipo de fluorescencia que producía cada porfirina, llegando a concluir que la porfirina se puede usar para tratamiento de leucemias linfáticas (FIGGE, WEILAND y MANGANIELLO, [sin fecha], p. 640).

En 1995 el Photofrin fue aprobado como un fármaco para la Terapia Fotodinámica por la FDA (Food and Drug Administration) utilizado para tratamientos de cáncer de esófago y pulmón. Posteriormente se han ido descubriendo más fármacos capaces de utilizarse como fotosensibilizantes, entre ellos tenemos las ftalocianinas, feoforbides, precursores de porfirinas, proficenos y derivados de la clorina, los cuales han sido utilizados para PDT durante los últimos años se han desarrollado nanovehículos para llevar estos PS para de esta manera asegurar que el PS llegue al sitio adecuado por medios intravenosos (Dolmans, Fukumura y Jain, 2003, p. 380-387; Zuluaga y Lange, 2008, p. 1655-1673).

2.5.3. Fotosensibilizante

Los fotosensibilizantes (PS por siglas en inglés Photosensitizer) son compuestos sensibles o reactivos al ser expuestos a la luz y durante su reacción son capaces de producir sustancias

reactivas de Oxígeno denominadas ROS, lo cual produce efectos citotóxicos sobre microorganismos o en células dañadas (Wharton, Gali y Hamblin, 2009, p. 1-23). Un PS ideal necesita tener las siguientes características para su óptimo rendimiento en la PDT (Pushpan et al., 2002, p. 187-207; Moan, 1990; Allison et al., 2004, p. 27-42):

- Debe ser un compuesto químicamente puro y de síntesis reproducible.
- Debe tener un alto rendimiento cuántico para la producción de oxígeno singlete, lo cual servirá para una destrucción eficaz de las células tumorales.
- Debe tener una fuerte absorción con alto coeficiente de extinción y en la región de longitud de onda más larga que corresponde al rojo, preferiblemente con longitudes de onda entre 700-800 nm, en donde la dispersión de luz es mínima y la penetración en tejido es máxima y es lo suficientemente energética como para producir ROS.
- Debe tener una excelente reactividad fotoquímica, con altos rendimientos de estado triplete, permanencia en este estado durante un tiempo de vida largo y ser capaz de producir efectivamente oxígeno singlete y otras especies reactivas.
- No debe ser citotóxico en ausencia de luz y sólo debe serlo en presencia de luz.
- Debe tener retención preferencial por el tejido diana (por ejemplo: células tumorales).
- Se debe excretar rápidamente del cuerpo, induciendo así una baja toxicidad.
- Debe ser sintetizable a partir de precursores fácilmente disponibles.
- Debe ser estable y soluble en los fluidos del tejido corporal o disolventes inyectables.
- Al tratar una enfermedad no debe generar otra.

Dentro de los Fotosensibilizantes más utilizados tenemos los siguientes (Allison y Sibata, 2010, p. 61-75; O'Connor, Gallagher y Byrne, 2009, p. 1053-1074; Allison et al., 2004, p. 27-42):

- Photofrin: Es un derivado de la hematoporfirina, es una combinación patentada de monómeros, dímeros y oligómeros derivados de diversas manipulaciones químicas de la

hematoporfirina, su longitud de onda de activación a la cual presentan un coeficiente de extinción alto es a 408 nm (Azul) y 510 (Verde). Alcanza una alta concentración en tejido a las 24 o 48 horas después de su aplicación y permanece en el tejido durante aproximadamente 4-6 semanas, por lo que la fotosensibilidad prolongada es un problema. Se ha utilizado generalmente para tratar tumores de vejiga, piel, pulmón y esófago.

- Ftalocianinas: PC (por sus siglas en inglés Phthalocyanines), son compuestos hidrofóbicos cuya longitud de onda de activación a la cual presentan un coeficiente de extinción alto es entre los 650 y 700 nm, lo cual permite una penetración profunda de tejidos. Alcanza una alta concentración en tejido tumoral después de 1 a 3 horas de su administración. Son utilizados generalmente para tratar lesiones cutáneas y subcutáneas.
- Texafirinas: Lu-Tex (por sus siglas en inglés Lutetium Texaphyrin), son compuestos sintéticos hidrofílicos cuya longitud de onda de activación a la cual presentan un coeficiente de extinción alto es a 732nm, permitiendo alcanzar una concentración alta en tejidos neoplásicos después de 2 a 4 horas de su administración. Se ha utilizado para tratar epiteloma basocelular, eliminar la metástasis subcutánea de melanoma, cáncer de mama, sarcoma de Kaposi y para contraste en Resonancia Magnética Nuclear (RNM).
- Derivados de Clorina: Son un análogo de las porfirinas, contienen derivados clorofílicos. Su longitud de onda de activación a la cual presentan un coeficiente de extinción alto es a los 650 nm. Se utiliza para tratar carcinomas cutáneos dentro de los derivados de la clorina tenemos los que se muestran en la Tabla 1-2 :

Tabla 1-2: Derivados de la Clorina.

DERIVADO DE LA CLORINA	LONGITUD DE ONDA PARA FOTOACTIVACIÓN
Benzoporfirinas (BPD-MA)	690 nm
N-Aspartyl-chlorine e6 (Npe6)	664 nm
Tin etiopurpurin (SnET2)	660-664nm
Meso-tetra-hidroxifenil-clorina (mTHPC)	514 y 652nm

Elaborado por: Coralía Cuadrado, 2017

2.5.4. *Mentol-Ftalocianina de Zinc*

El Mentol-Ftalocianina de Zinc es un PS que posee un gran potencial en PDT y es un derivado de las ftalocianinas. Su estructura está basada en las porfirinas pero con un átomo central de Zinc y cuatro grupos mentoxi a su alrededor (Figura 9). Los grupos mentoxi le permiten al PS ser soluble en disolventes orgánicos como: DMF (N-N Dimetilformamida), DMSO hexano, acetato de etilo, éter dietílico, diclorometano y acetona. Su peso molecular es de 1195g/mol (Romero, 2012). El ZnMintPc posee un mayor rendimiento cuántico y fotodegradación que el ZnPc.

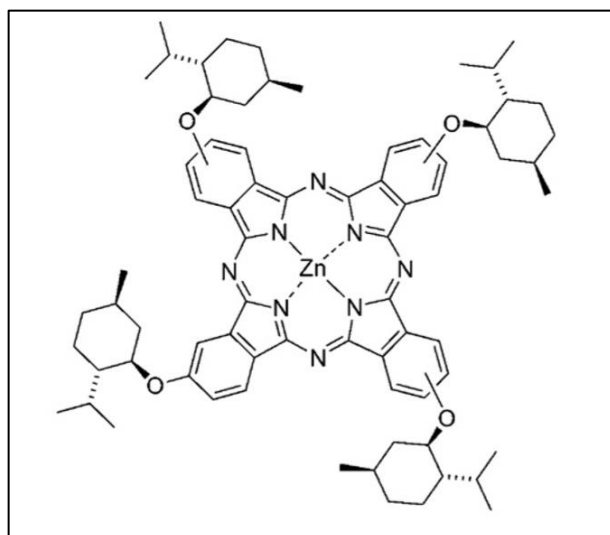


Figura 9-2: Estructura del ZnMintPc.

Fuente: Romero, M., et.al., 2012, p. 23

En la Figura 10-2 se muestra el espectro UV-Vis de ZnMintPc en DMF en color azul, que es un espectro típico de las ftalocianinas. Sus picos característicos se encuentran en 284, 354, 616 y 684 nm. El espectro consiste en una banda de absorción débil, poco intensa y estrecha ($\epsilon = 0.78 \times 10^5 \frac{L}{\text{mol}\cdot\text{cm}}$) en torno a 354 nm, conocida como la banda B o de Soret, luego se presenta una banda de absorción muy intensa y estrecha ($\epsilon = 1.67 \times 10^5 \frac{L}{\text{mol}\cdot\text{cm}}$) en torno a 684 nm denominada banda Q (Romero et al., 2013, p. 22-29; Kobayashi et al., 1996, p. 1073-1085). La agregación existente en el ZnMintPc debido a su carácter hidrófobo puede ser monitoreada con facilidad mediante la reducción de la intensidad de la banda Q (García et al., 2011, p. 507-14).

La banda de Soret surge de una fuerte transición electrónica desde el estado fundamental al segundo estado singlete excitado ($S_0 \rightarrow S_2$). Mientras que la banda Q es el resultado de una transición débil para el primer estado singlete excitado ($S_0 \rightarrow S_1$). La disipación de la energía a través de la conversión interna (IC) es tan rápida que la fluorescencia sólo se observa por la

despoblación del primer estado singlete excitado al estado fundamental de menor energía ($S1 \rightarrow S0$) (Kobayashi et al., 1996, p. 1073-1085; Kobayashi, Nakajima y Ogata, 2004).

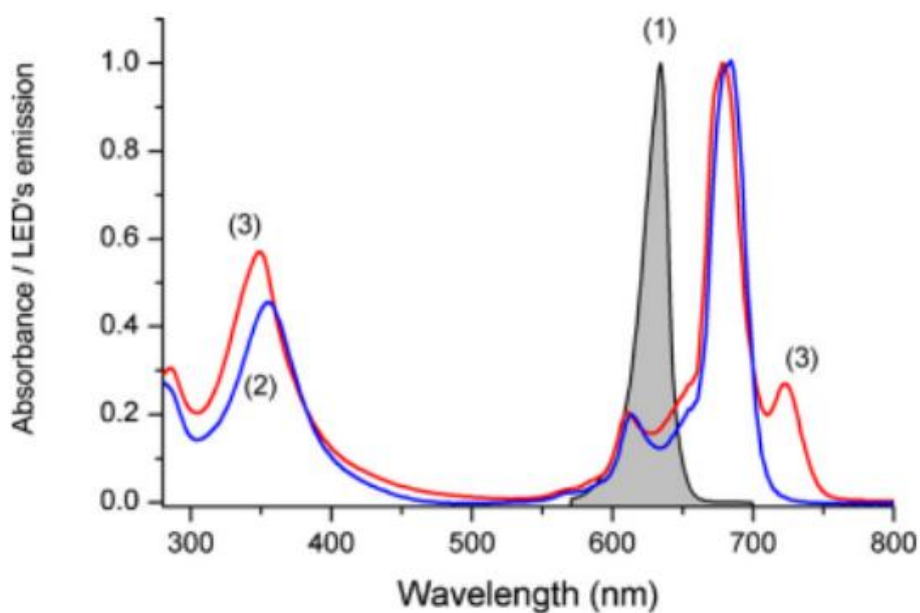


Figura 10-2: (1) Espectro de emisión del LED rojo. (2) Espectro de absorción del ZnMintPc en DMF (color azul). (3) Espectro de absorción del ZnMintPc en acetato de etilo (color rojo).

Fuente: Romero, M., 2012, p. 23.

2.6. Sistemas de Suministro de Fármacos

Como ya se explicó, la aplicación de la PDT generalmente implica la administración de un agente PS, seguido por irradiación con luz en presencia de oxígeno. El modo de administración del PS es de suma importancia. El PS no sólo tiene que estar en una adecuada forma para su administración, sino también cumplir con las condiciones descritas en el subcapítulo 2.5.3.

Existen varios medios de suministro de fármacos como son: inyección intravenosa de soluciones, emulsiones, liposomas, hidronanogeles, dendrímeros, ciclodextrinas, nanopartículas, cristales líquidos y microesferas utilizados como nanovehículos de liberación de fármaco (Figura 11-2) (Sun et al., 2009; Akerman et al., 2002, p. 12617-21; Calixto et al., 2016, p. 342; Boddupalli et al., 2010, p. 381).

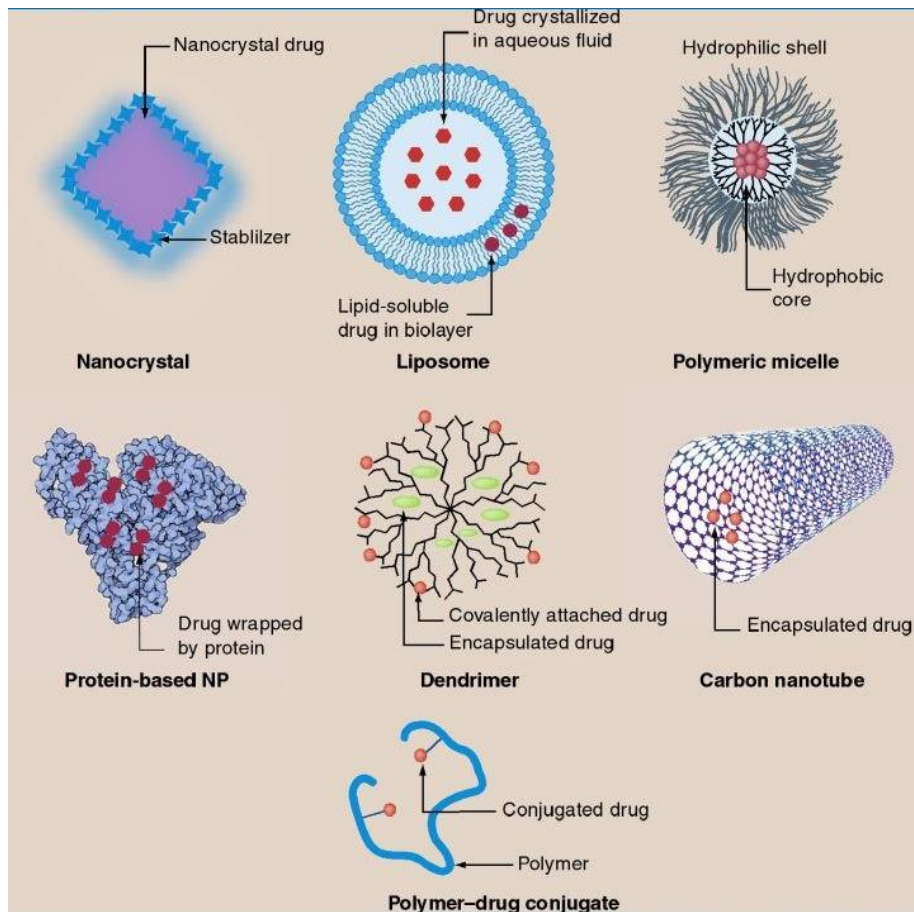


Figura 11-2: Tipos de Sistemas para administración de fármacos.

Fuente: http://www.medscape.com/viewarticle/770397_2

2.6.1. *Sistemas de Nanopartículas*

Las Nanopartículas, NP (por sus siglas en inglés Nanoparticles) como su nombre lo indica poseen un tamaño nanométrico y son muy eficientes como un sistema de transporte de fármacos. Es un sistema que posee grandes beneficios como son (Buzea, Pacheco y Robbie, 2007, p. MR17-71; Calixto et al., 2016, p. 342; Cho et al., 2008, p. 1310-1316; Singh y Lillard, 2009, p. 215-223):

- Pueden extravasarse a través del endotelio en sitios inflamatorios, epitelio (como: el tracto intestinal o el hígado), tumores o penetrar en los microcapilares.
- Protección del PS contra la degradación enzimática
- Control de la liberación de fármacos que permite liberar una concentración constante y uniforme en las células diana

- Capacidad de penetrar las células diana debido a su tamaño
- Biocompatibilidad y la capacidad de reabsorción a través de vías naturales
- Fotoestabilidad.
- Algunas NPs poseen la capacidad ser dirigidos al sitio diana mediante mecanismos activos (ligandos, anticuerpos) y pasivos.
- Las nanopartículas tienen la capacidad de acumularse en las células sin ser reconocidas por la P-glicoproteína, uno de los principales mediadores de la resistencia a múltiples fármacos.
- Permiten solubilizar fármacos para la administración sistémica.
- Permeabilidad y el efecto de retención mejorados: Tienen la capacidad de circular durante más tiempo en el torrente sanguíneo y una mayor probabilidad de llegar a los tejidos tumorales objetivo.
- Las características fisiopatológicas únicas de los vasos tumorales permiten que las macromoléculas, incluidas las nanopartículas, se acumulen selectivamente en los tejidos tumorales
- Permiten una expresión eficaz de antígenos o del receptor.

Las NPs se clasifican según el método de síntesis y el compuesto químico utilizados, por ejemplo se tienen:

- Nanopartículas poliméricas: PNP (por sus siglas en inglés Polimeric Nanoparticles). Las PNP constituidas de polímeros naturales y sintéticos, poseen una gran estabilidad y facilidad de modificación superficial. Pueden lograr la liberación controlada de fármacos y la localización específica de la enfermedad ajustando las características del polímero y la química superficial (Vauthier et al., 2003, p. 96; Panyam y Labhasetwar, 2003, p. 45).
- Nanopartículas lipídicas sólidas: (SLN por sus siglas en inglés Solid lipid nanoparticles). En ellas pueden incorporarse: proteínas y antígenos destinados para fines terapéuticos, su administración puede ser por vías parenterales o por alternativas tales como oral, nasal y pulmonar. Brinda una mejor estabilidad proteica, evita la degradación proteolítica. Pueden

preverse varias aplicaciones terapéuticas locales o sistémicas, tales como inmunización con antígenos proteínicos, tratamiento de enfermedades infecciosas, enfermedades crónicas y terapia del cáncer (Liong et al., 2008, p. 889-896; Wissing, Kayser y Müller, 2004, p. 1257-1272; Almeida y Souto, 2007, p. 478-490).

- Las nanopartículas cerámicas: CNPs (por sus siglas en inglés Ceramic Nanoparticles). Las CNPs son sistemas inorgánicos con características porosas. Debido a que estas partículas pueden ser fácilmente diseñados con el tamaño y la porosidad deseada, son utilizadas como como vehículos de fármacos (Roy, Ohulchanskyy y Pudavar, 2003; Yih y Al-Fandi, 2006, p. 84).
- Nanopartículas metálicas: MNs (por sus siglas en inglés Metal Nanoparticles). Las MNs de oro se pueden funcionalizar con otros compuestos para lograr llevar un agente anti-angiogénico (angiogénesis es el crecimiento de los vasos sanguíneos necesarios para apoyar el crecimiento de células tumorales) y un agente anticancerígeno a la vez. Al hacer esto, células del tumor pueden ser destruidas y se puede prevenir la supervivencia de otros posibles tumores posibles. Algunas MNs poseen un núcleo hueco por lo cual pueden llevar fármaco en su núcleo y liberarlo en la ubicación de orientación usando una fuente de excitación externa, como una luz infrarroja o un campo magnético (Sun y Xia, 2002, p. 2176-9; Yih y Al-Fandi, 2006, p. 84).

2.6.2. Liposomas

Los liposomas son sistemas de tamaño nanométrico unilamelares o multilamelares formados espontáneamente cuando los fosfolípidos se dispersan en un medio acuoso. Son un sistema de administración controlada de fármacos más utilizado debido a su flexibilidad estructural y su capacidad para incorporar una variedad de fármacos hidrófilos e hidrófobos, además es biocompatible y biodegradable (Chorilli, Calixto y Rimério, 2013, p. 89; Bovis, Woodhams y Loizidou, 2012, p. 59)

2.6.3. Hidronanogeles

Los hidronanogeles o nanogeles son sistemas formados por materiales poliméricos que son capaces de absorber gran cantidad de agua debido a la presencia de grupos hidrofílicos (-OH, -COOH, -CONH₂, -SO₃H) en su estructura, además presentan una estructura de malla tridimensional.

Estos sistemas son ampliamente utilizados para la liberación controlada de fármacos, debido a que son biocompatibles, tienen propiedades físicas que son similares a tejidos vivos y son capaces

de reaccionar a estímulos químicos como el pH, físicos como la temperatura y bioquímicos como ligandos de afinidad. Estos estímulos los permiten pasar de un estado colapsado a un estado de hinchamiento.

Generalmente existen cuatro factores que afectan al estado hinchado de un nanogel que se encuentran representados en la Figura 12-2: a) Un aumento en la cantidad de reticulación (aumento del agente reticulante) disminuye el hinchamiento de los nanogeles compuestos de un polímero hidrófilico; b) Un aumento en el valor del pH da como resultado el colapso de un nanogel compuesto por cadenas de polibases débiles, y el hinchamiento de nanogeles que comprende un poliácido débil; c) Un aumento de la fuerza iónica disminuye el hinchamiento de los nanogeles de polielectrolitos; y d) Los Nanogeles compuestos de polímeros que poseen un comportamiento en relación a Temperatura de Transición Térmica o Temperatura Mínima Crítica de Solución (LCST, por sus siglas en inglés Lower Critical Solution Temperature), colapsan a medida que la temperatura aumenta por encima de la LCST (Eldin, Kamoun y Sofan, 2015, p. 459; Kabanov y Vinogradov, 2009, p. 5418-5429).

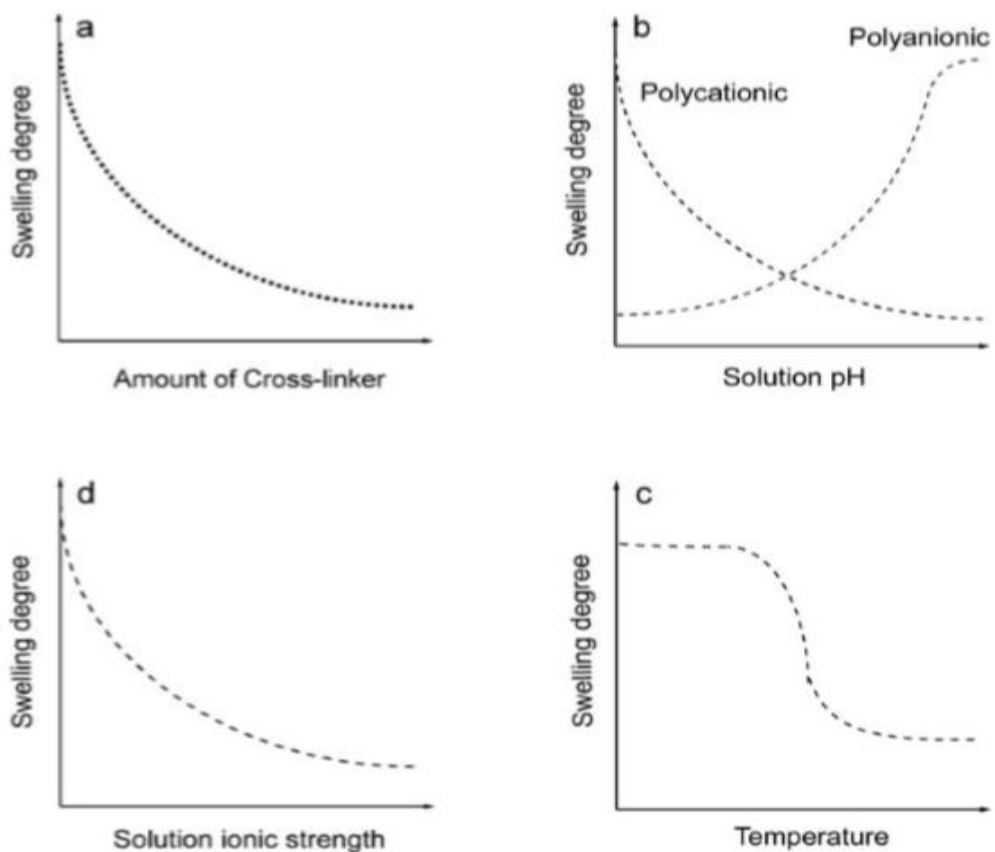


Figura 12-2: Factores que afectan el estado de hinchazón de un nanogel.

Fuente: Kabanov, A., y Vinogradov, S., 2009.

Los nanogeles pueden clasificarse según el tipo de carga en (Vinogradov, 2006, p. 4703-12):

- **No Iónicos:** como pueden ser: metacrilato de 2-hidroxietilo, N-vinil-2-pirrolidona, entre otros.
- **Iónicos:** El tipo de iniciador que se utilice para síntesis le dará la carga al nanogel haciéndolo aniónico o catiónico, entre los nanogeles iónicos tenemos: ácidos acrílicos, acrilamida, ácido vinil-sulfónico, metaacrilamida metacrílicos, entre otros.

Los nanogeles iónicos poseen dos estados: el colapsado y el hinchado y la temperatura para pasar de un estado a otro se denomina temperatura de transición de fase de volumen (VPTT por sus siglas en inglés Volume Phase Transition Temperature), es decir cuando el nanogel supera la VPTT pasa de su estado colapsado a uno de mayor volumen o hinchado, estos estados juegan un papel muy importante en la liberación de controlada de fármacos ya que permiten una liberación de fármaco constante en el organismo como se indica en la Figura 13-2 donde se muestra una curva del nivel de fármaco entregado durante un tiempo, se observa que la cantidad de fármaco se encuentra sobre el nivel mínimo de efectividad del fármaco y debajo de sus niveles tóxicos para el organismo, es posible una direccionalización del nanogel-fármaco hacia un órgano o sitio de interés gracias a la conjugación nanogel-hormonas, nanogel-anticuerpos u otros ligandos que puedan ser reconocidos por un receptor en específico de la superficie de las células que se encuentren en el sitio a tratar (Escobar, J.L. García, D.M. Zaldivar D. Katime, 2002, p. 1-25).

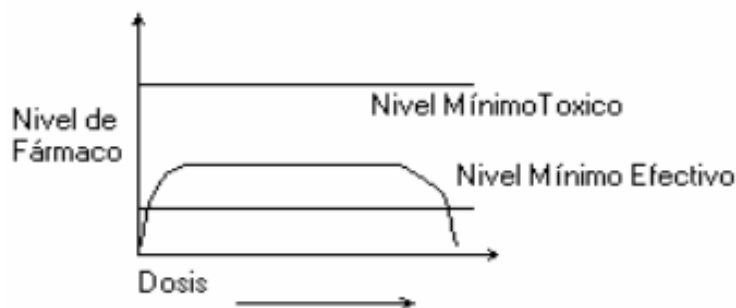


Figura 13-2: Liberación controlada de Fármacos por nanogeles.

Fuente: Escobar, J., et.al., 2002.

Algunos de los métodos utilizados para la liberación de fármacos se observan en la Figura 14-2:

- a) Difusión del fármaco desde el nanogel.
- b) liberación del fármaco a través de la degradación de las cadenas poliméricas biodegradables o de los enlaces cruzados.
- c) Un cambio en el valor del pH da como resultado la desionización de la red polimérica y la liberación del fármaco unido electrostáticamente.
- d) Los cationes multivalentes de baja masa molecular o poliones de carga

positiva o negativa afines al nanogel pueden desplazar fármacos que posean la misma carga iónica por fuerzas de repulsión. e) La liberación de fármacos puede ser inducida por la aplicación de energía externa a los nanogeles, lo que induce a una degradación o transición estructural de las cadenas poliméricas del nanogel.

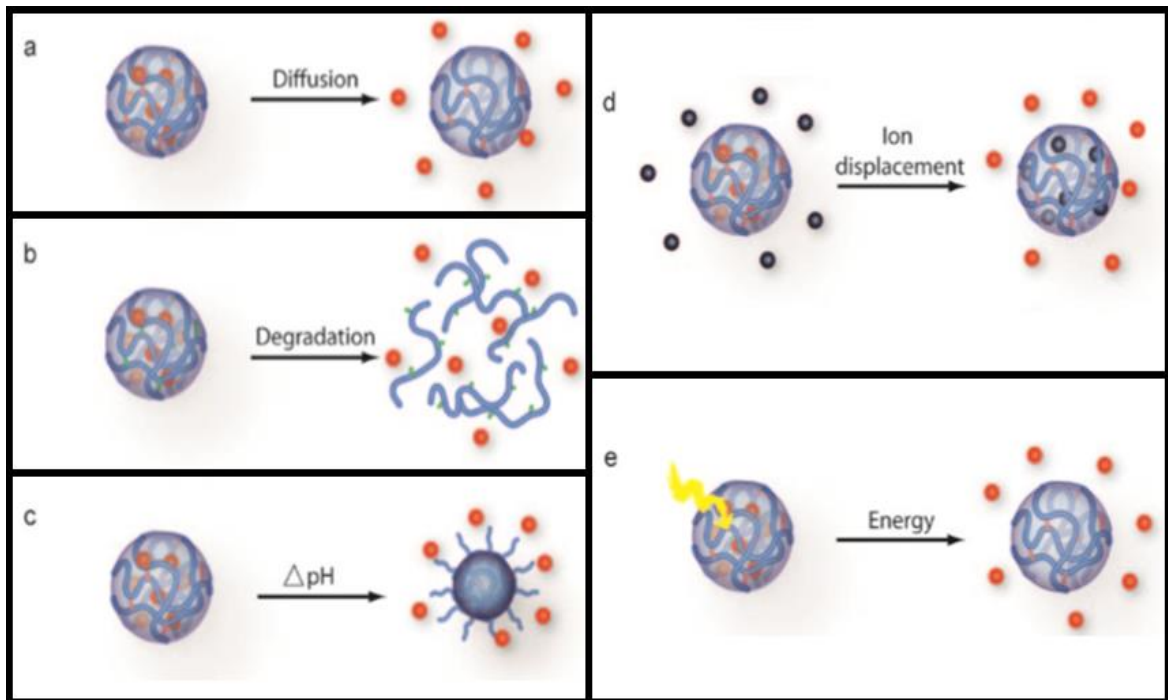


Figura 14-2: Métodos usados para la liberación de fármacos.

Fuente: Kabanov, A., y Vinogradov, S., 2009.

Los nanogeles también se pueden funcionalizar con Nanopartículas magnéticas o metálicas para utilizarlos en el campo de la biomedicina para diagnóstico y tratamiento del cáncer (Wu et al., 2011, p. 9876-9887).

Para la liberación de un fármaco cargado en nanogeles con MNPs, se puede generar un campo magnético de baja intensidad que provocará el calentamiento del nanogel y así cambie de estado y libere el fármaco, como se muestra en la Figura 15-2, en donde se presenta un nanogel de Policarboxibetaina metacrilato (pCBMA) funcionalizado por el método de Polimerización en microemulsión inversa con MNPs de Fe_3O_4 que tienen anclados a ellas ligandos de reconocimiento celular y además está cargado con un agente terapéutico para tratamiento del cáncer. La aplicación de un campo magnético externo ayuda a dirigir el compuesto al sitio a tratar y los ligandos de reconocimiento ayudan a las MNPs a llegar al sitio diana de las células para así liberar el fármaco (Rayo y Guerrero, 2014, p. 17-38).

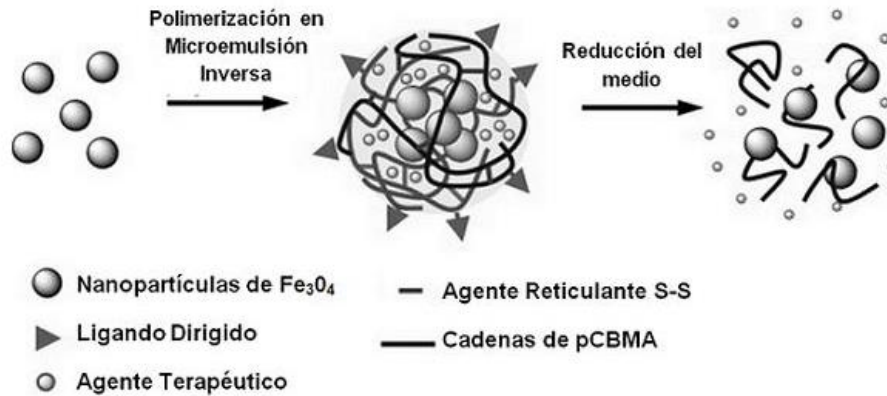


Figura 15-2: Nanogel cargado de Nanopartículas Magnéticas.

Fuente: Escalona, O., y Quintanar, D., 2014.

2.6.3.1 Hidronanogel Vinilcaprolactama-Diacrilato de Polietilenglicol

El Hidronanogel Vinilcaprolactama-Diacrilato de Polietilenglicol es un nanogel catiónico que está formado por el monómero principal N-Vinilcaprolactama (VCL, por sus siglas en inglés N-Vinylcaprolactam Figura 16-2a), un agente de entrecruzamiento de Diacrilato de Polietilenglicol (PEGDA, Figura 16-2b), sintetizado en presencia de un iniciador catiónico y un emulsificante no iónico del mismo carácter que el iniciador. Su VPTT está entre los 32 a 38°C, es decir se encuentra en un rango de temperatura fisiológica, por lo cual es utilizado como un vehículo para transporte de fármacos (Forcada et al., 2011, p. 759).

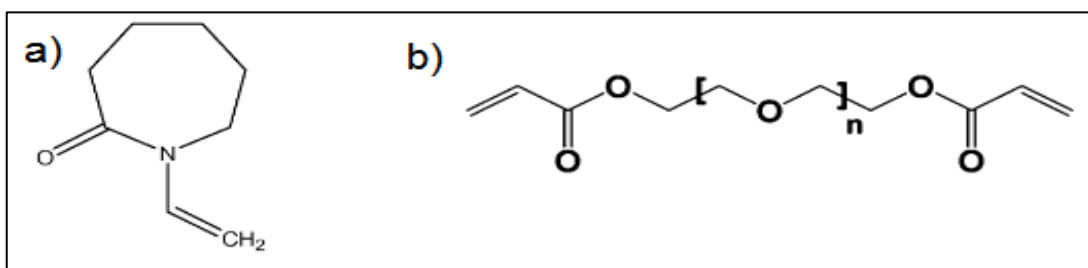


Figura 16-2: a) VCL. b) PEGDA.

Fuente: Forcada, J., et.al., 2011; Oh, J., et.al., 2008.

El VCL es un monómero biocompatible anfipático debido a que posee grupos hidrófobos como el grupo vinilo e hidrófilos como la amida. El balance de las fuerzas atractivas y repulsivas de este monómero determina la solubilidad del polímero. La temperatura crítica de cambio de fase está comprendida entre los 32 y 38°C. El VCL se debe encontrar en una concentración 0.5 al 3% de peso en relación a la cantidad de agua que se usará, mientras que el polímero PEGDA se debe encontrar en una concentración comprendida entre el 2-8% en peso con respecto al VCL.

El iniciador catiónico es un reactivo capaz de generar especies catiónicas que por vía radical darán inicio al proceso de polimerización y brindará al nanogel una carga positiva la cual le permitirá al nanogel reaccionar a un cambio de temperatura. Este se deberá usar en una cantidad de 0.3 al 1.5% en peso con respecto al VCL.

El emulsificante puede ser de carácter catiónico o no iónico y va a ser el que le brinde estabilidad coloidal al nanogel ya que recubrirá la red polimérica en donde se encuentran las nanopartículas del gel. Un emulsificante puede ser un surfactante y su concentración deberá ser entre 0.3 y 20% en peso con respecto al VCL.

De la concentración de estos cuatro elementos dependerán las características físicas y técnicas del gel. Nanogeles biocompatibles de este tipo poseen las siguientes características técnicas:

- El diámetro de las nanopartículas del nanogel colapsado serán entre 30 y 60nm a temperatura ambiente.
- El diámetro de las nanopartículas del nanogel hinchado serán entre 150 a 800nm suponiendo una temperatura de 55°C
- Y su VPTT será 32.5° o 38°C.

2.6.4. *Sistemas de Cristales líquidos*

Los sistemas de cristales líquidos liotrópicos tienen atributos de líquidos debido a que son fluidos y sólidos ya que se presentan en una estructura organizada. Están formadas por tensioactivos, más precisamente por sus solvatos o hidratos. Se caracterizan brevemente como mesofases laminar, hexagonal o cúbica, y han sido ampliamente investigados, ya que son no tóxicos, biodegradables, y tienen propiedades bioadhesivas que también contribuyen a sus aplicaciones en la administración de PS (Guo et al., 2010; Liu et al., 2013, p. 6931-6941).

2.6.5. *Dendrímeros*

Los dendrímeros son polímeros altamente ramificados y tienen un diámetro entre 1 y 10 nm. Su principal ventaja es la previsibilidad y el control de tamaño y número de grupos funcionales disponibles para modificaciones. Esto proporciona una mayor certeza en la predicción de la cantidad de fármaco incorporado. Por lo tanto, permite la farmacocinética reproducible, lo que

hace a los dendrímeros un sistema de administración de fármacos interesante para la TFD (Gillies y Frechet, 2005).

2.6.6. *Ciclodextrinas*

Las Ciclodextrinas naturales (CDs por sus siglas en inglés cyclodextrins) son oligosacáridos cíclicos obtenidos por acción de la enzima transferasa ciclodextrina- α -glicosil (CGTasa). Varios CDs modificados han sido sintetizados con el fin de mejorar las estructuras de CDs naturales, que los hace adecuados para aplicaciones farmacéuticas. Tienen una forma similar a un cono, por lo tanto, se forma una cavidad interna no polar, lo que permite la formación de complejos de inclusión de fármacos lipófilos (Wang et al., 2014, p. 166-173; Saltão y Veiga, 2001).

2.6.7. *Nanotubos de Carbono*

Los CNTs como se puede observar en la Figura 17-2 son capaces de transportar el fármaco y cargarlo hasta el interior de la célula con el proceso siguiente: a) los CNTs son funcionalizados con un receptor químico y con el fármaco encapsulado, b) el CNT es sellado o encapsulado con un componente biodegradable sensible a la temperatura o pH, c) el material encapsulado se introduce en el torrente sanguíneo o se injiere por vía oral y gracias a los receptores químicos localiza su destino, d) las células son permeables a los CNTs, por lo cual ingresan en ella durante algún proceso celular como puede ser la endocitosis, e) la tapa o la capsula del nanotubo se biodegrada por cambio de pH o temperatura en el interior celular y f) finalmente el nanotubo descarga el fármaco que llevaba.

Los CNTs se han usado como un nanovehículo transportador de fármacos mejorando así la terapia del cáncer o llevando fármaco para tratamiento de enfermedades como la fiebre aftosa, entre otros (Lukianova-Hleb et al., 2010, p. 85102; Kushwaha et al., 2012, p. 542-553).

Por ejemplo: al funcionalizar SWCNTs con Paclitaxel (PTX) un fármaco usado en la quimioterapia se ha mostrado una mejor eficacia, 10 veces mayor que al usar el modelo murino 4T1 para tratamiento de cáncer de mama, el fármaco se libera en el sistema retículo endotelial y los nanotubos se excretan a través de la vía biliar sin causar daños (Liu et al., 2008, p. 63).

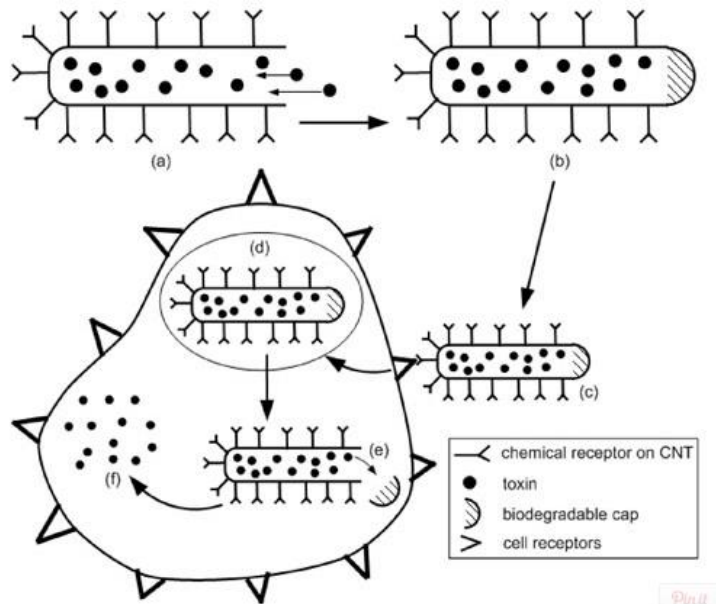


Figura 17-2: Proceso de administración de fármaco por CNTs.

Fuente: Hilder, T., 2007

2.6.8. Nanotubos de Carbono con Nanopartículas Magnéticas

Los CNTs se pueden funcionalizar con MNPs para poder formar un nanovehículo más eficiente y controlado por un campo magnético externo, como por ejemplo en la Figura 18-2 se puede observar: A) CNTs expuestos a PAA (ácido poliacrílico), B) se han funcionalizado los CNTs con MNPs de magnetita por el método de co-precipitación y C) se ha logrado por adsorción física cargar a los nanotubos con gemcitabina que es un fármaco utilizado en quimioterapia para varios tipos de cáncer, en este caso el nanovehículo ha sido dirigido mediante un campo magnético hacia los ganglios linfáticos en donde el fármaco es liberado.

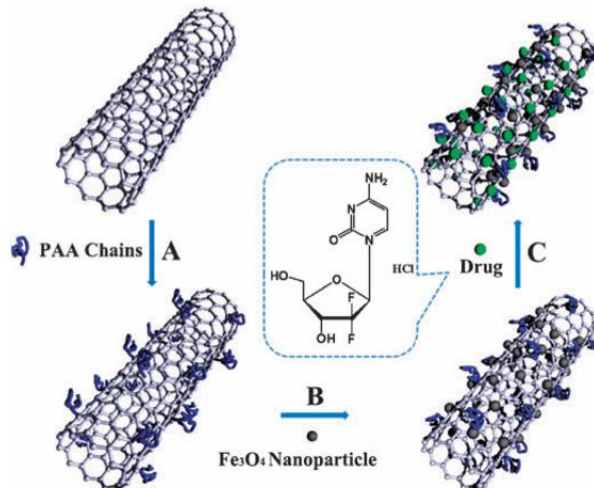


Figura 18-2: MNPs-MWCNTs como nanotransporte de gemcitabina.

Fuente: Yang, D. et.al., 2009, p. 4447.

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1. Materiales

Para realizar sintetizar el nanocompósito MWCNTs-MNPs se utilizaron los siguientes compuestos (Tabla 1-3), materiales (Tabla 2-3) y equipos (Tabla 3-3):

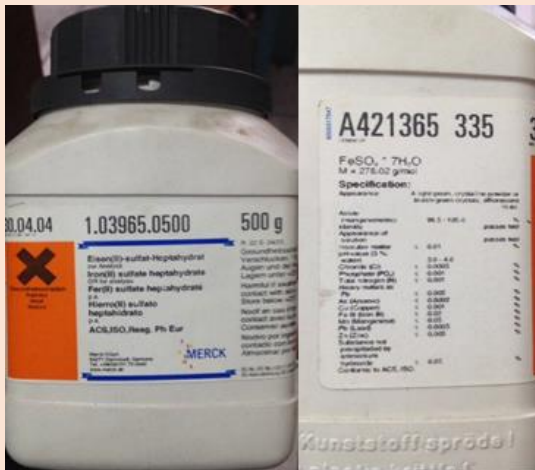
Tabla 1-3: Compuestos y Reactivos

1. Nanotubos de Carbono de Pared Múltiple	2. Mentol-Ftalocianina de Zinc
 <ul style="list-style-type: none">• *Abreviatura: MWCNTs• Casa Comercial: Cedido por el Laboratorio de Van de Graff, Departamento de Física PUC-RIO	 <ul style="list-style-type: none">• Fórmula: ZnMintPc• Masa molar: 276.02 g/mol• Casa Comercial: Cedido por el Laboratorio de Van de Graff, Departamento de Física PUC-RIO

Continuará...

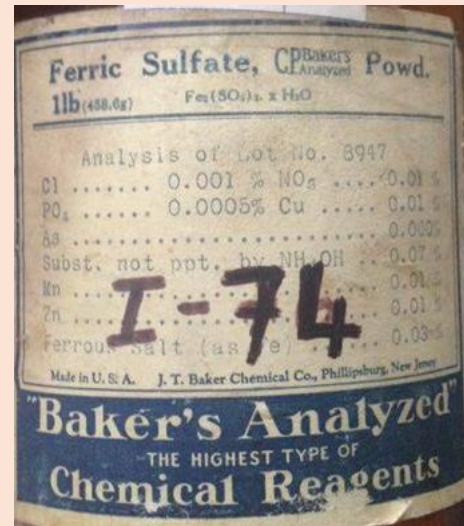
...Continua

3. Sulfato de Hierro II Hepta-Hidratado



- **Fórmula:** $\text{Fe}(\text{SO}_4) \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
- **Masa molar:** 276.02 g/mol
- **Casa Comercial:** Merck

4. Sulfato de Hierro III Hidratado



- **Fórmula:** $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$
- **Masa molar:** 417.9 g/mol
- **Casa Comercial:** Baker's Analyzed.

5. Hidróxido de Amonio



- **Fórmula:** NH_4OH , 14,8N
- **Masa molar:** 35.05 g/mol
- **Casa Comercial:** Fisher Scientific

6. N-N Dimetilformamida

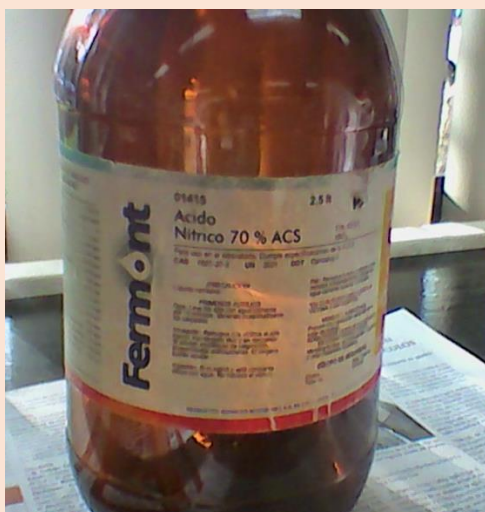


- **Fórmula:** $(\text{CH}_3)_2\text{-N-CHO}$
- **Masa molar:** 73.09 g/mol
- **Casa Comercial:** Fisher Scientific

Continuará...

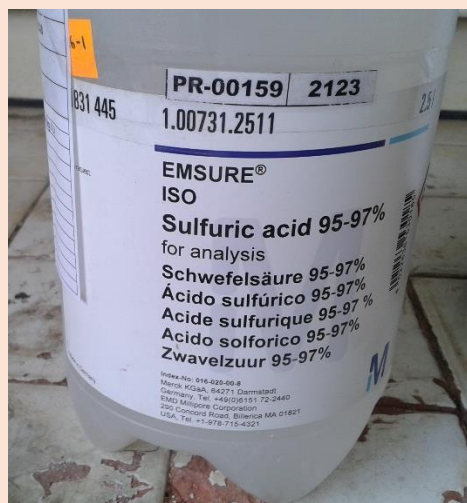
...Continua

5. Ácido Nítrico



- **Fórmula:** HNO_3
- **Masa molar:** 63.01 g/mol
- **Casa Comercial:** Fermont

6. Ácido Sulfúrico



- **Fórmula:** H_2SO_4
- **Masa molar:** 98.08 g/mol
- **Casa Comercial:** Merck

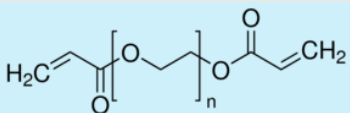
7. N-Vinilcaprolactama (VCL)



- **Fórmula:** $\text{C}_8\text{H}_{13}\text{NO}$
- **Masa molar:** 139.19 g/mol
- **Casa Comercial:** Sigma Aldrich

8. Diacrilato de Polietilenglicol (PEGDA)



- **Fórmula:**

- **Masa molar:** \overline{M}_n 250
- **Casa Comercial:** Sigma Aldrich

Continuará...

...Continua

9. Suero Fisiológico	10. Tween 20
 <ul style="list-style-type: none">• Compuestos: Cada 100 ml contiene: Cloruro de Sodio 0.90g, Cloruro de Benzalconio (conservante) 0.01g, Excipientes c.s.p 100ml.• pH: 7• Casa Comercial: Fisiol UB	 <ul style="list-style-type: none">• Fórmula: C₃₂H₆₀O₁₀• Masa molar: 604.82 g/mol• Casa Comercial: La Casa de los Químicos





Elaborado por: Coralía Cuadrado, 2017

Tabla 2-3: Materiales

1. Vasos de precipitación de: 600, 250, 100, 50 ml	2. Micropore de 0,22µm
3. Recipientes de vidrio	4. Papel filtro cuantitativo de 11µm
5. Erlenmeyers de 125mL	6. Micropipetas
7. Pipetas de 10 mL	8. Balón de tres bocas
9. Pera	10. Refrigerante
11. Espátula	12. Sustratos de vidrio

Elaborado por: Coralía Cuadrado

Tabla 3-3: Tabla de Equipos

<p>1. pH-Metro</p>  <ul style="list-style-type: none"> • Marca: HANNA Instruments • Modelo: HI-2223 Calibration Check pH Bench Meter • Presición: ± 0.01 pH y 0.2°C • Rango de pH: -2.00 a 16.00 	<p>2. Equipo de filtración Micropore al vacío.</p>  <ul style="list-style-type: none"> • Marca: GLASSCO • Modelo: 258.202.01 All-Glass Filter Holder • Descripción: All-Glass Filter Holder Assembly with funnel, fritted base, cap, clamp, 47 mm.
<p>3. Plancha de Agitación Magnética</p>  <ul style="list-style-type: none"> • Marca: VELP Scientifica • Modelo: Digital Ceramic Hot Plate Stirrer – AREC <ul style="list-style-type: none"> • Placa de calentamiento de Cerámica resistente a ácidos, bases y disolventes • Temperatura máxima: 550°C • Peso máximo: frascos de hasta 15 litros • Velocidad máxima: 1500 rpm 	<p>4. Reactor Químico</p>  <ul style="list-style-type: none"> • Marca: Harvard Apparatus • Modelo: PHD sistema de gradiente ULTRA

Continuará...

...Continúa

<p>5. Balanza analítica</p>  <ul style="list-style-type: none">• Marca: Mettler• Modelo: AE-260• Precisión: 0.1 mg• Calibración externa• Capacidad: 200g / 60g• Modos de pesaje: g, lb, oz, dwt, ozt, GN, ct.• Tamaño de la plataforma: 80 mm• Salida de datos RS-232	<p>6. 11. Heated Ultrasonic Waterbath (Sonicador)</p>  <ul style="list-style-type: none">• Marca: Fisher Scientific• Modelo: FS-28• Volumen: 9.5 L• Temporizador: 30 min• Frecuencia: 60 Hz• Voltaje: 117 Volts• Potencia: 225 W
<p>7. Espectrofotómetro UV-VIS</p>  <ul style="list-style-type: none">• Marca: Thermo Scientific• Modelo: Evolution 220• Rango de Longitudes de onda: 190-1100 nm• Tipo de detector : Fotodiodos duales de silicio• Lámpara: Xenon Flash Lamp (7 años de vida)• Características:• Geometría de doble haz con 1 a 2nm de ancho de banda espectral para mediciones de precisión.• Tecnología AFBG (Application Focused Beam Geometry) que permite el mejor rendimiento de microceldas, muestras sólidas y sondas de fibra óptica.	<p>8. Espectrofotómetro FT-IR</p>  <ul style="list-style-type: none">• Marca: JASCO• Modelo: FT/IR-4100• Resolución máxima: 0.9cm⁻¹• Software de análisis: KnowItAll• Microscopio IR• Características:• Extensión de número de onda• Escaneo rápido 10 exploraciones por segundo.• Reconocimiento IQ: reconoce automáticamente el accesorio de muestreo

Continuará...

...Continúa

9. Espectrómetro Raman	
	<ul style="list-style-type: none">• Marca: HORIBA• Modelo: LabRAM HR Evolution• Características:<ul style="list-style-type: none">• Elevadas resoluciones espaciales y espectrales• UV a NIR• Facilidad de uso y ergonomía• Imágenes confocales ultra-rápidas
<ul style="list-style-type: none">• Compatible con Raman-AFM y TERS• Frecuencia ultra baja• Ubicación automatizada de partículas e identificación química• Resolución espacial típicamente hasta 10 nm.• Fuentes de láser: 532 nm, 633 nm, 785 nm	

Elaborado por: Coralía Cuadrado, 2017

3.2. Métodos

3.2.1. *Purificación de MWCNTs*

La purificación de los MWCNTs se realizó utilizando un ataque ácido, con los pasos que se indican a continuación:

1. Se dispersó 5.3 mg de MWCNTs en 10 mL de agua destilada con Tween 80 al 5% (Gráfico 1-3 a).
2. Se agitó a 200rpm durante 24 horas para lograr que los MWCNTs estén bien dispersos.
3. En una solución de 4 mL de HNO₃ y 12 mL de H₂SO₄ (relación 1:3) se colocó la solución de MWCNTs anterior (Gráfico 1-3b).
4. Se dejó enfriar y luego se agitó magnéticamente durante 3 horas.
5. Se realizó varios lavados de los MWCNTs utilizando filtración micropore (Gráfico 1-3 c y d) hasta obtener un pH neutro.

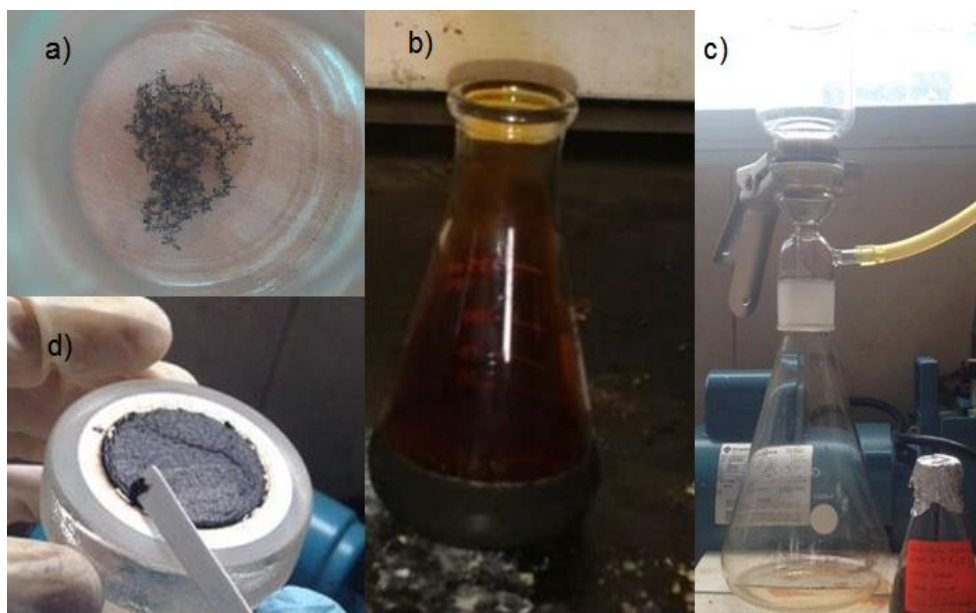


Gráfico 1-3: a) MWCNTs en agua destilada con Tween 80 (5%). b) MWCNTs en ácidos. c) Equipo de Filtración Micropore. d) MWCNTs lavados.

Realizado por: Coralía Cuadrado, 2017

3.2.2. Síntesis y Funcionalización de MNPs- MWCNTs

La síntesis de MNPs se realizó mediante el método de co-precipitación realizándose a la vez la funcionalización con MWCNTs. Para esto se realizó el siguiente proceso:

1. Muestra P1: Se dispersó los nanotubos purificados con 225mg de FeSO_4 y 450mg de $(\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3)$ en 18 mL de agua destilada y Tween 80 al 5% (Gráfico 2-3 a).
2. La muestra P1 se la colocó en agitación magnética por 3 horas.
3. Se agregó a 150 mL de NH_4OH la muestra anterior y se la expuso a agitación magnética-térmica en una atmósfera inerte durante 1 hora (Gráfico 2-3 b).
4. Se realizó varias purificaciones magnéticas del nanocompuesto MWCNTs-MNPs hasta que el pH se neutralice (Gráfico 2-3 c y d). Se realizó un lavado final con etanol y se dejó secar el nanocompuesto (Gráfico 3-3).

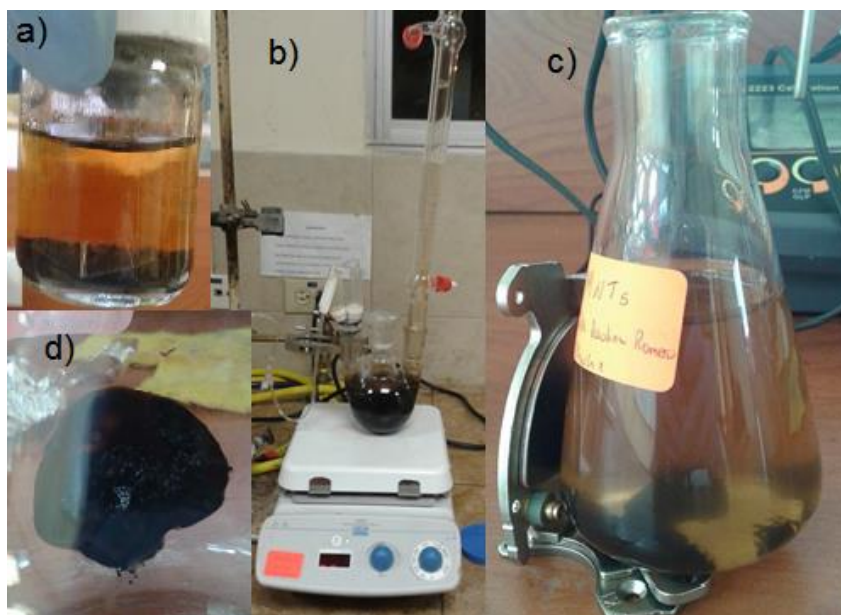


Gráfico 2-3: a) Muestra P1 b) Muestra P1 en NH_4OH en atmósfera inerte. c) Purificación magnética de MWCNTs-MNPs. d) MWCNTs-MNPs purificados magnéticamente.

Realizado por: Coralía Cuadrado, 2017



Gráfico 3-3: MWCNTs-MNPs.

Realizado por: Coralía Cuadrado, 2017

3.2.3. *Síntesis de Diacrilato de Polietilenglicol- Vinilcaprolactama*

1. 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 NaHCO_3 (Gráfico 4-3 a)

2. Se coloca la solución anterior en el reactor lentamente, con corriente de Nitrógeno y con agitación a 200rpm
3. Se calienta a una temperatura de 70°C, manteniendo la corriente de Nitrógeno durante una hora.
4. Se añade a la solución el iniciador (0.03g de Persulfato de Amonio disuelto en 15 mL de Agua destilada) y se mantiene la reacción a 70°C durante 6 horas (Gráfico 4-3 b).
5. Posteriormente se deja enfriar bajo agitación a 25°C para evitar agregación.
6. Finalmente se realiza un filtrado del nanogel (Gráfico 4-3 c).

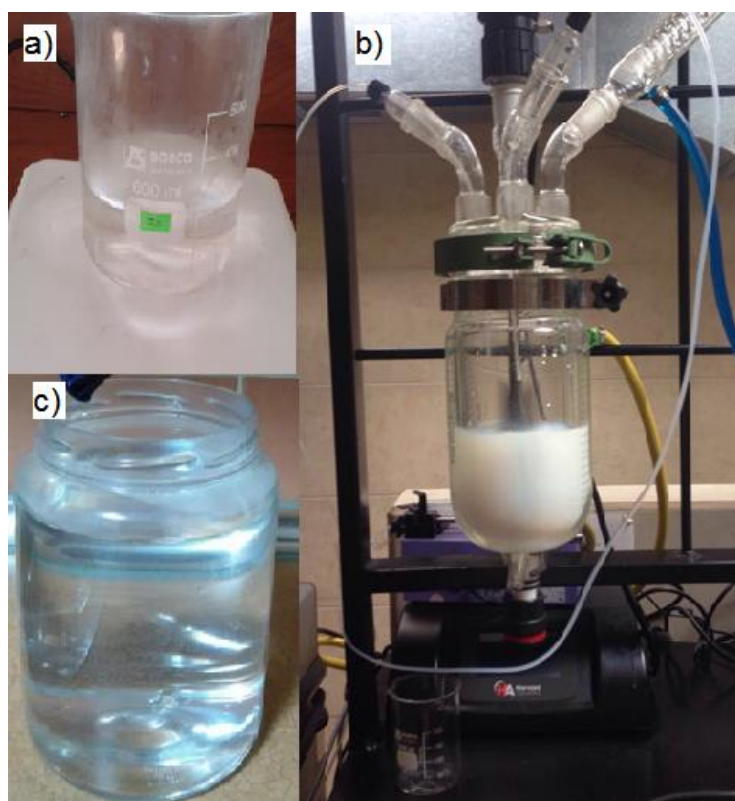


Gráfico 4-3: a) Agua Destilada+emulsificante+monómero+polímero. b) Reactor de atmósfera inerte y control de temperatura. c) Nanogel filtrado.

Realizado por: Coralía Cuadrado, 2017

3.2.4. *Funcionalización de MWCNTs-MNPs Con ZnMintPc*

A. Preparación de VCL/PEGDA con MWCNTs-MNPs

- a. Se tomó 2 mg de MWCNTs-MNPs y se dispersaron en 10 mL de agua destilada y se agregó Tween al 5% (Gráfico 5-3 a), es decir a una concentración de 0.1mg/mL (Los cálculos se observan en el ANEXO III literal B)
- b. Se agitó magnéticamente durante 24 horas y posteriormente se sonicó 30 minutos.

- c. Se agregó a la mezcla 10 mL de VCL/PEGDA y se agitó magnéticamente durante 4 horas (Gráfico 5-3 b).

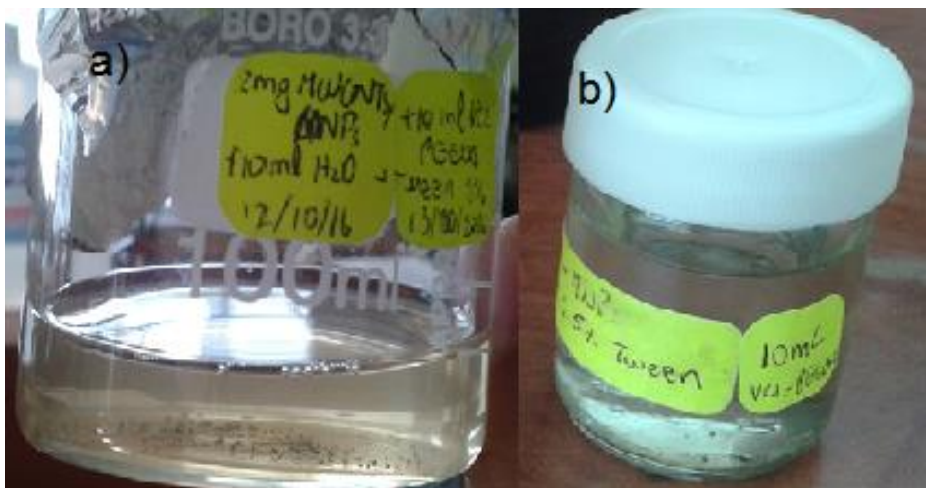


Gráfico 5-3: a) MWCNTs-MNPs en VCL-PEGDA. b) MWCNTs-VCL-PEGDA sonicados.

Realizado por: Coralía Cuadrado, 2017

B. Preparación de la solución STOCK de ZnMintPc a 0.25 mM

- a. Se tomó 1.195 mg de ZnMintPc y se dispersó en 1 mL de DMF obteniéndose una concentración de 1mM (Gráfico 6-3 a, los cálculos para determinar el peso de ZnMintPc se indican en el ANEXO II).
- b. Se sonicó durante 8 horas.
- c. Se realizó una disolución de la solución tomando 0.25 mL y dispersándolos nuevamente en 1 mL de DMF quedando así a una concentración de 0.25mM (Los cálculos para determinar el volumen que se irá a diluir se pueden observar en el ANEXO III literal A).
- d. Se sonicó durante 6 horas.

C. Preparación de VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs-ZnMintPc

- a. Se tomó los 20 mL de VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs y se agregó 0.67mL de la solución STOCK de ZnMintPc (0.25mM Gráfico 6-3b), quedando el ZnMintPc a una concentración de 8.333 μ M (Los cálculos se muestran en el ANEXO III literal C).
- b. Se sonicó durante 4 Horas, la solución se cubrió con papel aluminio para evitar que el ZnMintPc decaiga por exposición a la luz (Gráfico 6-3 b).

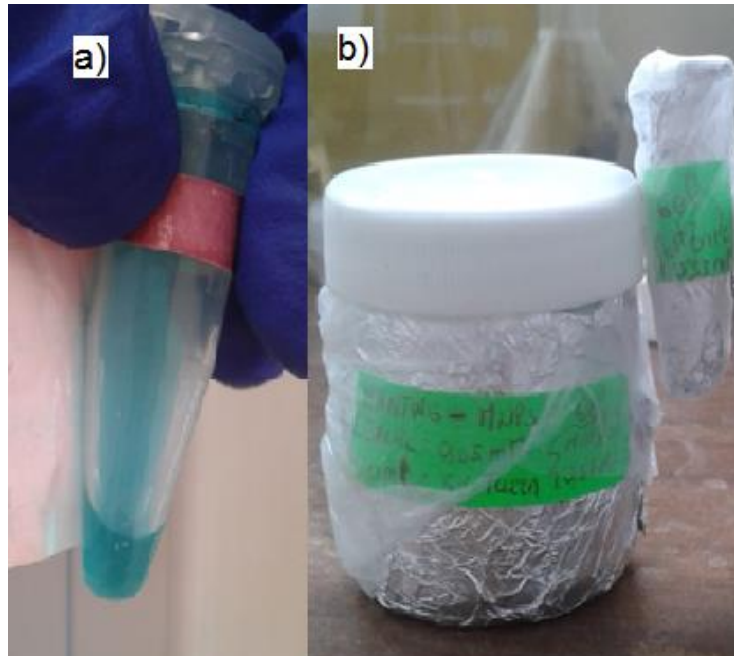


Gráfico 6-3: a) ZnMintPc 1mM. b) VCL-PEGDA-MWCNTs-MNPs-ZnMintPc y ZnMintPc 0.25 mM.

Realizado por: Coralía Cuadrado, 2017

3.3. Técnicas

3.3.1. Espectroscopia Raman

Para utilizar la Espectroscopia Raman como técnica de caracterización se tomó una gota de la solución de MWCNTs-MNPs y se la colocó sobre un sustrato de vidrio, posteriormente se la dejó secar en un horno a 40°C. La muestra se introdujo en el equipo y fueron excitadas con un láser de 2.33eV (532nm), una vez obtenidos los espectros se compararon con espectros patrón del programa LabSpec 6 que es propio del espectrómetro Raman Horiba Scientific. Posteriormente se realizó un análisis de los espectros en donde se calculó de la relación de las bandas D y G ($\frac{I_D}{I_G}$) de los espectros obtenidos.

3.3.2. Espectroscopia FT-IR

Para poder realizar esta técnica se enceró el sustrato con la lámina de polietileno del equipo. Se tomó una gota de la solución de MWCNTs-MNPs y se colocó en el sustrato del Espectrofotómetro FT-IT. Se realizó la corrección de los espectros y se comparó con espectros patrón de MWCNTs y MNPs de Hematita.

3.3.3. *Espectroscopia UV-VIS*

Esta técnica se realizó con una celda de cuarzo, posteriormente se preparó el blanco con 3mL de Suero Fisiológico y 20 μ l de VCL/PEGDA para el análisis de VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs-ZnMintPc, VCL/PEGDA-ZnMintPc y VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs. Y para la muestra de ZnMintPc (8.333 μ M solución preparada con los datos del ANEXO B 5) el blanco fue 3mL de DMF. Con esta técnica se realizó dos tipos de análisis:

1. Titulación: En la celda de cuarzo se colocó 3mL de suero fisiológico, 20 μ l de VCL/PEGDA y se añadió diferentes volúmenes de VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs-ZnMintPc hasta llegar a 197 μ l. El proceso se repitió para VCL/PEGDA-ZnMintPc y VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs. Por último se analizó ZnMintPc en DMF usando diferentes volúmenes de ZnMintPc (8.333 μ M).

Para determinar la concentración de ZnMintPc o de MWCNTs-MNPs se realizaron los cálculos que se indican en el ANEXO B 4 y 5.

2. Estabilidad en el Tiempo: Se utilizó el blanco ya mencionado y la muestra a analizar fue de 3mL de suero fisiológico, 20 μ l de VCL/PEGDA y 125 μ l de VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs-ZnMintPc. Y para VCL/PEGDA-ZnMintPc se preparó una muestra de la misma manera que VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs-ZnMintPc. Las muestras una vez analizadas se almacenaron en un tubo de ensayo cubierto de papel aluminio. Se analizaron durante las 3 primeras horas después de preparar el compuesto y un día después.

3.4. **Hipótesis**

H₁: Los Nanotubos de Carbono de Pared Múltiple pueden transportar el Fotosensibilizante ZnMintPc en un medio acuoso.

H₀: Los Nanotubos de Carbono de Pared Múltiple no pueden transportar el Fotosensibilizante ZnMintPc en un medio acuoso.

3.4.1. *Demostración de la Hipótesis*

La hipótesis H₁ se demostró mediante observación directa de los espectros obtenidos del nanocompuesto y por verificación de documentación.

Soares et al (2009); Garcia et al (2011), Hummer, Rasaiah y Noworyta (2001) demuestran que los MWCNTs son hidrofóbicos e incapaces de dispersarse en medios acuosos y Romero et al (2013) presenta que el fotosensibilizante ZnMintPc es fuertemente hidrofóbico y que es capaz de dispersarse en solventes orgánicos como el DMF. Tanto los MWCNTs y el PS ZnMintPc necesitan de un vehículo lipofílico para poder transportarse en medios acuosos (Xia, Monteiro-Riviere y Riviere, 2010, p. 671-675; Montes, 2009; Kam y Dai, 2005, p. 6021-6026).

En el presente trabajo se empleó el nanogel VCL-PEGDA para recubrir al nanocompósito MNPs-MWCNTS-ZnMintPc, demostrando ser un buen vehículo lipofílico para el transporte de este nanocompósito. En el Gráfico 4-4 se presenta los espectros UV-VIS del ZnMintPc disperso en DMF y en el Gráfico 5-4 se presenta el Espectro UV-VIS de VCL/PEGDA-ZnMintPc disperso en 3mL de suero fisiológico, ambos gráficos concuerdan con la investigación de Romero et al (2013) en donde indica que las bandas del ZnMintPc son las siguientes: la banda B a 354nm, una banda a 616nm y la banda Q a 684 nm.

El los gráficos: 7 4 que presenta el espectro UV-VIS del VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs-ZnMintPc disperso en 3mL de suero fisiológico; 8 4 que presenta el espectro resultante de la resta de los espectros del Gráfico 7-4 (VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs- ZnMintPc) menos el Gráfico 6-4 (VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs) y los gráficos correspondientes a la estabilidad en el tiempo del nanocompósito VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs- ZnMintPc. Se observó la presencia de las bandas características del ZnMintPc sin presentar dislocamientos ni pérdida de alguna de las bandas lo que demuestra que el Nanocompósito no posee agregaciones y el VCL-PEGDA les permite ser transportados en un medio acuoso en este caso el suero fisiológico, por lo cual la Hipótesis H₁ es verdadera siempre y cuando el nanocompósito este cubierto por VCL-PEGDA.

CAPITULO IV

4. ANÁLISIS Y RESULTADOS

4.1. Resultados de la Síntesis del Nanovehículo MWCNTs-MNPs

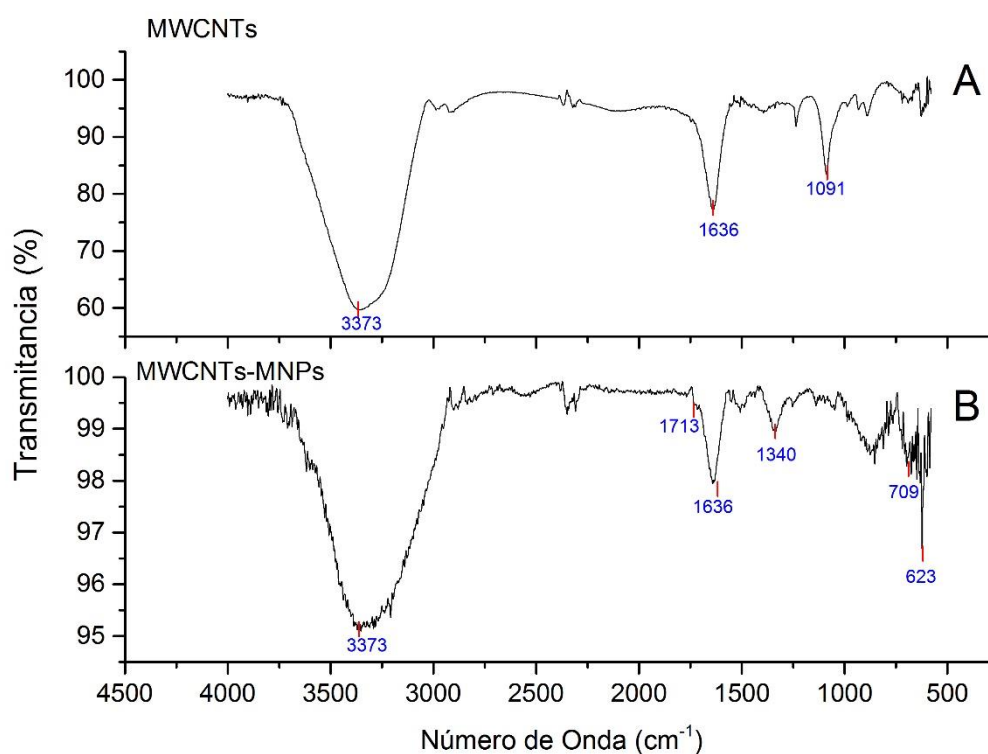


Gráfico 1-4: Espectro FT-IR de: A) MWCNTs y B) MWCNTs-MNPs.

Realizado por: Coralía Cuadrado, 2017

En el Gráfico 1-4 se presenta el espectro FT-IR de MWCNTs (A) puros y de MWCNTs-MNPs (B), en ambos espectros se presentan bandas características de los MWCNTs como son: la banda a 3373 cm^{-1} que se atribuye a la vibración del grupo hidroxilo (OH) y la banda a 1636 cm^{-1} que se atribuye al estiramiento del grupo C=C, en el espectro A además se observa una banda a 1091 cm^{-1} que corresponde a vibraciones de estiramiento de CO que pertenecen a grupos carboxílicos. En el espectro B se observan bandas adicionales en el rango 1400-1730 cm^{-1} que corresponden a los grupos -C = O, -COO, -COOH que han sido adicionados debido al tratamiento ácido y a la funcionalización con MNPs (Pourzamani, Hajizadeh y Fadaei, 2015, p. 29; Cunha et al., 2012, p. 465102;

Navamani, 2012, p. 15), por último las bandas característica de las MNPs se encuentra 709 y 623 cm^{-1} que indican la vibración de estiramiento de Fe-O-Fe que es característico de la Hematita, (Li et al., 2010, p. 289-295).

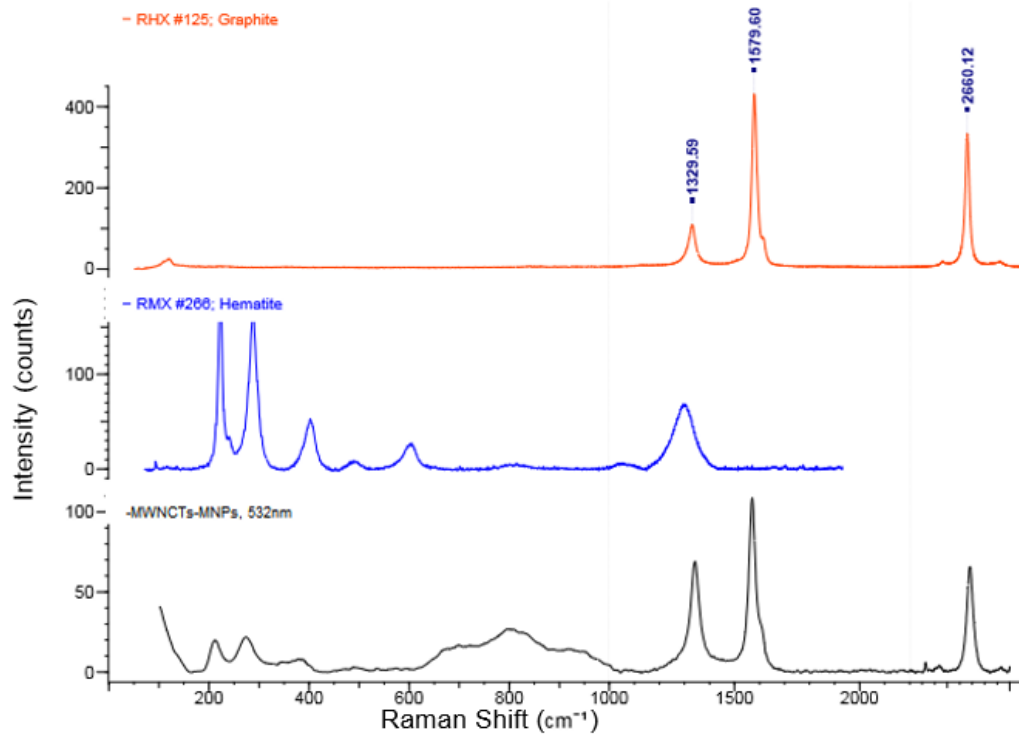


Gráfico 2-4: Comparación del espectro Raman de MWCNTs-MNPs con espectros de referencia del equipo de Grafito y de Hematita. $E_{\text{láser}}=2.33\text{eV}$, $\lambda=532\text{ nm}$.

Realizado por: Coralía Cuadrado, 2017

En el Gráfico 2-4 se presenta la comparación del espectro de MWCNTs-MNPs comparado con espectros de referencia que proporciona el programa LabSpec 6 del equipo Horiba Scientific, el cual nos ayudó a comprobar que el Nanovehículo está formado por estructuras de carbono (MWCNTs) y nanopartículas de Hematita.

En el Gráfico 3-4 se encuentran los espectros Raman de MWCNTs sin tratar, tratados con ácidos nítrico y sulfúrico y del nanovehículo MWCNTs-MNPs; muestras que fueron excitadas con un láser de 2.33 eV (532nm) los cuales presentan las bandas características de los MWCNTs: Banda D o banda de Defectos y las bandas de primer y segundo orden G y G' respectivamente. La banda D se encuentra a 1337 cm^{-1} y corresponde a la presencia de defectos en el grafito, es decir la presencia de múltiples hojas de carbono que no se alinean directamente hoja a hoja, lo que induce a una pérdida de simetría traslacional en la Red 2D de grafito, por lo el mismo efecto se produce un fonón secundario que da lugar a la presencia de la banda G' a 1566 cm^{-1} . La banda fundamental

G es una banda de elongación tangencial que se atribuye a la vibración en plano del enlace C-C y es típico de materiales derivados del carbono (Santoro y Domingo, 2007; Dresselhaus et al., 2005; Marković et al., 2009, p. 6359-6366; L. Bokobza, 2012, p. 601-608).

Se observa que la relación $\frac{I_D}{I_G}$ aumenta en el espectro de los MWCNTs tratados en comparación con los MWCNTs sin tratar, esto se da debido a que el tratamiento ácido provoca que se rompan algunos enlaces y se forman grupos funcionales que sirven posteriormente para la funcionalización con las MNPs, al observarse la presencia de las tres bandas nos da a conocer que los MWCNTs se mantienen y no se han convertido en otra estructura.

Y comparando la relación $\frac{I_D}{I_G}$ de los espectros de MWCNTs tratados con los MWCNTs-MNPs, esta aumenta debido a que la estructura de los MWCNTs ha sido funcionalizada con las MNPs creando una estructura de grafito defectuosa al igual que se observa que las bandas características de la Hematita se manifiestan en 210 y 273 cm^{-1} (Krysa et al., 2015, p. 1046-1058).

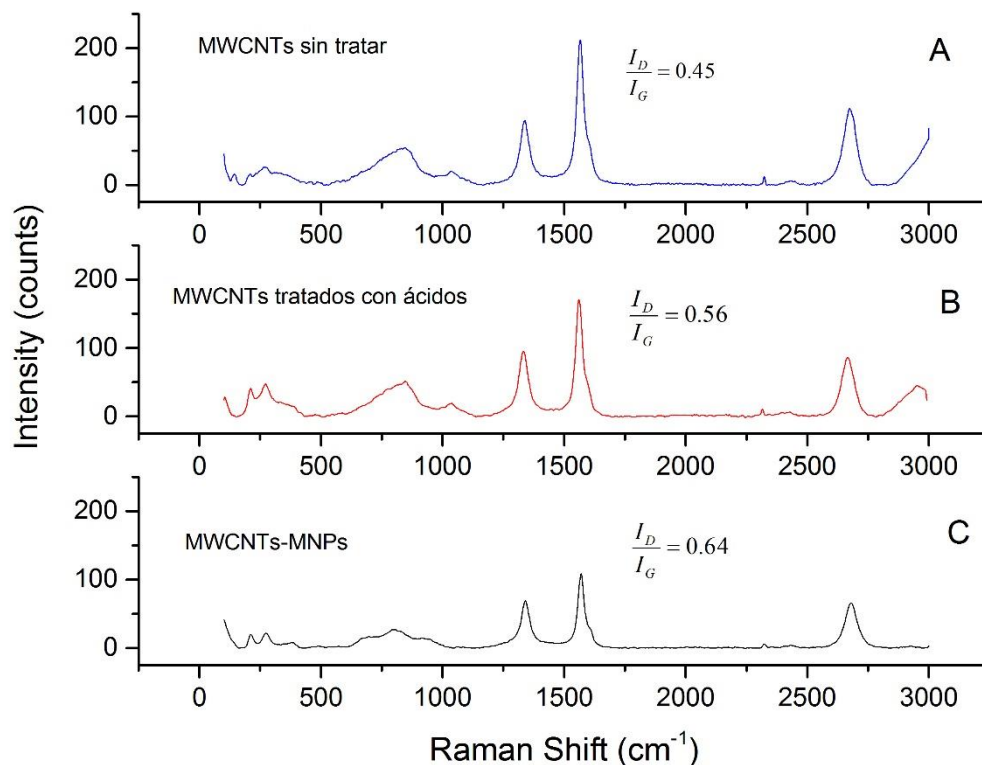


Gráfico 3-4: Espectros Raman: A) MWCNTs sin Tratar, B) MWCNTs Tratados con ácidos nítrico y sulfúrico, C) MWCNTs-MNPs. $E_{\text{láser}}=2.33\text{eV}$, $\lambda=532\text{ nm}$

Realizado por: Coralía Cuadrado, 2017

4.2. Resultados de la Funcionalización MWCNTs-MNPs con ZnMintPc

4.2.1. Titulación de VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs-ZnMintPc

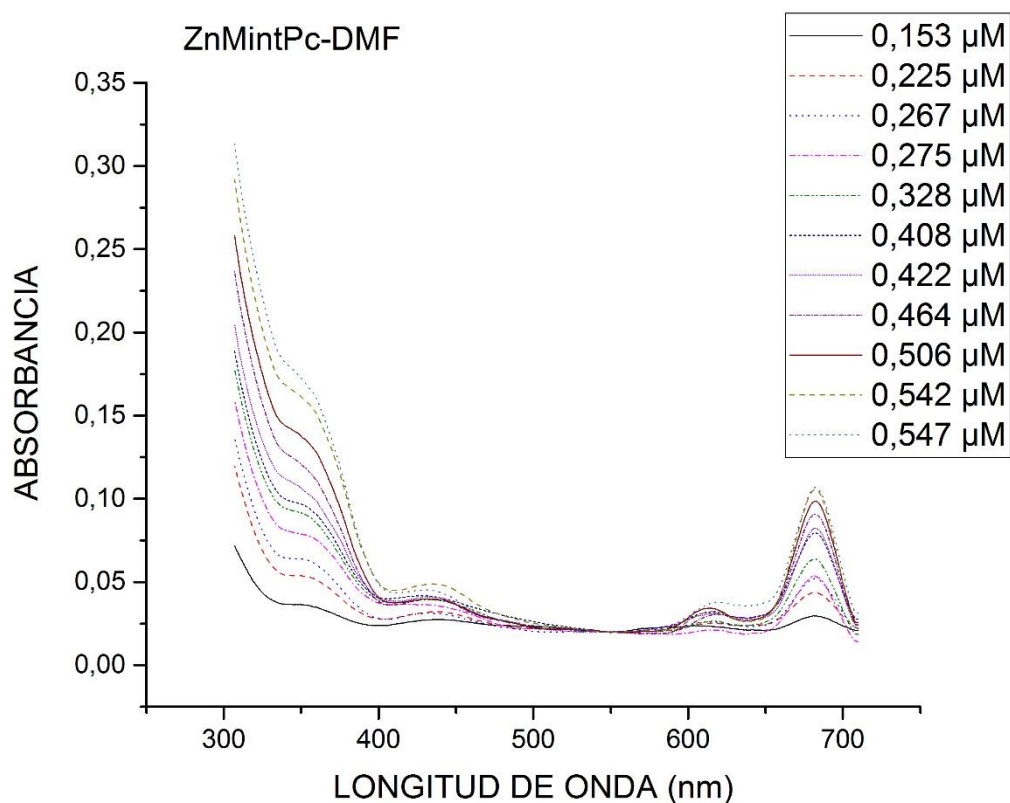


Gráfico 4-4: Espectro UV-VIS de titulación ZnMintPc en 3mL de DMF.

Realizado por: Coralía Cuadrado, 2017

En el Capítulo II, parte 2.5.4 se presenta el espectro UV-Vis de ZnMintPc en DMF y al compararlo con el Gráfico 4-4 se puede observar la presencia de las mismas bandas a 354 (Banda de B o de Soret), 616 y la banda Q a 684 nm (se deben a monómeros). Se observa que al ir aumentando la concentración de ZnMintPc, la absorción de las bandas B y Q aumenta proporcionalmente sin existir un desplazamiento de las mismas lo que quiere decir que obedecen a la ley de Beer-Lambert y no hay agregación del fármaco siendo el DMF un solvente verificado para el PS (Nunes, Sguilla y Tedesco, 2004, p. 273-284; Romero et al., 2013, p. 22-29). Estas bandas también se encuentran presentes en el Gráfico 5-4 y Gráfico 7-4 correspondientes al espectro UV-VIS del VCL/PEGDA-ZnMintPc y del nanocompuesto VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs- ZnMintPc, ambos sistemas obedecen la Ley de Beer-Lambert por lo que se puede decir que el nanogel VCL-PEGDA dispersa muy bien el PS.

En el Gráfico 6-4 se encuentra el espectro UV-VIS de los MWCNTs MNPs en donde se observa la presencia de dos bandas una intensa cuyo punto máximo debe estar a 265 nm, pero por características del equipo no se puede visualizar y es característica de los MWCNTs (Wang et al., 2012, p. 7693) y una menos intensa a 315 nm la cual pertenece a la estructura de la Hematita, esta banda ha sufrido un desplazamiento hipsocrómico o desplazamiento hacia el azul debido a la funcionalización covalente que tuvo con los MWCNTs en presencia de un solvente orgánico como es el Hidróxido de amonio (Chen et al., 2015, p. 18237-18247; Meier et al., 2004, p. 360-370).

Mientras que en el Gráfico 8-4 se presenta un espectro tratado para conocer la concentración de ZnMintPc presenta en el nanocompósito VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs-ZnMintPc, este espectro es resultado de una resta entre los espectro del nanocompósito con los espectros de MWCNTs-MNPs. En este gráfico se puede observar que al aumentar la concentración de ZnMintPc, la absorbancia también aumenta proporcionalmente, además que la banda Q y B se mantienen en las mismas longitudes de onda (354, 616 y 684 nm) por lo que se puede decir que no hay agregaciones del fármaco en el nanogel en concentraciones de 0.197 hasta 0.547 μM .

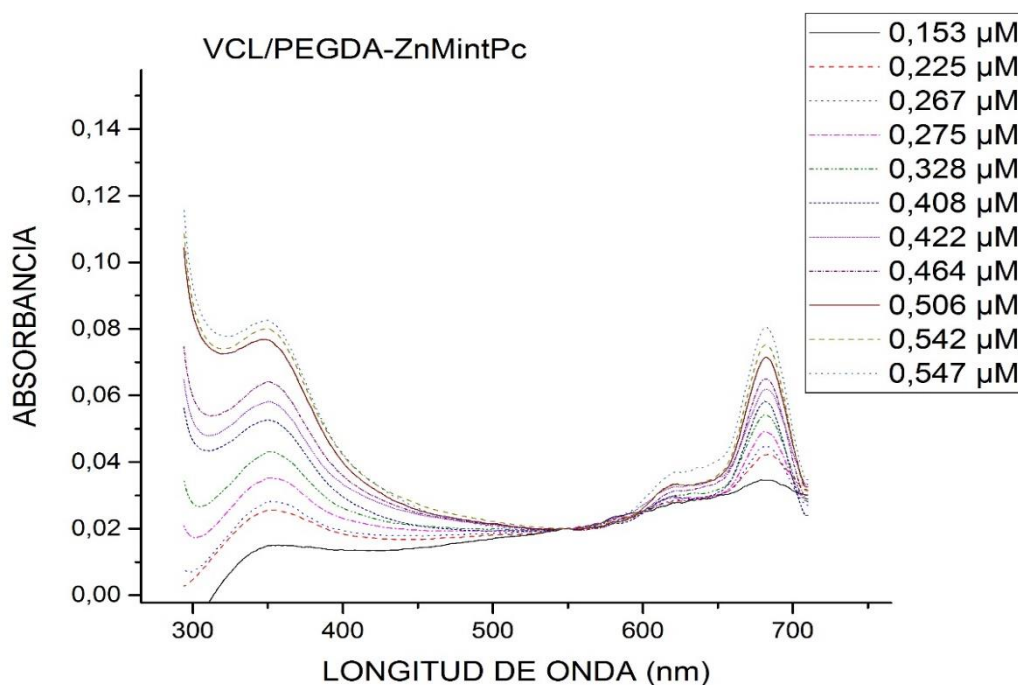


Gráfico 5-4: Espectro UV-VIS de titulación VCL/PEGDA-ZnMintPc, en 3mL de suero fisiológico +20 μL de VCL/PEGDA

Realizado por: Coralía Cuadrado, 2017

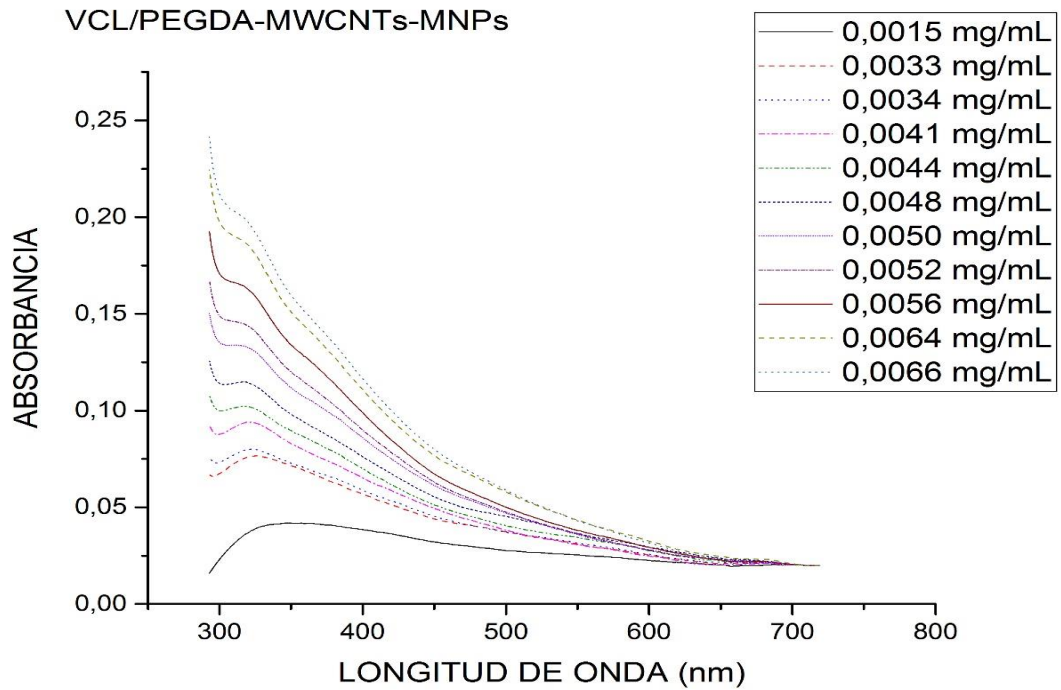


Gráfico 6-4: Espectro UV-VIS de titulación VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs, en 3mL de suero fisiológico +20 μ L de VCL/PEGDA.

Fuente: Coralía Cuadrado, 2017

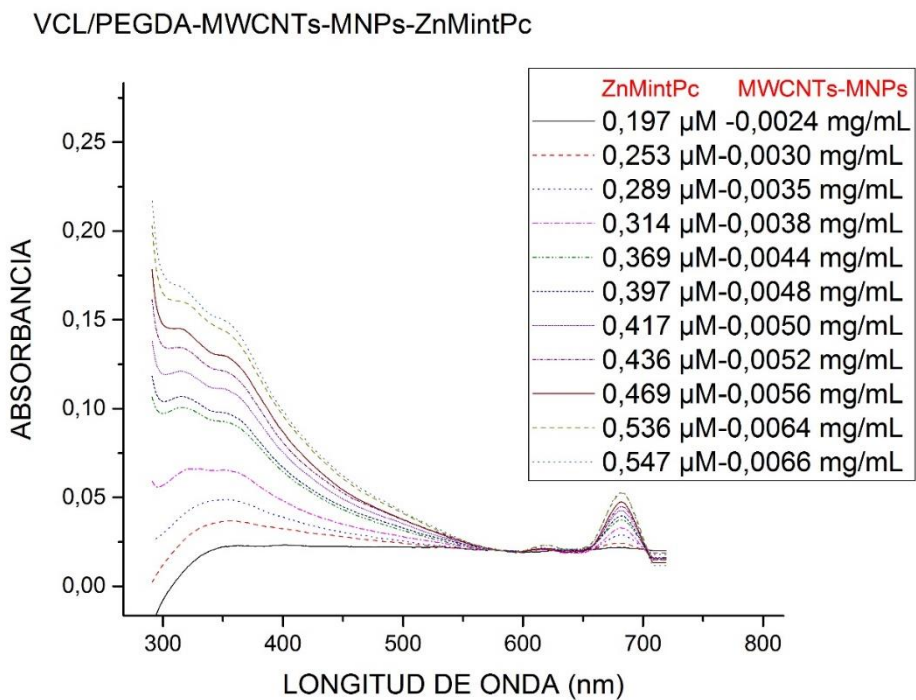


Gráfico 7-4: Espectro UV-VIS de titulación VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs- ZnMintPc, en 3mL de suero fisiológico + 20 μ L de VCL/PEGDA

Realizado por: Coralía Cuadrado, 2017

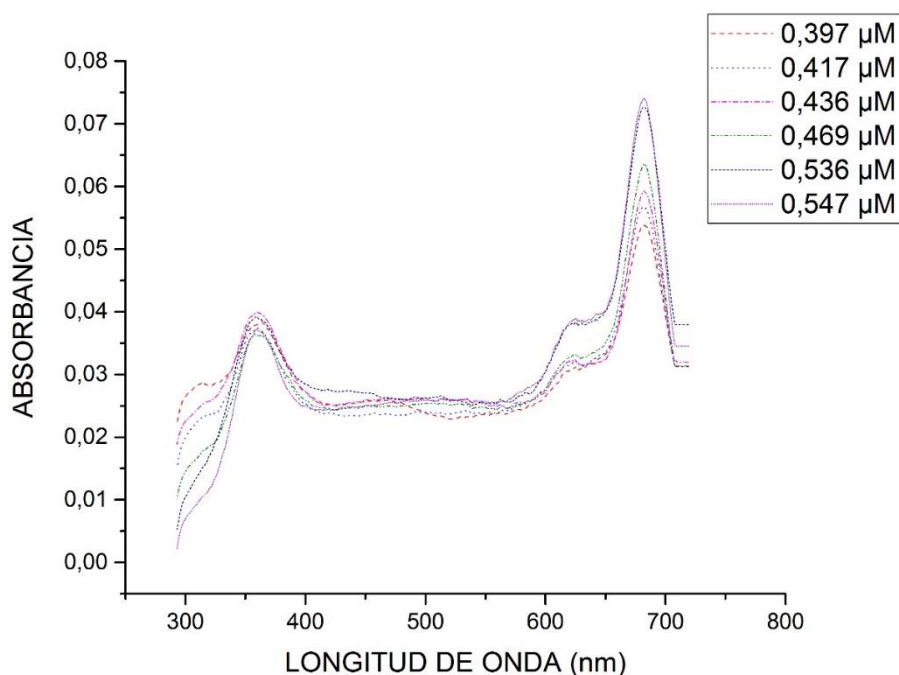


Gráfico 8-4: Espectro resultante de la resta de los espectros del Gráfico 7-4 (VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs- ZnMintPc) menos el Gráfico 6-4 (VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs).

Realizado por: Coralía Cuadrado, 2017

En el Gráfico 9-4 se presenta la Curva de Calibración del ZnMintPc en DMF (Color Negro) y de VCL/PEGDA –ZnMintPc(Color rojo), obtenida a partir de la banda Q que se encuentra en 684 nm y es la banda más intensa y se encuentra en una región del espectro de interés para tratamiento en PDT, se puede observar que en la curva de ZnMintPc las absorbancias son mayores que en la de VCL/PEGDA –ZnMintPc lo cual explica que el nanogel se encuentra recubriendo al ZnMintPc (Wu et al., 2011, p. 9876-9887, 2010, p. 7555-7566 ; Sánchez-Iglesias et al., 2009, p. 3184-3190). Mientras que el Gráfico 10-4 presenta la curva de Calibración del nanocompuesto VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs-ZnMintPc y de VCL/PEGDA–ZnMintPc obtenidos a partir de la Q, en este gráfico se observa que las absorbancias de VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs-ZnMintPc son menores lo que significa que ahora el PS se encuentra recubierto por los MWCNTs-MNPs, es decir que se encuentra anclado a las diferentes paredes que posee el Nanotubo de Carbono.

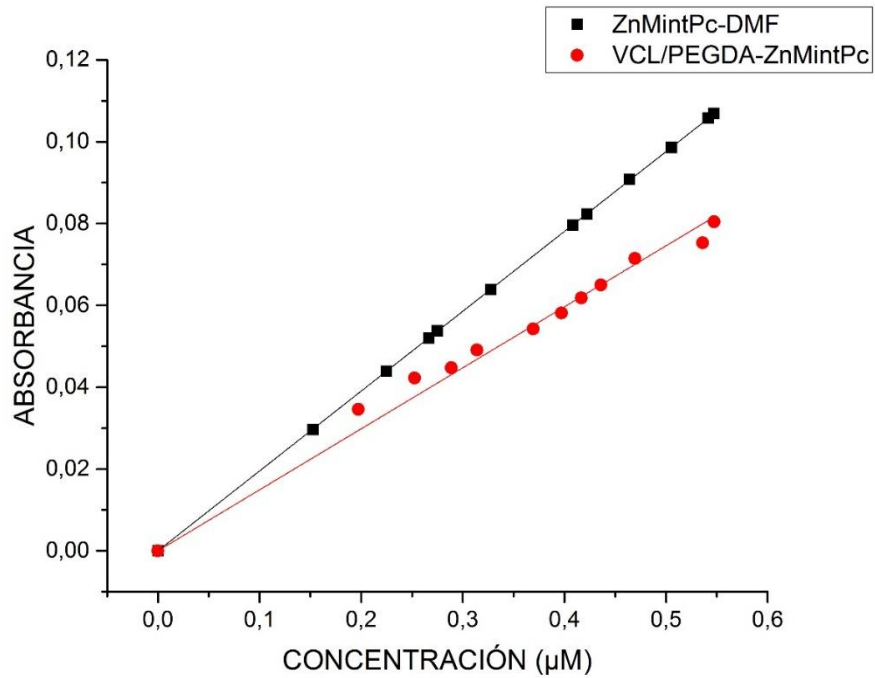


Gráfico 9-4: Curva de Calibración de nanocompuesto VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs-ZnMintPc y de ZnMintPc-DMF en 684nm.

Realizado por: Coralía Cuadrado, 2017

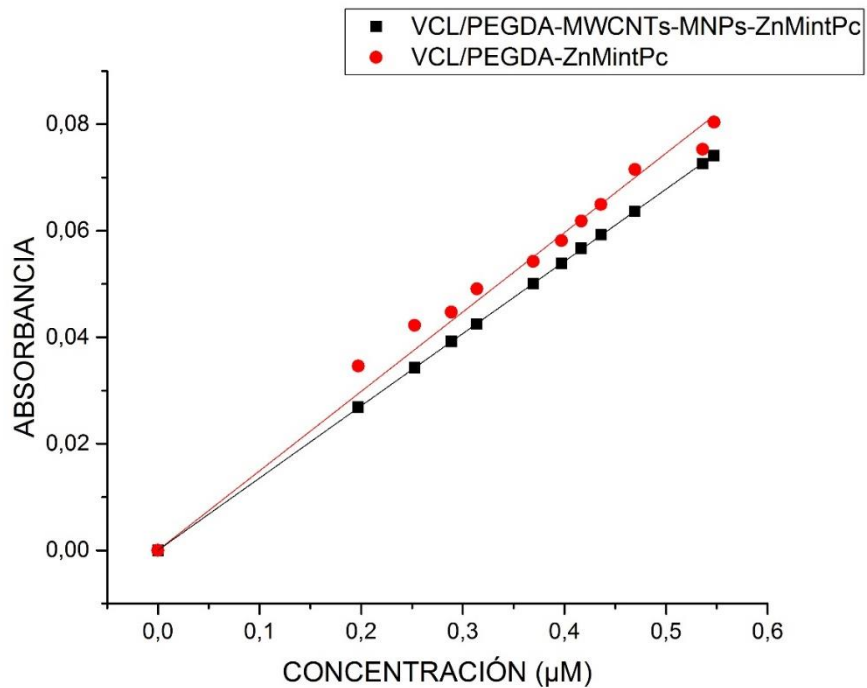


Gráfico 10-4: Curva de Calibración de nanocompuesto VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs-ZnMintPc y de VCL/PEGDA -ZnMintPc en 684 nm.

Realizado por: Coralía Cuadrado, 2017

4.2.2. Estabilidad en el tiempo de VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs-ZnMintPc.

El estudio de estabilidad en el tiempo se realizó durante las tres primeras horas después de haber funcionalizado el PS con el nanovehículo (VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs-ZnMintPc) y un día después, en el Gráfico 11-4 se presenta los espectros correspondientes al VCL/PEGDA-ZnMintPc y en la Gráfico 12-4 los espectros de VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs-ZnMintPc. Se puede observar que en ambos casos a medida que pasa el tiempo la intensidad de la banda B aumenta , mientras que la intensidad de la banda Q disminuye, este fenómeno se tribuye a que a medida que pasa el tiempo el PS comienza a decaer, pero no existe el desplazamiento de ninguna de las bandas por lo que se puede descartar agregación durante las 24 Horas (Hiroaki, 2015).

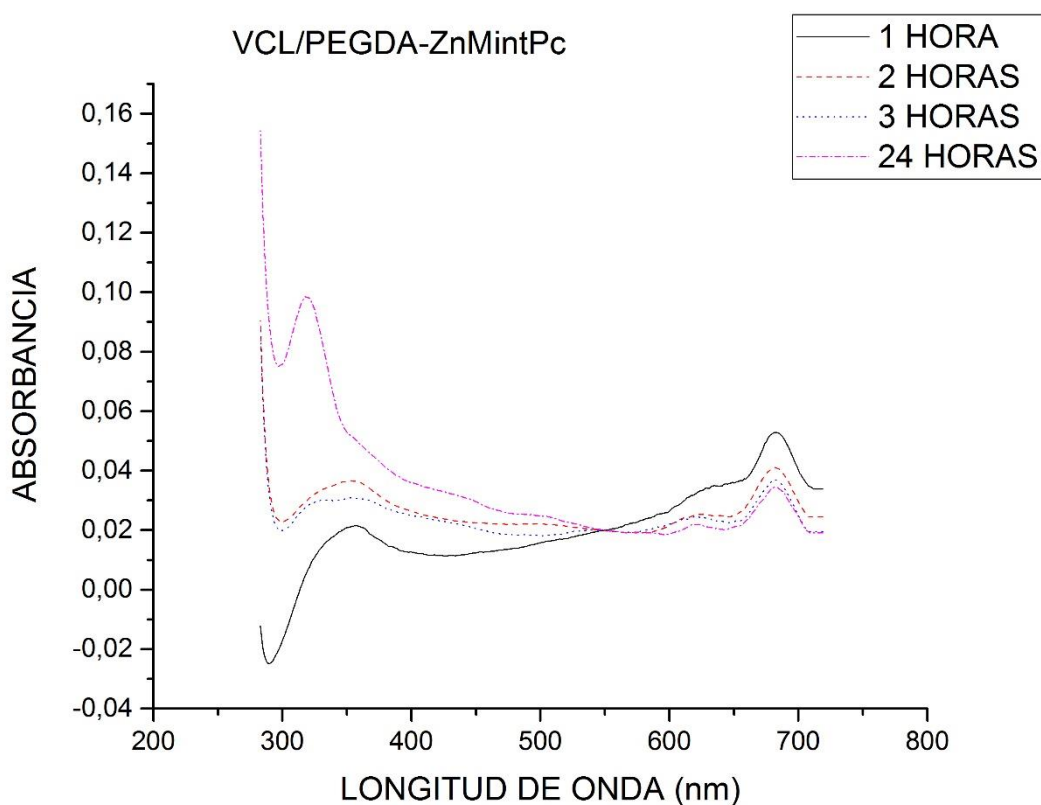


Gráfico 11-4: Espectro UV-VIS de Estabilidad en el tiempo de VCL/PEGDA-ZnMintPc (a 0.27 μ M de ZnMintPc) en 3ml de Suero fisiológico + 20 μ L de VCL/PEGDA.

Realizado por: Coralía Cuadrado, 2017

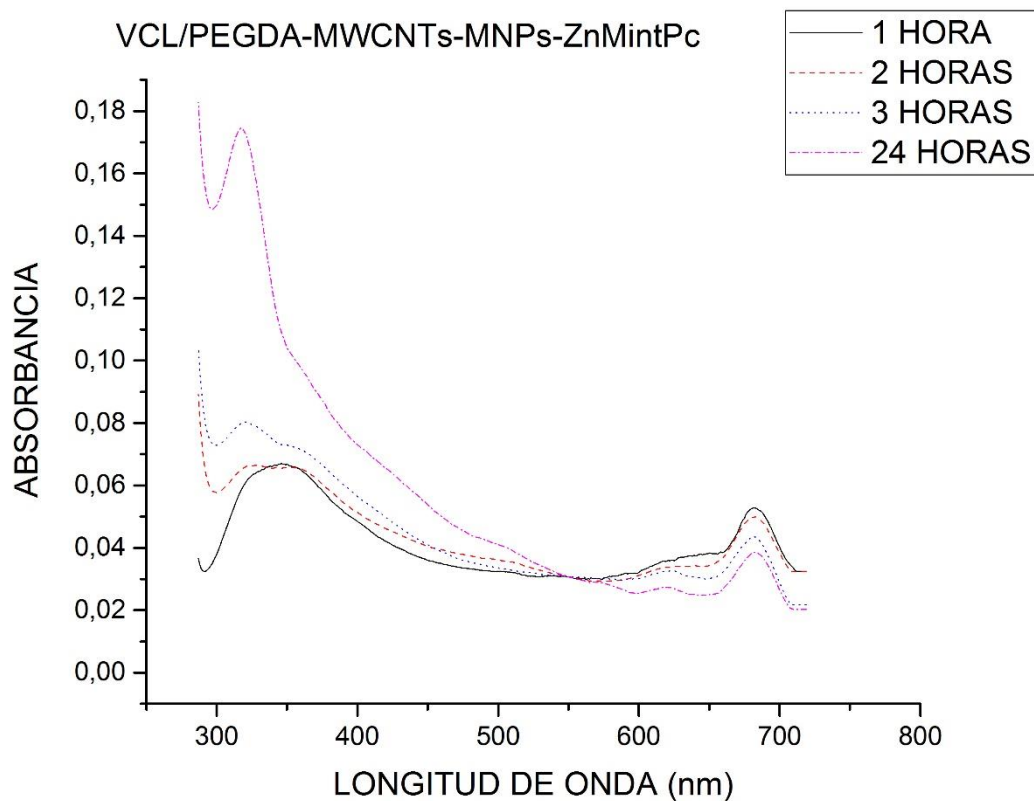


Gráfico 12-4: Espectro UV-VIS de Estabilidad en el tiempo de VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs-ZnMintPc (a $0.27 \mu\text{M}$ de ZnMintPc y 0.0033mg/mL de MWCNTs-MNPs) en 3ml de Suero fisiológico + $20 \mu\text{L}$ de VCL/PEGDA.

Realizado por: Coralía Cuadrado, 2017

La curva de estabilidad en el tiempo que se observa en el Gráfico 13-4, nos indica que la intensidad de PS decae exponencialmente a medida que transcurre el tiempo, se puede observar que el VCL/PEGDA- ZnMintPc decae más rápidamente que el VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs-ZnMintPc, además se observa que en el VCL/PEGDA- ZnMintPc durante las primeras tres horas la absorbancia disminuye en un 30%, a partir de la octava hora disminuye un 35%, manteniendo una intensidad del 65% de la octava hasta la vigésima cuarta hora. Mientras que en el VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs-ZnMintPc durante las tres primeras horas disminuye tan solo un 17.6 % y a partir de la octava hora hasta transcurrir 24 horas la disminución de su absorbancia no varía notablemente disminuyendo un 27% es decir se conserva el 73% de su intensidad desde la octava a la vigésima cuarta hora. Lo que nos indica que la funcionalización del PS ZnMintPc a los MWCNTs-MNPs ayudó a brindarle mayor estabilidad en el tiempo al PS haciendo que durante las tres primeras horas solo pierda un 17.6% de su intensidad.

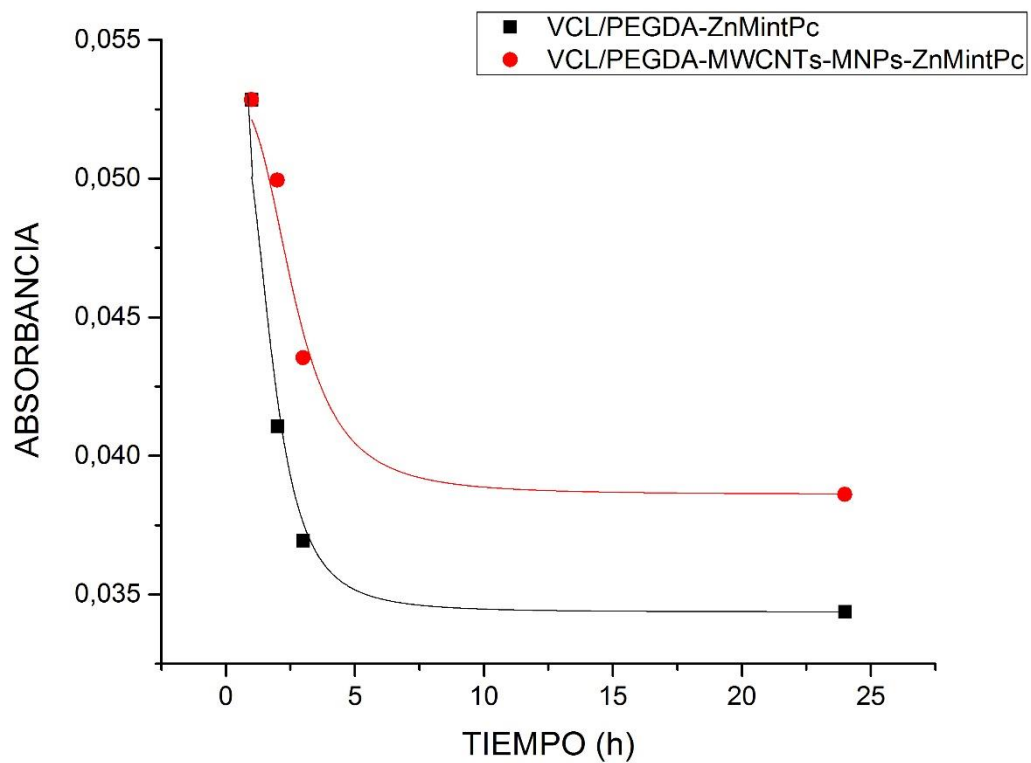


Gráfico 13-4: Curva de Estabilidad en el tiempo de VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs-ZnMintPc(a 0.27 μ M de ZnMintPc y 0.0033mg/mL de MWCNTs-MNPs) y de VCL/PEGDA- ZnMintPc(a 0.27 μ M de ZnMintPc) en 3mL de suero fisiológico + 20 μ L de VCL/PEGDA.

Realizado por: Coralía Cuadrado, 2017

CONCLUSIONES

- Se sintetizó los MWCNTs-MNPs utilizando el método de Co-Precipitación detallado en el punto 3.2.2 y se los caracterizó utilizando las técnicas espectroscópicas FT-IR y Raman, las cuales ayudaron a determinar que existen MNPs de Hematita ancladas a los MWCNTs a través de enlaces covalentes formados entre los grupos carboxílicos de los MWCNTs y los grupos superficiales de la Hematita.
- Se logró funcionalizar el PS ZnMintPc al nanovehículo MWCNTs-MNPs en presencia del nanogel VCL-PEGDA a través de métodos físicos, se caracterizó por espectroscopia UV-VIS en donde se encontró la presencia de las bandas características del PS ZnMintPc: Banda B a 354 nm, 616 nm y Banda Q a 684 nm, también se presenta una banda a 315 nm la cual pertenece a la estructura de la Hematita, mientras que la banda de los MWCNTs solo se presenta una parte de ella debido a características del equipo que no permiten visualizar la banda que se encontraría a 265 nm. La funcionalización se dio en un medio acuoso (nanogel VCL-PEGDA) en donde el ZnMintPc logra anclarse a las paredes de los MWCNTs a través de interacciones π - π , mientras que los fosfolípidos PEG logran funcionalizarse de forma no covalente con los MWCNTs a través de interacciones hidrofóbicas (Chacko et al., 2012, p. 836-851).
- El nanocompósito obtenido (VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs-ZnMintPc) en comparación con VCL/PEGDA-ZnMintPc obtuvo una mejor estabilidad en el tiempo lo que ayudará para que el nanocompósito pueda ser almacenado además que durante las 24 Horas de evaluación no se observó agregación del PS. Al estar funcionalizado el PS con MWCNTs se podrá transportar una mayor cantidad de PS en las múltiples paredes que posee y las MNPs ayudarán a ser dirigido a través de un campo magnético externo.
- Debido a la eficiente dispersión del PS en el nanovehículo estructurado, el compuesto VCL/PEGDA-MNPs-MWCNTs-ZnMintPc pueden ser utilizados en una siguiente fase de estudio (in vitro) para verificar su eficiencia en presencia de células cancerígenas o microorganismos.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda continuar con la presente investigación para lograr su aplicación en la Terapia Fotodinámica.
- Se recomienda verificar la calibración de equipos utilizados para lograr obtener medidas más exactas especialmente equipos que posean unidades muy pequeñas a escala micro o nano.
- Al trabajar con nanosistemas se recomienda tener mucho cuidado al pesar compuestos, al tomar volúmenes, al manejar equipos para obtener los resultados deseados, además tener mucho cuidado al lavar los materiales de vidrio a utilizar para evitar contaminación de nuestro producto.
- Se recomienda tener presente las medidas de seguridad en un laboratorio y de manejo de sustancias químicas peligrosas.

BIBLIOGRAFÍA

- ACKROYD, R., KELTY, C. y BROWN, N., The history of photodetection and photodynamic therapy. En: NULL, *Photochemistry and Photobiology* [en línea], 2001. p. 425. [Consulta: 4 agosto 2016]. Disponible en: [http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1562/0031-8655\(2001\)0740656THOPAP2.0.CO2/full](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1562/0031-8655(2001)0740656THOPAP2.0.CO2/full).
- AGOSTINIS, P., BERG, K. y CENGEL, K., Photodynamic therapy of cancer: an update. *CA: a cancer journal* [en línea], 2011. [Consulta: 4 agosto 2016]. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.3322/caac.20114/full>.
- AKERMAN, M.E. et al., Nanocrystal targeting in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [en línea], 2002. p. 12617-21. [Consulta: 19 junio 2016]. ISSN 0027-8424. DOI 10.1073/pnas.152463399. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12235356>.
- ALLISON, R.R. et al., Photosensitizers in clinical PDT. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 2004. p. 27-42. ISSN 15721000. DOI 10.1016/S1572-1000(04)00007-9.
- ALLISON, R.R. y SIBATA, C.H., Oncologic photodynamic therapy photosensitizers: A clinical review. En: NULL, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* [en línea], 2010. p. 61-75. [Consulta: 20 diciembre 2016]. ISSN 15721000. DOI 10.1016/j.pdpdt.2010.02.001. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S157210001000027X>.
- ALMEIDA, A.J. y SOUTO, E., Solid lipid nanoparticles as a drug delivery system for peptides and proteins. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2007. p. 478-490. ISSN 0169409X. DOI 10.1016/j.addr.2007.04.007.
- ANDO, Y. y ZHAO, X., Synthesis of carbon nanotubes by arc-discharge method. *New diamond and frontier carbon technology* [en línea], 2006. [Consulta: 12 octubre

- 2016]. Disponible en:
https://www.researchgate.net/profile/Yoshinori_Ando/publication/267972345_Synthesis_of_Carbon_Nanotubes_by_Arc-Discharge_Method/links/5498c8d20cf2c5a7e342c63c.pdf.
- BALACIANU, F. et al., Synthesis and characterization of Fe₃O₄ magnetic particles/multiwalled carbon nanotubes by covalent functionalization. , 2009. p. 219-222. ISSN 1842-6573.
- BANDOW, S. et al., Purification of single-wall carbon nanotubes by microfiltration. *The Journal of* [en línea], 1997. [Consulta: 12 octubre 2016]. Disponible en: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jp972026r>.
- BANERJEE, S., HEMRAJ-BENNY, T. y WONG, S., Covalent surface chemistry of single-walled carbon nanotubes. *Advanced Materials* [en línea], 2005. [Consulta: 12 octubre 2016]. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/adma.200401340/full>.
- BAUGHMAN, R., ZAKHIDOV, A. y HEER, W. de, Carbon nanotubes--the route toward applications. En: NULL, *science* [en línea], 2002. [Consulta: 25 agosto 2016]. Disponible en: <http://science.sciencemag.org/content/297/5582/787.short>.
- BIANCO, A., KOSTARELOS, K. y PRATO, M., Applications of carbon nanotubes in drug delivery. En: NULL, *Current opinion in chemical biology* [en línea], 2005. p. 674. [Consulta: 25 agosto 2016]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1367593105001389>.
- BODDUPALLI, B. et al., Mucoadhesive drug delivery system: An overview. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research* [en línea], 2010. p. 381. [Consulta: 4 agosto 2016]. ISSN 0110-5558. DOI 10.4103/0110-5558.76436. Disponible en: <http://www.japtr.org/text.asp?2010/1/4/381/76436>.
- BOVIS, M., WOODHAMS, J. y LOIZIDOU, M., Improved in vivo delivery of m-THPC via pegylated liposomes for use in photodynamic therapy. En: NULL, *Journal of*

- controlled* [en línea], 2012. p. 59. [Consulta: 5 agosto 2016]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168365911009394>.
- BUZEA, C., PACHECO, I.I. y ROBBIE, K., Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity. *Biointerphases* [en línea], 2007. p. MR17-71. [Consulta: 19 junio 2016]. ISSN 1559-4106. DOI 10.1116/1.2815690. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20419892>.
- CALIXTO, G. et al., Nanotechnology-Based Drug Delivery Systems for Photodynamic Therapy of Cancer: A Review. *Molecules* [en línea], 2016. p. 342. [Consulta: 4 agosto 2016]. ISSN 1420-3049. DOI 10.3390/molecules21030342. Disponible en: <http://www.mdpi.com/1420-3049/21/3/342>.
- CASTANO, A., MROZ, P. y HAMBLIN, M., Photodynamic therapy and anti-tumour immunity. *Nature Reviews Cancer* [en línea], 2006. [Consulta: 4 agosto 2016]. Disponible en: <http://www.nature.com/nrc/journal/v6/n7/abs/nrc1894.html>.
- CASTRILLÓN GARCÍA, M., IRUSTA ALDERETE, S. y MEIER, J., *Síntesis de nanopartículas magnéticas y su aplicación en nanocompuestos de matriz polimérica con propiedades magnéticas* [en línea]. 14 diciembre 2012. S.I.: Universidad de Zaragoza, Prensas de la Universidad. [Consulta: 24 febrero 2016]. 2012. Disponible en: <http://www.tesisenred.net/handle/10803/107561>.
- CHACKO, R.T. et al., Polymer nanogels: A versatile nanoscopic drug delivery platform. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2012. p. 836-851. ISSN 0169409X. DOI 10.1016/j.addr.2012.02.002.
- CHEN, M.-L. et al., Quantum Dots Conjugated with Fe₃O₄-Filled Carbon Nanotubes for Cancer-Targeted Imaging and Magnetically Guided Drug Delivery. *Langmuir* [en línea], 2012. p. 16469-16476. [Consulta: 14 diciembre 2016]. ISSN 0743-7463. DOI 10.1021/la303957y. Disponible en: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/la303957y>.
- CHEN, P. et al., Luminescent Quadrupolar Borazine Oligomers: Synthesis,

- Photophysics, and Two-Photon Absorption Properties. En: NULL, *Chemistry - A European Journal* [en línea], 2015. p. 18237-18247. [Consulta: 6 enero 2017]. ISSN 15213765. DOI 10.1002/chem.201502268. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1002/chem.201502268>.
- CHEUNG, W. et al., DNA and carbon nanotubes as medicine. *Advanced Drug Delivery Reviews* [en línea], 2010. p. 633-649. [Consulta: 21 agosto 2016]. ISSN 0169409X. DOI 10.1016/j.addr.2010.03.007. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169409X10000761>.
- CHIANG, I., BRINSON, B. y SMALLEY, R., Purification and characterization of single-wall carbon nanotubes. *The Journal of* [en línea], 2001. [Consulta: 12 octubre 2016]. Disponible en: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jp003453z>.
- CHO, K. et al., Therapeutic Nanoparticles for Drug Delivery in Cancer. *Clinical Cancer Research* [en línea], 2008. p. 1310-1316. [Consulta: 22 diciembre 2016]. ISSN 1078-0432. DOI 10.1158/1078-0432.CCR-07-1441. Disponible en: <http://clincancerres.aacrjournals.org/cgi/doi/10.1158/1078-0432.CCR-07-1441>.
- CHORILLI, M., CALIXTO, G. y RIMÉRIO, T., Caffeine encapsulated in small unilamellar liposomes: characterization and in vitro release profile. En: NULL, *Journal of Dispersion* [en línea], 2013. p. 89. [Consulta: 5 agosto 2016]. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01932691.2012.739535>.
- CHOUDHARY, V. y GUPT, A., Polymer/Carbon Nanotube Nanocomposites. *Carbon Nanotubes - Polymer Nanocomposites* [en línea]. S.l.: InTech, 2011. [Consulta: 19 diciembre 2016]. Disponible en: <http://www.intechopen.com/books/carbon-nanotubes-polymer-nanocomposites/polymer-carbon-nanotube-nanocomposites>.
- CUNHA, C. et al., Hybrid composites made of multiwalled carbon nanotubes functionalized with Fe₃O₄ nanoparticles for tissue engineering applications. En: NULL, *Nanotechnology* [en línea], 2012. p. 465102. [Consulta: 7 septiembre 2016]. ISSN 0957-4484. DOI 10.1088/0957-4484/23/46/465102. Disponible en:

4484/23/i=46/a=465102?key=crossref.8e4f87d1e7ffb4486711600acaa3c902.

DAI, T. et al., Concepts and Principles of Photodynamic Therapy as an Alternative Antifungal Discovery Platform. *Frontiers in Microbiology* [en línea], 2012. p. 120. [Consulta: 18 noviembre 2016]. ISSN 1664-302X. DOI 10.3389/fmicb.2012.00120. Disponible en: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2012.00120/abstract>.

DANIELL, M. y HILL, J., A history of photodynamic therapy. *Australian and New Zealand Journal of* [en línea], 1991. [Consulta: 19 diciembre 2016]. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1445-2197.1991.tb00230.x/abstract>.

DEMIR, A. et al., Low temperature magnetic investigation of Fe₃O₄ nanoparticles filled into multiwalled carbon nanotubes. *Synthetic Metals*, 2014. p. 75-80. ISSN 03796779. DOI 10.1016/j.synthmet.2013.10.027.

DENG, J., WEN, X. y WANG, Q., Solvothermal in situ synthesis of Fe₃O₄-multi-walled carbon nanotubes with enhanced heterogeneous Fenton-like activity. *Materials Research Bulletin*, 2012. p. 3369-3376. ISSN 00255408. DOI 10.1016/j.materresbull.2012.07.021.

DOLMANS, D.E.J.G.J., FUKUMURA, D. y JAIN, R.K.R., TIMELINE: Photodynamic therapy for cancer. En: NULL, *Nature Reviews Cancer* [en línea], 2003. p. 380-387. [Consulta: 4 agosto 2016]. ISSN 1474175X. DOI 10.1038/nrc1071. Disponible en: <http://www.nature.com/nrc/journal/v3/n5/abs/nrc1071.html>.

DONG, L. et al., Cytotoxicity of single-walled carbon nanotubes suspended in various surfactants. *Nanotechnology* [en línea], 2008. p. 255702. [Consulta: 18 noviembre 2016]. ISSN 0957-4484. DOI 10.1088/0957-4484/19/25/255702. Disponible en: <http://stacks.iop.org/0957-4484/19/i=25/a=255702?key=crossref.56d6b8deefbe234c30cd1f2329f19289>.

DOUGHERTY, T.J., An Update on Photodynamic Therapy Applications. *Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery* [en

línea], 2002. p. 3-7. [Consulta: 18 diciembre 2016]. ISSN 1061-6128. DOI 10.1089/104454702753474931. Disponible en: <http://www.liebertonline.com/doi/abs/10.1089%2F104454702753474931>.

DRESSELHAUS, M. et al., Raman spectroscopy of carbon nanotubes. *Physics reports* [en línea], 2005. [Consulta: 23 julio 2016]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0370157304004570>.

ELDIN, M., KAMOUN, E. y SOFAN, M., L-Arginine grafted alginate hydrogel beads: A novel pH-sensitive system for specific protein delivery. En: NULL, *Arabian Journal of* [en línea], 2015. p. 459. [Consulta: 5 agosto 2016]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878535214000100>.

ESCOBAR, J.L. GARCÍA, D.M. ZALDIVAR D. KATIME, I., Hidrogeles. Principales Características En El Diseño De Sistemas De Liberación Controlada De Fármacos. En: NULL, *Revista Iberoamericana Polímeros* [en línea], 2002. p. 1-25. [Consulta: 28 diciembre 2016]. Disponible en: <http://www.ehu.es/reviberpol/pdf/Jul/escobar2.pdf>.

FAN, S. et al., Self-Oriented Regular Arrays of Carbon Nanotubes and Their Field Emission Properties. *Science*, 1999.

FAN, X. y LI, X., Preparation and magnetic property of multiwalled carbon nanotubes decorated by Fe₃O₄ nanoparticles. *New Carbon Materials* [en línea], 2012. p. 111-116. [Consulta: 7 septiembre 2016]. ISSN 18725805. DOI 10.1016/S1872-5805(12)60007-9. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1872580512600079>.

FANG, C. y ZHANG, M., Multifunctional magnetic nanoparticles for medical imaging applications. *Journal of Materials Chemistry* [en línea], 2009. p. 6258. [Consulta: 30 mayo 2016]. ISSN 0959-9428. DOI 10.1039/b902182e. Disponible en: <http://xlink.rsc.org/?DOI=b902182e>.

FIGGE, F.H.J., WEILAND, G.S. y MANGANIELLO, L.O.J., Cancer detection and

- therapy; affinity of neoplastic, embryonic, and traumatized tissues for porphyrins and metalloporphyrins. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N.Y.)* [en línea], [sin fecha]. p. 640. [Consulta: 20 diciembre 2016]. ISSN 0037-9727. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18884315>.
- FORCADA, J. et al., Cationic nanogels for biotechnological uses. En: NULL, *U.S. Patent Application No. 13/635* [en línea], 2011. p. 759. [Consulta: 28 diciembre 2016]. Disponible en: <https://www.google.ch/patents/US20130072576>.
- FORCADA, J. et al., Nanogeles Catiónicos para Aplicaciones Biotecnológicas. [en línea], 2011. [Consulta: 18 diciembre 2016]. Disponible en: <https://www.google.co.in/patents/WO2011113989A1?cl=es>.
- GARCIA, A.M. et al., Photophysical behaviour and photodynamic activity of zinc phthalocyanines associated to liposomes. En: NULL, *Photochemical & photobiological sciences: Official journal of the European Photochemistry Association and the European Society for Photobiology* [en línea], 2011. p. 507-14. [Consulta: 17 diciembre 2016]. ISSN 1474-9092. DOI 10.1039/c0pp00289e. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21152616>.
- GEORGAKILAS, V. et al., Broad Family of Carbon Nanoallotropes: Classification, Chemistry, and Applications of Fullerenes, Carbon Dots, Nanotubes, Graphene, Nanodiamonds, and Combined Superstructures. *Chemical Reviews* [en línea], 2015. p. 4744-4822. [Consulta: 10 marzo 2016]. ISSN 0009-2665. DOI 10.1021/cr500304f. Disponible en: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/cr500304f>.
- GILLIES, E. y FRECHET, J., Dendrimers and dendritic polymers in drug delivery. *Drug discovery today* [en línea], 2005. [Consulta: 4 agosto 2016]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359644604032763>.
- GLENCROSS, H., AHMED, N. y WANG, Q., *Biomedical science practice: experimental and professional skills* [en línea]. S.l.: s.n. 2010. [Consulta: 4 enero 2017]. ISBN 0199533296. Disponible en:

<https://books.google.com/books?hl=es&lr=&id=5lqcAQAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR5&dq=Biomedical+Science+Practice++por+Nessar+Ahmed,Hedley+&ots=mnxtav--EU&sig=eUYkRdhvE0mGD15Km2nNL7v2ho>.

GUAN, L., SUENAGA, K. y IJIMA, S., Smallest carbon nanotube assigned with atomic resolution accuracy. *Nano letters* [en línea], 2008. p. 459-62. [Consulta: 21 agosto 2016]. ISSN 1530-6984. DOI 10.1021/nl072396j. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18186659>.

GUO, C. et al., Lyotropic liquid crystal systems in drug delivery. *Drug Discovery Today* [en línea], 2010. [Consulta: 5 agosto 2016]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359644610003351>.

HARBER, L.C., Phototherapy and photochemotherapy of skin disease. *Journal of the American Academy of Dermatology* [en línea], 1983. p. 303-304. [Consulta: 19 diciembre 2016]. ISSN 01909622. DOI 10.1016/S0190-9622(83)80170-4. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0190962283801704>.

HIROAKI, I., *Optical Spectra of Phthalocyanines and Related Compounds: A Guide for Beginners* [en línea]. S.l.: s.n. 2015. [Consulta: 6 febrero 2017]. Disponible en: <http://link.springer.com/content/pdf/10.1007/978-4-431-55102-7.pdf>.

HIURA, H., EBBESEN, T. y TANIGAKI, K., Opening and purification of carbon nanotubes in high yields. *Advanced Materials* [en línea], 1995. [Consulta: 12 octubre 2016]. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/adma.19950070304/full>.

HONG, S. y MYUNG, S., Nanotube electronics: a flexible approach to mobility. *Nature nanotechnology* [en línea], 2007. p. 207-8. [Consulta: 21 agosto 2016]. ISSN 1748-3395. DOI 10.1038/nnano.2007.89. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18654263>.

HOPPER, C., Photodynamic therapy: a clinical reality in the treatment of cancer. En: NULL, *The Lancet Oncology* [en línea], 2000. p. 212-219. [Consulta: 21 febrero

2017]. ISSN 14702045. DOI 10.1016/S1470-2045(00)00166-2. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1470204500001662>.

HOSSEINI, L., MAHBOOBIA, K. y IRANI, M., Fabrication of PLA/MWCNT/Fe₃O₄ composite nanofibers for leukemia cancer cells. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials* [en línea], 2016. p. 176-182. [Consulta: 14 diciembre 2016]. ISSN 0091-4037. DOI 10.1080/00914037.2015.1074912. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00914037.2015.1074912>.

HUMMER, G., RASAIHAH, J.C. y NOWORYTA, J.P., Water conduction through the hydrophobic channel of a carbon nanotube. *Nature* [en línea], 2001. p. 188-190. [Consulta: 18 diciembre 2016]. ISSN 0028-0836. DOI 10.1038/35102535. Disponible en: <http://www.nature.com/doi/10.1038/35102535>.

IJIMA, S., Helical microtubules of graphitic carbon. En: NULL, *Nature* [en línea], 1991. p. 56-58. [Consulta: 10 julio 2014]. ISSN 0028-0836. DOI 10.1038/354056a0. Disponible en: <http://www.nature.com/doi/10.1038/354056a0>.

IJIMA, S. y ICHIHASHI, T., Single-shell carbon nanotubes of 1-nm diameter. En: NULL, *Nature* [en línea], 1993. p. 603-605. [Consulta: 30 diciembre 2014]. ISSN 0028-0836. DOI 10.1038/363603a0. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/363603a0>.

JOURNET, C. y BERNIER, P., Production of carbon nanotubes. *Applied Physics A: Materials Science & Processing* [en línea], 1998. p. 1-9. [Consulta: 12 octubre 2016]. ISSN 0947-8396. DOI 10.1007/s003390050731. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s003390050731>.

KABANOV, A. V. y VINOGRADOV, S. V., *Nanogels as pharmaceutical carriers: Finite networks of infinite capabilities* [en línea]. 13 julio 2009. S.l.: WILEY-VCH Verlag. [Consulta: 22 diciembre 2016]. 2009. ISBN 1433-7851r1521-3773. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1002/anie.200900441>.

KAM, N.W.S. et al., Nanotube Molecular Transporters: Internalization of Carbon Nanotube–Protein Conjugates into Mammalian Cells. En: NULL, 2004. DOI 10.1021/JA0486059.

KAM, N.W.S. y DAI, H., Carbon Nanotubes as Intracellular Protein Transporters: Generality and Biological Functionality. *Journal of the American Chemical Society* [en línea], 2005. p. 6021-6026. [Consulta: 15 diciembre 2016]. ISSN 0002-7863. DOI 10.1021/ja050062v. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15839702>.

KOBAYASHI, N. et al., Low Symmetrical Phthalocyanine Analogues Substituted with Three Crown Ether Voids and Their Cation-Induced Supermolecules. *Journal of the American Chemical Society* [en línea], 1996. p. 1073-1085. [Consulta: 20 diciembre 2016]. ISSN 0002-7863. DOI 10.1021/ja950929x. Disponible en: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja950929x>.

KOBAYASHI, N., NAKAJIMA, S. y OGATA, H., Synthesis, Spectroscopy, and Electrochemistry of Tetra-tert-butylated Tetraazaporphyrins, Phthalocyanines, Naphthalocyanines, and Anthracocyanines, together with. *Chemistry–A European* [en línea], 2004. [Consulta: 20 diciembre 2016]. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/chem.200400275/full>.

KODAMA, R., Magnetic nanoparticles. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* [en línea], 1999. p. 359-372. [Consulta: 19 junio 2016]. ISSN 03048853. DOI 10.1016/S0304-8853(99)00347-9. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304885399003479>.

KONG, L., LU, X. y ZHANG, W., Facile synthesis of multifunctional multiwalled carbon nanotubes/Fe₃O₄ nanoparticles/polyaniline composite nanotubes. *Journal of Solid State Chemistry*, 2008. p. 628-636. ISSN 00224596. DOI 10.1016/j.jssc.2008.01.006.

KRYSA, J. et al., TiO₂ and Fe₂O₃ Films for Photoelectrochemical Water Splitting. En: NULL, *Molecules* [en línea], 2015. p. 1046-1058. [Consulta: 6 enero 2017]. ISSN

1420-3049. DOI 10.3390/molecules20011046. Disponible en:
<http://www.mdpi.com/1420-3049/20/1/1046/>.

KUSHWAHA, S. et al., Novel Drug Delivery System for Anticancer Drug: A Review. En: NULL, *SphinxSai.Com* [en línea], 2012. p. 542-553. [Consulta: 21 febrero 2017]. Disponible en: [http://www.sphinxSai.com/2012/pharmAJ/PHARM/PT=04\[542-553\]AJ12.pdf](http://www.sphinxSai.com/2012/pharmAJ/PHARM/PT=04[542-553]AJ12.pdf).

L. BOKOBZA, J.Z., Raman spectroscopic characterization of multiwall carbon nanotubes and of composites. En: NULL, *eXPRESS Polymer Letters* [en línea], 2012. p. 601-608. [Consulta: 6 enero 2017]. DOI 10.3144/expresspolymlett.2012.63. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Liliane_Bokobza/publication/275858778_Raman_spectroscopic_characterization_of_multiwall_carbon_nanotubes_and_of_composites/links/55be5c0b08ae9289a099d693.pdf.

LARIZA, M. et al., Nanotubos de carbono: funcionalización y aplicaciones biológicas. Carbon nanotubes: Funcionalization and biological applications. , 2012.

LI, L. et al., Synthesis of ellipsoidal hematite/polymer/titania hybrid materials and the corresponding hollow ellipsoidal particles. En: NULL, *Polym. Chem.* [en línea], 2010. p. 289-295. [Consulta: 5 enero 2017]. ISSN 1759-9954. DOI 10.1039/b9py00230h. Disponible en: <http://xlink.rsc.org/?DOI=B9PY00230H>.

LI, R. et al., Folate and iron difunctionalized multiwall carbon nanotubes as dual-targeted drug nanocarrier to cancer cells. *Carbon*, 2011. p. 1797-1805. ISSN 00086223. DOI 10.1016/j.carbon.2011.01.003.

LIONG, M. et al., Multifunctional inorganic nanoparticles for imaging, targeting, and drug delivery. En: NULL, *ACS Nano* [en línea], 2008. p. 889-896. [Consulta: 22 diciembre 2016]. ISSN 19360851. DOI 10.1021/nm800072t. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0939641100000874>.

LIU, Y. et al., Synthesis of Fe₃O₄/CNTs magnetic nanocomposites at the liquid-liquid

- interface using oleate as surfactant and reactant. En: NULL [en línea], 2009. p. 408-412. [Consulta: 18 julio 2016]. ISSN 03048853. DOI 10.1016/j.jmmm.2008.09.039. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304885308009761>.
- LIU, Z. et al., Drug Delivery with Carbon Nanotubes for In vivo Cancer Treatment. En: NULL, *Cancer Research*, 2008. p. 63.
- LIU, Z. et al., Lyotropic Liquid Crystal of Polyacrylonitrile-Grafted Graphene Oxide and Its Assembled Continuous Strong Nacre-Mimetic Fibers. *Macromolecules* [en línea], 2013. p. 6931-6941. [Consulta: 10 marzo 2016]. ISSN 0024-9297. DOI 10.1021/ma400681v. Disponible en: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ma400681v>.
- LOBO, A.O. et al., CARACTERIZAÇÃO DE MATERIAIS CARBONOSOS POR ESPECTROSCOPIA RAMAN. *Revista Brasileira de Aplicações de Vácuo*, 2008. p. 98-103. ISSN 1983-4047.
- LU, A.-H., SALABAS, E.L. y SCHÜTH, F., Magnetic Nanoparticles: Synthesis, Protection, Functionalization, and Application. En: NULL, *Angewandte Chemie International Edition* [en línea], 2007. p. 1222-1244. [Consulta: 19 junio 2016]. ISSN 14337851. DOI 10.1002/anie.200602866. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1002/anie.200602866>.
- LU, Y.-J. et al., Dual targeted delivery of doxorubicin to cancer cells using folate-conjugated magnetic multi-walled carbon nanotubes. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2012. p. 1-9. ISSN 09277765. DOI 10.1016/j.colsurfb.2011.08.001.
- LUKIANOVA-HLEB, E.Y. et al., Tunable plasmonic nanobubbles for cell theranostics. En: NULL, *Nanotechnology* [en línea], 2010. p. 85102. [Consulta: 21 febrero 2017]. ISSN 1361-6528. DOI 10.1088/0957-4484/21/8/085102. Disponible en: <http://stacks.iop.org/0957-4484/21/i=8/a=085102?key=crossref.e121ddd9732094014c48f4b0d140096a>.

- MARKOVIĆ, Z. et al., Comparative study on modification of single wall carbon nanotubes by sodium dodecylbenzene sulfonate and melamine sulfonate superplasticiser. En: NULL, *Applied Surface Science* [en línea], 2009. p. 6359-6366. [Consulta: 6 enero 2017]. ISSN 01694332. DOI 10.1016/j.apsusc.2009.02.016. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169433209001512>.
- MEIER, H. et al., Extension of Conjugation Leading to Bathochromic or Hypsochromic Effects in OPV Series. En: NULL, *Chemistry - A European Journal* [en línea], 2004. p. 360-370. [Consulta: 6 enero 2017]. ISSN 09476539. DOI 10.1002/chem.200305447. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14735504>.
- MEYER-BETZ, F., Untersuchungen über die biologische (photodynamische) Wirkung des Hämatoporphyrins und anderer Derivate des Blut-und Gallenfarbstoffs. *Dtsch Arch Klin Med*, 1913. p. 476-503.
- MOAN, J., Properties for optimal PDT sensitizers. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* [en línea], 1990. [Consulta: 20 diciembre 2016]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/1011134490850644>.
- MÖNCH, I. et al., Ferromagnetic filled carbon nanotubes and nanoparticles: synthesis and lipid-mediated delivery into human tumor cells. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 2005. p. 276-278. ISSN 03048853. DOI 10.1016/j.jmmm.2004.11.208.
- MONTES, S., Aplicaciones médicas de los Nanotubos de Carbono. Nanovacunas, administración de fármacos y terapias génicas. , 2009.
- MOORE, J.W. y STANITSKI, C.L., *Chemistry: The Molecular Science* [en línea]. S.l.: s.n. 2014. [Consulta: 4 enero 2017]. ISBN 1305156099. Disponible en: <https://books.google.com/books?hl=es&lr=&id=1vnk6J8knKkC&oi=fnd&pg=PA4&dq=Chemistry:+The+Molecular+Science+John+Olmsted,+Gregory+M.+Williams+s+&ots=WH4WvhiV86&sig=Wrgv4FKRIzEqIcHO0ZyKk0nYNio>.

- MULLER, J. et al., Respiratory toxicity of multi-wall carbon nanotubes. *Toxicology and applied* [en línea], 2005. [Consulta: 13 octubre 2016]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0041008X0500013X>.
- NAVAMANI, J., Development of Nanoprobe for the Determination of Blood Cholesterol. En: NULL, *Journal of Biosensors & Bioelectronics* [en línea], 2012. p. 15. [Consulta: 5 enero 2017]. ISSN 21556210. DOI 10.4172/2155-6210.1000122. Disponible en: <http://www.omicsonline.org/development-of-nanoprobe-for-the-determination-of-blood-cholesterol-2155-6210.1000122.php?aid=7386>.
- NUNES, S.M.T.M.T., SGUILLA, F.S.S. y TEDESCO, A.C.C., Photophysical studies of zinc phthalocyanine and chloroaluminum phthalocyanine incorporated into liposomes in the presence of additives. En: NULL, *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* [en línea], 2004. p. 273-284. [Consulta: 5 febrero 2017]. ISSN 0100879X. DOI 10.1590/S0100-879X2004000200016. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-879X2004000200016&lng=en&nrm=iso&tlng=en.
- O'CONNELL, M. et al., Reversible water-solubilization of single-walled carbon nanotubes by polymer wrapping. *Chemical Physics Letters*, 2001. p. 265-271. ISSN 00092614. DOI 10.1016/S0009-2614(01)00490-0.
- O'CONNOR, A.E., GALLAGHER, W.M. y BYRNE, A.T., Porphyrin and Nonporphyrin Photosensitizers in Oncology: Preclinical and Clinical Advances in Photodynamic Therapy. *Photochemistry and Photobiology* [en línea], 2009. p. 1053-1074. [Consulta: 4 agosto 2016]. ISSN 00318655. DOI 10.1111/j.1751-1097.2009.00585.x. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1751-1097.2009.00585.x>.
- OATLEY, C., NIXON, W. y PEASE, R., Scanning electron microscopy. *Advances in Electronics and Electron* [en línea], 1966. [Consulta: 3 agosto 2016]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0065253908610100>.
- PANKHURST, Q.A. et al., Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine.

- Journal of Physics D: Applied Physics* [en línea], 2003. p. R167-R181. [Consulta: 21 junio 2015]. ISSN 0022-3727. DOI 10.1088/0022-3727/36/13/201. Disponible en: <http://iopscience.iop.org/article/10.1088/0022-3727/36/13/201>.
- PANYAM, J. y LABHASETWAR, V., Biodegradable nanoparticles for drug and gene delivery to cells and tissue. En: NULL, *Advanced drug delivery reviews* [en línea], 2003. p. 45. [Consulta: 22 diciembre 2016]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169409X02002284>.
- POLICARD, A., Etude sur les aspects offerts par des tumeurs experimentales examinees a la lumiere de Wood. *CR Soc Bio*, 1924. p. 1423-1424.
- POLICARD, A. y LEULIER, A., Caracterisation de l'haemato-porphyrine et de l'urobiline urinaire par la lumiere de wood and etude sur les aspects offerts par des tumour experimentales examinees a la lumiere de wood. *CR Soc. Biol.*, 1924.
- POOLE, C. y OWENS, F., Introducción a la nanotecnología. [en línea], 2007. [Consulta: 18 diciembre 2016]. Disponible en: <https://books.google.com/books?hl=es&lr=&id=xmWImflMcAAC&oi=fnd&pg=PA1&dq=Introducci3n+a+la+nanotecnolog3a+Escrito+por+Charles+P.+Poole,+Frank+J.+Owens&ots=TRPqfHqFsP&sig=UCW8QP6P7jvgDcBc1DdyDxNym9w>.
- POP, E. et al., Thermal conductance of an individual single-wall carbon nanotube above room temperature. *Nano letters* [en línea], 2006. p. 96-100. [Consulta: 21 agosto 2016]. ISSN 1530-6984. DOI 10.1021/nl052145f. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16402794>.
- POURZAMANI, H., HAJIZADEH, Y. y FADAEI, S., Efficiency enhancement of multi-walled carbon nanotubes by ozone for benzene removal from aqueous solution. En: NULL, *International Journal of Environmental Health Engineering*, 2015. p. 29. ISSN 2277-9183. DOI 10.4103/2277-9183.163972.
- PUSHPAN, S. et al., Porphyrins in Photodynamic Therapy - A Search for Ideal Photosensitizers. *Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents* [en línea],

2002. p. 187-207. [Consulta: 20 diciembre 2016]. ISSN 15680118. DOI 10.2174/1568011023354137. Disponible en: <http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1568-0118&volume=2&issue=2&spage=187>.

QU, S. et al., Magnetic removal of dyes from aqueous solution using multi-walled carbon nanotubes filled with Fe₂O₃ particles. *Journal of Hazardous Materials*, 2008. p. 643-647. ISSN 03043894. DOI 10.1016/j.jhazmat.2008.03.037.

RĂCUCIU, M., CREANGĂ, D.E. y AIRINEI, A., Citric-acid-coated magnetite nanoparticles for biological applications. *European Physical Journal E* [en línea], 2006. p. 117-121. [Consulta: 19 diciembre 2016]. ISSN 12928941. DOI 10.1140/epje/i2006-10051-y. Disponible en: <http://www.springerlink.com/index/10.1140/epje/i2006-10051-y>.

RAPOPORT, L., FLEISCHER, N. y TENNE, R., Applications of WS₂(MoS₂) inorganic nanotubes and fullerene-like nanoparticles for solid lubrication and for structural nanocomposites. *Journal of Materials Chemistry* [en línea], 2005. p. 1782. [Consulta: 15 noviembre 2016]. ISSN 0959-9428. DOI 10.1039/b417488g. Disponible en: <http://xlink.rsc.org/?DOI=b417488g>.

RAYO, O. y GUERRERO, D., Nanogeles poliméricos: Una nueva alternativa para la administración de fármacos. En: NULL, *Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas* [en línea], 2014. p. 17-38. [Consulta: 8 marzo 2017]. ISSN 10273956. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952014000300003.

REDDY, L.H. et al., Magnetic Nanoparticles: Design and Characterization, Toxicity and Biocompatibility, Pharmaceutical and Biomedical Applications. *Chemical Reviews* [en línea], 2012. p. 5818-5878. [Consulta: 4 septiembre 2016]. ISSN 0009-2665. DOI 10.1021/cr300068p. Disponible en: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/cr300068p>.

- REILLY, R.M., Carbon nanotubes: potential benefits and risks of nanotechnology in nuclear medicine. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine* [en línea], 2007. p. 1039-42. [Consulta: 18 diciembre 2016]. ISSN 0161-5505. DOI 10.2967/jnumed.107.041723. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17607037>.
- RODNEY ANDREWS, * et al., Multiwall Carbon Nanotubes: Synthesis and Application. , 2002. DOI 10.1021/AR010151M.
- ROMERO, M.P., *Estudo da Interação de Fotossensibilizantes Derivados de Ftalocianinas com Sistemas de Distribuição de Fármacos para Terapia Fotodinâmica* [en línea]. Rio de Janeiro, Brazil: Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. 2012. [Consulta: 17 diciembre 2016]. Disponible en: http://www.maxwell.vrac.puc-rio.br/Busca_etds.php?strSecao=resultado&nrSeq=20323@1.
- ROMERO, M.P. et al., Photophysical properties and photodynamic activity of a novel menthol–zinc phthalocyanine conjugate incorporated in micelles. En: NULL, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* [en línea], 2013. p. 22-29. [Consulta: 14 diciembre 2016]. ISSN 10106030. DOI 10.1016/j.jphotochem.2012.12.009. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1010603012005679>.
- ROSCA, I. et al., Oxidation of multiwalled carbon nanotubes by nitric acid. *Carbon* [en línea], 2005. [Consulta: 17 noviembre 2016]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0008622305003593>.
- ROY, I., OHULCHANSKY, T. y PUDAVAR, H., Ceramic-based nanoparticles entrapping water-insoluble photosensitizing anticancer drugs: a novel drug-carrier system for photodynamic therapy. En: NULL, *Journal of the* [en línea], 2003. [Consulta: 4 agosto 2016]. Disponible en: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja0343095>.
- SAITO, R., DRESSELHAUS, G. y DRESSELHAUS, M., Physical properties of carbon

- nanotubes. [en línea], 1998. [Consulta: 21 agosto 2016]. Disponible en: http://www.worldscientific.com/doi/pdf/10.1142/9781860943799_bmatter.
- SALTÃO, R. y VEIGA, F., Ciclodextrinas em novos sistemas terapêuticos. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* [en línea], 2001. [Consulta: 5 agosto 2016]. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Francisco_Veiga/publication/242759218_Ciclodextrinas_em_novos_sistemas_teraputicos/links/0c9605398729270052000000.pdf.
- SÁNCHEZ-IGLESIAS, A. et al., Synthesis of multifunctional composite microgels via in situ Ni growth on pNIPAM-coated Au nanoparticles. En: NULL, *ACS Nano* [en línea], 2009. p. 3184-3190. [Consulta: 5 febrero 2017]. ISSN 19360851. DOI 10.1021/nn9006169. Disponible en: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/nn9006169>.
- SANTORO, G. y DOMINGO, C., Espectroscopía Raman de nanotubos de carbono. [en línea], 2007. [Consulta: 18 julio 2016]. Disponible en: <http://digital.csic.es/handle/10261/4146>.
- SAYES, C.M. et al., Functionalization density dependence of single-walled carbon nanotubes cytotoxicity in vitro. *Toxicology Letters* [en línea], 2006. p. 135-142. [Consulta: 18 noviembre 2016]. ISSN 03784274. DOI 10.1016/j.toxlet.2005.08.011. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378427405002523>.
- SCARBERRY, K.E. et al., Magnetic nanoparticle-peptide conjugates for in vitro and in vivo targeting and extraction of cancer cells. En: NULL, *Journal of the American Chemical Society* [en línea], 2008. p. 10258-62. [Consulta: 19 junio 2016]. ISSN 1520-5126. DOI 10.1021/ja801969b. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18611005>.
- SHELIMOV, K., ESENALIEV, R. y RINZLER, A., Purification of single-wall carbon nanotubes by ultrasonically assisted filtration. *Chemical Physics* [en línea], 1998. [Consulta: 12 octubre 2016]. Disponible en:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009261497012657>.

SINGH, R. y LILLARD, J.W., Nanoparticle-based targeted drug delivery. *Experimental and Molecular Pathology* [en línea], 2009. p. 215-223. [Consulta: 22 diciembre 2016]. ISSN 00144800. DOI 10.1016/j.yexmp.2008.12.004. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S001448000800141X>.

SMALLEY, R., DRESSELHAUS, M. y DRESSELHAUS, G., Carbon nanotubes: synthesis, structure, properties, and applications. En: NULL [en línea], 2003. [Consulta: 21 agosto 2016]. Disponible en: https://books.google.com/books?hl=es&lr=&id=Em5rCQAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR2&dq=Optical+properties+of+carbon+nanotubes&ots=HUvhclbdVa&sig=YhFS DcZucwfOXk_ScBRZwM7lrzA.

SMART, S.K. et al., The biocompatibility of carbon nanotubes. *Carbon*, 2006. p. 1034-1047. ISSN 00086223. DOI 10.1016/j.carbon.2005.10.011.

SMITH, C., SHAW, B. y HANDY, R., Toxicity of single walled carbon nanotubes to rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*): respiratory toxicity, organ pathologies, and other physiological effects. *Aquatic toxicology* [en línea], 2007. [Consulta: 13 octubre 2016]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166445X07000574>.

SOARES, A. et al., Synthesis of water-soluble phthalocyanines bearing four or eight D-galactose units. *Carbohydrate* [en línea], 2009. [Consulta: 17 diciembre 2016]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0008621508005739>.

SPELLMAN, F., *Environmental engineer mathematics handbook* [en línea]. S.l.: s.n. 2005. [Consulta: 4 enero 2017]. ISBN 1566706815. Disponible en: <https://books.google.com/books?hl=es&lr=&id=YQT9NSSP18QC&oi=fnd&pg=PP1&dq=Environmental+Engineer%27s+Mathematics+Handbook&ots=-QRQsQk5wU&sig=t575McO7AcMoMBesioV8k92VQNM>.

STEPHENSON, F.H., *Calculations for Molecular Biology and Biotechnology-A Guide to Mathematics in the Laboratory* [en línea]. 2003. S.l.: s.n. [Consulta: 4 enero 2017]. 2003. ISBN 9780123756909. Disponible en: https://books.google.com/books?hl=es&lr=&id=oNDjC-_0aogC&oi=fnd&pg=PP1&dq=Calculations+for+Molecular+Biology+and+Biotechnology+Frank+H.+Stephenson&ots=kWnEhTDyrI&sig=E4AdJawmBi24aXoosegy1mQowB4.

STOBINSKI, L. et al., Multiwall carbon nanotubes purification and oxidation by nitric acid studied by the FTIR and electron spectroscopy methods. *Journal of Alloys and* [en línea], 2010. [Consulta: 12 octubre 2016]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925838810008236>.

SUN, Y. et al., Magnetic chitosan nanoparticles as a drug delivery system for targeting photodynamic therapy. *Nanotechnology* [en línea], 2009. [Consulta: 4 agosto 2016]. Disponible en: <http://iopscience.iop.org/article/10.1088/0957-4484/20/13/135102/meta>.

SUN, Y. y XIA, Y., Shape-controlled synthesis of gold and silver nanoparticles. *Science (New York, N.Y.)* [en línea], 2002. p. 2176-9. [Consulta: 19 junio 2016]. ISSN 1095-9203. DOI 10.1126/science.1077229. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12481134>.

SUN, Z. et al., A Highly Efficient Chemical Sensor Material for H₂S: α -Fe₂O₃ Nanotubes Fabricated Using Carbon Nanotube Templates. *Advanced Materials* [en línea], 2005. p. 2993-2997. [Consulta: 18 julio 2016]. ISSN 0935-9648. DOI 10.1002/adma.200501562. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1002/adma.200501562>.

TASIS, D. et al., *Chemistry of carbon nanotubes*. 2006. S.l.: American Chemical Society. 2006. ISBN 0009-2665.

TAUB, A., Photodynamic therapy in dermatology: history and horizons. *Journal of drugs in dermatology: JDD* [en línea], 2003. [Consulta: 19 diciembre 2016]. Disponible

en: <http://europepmc.org/abstract/med/14964757>.

TEYMOURIAN, H., SALIMI, A. y HALLAJ, R., Low potential detection of NADH based on Fe₃O₄ nanoparticles/multiwalled carbon nanotubes composite: Fabrication of integrated dehydrogenase-based lactate biosensor. En: NULL, *Biosensors and Bioelectronics*, 2012. p. 60-68. ISSN 09565663. DOI 10.1016/j.bios.2011.12.031.

TRIESSCHEIJN, M. et al., Photodynamic therapy in oncology. En: NULL, *The oncologist* [en línea], 2006. p. 1034-44. [Consulta: 21 febrero 2017]. ISSN 1083-7159. DOI 10.1634/theoncologist.11-9-1034. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17030646>.

VALERIE C. MOORE et al., Individually Suspended Single-Walled Carbon Nanotubes in Various Surfactants. , 2003. DOI 10.1021/NL034524J.

VAUTHIER, C. et al., Drug delivery to resistant tumors: the potential of poly (alkyl cyanoacrylate) nanoparticles. En: NULL, *Journal of Controlled* [en línea], 2003. p. 96. [Consulta: 22 diciembre 2016]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168365903003936>.

VINOGRADOV, S. V, Colloidal microgels in drug delivery applications. En: NULL, *Current pharmaceutical design* [en línea], 2006. p. 4703-12. [Consulta: 23 diciembre 2016]. ISSN 1873-4286. DOI 10.2174/138161206779026254. Disponible en: <http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1381-6128&volume=12&issue=36&spage=4703>.

WAN, X., DONG, J. y XING, D., Optical properties of carbon nanotubes. *Physical Review B* [en línea], 1998. [Consulta: 21 agosto 2016]. Disponible en: <http://journals.aps.org/prb/abstract/10.1103/PhysRevB.58.6756>.

WANG, H. et al., Grafting of β -cyclodextrin to magnetic graphene oxide via ethylenediamine and application for Cr(VI) removal. *Carbohydrate Polymers* [en línea], 2014. p. 166-173. [Consulta: 30 mayo 2016]. ISSN 01448617. DOI 10.1016/j.carbpol.2014.07.014. Disponible en:

<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861714006870>.

WANG, Y.H. et al., An efficient, soluble, and recyclable multiwalled carbon nanotubes-supported TEMPO for oxidation of alcohols. En: NULL, *RSC Advances* [en línea], 2012. p. 7693. [Consulta: 9 diciembre 2016]. ISSN 2046-2069. DOI 10.1039/c2ra21206d. Disponible en: <http://xlink.rsc.org/?DOI=c2ra21206d>.

WHARTON, T., GALI, H. y HAMBLIN, M., Photosensitizers for Targeted Photodynamic Therapy. [en línea], 2009. p. 1-23. [Consulta: 20 diciembre 2016]. Disponible en: [%5Cpatents%5Cfullerenes%5Cderivatives%5Cus_2009_20090076115_a1.pdf](#).

WISSING, S., KAYSER, O. y MÜLLER, R., Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2004. p. 1257-1272. ISSN 0169409X. DOI 10.1016/j.addr.2003.12.002.

WU, H. et al., Solvothermal synthesis of cobalt ferrite nanoparticles loaded on multiwalled carbon nanotubes for magnetic resonance imaging and drug delivery. En: NULL, *Acta Biomaterialia*, 2011. p. 3496-3504. ISSN 17427061. DOI 10.1016/j.actbio.2011.05.031.

WU, H. et al., The behavior after intravenous injection in mice of multiwalled carbon nanotube / Fe₃O₄ hybrid MRI contrast agents. *Biomaterials*, 2011. p. 4867-4876. ISSN 01429612. DOI 10.1016/j.biomaterials.2011.03.024.

WU, W. et al., Core-shell hybrid nanogels for integration of optical temperature-sensing, targeted tumor cell imaging, and combined chemo-photothermal treatment. En: NULL, *Biomaterials* [en línea], 2010. p. 7555-7566. [Consulta: 5 febrero 2017]. ISSN 01429612. DOI 10.1016/j.biomaterials.2010.06.030. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0142961210007933>.

WU, W. et al., Multi-functional core-shell hybrid nanogels for pH-dependent magnetic manipulation, fluorescent pH-sensing, and drug delivery. En: NULL, *Biomaterials* [en línea], 2011. p. 9876-9887. [Consulta: 5 febrero 2017]. ISSN 01429612. DOI

10.1016/j.biomaterials.2011.08.082. Disponible en:
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0142961211010301>.

XIA, X.-R., MONTEIRO-RIVIERE, N.A. y RIVIERE, J.E., An index for characterization of nanomaterials in biological systems. *Nature Nanotechnology* [en línea], 2010. p. 671-675. [Consulta: 17 diciembre 2016]. ISSN 1748-3387. DOI 10.1038/nnano.2010.164. Disponible en:
<http://www.nature.com/doifinder/10.1038/nnano.2010.164>.

XIAO, D. et al., Magnetic carbon nanotubes: synthesis by a simple solvothermal process and application in magnetic targeted drug delivery system. *Journal of Nanoparticle* [en línea], 2012. [Consulta: 25 agosto 2016]. Disponible en:
<http://link.springer.com/article/10.1007/s11051-012-0984-4>.

YANG, F. et al., Magnetic functionalised carbon nanotubes as drug vehicles for cancer lymph node metastasis treatment. *European Journal of Cancer*, 2011. p. 1873-1882. ISSN 09598049. DOI 10.1016/j.ejca.2011.03.018.

YANG, W. et al., Carbon nanotubes for biological and biomedical applications. [en línea], 2007. [Consulta: 25 agosto 2016]. Disponible en:
<http://iopscience.iop.org/article/10.1088/0957-4484/18/41/412001/meta>.

YIH, T. y AL-FANDI, M., Engineered nanoparticles as precise drug delivery systems. En: NULL, *Journal of cellular biochemistry* [en línea], 2006. p. 84. [Consulta: 22 diciembre 2016]. Disponible en:
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jcb.20796/full>.

ZULUAGA, M.-F. y LANGE, N., Combination of Photodynamic Therapy with Anti-Cancer Agents. *Current Medicinal Chemistry* [en línea], 2008. p. 1655-1673. [Consulta: 4 agosto 2016]. ISSN 09298673. DOI 10.2174/092986708784872401. Disponible en:
<http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=0929-8673&volume=15&issue=17&spage=1655>.

ZUO, X. et al., Design of a carbon nanotube/magnetic nanoparticle-based peroxidase-like nanocomplex and its application for highly efficient catalytic oxidation of phenols. *Nano Research* [en línea], 2009. p. 617-623. [Consulta: 3 agosto 2016]. ISSN 1998-0124. DOI 10.1007/s12274-009-9062-3. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s12274-009-9062-3>.

ANEXOS

ANEXO A: Cálculo del peso de ZnMintPc para una solución a 1mM

Para obtener una concentración de 1mM de ZnMintPc se siguió la ecuación de la Molaridad de una solución (Moore y Stanitski, 2014; Spellman, 2005):

$$\text{Molaridad}(M) = \frac{\text{número de moles}}{\text{Volumen de Disolución (L)}} = \frac{\text{mol}}{L} \quad (\text{Ecuación 2})$$

$$\text{número de moles} = \text{Volumen de Disolución (L)} \times \text{Molaridad}$$

$$\text{número de moles} = 0.001 L \times 0.001 \frac{\text{mol}}{L} = 0.000001 \text{ moles}$$

Conociendo el peso molecular de ZnMintPc que es de 1195 g/mol, podemos saber que peso de ZnMintPc hay en 0.000001moles.

$$0.000001 \text{ moles} \times 1195 \frac{\text{g}}{\text{mol}} = 0.001195 \text{ g} = 1.195 \text{ mg}$$

Entonces para obtener 1mM de ZnMintPc necesitamos dispersar 1.195 mg de ZnMintPc en 1 mL de DMF.

ANEXO B: Cálculo de concentración y volumen de ZnMintPc o de MWCNTs a partir de una solución concentrada.

Partiendo de la ecuación general de diluciones (Glencross, Ahmed y Wang, 2010; Stephenson, 2003, p. 315) podemos obtener una muestra a una concentración deseada. La ecuación general de una dilución es la siguiente:

$$C_c \times V_c = C_d \times V_d \text{ (Ecuación 3)}$$

En donde:

C_c = Concentración concentrada o inicial a la que se encuentra una solución.

V_c = Volumen concentrado que va a ser disuelto en una cantidad de solvente.

C_d = Concentración diluida o final

V_d = Volumen diluido, volumen del solvente en donde se va a diluir el volumen concentrado.

- 1. Hallar el volumen de ZnMintPc (1mM) diluido en 1mL de DMF, para poder obtener una solución de ZnMintPc a 0.25mM.**

$$C_c \times V_c = C_d \times V_d$$

$$V_c = \frac{C_d \times V_d}{C_c} = \frac{0.25mM \times 1mL}{1mM} = 0.25mL$$

Para obtener una solución de ZnMintPc a 0.25mM se debe diluir 0.25mL de ZnMintPc (1mM) en 1mL de DMF.

- 2. Obtener la concentración de MWCNTs-MNPs, en donde 2mg de MWCNTs-MNPs son dispersados en 20mL de VCL/PEGDA.**

$$C = \frac{\text{masa}}{\text{Volumen}} = \frac{2 \text{ mg}}{20 \text{ mL}} = 0.1 \frac{\text{mg}}{\text{mL}}$$

La concentración de MWCNTs-MNPs es de 0.1mg/mL

3. **Obtener la concentración de ZnMintPc, de una solución en donde 0.67mL de ZnMintPc a 0.25mM se diluyen en 20mL de VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs.**

$$C_d = \frac{C_c \times V_c}{C_d} = \frac{0.25mM \times 0.67mL}{20mL} = 0.008333mM = 8.333 \mu M.$$

La concentración diluida de ZnMintPc es de 8.333 μ M.

4. **Obtener la concentración de ZnMintPc y MWCNTs-MNPs, de una solución de 71 μ L de VCL/PEGDA-MWCNTs-MNPs-ZnMintPc (8.333 μ M de ZnMintPc) (0.1mg/mL de MWCNTs-MNPs) que es disuelta en 3mL de suero fisiológico (cálculos en referencia al Gráfico 7-4).**

$$C_d = \frac{C_c \times V_c}{C_d} = \frac{8.333 \mu M \times 71 \mu L}{3000 \mu L} = 0.1972 \mu M.$$

La concentración final de ZnMintPc es de 0.1972 μ M.

$$C_d = \frac{C_c \times V_c}{C_d} = \frac{0.1 \frac{mg}{mL} \times 71 \mu L}{3000 \mu L} = 0.00237 \frac{mg}{mL}.$$

La concentración de MWCNTs-MNPs es de 0.0024 mg/mL.

5. **Obtener una concentración de 8.333 μ M de ZnMintPc, a partir de una solución de 0.25 mM de ZnMintPc disuelta en 3mL de DMF. Hallar el volumen concentrado.**

$$V_c = \frac{C_d \times V_c}{C_c} = \frac{0.008333 mM \times 3 mL}{0.25 mM} = 0.099 mL = 99.9 \mu L.$$

Hay que diluir 99.9 μ L de ZnMintPc a 0.25mM en 3mL de DMF para obtener una concentración final de 8.333 μ M.