

**SEP**

**TecNM**

**TECNOLÓGICO NACIONAL DE MEXICO**



**Instituto Tecnológico de Tijuana**

**Centro de Graduados e Investigación en Química**

**“Funcionalización de nanotubos de carbono de pared sencilla y puntos de carbono con ftalocianinazinc para su posible uso vía terapia fotodinámica”**

**TRABAJO DE TESIS**

Presentado por

**I. Q. Juan Alberto Pérez Zamora**

Para obtener el grado de

**MAESTRO EN CIENCIAS EN QUÍMICA**

Director de tesis

**Dra. Karla Alejandra Espinoza Dueñas**

Co-director de tesis

**Dr. Manuel Alatorre Meda**

**TIJUANA, B.C.**

**FEBRERO 2022**



Instituto Tecnológico de Tijuana

Tijuana, Baja California, 05/enero/2022

Oficio No. 003/CG/2022

Asunto: Se autoriza impresión de trabajo de tesis

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

Los que suscriben tienen a bien informar que el manuscrito de tesis titulado "Funcionalización de nanotubos de carbono de pared sencilla y puntos de carbono con ftalocianinazinc para su posible uso vía terapia fotodinámica", presentado por el C. Juan Alberto Pérez Zamora, (con número de control M1921054), cumple con los requisitos de calidad y formato para tesis de Maestría en Ciencias en Química. Por consiguiente, se aprueba y autoriza al interesado para que proceda a la impresión del mismo.

**A T E N T A M E N T E**

**DR. KARLA ALEJANDRA ESPINOZA DUÉÑAS**  
Presidente

**DR. MANUEL ALATORRE MEDA**  
Secretario del Jurado

**DR. JULIO/CESAR CALVA YAÑEZ**  
Vocal del Jurado

C.p. Oficina de Titulación  
C.p. Expediente  
C.p. Interesado  
KAED/MAM/JCCY





Instituto Tecnológico de Tijuana

Tijuana, Baja California,

12/enero/2022

OFICIO No. 005/DEPI/2022

Asunto: Autorización de Impresión de Tesis

**MARIBEL GUERRERO LUIS**  
**JEFA DEL DEPARTAMENTO DE SERVICIOS ESCOLARES**  
**PRESENTE**

En lo referente al trabajo de tesis, "Funcionalización de nanotubos de carbono de pared sencilla y puntos de carbono con ftalocianinazinc para su posible uso vía terapia fotodinámica". Presentado por C. **Juan Alberto Pérez Zamora**, alumno de la Maestría en Ciencias en Química con numero de control **M1921054**; informo a usted que a solicitud del comité de tutorial, tengo a bien **Autorizar la impresión de Tesis**, atendiendo las disposiciones de los Lineamientos para la Operación de Estudios de Posgrado del Tecnológico Nacional de México.

Sin más por el momento le envió un cordial saludo.

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



**GUADALUPE HERNANDEZ ESCOBEDO**  
**JEFE DE DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION**

ccp. Archivo

GHE/lap



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

www.itec.mx | www.itec.edu.mx | www.itec.edu.mx | www.itec.edu.mx



**2022 Flores**  
Año de **Magón**  
PRECURSOR DE LA REVOLUCIÓN MEXICANA



INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TIJUANA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

**CARTA DE CESIÓN DE DERECHOS**

En la ciudad de Tijuana, B. C. del 11 de enero del 2022, el C. **Juan Alberto Pérez Zamora** alumno del programa de Maestría en Ciencias en Química con número de control **M1921054**, manifiesta que el autor intelectual del presente trabajo de tesis bajo la dirección de la **Dra. Karla Alejandra Espinoza Dueñas** y ceden los derechos del trabajo titulado **"Funcionalización de nanotubos de carbono de pared sencilla y puntos de carbono con ftalocianinazinc para su posible uso vía terapia fotodinámica"** al Tecnológico Nacional de México / IT Tijuana para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, figuras, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección de correo electrónico: [juan.perez201@tectijuana.edu.mx](mailto:juan.perez201@tectijuana.edu.mx). Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y cita la fuente del mismo.

Agradeciendo su atención a la presente y en espera de su respuesta quedo a sus órdenes.

**Juan Alberto Pérez Zamora**



# CONTENIDO

CONTENIDO.....	iii
LISTA DE FIGURAS .....	vi
LISTA DE ESQUEMAS .....	xii
LISTA DE TABLAS .....	xiii
ABREVIATURAS .....	xiv
RESUMEN .....	xxv
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS .....	4
2.1. Justificación.....	4
2.2. Planteamiento del problema .....	4
2.3. Objetivo general .....	4
2.4. Objetivos particulares.....	5
III. ANTECEDENTES .....	6
3.1. El cáncer .....	6
3.1.1. La genética del cáncer .....	7
3.1.2. Tratamiento y diagnóstico oncológico .....	9
3.2. Cáncer de piel.....	15
3.2.1. La piel.....	15
3.2.2. Tipos y clasificaciones del cáncer de piel .....	18
3.2.2.1. Carcinoma de células basales (BCC).....	20
3.2.2.2. Carcinoma de células escamosas (SCC).....	22
3.2.2.3. Melanoma .....	23

3.2.3.	Principales causas del cáncer de piel.....	25
3.3.	Terapia fotodinámica.....	27
3.3.1.	Producción de especies reactivas de oxígeno.....	27
3.3.2.	Mecanismos citotóxicos.....	29
3.3.3.	Compuestos fotosensibilizadores.....	33
3.4.	Las metalofalocianinas y ftalocianinas.....	35
3.4.1.	El cáncer y la ftalocianinazinc.....	38
3.5.	Nanomateriales.....	43
3.5.1.	Nanotubos de carbono.....	45
3.5.2.	Aplicaciones biomédicas.....	47
3.5.2.1.	Funcionalización de nanotubos.....	48
3.5.3.	Los nanotubos y el cáncer.....	49
3.6.	El futuro de la medicina contra el cáncer.....	52
IV.	EXPERIMENTAL.....	67
4.1.	Caracterización general de los sistemas nanoestructurados.....	69
4.1.1.	Espectroscopia por ultravioleta visible (UV/vis).....	69
4.1.2.	Espectroscopia Infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).....	69
4.1.3.	Microscopía Electrónica de Barrido de Emisión de Campo (FESEM).....	70
4.2.	Funcionalización de los nanomateriales.....	72
4.3.	Purificación de los nanomateriales.....	75
4.4.	Acoplamiento con la ZnPc.....	76
4.1.	Estudios de viabilidad celular.....	82
4.1.1.	Condiciones de cultivo celular.....	84
4.1.2.	Análisis estadístico.....	84

4.2. Trabajo a futuro.....	85
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	89
5.1. Caracterización genral de los sistemas nanoestructurados.....	89
5.1.1. Espectroscopia por ultravioleta visible (UV/vis).....	89
5.1.2. Espectroscopia Infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) .....	99
5.2. Caracterización por microscopía FESEM .....	105
5.3. Análisis de citocompatibilidad .....	110
VI. CONCLUSIONES.....	121
VII. FUENTES DE CONSULTA.....	123
VIII. ANEXOS .....	131
8.1. Caracterización espectroscópica por UV/vis.....	131
8.2. Caracterización espectroscópica por IR. ....	134

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Resumen gráfico.....	xxv
Figura 2. El cáncer y sus posibles causas.....	8
Figura 3. El plato del buen comer.....	10
Figura 4. Estructura de la piel .....	16
Figura 5. Clasificación del cáncer de piel .....	19
Figura 6. Representación gráfica de la TFD.....	28
Figura 7. Diagrama de Jablonski para el proceso de producción de $^1\text{O}_2$ .....	29
Figura 8. Materiales fotosensibles. A) Porphirina. B) Estructura base de la Pc libre. C) Estructura de la MPc. D) Ligando Pc de carácter aromático.....	36
Figura 9. Estructura de la ZnPc.....	38
Figura 10. Supervivencia de las células HeLa incubadas con ZnPc 1 $\mu\text{M}$ , nec-1 300 $\mu\text{M}$ (ZnPc-nec-1) y evaluadas por ensayo MTT 24 h después de los tratamientos. A) Células tratadas 1 h con ZnPc. B) Células tratadas 3 h con ZnPc.....	39
Figura 11. Imágenes por microscopía por fluorescencia de células HeLa. A) Células incubadas con ZnPc 1 $\mu\text{M}$ (1 y 3 h) para ensayos con Anexina V / yoduro de propidio. B) Células procesadas para ensayo TUNEL después de 3 h. C) Células HeLa incubadas con ZnPc 1 $\mu\text{M}$ (1 y 3 h) procesadas para inmunofluorescencia indirecta (imagen fusionada).....	40
Figura 12. Análisis citotóxico en distintas líneas celulares usando $\text{ZnPcS}_2\text{P}_2$ con una irradiación de luz ( $1.5 \text{ J/cm}^2$ ) y sin irradiación.....	41

Figura 13. Imágenes de células HepG2 por contraste de fase de fluorescencia 24 h después de irradiarse ( $1.5 \text{ J/cm}^2$ ) usando distintos valores de concentración fotocianina: A) Control, B) 0.5, C) 2.5, D) 5 $\mu\text{mol/L}$ .....	42
Figura 14. Diferentes escalas de medida y respectivos ejemplos.....	44
Figura 15. Clasificación de nanoestructuras en base a sus dimensiones.....	45
Figura 16. Tipos de nanotubos. A) Forma general. B) Tipo sillón (5, 5) y C) zigzag (10, 0).	46
Figura 17. Espectro FTIR de MWNTCs-anilina.....	48
Figura 18. Análisis en células. A) Ensayos de citotoxicidad oscura y B) análisis vía TFD de los nanomateriales PCGs, ZnTPPcQ-PCGs, PCs, ZnTPPcQ-PCs, NDs y ZnTPPcQ-NDs a distintos valores de concentración. El medio de control se preparó con 1% DMSO.....	51
Figura 19. Análisis por microscopía TEM para A) SWNTCs-EDA, B) SWNTCs-EDA/ZnPcII absorbido y C) SWNTCs-EDA/ZnPcII-ligado.....	54
Figura 20. Análisis de IR para los sistemas A) SWNTCs-EDA, B) ZnPcII, C) de SWNTCs-EDA/ZnPcII-ligado y D) de SWNTCs-EDA/ZnPcII-absorbido.....	55
Figura 21. Espectros por espectroscopia UV/vis de (a) ZnPcII, (b) SWNTCs-EDA, (c) SWNTCs-EDA/ZnPcII-ligado y (d) SWNTCs-EDA/ZnPcII-absorbido disueltos 0.2 mg/mL en DMF.....	56
Figura 22. Espectros de absorción realizado por UV/vis de los sistemas dispersos en DMSO de los (a) SWNTCS-COOH, (b) ZnMCPpc-AA-SWNTCs, (c) ZnMCPpc-SWNTC, (d) ZnMCPpc y (e) ZnMCPpc-AA.....	57
Figura 23. Análisis de microscopía TEM. A) SWNTCs-COOH. B) ZnMCPpc-AA-SWNTCs.....	58

Figura 24. Micrográficas de células MCF-7. A) Células de control. B) Células en presencia de ZnMCPc-AA-SWNTCs sin irradiar. C) Células expuestas a TFD y cultivadas 24 h.....	59
Figura 25. Pruebas de fototoxicidad de los sistemas 1) ZnMCPc, 2) ZnMCPc-AA, 3) ZnMCPc-AA-SWNTCs, 4) ZnMCPc-SWNTCs, 5) SWNTCs-COOH y 6) SWNTCs-AA.....	60
Figura 26. Análisis por espectroscopia UV/vis de los nanomateriales obtenidos.....	61
Figura 27. Análisis por espectroscopia IR de A) TiO <sub>2</sub> -ZnPc-Ace y B) TiO <sub>2</sub> -ZnPc-Oxa.....	62
Figura 28. Análisis térmicos de A) TiO <sub>2</sub> -ZnPc-Ace y B) TiO <sub>2</sub> -ZnPc-Oxa.....	64
Figura 29. Internalización celular de nanopartículas ZnO <sub>2</sub> -ZnPc y ZnPc a 15 µM o 100 µg/mL en células Vero, HepG2 y HDFs teñidas con Hoechst 3342 e incubadas 24 h.....	65
Figura 30. Espectrofotómetro de UV/Vis, VARIAN, Cary 50.....	69
Figura 31. Espectrofotómetro MIR-NIR Perkin-Elmer Spectrum 400.....	70
Figura 32. Microscopio Electrónico de Barrido de Emisión de Campo FESEM, JEOL Mod. JSM-7800 Prime acoplado con un sistema de análisis elemental por dispersión de energía de rayos X (EDS).....	71
Figura 33. Nanocompuestos montados sobre rejillas de Cu para su análisis por FESEM.....	71
Figura 34. Proyecto general completo basado en los SWNTCs y PCs acoplados con ZnPc para su uso vía TFD.....	72
Figura 35. Equipo sintetizador de microondas, Mod. Discover, CEM.....	77
Figura 36. Equipos usados para la obtención de los sistemas nanométricos. A) Equipo de baño ultrasónico 2.8 L, Fisher Scientific. B) Centrifugadora Eppendorf 5415D.....	77

Figura 37. Ensayo de citocompatibilidad. A) Placa de cultivo de células de cáncer de mama MDA-MB-231. B) Soluciones de 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de cada sistema.....	84
Figura 38. Análisis UV/vis de la ZnPc.....	90
Figura 39. Transiciones electrónicas típicas de las MPc.....	91
Figura 40. Análisis UV/vis de todos los sistemas nanoestructurados.....	92
Figura 41. Analisis estructural tridimensional de los sistemas SWNTCs-p/ZnPc.....	95
Figura 42. Analisis estructural tridimensional de los sistemas SWNTCs-A1/ZnPc.....	93
Figura 43. Monitoreo y medición UV/vis entre 300 – 800 nm de los sobrenadantes de la reacción para el sistema SWNTCs-A1/ZnPc(5).....	96
Figura 44. Análisis UV/vis de los sobrenadantes de SWNTCs-A1/ZnPc y de SWNTCs-p/ZnPc.....	97
Figura 45. Análisis comparativo por UV/vis entre el espectro de la ZnPc y los SWNTCs-A1/ZnPc(6).....	98
Figura 46. Análisis comparativo comprendido entre 300 – 400 nm de los sobrenadantes por UV/vis SWNTCs-A1/ZnPc(5) al día 9 y los SWNTCs-A1/ZnPc al día 3.....	99
Figura 47. Análisis por espectroscopia IR del sobrenadante del sistema SWNTCs-A1/ZnPc(5).....	100
Figura 48. Análisis por espectroscopia IR de los SWNTCs-p.....	101
Figura 49. Análisis por espectroscopia IR de los SWNTCs-A1.....	102
Figura 50. Análisis por espectroscopia IR de la ZnPc.....	103
Figura 51. Análisis por espectroscopia IR del sistema SWNTCs-A1/ZnPc(5).....	104
Figura 52. Análisis por espectroscopia IR del sistema SWNTCs-p/ZnPc(1).....	105

Figura 53. Análisis por microscopía FESEM de los SWNTCs-A1 con magnificación de A) 40x y B) 110x.....	106
Figura 54. Análisis por microscopía FESEM para los sistemas A) SWNTCs-A1/ZnPc(1) y B) SWNTCs-A1/ZnPc(2).....	107
Figura 55. Análisis elemental obtenido por EDS para el sistema SWNTCs-A1/ZnPc(1).....	107
Figura 56. Análisis elemental obtenido por EDS para el sistema SWNTCs-A1/ZnPc(2).....	108
Figura 57. Análisis por microscopía FESEM del sistema SWNTCs-A1/ZnPc(5) con magnificación de A) 7x y B) 40x; C) y el sistema SWNTCs-A1/ZnPc(4) (33x).....	109
Figura 58. Análisis por microscopía FESEM del sistema SWNTCs-p/ZnPc(1) con magnificación de A) 33x y B) 190x.....	109
Figura 59. Citocompatibilidad de los sistemas SWNTCs-p, SWNTCs-A1, SWNTCs-A1/ZnPc(5) y ZnPc a valores de concentración de 100, 10, 1 y 0.1 $\mu\text{g/mL}$ a 48 h después del tratamiento. Los corchetes relacionan muestras que presentaron una diferencia estadísticamente significativa entre sí ( $p < 0.05$ ).....	111
Figura 60. Micrografías de células MDA-MB-231 usadas como control tras 48 h. A) Células sin tinción y C) teñidas con cristal violeta (magnificación 4x). B) Células sin tinción y D) teñidas con cristal violeta (magnificación 20x).....	112
Figura 61. Micrografías de células MDA-MB-231 después de ser tratadas 48 h con ZnPc (100 $\mu\text{g/mL}$ ). A) Células sin tinción y C) teñidas con cristal violeta (magnificación 4x). B) Células sin tinción y D) teñidas con cristal violeta (magnificación 20x).....	113

Figura 62. Micrografías de células MDA-MB-231 sin tinción tras 48 h con SWNTCs-p/ZnPc(1) a A) 100, B) 10, C) 1.0, D) 0.1 $\mu\text{g/mL}$ con magnificación de 4x, y E) 100, F) 10, G) 1.0, H) 0.1 $\mu\text{g/mL}$ con magnificación de 20x.....	115
Figura 63. Micrografías de células MDA-MB-231 teñidas con cristal violeta tras 48 h con SWNTCs-p/ZnPc(1) a A) 100, B) 10, C) 1.0, D) 0.1 $\mu\text{g/mL}$ con magnificación de 4x, y E) 100, F) 10, G) 1.0, H) 0.1 $\mu\text{g/mL}$ con magnificación de 20x.....	116
Figura 64. Micrografías de células MDA-MB-231 sin tinción tras 48 h con SWNTCs-A1 a A) 100, B) 10, C) 1.0, D) 0.1 $\mu\text{g/mL}$ con magnificación de 4x, y E) 100, F) 10, G) 1.0, H) 0.1 $\mu\text{g/mL}$ con magnificación de 20x.....	117
Figura 65. Micrografías de células MDA-MB-231 teñidas con cristal violeta tras 48 h con SWNTCs-A1 a A) 100, B) 10, C) 1.0, D) 0.1 $\mu\text{g/mL}$ con magnificación de 4x, y E) 100, F) 10, G) 1.0, H) 0.1 $\mu\text{g/mL}$ y con magnificación de 20x.....	118
Figura 66. Micrografías de células MDA-MB-231 sin tinción tras 48 h con SWNTCs-A1/ZnPc(5) a A) 100, B) 10, C) 1.0, D) 0.1 $\mu\text{g/mL}$ con magnificación de 4x, y E) 100, F) 10, G) 1.0, H) 0.1 $\mu\text{g/mL}$ con magnificación de 20x.....	119
Figura 67. Micrografías de células MDA-MB-231 teñidas con cristal violeta tras 48 h con SWNTCs-A1/ZnPc(5) a A) 100, B) 10, C) 1.0, D) 0.1 $\mu\text{g/mL}$ con magnificación 4x, y E) 100, F) 10, G) 1.0, H) 0.1 $\mu\text{g/mL}$ con magnificación de 20x.....	120
Figura 68. Análisis UV/vis de los SWNTCs-p.....	131
Figura 69. Análisis UV/vis de los SWNTCs-A1.....	132
Figura 70. Análisis UV/vis normalizado respecto a la ZnPc de todos los sistemas nanoestructurados.....	133

Figura 71. Análisis por espectroscopia IR del sobrenadante del sistema SWNTCs-A1/ZnPc(3).....	134
Figura 72. Análisis por espectroscopia IR del sobrenadante del sistema SWNTCs-A1/ZnPc(6).....	135
Figura 73. Análisis por espectroscopia IR del sistema SWNTCs-A1/ZnPc(1).....	136
Figura 74. Análisis por espectroscopia IR del sistema SWNTCs-A1/ZnPc(2).....	137
Figura 75. Análisis por espectroscopia IR del sistema SWNTCs-A1/ZnPc(3).....	138
Figura 76. Análisis por espectroscopia IR del sistema SWNTCs-A1/ZnPc(4).....	139
Figura 77. Análisis por espectroscopia IR del sistema SWNTCs-A1/ZnPc(6).....	140

## **LISTA DE ESQUEMAS**

Esquema 1. Producción de especies ROS mediante TFD.....	27
Esquema 2. Representación esquemática de la obtención de los SWNTCs-A1.....	73
Esquema 3. Representación esquemática de la obtención de los SWNTCs-A2.....	86
Esquema 4. Representación esquemática de la obtención de los SWNTCs-A3.....	86
Esquema 5. Representación esquemática de la obtención de los SWNTCs-A4.....	86
Esquema 6. Representación esquemática de la obtención de los SWNTCs-A5.....	87
Esquema 7. Representación esquemática de la obtención de los SWNTCs-A6.....	87
Esquema 8. Representación esquemática de la obtención de los SWNTCs-A7.....	87

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de cirugías de extirpación tumoral.....	11
Tabla 2. Clasificación de radioterapia.....	13
Tabla 3. Resultados obtenidos por TFD con luz solar en pacientes con QA.....	31
Tabla 4. Listado de reactivos empleados.....	68
Tabla 5. Caracterización de los SWNTCs-p.....	74
Tabla 6. Caracterización de los SWNTCs-A1.....	74
Tabla 7. Condiciones de purificación por centrifugación de los nanomateriales.....	75
Tabla 8. Condiciones de reacción del acoplamiento con ZnPc.....	76
Tabla 9. Caracterización de la ZnPc.....	78
Tabla 10. Caracterización de los SWNTCs-A1/ZnPc(1).....	78
Tabla 11. Resultados del análisis elemental para el sistema SWNTCs-A1/ZnPc(1).....	79
Tabla 12. Caracterización de los SWNTCs-A1/ZnPc(2).....	79
Tabla 13. Resultados del análisis elemental para el sistema SWNTCs-A1/ZnPc(2).....	80
Tabla 14. Caracterización de los SWNTCs-A1/ZnPc(3).....	80
Tabla 15. Caracterización de los SWNTCs-A1/ZnPc(4).....	81
Tabla 16. Caracterización de los SWNTCs-A1/ZnPc(5).....	81
Tabla 17. Caracterización de los SWNTCs-A1/ZnPc(5).....	81
Tabla 18. Caracterización de los SWNTCs-p/ZnPc(1).....	82
Tabla 19. Listado de nanomateriales funcionalizados con grupos amino.....	85

## ABREVIATURAS

<b>Símbolo</b>	<b>Significado</b>
1,3-D	1,3- diiminoisoindolina
A2	1,3-propanodiamina
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undeca-7-eno
DBN	1,8-diazobicyclo[4.3.0]non-5-ene
A3	1,8-octanodiamina
ZnTPPcQ	2,9,16,23,tetrakis[4-(N-metilpiridiloxi)]-ftalocianine
AcEt	Acetato de etilo
Zn(OAc) <sub>2</sub>	Acetato de zinc
ALA	Ácido 5-aminolevulínico
SWNTCs-AA	Ácido ascórbico acoplado a nanotubos de carbono de pared sencilla funcionalizados con grupos carboxilos
ADN	Ácido desoxirribonucleico
MAL	Ácido metilaminolevulínico
HNO <sub>3</sub>	Ácido nítrico
ARN	Ácido ribonucleico
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Ácido sulfúrico
FDA	Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos
H <sub>2</sub> O	Agua
TGA	Análisis termogravimétrico

ANV	Anexina V
GA	Aparato de Golgi
MTT	Bromuro de (3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolio
KBr	Bromuro de potasio
PBS	Buffer Fosfato Salino
DSC	Calorimetría Diferencial de Barrido
NMSC	Cáncer de piel del tipo no-melanoma (carcinoma de células escamosas y células basales)
BCC	Carcinoma de células basales
SCC	Carcinoma de células escamosas
HepG2	Células de carcinoma de hígado hepatocelular humano
cm	Centímetros
CHCl <sub>3</sub>	Cloroformo
$\epsilon_{\max}$	Coefficiente de extinción molar máxima
SOCT-ISC	Cruzamiento entre sistemas inducido por la transferencia de carga en spin-órbita
CIS	Cruzamiento intersistémico
HDFs	Cultivo primario de fibroblastos de origen humano
d	Día
Ax	Diamina
DCC	Diciclohexilcarbodiimida
DCM	Diclorometano

DMAP	Dimetilaminopiridina
DMSO	Dimetilsulfóxido
LED	Diodo emisor de luz
TiO <sub>2</sub>	Dióxido de titanio
CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
DLS	Dispersión dinámica de luz
EPR	Efecto de retención y permeabilidad mejorada
e <sup>-</sup>	Electrón
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Especie superóxido
ROS	Especies reactivas de oxígeno
EDS/EDX/XEDS	Espectroscopia de rayos X por dispersión de energía
DRIFT	Espectroscopia infrarroja de reflexión difusa por transformada de Fourier
FTIR	Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier
EtOH	Etanol
A1	Etilendiamina
EDA	Etilendiamina
FPS	Factor de protección solar
Ps	Fotosensibilizador
<sup>1</sup> Ps*	Fotosensibilizador en un estado electrónico excitado singlete
PUVA	Fototerapia a base de psoroalenos y radiación ultravioleta A
Pc	Ftalocianina

$^3\text{Pc}$	Ftalocianina en un estado electrónico triple excitado
ZnPc	Ftalocianinazinc
ZnPc-TiO <sub>2</sub>	Ftalocianinazinc soportada en nanopartículas de dióxido de titanio
ZnPc-TiO <sub>2</sub> -Ace	Ftalocianinazinc soportada en nanopartículas de dióxido de titanio sintetizadas en ácido acético.
ZnPc-TiO <sub>2</sub> -Oxa	Ftalocianinazinc soportada en nanopartículas de dióxido de titanio sintetizadas en ácido oxálico.
PN	Ftalonitrilo
GPa	Gigapascales
°C	Grados Celsius
g	Gramo
COOH	Grupo funcional ácido carboxílico
-NH <sub>2</sub>	Grupo funcional amino
C=O	Grupo funcional carbonilo
-COOH	Grupo funcional carboxílico o carboxi
-OH	Grupo funcional hidroxilo
-SH	Grupo funcional tiol
-CH <sub>2</sub>	Grupos metilenos
-CH <sub>3</sub>	Grupos metilos
HP	Hematoporfirina
h	Hora
MIR	Infrarroja medio

NIR	Infrarrojo cercano
PI	Ioduro de propidio
THP-1	Línea celular de leucemia monocítica aguda humana
$\lambda$	Longitud de onda
$m$	Masa
NM	Melanoma maligno
MPc	Metalofalocianinas
MeOH	Metanol
A5	<i>m</i> -fenilendiamina
$\mu\text{g}$	Microgramo
$\mu\text{L}$	Microlitros
MES	ácido 2-(N-morfolino)-etanosulfónico
NEAA	Aminoácidos no esenciales
FBS	Biotecfron
DMEM	Medio de cultivo basal con alto contenido en glucosa
FBS	Suero Bovino Fetal
$\text{H}_3\text{PO}_4$	Ácido fosfórico
$\text{CH}_2\text{O}_2$	Ácido fórmico
$\mu\text{m}$	Micrómetro
$\mu\text{M}$	Micromolar
SEM	Microscopía electrónica de barrido
TEM	Microscopía electrónica de transmisión

FESEM	Microscopio electrónico de barrido de emisión de campo
$\mu\text{s}$	Microsegundo
mg	Miligramo
mL	Mililitro
mm	Milimetro
mmol	Milimol
mM	Milimolar
min	Minuto
M	Molaridad o molar
ZnMCPPc	monocarboxifenoxifalocianinazinc
ZnMCPPc-AA	monocarboxifenoxifalocianinazinc ligada a ácido ascórbico
ZnMCPPc-AA-	monocarboxifenoxifalocianinazinc ligada a ácido ascórbico
SWNTCs	soportada en nanotubos de carbono de pared sencilla funcionalizados con grupos carboxilos
A7	N,N'-bis(3-aminopropil)-1,3-propanodiamina
DMF	N,N-dimetilformamida
NDs	Nanodiamantes
nm	Nanómetro
NPs	Nanopartículas
NTCs	Nanotubos de carbono
MWNTCs	Nanotubos de carbono de pared múltiple
MWNTCs-p	Nanotubos de carbono de pared múltiple prístinos

SWNTCs	Nanotubos de carbono de pared sencilla
SWNTCs-A1/ZnPc	Nanotubos de carbono de pared sencilla funcionalizados con etilendiamina y acoplados con ftalocianinazinc
SWNTCs-A1/ZnPc(1)	Nanotubos de carbono de pared sencilla funcionalizados con etilendiamina acoplados con 10 mg de ftalocianinazinc en microondas a 30 °C durante 3 min c/30 s y sonicados por 7 días
SWNTCs-A1/ZnPc(2)	Nanotubos de carbono de pared sencilla funcionalizados con etilendiamina acoplados con 10 mg de ftalocianinazinc en microondas a 40 °C durante 3 min c/30 s y sonicados por 7 días
SWNTCs-A1/ZnPc(3)	Nanotubos de carbono de pared sencilla funcionalizados con etilendiamina acoplados con 5 mg de ftalocianinazinc en microondas a 30 °C durante 3 min c/30 s y sonicados por 7 días
SWNTCs-A1/ZnPc(4)	Nanotubos de carbono de pared sencilla funcionalizados con etilendiamina acoplados con 5 mg de ftalocianinazinc en microondas a 40 °C durante 3 min c/30 s y sonicados por 7 días
SWNTCs-A1/ZnPc(5)	Nanotubos de carbono de pared sencilla funcionalizados con etilendiamina acoplados con 5 mg de ftalocianinazinc en microondas a 40 °C durante 3 min c/ 30 s y sonicados por 15 días
SWNTCs-A1/ZnPc(6)	Nanotubos de carbono de pared sencilla funcionalizados con etilendiamina acoplados con 5 mg de ftalocianinazinc en microondas a 40 °C durante 4 min c/30 s y sonicados por 3 días
SWNTCs-COOH	Nanotubos de carbono de pared sencilla funcionalizados con

grupos carboxilos

SWNTCs-p	Nanotubos de carbono de pared sencilla prístinos
SWNTCs-p/ZnPc	Nanotubos de carbono de pared sencilla prístinos acoplados con ftalocianinazinc
SWNTCs-A2/ZnPc	Nanotubos de carbono de pared sencilla prístinos funcionalizados con 1,3-propanodiamina y acoplados con ftalocianinazinc
SWNTCs-A3/ZnPc	Nanotubos de carbono de pared sencilla prístinos funcionalizados con 1,8-octanodiamina y acoplados con ftalocianinazinc
SWNTCs-A4/ZnPc	Nanotubos de carbono de pared sencilla prístinos funcionalizados con <i>o</i> -fenilendiamina y acoplados con ftalocianinazinc
SWNTCs-A5/ZnPc	Nanotubos de carbono de pared sencilla prístinos funcionalizados con <i>m</i> -fenilendiamina y acoplados con ftalocianinazinc
SWNTCs-A6/ZnPc	Nanotubos de carbono de pared sencilla prístinos funcionalizados con <i>p</i> -fenilendiamina y acoplados con ftalocianinazinc
SWNTCs-A7/ZnPc	Nanotubos de carbono de pared sencilla prístinos funcionalizados con N,N'-bis(3-aminopropil)-1,3-propanodiamina y acoplados con ftalocianinazinc
BNNTs	Nanotubos de nitruro de boro
NaNO <sub>2</sub>	Nitrito de sodio
N <sub>2</sub>	Nitrógeno
A6	<i>o</i> -fenilendiamina
OMS	Organización Mundial de la Salud

$^3\text{O}_2$	Oxígeno molecular en estado triplete
$^1\text{O}_2$	Oxígeno singlete
$\text{H}_2\text{O}_2$	Peróxido De hidrógeno
<i>PM</i>	Peso molecular
A4	<i>p</i> -fenilendiamina
pH	Potencial de hidrógeno
PpIX	Protoporfirina IX
DFSP	Protuberancias de dermatofibrosarcoma
PCs	Puntos de carbono
QA	Queratosis actínica
IR	Radiación infrarroja
UV	Radiación ultravioleta
$\text{OH}\cdot$	Radical hidroxilo
IMRT	Radioterapia de intensidad modulada
PCI	Radioterapia de irradiación craneal profiláctica
IORT	Radioterapia intraoperatoria
ATR	Reflexión total atenuada
$I_G/I_G$	Relación de intensidad Raman
$I_{D/G}$	Relación de intensidades entre la bandas Raman
SWNTCs-Ax	Representación general de la funcionalización de los nanotubos de pared sencilla con grupos amino
SWNTCs/ZnPc	Representación general de nanotubos de pared sencilla acoplados

con ftalocianinazinc

PCs/ZnPc	Representación general de puntos de carbono acoplados con ftalocianinazinc
RMN	Resonancia Magnética nuclear
rpm	Revoluciones por minuto
s	Segundo
T	Temperatura
TPa	Terapascales
TFD	Terapia fotodinámica
Tx	Texafirina
<i>t</i>	Tiempo
<i>sp</i>	Tipo de hibridación
<i>sp</i> <sup>2</sup>	Tipo de hibridación
<i>sp</i> <sup>3</sup>	Tipo de hibridación
MLCT	Transferencia de carga ligando-metal
LMCT	Transferencia de carga metal-ligando
ZnPcII	Tris[9(10),16(17),23(24)-(4-2-mercaptopiridina)-2-(4-carboxifenoxi)] ftalocianinatozinc(II)
UV/vis	Ultravioleta visible
1D	Unidimensional
vis	Visible
V	Volumen

W	Watts
UVB	Radiación ultravioleta B (33-315 nm)
UVA	Radiación ultravioleta A (315-400 nm)
SWNTCs-p/ZnPc(7)	Nanotubos de carbono de pared sencilla prístinos acoplados con 5 mg de ftalocianinazinc en microondas a 40 °C durante 3 min c/30 s y sonicados por 7 días
BODIPY	4,4-difluoro-4-bora-3a-4a-diaza-s-indacenos o boro-dipittometano
UVC	Radiación ultravioleta C (100-33 nm)

## RESUMEN

El cáncer de piel se ha posicionado como uno de los padecimientos con mayor letalidad y recurrencia en los últimos años, denotando preocupación en la comunidad médica y científica, priorizado la búsqueda de tratamientos eficientes, focalizados y de mínima invasión, tal como la terapia fotodinámica (TFD) cuyos efectos secundarios son mínimos comprándolos con técnicas convencionales actuales. Con el uso y mejora de compuestos fotosensibilizadores de segunda generación anclados a sistemas nanométricos se han podido obtener resultados prometedores. En el presente estudio se realizó el acoplamiento entre ftalocianinazinc (ZnPc) y nanotubos de carbono de pared sencilla (SWNTCs) bajo condiciones de tiempo y temperatura de reacción distintas.

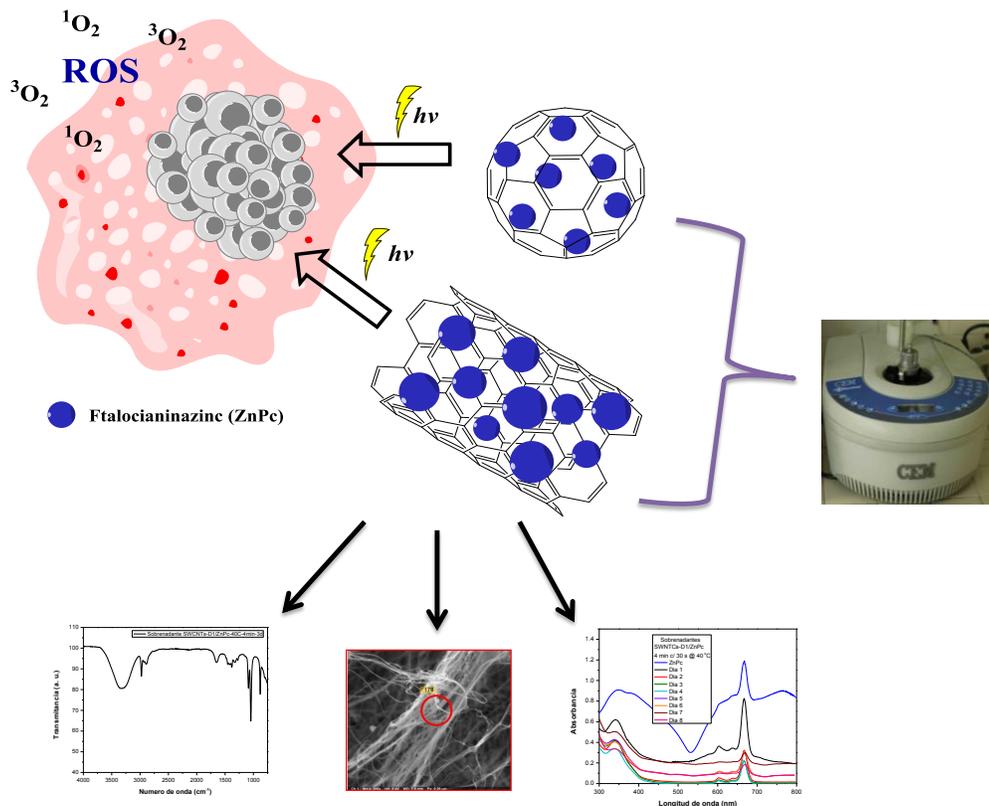


Figura 1. Resumen gráfico.

## I. INTRODUCCIÓN

En años recientes el cáncer se ha convertido en una enfermedad recurrente, convirtiéndose en una de las principales causas de muerte a nivel mundial,<sup>1</sup> deteriorando la calidad de vida de quienes la sufren este padecimiento, por lo que una detección temprana de la misma puede ayudar a salvaguardar la integridad del paciente, por lo que la comunidad médica ha llevado a cabo múltiples campañas de concientización y prevención puesto que todos estamos expuestos a manifestarla en algún momento de nuestra existencia.

Diversos estudios han demostrado que existen diversos factores por las cuales una persona puede presentar cáncer, ya sea por estar en contacto con fuentes de contaminación tóxicas (por ejemplo, metales pesados o solventes) o radioactivas, por la alta ingesta de ciertos conservadores y colorantes en alimentos, malos hábitos de consumo (alcoholismos, tabaquismos, consumo de sustancias ilícitas y demás) e incluso este mal puede presentarse por causas hereditarias. Estos elementos contribuyen a la modificación del ácido desoxirribonucleico (ADN) contenido dentro de las células alterando su función y propiciando la aparición de tumores en diversas áreas del cuerpo.

Entre los tipos de cáncer más comunes se encuentra el cáncer de mama y próstata, siendo esta una de las principales causas de muerte en mujeres y varones, respectivamente. De forma general, para tratar cualquier tipo de cáncer se lleva a cabo un procedimiento de extirpación tumoral seguido de tratamiento de radioterapia, inmunoterapia o quimioterapia. Actualmente se trabaja en el desarrollo de nuevas técnicas de mínima invasión para el combate del cáncer.

Actualmente ha sido notorio un incremento considerable en el número de casos relacionados al cáncer de piel. La sobreexposición a la luz solar y sin protección alguna se ha

tomado como la principal causa en la aparición de melanomas en piel, además se debe tener en cuenta que el incremento de los gases contaminantes en la atmósfera han ido deteriorando nuestra capa protectora natural: la capa de ozono, que al verse dañada, deja pasar una mayor cantidad de radiación ultravioleta (UV) a la superficie terrestre.

La TFD es una vía factible para tratar el cáncer de piel, consistiendo en el suministro de materiales fotosensibilizadores en el área afectada, para después irradiar con una luz a determinada longitud de onda (lo más común es utilizar un láser o dispositivo LED), a longitudes de onda ( $\lambda$ )  $\geq$  600 nm, induciendo la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS), que a su vez desencadenan la apoptosis y necrosis del tejido canceroso.

Esta técnica es altamente socorrida ya que es focalizada y con ella se evita el daño hacia células sanas. Por ello, el desarrollo de fotosensibilizadores más eficientes y que puedan ejercer su efecto terapéutico a mayores valores de  $\lambda$  es crucial para mejorar la aplicación y amplificar el efecto curativo deseado.

Uno de los fotosensibilizadores ampliamente usados son los de la familia de las ftalocianinas (Pc), los cuales son compuestos derivados de las porfirinas compuestos por cuatro grupos isoindol unidos mediante cuatro átomos de nitrógeno y ocho átomos de carbono con dobles enlaces alternados. Tienen la capacidad de coordinarse con metales, tales como el cobre, hierro, o zinc, por mencionar algunos. La ZnPc ha sido estudiada ampliamente, encontrando que estas presentan una absorción de luz por encima de los 600 nm, reduciendo el efecto fototóxico. Otras investigaciones destacan el perfeccionamiento de nuevas fuentes de energía con eficiencia mejorada a las ya posicionadas en este ramo.

El desarrollo de la nanotecnología ha permitido obtener materiales biocompatibles en el orden de  $10^{-9}$  m con morfología diversa y propiedades altamente mejoradas, los cuales tienen

la capacidad de ser empleados en el área médica. Los nanotubos de carbono son sistemas nanoestructurados conformados por láminas de carbono hexagonal enrolladas de estructura tubular bidimensional ya empleados como acarreadores de fármacos o como material de soporte. Los hay de pared sencilla o pared múltiple, los cuales en ambos casos poseen propiedades mejoradas, del tipo térmico, de conductividad, mecánicas y magnéticas. Por otra parte los puntos de carbono (PCs) son definidos como nanocristales cuasi esféricos de grafeno utilizados como biomarcadores o nanosensores, y en técnicas de bioimagen, por sus propiedades fotoluminiscentes.

Sin duda alguna es indispensable desarrollar tratamientos oncológicos eficientes y superiores a los ya manejados en el mercado que permitan aliviar esta problemática social y de salud. La integración de nanomateriales con sustancias fotosensibilizadoras, como la ZnPc, permitirían obtener un efecto sinérgico obteniendo sistemas nanoestructurados con un mayor poder de penetración permitiendo emplear la TFD en otros tipos de cáncer distintos al cáncer de piel. De hecho la ZnPc ha sido probada de forma exitosa en el cáncer de color, de pulmón y de cuello.

Por tal motivo, en el siguiente trabajo se realizó el acoplamiento de ZnPc en SWNTCs funcionalizados con distintos grupos diamina y PCs a fin de verificar el su efecto terapéutico para su potencial uso en el tratamiento de padecimientos del tipo oncológico.

## **II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS**

### **2.1. Justificación**

El incremento significativo en el número de casos activos vinculados al cáncer de piel en la población mundial, ha despertado el gran interés de la comunidad científica por el desarrollo y búsqueda de fotosensibilizadores de segunda generación como la ZnPc acoplados a tratamientos focalizados y de mínima invasión como la TFD, convirtiendo esta técnica útil para tratar otro tipo de padecimientos oncológicos en órganos internos.

### **2.2. Planteamiento del problema**

En el presente proyecto se plantea la preparación de una pequeña biblioteca de nanomateriales de SWNTCs y PCs funcionalizados con distintos tipos de diaminas a fin de soportar un fotosensibilizador de ZnPc para su posible empleo en el tratamiento del cáncer de piel vía TFD.

### **2.3. Objetivo general**

El objetivo general de este proyecto es funcionalizar con distintas diaminas, acoplar con ZnPc y caracterizar el conjunto de sistemas nanoestructurados a base SWNTCs y PCs, con la finalidad de obtener una pequeña biblioteca y evaluar su efecto citotóxico para su uso tentativo en el tratamiento del cáncer de piel vía TFD.

#### **2.4. Objetivos particulares**

- I.** Funcionalizar SWNTCs-p con distintos compuestos del tipo diamina de distinta longitud de cadena.
- II.** Sintetizar PCs mediante la técnica asistida por microondas.
- III.** Llevar a cabo el dopaje con ZnPc de los sistemas nanoestructurados.
- IV.** Establecer condiciones de temperatura y tiempo de reacción ideales para el dopaje de la ZnPc sobre los nanomateriales.
- V.** Monitorear el sobrenadante de las reacciones de acoplamiento con la ZnPc por medio de espectroscopia UV/vis.
- VI.** Analizar el sobrenadante mediante el cual se llevaron los acoplamientos con ZnPc por espectroscopia infrarroja (MIR) y espectroscopia por UV/vis.
- VII.** Caracterizar las nanoestructuras obtenidas a través de espectroscopia por UV/vis, espectroscopia infrarroja (MIR) y microscopía electrónica de barrido (SEM).
- VIII.** Evaluar mediante pruebas de viabilidad celular los acoplamientos SWNTCs-p/ZnPc, SWNTCs-D/ZnPc y PCs/ZnPc.
- IX.** Valorar las especies ROS mediante espectroscopia UV/vis.

### III. ANTECEDENTES

#### 3.1. El cáncer

En las últimas décadas el cáncer se ha transformado en una problemática social y de salud a nivel internacional, convirtiéndose en una de las principales causas de defunción, sin distinción de sexo, edad o raza. La organización mundial de la salud (OMS) ha manifestado su preocupación al respecto, promoviendo campañas de concientización para una detección temprana.<sup>2</sup> A finales del siglo XX las estadísticas contaban alrededor de 100,000 defunciones anuales, cuyas proyecciones manifestaban un incremento en los casos y tan solo un 30% de los pacientes diagnosticados lograba sobrevivir, por lo que la palabra cáncer era sinónimo de muerte. Entre los tipos de cáncer con un mayor número de casos y mortalidad se encontraban el cáncer de pulmón, de estómago, de colon y recto. La presencia de otros tipos de cáncer menos comunes se debe al aumento en la contaminación de ríos, mares, suelo y aire.<sup>3</sup>

Para la primera década de este milenio, las enfermedades oncológicas se convertirían en la segunda causa de muerte de distintos países, conllevando que los institutos de salud y centros médicos especializados efectúen inversiones millonarias en la búsqueda de fármacos altamente eficientes, de menor costo y que alivien esta problemática. De igual manera, estos organismos han promovido concientizar a la población a fin de moderar el consumo de sustancias como el tabaco y el alcohol, u otras sustancias de origen ilícito, las cuales pueden actuar como desencadenantes del cáncer recurriendo a campañas de vacunación, promoción del deporte, alimentación saludable, entre otras, del mismo modo se fomenta la realización de chequeos continuos como mastografías, examen de próstata o Papanicolaou.<sup>3,4</sup>

El desarrollo tecnológico y científico enfocado al área médica ha crecido velozmente consiguiendo dispositivos y técnicas novedosas que permiten mejorar la detección y tratamientos, logrando extender la esperanza de vida de la población. En lo que respecta a las enfermedades oncológicas en los Estados Unidos y Puerto Rico, en el año 2001 se registraron 553,760 defunciones, sin embargo el reporte anual presentado por Henley et al.<sup>5</sup> del 2020 ha indicado que la tasa anual de muertes producidas por cáncer continúa a la baja.<sup>4</sup>

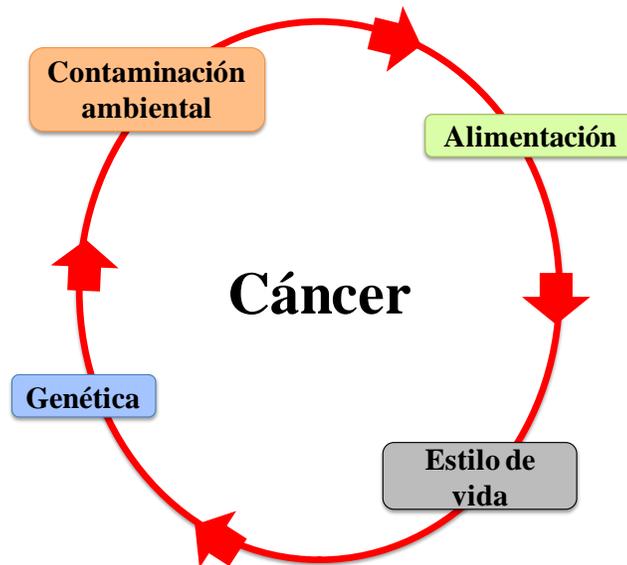
Actualmente se siguen combatiendo factores de riesgo causados por el sedentarismo y el consumo de sustancias como alcohol, tabaco o drogas, los cuales desatan padecimientos crónicos como la diabetes e hipertensión, que a su vez pueden desencadenar varios cánceres.<sup>5</sup> Hasta la fecha, el cáncer de pulmón continúa siendo uno de los padecimientos más frecuentes junto con los cánceres de laringe y boca, a consecuencia del tabaquismo.<sup>3,5</sup> Desde que fueron detectados los primeros de casos de cáncer se ha tratado de elucidar la genética por el cual se produce, siendo esto la clave definitiva para el combate de este mal que tanto aqueja a la sociedad.

### 3.1.1. La genética del cáncer

El cuerpo humano tiene la función de que cuando las células envejecen o se encuentran dañadas, mueren y son reemplazadas por células nuevas, a pesar de ello hay diversos elementos que influyen para que este proceso se salga de control, provocando que nuevas células adicionales crezcan descontroladamente produciendo grandes masas tumorales.

La palabra cáncer es descrita en diversas fuentes como una enfermedad genética que engloba a todo un conjunto de enfermedades ligadas con la producción de células con crecimiento anormal descontrolado capaces de adherirse a tejidos u órganos sanos. La

sintomatología en cada paciente puede ser muy variada, dependiendo del área afectada, sin embargo hasta la fecha el origen de esta patología continúa siendo un gran misterio para la comunidad médica y científica, a pesar de los esfuerzos realizados durante varios años. Se han tratado de elucidar los diversos motivos y factores que conlleva a que células sanas se comporten anormalmente en el organismo (**Figura 2**), de igual manera se han tratado de implementar técnicas de tratamiento alternativas y novedosas a las ya existentes, también se han desarrollado novedosos compuestos farmacológicamente activos, a fin de evitar la diseminación hacía otras partes del cuerpo por medio del sistemas sanguíneo y linfático.



**Figura 2.** El cáncer y sus posibles causas.

No hay que olvidar que este padecimiento es una enfermedad genética, cuyo origen fundamentalmente se relaciona con cambios genéticos derivados de factores externos o epigenéticos (carcinogénesis). Este último tiene su origen desde la concepción, en donde las células germinativas (espermatozoides y óvulos) sufren diversos cambios. Se han logrado elucidar 50 síndromes de este tipo, como los genes BRCA1 y BRCA2/BRCA1, los cuales

inducen la aparición del cáncer de seno, de próstata, de ovario y/o páncreas; y el gen PTEN, causante del síndrome Cowden que a su vez incrementa la probabilidad de cáncer de seno, de tiroides, de endometrio, entre otros.<sup>6,7</sup>

Los genes son una secuencia de nucleótidos que se localizan a lo largo del ADN o ácido ribonucleico (ARN) donde se codifica dicha información, además de ayudar a las células a producir proteínas, pero tan solo alguna modificación genética puede provocar que estas evadan su control de crecimiento.<sup>8</sup> Desde el 2010<sup>7</sup> se ha demostrado que solo un 1% del total de genes (291 genes) que poseemos son responsables de dicha afección patológica, cuya mutación puede darse por diversas razones como amplificaciones, mutaciones puntuales, deleciones, reordenamientos genómicos, entre otros, conduciendo a una sobreexpresión de proteínas, muting, producción de proteínas quiméricas o una expresión de novo.<sup>6,7</sup>

### 3.1.2. Tratamiento y diagnóstico oncológico

La palabra cáncer frecuentemente suele tomarse como sinónimo de muerte, sin embargo es importante considerar que esto no es así, ya que al paciente se le es detectado en una etapa temprana puede revertirse, siendo indispensable la identificación de grupos de riesgo para informar de forma clara las formas en las cuales puede prevenirse dicha patología.

El consumo de alcohol, tabaco o drogas trae consigo graves repercusiones en la salud, afectando diversos órganos. Sin embargo, las azúcares y grasas pueden derivar problemas de salud crónicos como diabetes, complicaciones cardiovasculares, problemas digestivos y demás, los cuales pueden desencadenar cáncer, principalmente de colon, estómago, recto, próstata, matriz y mama. La OMS ha considerado a México como uno de los países con una

mayor población con sobrepeso, recomendando la ingesta de alimentos procesados con grasas saturadas e incluir más frutas y vegetales en la dieta diaria (**Figura 3**).<sup>9</sup>

Una de las formas novedosas para prevenir el riesgo de padecer cáncer es a través de pruebas genéticas, las cuales son recomendables en personas que cuentan con antecedentes familiares, logrando identificar cambios genéticos mediante un comparativo entre el ADN leído con el ADN de células cancerosa a fin de proponer un tratamiento específico.<sup>6</sup>



**Figura 3.** El plato del buen comer.<sup>10</sup>

Uno de los primeros síntomas es la detección de pequeñas bolitas en el área del cuerpo, cuya sintomatología varía dependiendo de la zona afectada e incluso puede no haber síntoma alguno hasta alcanzar una fase terminal. Existen diversos medicamentos que ayudan a combatir el cáncer en base a la localización de la masa tumoral. En primera instancia los pacientes son tratados mediante una extirpación tumoral (cirugía), la cual consiste en extraer la masa tumoral del área afectada posterior a un análisis de localización previo como endoscopia,

radiografía, resonancia magnética nuclear (RMN), tomografías y otras más, puesto que a partir de estos se podrá determinar el tipo de cirugía más idónea (**Tabla 1**).<sup>9, 11, 12</sup>

**Tabla 1.** Clasificación de cirugías de extirpación tumoral.<sup>12</sup>

<b>Tipo de cirugía</b>	<b>Definición y aplicación</b>
<b>Curativa o primaria</b>	Extirpación de masa tumoral y tejido circundante. Útil para la mayoría de los tipos de cáncer.
<b>Paliativa</b>	Usada para aliviar efectos secundarios causados por cánceres diseminados, en tumores “frágiles” o en tumores que se encuentren ejerciendo presión sobre vasos sanguíneos, nervios u órganos.
<b>Laparoscopia</b>	Consiste en realizar pequeñas incisiones e introducir un tubo con una cámara y luz integrada. Se usa en el área abdominal y torácica, principalmente.
<b>Láser</b>	Procedimiento por el cual se emplea un bisturí térmico (láser) llevando a cabo cortes precisos trabajando márgenes milimétricos, recomendada para tratar el cáncer laríngeo en su etapa temprana.
<b>Criocirugía</b>	Consiste en usar nitrógeno líquido a fin de congelar y eliminar tejido canceroso.
<b>Micrográfica de Mohs</b>	Cirugía microscópicamente controlada usada en el cáncer de piel a través de cortes delgados hasta visualizar células normales.
<b>Robótica</b>	Sistema robótico de alta precisión que permite eliminar el cáncer a tratar.

Otro elemento a considerar es el grado histológico del paciente, basado en que tan rápido se multiplican, extienden y diseminan las células cancerosas (diferenciación celular) en el organismo.<sup>13</sup> Posteriormente se emplea el sistema TNM, donde “T” pertenece a tamaño, “N”

al estados de los ganglios linfáticos y “M” a la presencia de alguna otra enfermedad o metástasis.<sup>9,12</sup>

Actualmente se buscan técnicas novedosas no invasivas, además de compuestos farmacológicamente activos menos agresivos. Desde el nacimiento de la biología molecular, el estudio y análisis de la secuencia genética del ADN, al igual que la elucidación de los distintos mecanismos por los cuales la información genética es expresada y codificada, se han podido desarrollar estudios enfocados al diagnóstico y farmacología genética de forma específica. En las primeras décadas del siglo en mención, la síntesis de compuestos análogos de purina y pirimidina (aminoterapia) fungieron como predecesores de los diversos tratamientos oncológicos actuales.

La quimioterapia es uno de los tratamientos más socorridos, la cual es una técnica terapéutica asistida por un oncólogo, el cual se encarga de llevar a cabo el control del suministro de una serie de fármacos, los cuales pueden ser suministrados oralmente, subcutánea, de forma intramuscular, interventricular o vía intravenosa. La combinación de dichas sustancias puede clasificarse como citotóxicos o citostáticos, actuando estos últimos como inhibidores del proceso de división celular y por consecuencia el crecimiento tumoral. Entre los medicamentos más usados se encuentran la *L*-asparaginasa, bleomicina, carboplatino, dacarbazina, paclitaxel, adriamicina, epirrubicina, ciclofosfamida, gemcitabina, vinorelbina, entre otros, que ayudan a aliviar esta terrible enfermedad.<sup>12,14</sup>

A pesar de ayudar a eliminar el cáncer de nuestro cuerpo, este procedimiento trae consigo una serie de efectos secundarios que pueden llegar desgastar al paciente tratado, deteriorando la calidad de vida e incluso pueden ocasionar otras afecciones, de este modo la hormonoterapia se ha posicionado como una alternativa.<sup>15</sup> El objetivo de esta técnica es llevar

a cabo la producción de hormonas a través del suministro de medicamentos antiestrógenos, inhibidores de aromataasa o antiandrógenos, según sea requiera, suprimiendo el crecimiento tumoral. El cáncer de seno, endometrio y próstata son los tratados mediante este procedimiento.<sup>16</sup>

**Tabla 2.** Clasificación de radioterapias.<sup>12</sup>

<b>Tipo de radioterapia</b>	<b>Definición y aplicación</b>
<b>Radioterapia profiláctica</b>	Suministro de radiación en zonas sin evidencia de cáncer.
<b>Radioterapia paliativa</b>	Usada en cánceres diseminados, reduciendo la sintomatología.
<b>Radiocirugía estereotáctica (estereotáctica)</b>	Se administra en la masa tumoral, usando un haz de partículas de carga pesada y radiación de alta energía de fotones.
<b>Radioterapia de intensidad modulada (IMRT)</b>	Sensibilización de células neoplásicas, mediante radiosensibilizadores como el 5-fluorouracilo y <i>cis</i> -DDP, junto con radioprotectores (amifostina). Apta en tumores cerebrales, mama, hígado, pulmón, próstata, páncreas, útero y nasofaringe.
<b>Radioterapia sistémica</b>	Administración de compuestos radiactivos vía oral e inyectada, como el yodo 131, estroncio 89 y dicloruro de radio 223, este último útil en cáncer de próstata y metástasis óseas.
<b>Radioterapia externa</b>	
La fuente de energía suministrada se localiza en el exterior de la zona afectada.	
<b>Radioterapia intraoperatoria (IORT)</b>	Radioterapia externa aplicable durante cirugía en cánceres que no se pueden extirpar suministrando una dosis de energía alta.
<b>Radioterapia de</b>	Radiación externa aplicable cerebralmente en cánceres

<b>irradiación craneal profiláctica (PCI)</b>	primarios evitando su diseminación hacia la zona cerebral.
<b>Radioterapia interna (braquiterapia)</b>	
Se suministra radiación cerca del tumor o dentro del mismo, insertando un pequeño implante.	
<b>Radioterapia intersticial</b>	Aplicable a tumores en la cabeza, cuello, próstata, cérvix, senos, región perianal y pélvica.
<b>Radioterapia intracavitaria</b>	Se emplea para tratar cáncer uterino.

En la búsqueda por asistir a quienes son aquejados por dicha patología, se han tratado de usar técnicas menos invasivas, focalizadas y efectivas, encontrando en la radioterapia una alternativa altamente eficiente, la cual se fundamenta en el suministro de radiación ionizante en la zona a tratar erradicando las células malignas. Con ella, es posible socorrer varios tipos de cánceres con la presencia de tumores sólidos, en tejidos blandos, sarcomas, leucemias y linfomas. Los efectos secundarios no son comparables con las otras técnicas mencionadas con anterioridad, ya que a pesar de que el suministro de este tipo de energía ocasiona daños a las células adyacentes, estas tienen la capacidad de repararse con gran normalidad, además la radiación es controlable dependiendo de las condiciones del paciente, además al momento de aplicarse no hay dolor ni sensación alguna aparente.<sup>17</sup>

Entre los equipos usados para este tipo de tratamiento se encuentran los aceleradores lineales de protones y electrones, y las bombas de cobalto o iridio. Desde finales del siglo XIX, los estudios efectuados por los Curie y el descubrimiento de los rayos X, estos son

usados como fuente de energía junto con los rayos gamma. La manera en la cual la radioterapia es suministrada es muy variada (**Tabla 2**).<sup>12</sup>

### **3.2. Cáncer de piel**

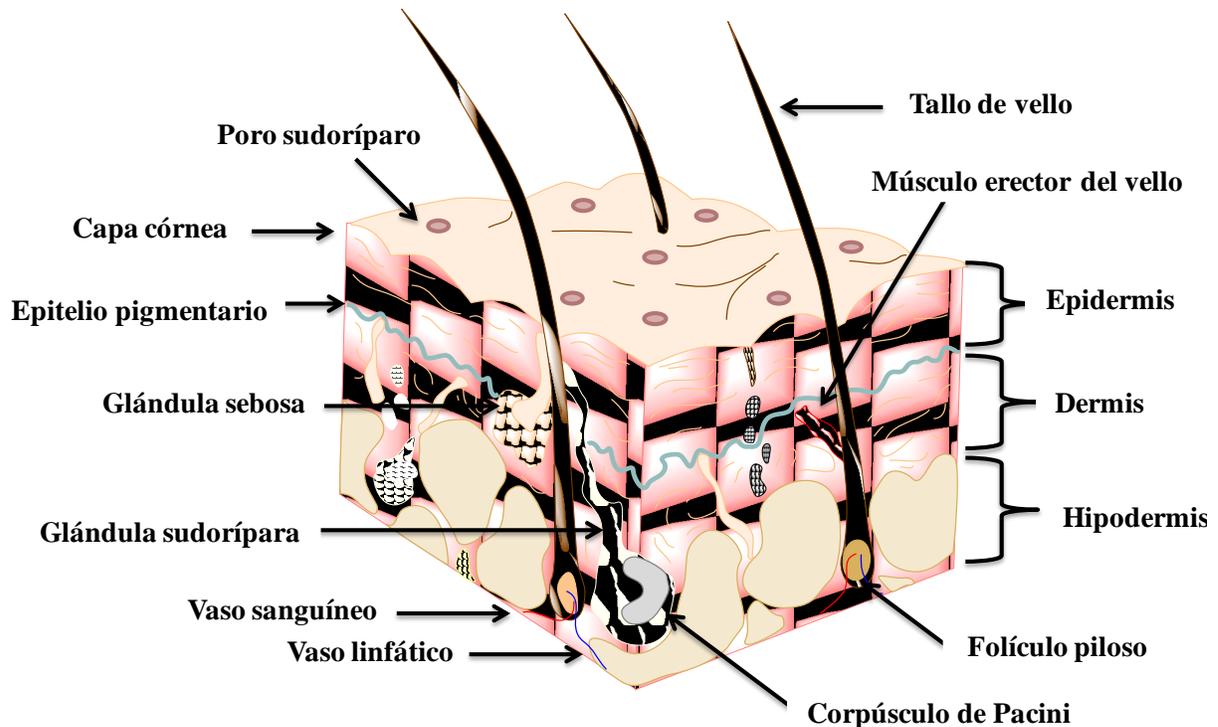
A principios de los años 2000, el cáncer presente en la piel era muy padecimiento muy común en la población de tez blanca, afligiendo principalmente a las mujeres, cuya enfermedad se daba en regiones de climas cálidos, tales como Nueva Zelanda, Australia, algunas regiones sudamericanas, parte de Norteamérica y en algunos países europeos. En base a los datos estadísticos derivados de los estudios de Parkin et al.<sup>3</sup> en 1999, estos países manifestaron un porcentaje elevado en el número de casos en cáncer de piel, aquejando a alrededor de 105 mil personas.

En años recientes se ha percibido un notable incremento en casos del cáncer de piel, esto ha permitido el estudio y desarrollo de métodos terapéuticos innovadores y de mayor eficiencia, como el suministro de inhibidores de puntos de control inmunitarios y dirigidos, capaz de aumentar la supervivencia media del melanoma en estado avanzado de nueve meses a al menos dos años, desencadenando un descenso en la tasa de mortalidad del 2019. Se reflejó un impacto positivo en pacientes con melanoma del tipo metastásico, encontrando que la supervivencia a 2 años fue del 28.3% en el período 2011-2014, lo cual es un avance significativo respecto al 23.5% del período 2004-2010.<sup>5</sup>

#### **3.2.1. La piel**

La piel (**Figura 4**) es considerada como el órgano más extenso del cuerpo humano y uno de los más importantes estableciendo una barrera entre el medio ambiente que nos rodea y protegiéndonos de diversos factores que puedan dañarnos. Está compuesta por tres diferentes

tipos de capas (epidermis, dermis e hipodermis), las cuales cumplen con una serie de funciones determinadas.



**Figura 4.** Estructura de la piel

La epidermis es la capa exterior superficial constituida principalmente por células dendríticas y no dendríticas (queratinocitos) y se organizan en estratos hacia el interior (capas córnea, lúcida, granulosa, espinosa y basal) hasta definirse por completo. Es muy delgada (alrededor de 0.4 mm de espesor) y en ella también es posible encontrar poblaciones celulares como melanocitos, los cuales se encargan de inyectar pigmento y protección, por mencionar tan solo alguna.<sup>17</sup> Los queratinocitos (células escamosas) forman puentes intercelulares uniendo las células epidérmicas con glucocalix, además cumple con la función de producir queratina y llevar a cabo la síntesis de otras sustancias química.<sup>18</sup>

Debajo de la epidermis se encuentra la capa intermedia denominada dermis, y está compuesta de tejido conectivo y algunas fibras de colágeno, fibras elásticas y reticulares. Es considerada la más gruesa de la cual se compone la piel y en ella se localizan folículos pilosos, glándulas sudoríparas, vasos sanguíneos y nervios.<sup>17</sup>

Por último, la hipodermis conocida también como panículo adiposo o tejido celular subcutáneo, es la capa más interna constituida por células grasas o adiposas (adipocitos) formando una red de colágeno, en donde los lóbulos se encuentran separados por tejido conectivo llamados septos o tabiques interlobulillares. Una de sus funciones primordiales es conservar el calor y amortiguar golpes.<sup>17, 18, 19</sup>

La finalidad de la piel y sus funciones son las siguientes:<sup>19</sup>

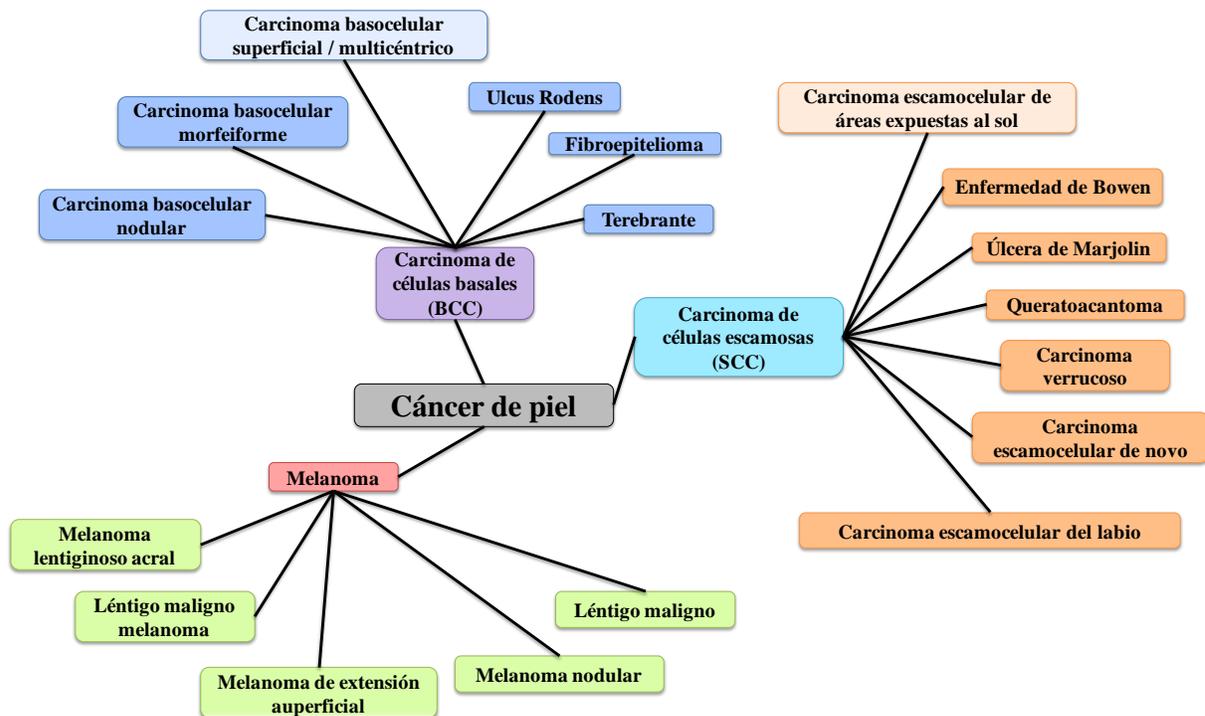
- **Protección.** Su estructura y forma protege órganos internos de traumatismos mediante estratos dérmicos e hipotérmicos y el engrosamiento epitelial. La pigmentación producida por los melanocitos protege de algunos agentes químicos y radiación, impidiendo su paso a través del epitelio celular compacto. Con este estrato también se evita la pérdida de agua y electrolitos al exterior.
- **Termorregulación.** La vasodilatación y vasoconstricción en los plexos vasculares cutáneos ayudan a regular la temperatura (secreción sudoral ecrina).
- **Sensación.** Las células de Merkel y los distintos receptores sensoriales libres o corpúsculos sensoriales transmiten la información sensorial hacia el cerebro.
- **Secreción.** Existen glándulas del tipo ecrinas (sudoríparas), apocrinas (como las glándulas mamarias) y holocrinas (como las glándulas sebáceas).
- **Excreción.** Se encarga de eliminar agua diariamente y algunas proteínas.

- **Función inmunológica.** Los queratinocitos intervienen en el sistema inmune cutáneo, interaccionando con las células de Langerhans y linfocitos T en la producción de citocinas. Las catelicidinas y defensinas (de tipo a y b) favorecen la función inmunológica actuando como antibióticos naturales.
- **Producción de vitamina D.** Bajo condiciones fisiológicas e inducida por radiación UVB solar se lleva a cabo la transformación completa del 7-dehidrocolesterol en calcitriol (análogo de la vitamina D), el cual regula el crecimiento y diferenciación de los queratinocitos

### 3.2.2. Tipos y clasificaciones del cáncer de piel

El cáncer de piel puede definirse de forma similar en la que el cáncer es definido, en este caso las células con crecimiento anormal se replican en la piel, en donde suelen manifestarse masas tumorales superficiales (del tipo *in situ*). Con el paso del tiempo puede llegar a desarrollarse un cáncer del tipo metastásico, penetrando las capas inferiores de la dermis hasta afectar el tejido adiposo, músculos, nervios e inclusive el sistema óseo, dificultando su tratamiento.<sup>20</sup>

El cáncer de piel (**Figura 5**) se clasifica en dos clases, los del tipo melanoma y no-melanoma (NMSC), incluyendo en este último los carcinomas de células basales (BCC) y carcinomas de células escamosas (SCC). Se han sugerido una vasta cantidad de mecanismos por los cuales se lleva a cabo la replicación de células cancerosas, ya sea por depresión de la inmunidad celular, mutaciones en el gen supresor p53, por una predisposición de ciertas personas a la mutación o por una anormal capacidad de reparación del ADN.<sup>21,22</sup>



**Figura 5.** Clasificación del cáncer de piel.

Por otra parte, los melanomas son una neoplasia maligna agresiva derivada de los melanocitos, los cuales se localizan en la capa basal de la epidermis. Su aparición puede deberse a la activación de oncogenes derivados de la acumulación de mutaciones genéticas (como consecuencia de la radiación UV), los cuales inactivan los genes de supresión tumoral y dificultan la reparación del ADN. Lo anterior propicia una proliferación anormal de melanocitos y a su vez, a los melanomas.<sup>23</sup>

Uno de los factores relevantes para determinar que algo anda mal en nuestra piel son el oscurecimiento de la misma o la formación de erupciones extrañas que pudieran ser indicativo de alguna especie de cáncer, sin embargo en ocasiones esto no siempre es así, y para descartar este padecimiento es importante llevar a cabo un examen diagnóstico basado en una biopsia en primera instancia que permita confirmar la presencia de cáncer.

Existen varios tipos de biopsias en donde la muestra a estudiar se prepara usando alcohol isopropílico, povidona yodada o clorhexidina, y analgésico compuesto al 2% de lidocaína, también es posible utilizar epinefrina en nariz u orejas.

- **Biopsia de perforación.** Se basa en el uso de un punzón de cuchillo redondo desechable para la extirpación de lesiones pequeñas a una profundidad cercana al tejido subcutáneo, cuyo tamaño varía entre 2 - 10 mm.
- **Biopsia de afeitado.** Socorrida en lesiones elevadas o confinadas en la dermis (no recomendada en lesiones pigmentadas o con sospecha de melanoma) usando un bisturí de 15 navajas de doble filo.
- **Biopsia por escisión.** Útil para lesiones de gran tamaño o en aquellas a las cuales se les determina como malignas.<sup>23</sup>

También es posible realizar un análisis de imagen (dermatoscopia), evaluando la asimetría (A), bordes irregulares o mal definidos (B), color heterogéneo (C), evolución (E) y diámetro (D) el cual este último debe ser mayor a 6 mm para considerarse como melanoma, quedando resumidos en el acrónimo ABCDE.<sup>24</sup>

#### 3.2.2.1. *Carcinoma de células basales (BCC)*

El carcinoma de células basales (BCC) es considerado como el tipo de cáncer de piel más recurrente asociado a las mutaciones celulares inducidas por la radiación solar, surgiendo en la capa basal de la epidermis y en la vaina radicular externa de los folículos pilosos, en zonas del cuerpo con una mayor exposición solar como rostro (nariz y orejas), cabeza y manos, los cuales representan aproximadamente un 70% de los casos, un 15% restante suele surgir en el tronco y muy raramente en el área íntima y perianal. Es de crecimiento lento y rara vez hace

metástasis. La detección temprana es vital, ya que pudiera extenderse a los ojos, huesos u otros tejidos profundos.<sup>24</sup>

La apariencia de este carcinoma de dimensión variada entre 1 y 10 mm de diámetro semejante a una pápula blanca o del tono de la piel con una superficie brillante, lisa y con crecimiento paulatino, que en ocasiones puede sangrar. Diversos estudios indican que un 50% de la gente diagnosticada con BCC puede desarrollar en un período de 5 años algún otro tipo de cáncer.<sup>20, 24</sup>

El tratamiento suele variar dependiendo del tipo de lesión y localización del mismo, regularmente se efectúa una escisión completa de la masa tumoral. Existen otras modalidades no quirúrgicas como la electrodesecación, criocirugía, radioterapia, interferón intralesional, 5-fluorouracilo, retinoides, quimioterapia y imiquimod, entre otros.<sup>23, 24</sup>

Se ha visto un incremento notorio en el número de casos de BCC anuales, estimando alrededor de 500,000 personas afectadas por dicho mal tan solo en los Estados Unidos.<sup>25</sup> Este tipo de cáncer tiene múltiples variaciones, entre las cuales se encuentran los BCC superficiales, BCC nodulares y los BCC morfeiforme.<sup>20, 23, 24</sup>

- **BCC nodular**. Representa el 60% de casos de BCC. Es caracterizado por una lesión en forma de nódulo eritematoso pequeño de aspecto perlado y coloración rosada, bordes definidos y traslúcidos, aunque algunos pueden manifestar pigmentación. Es de crecimiento lento pero si no es tratado puede extenderse profundamente e incluso penetrar hasta el hueso y el sistema nervioso central.
- **BCC superficial / multicentrico**. El 30% de los casos de BCC se relacionan con este tipo de cáncer, el cual surge en forma de una pápula eritematosa escamosa de

borde fino, perlado y traslúcido, cuyo tamaño puede variar entre algunos milímetros y centímetros, ocasionalmente hay pigmentación.

- **BCC morfeiforme / esclerosante**. Se manifiesta en forma de pápula eritematosa de aspecto cicatricial, indurada, morfea y de bordes irregulares. Puede tener un color nacarado o brillante que puede ulcerarse. Representa entre un 10% de los casos BCC, a partir del cual pueden desencadenarse otros tipos de carcinomas, cuyas variantes son de crecimiento agresivo pero de menor recurrencia.

#### 3.2.2.2. Carcinoma de células escamosas (SCC)

El carcinoma SCC es considerado como el segundo tipo de cáncer de piel más recurrente y es un tumor maligno originado a causa de las mutaciones inducidas por la radiación UV de los queratinocitos en la epidermis (células escamosas),<sup>25</sup> que a diferencia del BCC, tiene la capacidad de provocar metástasis en ganglios, pulmones e hígado, incluso puede desarrollarse en cicatrices antiguas, quemaduras, úlceras e infecciones.<sup>20, 21, 23</sup>

Al igual que el BCC, existen diversos tipos de carcinomas, encontrándose entre los más recurrentes los siguientes.<sup>24</sup>

- **SCC superficial**. Enfermedad *in situ* de la epidermis (trastorno de Bowen) que consiste en una placa eritematosa delgada de crecimiento lento, bordes definidos ondulantes y una evolución del 8% a SCC invasor.
- **SCC nodular queratósico**. De aspecto verrugoso que al crecer manifiesta queratosis y llega a formar lesiones con aspecto de cuernos cutáneos.

- **SCC ulcerada.** Caracterizada por una úlcera de superficie irregular sobre una base saliente e indurada, puede llegar a manifestar un crecimiento rápido y destructivo. Es la forma con mayor tendencia a presentar metástasis.
- **SCC vegetante.** Se presenta como una neoformación irregular que puede alcanzar un tamaño de 10 cm.

Es importante la detección temprana de estos tipos de carcinomas, ya que en este estado pueden provocar daños mínimos y logran ser tratados en su totalidad. La forma más socorrida por la comunidad médica para tratar los SCC, conlleva a efectuar una escisión quirúrgica o cirugía micrográfica de Mohs en un margen de 4 a 6 mm. La radioterapia es otra técnica empleada para pacientes que no son candidatos a la cirugía o en aquellos cuyo tumor es muy grande. En algunos pacientes se utiliza la quimioterapia como último recurso.<sup>24, 23</sup>

#### 3.2.2.3. *Melanoma*

Los melanomas son considerados como el tipo de cáncer cutáneo más agresivo, ya que tiende a diseminarse hacia otras zonas del cuerpo e incluso puede ocasionar la muerte de quien lo padece. Este se origina en los melanocitos ubicados capa basal de la epidermis, derivado de las mutaciones genéticas producidas por la radiación UV que inactiva los genes de supresión tumoral, contribuyendo a una proliferación descontrolada de melanocitos hasta formar masas tumorales de color marrón o negro. Existen casos en los cuales puede llegar a formarse un melanoma amelanótico sin la producción de pigmento, luciendo de color rosado o blanco.<sup>20, 23</sup>

A nivel mundial se ha visto un aumento considerable en el número de casos de este tipo de cáncer, incrementándose en un 6% el número de pacientes por año, representando la tercera enfermedad más común en la gente de color, asiáticos, hispanos y población caucásica.<sup>21</sup> El

pronóstico de vida depende de las características del tumor, tal como ubicación y profundidad del mismo, al igual que la ausencia o presencia de metástasis.<sup>23</sup>

Existen cuatro tipos de melanomas, los cuales se describen a continuación.<sup>20, 23, 24</sup>

- **Melanoma de extensión superficial.** Constituye el 75% de melanomas malignos y se caracteriza por crecer radialmente con bordes angulados y áreas acromáticas, que tienden a propagarse verticalmente hacia el tejido profundo.
- **Melanoma nodular.** Melanoma agresivo de crecimiento vertical. Entre un 25% de casos de cáncer son de este tipo, y se manifiesta como nódulos poliploides de pigmentación marrón, negra o azulada, inclusive ulcerado.
- **Léntigo maligno.** Melanoma *in situ* en forma de mácula pigmentada asimétrica pequeña, plana, de borde irregular y angulado, con coloración cambiante. Representa un 12.5% de los casos de melanomas y se ubica con frecuencia en el rostro.
- **Melanoma acral lentiginoso.** Representa un 5% de los casos surgiendo con frecuencia en las palmas de las manos, pies y zonas subungueales.
- **Melanoma lentiginoso de mucosas.** Representa un 3% de los casos y se desarrolla en el epitelio de las mucosas del tracto gastrointestinal, pulmonar y genitourinario, principalmente.

El tratamiento general se basa en cirugía, sin embargo cuando la persona padece de un melanoma profundo (< 4 mm) o alguna afectación secundaria son considerados como pacientes de alto riesgo y es necesario coadyuvar con técnicas alternativas.<sup>20</sup>

### 3.2.3. Principales causas del cáncer de piel

Uno de los factores en la aparición del cáncer de piel es la sobreexposición de la radiación UV emitida por los rayos solares, los cuales son representados por el espectro electromagnético, indicando que una gran cantidad de energía de diferentes valores de  $\lambda$  llega constantemente a nuestro planeta. Otras causas son debidas a la edad o por tener un sistema inmunológico debilitado. La radiación infrarroja (IR), luz visible y radiación UV representan una mayor proporción. Este último tipo de energía es dividido en los siguientes:<sup>1</sup>

- 1) **Radiación UVA (315 - 400 nm)**: No es filtrada por la capa de ozono y llega a la superficie terrestre en un 94.5%. Puede penetrar el tejido cutáneo, causante del envejecimiento en la piel e induce una pigmentación inmediata (bronceado).
- 2) **Radiación UVB (33 - 315 nm)**: Entre 6.5% de esta energía es filtrada en la atmósfera. Puede inducir la formación de células cancerosas, dañando capas superiores de la piel (quemaduras), fotoenvejecimiento y la formación de arrugas.
- 3) **UVC (100 - 33 nm)**: De alta energía, detonante del cáncer de piel y quemaduras cutáneas. Es filtrada por completo en la atmósfera.

Es sabido que el exceso de contaminantes producidos y emitidos a la atmósfera a consecuencia de la actividad humana, ha provocado que poco a poco la capa de ozono vaya desapareciendo en un 2% en los últimos 20 años. Esto trae consigo un impacto negativo para la salud humana y el medio ambiente, ya que los rayos solares no son filtrados en su totalidad, dejando pasar radiación más radiación del tipo UVC. Tan solo un 10 % en la reducción de la capa de ozono puede incrementar en un 20% la cantidad de radiación UV que llega a la superficie terrestre, y a su vez, esto puede incrementar hasta en un 40% los casos de cáncer de piel.<sup>25</sup>

Existen varias formas y estrategias de prevenir daños en la piel:

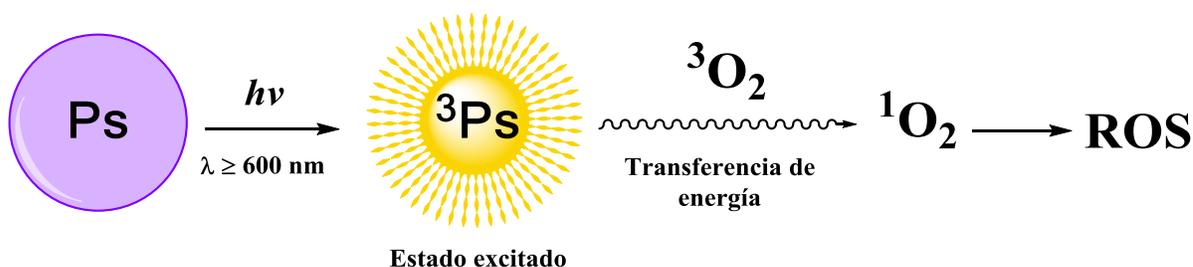
- a) Evitar sobreexponerse a la luz solar por períodos prolongados o llevar a cabo actividades físicas o recreativas entre las 10:00 y 15:00 h del día.
- b) Usar ropa clara o accesorios como anteojos, gorras o sombreros.
- c) Se recomienda el uso de protectores solares con el factor de protección solar adecuado (FPS).
- d) Evitar la exposición a fuentes de radiación UV artificiales en actividades laborales o en áreas recreativas, usando el equipo de protección pertinente.

Si bien la radiación UV es un factor detonante del cáncer de piel, existen factores epigenéticos que afectan principalmente los genes CDKN2A y CDK4, responsable de la aparición de melanomas entre un 75% posibilidad de manifestarlo. De igual forma algunos rasgos hereditarios como tez clara o cabello pelirrojo, hace que las personas sean vulnerables a la radiación solar.<sup>24</sup>

El combate contra el cáncer de piel continúa siendo un reto para la comunidad médica, buscando implementar una variedad de técnicas terapéuticas. Recientemente se ha usado la fototerapia, la cual consiste en el uso de diferentes niveles de energía UV y psoralenos (PUVA), que a pesar de los aspectos positivos, su uso a largo plazo puede desencadenar efectos mutagénicos y cancerígenos del tipo SCC y precursores de melanomas como los lentigos PUVA. Diversos estudios clínicos han puesto en manifiesto que el riesgo de cáncer puede persistir hasta por 25 años de haber suspendido el tratamiento, proponiendo la búsqueda de un procedimiento terapéutico con la capacidad de reducir los efectos secundarios a largo y corto plazo.<sup>1</sup>

### 3.3. Terapia fotodinámica

La TFD es una técnica enfocada principalmente en el tratamiento del cáncer de piel, la cual consiste en el suministro vía intravenosa, intraperitoneal o tópica de un compuesto fotosensibilizador (Ps), el cual es acumulado y absorbido sobre el tejido dañado, para posteriormente activar el medicamento introducido mediante el suministro de una luz a determinada  $\lambda$ . La irradiación provoca que el Ps pase a un estado electrónico excitado singlete ( $^1\text{Ps}^*$ ) lo suficientemente estable para efectuar un cruce intersistémico (CIS), llevándolo a un estado triplete excitado ( $^3\text{Ps}^*$ ), originando la producción de ROS y radicales libres.<sup>26</sup> Las especies resultantes del proceso, en especial el oxígeno singlete ( $^1\text{O}_2$ ),<sup>27</sup> producen un efecto citotóxico que a su vez conducen la muerte celular por apoptosis o necrosis de las células neoplásicas de la masa tumoral a tratar (**Esquema 1**).<sup>28, 29</sup>

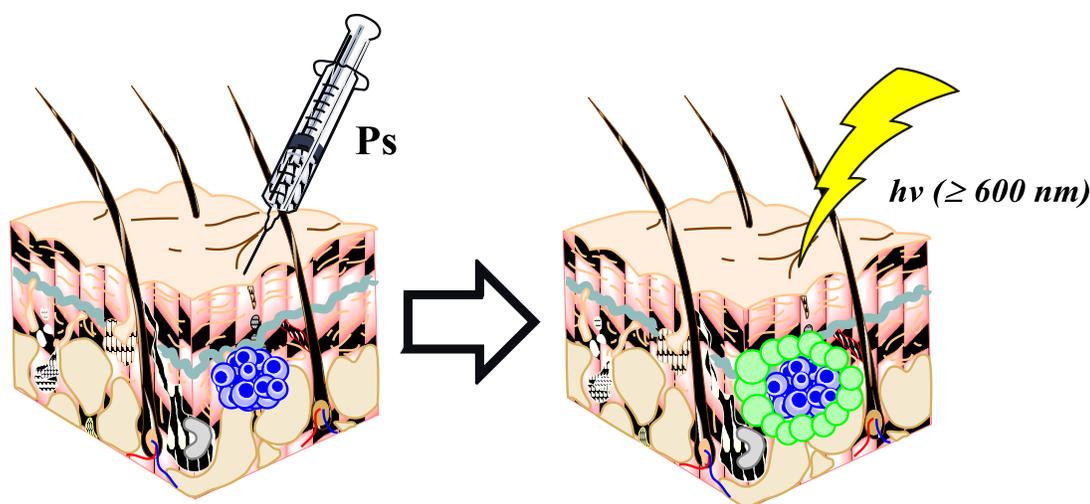


**Esquema 1.** Producción de especies ROS mediante TFD.

#### 3.3.1. Producción de especies reactivas de oxígeno

En general, esta técnica (**Figura 6**) se basa en el uso de tres elementos básicos: un fotosensibilizador, luz a cierta longitud de onda y una fuente de oxígeno. Existen dos diferentes mecanismos de acción fotoquímica para la producción de las especies ROS, los cuales son descritos a continuación:<sup>29, 30</sup>

- A) **Mecanismo tipo 1 (producción ROS).** A través de este mecanismo son producidas especies como superóxidos ( $O_2^-$ ), radicales hidroxilo ( $OH\cdot$ ), peróxidos ( $O_2^{-2}$ ), producidas a partir de una abstracción de oxígeno o transferencia electrónica al oxígeno molecular en estado triplete ( $^3O_2$ ) bajo condiciones hipóxicas.
- B) **Mecanismo tipo 2 (producción  $^1O_2$ ).** Transferencia directa de la energía hacia el  $^3O_2$  para la fotogeneración de  $^1O_2$  en medios oxigenados. El exceso de energía suministrada se transfiere al oxígeno del medio a través de una colisión durante el tiempo de vida media del estado excitado Ps.

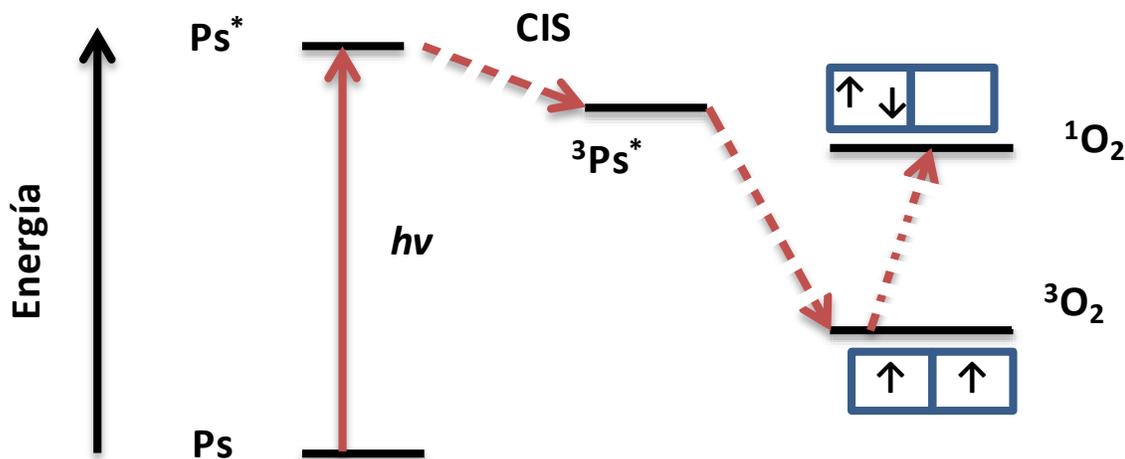


**Figura 6.** Representación gráfica de la TFD.

Analizando a profundidad el proceso de fotosensibilización para la producción de la especie  $^1O_2$ , este se explica a través de la absorción de un fotón de luz UV o visible en el Ps, generando un estado excitado singlete de forma inmediata, que evoluciona a un estado triplete excitado estable y con un tiempo de vida extenso, en el cual puede existir la colisión con una molécula de oxígeno en su estado fundamental, y a su vez se efectúa un proceso de

transferencia energética (**Figura 7**).<sup>31</sup> Mediante este mecanismo se fundamenta el modo en el cual ejerce su efecto terapéutico.

Por lo general, el tipo de luz suministrada obedece a la longitud de onda requerida por el fotosensibilizador, en base a los picos de absorción. Usualmente se usan valores entre 600 - 800 nm, ya que a valores superiores pudiese no haber la suficiente energía para excitar el oxígeno en su estado basal.<sup>29</sup> Las fuentes de iluminación usadas comúnmente son las de tipo láser de colorante pulsado de argón (630 nm), láser de vapor de oro (628 nm) y lámparas incandescentes con o sin filtro. El modo de suministro ideal para la TFD se da partir de la reducción en la intensidad o fraccionar la irradiación, ya que a dosis altas de luz se produce una disminución de oxígeno y, por otra parte, el suministro de una pequeña concentración de luz puede desencadenar un daño celular ligero reparable.<sup>32</sup>



**Figura 7.** Diagrama de Jablonski para el proceso de producción de  $^1\text{O}_2$ .

### 3.3.2. Mecanismos citotóxicos

Se han reportado en la literatura<sup>33</sup> diversos estudios acerca de las características de las especies oxidantes obtenidas a partir de diversos compuestos como porfirínicos, ftalocianinas,

colorantes como el azul de metileno o la rosa bengala, los cuales resultan ser extremadamente útiles dado su efecto citotóxico actuando en la inactivación bacteriana y sobre una variedad de organismo patógenos tales como hongos o levaduras; son capaces de servir en el tratamiento de aguas residuales.<sup>34</sup>

Volviendo al enfoque de la TFD, las características del  $^1\text{O}_2$  manifiesta un tiempo de vida media de 0.04  $\mu\text{s}$  y un radio de acción de 0.02  $\mu\text{m}$  en sistemas biológicos, característica que lo convierte en una técnica altamente focalizada y selectiva, ya que el Ps debe estar internalizado cerca del tejido a tratar, esto evita daños a células sanas aledañas.<sup>35</sup> Dependiendo de las características del compuesto y condiciones suministradas, la masa tumoral se verá afectada por los mecanismos siguientes:<sup>29, 35, 36</sup>

- 1) **Daño celular directo por necrosis, necrosis por coagulación o apoptosis,** siendo esta última la más común en TFD. Mediante estas vías de destrucción tumoral por lo general se ve afectada la membrana mitocondrial e involucrando a la activación de genes y proteínas que actúan como protectores, dependiendo del tipo de proceso.
- 2) **Daño celular indirecto** como microtrombosis de vasos tumorales de neoformación, inflamación intensa de la zona por liberación de factores vasoactivos y procoagulantes.
- 3) **Activación del sistema inmune.**

Esta modalidad fotoquímica ofrece características que la convierten en un tratamiento prometedor para distintos tipos de cáncer. Desde su aprobación por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) entre 1995 - 1999 se recurrió a ella

para tratar enfermedades que manifiestan neovascularización, carcinomas obstructivos de estómago, lesiones incipientes bronquiales y queratosis actínicas (QA).<sup>29, 36</sup>

En el estudio reciente publicado por Passardi et al.,<sup>37</sup> un grupo de pacientes con QA fue tratado usando TFD bajo el suministro de luz solar. Los pacientes fueron divididos según el grado de afectación en la piel (I, II y III), cuyas lesiones se localizaron en manos, cuero cabelludo, rostro y cuello.

Inicialmente se procedió a limpiar la zona a tratar con una solución salina al 0.9% y aplicar un filtro solar orgánico FPS 30, para continuar luego de 15 min con una limpieza superficial a través de la remoción de costras y escamas mediante microdermoabrasión y / o láser. Realizado el paso anterior se añadió una capa fina de 1 g por área de una crema preparada con ácido metilaminolevulínico (MAL) al 16% o con ácido 5-aminolevulínico (ALA) al 20% (solución), cuyas especies fotosensibles son convertidos vía biosíntesis de hemo a protoporfirina IX (PpIX) la cual tiene varios picos de absorción entre 410 y 635 nm que le permiten activarse. Luego de 30 min el paciente se sometió a una exposición de luz solar durante 2 h para finalizar con la remoción de la crema y aplicar protector solar.

**Tabla 3.** Resultados obtenidos por TFD con luz solar en pacientes con QA.

<b>Tipo QA</b>	<b>Sin tratar</b>	<b>Tratadas</b>	<b>Porcentaje (%)</b>
<b>I</b>	775	635	82
<b>II</b>	657	401	61
<b>III</b>	141	34	24
<b>Total</b>	1,573	1,069	68

Pasadas 48 h se evaluaron las condiciones de la piel, tomando en cuenta la presencia de dolor, pústulas, costras y eritemas. La evaluación se efectuó 12 semanas después, concluyendo que de las 1,573 QA tratadas, 1,069 presentaron una respuesta clínica completa (**Tabla 3**).

Esta técnica terapéutica tiene la gran capacidad de tratar el cáncer de piel en sus distintos tipos (melanoma y NMSC), además es útil para el fotoenvejecimiento, verrugas, acné y también tratar padecimientos oftalmológicos (verteporfirina), neumonológicos, gastroenterológicos (cáncer de estofago, tumores hepatobiliares, colonrectales), entre otros. A través de diversos estudios se ha concluido que la TFD es capaz de tratar masas tumorales de órganos internos, por la ausencia de efectos mutagénicos en células aledañas, reduciendo considerablemente el postratamiento. Por lo general, se presenta un poco de irritación, dolor, costras o ampollas curables de tres a cinco días, o incluso pueden durar entre dos y tres semanas.<sup>32, 36</sup>

En el estudio elaborado por González et al.,<sup>35</sup> esta técnica resultó ser útil en padecimientos urológicos y en lesiones iniciales del cáncer de próstata, denotando una disminución de aproximadamente el 67% de la proteína o antígeno PSA y un efecto anti vascular en el tejido tumoral prostático, usando motexafin lutetium y luz mediante fibra de vidrio insertada vía transperineal.

La síntesis de compuestos Ps con la capacidad de producir una mayor cantidad de especies ROS mediante el suministro de luz a longitudes de onda superiores a las de 600 nm mejorarían formidablemente el efecto fototerapéutico.

### 3.3.3. Compuestos fotosensibilizadores

Los Ps son compuestos químicos que al ser irradiados por luz UV o visible, sus moléculas pasan a un estado electrónico excitado por sí mismas o a consecuencia de una transferencia de energía, llevando a cabo la formación de especies altamente reactivas, cuyo proceso es vital para ejercer algún tratamiento clínico.

Este grupo de agentes fotosensibles deben de ser químicamente puros con la capacidad de no producir toxicidad, acumulándose selectivamente sobre el tejido diana a tratar, ya que al ser irradiados con luz pueden conducir la muerte programada intracelular por apoptosis o necrosis, a través de la destrucción de la membrana celular o extracelular. El suministro de estos materiales depende de la situación clínica del paciente, siendo recurrente la manifestación de ligeros efectos secundarios que desaparecen en períodos de tiempo muy cortos.<sup>38,39</sup>

Otro aspecto relevante es su ventana de operación, ya que deben manifestar picos máximos de absorción con coeficientes de extinción molar ( $\epsilon_{\max}$ ) entre  $5 \times 10^4 - 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  en presencia de luz infrarroja, entre 600 - 800 nm, incluso existen sustancias Ps que tienen la capacidad de actuar desde los 350 nm. Estas condiciones les permiten operar exitosamente a unos 10 mm de profundidad.<sup>38,40</sup>

Recientemente se han estudiado una vasta cantidad de compuestos, clasificado de acuerdo su estructura química:<sup>39,40</sup>

**A) No porfirínicos.** Catalogados de esta forma aquellos que no poseen en su estructura un anillo derivado de la porfirina (tetrapirrol cíclico), encontrando entre los más comunes las antraquinonas, fenotiazinas, xantenos, cianinas y curcumbionoides. Los

rangos de absorción que manejan este tipo de materiales se encuentran entre los 420 - 670 nm, representando una gran desventaja para su uso por TFD.

**B) Porfirínicos.** Son aquellos que poseen en su estructura un anillo derivado de la porfirina, manifestando rangos de absorción entre 630 - 700 nm. Dentro de esta clasificación existe otra dependiendo de la forma en la cual operan al irradiar con luz:

- Primera generación: los materiales porfirínicos poseen esta denominación y son aquellos que fueron desarrollados en la década de los 70's y principios de los 80', distinguiendo a el fotofrin y la hematoporfirina (HP), los cuales fueron unos de los primeros Ps usados clínicamente en la terapia del cáncer.<sup>29</sup> Presentan fototoxicidad y una baja absorción de la luz.
- Segunda generación: no producen fototoxicidad, manifestando una absorción mayor a los de primera generación. Son considerados de segunda generación aquellos derivados de la porfirina o sintéticos fabricados a finales de la década de los 80's, entre los más comunes se encuentran levulan® (compuesto ALA) o foscan® (temoporfirina), y familias derivadas de estos como las texafirinas (Tex), los porfínicos y Pc.
- Tercera generación: son aquellos compuestos Ps modificados estructuralmente con conjugados de anticuerpos, incorporación de fotoblanqueo, conjugados biológicos, entre otros.

Es importante señalar que se deben de tener todas las precauciones en el uso de nuevos Ps, debido a que estos suelen ser menos específicos y activos en el perfil bioquímico, siendo

inseguros. Por ese motivo es importante realizar una comparación con los Ps ya aprobados para su uso clínico bajo las concentraciones dosimétricas adecuadas.

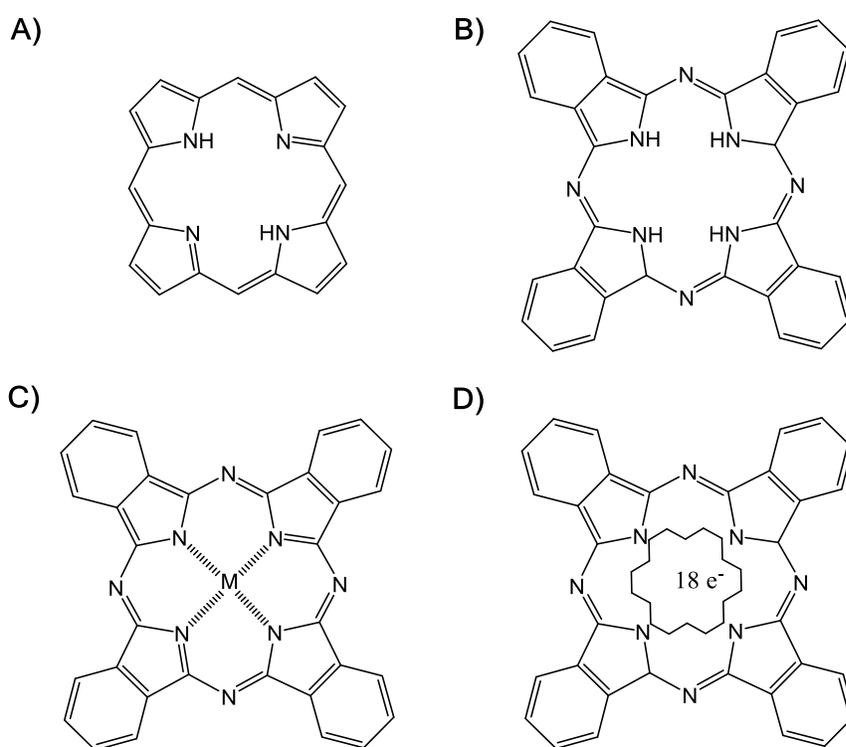
Los colorantes del tipo sintéticos se han estudiado exhaustivamente con la finalidad de evaluar sus propiedades de tinción y terapéuticas, habiendo una vasta variedad, uno de ellos son los 4,4-difluoro-4-bora-3a-4a-diaza-s-indacenos, conocidos como boro-dipirrotometano o BODIPY, los cuales son una especie de fluoróforos, ya que la incorporación de átomos de halógeno en los anillos de una estructura de pirrol ocasionan que se incremente el rendimiento al estado electrónico triple excitado, permitiendo que estos actúen como Ps. El uso de estos materiales ha sido muy variado y con excelentes resultados.<sup>41</sup>

#### 3.4. Las metaloftalocianinas y ftalocianinas

Las Pc son una familia de compuestos fotosensibles que se caracterizan estructuralmente por poseer macrociclos aromáticos planos de 18 electrones ( $e^-$ ) derivados de las porfirinas (**Figura 8**). Tienen la capacidad de coordinarse con un centro metálico, obteniendo una ftalocianina metalada (MPc) de zinc, silicio, cobre, níquel o magnesio, por mencionar tan solo algunos metales con los cuales se pueden elaborar, permitiendo el CIS y a través de un estado electrónico excitado triplete ( $^3Pc$ ) producir ROS. Estructuralmente cuenta con un total de 42  $e^-$  del tipo  $\pi$ , llevándose a cabo una deslocalización electrónica sobre el anillo interior al cual se le atribuye como un sistema aromático.<sup>42, 43</sup>

A partir de la síntesis de los compuestos de Pc a principios del siglo XX, estos comenzaron a estudiarse encontrando en ellos múltiples características que los convierten en sustancias útiles en áreas diversas, retomando su estudio en la década de los 80's y 90's. La síntesis de estos materiales fue propuesta por primera vez en 1907<sup>44</sup> por los investigadores

londinenses Braun y Tchernaic, efectuada a partir de ftalonitrilo (PN) y el 1,3-diiminoisindolina (1,3-D), en donde la reacción de ciclotetramerización procede en disolventes no acuosos con altos puntos de ebullición junto con un agente reductor o una base impedida no nucleofílica como la hidroquinona o 1,8-diazobicyclo[4.3.0]non-5-ene (DBN) disuelto en pentanol, respectivamente. La presencia de alguna impureza metálica en el proceso podría llevar a cabo la formación de una MPc.<sup>43, 45</sup>



**Figura 8.** Materiales fotosensibles. **A)** Porphirina. **B)** Estructura base de la Pc libre. **C)** Estructura de la MPc. **D)** Ligando Pc de carácter aromático.

Estos materiales destacan por sus amplias propiedades, ya que poseen una gran estabilidad térmica que le permite alcanzar temperaturas de hasta 500 °C al vacío sin descomposición, al igual de poseer una gran resistencia a medios ácidos no oxidantes y bases

(estabilidad química). Los aspectos mencionados anteriormente le han permitido ser usados en una gran variedad de aplicaciones tecnológicas.<sup>42, 46</sup>

Una de las características más destacables es que estas estructuras pueden alojar en la cavidad central a más de 70 elementos de la tabla periódica, puesto que las Pc poseen un número de coordinación cuatro. Dependiendo de las dimensiones del metal, incluso la estructura puede llegar a albergar a dos de ellos, principalmente se da con metales alcalinos. Por otro parte, cuando el metal es de un tamaño considerable pueden llegar a formarse estructuras piramidales, tetraédricas u octaédricas con uno o dos ligandos axiales según se requiera.<sup>40, 47</sup>

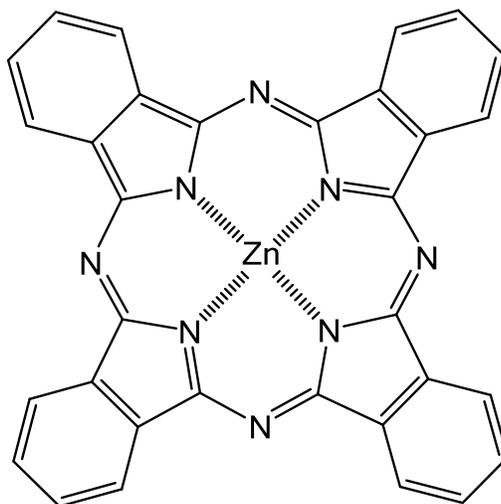
Uno de los problemas más notorios al momento de utilizar este tipo de materiales es su baja solubilidad, por lo que es necesario llevar a cabo una modificación en su estructura facilitar su manejo, a pesar de ello, una gran variedad de MPc que han demostrado ser solubles por sí mismas bajo las condiciones y el solvente adecuado, según el estudio realizado por Ghani y colaboradores.<sup>48</sup>

No obstante las Pc sustituidas<sup>49, 50</sup> tienen la gran ventaja de tener grandes usos y aplicaciones, tal como la capacidad de acoplarse a otro tipo de materiales. Investigaciones recientes<sup>51</sup> han demostrado que el uso de las MPc puede potencializarse usándose materiales de soporte del tipo poliméricos en donde se puede llevar a cabo la incorporación de algunas cadenas cortas de péptidos y nanomateriales como nanopartículas (NPs), nanotubos e incluso PCs, los cuales han impacto en el ámbito científico y tecnológico.

### 3.4.1. El cáncer y la ftalocianinazinc

Una de las primeras aplicaciones a las cuales se le atribuyó a estos compuestos fue la producción de pigmentos de gran calidad y a bajo costo.<sup>52</sup> Al ser considerados como sustancias no tóxicas, esto le ha valido su uso en el área biomédica, específicamente en el tratamiento del cáncer, ya que se ha demostrado ser excelentes materiales en la TFD.<sup>53</sup>

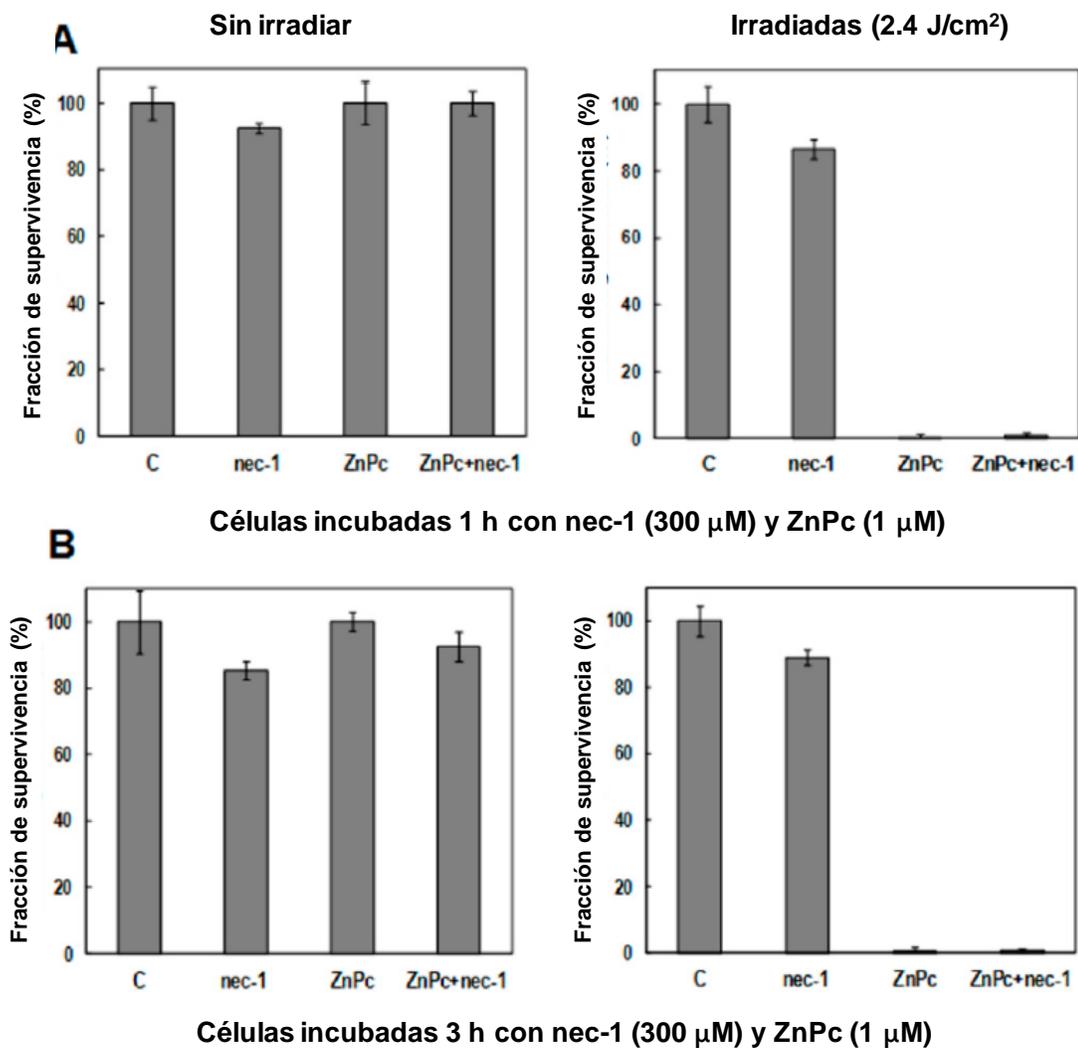
La HP y el ALA, hasta la fecha, son uno de los Ps más utilizados clínicamente en padecimientos oncológicos, sin embargo, las aportaciones de la comunidad científica encargada de la síntesis y en el desarrollo de compuestos del tipo Ps ha permitido localizar materiales con una mayor eficiencia con una menor citotoxicidad. Uno de ellos es la ZnPc (**Figura 9**), cuyo Ps de segunda generación ha demostrado ser ampliamente efectivo.<sup>54</sup>



**Figura 9.** Estructura de la ZnPc.

La ZnPc es una macromolécula aromática plana constituida por una estructura plana simétrica conformada por cuatro grupos isoindol unidos a través de cuatro átomos de nitrógeno y ocho átomos de carbono con dobles enlaces conjugados. Esta molécula tiene una

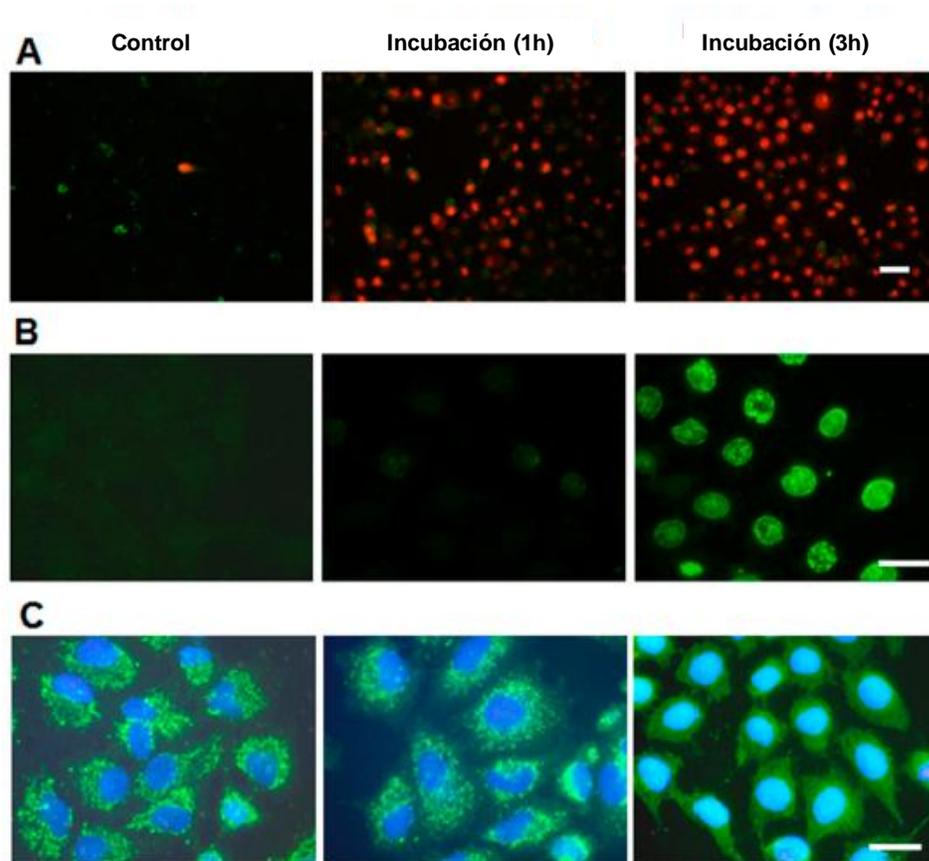
nube de  $e^-$  del tipo  $\pi$  deslocalizados en toda la molécula, y al interior del anillo se deslocalizan 18  $e^-$ , responsables de su estabilidad térmica y fotoquímica.



**Figura 10.** Supervivencia de las células HeLa incubadas con ZnPc 1  $\mu$ M, nec-1 300  $\mu$ M (ZnPc-nec-1) y evaluadas por ensayo MTT 24 h después de los tratamientos. **A)** Células tratadas 1 h con ZnPc. **B)** Células tratadas 3 h con ZnPc.

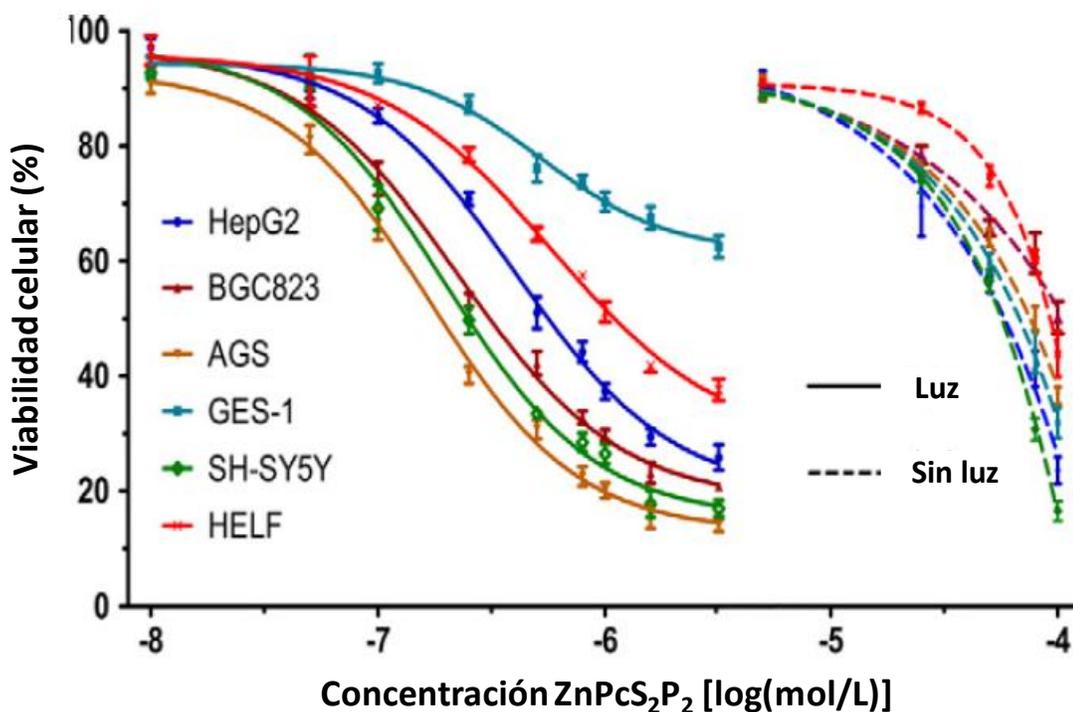
Por otra parte, Cañaete y colaboradores<sup>55</sup> regularon el proceso de necrosis en células HeLa mediante TFD utilizando liposomas de ZnPc (1  $\mu$ M) de 1 a 3 h, usando una fuente LED

de  $640 \pm 20$  nm suministrada por 10 min. Sin irradiación, se observó una disminución insignificante en la supervivencia celular cercana al 100%, después de 1 h presentaron un núcleo pequeño con cromatina altamente condensada, en donde las células tratadas por 3 h y observadas 1 h después (**Figura 10**) manifestaron una condensación de cromatina en forma de pequeñas manchas.

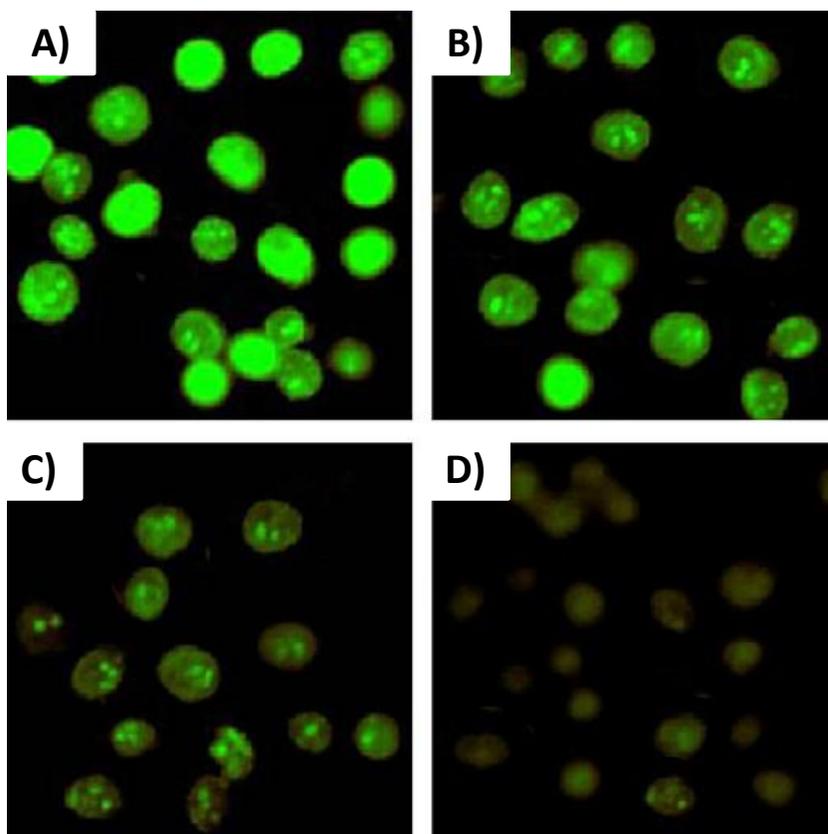


**Figura 11.** Imágenes por microscopía por fluorescencia de células HeLa. **A)** Células incubadas con ZnPc  $1 \mu\text{M}$  (1 y 3 h) para ensayos con Anexina V / yoduro de propidio. **B)** Células procesadas para ensayo TUNEL después de 3 h. **C)** Células HeLa incubadas con ZnPc  $1 \mu\text{M}$  (1 y 3 h) procesadas para inmunofluorescencia indirecta (imagen fusionada).

Luego de 24 h, las células mostraron núcleos más grandes que las células de control, con gránulos de cromatina altamente condensados, con la envoltura nuclear aparentemente intacta. Usando la incubación de ZnPc durante 1 h, no fue posible visualizar el Ps dentro de la célula dado que la cantidad de ZnPc internalizada no fue suficiente para ser detectada. Con este tiempo de incubación e internalización, se informó que la ZnPc se encontraba cerca de la membrana plasmática, responsable de un proceso necrótico. Después de 1 h de incubación con ZnPc, no se detectó la señal roja en la superficie celular, y después de 3 h el Ps se acumuló claramente en el aparato de Golgi (GA). Esto indicó que en tiempos de incubación cortos con ZnPc, este se acumula en o cerca de la membrana plasmática antes de alcanzar la GA (**Figura 11**).



**Figura 12.** Análisis citotóxico en distintas líneas celulares usando ZnPcS<sub>2</sub>P<sub>2</sub> con una irradiación de luz (1.5 J/cm<sup>2</sup>) y sin irradiación.



**Figura 13.** Imágenes de células HepG2 por contraste de fase de fluorescencia 24 h después de irradiarse ( $1.5 \text{ J/cm}^2$ ) usando distintos valores de concentración fotocianina: **A)** Control, **B)** 0.5, **C)** 2.5, **D)**  $5 \mu\text{mol/L}$ .

La ZnPc ha sufrido varias modificaciones estructurales, permitiéndole ser usada en distintas líneas celulares para tratar el cáncer, tal es el caso de la investigación de Shao et al.<sup>56</sup> en la cual probaron un tipo de fotocianina mediante TFD para la inhibición de varias líneas celulares de cáncer, obteniendo excelentes resultados en las pruebas de viabilidad celular efectuadas utilizando una fuente de irradiación de  $1.5 \text{ J/cm}^2$ , de igual manera fue estudiada la citotoxicidad bajo las mismas condiciones pero sin luz (**Figura 12**). En el gráfico obtenido se observó que la fotocianina  $\text{ZnPcS}_2\text{P}_2$  inhibe el crecimiento, el cual dependió en gran medida

de la concentración, siendo más notorio en concentraciones elevadas. En el gráfico obtenido, las curvas de concentración/inhibición se desplazaron hacia la izquierda después de la irradiación, lo que indica un efecto citotóxico adicional a la fotocianina en las líneas celulares.

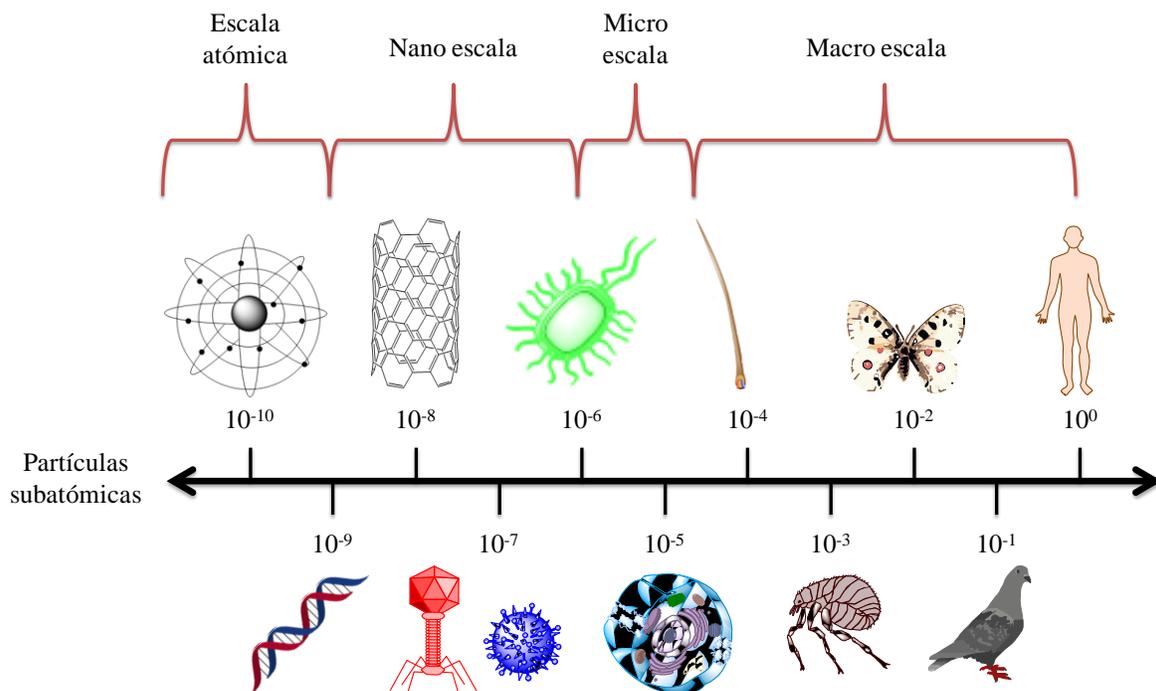
El análisis se continuó usando la HepG2, obteniendo imágenes de contraste de fase de fluorescencia teñidas con naranja de acridina / bromuro de etidio, en las cuales fue posible observar que la fotocianina es capaz producir apoptosis y necrosis luego de irradiar, a causa de la pérdida significativa del orgánulo interno y la integridad de la membrana plasmática (**Figura 13**). Al igual que en el estudio anterior, la concentración usada influye considerablemente, puesto que a valores grandes se observa la necrosis y varias células con apoptosis a concentraciones bajas.

Estudios recientes han demostrado que el uso de estos materiales a través del efecto FRET permite activar la producción de distintas especies reactivas que intervienen terapéuticamente. Es importante resaltar que las investigaciones más recientes usando ZnPc realizados con nanomateriales a base de carbono usados como soporte.<sup>57</sup>

### **3.5. Nanomateriales**

Recientemente ha cobrado relevancia el desarrollo de materiales novedosos con propiedades mejoradas, abriendo un sin fin posibles enfocadas a diversas aplicaciones en el ámbito aeroespacial, construcción, médicas o biomédica. La síntesis de nanomateriales permitió el nacimiento de la nanociencia, basada en su manipulación a nivel atómico, molecular y supramolecular, dando pie a la nanotecnología, la cual se enfoca al diseño, forma, tamaño y aplicación.<sup>58</sup> Estas aportaciones han revolucionado a la ciencia e industria.

Un nanomaterial es definido como aquel que posee una dimensión comprendida entre 1 y 100 nm (**Figura 14**), cuyo valor es crucial para poder llevar a cabo con éxito muchas de sus aplicaciones, entre ellas la internalización en el cuerpo humano, permitiendo a estos fungir como acarreadores de fármacos o sustancias activas para el tratamiento de algún padecimiento.<sup>59</sup>



**Figura 14.** Diferentes escalas de medida y respectivos ejemplos.

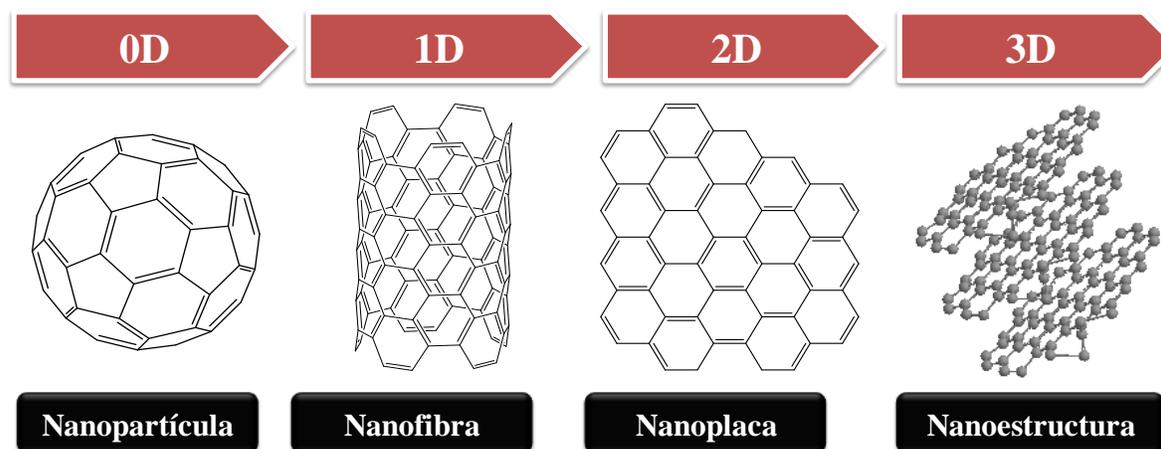
Otro detalle importante a considerar es el tipo de material, siendo el carbono uno de los elementos con el cual se han elaborado una vasta cantidad de estructuras, sin embargo también se han podido utilizar algunos metales para la fabricación de NPs como oro, plata, cobre, de igual forma se han podido usar dióxido de silicio o de titanio para la elaboración de estos materiales. Este factor es vital, ya que si los nanomateriales se van a utilizar para fines

biológicos o médicos, estos deben de ser biocompatibles ni tóxicos, además de las características propias del material.

### 3.5.1. Nanotubos de carbono

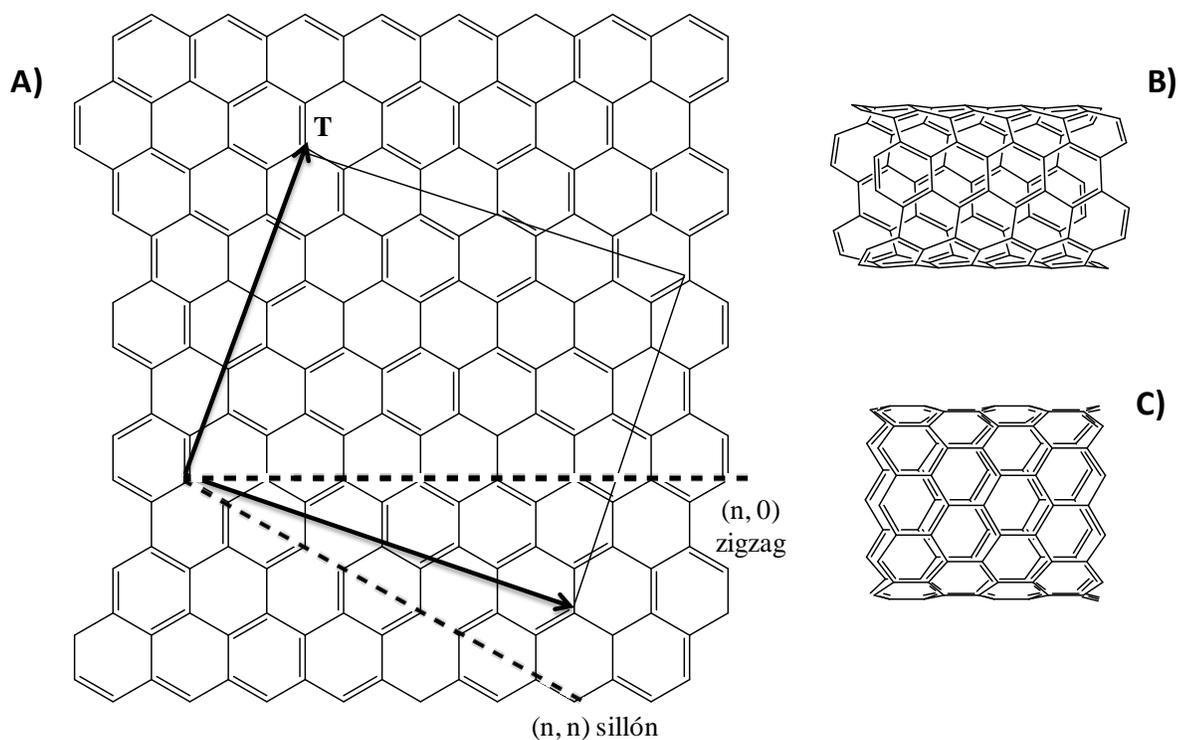
Los nanotubos son materiales que han tenido gran impacto científico muy grande en las últimas décadas, a causa de que estos presentan propiedades que los hacen altamente útiles en diversas áreas, pudiendo ser sintetizados a base de diferentes elementos como los nanotubos de nitruro de boro (BNNTs),<sup>59</sup> nanotubos de silicio o de carbono,<sup>60</sup> siendo estos últimos los más estudiados.

En 1991 el microscopista japonés Iijima descubrió una gran variedad de formas alotrópicas de carbono con dimensiones nanométricas distintas (**Figura 15**) tales como fullerenos (0D), nanotubos o nanofibras (1D), grafeno (2D), grafito y diamante (3D).<sup>58</sup> A partir de ese momento, los nanotubos comenzaron a estudiarse de diferentes maneras, cuyos usos y aplicaciones hasta la fecha han tenido gran impacto en diversas ramas.



**Figura 15.** Clasificación de nanoestructuras en base a sus dimensiones.

Los NTCs pueden sintetizarse en forma multicapa o monocapa cuyos diámetros y longitud pueden ser variados. Por su parte, los NTCs son una forma alotrópica de carbono unidimensional (1D) formada por láminas de grafeno hexagonal enrolladas de forma tubular. Los nanotubos multicapa están conformados por capas concéntricas de alrededor de 0.34 nm de distancia entre cada una de ellas, mientras que los de pared simple o monocapa se encuentran compuestos por una colmena de átomos de carbono unidos mediante interacciones de Van der Waals.<sup>61, 62</sup>



**Figura 16.** Forma de los nanotubos. **A)** General. **B)** Tipo sillón (5, 5) y **C)** zigzag (10, 0).

Estos materiales son clasificados por la forma en la cual la nanopláca es enrollada, cuyas formas se muestran en la **Figura 16**.<sup>63</sup>

**A)** Tipo sillón (armchair). Poseen dos lados de los hexágonos perpendiculares al eje del tubo.

B) Tipo zigzag. Poseen dos lados de los hexágonos paralelos al eje del tubo

C) Tipo quiral. Esta forma incluye situaciones intermedias entre los de tipo de sillón y zigzag.

Los nanotubos poseen excelentes propiedades de conductividad, eléctricas, térmicas y mecánicas, estas últimas son superiores a otros materiales, estimando una resistencia a la tensión de 65 GPa, es decir, 20 veces más que el acero en dirección a la longitud de los NTCs, además de mejorar el módulo elástico (1.3 Tpa).<sup>60, 64</sup>

### 3.5.2. Aplicaciones biomédicas

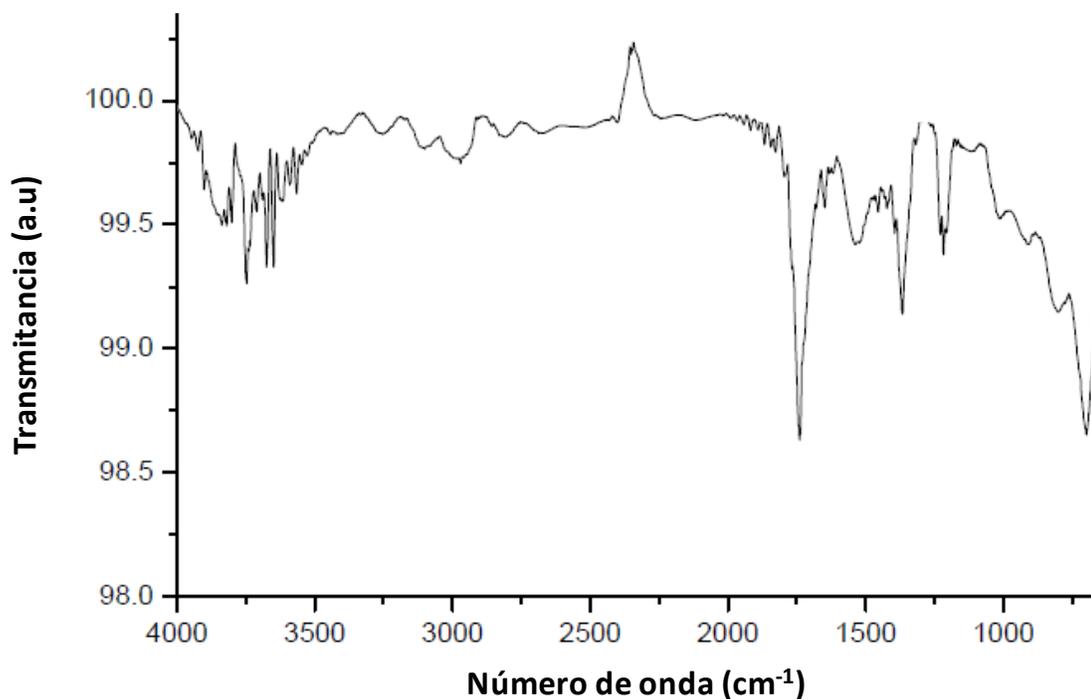
Las aplicaciones de los NTCs son muy variadas a consecuencia de sus propiedades, involucrando múltiples disciplinas, incrementado su interés en el ámbito biomédico, llevando a cabo una modificación estructural que mejore su solubilidad en medios acuosos mediante una funcionalización o incorporación de alguna molécula bioactiva que puede estar adsorbida (no covalente) o ligada directamente (covalentemente) a su superficie.

La presencia de grupos funcionales incrementa su capacidad de internalizarse en diferentes medios biológicos, penetrando células y actuando como nanovectores para el transporte de fármacos. El manera por el cual llevan a cabo esto es aún impreciso, pero se ha considerado la adsorción por endocitosis y un mecanismo no endocítico, este último basado en la inserción y difusión de los NTCs a través de la bicapa lipídica.<sup>58</sup>

Otra aplicación interesante es la capacidad de fungir como biosensores,<sup>65</sup> ya que su tamaño es comparable con otras biomacromoléculas sumado a sus propiedades eléctricas, electrónicas<sup>66, 67</sup> y de sensibilidad con una respuesta rápida.<sup>68</sup>

### 3.5.2.1. Funcionalización de nanotubos

Generalmente la mayoría de los grupos funcionales presentes en el estado prístino son aquellos que contienen oxígeno como el -OH, ya que durante el proceso de síntesis son empleados algunos ácidos. La superficie de estos nanomateriales es alterada químicamente empleando sustancias oxidantes, tales como mezclas de ácidos, equipo de microondas monomodal u ondas ultrasónicas.<sup>69</sup>



**Figura 17.** Espectro FTIR de MWNTCs-anilina.

La química verde propone el uso alternativo de la energía ultrasónica como energía de activación superficial del nanotubo, ya que con ella es posible reducir tiempos de reacción, limitar el uso de reactivos, entre otras mejoras, además ser útil como método de dispersión. Cabello et al.<sup>70</sup> llevaron a cabo con éxito la funcionalización de MWNTCs usando sonoquímica a la par de reactivos oxidantes y mezclas de ácidos, confirmando que es posible

llevar a cabo la funcionalización con nitrógeno<sup>71</sup> y grupos amino como la anilina, cuya caracterización por FTIR demostró la presencia de una banda en  $3500\text{ cm}^{-1}$  correspondiente al enlace N-H y señales en  $1200$  y  $1400\text{ cm}^{-1}$  típicas del enlace C-N (**Figura 17**).

Los resultados obtenidos por el grupo de investigación hacen notable diferencias del material prístino y una vez funcionalizada la superficie, permitiéndole a los NTCs dispersarse adecuadamente en disolventes polares como hexano, cloroformo ( $\text{CHCl}_3$ ) y diclorometano (DCM), además de que por medio de microscopía SEM se observó un recubrimiento sobre el nanotubo correspondiente a la funcionalización con anilina. Otra investigación efectuada por Song et al.<sup>72</sup> se utiliza energía por sonicación para la funcionalización de nanotubos (de pared sencilla y múltiple) con grupos funcionales tiol (-SH), al igual que el grupo de investigación de Minati y colaboradores.<sup>73</sup> Confirmando que este tipo de energía es viable para dicho procedimiento.<sup>74</sup>

### 3.5.3. Los nanotubos y el cáncer

La nanotecnología en la biomedicina ha detonado el desarrollo de diversas técnicas que combinadas con el uso de los nanomateriales adecuados se han podido tratar múltiples padecimientos, entre ellos el cáncer.

Para efectuar su función terapéutica se requiere de tres elementos:<sup>75</sup>

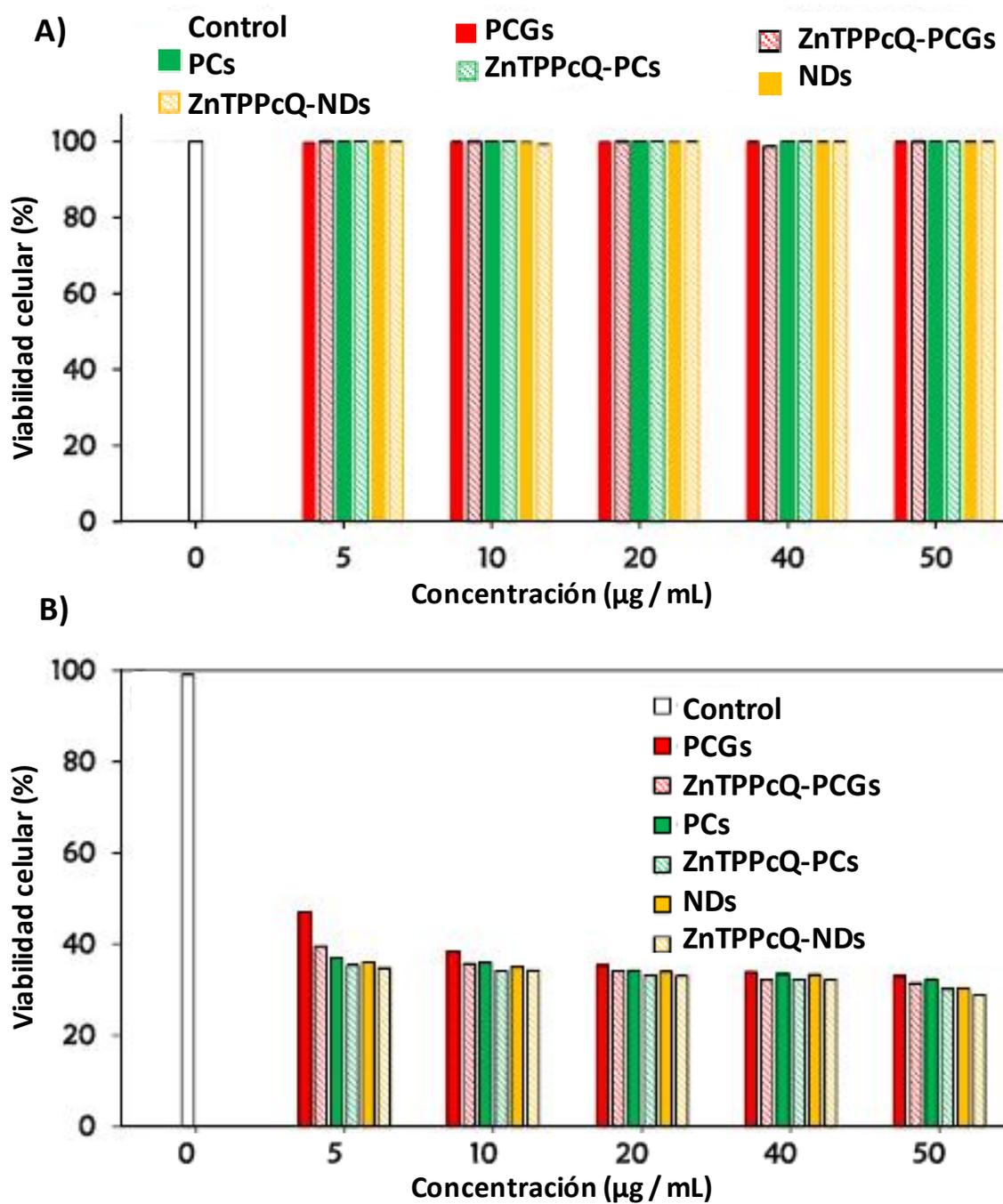
- 1) Un ligando dirigido al padecimiento a tratar.
- 2) Molécula bioactiva o fármaco
- 3) Un material de soporte

Los NTCs son uno de los materiales que comúnmente son empleados en diversas técnicas terapéuticas para el tratamiento de cáncer, debido a su capacidad por atravesar las membranas

celulares, permitiendo entregar selectivamente un medicamento determinado. Sin embargo es importante determinar en que etapa se localiza la enfermedad, ya que esto ha permitido usar dos estrategias distintas: especificidad pasiva y activa. La especificidad pasiva está basando en el efecto de retención y permeabilidad mejorada (EPR) y es aplicado principalmente en tumores sólidos (a excepción de tumores con hipovascularidad) carentes de drenaje linfático, lo cual favorece la acumulación del nanomaterial a usar. Por otro lado, la especificidad activa se basa la funcionalización de la nanoestructuras con ligandos específicos para determinados receptores sobreexpresados dentro del tumor o el tejido vascular.<sup>58, 75, 76</sup>

La TFD ha estado a la vanguardia como un tratamiento novedoso contra el cáncer de piel, sin embargo acoplar la nanotecnología permitiría potencializar el efecto terapéutico de los compuestos fotosensibles.<sup>77, 78</sup> La ZnPc ha resultado con excelentes muy prometedores en dicha técnica, por lo que su uso se ha incrementado por diversos investigadores. Los nanotubos fungen en este caso como antenas que potencializan su efecto, esto ayudaría en gran medida a incrementar incluso hasta 1000 nm zona en la cual estos materiales tienen la capacidad de absorber la luz, de esta manera la energía suministrada sería menor y por ende más eficientes.<sup>79</sup> La forma en la cual los macrociclos de la ZnPc interaccionan con los NTCs<sup>80</sup> puede ser covalente<sup>81, 82, 83</sup> o no covalente.<sup>84</sup>

Recientemente se han utilizado otro tipo de formas alotrópicas de carbono tal como nanodiamantes (NDs),<sup>85, 86, 87</sup> los cuales han manifestado excelentes resultados vía TFD compitiendo con otros materiales a base de carbón, funcionando como nanoacarreadores de los Ps y amplificadores del efecto fotodinámico.<sup>88</sup>



**Figura 18.** Análisis en células. **A)** Ensayos de citotoxicidad oscura y **B)** análisis vía TFD de los nanomateriales PCGs, ZnTPPcQ-PCGs, PCs, ZnTPPcQ-PCs, NDs y ZnTPPcQ-NDs a distintos valores de concentración. El medio de control se preparó con 1% DMSO.

Matshitse et al.<sup>89</sup> han publicado un estudio comparativo en base a su actividad fotodinámica en células MCF-7, comparando NDs contra PCs y grafeno, acoplando la 2,9,16,23,tetrakis[4-(N-metilpiridiloxi)]ftalocianina (ZnTPPcQ) mediante la formación de apilamientos  $\pi$ - $\pi$ . Todos los materiales fueron caracterizados por técnicas espectroscópicas (IR, Raman y UV-vis), microscopía TEM y análisis térmicos. Los ensayos de citocompatibilidad realizados para cada nanomaterial y conjugados tras 24 h manifestaron un alto grado de viabilidad celular a una concentración de 50  $\mu\text{g/mL}$  consiguientemente las pruebas desarrolladas por TFD se efectuaron con un haz de luz de  $13.5 \text{ J/cm}^2$  durante 300 s a distintas concentraciones. El sistema ZnTPPcQ-NDs resultaron tener una mayor respuesta fotodinámica lo cual da indicios de existir una buena respuesta sinérgica por parte de los NDs (**Figura 18**).

### 3.6. El futuro de la medicina contra el cáncer

Existe una variedad de sustancias Ps que son usados en diversos tratamientos terapéuticos secundarios a otras técnicas médicas en el tratamiento del cáncer como radioterapia, quimioterapia o cirugía. Suplir estos tratamientos por TFD representa un reto, requiriendo que el Ps tenga la estructura adecuada que le permita internalizar en el cuerpo y fáciles de excretar. Conjugar Ps con materiales de soporte, vehículos, anticuerpos y demás, a fin de mejorar la especificidad y la capacidad de destrucción tumoral.

Wang et al.<sup>90</sup> lograron obtener NPs autoensambladas de ZnPc con el fin de que puedan ser usadas en tratamientos tumorales mediante TFT y TFD, llevando a cabo la síntesis de la 1,8,15,22-tera-(3-(6-hidroxiil) hexiloxi)ftalocianinazinc, reacción se elaboró con 20 mL de *n*-pentanol y 3-(6-hidroxiil) hexiloxiftalonitrilo (0.8 mmol), 0.05 mmol de acetato de zinc

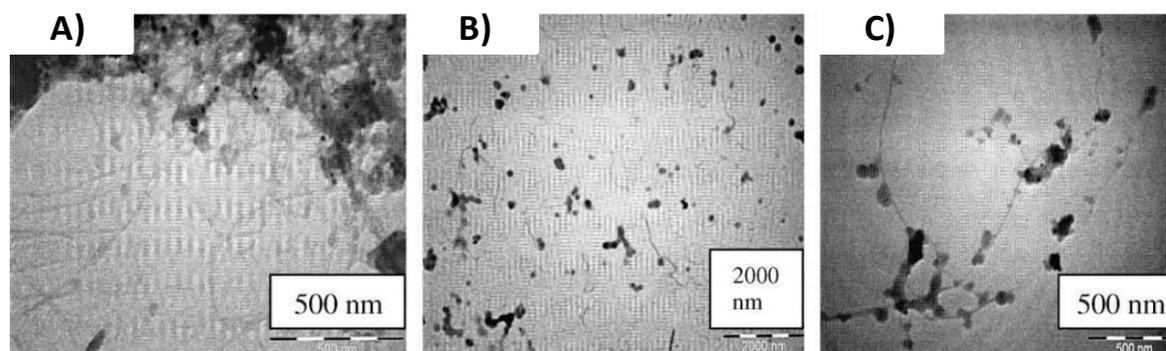
(Zn(OAc)<sub>2</sub>) anhídrido, acetato de etilo (AcEt) y 0.5 mL de 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undeca-7-eno (DBU) en reflujo por 12 h con una atmósfera de N<sub>2</sub>. Para la preparación de las NPs de ZnPc se añadió gota a gota una solución de la Pc previamente sintetizada en DMSO y agua con agitación durante 4 h.

La caracterización se efectuó por microscopía TEM y SEM, denotando diámetros aproximados de 50 nm. Sin embargo, los resultados por dispersión dinámica de luz (DLS) revelaron una distribución de tamaño cercana a los 70 nm. La evaluación por espectroscopia UV/vis para la ZnPc presentó una banda Q intensa, típica de las MPc, de igual forma, los sistemas elaborados manifestaron una banda Soret debido al apilamiento molecular cara a cara entre las nanoestructuras. Por espectroscopia de fluorescencia hubo un cambio significativo en las bandas resultantes del fotosensibilizador puro y de los sistemas nanométricos, en los cuales la intensidad de estos últimos fue aproximadamente de un 10% respecto a la de la ZnPc, lo cual podría ser indicativo de ser potencialmente fotodinámicos.

En el trabajo de Nyokong y Chidawanyika<sup>91</sup> se realizó la caracterización de conjugados compuestos por SWNTCs funcionalizados con grupos amino mediante un enlace covalente químico y otro por adsorción. Los NTCs fueron acoplados con un fotosensibilizador de baja simetría denominado tris[9(10),16(17),23(24)-(4-2-mercaptopiridina)-2-(4-carboxifenoxi]ftalocianinatozinc(II) (ZnPcII), compuesto por ZnPc, tres grupos de mercaptopiridina y un grupo ácido monocarboxílico.

El procedimiento para la funcionalización con grupos amino procedió mezclando 70 g de SWNTCs-p, 93 mg de nitrito de sodio (NaNO<sub>2</sub>), 85 mg de etilendiamina (EDA) y 0.061 mL de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) concentrado, calentando a 60 °C por 1 h. Al finalizar se extrajo el sólido por centrifugación y lavados con N,N-dimetilformamida (DMF).

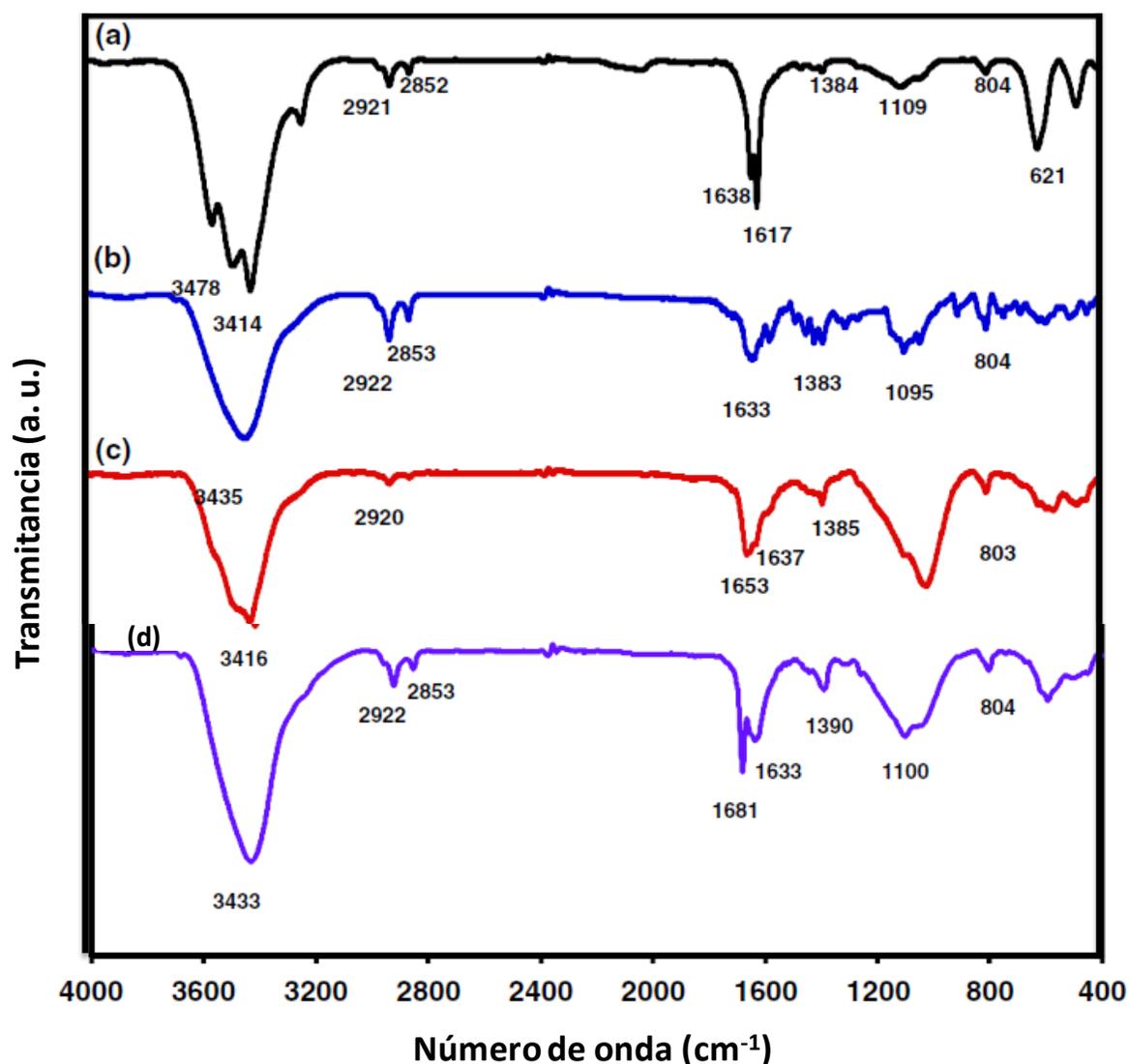
La síntesis de los conjugados SWNTCs-EDA/ZnPcII-ligado se realizó disolviendo 10.40 mg de ZnPcII y 32.85 mg de DCC en 10 mL de DMF a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno ( $N_2$ ) por 24 h, finalmente se obtuvieron mediante lavados con DMF, centrifugación y secado en horno a 70 °C. La formación de los sistemas de SWNTCs-EDA/ZnPcII-adsorbido consistió en sonicar durante 15 min los NTCs funcionalizados (10 mg) en 40 mL de DMF junto con la Pc y agitar durante 17 d. El uso de la diciclohexilcarbodiimida (DCC) permitió que el grupo carboxílico (-COOH) de la ZnPcII se convirtiera en un grupo éster de carbodiimida activo, permitiéndole enlazarse con el grupo amino (-NH<sub>2</sub>) de los nanotubos. El cambio de coloración de la reacción indicaría que el proceso habría terminado, extrayendo el sólido por centrifugación y lavados con DMF, el cual se obtuvo por interacciones de apilamiento  $\pi$ - $\pi$  entre las unidades planas de la Pc y el nanotubo.



**Figura 19.** Análisis por microscopía TEM para **A)** SWNTCs-EDA, **B)** SWNTCs-EDA/ZnPcII adsorbido y **C)** SWNTCs-EDA/ZnPcII-ligado.

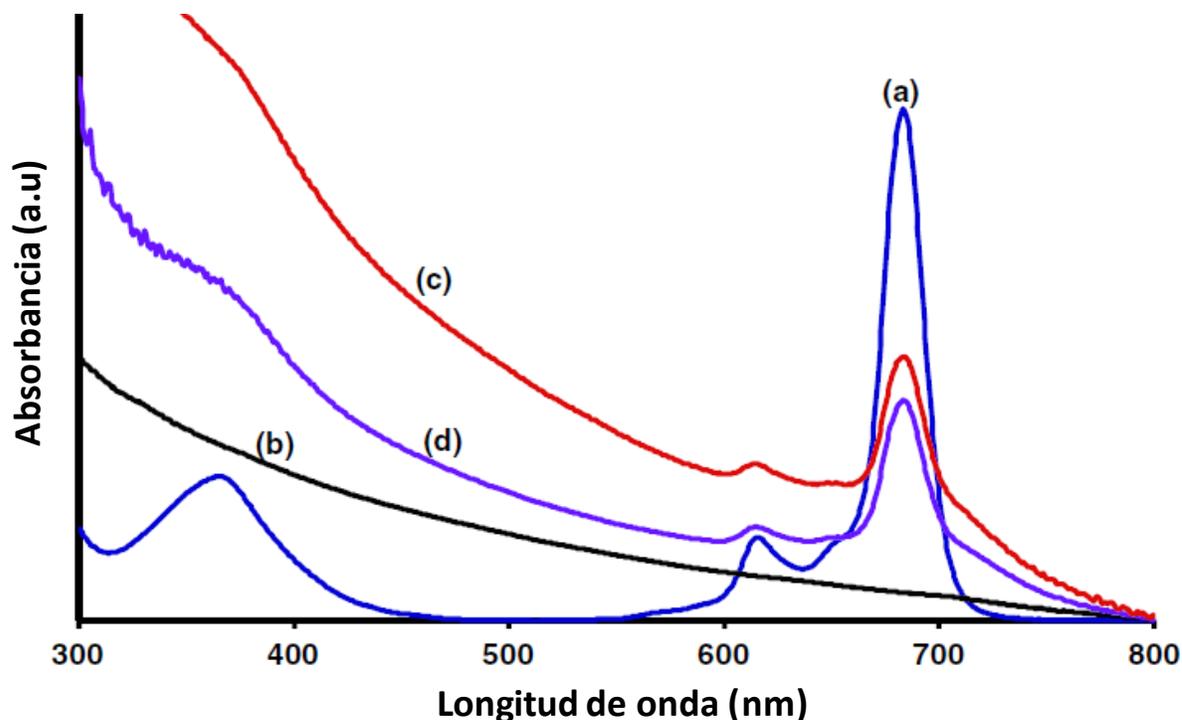
Los resultados de la microscopía electrónica de transmisión (TEM) mostradas en la **Figura 19**, denotaron una diferencia entre los SWNTCs-EDA y el resto de los nanomateriales, ya que los SWNTCs-EDA/ZnPcII-adsorbido mostró agregados y en los SWNTCs-EDA/ZnPcII-ligado se observó una mayor cantidad de ZnPcII. Esto se corroboró comparando

los espectros de IR (**Figura 20**), en donde se vió un desplazamiento en las señales a 1100 y 1016  $\text{cm}^{-1}$  del enlace C-C y de la ZnPcII (1385, 1016 y 803  $\text{cm}^{-1}$ ). Otra diferencia fue la zona entre 1630-1653  $\text{cm}^{-1}$  (señales de enlace N-H y C=O asociado al Pc), ya que en el sistema absorbido se notó la presencia de ambas bandas alrededor de 1637  $\text{cm}^{-1}$  y para el ligado una sola (1653  $\text{cm}^{-1}$ ).



**Figura 20.** Análisis de IR para los sistemas **A)** SWNTCs-EDA, **B)** ZnPcII, **C)** de SWNTCs-EDA/ZnPcII-ligado y **D)** de SWNTCs-EDA/ZnPcII-absorbido.

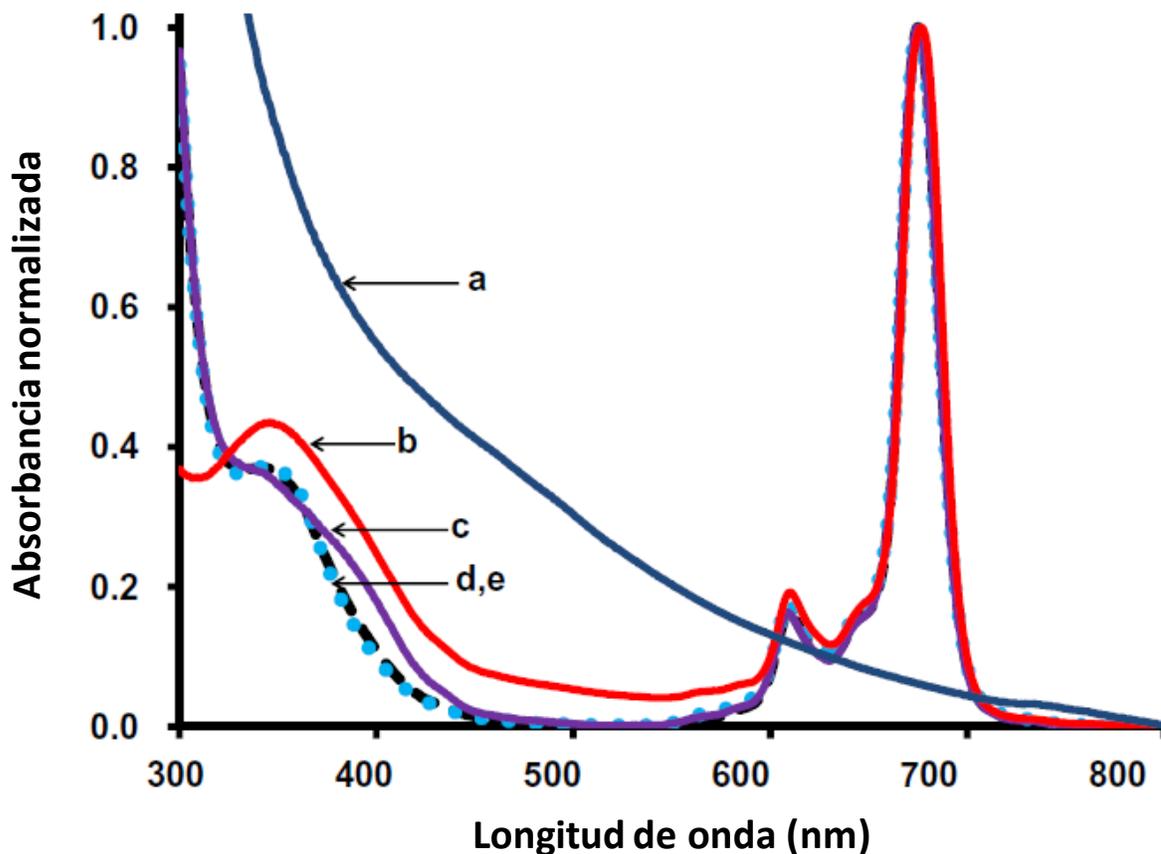
Para corroborar la funcionalización de los SWNTCs-p se empleó espectroscopia IR, por la cual se destacó una señal de estiramiento N-H de mediana intensidad entre  $3414\text{-}3478\text{ cm}^{-1}$ , entre los  $2850\text{-}2922\text{ cm}^{-1}$  correspondientes a los enlaces C-H y un pico típico de una amina primaria ( $\text{NH}_2$ ) entre  $1639\text{-}1617\text{ cm}^{-1}$ . El espectro de IR de la ZnPcII también se observó una banda ancha a  $3435\text{ cm}^{-1}$  típica del enlace O-H del fenolcarboxi presente en la estructura, además de manifestar múltiples picos característicos de los macrociclos a  $1383$ ,  $1095$  y  $804\text{ cm}^{-1}$ .



**Figura 21.** Espectros por espectroscopia UV/vis de (a) ZnPcII, (b) SWNTCs-EDA, (c) SWNTCs-EDA/ZnPcII-ligado y (d) SWNTCs-EDA/ZnPcII-absorbido disueltos  $0.2\text{ mg/mL}$  en DMF.

En tanto la caracterización por espectroscopia UV/vis (**Figura 21**) y fluorescencia se apreciaron bandas alrededor de  $683\text{ nm}$  correspondiente a la banda Q de la ZnPcII, y los

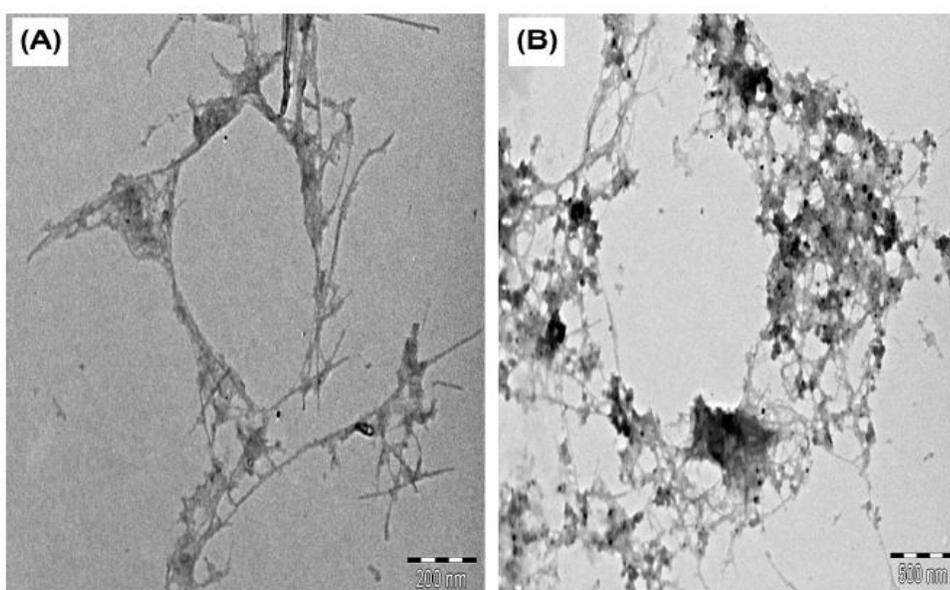
espectros de fluorescencia denotaron una diferencia para entre la ZnPcII y los conjugados, ya que se redujo notablemente, siendo más notorio para el sistema ligado. Se concluyó que no existe desplazamiento alguno de esta señal, por lo que el grupo amina no ejercería un efecto significativo a pesar de donar electrones.



**Figura 22.** Espectros de absorción realizado por UV/vis de los sistemas dispersos en DMSO de los (a) SWNTCs-COOH, (b) ZnMCPc-AA-SWNTCs, (c) ZnMCPc-SWNTCs, (d) ZnMCPc y (e) ZnMCPc-AA.<sup>92</sup>

En otro trabajo similar planteado por Nyokong y Ogbodu<sup>92</sup>, se estudiaron las propiedades fotofísicas de la zincmonocarboxifenoxifitalocianina (ZnMCPc) ligada a una molécula de ácido ascórbico (ZnMCPc-AA) soportada en SWNTCs-COOH. Como parte de la

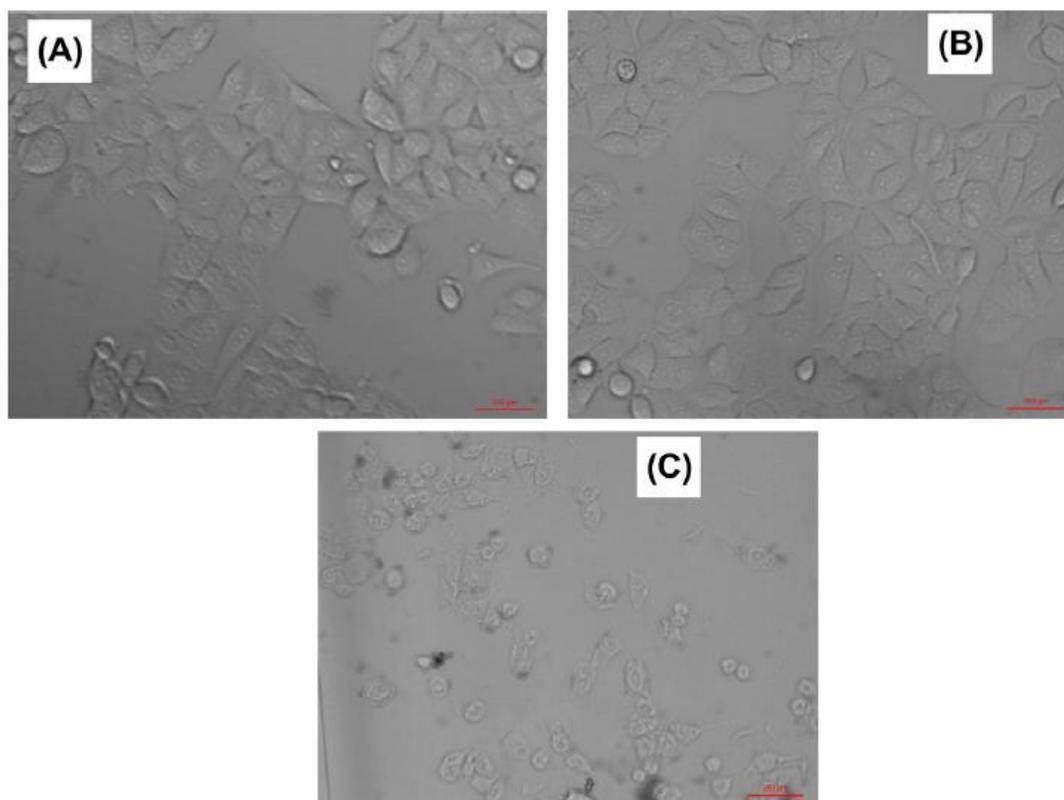
metodología, una cantidad de ZnMCPPc-AA (0.07 mg) fue agitada con 0.02 g de DCC por 24 h en DMF, posteriormente fueron añadidos 5 mg de ácido ascórbico con dimetilaminopiridina (DMAP) por 48 h hasta obtener un precipitado soluble en EtOH. La elaboración de los sistemas ZnMCPPc-AA-SWNTCs, se realizó sonicando SWNTCs-COOH y la ZnMCPPc-AA durante 20 min en DMF durante 5 d hasta obtener un cambio de coloración. Los SWNTCs-AA se obtuvieron empleando DCC como modificador del enlace carboxilo para su anclaje.



**Figura 23.** Análisis de microscopía TEM. **A)** SWNTCs-COOH. **B)** ZnMCPPc-AA-SWNTCs.

Se reportó que la adecuada funcionalización por medio de análisis de espectroscopia UV/vis (**Figura 22**), en donde se destacó una banda Q máxima a 675 nm típica del la Pc y la cual aparece en el resto de los complejos a los cuales se les acopló, como resultado a la diversidad de grupos aceptores o donadores de electrones. Por microscopía TEM (**Figura 23**) se corroboró lo dicho anteriormente, ya que se observó una fuerte interacción entre los SWNTCs-COOH y el Ps, notando la presencia de algunos aglomerados, por otra parte, se estudió el tiempo de vida de la fluorescencia de las especies, es decir, el tiempo promedio

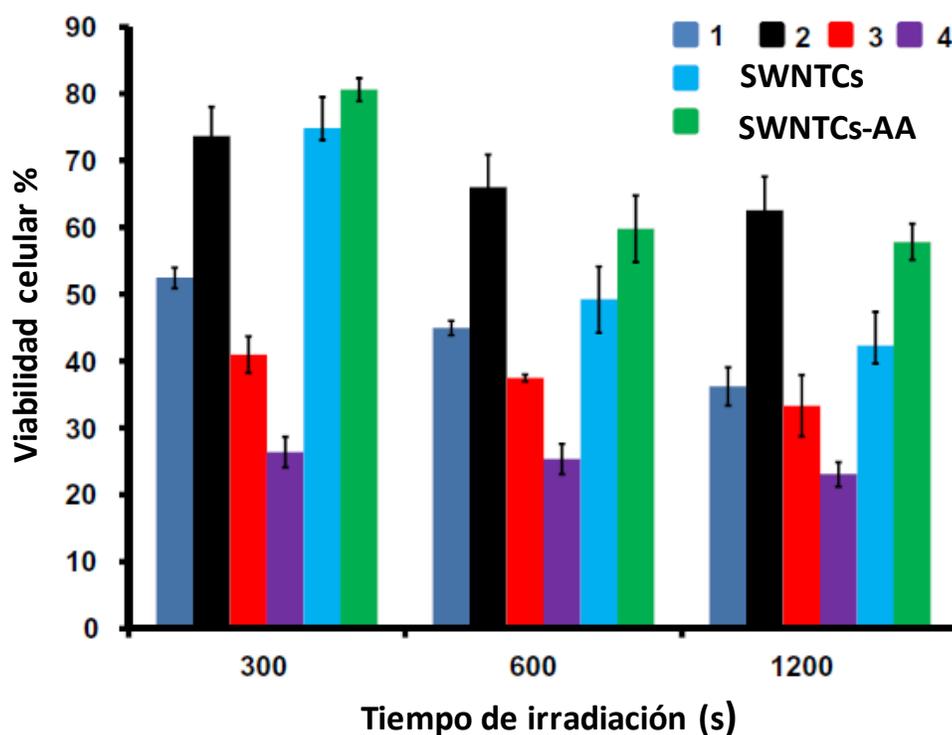
cuando la molécula pasa a un estado excitado antes de emitir fluorescencia, el cual resultó ser el mismo para todos los complejos estudiado. De igual forma, los espectros de excitación de fluorescencia fueron similares en todos los casos, coincidiendo los espectros de absorción (imágenes especulares del espectro de emisión), con lo que se determinó que la molécula que emite es la misma que la que absorbe.



**Figura 24.** Micrografías de células MCF-7. **A)** Células de control. **B)** Células en presencia de ZnMCPc-AA-SWNTCs sin irradiar. **C)** Células expuestas a TFD y cultivadas 24 h.

Los sistemas elaborados de NTCs y los de metalofalocianinas (MPc) fueron fototóxicos para las células, en cuyo método se usó una fotoirradiación por encima de los 600 hasta los 1000 nm, denotando que los nanotubos absorbieron a 950 nm, dando indicios de que estos materiales pueden ser útiles por TFD o terapia fototérmica (TFT). Se analizaron las células MCF-

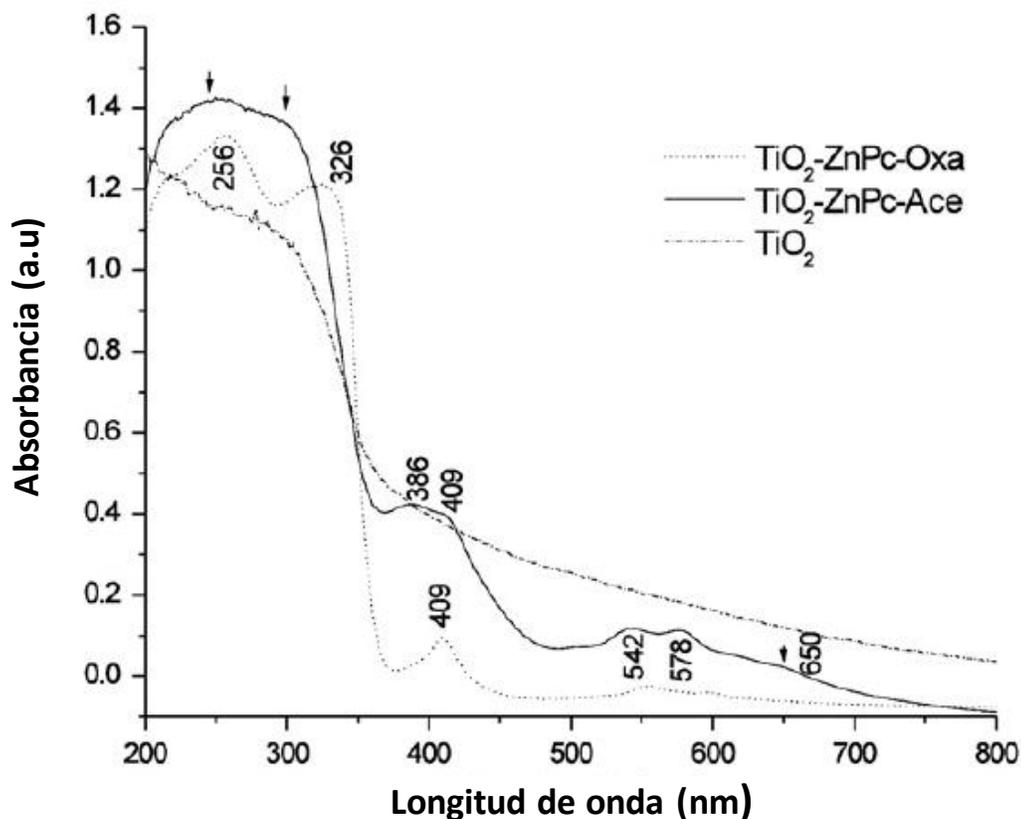
27 24 h después de ser expuestas (**Figura 25**), observando un cambio en la morfología indicando que ha perdido sus capacidad de proliferación, además fue el sistema que mejor rendimiento cuántico y tiempo de vida en estado triplete presentó, porque la presencia de un grupo fenilo mejoró el cruce entre sistemas inducido por la transferencia de carga en spin-órbita (SOCT-ISC).



**Figura 25.** Pruebas de fototoxicidad de los sistemas 1) ZnMCPPc, 2) ZnMCPPc-AA, 3) ZnMCPPc-AA-SWNTCs, 4) ZnMCPPc-SWNTCs, 5) SWNTCs-COOH y 6) SWNTCs-AA.

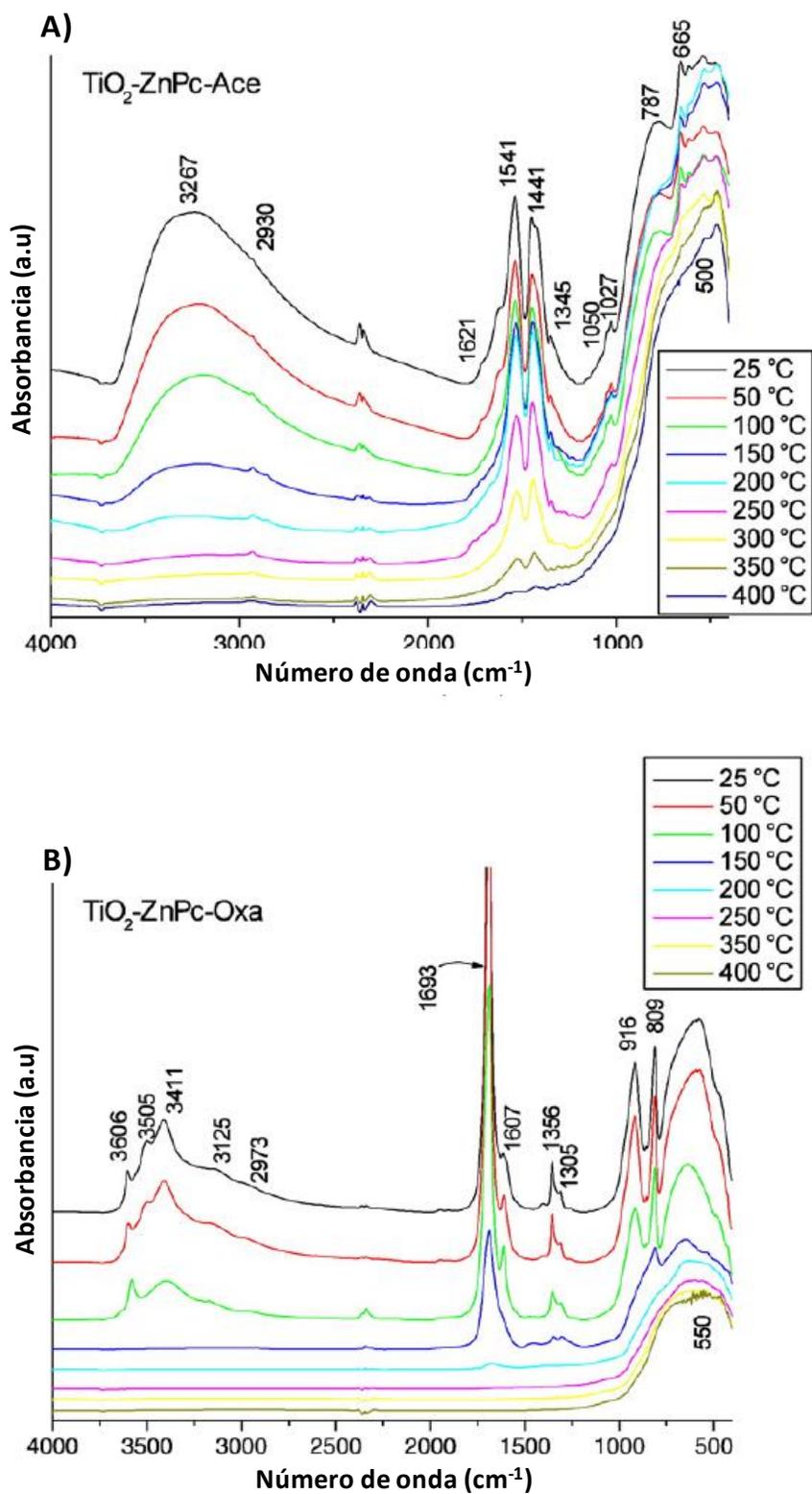
El grupo de investigación de Rivero y colaboradores<sup>93</sup> llevó a cabo estudios de estabilidad de la ZnPc en nanopartículas (NPs) de dióxido de titanio (TiO<sub>2</sub>) sintetizadas a través del método sol-gel, posteriormente estos sistemas de ZnPc-TiO<sub>2</sub> fueron puestos a prueba en cuatro líneas celulares y parásitos *Leishmania*. La síntesis de las NPs consistió en utilizar 50 mL de

ácido acético (ZnPc-TiO<sub>2</sub>-Ace) y ácido oxálico (ZnPc-TiO<sub>2</sub>-Oxa) con agitación, respectivamente, en el cual fueron disueltos 4.2 g de ZnPc junto con 85 mL *n*-butóxido de titanio añadidos gota a gota durante 4 h hasta obtener un gel y dejar secar durante 8 d a 30 °C.



**Figura 26.** Análisis por espectroscopia UV/vis de los nanomateriales obtenidos.

La espectroscopia por UV/vis (**Figura 26**) denotó una transición en 390 nm derivado de la transferencia de carga producida por los TiO<sub>2</sub>, por otra parte el espectro del sistema nanoparticulado fueron notorias dos bandas en 557 y 598 nm originarios de la interacción entre del átomo de zinc y el heterociclo de la ZnPc, una transición electrónica notoria entre 600-750 nm y una señal a 409 nm.



**Figura 27.** Análisis por espectroscopia IR de **A)** TiO<sub>2</sub>-ZnPc-Ace y **B)** TiO<sub>2</sub>-ZnPc-Oxa.

Se evaluó la estabilidad térmica de dichas y se efectuaron análisis por espectroscopia IR (**Figura 27**), donde las muestras se calentaron hasta 400 °C, sin apreciar cambios aparentes en las señales de vibración de los enlaces C-C, C-H y C-N. Se observaron picos característicos de la ZnPc entre los 1000-1800 cm<sup>-1</sup> típicas de las vibraciones de los grupos isoindol (1345 cm<sup>-1</sup> típica del enlace C-N, banda plana C-N en pirrol a 1350 cm<sup>-1</sup> y en una señal de vibración de estiramiento C-N a 1027 cm<sup>-1</sup>) y otras dos bandas a 1541- 1441 cm<sup>-1</sup> se atribuyeron a una vibración de flexión en el plano del enlace C-H.

Por otro lado, las NPs sintetizadas con ácido acético manifestaron una banda ancha de vibración de estiramiento en 3276 cm<sup>-1</sup> del grupo hidroxilo (-OH) de acuerdo a la presencia de humedad y el enlace Ti-OH. La señal de vibración de flexión simétrica del agua adsorbida en 1621 cm<sup>-1</sup> desaparece al ascender a los 200 °C. Los sistemas de ZnPc-TiO<sub>2</sub>-Oxa manifestaron señales distintas, diferenciándose por la señal del grupo carbonilo (C=O) en 1673 cm<sup>-1</sup> proveniente del ácido oxálico.

Los estudios térmicos mostrados en la **Figura 28** se efectuaron usando una rampa de calentamiento velocidad de calentamiento de 10 °C/min (desde 20 a 800 °C) y una atmósfera de flujo de aire. En el análisis termogravimétrico (TGA), se pudieron elucidar las pérdidas de 20 a 100 °C atribuidas al alcohol y agua presente, posteriormente se observó la pérdida de los alcóxidos e hidroxilos denotando un pico entre 144 - 33 °C (desorción) por calorimetría diferencial de barrido (DSC), seguido de la dehidroxilación y descomposición de la materia orgánica a temperaturas superiores a los 200 °C, obteniendo un pico exotérmico en DCS a 382 °C. La masa residual fue de TiO<sub>2</sub>.

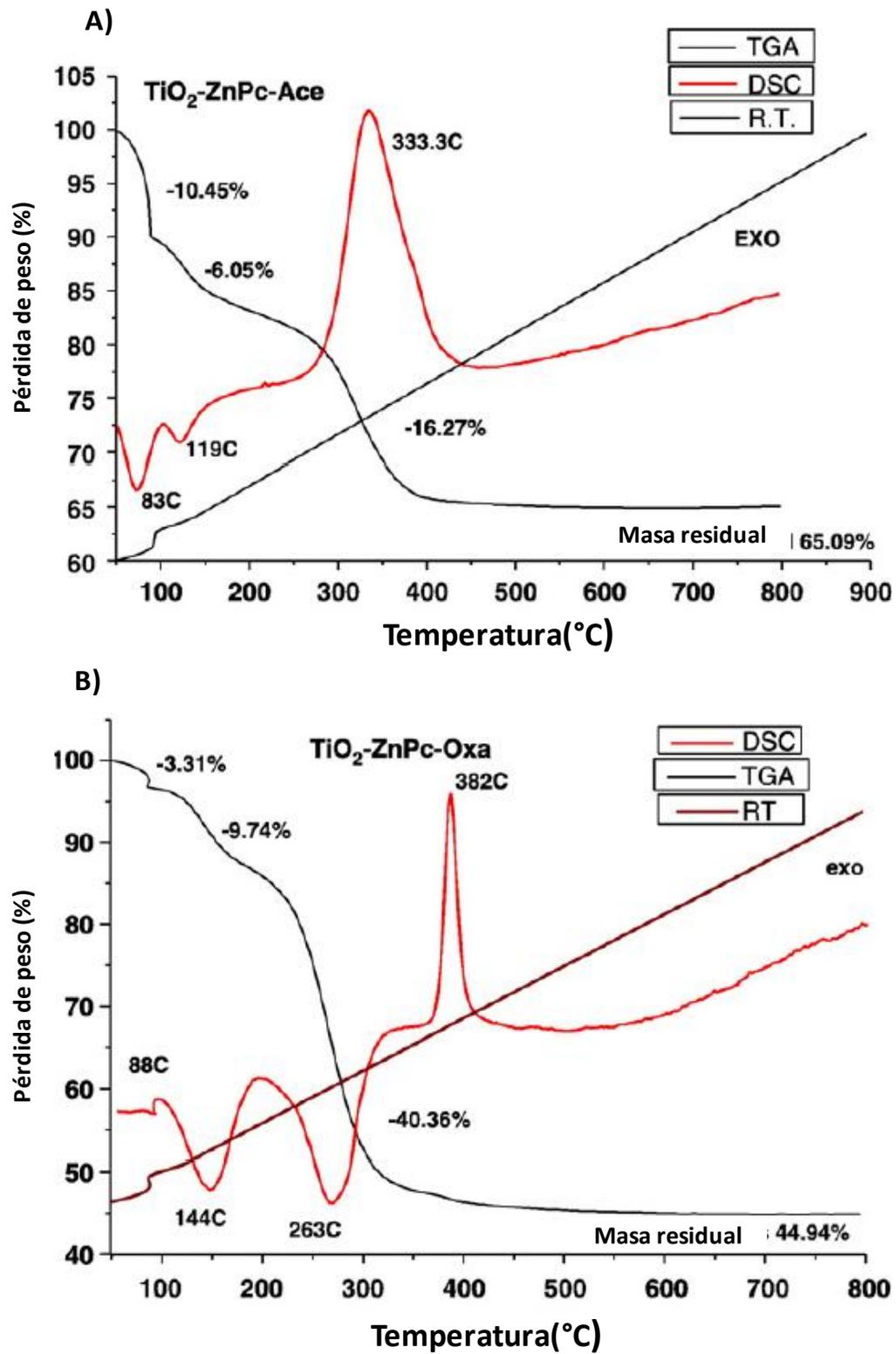
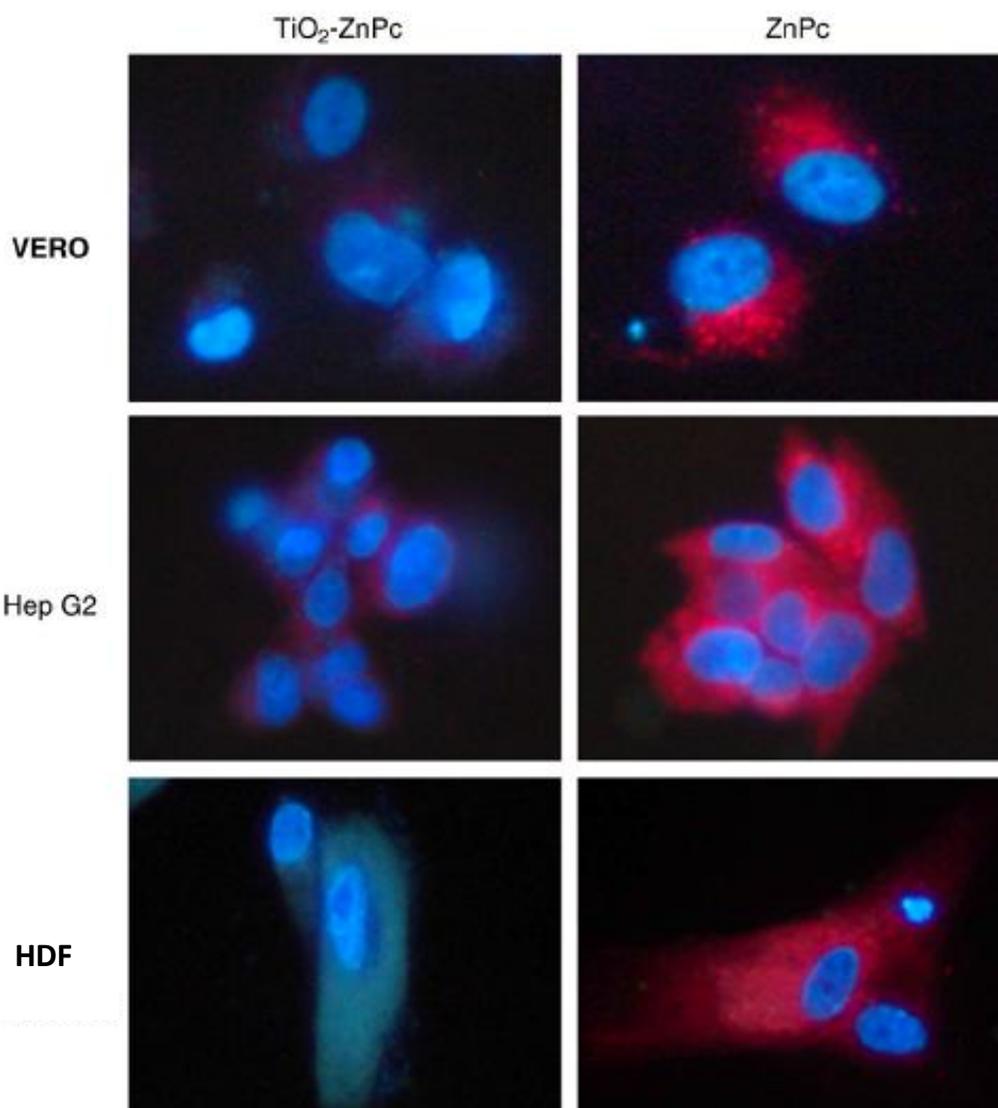


Figura 28. Análisis térmicos de A) TiO<sub>2</sub>-ZnPc-Ace y B) TiO<sub>2</sub>-ZnPc-Oxa.



**Figura 29.** Internalización celular de nanopartículas ZnO<sub>2</sub>-ZnPc y ZnPc a 15  $\mu$ M o 100  $\mu$ g/mL en células Vero, HepG2 y HDFs teñidas con Hoechst 3342 e incubadas 24 h.

En base a los resultados de resistencia térmica de los materiales obtenidos, se evaluó mediante TFD en algunas líneas celulares (Vero, HepG2, THP-1 y HDFs) y parásitos (*Leishmania chagasi* y *Leishmania panamensis*) utilizando una fuente de luz roja del tipo láser no iónico a 670 nm y 2.5 J/cm<sup>2</sup>. Para ambos estudios se incubó por 24 h para la evaluación

fotoactiva de las especies sintetizadas, obteniendo concentraciones óptimas de 15  $\mu\text{M}$  y 100  $\mu\text{g/mL}$  para la ZnPc y ZnPc-TiO<sub>2</sub>, respectivamente. Se observó que los materiales si internalizan en el citoplasma de las células, además se vio una clara diferencia en la fluorescencia, más intensa para el fotosensibilizador; se destacó que en células de fibroblastos humanos (HDFs) no fue posible identificar señal de fluorescencia (**Figura 29**).

Se concluyó que los sistemas obtenidos resultaron ser no fototóxicos para las líneas de parásitos estudiadas pero si fototóxico en las líneas células tumores y no tumorales, aunque en menor proporción que la ZnPc, la cual si fue fotoactiva para ambos. En base a los estudios de citotoxicidad, tanto el Ps y las NPs se situaron el citoplasma mitocondrial.

Lo descrito anteriormente nos lleva a la siguiente hipótesis. La funcionalización de diversos tipos de nanomateriales a base de carbono como los SWNTCs y PCs con diversos grupos funcionales del tipo amina, y su posterior dopaje con ZnPc permitiría obtener sistemas nanoestructurados altamente biocompatibles con propiedades fototérmicas mejoradas para la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) para su uso tentativo en el tratamiento del cáncer vía TFD, las cuales podrían inducir la apoptosis y necrosis del tejido canceroso exitosamente.

## IV. EXPERIMENTAL

### Materiales y equipos:

- Equipo sintetizador de microondas, Mod. Discover, CEM.
- Espectrofotómetro de UV/vis, VARIAN, Cary 50.
- Espectrofluorómetro para multianálisis, CARY-ELIPSE, Varian.
- Espectrofotómetro MIR - NIR Perkin - Elmer Spectrum 400 con accesorios ATR y DRIFT.
- Microscopio Electrónico de Barrido de Emisión de Campo FESEM, JEOL Mod. JSM-7800 Prime acoplado con un sistema de análisis elemental de dispersión de energía de rayos X (EDX).
- Equipo de baño ultrasónico 2.8 L, Fisher Scientific.
- Centrifugadora Eppendorf 5415D.
- Horno con sistema de vacío marca VWR.
- Balanza analítica.
- Cinta de carbono y rejilla de cobre para microscopía FESEM.
- Equipo de análisis termogravimétrico SDT 2960 Simultaneous DSC-TGA TA Instruments acoplado a un detector IR Varian.
- Campana de extracción.
- Bomba de vacío V-100, interface I-100, Buchi
- Espátula y pipetas
- Equipo de filtración al vacío
- Filtro de membrana PTFE, TF-200, 47 mm, 0.2  $\mu\text{m}$ , PALL

- Lector de placas BioRad, Mod. iMark
- Microscopio vertical Olympus CKX53 equipado con una cámara digital EP50
- Tubos de reacción para microondas
- Viales de volumen diverso (20, 10 mL)

**Tabla 4.** Listado de reactivos empleados.

Reactivo	Abreviación
Nanotubos de carbono prístinos de pared sencilla	SWNTCs-p
Etanol	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH, EtOH
Ftalocianinazinc	ZnPc
Metanol	CH <sub>3</sub> OH, MeOH.
Dimetilsulfóxido.	CH <sub>3</sub> SOCH <sub>3</sub> , DMSO.
Etilendiamina	EDA, A1
1,3-propanodiamina.	A2
1,8-octanodiamina	A3
<i>o</i> -fenilendiamina	A4
<i>m</i> -fenilendiamina	A5
<i>p</i> -fenilendiamina	A6
N,N'-bis(3-aminopropil)-1,3-propanodiamina	A7
Nitrito de sodio	NaNO <sub>2</sub>
Bromuro de potasio	KBr

#### 4.1. Caracterización general de los sistemas nanoestructurados

##### 4.1.1. Espectroscopia por ultravioleta visible (UV/vis)

Se usó un espectrofotómetro de UV/vis VARIAN, Cary 50 (**Figura 30**) llevando a cabo las mediciones correspondientes de la ZnPc y de los nanomateriales sólidos obtenidos, de los cuales 1 mg fue disuelto en 5 mL de EtOH y sonicados 24 h previo a su análisis. El líquido sobrenadante fue estudiado para cada muestra durante el proceso de síntesis, a fin de verificar que las bandas correspondientes al fotosensibilizador desaparecieran del medio, indicando su completa adsorción. Estas mediciones se efectuaron tras 7 d y 15 d.



**Figura 30.** Espectrofotómetro de UV/Vis, VARIAN, Cary 50.

##### 4.1.2. Espectroscopia Infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

El análisis se efectuó en espectrofotómetro MIR-NIR Perkin-Elmer Spectrum 400 (**Figura 31**) utilizando una pequeña cantidad del compuesto de interés y haciendo incidir un haz de luz sobre la muestra, de tal manera que la frecuencia de excitación de enlace a enlace en la molécula coincida con una de las frecuencias incluidas en las ondas componentes del

rayo, produciendo una absorción de energía que es registrada y trazada en un gráfico o espectro.

Para analizar los compuestos manométricos elaborados, los NTCs se molieron junto con una cantidad pequeña de una sal de bromuro de potasio (KBr) con ayuda de un mortero hasta obtener un polvo fino.



**Figura 31.** Espectrofotómetro MIR-NIR Perkin-Elmer Spectrum 400.

#### 4.1.3. Microscopía Electrónica de Barrido de Emisión de Campo (FESEM)

Fueron caracterizados algunos de los nanomateriales a través de microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (FESEM), cuya técnica permite visualizar objetos con gran resolución espacial. Esto es posible por la fuente de energía usada, la cual es un cañón de emisión de campo compuesto por un filamento (el cual puede ser de tungsteno) que suministra un haz de electrones focalizado que interacciona con el objeto de estudio produciendo electrones (secundarios o retrodispersados) que son estudiados por distintos detectores localizados en la columna del equipo (**Figura 32**).

Algunos de los sistemas nanométricos obtenidos fueron estudiados mediante FESEM usando cinta de carbono. Algunos de los nanotubos fueron montados en rejillas de cobre, los

cuales fueron disueltos en EtOH colocando una gota de la solución hecha (**Figura 33**). Se destaca también el uso de la técnica EDS, cuyo análisis químico fue posible a consecuencia de los rayos x dispersados.



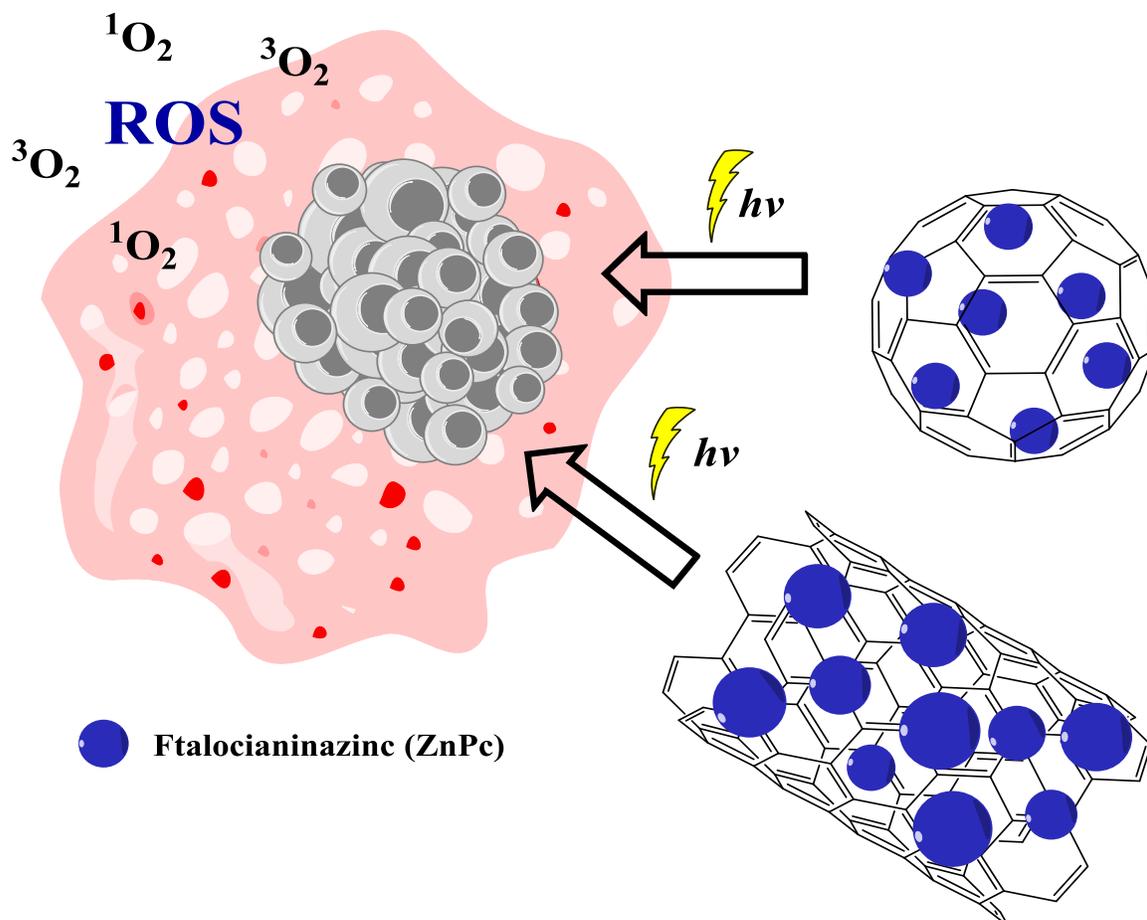
**Figura 32.** Microscopio Electrónico de Barrido de Emisión de Campo FESEM, JEOL Mod. JSM-7800 Prime acoplado con un sistema de análisis elemental por dispersión de energía de rayos X (EDS).



**Figura 33.** Nanocompuestos montados sobre rejillas de cobre para su análisis por FESEM.

#### 4.2. Funcionalización de los nanomateriales

Para llevar a cabo este proyecto, se llevó a cabo la funcionalización de los SWNTCs-p con EDA (**Esquema 2**), los cuales se espera que sean potencialmente útiles para su uso como tratamiento del cáncer de piel vía TFD una vez acoplados con la ZnPc (**Figura 34**).

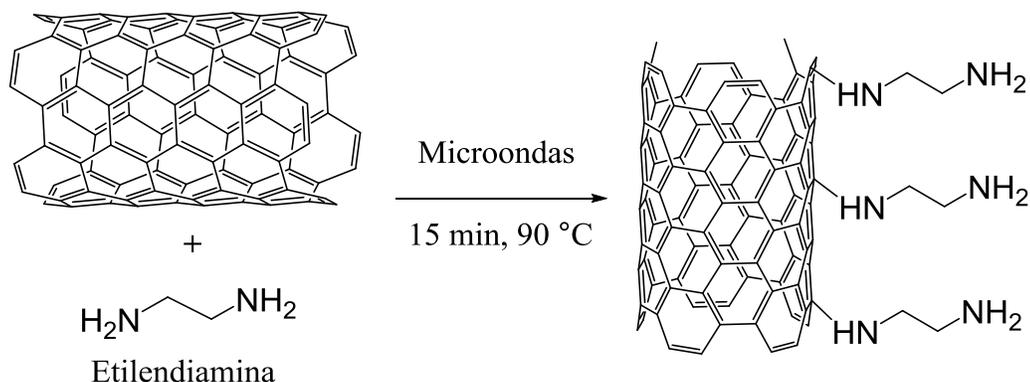


**Figura 34.** Proyecto general completo basado en los SWNTCs y PCs acoplados con ZnPc para su uso vía TFD.

El procedimiento experimental para la funcionalización se efectuó usando como precursor la diamina EDA, las cuales fueron adquiridas de SigmaAldrich. Como parte de la metodología

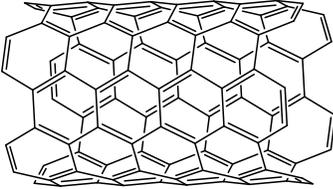
se pesaron 10 mg de SWNTCs-p y se mezclaron con 25 mg de  $\text{NaNO}_2$ , posteriormente fue añadida la diamina correspondiente, siendo 2.50 mL.

La mezcla de reacción se trasladó a un tubo de microondas y se desgasificó por 15 min a temperatura ambiente. La reacción se prosiguió empleando un sintetizador de microondas Mod. Discover, CEM (**Figura 35**) bajo las condiciones de 200 W de potencia y  $90^\circ\text{C}$  durante 15 min, y una vez realizado el proceso anterior, se dejó enfriar a temperatura ambiente. El sólido se extrajo en un equipo de filtración al vacío, realizando lavados a la mezcla de reacción con MeOH, utilizando una membrana GN MetriceL marca PALL, con el fin de eliminar parte de los reactivos que no reaccionaron, hasta obtener un filtrado incoloro. Los nanotubos SWNTCs-A1 obtenidos se montaron en un vial recubierto de papel aluminio y se introdujeron en un horno con sistema de vacío marca VWR a  $50^\circ\text{C}$  por 48 h.

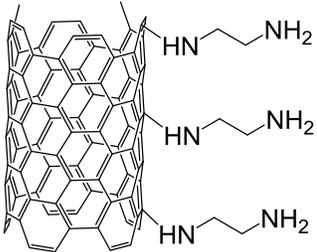


**Esquema 2.** Representación esquemática de la obtención de los SWNTCs-A1.

**Tabla 5.** Caracterización de los SWNTCs-p.

<b>SWNTCs-p</b>	
<b>IR-VIS (KBr)</b>	$\nu = 2343$ (C-C sobretono), $2148$ (C-C sobretono), $2020$ (C-C sobretono), $1668$ (C=C vibración), $1543$ (C=C vibración) $\text{cm}^{-1}$ .
<b>UV vis (EtOH) <math>\lambda_{\text{max}}</math>/nm</b>	Sin bandas.
	<p>Sólido negro</p> <p><u>Diametro:</u> 1.3 – 2.3 mm</p>

**Tabla 6.** Caracterización de los SWNTCs-A1

<b>SWNTCs-A1</b>	
<b>IR-VIS (KBr)</b>	$\nu = 3738$ (N-H estiramiento), $3653$ (N-H estiramiento), $2959$ (C-H estiramiento), $1691$ (N-H tensión), $1040$ (C-N estiramiento), $750$ (N-H tensión), $528$ (C-C flexión) $\text{cm}^{-1}$ .
<b>UV vis (EtOH) <math>\lambda_{\text{max}}</math>/nm</b>	Sin bandas
	

### 4.3. Purificación de los nanomateriales

La purificación se realizó en un equipo centrifugador Eppendorf 5415D (**Figura 36B**), bajo distintas condiciones, dependiendo de cada nanomaterial. El procedimiento se efectuó disolviendo los materiales en EtOH o MeOH, y se centrifugó en repetidas ocasiones hasta que el solvente resultó sin coloración alguna para el caso de los nanotubos acoplados con ZnPc, ya que aquellos en estado prístino y los NTCs funcionalizados con EDA se tomó la decisión de centrifugar en 10 ocasiones. Los materiales acoplados con el Ps una vez purificados se secaron a temperatura ambiente y el resto se dejaron secar en un horno a una temperatura de 50 °C (**Tabla 7**).

**Tabla 7.** Condiciones de purificación por centrifugación de los nanomateriales.

Material	Solvente	rpm	Tiempo (min)
SWNTCs-p	EtOH	11,200	2
SWNTCs-A1	MeOH	10,200	2
SWNTCs-A1/ZnPc(1)	EtOH	10,200	2
SWNTCs-A1/ZnPc(2)	EtOH	10,200	2
SWNTCs-A1/ZnPc(3)	EtOH	10,200	2
SWNTCs-A1/ZnPc(4)	EtOH	10,200	2
SWNTCs-A1/ZnPc(5)	EtOH	10,200	2
SWNTCs-A1/ZnPc(6)	EtOH	10,200	2
SWNTCs-A1/ZnPc(7)	EtOH	10,200	2

#### 4.4. Acoplamiento con la ZnPc

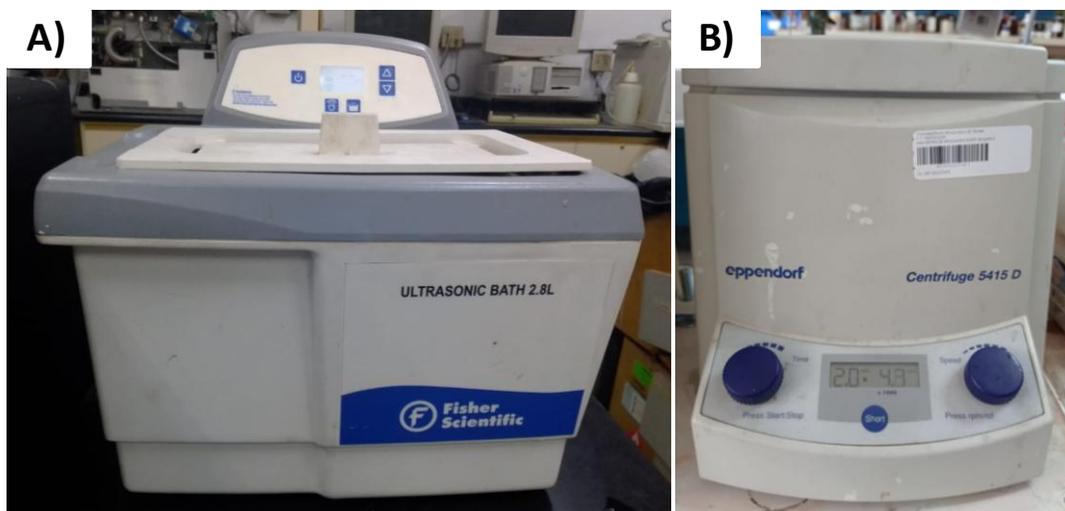
La elaboración de los sistemas nanoestructurados acoplados con ZnPc se efectuó empleando 5 y 10 mg de ZnPc, respectivamente, con 10 mg del nanomaterial, tanto con los SWNTCs-p y los SWNTCs-A1. Posteriormente se añadieron 5 mL de EtOH y se utilizó la técnica asistida por microondas, usando temperaturas de 30 y 40 °C, y tiempos de 3 min y 4 min de forma pausada cada 30 s. La mezcla obtenida se sometió a un baño ultrasónico en un equipo Fisher Scientific de 2.8 L (**Figura 36A**) durante 7 y 15 d, respectivamente. Transcurrido el tiempo requerido, se extrajo el sólido a través de un centrifugadora Eppendorf 5415D a 10,200 revoluciones por minuto (rpm) durante 2 min. Los SWNTCs/ZnPc fueron disueltos con una pequeña cantidad de EtOH y se dejaron secar a temperatura ambiente.

**Tabla 8.** Condiciones de reacción del acoplamiento con ZnPc.

Sistemas nanoestructurados con ZnPc					
Nanomaterial	ZnPc (mg)	T (°C)	Tiempo en microondas	Tiempo sonicando	Abreviación
SWNTCs-A1	10	30	3 min c/30 s	7 d	SWNTCs-A1/ZnPc(1)
SWNTCs-A1	10	40	3 min c/30 s	7 d	SWNTCs-A1/ZnPc(2)
SWNTCs-A1	5	30	3 min c/30 s	7 d	SWNTCs-A1/ZnPc(3)
SWNTCs-A1	5	40	3 min c/30 s	7 d	SWNTCs-A1/ZnPc(4)
SWNTCs-A1	5	40	3 min c/30 s	15 d	SWNTCs-A1/ZnPc(5)
SWNTCs-A1	5	40	4 min c/30 s	3 d	SWNTCs-A1/ZnPc(6)
SWNTCs-p	5	40	3 min c/30 s	7 d	SWNTCs-p/ZnPc(1)

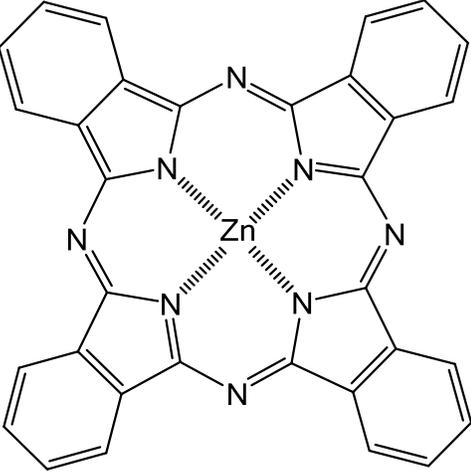


**Figura 35.** Equipo sintetizador de microondas, Mod. Discover, CEM.



**Figura 36.** Equipos usados para la obtención de los sistemas nanométricos. **A)** Equipo de baño ultrasónico 2.8 L, Fisher Scientific. **B)** Centrifugadora Eppendorf 5415D.

**Tabla 9.** Caracterización de la ZnPc.

<b>ZnPc</b>	
<b>IR-VIS (KBr)</b>	$\nu = 1597$ (C=C estiramiento), $1487$ (C-H flexión) , $1407$ (C=C-H flexión) , $1327$ (C-N estiramiento), $1283$ (C-N estiramiento), $1164$ (C-N flexión), $1114$ (C-N flexión), $1058$ (C-N estiramiento), $883$ (C-C flexión) $\text{cm}^{-1}$
<b>UV vis (EtOH)</b> $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$	349, 378, 608, 641, 667, 763.
<div style="display: flex; align-items: center; justify-content: space-between;"> <div style="text-align: center;">  </div> <div style="text-align: right;"> <p>Polvo fino de coloración azul</p> <p><u>Formula molecular:</u> <math>\text{C}_{32}\text{H}_{16}\text{N}_8\text{Zn}</math></p> <p><u>Peso molecular:</u> 577.91 g/mol</p> </div> </div>	

**Tabla 10.** Caracterización de los SWNTCs-A1/ZnPc(1).

<b>SWNTCs-A1/ZnPc(1)</b>	
<b>IR-VIS (KBr)</b>	$\nu = 3448$ (N-H estiramiento), $2272$ (C-C sobretono), $2183$ (C-C sobretono), $2030$ (C-C sobretono), $1642$ (C-C sobretono), $1642$ (N-H tensión), $1054$ (N-H torsión) $\text{cm}^{-1}$ .
<b>UV vis (EtOH) <math>\lambda_{\text{max}}/\text{nm}</math></b>	346, 634, 669, 703.

**Tabla 11.** Resultados del análisis elemental para el sistema SWNTCs-A1/ZnPc(1).

Elemento <sup>a</sup>	Masa (%)	Atom. (%)	Error abs./1 sigma (%)	Error rel./1 sigma (%)
Carbono <sup>6</sup>	79.92	82.67	8.76	10.97
Nitrógeno <sup>7</sup>	9.38	8.32	1.41	15.01
Oxígeno <sup>8</sup>	6.58	5.11	0.96	14.61
Boro <sup>5</sup>	2.90	3.33	0.58	19.92
Sodio <sup>11</sup>	0.78	0.42	0.08	9.73
Aluminio <sup>13</sup>	0.24	0.11	0.05	21.15
Zinc <sup>30</sup>	0.21	0.04	0.05	21.58
Hierro <sup>26</sup>	0	0	0	10.00

<sup>a</sup> Número atómico.**Tabla 12.** Caracterización de los SWNTCs-A1/ZnPc(2).

SWNTCs-A1/ZnPc(2)	
<b>IR-VIS (KBr)</b>	$\nu = 3676$ (N-H estiramiento), 2945 (C-H estiramiento), 2348 (C-C sobretono), 2170 (C-C sobretono), 2010 (C=C estiramiento), 1655 (N-H tensión), 1515 (C-N estiramiento), 1063 (N-H torsión) $\text{cm}^{-1}$ .
<b>UV vis (EtOH) <math>\lambda_{\text{max}}</math>/nm</b>	360, 639, 672, 701.

**Tabla 13.** Resultados del análisis elemental para el sistema SWNTCs-A1/ZnPc(2).

Elemento <sup>a</sup>	Masa (%)	Atom. (%)	Error abs./1 sigma (%)	Error rel./1 sigma (%)
Carbono <sup>6</sup>	56.98	77.56	6.29	11.04
Escandio <sup>21</sup>	25.26	9.19	3.47	13.74
Hierro <sup>26</sup>	4.60	1.35	0.74	16.02
Oxígeno <sup>8</sup>	4.45	4.55	0.67	15.13
Boro <sup>5</sup>	4.12	6.22	0.72	17.39
Neodimio <sup>60</sup>	3.44	0.39	0.72	20.84
Sodio <sup>11</sup>	0.99	0.70	0.09	8.83
Zinc <sup>30</sup>	0.17	0.04	0.04	25.02
Nitrógeno <sup>7</sup>	0	0	0	10.00

<sup>a</sup> Número atómico.

**Tabla 14.** Caracterización de los SWNTCs-A1/ZnPc(3).

SWNTCs-A1/ZnPc(3)	
<b>IR-VIS (KBr)</b>	$\nu = 3600$ (N-H estiramiento), 2919 (C-H estiramiento), 2513 (C-C sobretono), 2341 (C-C sobretono), 2182 (C-C sobretono), 1979 (C=C estiramiento), 1648 (N-H tensión), 1547 (C-N estiramiento), 1108 (N-H torsión), 803 (C-C flexión) $\text{cm}^{-1}$ .
<b>UV vis (EtOH) <math>\lambda_{\text{max}}</math>/nm</b>	329, 353, 634, 671, 703.

**Tabla 15.** Caracterización de los SWNTCs-A1/ZnPc(4).

<b>SWNTCs-A1/ZnPc(4)</b>	
<b>IR-VIS (KBr)</b>	$\nu = 3155$ (N-H estiramiento), 2157 (C-C sobretono), 2038 (C-C sobretono), 1979 (C=C estiramiento), 1668 (N-H tensión), 1490 (C-N estiramiento), 1055 (N-H torsión), 895 (C-C flexión) $\text{cm}^{-1}$ .
<b>UV vis (EtOH) <math>\lambda_{\text{max}}</math>/nm</b>	312, 558, 672, 710.

**Tabla 16.** Caracterización de los SWNTCs-A1/ZnPc(5).

<b>SWNTCs-A1/ZnPc(5)</b>	
<b>IR-VIS (KBr)</b>	$\nu = 3525$ (N-H estiramiento), 3409 (N-H estiramiento), 2882 (C-H estiramiento), 2612 (C-C sobretono), 2522 (C-C sobretono), 2239 (C-C sobretono), 2014 (C-C sobretono), 1641 (N-H tensión), 1454 (C-N estiramiento), 1132 (N-H torsión), 875 (C-C flexión) $\text{cm}^{-1}$ .
<b>UV vis (EtOH) <math>\lambda_{\text{max}}</math>/nm</b>	349, 364, 507, 669, 702.

**Tabla 17.** Caracterización de los SWNTCs-A1/ZnPc(5).

<b>SWNTCs-A1/ZnPc(6)</b>	
<b>IR-VIS (KBr)</b>	$\nu = 3010$ (N-H estiramiento), 2166 (C-C sobretono), 2047 (C-C sobretono), 1997 (C=C estiramiento), 1712 (N-H tensión), 1327 (C-N estiramiento), 1090 (N-H torsión), 898

	(C-C flexión) $\text{cm}^{-1}$
<b>UV vis (EtOH) <math>\lambda_{\text{max}}/\text{nm}</math></b>	347, 414, 535, 600, 672, 697, 748.

**Tabla 18.** Caracterización de los SWNTCs-p/ZnPc(1).

<b>SWNTCs-p/ZnPc(1)</b>	
<b>IR-VIS (KBr)</b>	$\nu = 3434$ (O-H estiramiento), $2974$ (C-H estiramiento), $2332$ (C-C sobretono), $2180$ (C-C sobretono), $1982$ (C=C estiramiento), $1641$ (C=C vibración), $1055$ (C-N estiramiento), $895$ (C-C flexión) $\text{cm}^{-1}$
<b>UV vis (EtOH) <math>\lambda_{\text{max}}/\text{nm}</math></b>	321, 359, 642, 671, 700.

#### 4.1. Estudios de viabilidad celular

Se realizaron estudios de viabilidad celular en células de cáncer de mama MDA-MB-231 empleando los sistemas de SWNTCs-p, SWNTCs-A1, SWNTCs-A1/ZnPc(5) y la ZnPc, usando cuatro concentraciones distintas de 100, 10, 1 y 0.1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  y una sola concentración para la ZnPc. Las células fueron sembradas en una placa estéril de 96 pocillos, a una densidad de 15,000 células/pocillo en 100  $\mu\text{L}$  de medio y se incubaron durante 24 h en condiciones de cultivo (se describen a continuación).

Posteriormente, se añadieron las muestras objetod de estudio dispersadas en una solución Buffer Fosfato Salino (por sus siglas en inglés, PBS) a las concentraciones deseadas (100  $\mu\text{L}$ ), añadiendo PBS libre de muestras a los pocillos de células control (100  $\mu\text{L}$ ). A las 48 h en condiciones de cultivo, se procedió con la fijación de las células a la placa con 10  $\mu\text{L}$  de una

solución de glutaraldehído al 11%, bajo agitación durante 15 min a temperatura ambiente. Una vez fijadas, se retiró el medio de las células y estas fueron lavadas 2 veces con agua.

A continuación, se procedió con la tinción de las células empleando 100  $\mu\text{L}$  de una solución de cristal violeta al 0.1%. Esta solución se preparó diluyendo 0.1 g de cristal violeta en 100 mL de tampón compuesto por: ácido fosfórico ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) 200 mM, ácido fórmico ( $\text{CH}_2\text{O}_2$ ) 200 mM y ácido 2-(N-morfolino)-etanosulfónico (MES) 200 mM a pH=6. La placa se mantuvo bajo agitación a temperatura ambiente durante 15 min. Se retiró el colorante, se lavó 2 veces con agua y se procedió a su secado.

Posteriormente, se añadieron 100  $\mu\text{L}$  de ácido acético al 10% y se mantuvo bajo agitación durante 15 min a temperatura ambiente, para que la coloración fuese homogénea en todos los pocillos. Finalmente, se realizó una lectura de absorbancia de las placas a una longitud de onda de 595 nm (lector de placas BioRad, modelo iMark).

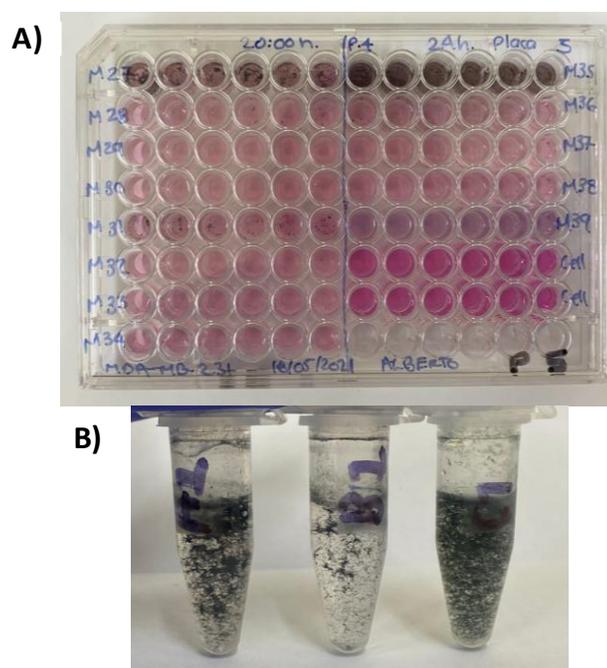
Todos los experimentos se realizaron por sextuplicado para cada muestra a cada concentración (seis pocillos por película). La citocompatibilidad se determinó como el porcentaje de viabilidad celular, empleando la siguiente fórmula:

$$\text{Citocompatibilidad (\%)} = 100 \left[ \frac{\text{Abs células expuestas}_{(595 \text{ nm})}}{\text{Abs células control}_{(595 \text{ nm})}} \right] \quad (1)$$

Adicionalmente, se tomaron micrografías de células teñidas y sin teñir empleando un microscopio vertical Olympus CKX53 equipado con una cámara digital EP50. Fue necesario purificar los sistemas estudiados adecuadamente, a fin de eliminar impurezas o trazas de reactivos que reaccionaron. Previo a su dispersión en PBS a las concentraciones deseadas, los sistemas fueron predispersados en etanol empleando sonicación.

#### 4.1.1. Condiciones de cultivo celular

Las células fueron cultivadas con medio de cultivo DMEM rico en glucosa con rojo fenol, suplementado con 10% de suero bovino fetal (por sus siglas en inglés, FBS), 1% pen-strep, 1% aminoácidos no esenciales (NEAA) y 1% piruvato de sodio ( $C_3H_3NaO_3$ ), en atmósfera húmeda de 5% de  $CO_2$ , a una temperatura de 37 °C. Los materiales fueron adquiridos de las casas comerciales Sigma-Aldrich (DMEM, pen-strep, NEAA y piruvato de sodio) y Biotecfron (FBS). Se empleó agua Milli-Q estéril en todos los experimentos (**Figura 37**).



**Figura 37.** Ensayo de citocompatibilidad. **A)** Placa de cultivo de células de cáncer de mama MDA-MB-231. **B)** Soluciones de 100 µg/mL de cada sistema.

#### 4.1.2. Análisis estadístico

Se llevaron a cabo análisis estadísticos de los resultados, empleando el método de análisis de la varianza (ANOVA) de una vía y los métodos post-hoc de Tukey y Bonferroni. Se consideró diferencia estadísticamente significativa a un valor de  $p < 0.05$ .

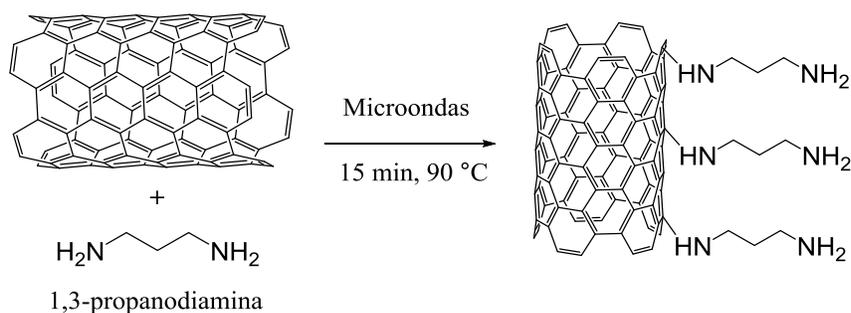
## 4.2. Trabajo a futuro

Se pretende elaborar en un futuro una amplia biblioteca de nanomateriales acoplados a la ZnPc a base de SWNTCs funcionalizados con grupos utilizando siete diferentes tipos de diaminas con longitud de cadena variada (SWNTCs/Ax), incluyendo la EDA (**Tabla 19**). De igual manera se contempla llevar a cabo la síntesis de PCs a fin de realizar un comparativo amplio sobre cual nanomaterial a base de carbono es más efectivo para tratar masas tumorales.

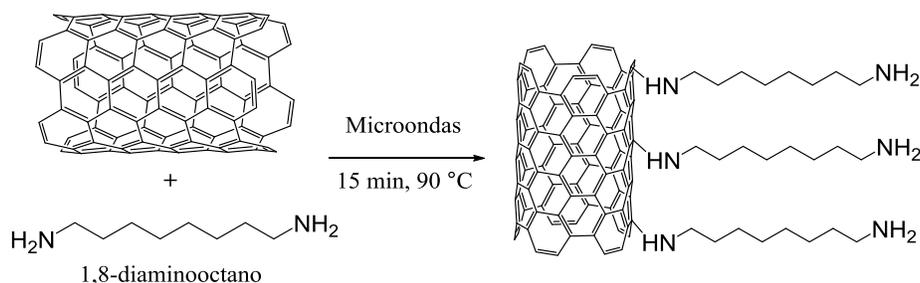
**Tabla 19.** Listado de nanomateriales funcionalizados con grupos amino

<b>Nanotubos funcionalizados con grupos amino</b>	
<b>SWNTCs-A1</b>	Nanotubos de carbono de pared sencilla funcionalizados con etilendiamina
<b>SWNTCs-A2</b>	Nanotubos de carbono de pared sencilla prístinos funcionalizados con 1,3-propanodiamina
<b>SWNTCs-A3</b>	Nanotubos de carbono de pared sencilla prístinos funcionalizados con 1,8-octanodiamina
<b>SWNTCs-A4</b>	Nanotubos de carbono de pared sencilla prístinos funcionalizados con <i>o</i> -fenilendiamina
<b>SWNTCs-A5</b>	Nanotubos de carbono de pared sencilla prístinos funcionalizados con <i>m</i> -fenilendiamina
<b>SWNTCs-A6</b>	Nanotubos de carbono de pared sencilla prístinos funcionalizados con <i>p</i> -fenilendiamina
<b>SWNTCs-A7</b>	Nanotubos de carbono de pared sencilla prístinos funcionalizados con N,N'-bis(3-aminopropil)-1,3-propanodiamina

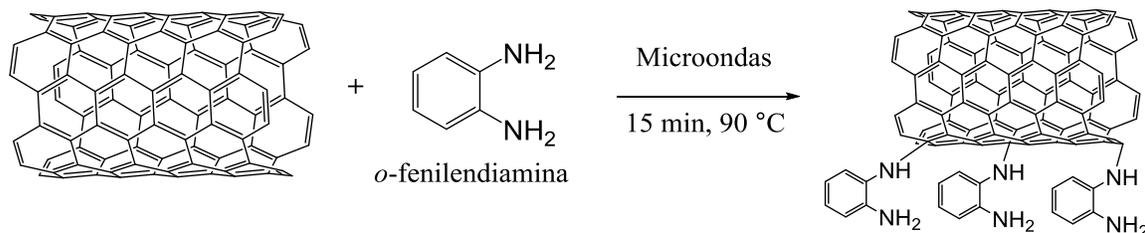
La metodología a desarrollar se basa en lo ya realizado en este trabajo de tesis, sin embargo, para diaminas sólidas se tiene contemplado tomar en cuenta las propiedades físicas de solubilidad y usar DMSO en la proporción adecuada para añadirla al resto de los reactivos. Esto permitirá un análisis sobre el efecto de la longitud de cadena del grupo amino usado en la funcionalización al momento de que la ZnPc lleve a cabo su acción terapéutica.



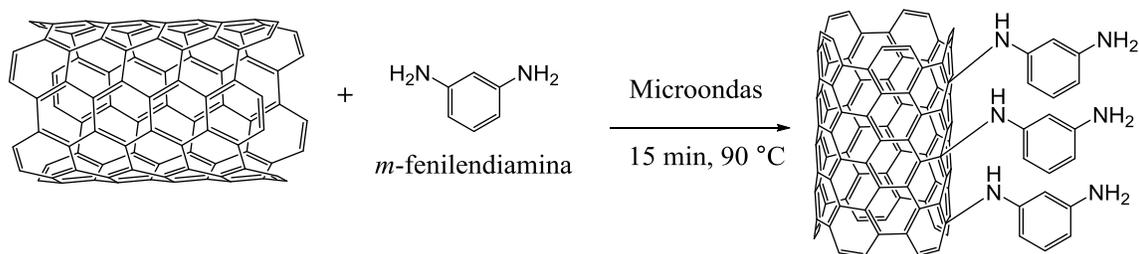
**Esquema 3.** Representación de la obtención de los SWNTCs-A2.



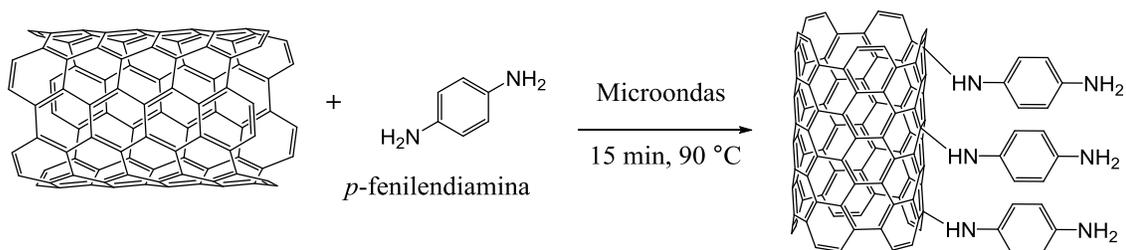
**Esquema 4.** Representación esquemática de la obtención de los SWNTCs-A3.



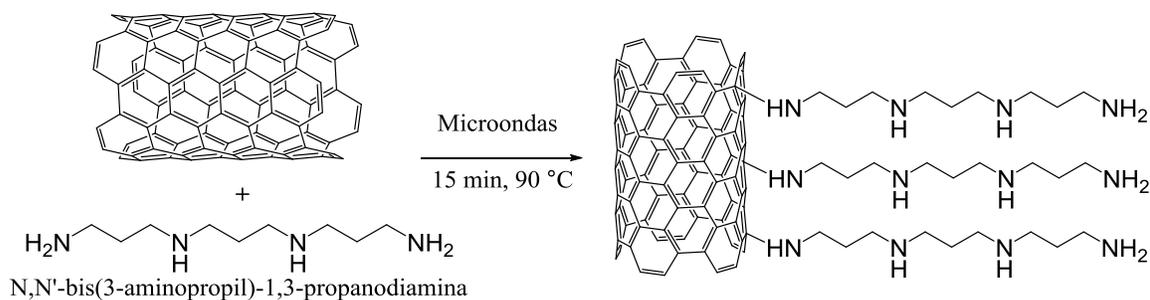
**Esquema 5.** Representación esquemática de la obtención de los SWNTCs-A4.



**Esquema 6.** Representación esquemática de la obtención de los SWNTCs-A5.



**Esquema 7.** Representación esquemática de la obtención de los SWNTCs-A6.



**Esquema 8.** Representación esquemática de la obtención de los SWNTCs-A7.

Para la síntesis de los PCs, la metodología planteada consiste en pesar 150 mg del sustrato a utilizar, aforando hasta 100 mL con agua destilada y recubierto con papel aluminio, ya que el precursor suele ser fotosensible. Posteriormente la solución se sónica brevemente a fin que el sustrato se homogenice. La reacción prosigue por medio de microondas empleando distintos valores de temperatura, iniciando desde los 100 hasta los 160 °C, con la finalidad de obtener

condiciones ideales en un tiempo de reacción de 3 min. La solución resultante es filtrada y centrifugada a 12,500 rpm durante 30 min, extrayendo el líquido resultante. Finalmente se dializa durante 3 d. Posteriormente el acoplamiento de la ZnPc se realizaría de la misma manera en la que se ha estado efectuando hasta el momento.

Otro aspecto interesante a efectuar es llevar a cabo la funcionalización con otros grupos funcionales tal como carboxilos, tioles o dioles.

## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El acoplamiento de la ZnPc sobre los SWNTCs funcionalizados con grupos amino y en aquellos en estado prístino fue realizado a fin de crear nanomateriales potencialmente fotoactivos, cuyas condiciones de reacción fueron descritas en la **Tabla 8**, así como la nomenclatura correspondiente para cada uno de ellos. El proceso se realizó asistido por microondas y a través de baños ultrasónicos, ambos procesos a distintos valores de temperatura y tiempo. En todo momento los productos y sobrenadantes resultantes de cada reacción fueron monitoreadas por técnicas espectroscópicas, evaluando que el procedimiento se haya ejecutado adecuadamente.

### 5.1. Caracterización general de los sistemas nanoestructurados

#### 5.1.1. Espectroscopia por ultravioleta visible (UV/vis)

Una de las técnicas a la cual se recurrió para el análisis de los productos resultantes fue la espectroscopia por UV/vis, para lo cual se tomó 1 mg del nanomaterial correspondiente dispersado en 5 mL de EtOH, con ayuda de un baño ultrasónico previo a cada estudio. Asimismo, el sobrenadante de cada reacción durante el proceso de síntesis y al término de las mismas, fue sometido al mismo experimento, con la finalidad de identificar una disminución en la intensidad de las señales correspondientes a la ZnPc, lo cual es indicativo de que esta se acopla al nanotubo correctamente. Se hace hincapié en el uso de centrifugación en relación a las condiciones descritas anteriormente en la **Tabla 7** para el seguimiento periódico del solvente a lo largo de la síntesis, dado que al efectuar la extracción del líquido, algunos NTCs dispersos también eran extraídos.

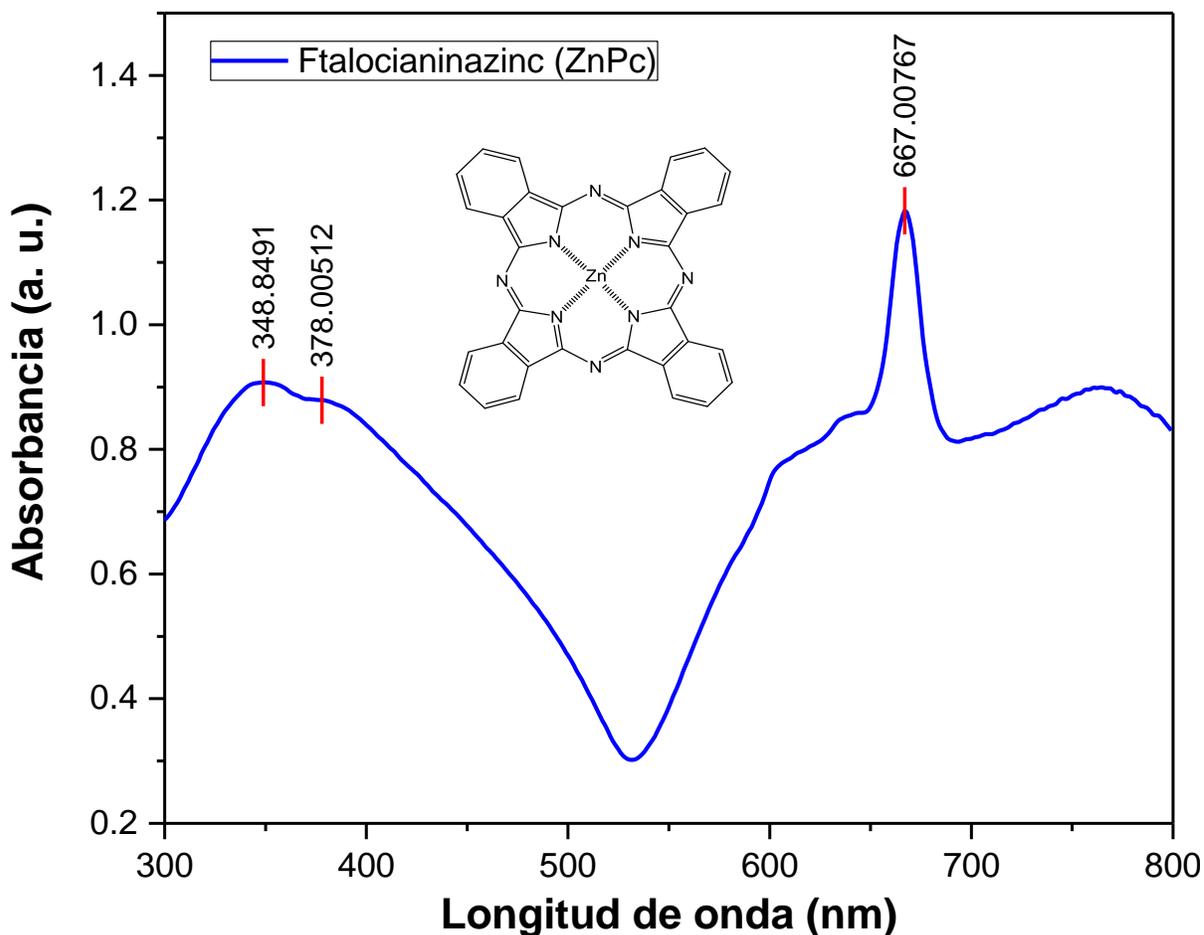
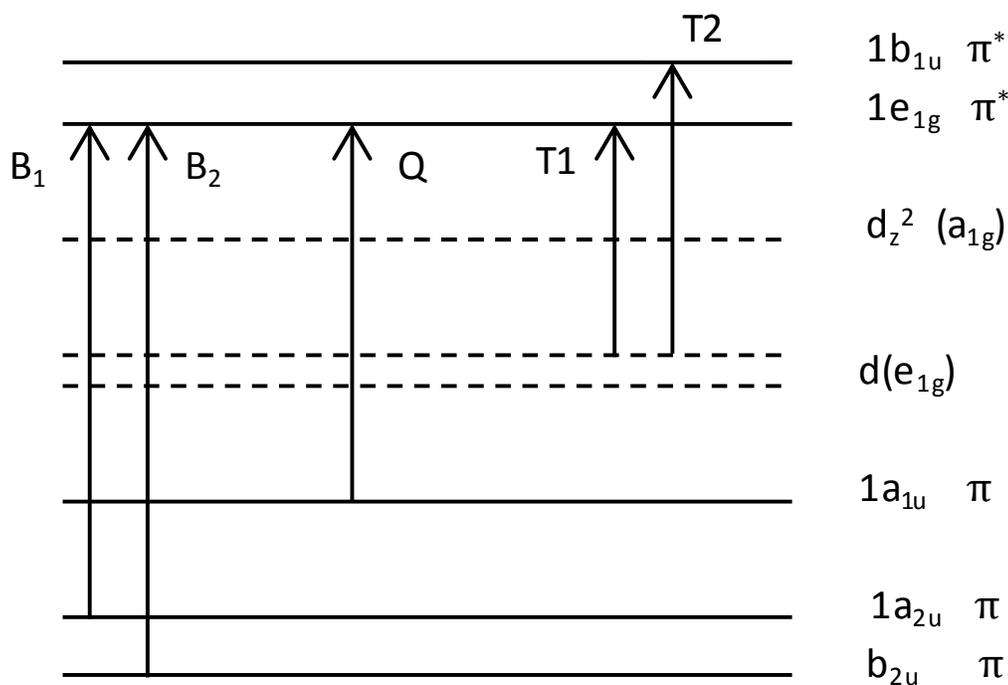


Figura 38. Análisis UV/vis de la ZnPc.

El espectro resultante para el compuesto de la ZnPc realizada por espectroscopia UV/vis manifestó bandas típicas del tipo de Ps utilizado, destacando una banda de absorción Q intensa a 667 nm correspondiente a una transición energética  $a_{u1}(\pi) \rightarrow e_g(\pi^*)$ , banda B o Soret comprendida entre los 300 y 400 nm derivada de la transición  $a_{u2}(\pi) \rightarrow e_g(\pi^*)$ , una banda vibrónica o tono vibracional de la banda Q alrededor de los 650 nm generada por los niveles de vibración más altos del estado electrónico. Otro aspecto destacable fue la presencia de un valle alrededor de 530 nm, típico de las MPc descritas en la literatura.<sup>29</sup>

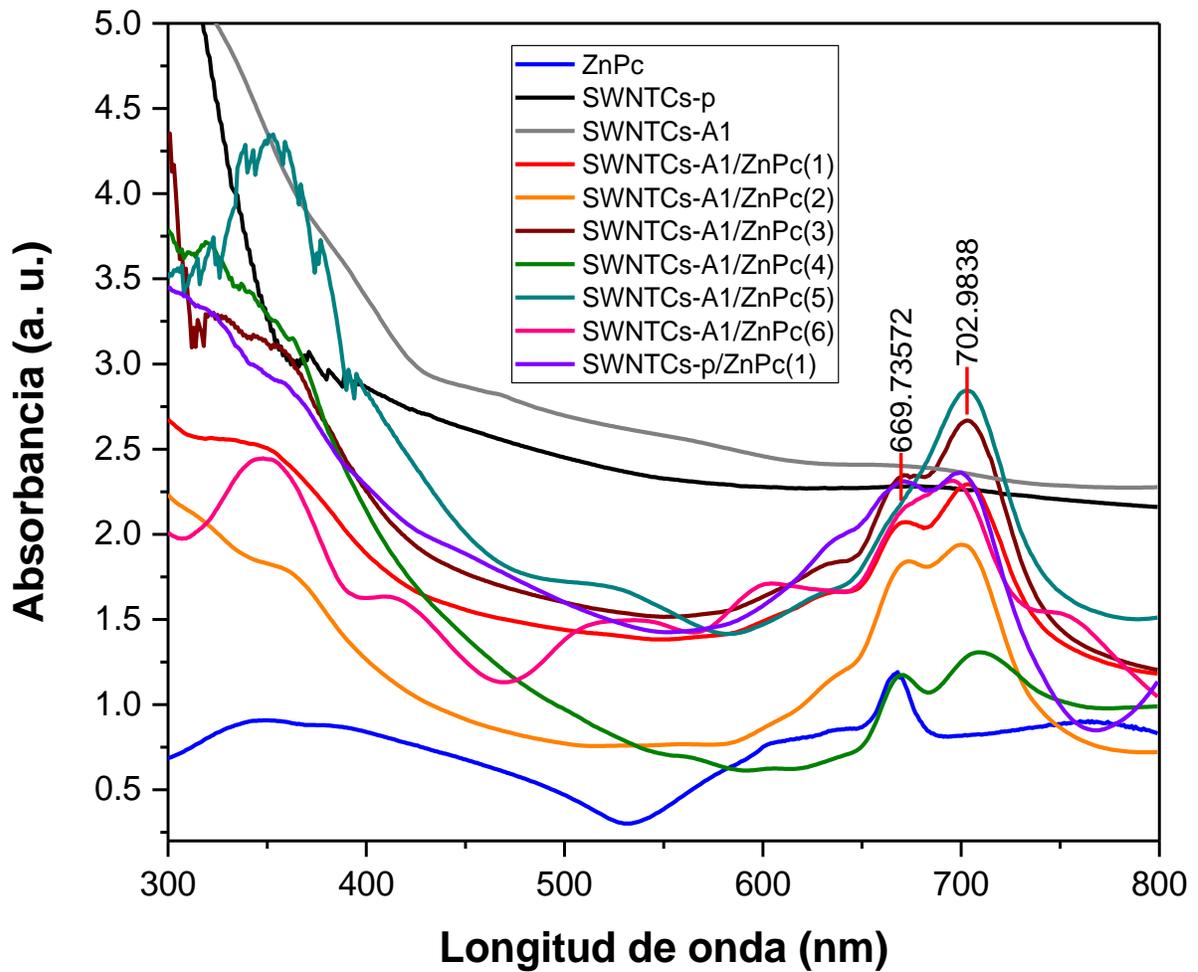
La ZnPc posee un grupo puntual  $D_{4h}$ , en donde las transiciones al nivel  $e_g$  son degeneradas simétricamente a dicho grupo, de tal forma que la banda Q es producida por dos transiciones polarizadas y perpendiculares al plano. La asignación de estas señales se dió en base a lo descrito por la teoría de Orbitales Moleculares, en donde el nivel HOMO correspondió a  $1a_{1u}(\pi)$ , el LUMO a  $1e_g(\pi^*)$  y el nivel  $1b_{1u}(\pi)$  fue asignado al nivel superior más por encima del LUMO (**Figura 39**). Ambas bandas de absorción involucran un estado excitado con una diferencia de energía.



**Figura 39.** Transiciones electrónicas típicas de las MPC.

La **Figura 40** muestra el análisis por espectroscopia UV/vis efectuado a todos los materiales resultantes del proceso de síntesis, al igual que los NTCs prístinos y funcionalizados con los grupos amino, llevando a cabo un comparativo entre ellos, verificando la adsorción de la ZnPc exitosamente. Los resultados destacaron la presencia de un valle

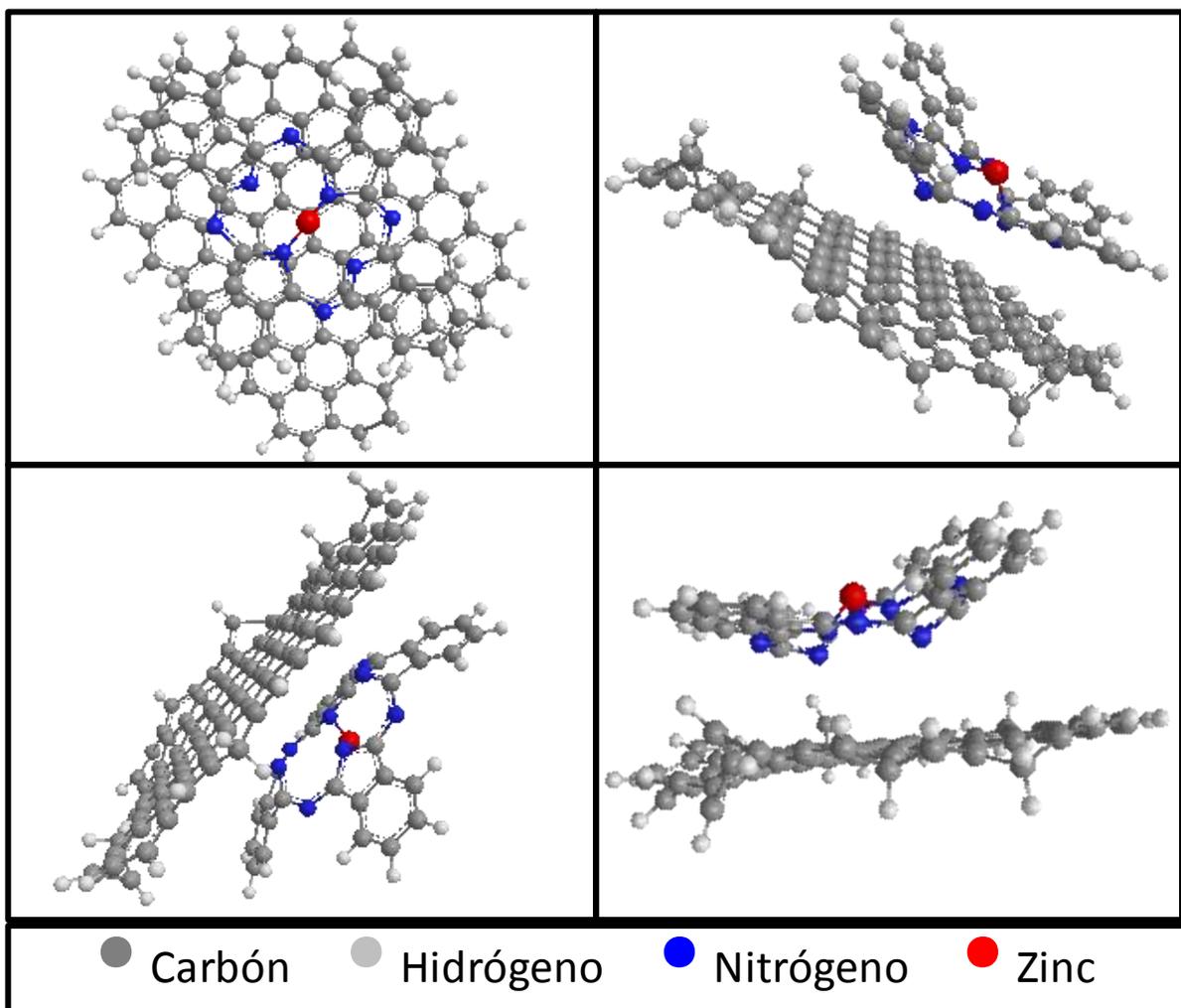
comprendido entre los 400 - 600 nm en cada nanomaterial, lo cual indicó la presencia del Pc. Por otra parte, el análisis efectuado para los SWNTCs-p y los SWNTCs-A1 no se encontraron bandas relevantes.



**Figura 40.** Análisis UV/vis de todos los sistemas nanoestructurados.

Uno de los detalles más destacables de este estudio espectroscópico, fue el desplazamiento batocrómico de la banda Q hacia un valor de  $\lambda$  cercano a los 700 nm, absorbiendo en la región del NIR, lo cual se atribuyó a la presencia de bandas secundarias resultantes de una transición dada desde un nivel vibracional inferior al estado fundamental, al

estado más bajo del estado excitado. Sin embargo, este fenómeno también pudo darse por la influencia del Zn, el cual se está coordinando con la nanoestructura, y en conjunto interacciona con la superficie de los NTC, dando lugar a un análisis estructural.



**Figura 41.** Analisis estructural tridimensional de los sistemas SWNTCs-p/ZnPc.

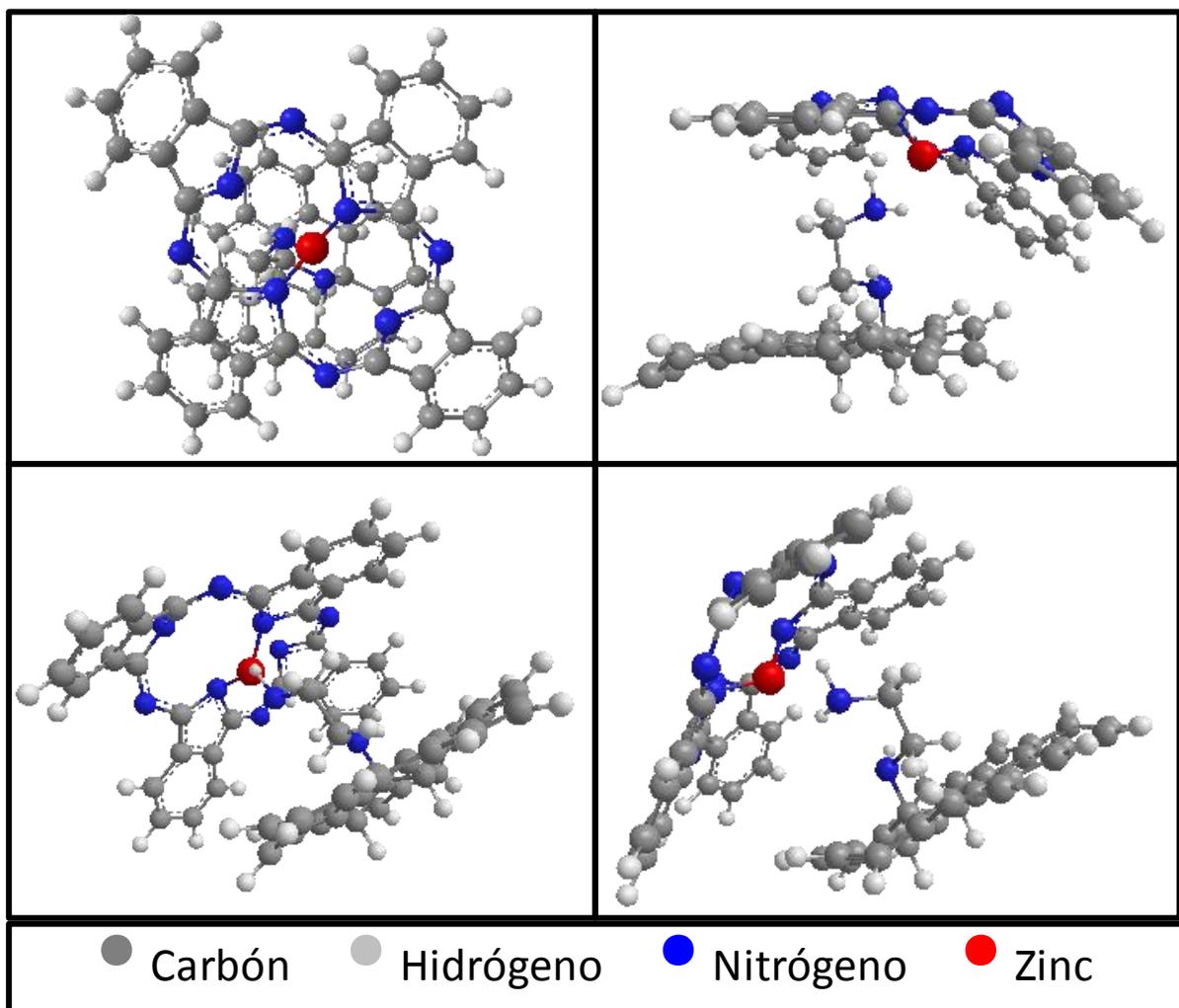
Para los productos comprendidos por los SWNTCs-p y la ZnPc se efectuó un análisis estructural tridimensional descrito en la **Figura 41**, el cual fue modelado por ChemDraw3D®, en donde se asumió que el Ps se encuentra interaccionando con la superficie del nanotubo por vía de interacciones  $\pi\pi$  debido a la nula presencia de grupos funcionales dispersados

logitudinalmente sobre el nanomaterial, siendo por su parte el acomodo en la cual los átomos encontrarían una mayor estabilidad. El traslape de los orbitales electrónicos incrementaría la densidad electrónica entre los átomos de nitrógeno coordinantes de las ZnPc, ya que esta se acumularía entre el Ps y los SWNTCs-p, lo cual se traduce en un incremento en la energía de los orbitales  $e_g$  del metal que interactúan fuertemente con los orbitales  $e_g$  de la Pc.

En el caso de los productos obtenidos utilizando los SWNTCs-A1, el efecto batocrómico de la banda Q fue mucho más notorio para los SWNTCs-A1/ZnPc(5), al igual de percibir un incremento hipercrómico, atribuido a una mayor cantidad de ZnPc interaccionando con el nanomaterial. De forma similar al estudio estructural anterior, en la **Figura 42** se modeló tridimensionalmente la interacción más probable entre los grupos aminos resultantes de la funcionalización con EDA y la ZnPc. El metal dispuesto en la cavidad de la estructura le confiere la capacidad de incrementar su solubilidad en distintos medios, sumado a lo anterior, la amina primaria resultante de la funcionalización SWNTCs-NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub> queda en una posición terminal, siendo probable que el zinc del Ps interacciona fuertemente de manera covalente, obteniendo un efecto sinérgico. La formación de estos ligandos da lugar a transferencias de carga metal-ligando (LMCT) y ligando-metal (MLCT), siendo esta última más débil, y puede aparecer superpuesta a la banda Q.

La diferencia en la intensidad y desplazamiento de las bandas típicas de la ZnPc entre los diferentes sistemas nanoestructurados de SWNTCs-A1/ZnPc obtenidos radicó primordialmente en el tiempo en que la reacción se mantuvo dentro del baño ultrasónico, puesto que a un mayor tiempo, los reactivos se homogenizaron mas que el resto de las síntesis, dando como resultado un mejor acoplamiento. Esto a consecuencia de que ambos reactivos carecen de grupos funcionales polares. Una idea planteada con el fin de obtener un mayor

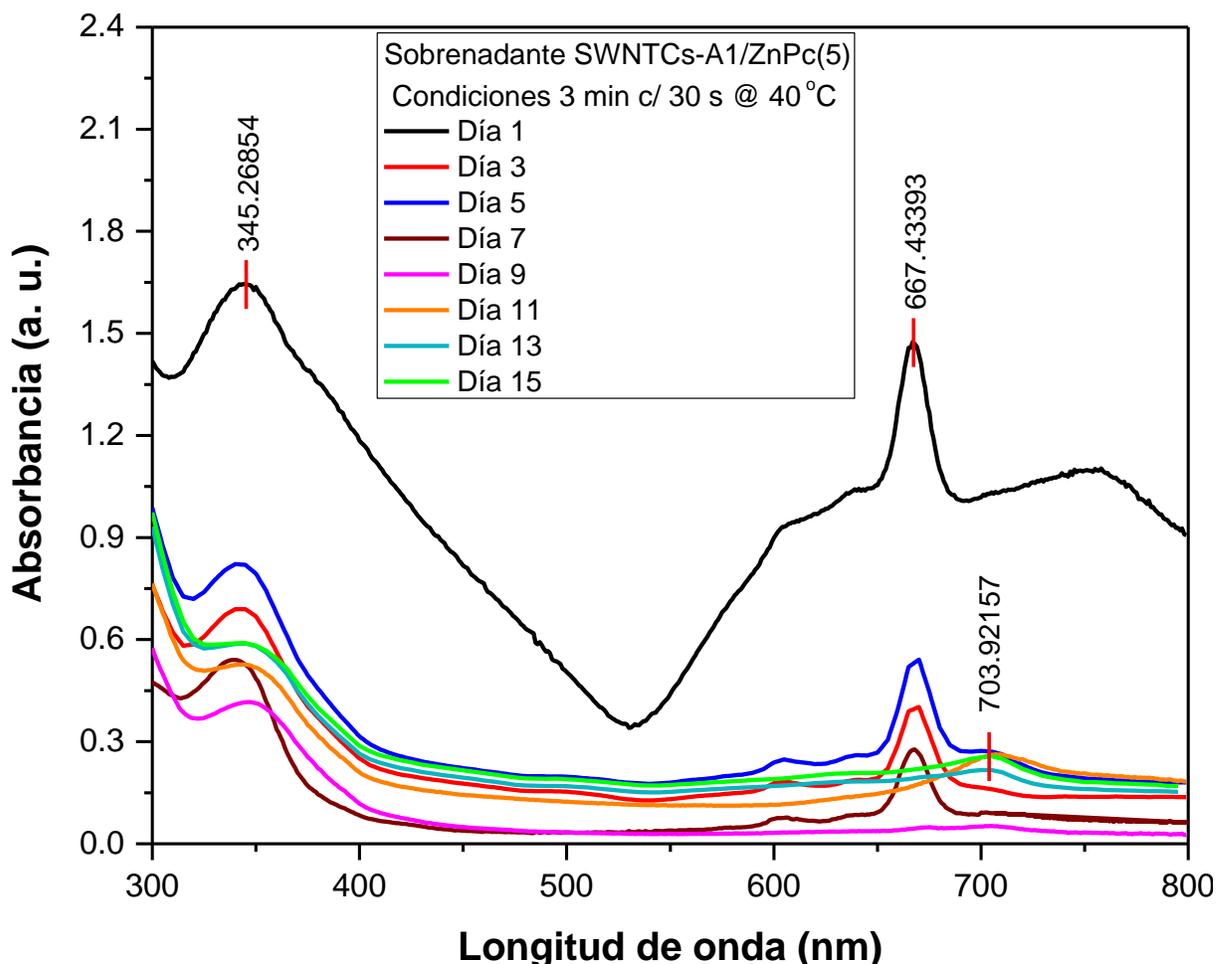
acoplamiento es mediante la posible funcionalización de la ZnPc, de tal forma que los nanotubos también sean funcionalizados y puedan unirse mediante un enlace covalente.



**Figura 42.** Analisis estructural tridimensional de los sistemas SWNTCs-A1/ZnPc.

Adicionalmente, se realizó el monitoreo de líquido sobrenadante de la reacción correspondiente a los SWNTCs-A1/ZnPc(5) (**Figura 43**), observando una notable disminución en la intensidad de las bandas correspondientes a la ZnPc, siendo mucho más perceptible a partir del noveno día, lo cual fue muy probable que se debiese a un equilibrio dado en el

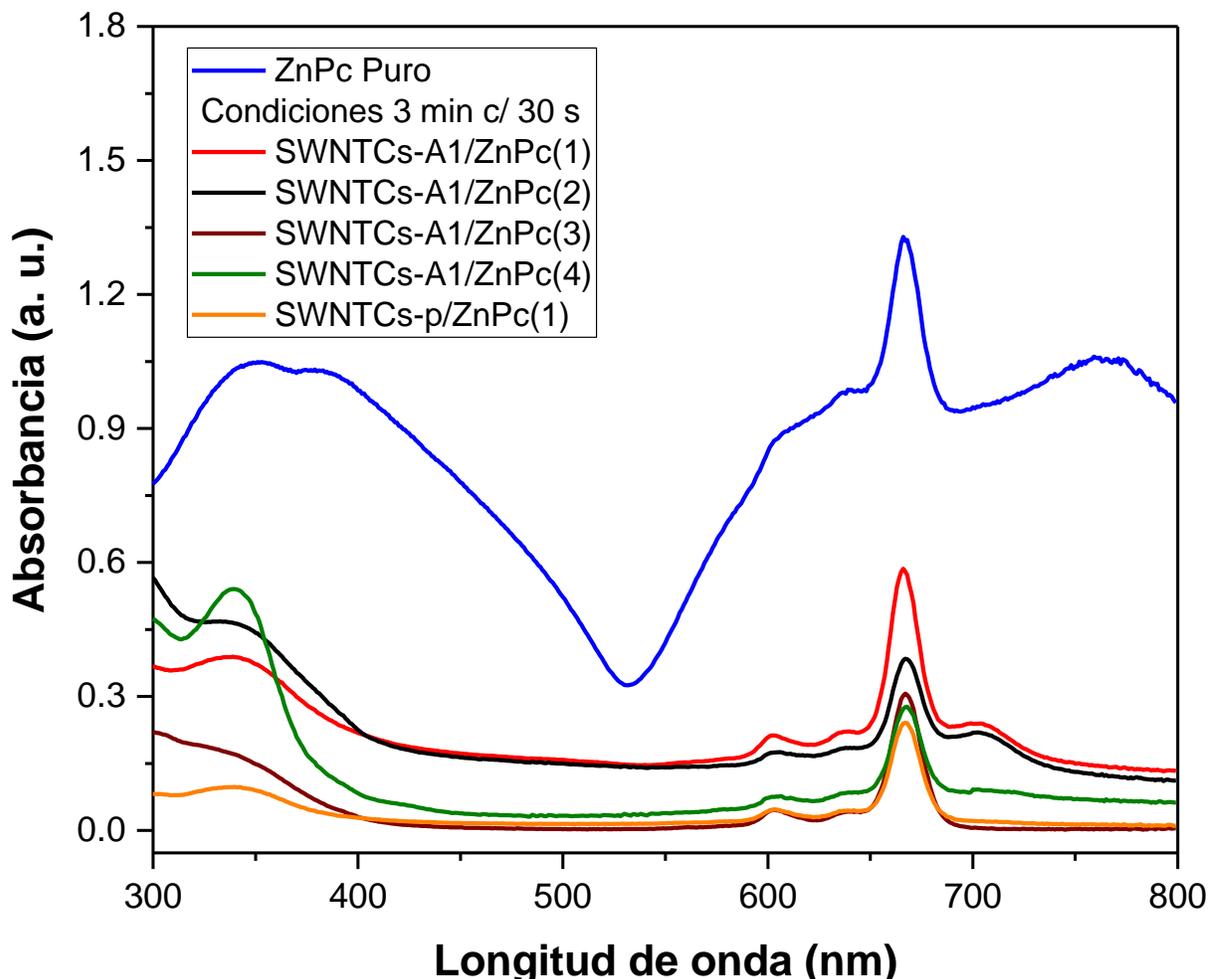
medio. Una vez terminada la reacción, se observó una banda ancha que indicó la presencia de un poco de Pc disuelto en el EtOH. Dicho estudio indicó que la sustancia Ps se eliminó casi en su totalidad del medio, incorporándose al nanotubo.



**Figura 43.** Monitoreo y medición UV/vis entre 300 – 800 nm de los sobrenadantes de la reacción para el sistema SWNTCs-A1/ZnPc(5).

Los sobrenadantes del resto de los sistemas bajo las condiciones de 3 min c/30 s durante 7 d en el baño ultrasónico al término de la reacción, fueron analizados por espectroscopia UV/vis (**Figura 44**), en los cuales, al igual que con el SWNTCs-A1/ZnPc(5), hubo una clara reducción en las bandas de absorción. De todos estos productos, los SWNTCs-p/ZnPc(1),

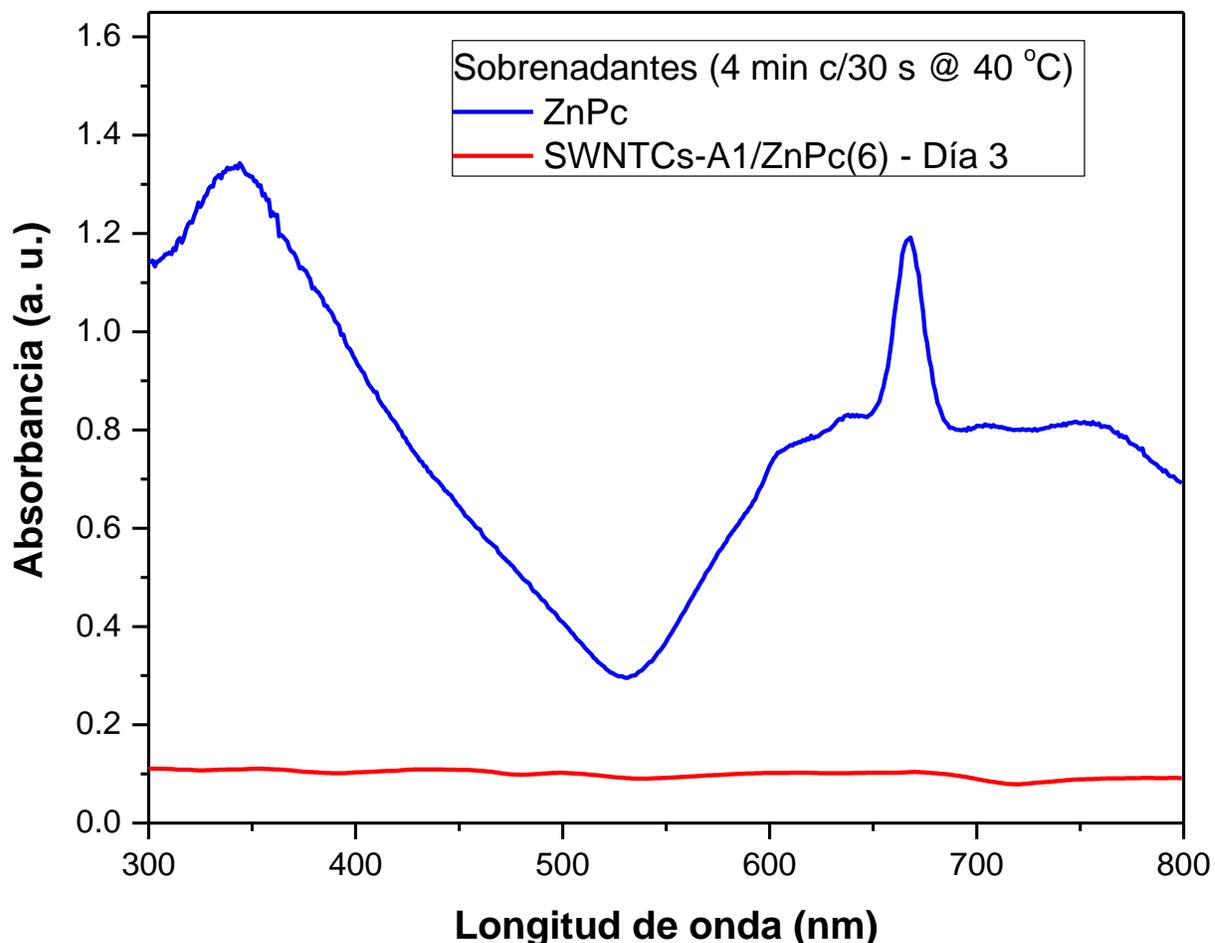
SWNTCs-A1/ZnPc(4) y los SWNTCs-A1/ZnPc(3) en dicho orden manifestaron ser aquellos con una mayor cantidad de Pc adsorbido.



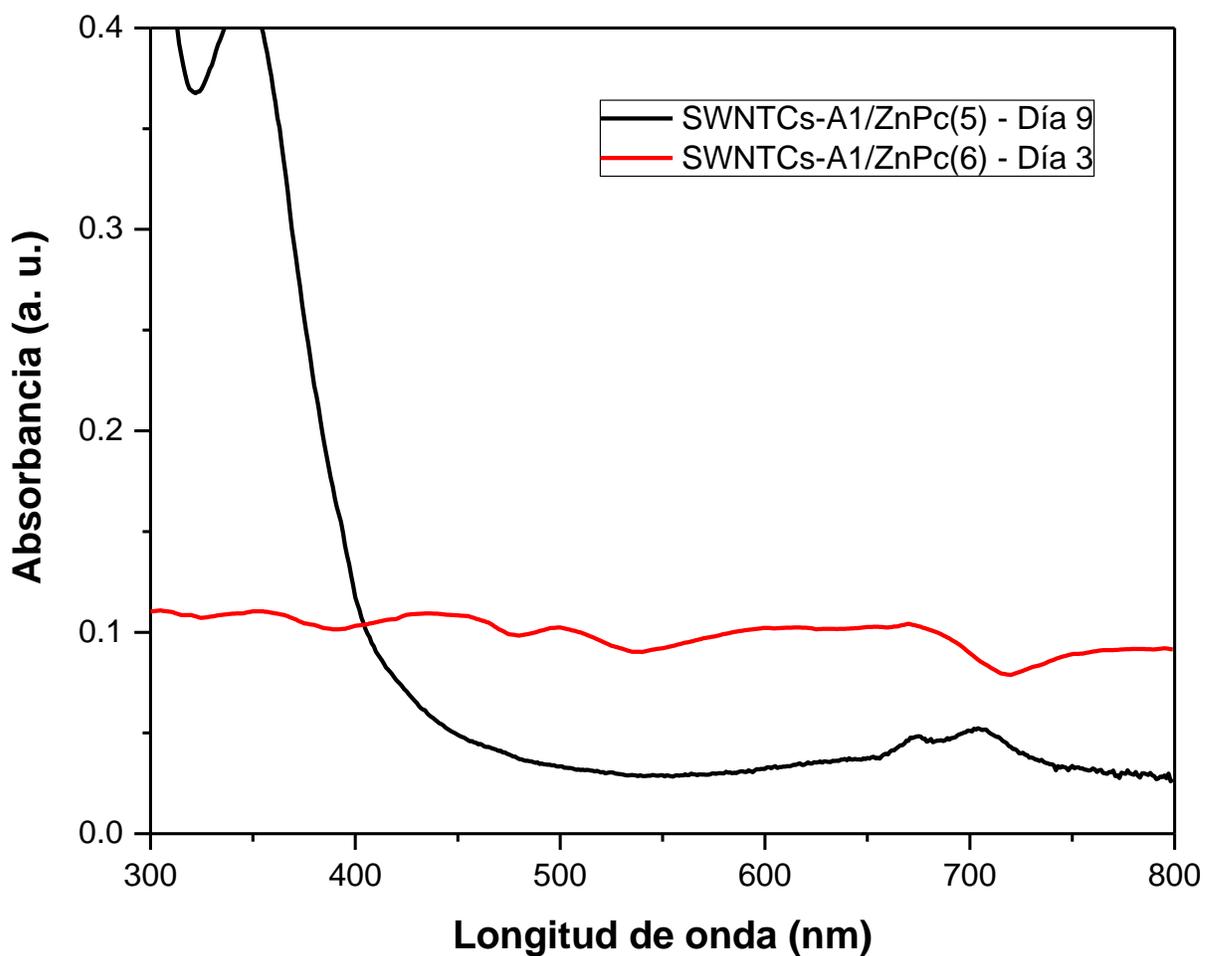
**Figura 44.** Análisis UV/vis de los sobrenadantes de SWNTCs-A1/ZnPc y de SWNTCs-p/ZnPc.

Otra modificación destacable fue el tiempo en el cual la mezcla de reacción fue sometida en el equipo de microondas, modificando a 4 min de forma pausada cada 30 s, ya que bajo estas nuevas condiciones y tras haberse sonificado por tres días, se manifestó una reducción en las señales de la ZnPc. Lo descrito anteriormente fue evidente tras efectuar una comparación

directa con el espectro de UV/vis de la ZnPc (**Figura 45**), esto probablemente quizás en respuesta a un equilibrio dado en el solvente durante el análisis, ya que algo similar sucedió en los SWNTCs-A1/ZnPc(5) entre el noveno y onceavo día, en donde se presentó una disminución e incremento de la absorbancia (**Figura 46**).



**Figura 45.** Análisis comparativo por UV/vis entre el espectro de la ZnPc y los SWNTCs-A1/ZnPc(6).

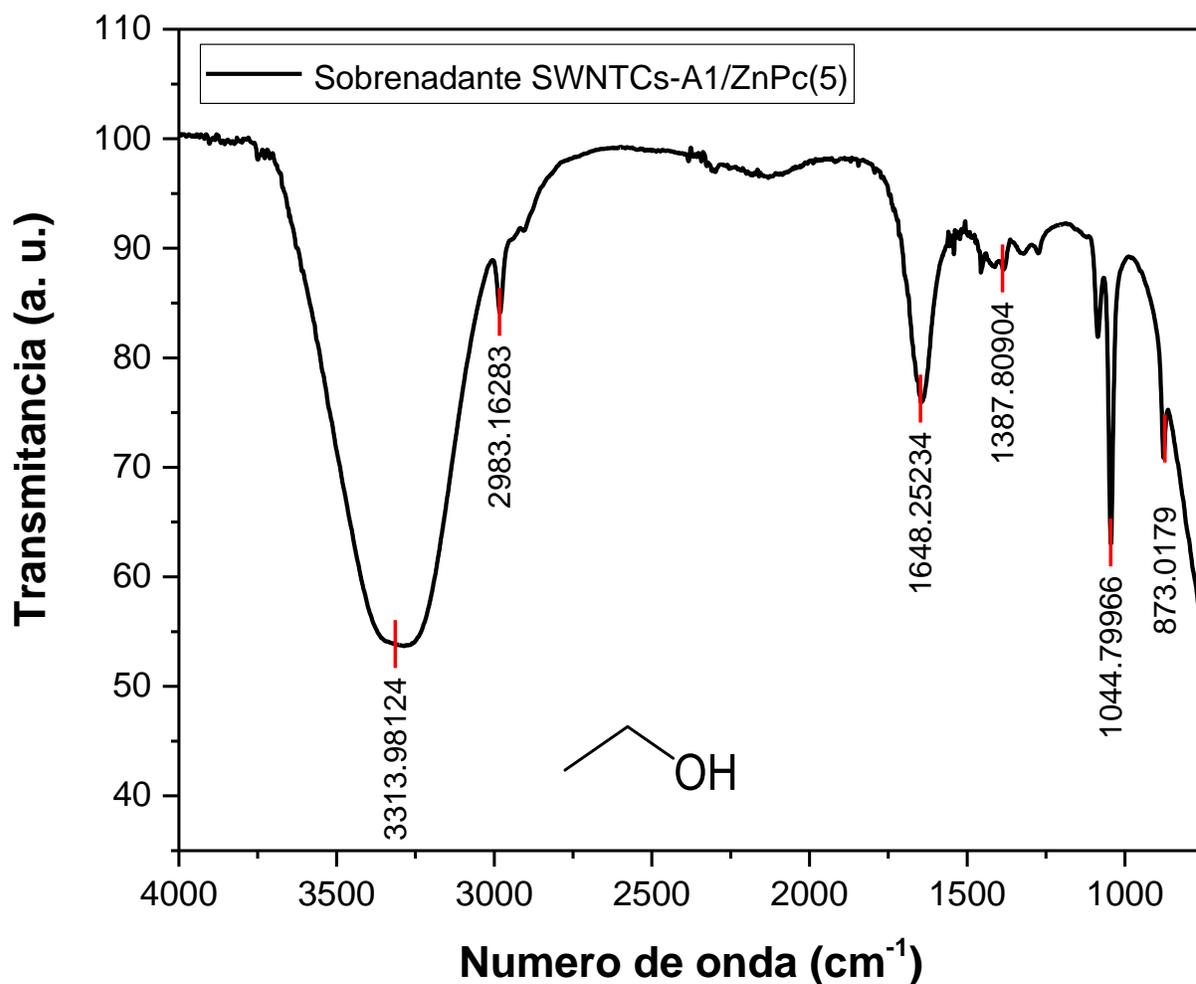


**Figura 46.** Análisis comparativo comprendido entre 300 – 400 nm de los sobrenadantes por UV/vis SWNTCs-A1/ZnPc(5) al día 9 y los SWNTCs-A1/ZnPc al día 3.

#### 5.1.2. Espectroscopia Infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

Para el estudio espectroscópico FTIR realizado a los NTCs se tuvieron que moler con KBr hasta formar una pasta lo más homogéneamente posible, esto para que las señales pudieran definirse. Por otro lado, el sobrenadante extraído una vez finalizada la reacción de cada uno de los sistemas obtenidos fue recolectado y analizado.

En todos los espectros resultantes de los sobrenadantes se observaron señales típicas del EtOH descritas por diversos autores,<sup>94</sup> lo cual confirmó la nula presencia de ZnPc o la cantidad de este mismo fue despreciable, indicando una buena absorción.



**Figura 47.** Análisis por espectroscopia IR del sobrenadante del sistema SWNTCs-A1/ZnPc(5).

El espectro de la **Figura 47** correspondiente al EtOH destacó la presencia de una banda ancha cercana a los 3300 cm<sup>-1</sup> perteneciente a una vibración de estiramiento de grupo hidroxilo (-OH), señales de vibración de estiramiento correspondiente al enlace C-H de los

metilos (-CH<sub>3</sub>) cercana a los 3000 cm<sup>-1</sup> y metilenos (-CH<sub>2</sub>) a 2900 cm<sup>-1</sup>, correspondientemente. Otras señales destacables son las de vibración de flexión de tijera y flexión de balanceo localizadas a valores entre los 1400 y 1380 cm<sup>-1</sup>, respectivamente. Por encima de los 1200 cm<sup>-1</sup> una banda de vibración de flexión del enlace O-H y en 1043 cm<sup>-1</sup> una señal de vibración de estiramiento de la interacción C-O típica de alcoholes primarios. Estas señales fueron repetitivas para el resto de los espectros obtenidos de los sobrenadantes.

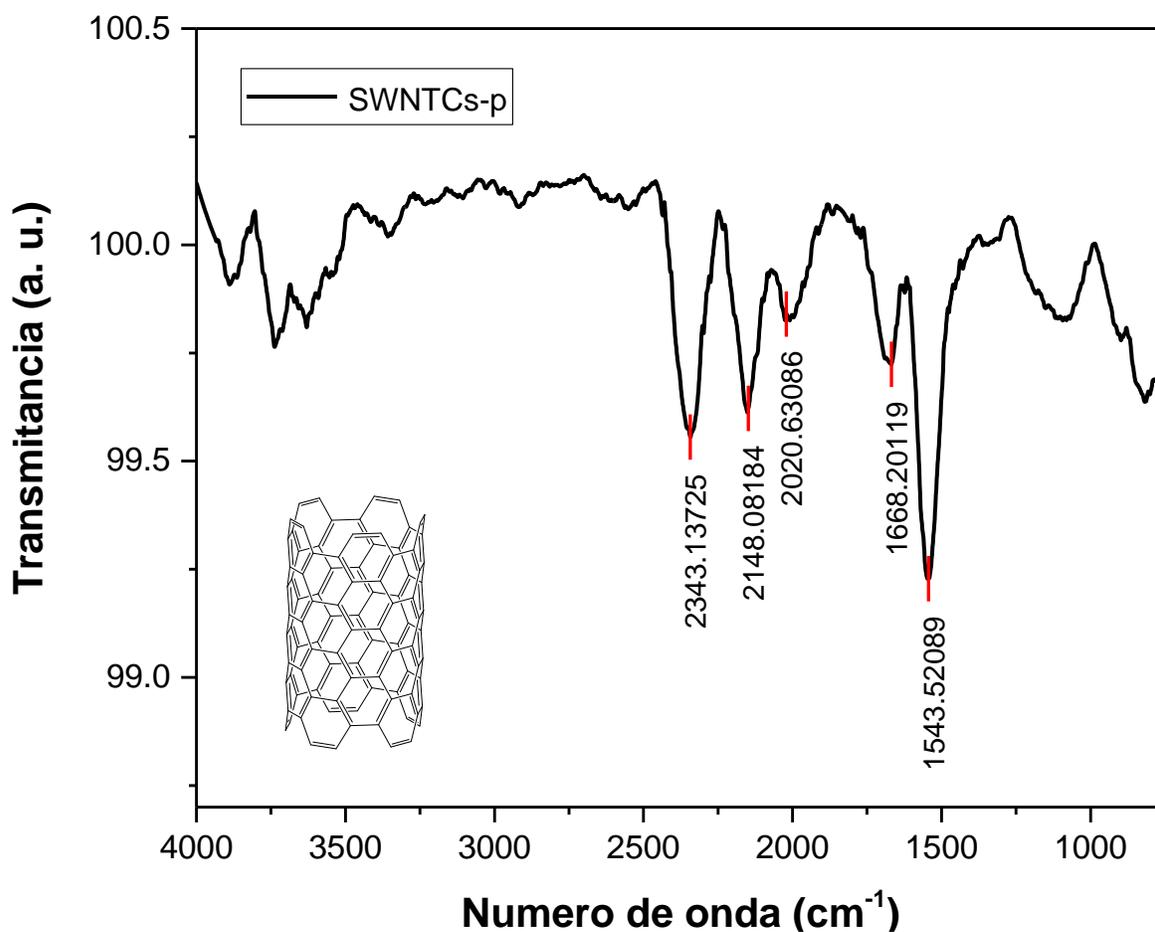
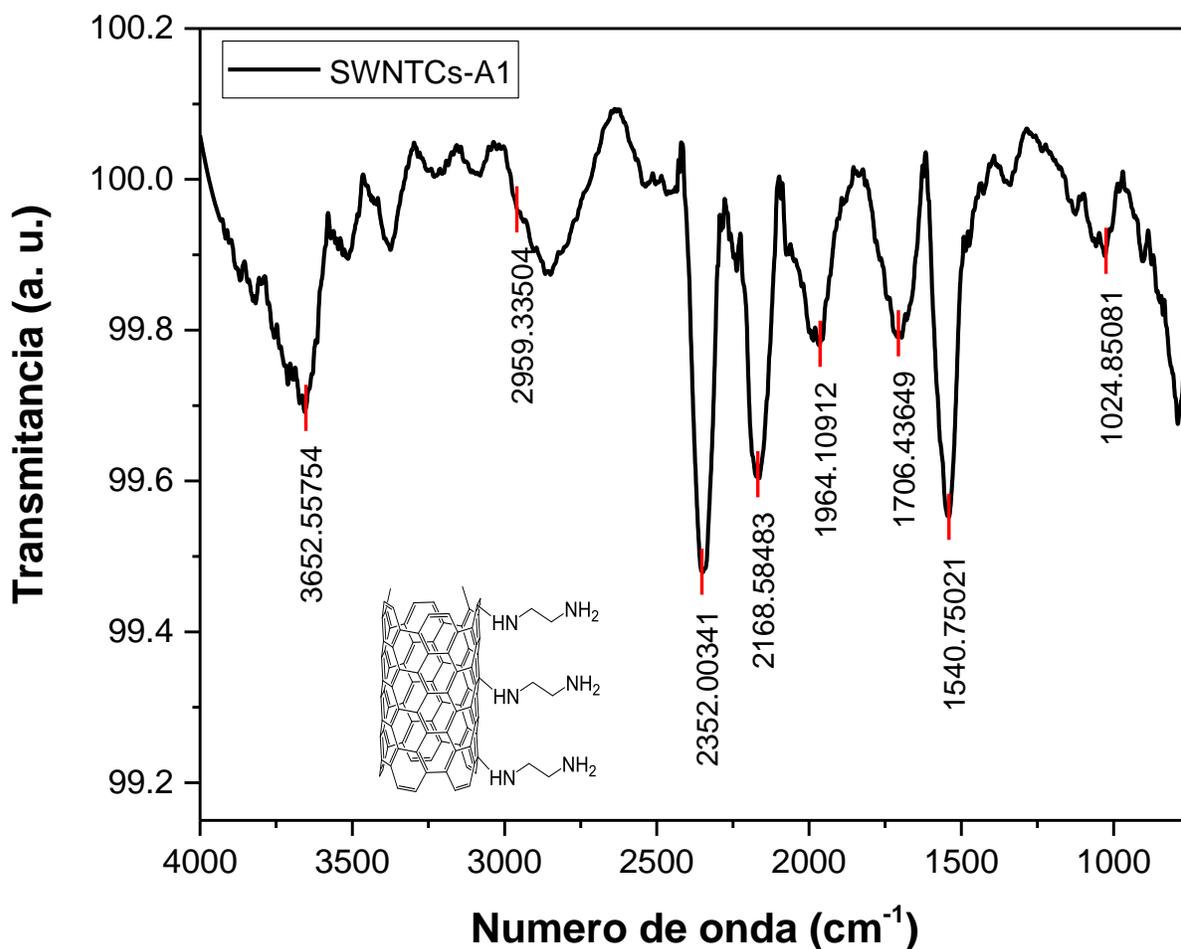


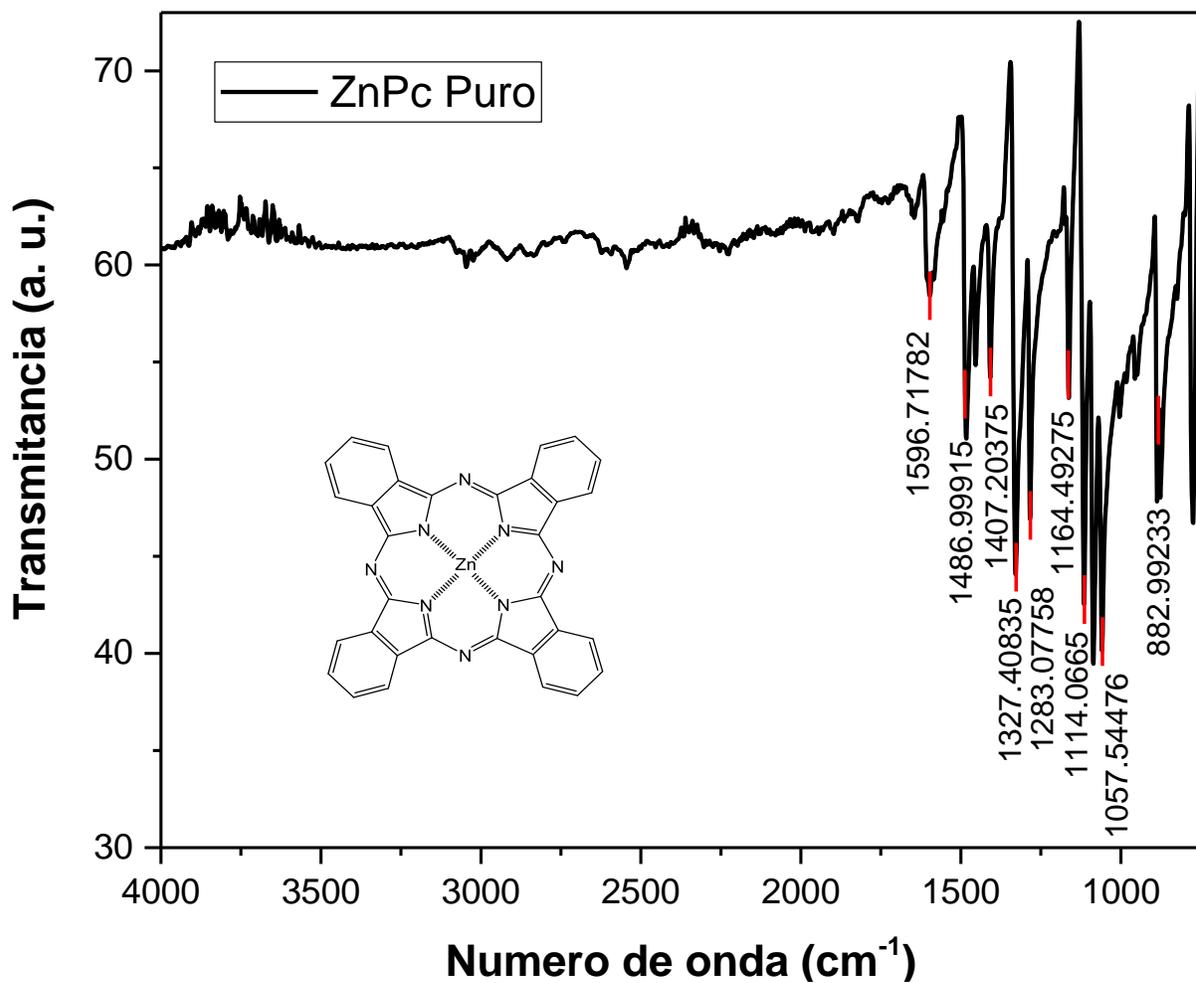
Figura 48. Análisis por espectroscopia IR de los SWNTCs-p.



**Figura 49.** Análisis por espectroscopia IR de los SWNTCs-A1.

La caracterización FTIR de los nanotubos prístinos observada en la **Figura 48** destacó por manifestar sobretonos del enlace C-C a 2343, 2148 y 2020 cm<sup>-1</sup>, además de indicar la presencia de señales de vibración de estiramiento C=C entre 1670 a 1540 cm<sup>-1</sup>. Por su parte, los SWNTCs-A1 (**Figura 49**) destacaron señales de vibración de estiramiento N-H a 3738 y 3653 cm<sup>-1</sup>, al igual que señales de vibración de estiramiento del enlace C-N a 1040 cm<sup>-1</sup> y del enlace C-H a 2959 cm<sup>-1</sup>; señales de vibración de tensión del enlace N-H a 1691 y 750 cm<sup>-1</sup>.

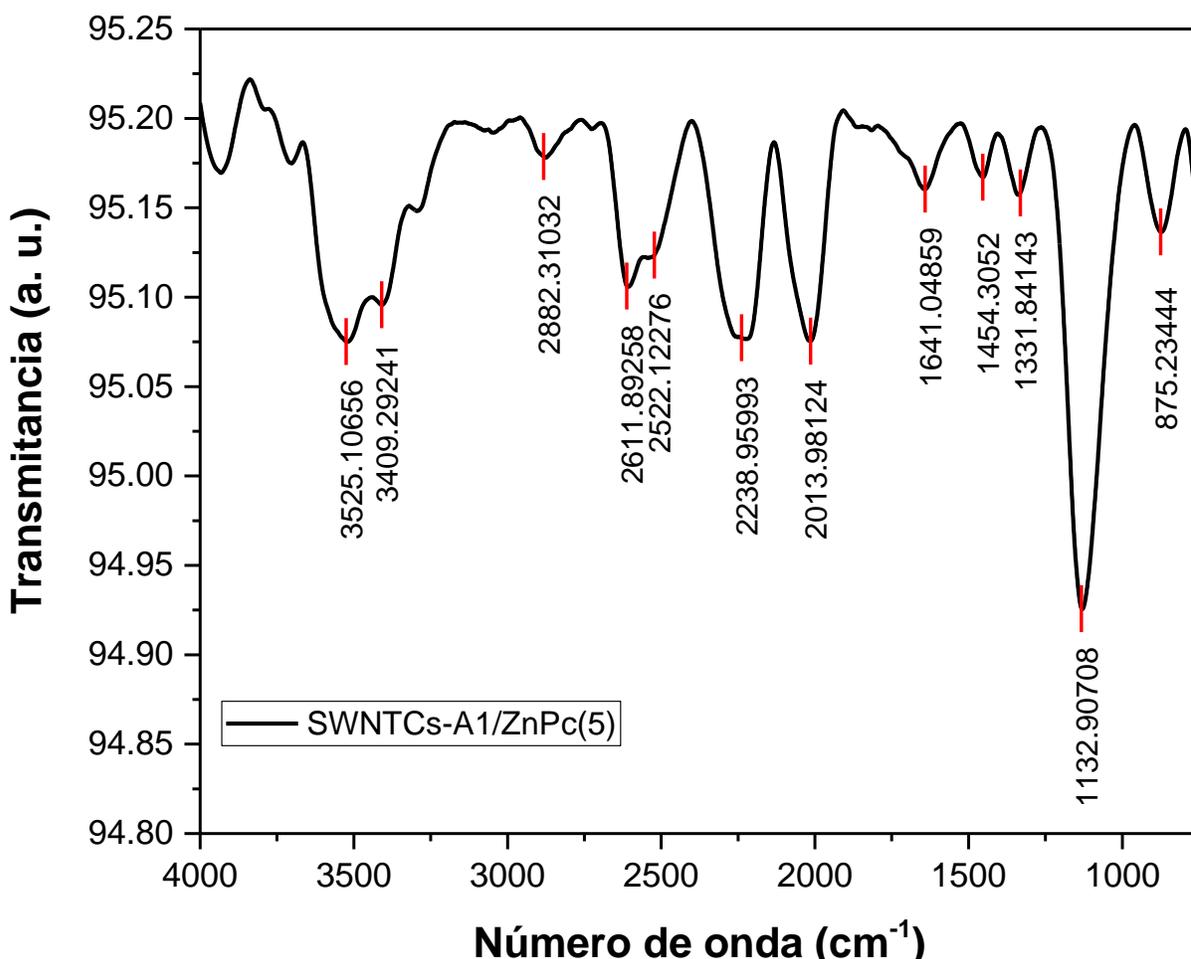
La ZnPc manifestó diversas señales de vibración de estiramiento del enlace C=C a 1597  $\text{cm}^{-1}$ , del enlace C-N a 1327, 1283 y 1058  $\text{cm}^{-1}$ , vibración de flexión del enlace C-H, C=C-H, C-C y C-N a 1487, 1407, 883, 1164 y 1114  $\text{cm}^{-1}$ , respectivamente (**Figura 50**).



**Figura 50.** Análisis por espectroscopia IR de la ZnPc.

En todos los espectros correspondientes a los compuestos sólidos estudiados de los sistemas SWNTCs-A1/ZnPc, se observaron señales de mediana intensidad de vibración de estiramiento entre el enlace N-H a 3525 y 3409  $\text{cm}^{-1}$ , por la presencia de los grupos funcionales de la EDA en los NTCs. También fue posible apreciar señales de estiramiento de

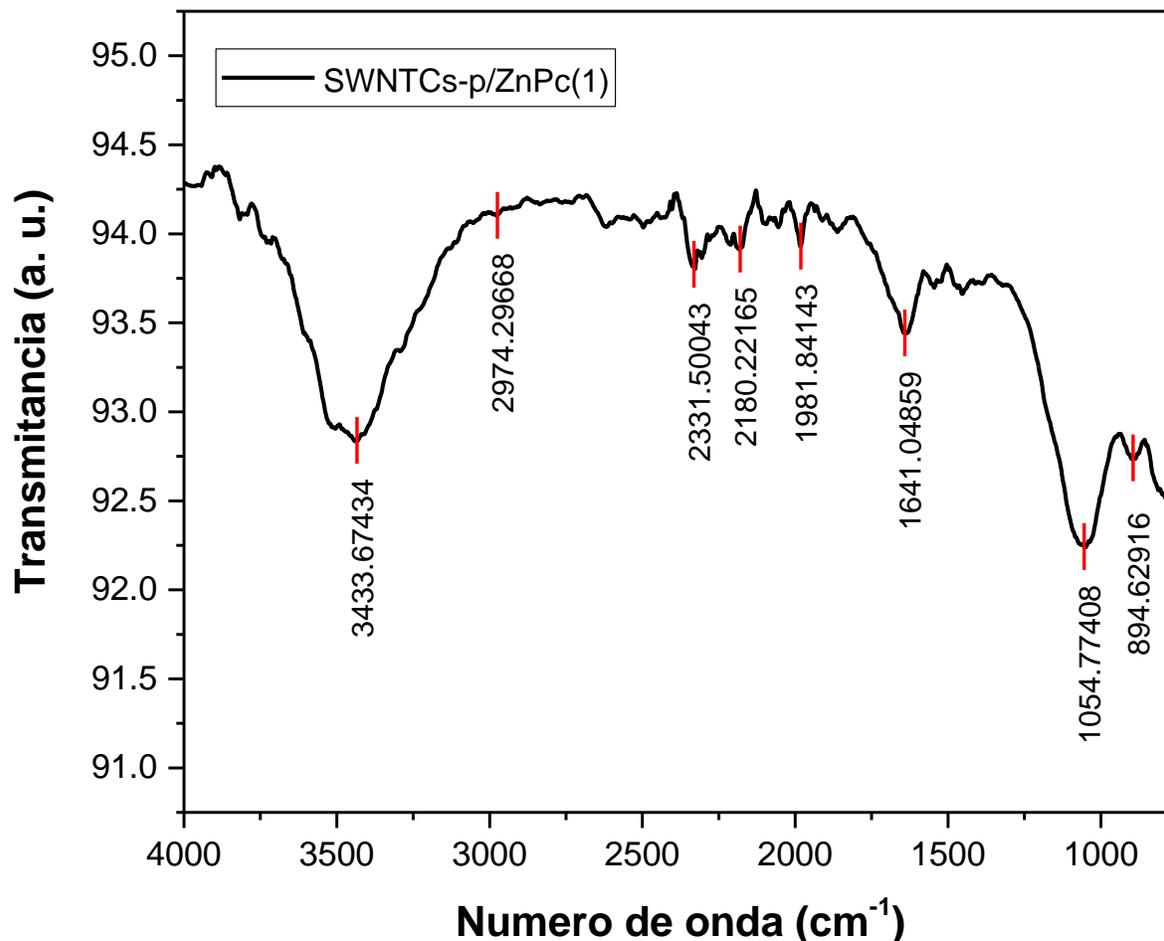
los enlaces C-H. La señal a  $1132\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a la vibración de flexión del enlace C-C, sin embargo el desplazamiento de esta señal indicaría que estaría interaccionando adecuadamente con los grupos amino. Otra señal importante se dió a  $1641\text{ cm}^{-1}$ , atribuida a una vibración de tensión del enlace N-H de la amina, a  $1454\text{ cm}^{-1}$  a una vibración de estiramiento C-N (**Figura 51**).



**Figura 51.** Análisis por espectroscopia IR del sistema SWNTCs-A1/ZnPc(5).

Los SWNTCs-p/ZnPc(1) por su parte mostrarón una banda ancha de vibración de estiramiento O-H a  $3434\text{ cm}^{-1}$ , la cual se atribuyó a la humedad adsorbida por los nanotubos. También se observaron señales de vibración de estiramiento a  $2974$ ,  $1055$  y  $1982\text{ cm}^{-1}$

asignadas al enlace C-H, C-N y C=C, así como sobretonos en la región comprendida entre 2340 y 2180  $\text{cm}^{-1}$ . También se observó una vibración de flexión del enlace C-C a 895  $\text{cm}^{-1}$  (Figura 52).

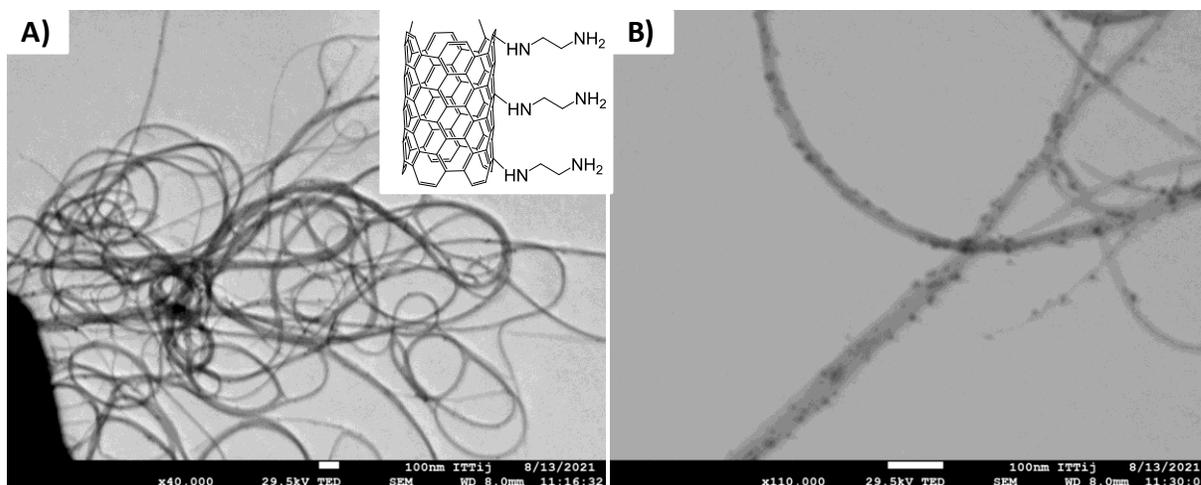


**Figura 52.** Análisis por espectroscopia IR del sistema SWNTCs-p/ZnPc(1).

## 5.2. Caracterización por microscopía FESEM

En primera instancia, a fin de corroborar un adecuado acoplamiento entre el material fotosensibilizador y las nanoestructuras, se efectuó un estudio utilizando un microscopio Electrónico de Barrido de Emisión de Campo FESEM, JEOL Mod. JSM-7800 Prime,

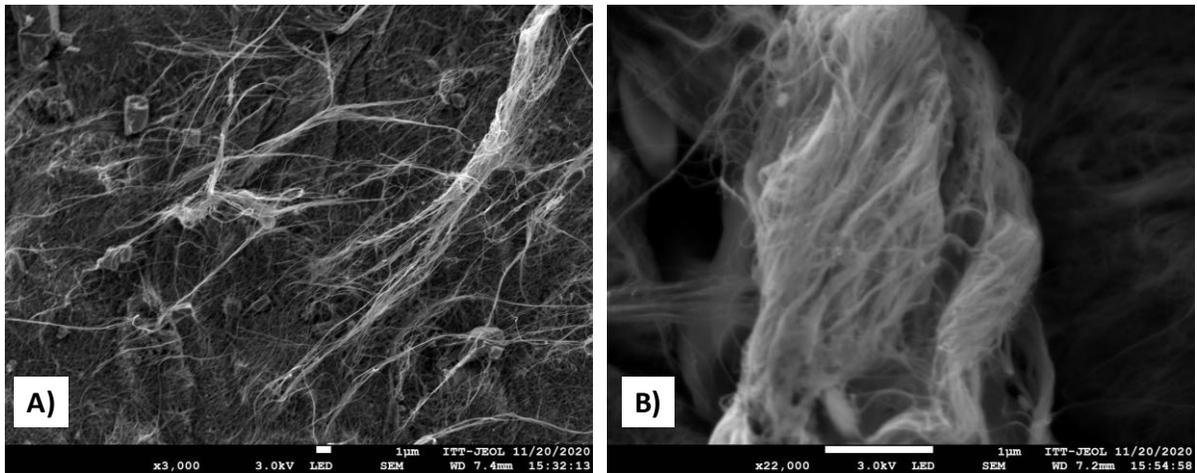
acoplado con un sistema de análisis elemental EDX. Los nanotubos funcionalizados con EDA fueron analizados encontrando en ellos pequeños puntos oscuros a lo largo de la longitud de los NTCs, los cuales fueron asignados a los grupos amino tras el proceso de funcionalización (**Figura 53**).



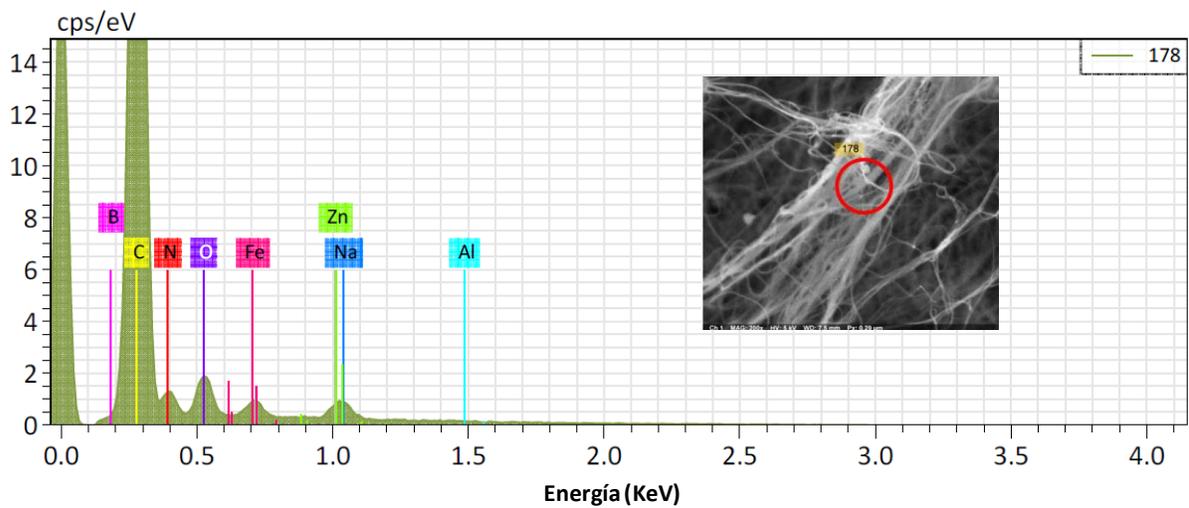
**Figura 53.** Análisis por microscopía FESEM de los SWNTCs-A1 con magnificación de **A)** 40x y **B)** 110x.

Por otra parte en los SWNTCs-A1/ZnPc(1) (**Figura 54A**) se observó la formación de cristales de tamaño considerable de ZnPc rondando entre 1 y 5  $\mu\text{m}$  dispersos entre los NTCs, esto se atribuyó a que la Pc no se disolvió por completo debido a la alta cantidad empleada. Por otra parte los sistemas de SWNTCs-A1/ZnPc(2) (**Figura 54B**) modificando únicamente la síntesis por microondas monomodal a 40  $^{\circ}\text{C}$ , se observó una mejor dispersión de la ZnPc con el nanomaterial, lo cual denotó la importancia del valor de la temperatura al momento de la obtención de sistema mencionado. Por otra parte, el análisis elemental obtenido por EDX para ambos nanomateriales se observan elementos altamente significativos como el zinc, nitrógeno y carbono, indicativo de la ZnPc presente en los nanotubos. La presencia de otros elementos

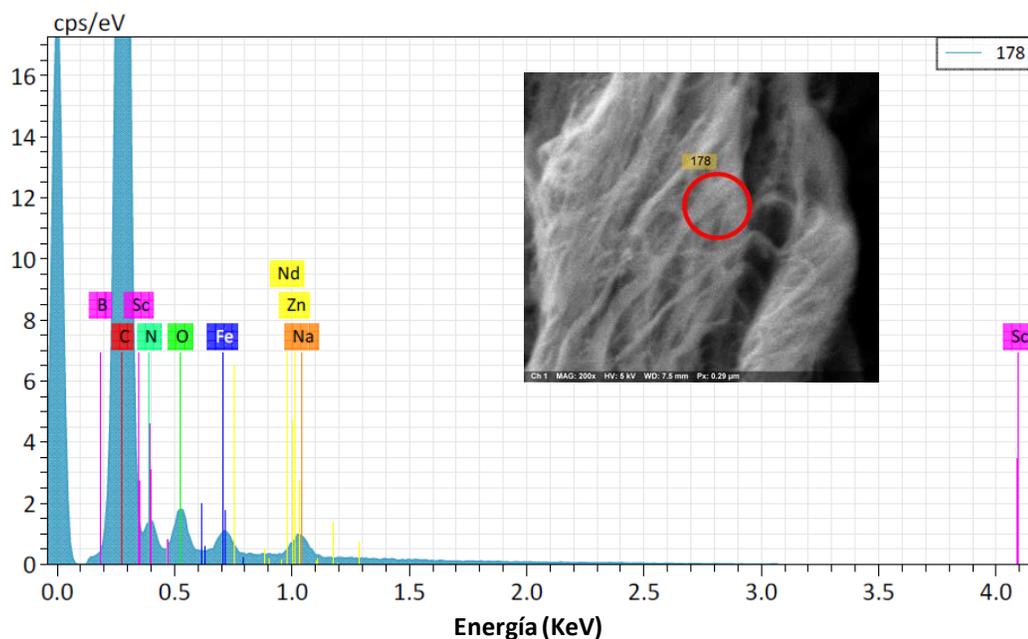
como el sodio probablemente se deba al  $\text{NaNO}_2$  empleado en el proceso de funcionalización de nanotubo con la EDA (**Figura 55**, **Figura 56**).



**Figura 54.** Análisis por microscopía FESEM para los sistemas **A)** SWNTCs-A1/ZnPc(1) y **B)** SWNTCs-A1/ZnPc(2).

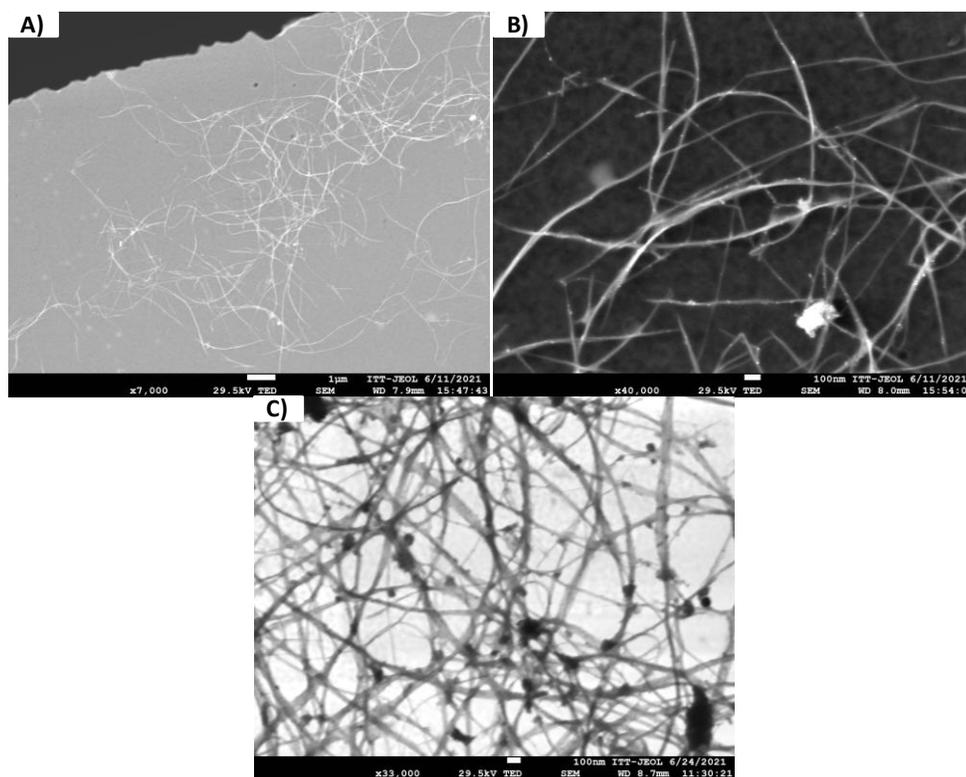


**Figura 55.** Análisis elemental obtenido por EDS para el sistema SWNTCs-A1/ZnPc(1).

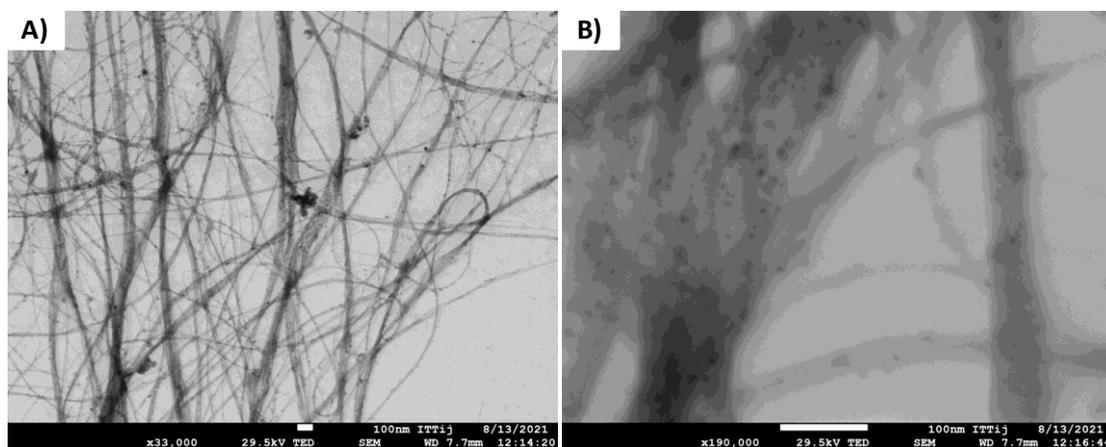


**Figura 56.** Análisis elemental obtenido por EDS para el sistema SWNTCs-A1/ZnPc(2).

El sistema SWNTCs-A1/ZnPc(5) manifestó tener una muy buena dispersión a causa del tiempo de sonicado, lo cual generó una excelente interacción entre el nanomaterial y el Pc (**Figura 57B**). El sistema SWNTCs-A1/ZnPc(4) mostró estar bien recubierto, a pesar de ello se observaron pequeños cristales que se pudieron haber formado durante la síntesis o por impurezas no eliminadas, ya que las muestras fueron estudiadas por microscopía sin un lavado previo al análisis (**Figura 57C**). Las micrografías de los SWNTCs-p/ZnPc(1) denotó un complejo mucho más limpio que los vistos con anterioridad, atribuido a una mejor interacción con la ZnPc (**Figura 58**), ya que aquellos materiales en los cuales se usó una cantidad mayor a 5 mg de Pc, saturándose por completo.



**Figura 57.** Análisis por microscopía FESEM del sistema SWNTCs-A1/ZnPc(5) con magnificación de **A)** 7x y **B)** 40x; C) y el sistema SWNTCs-A1/ZnPc(4) (33x).



**Figura 58.** Análisis por microscopía FESEM del sistema SWNTCs-p/ZnPc(1) con magnificación de **A)** 33x y **B)** 190x.

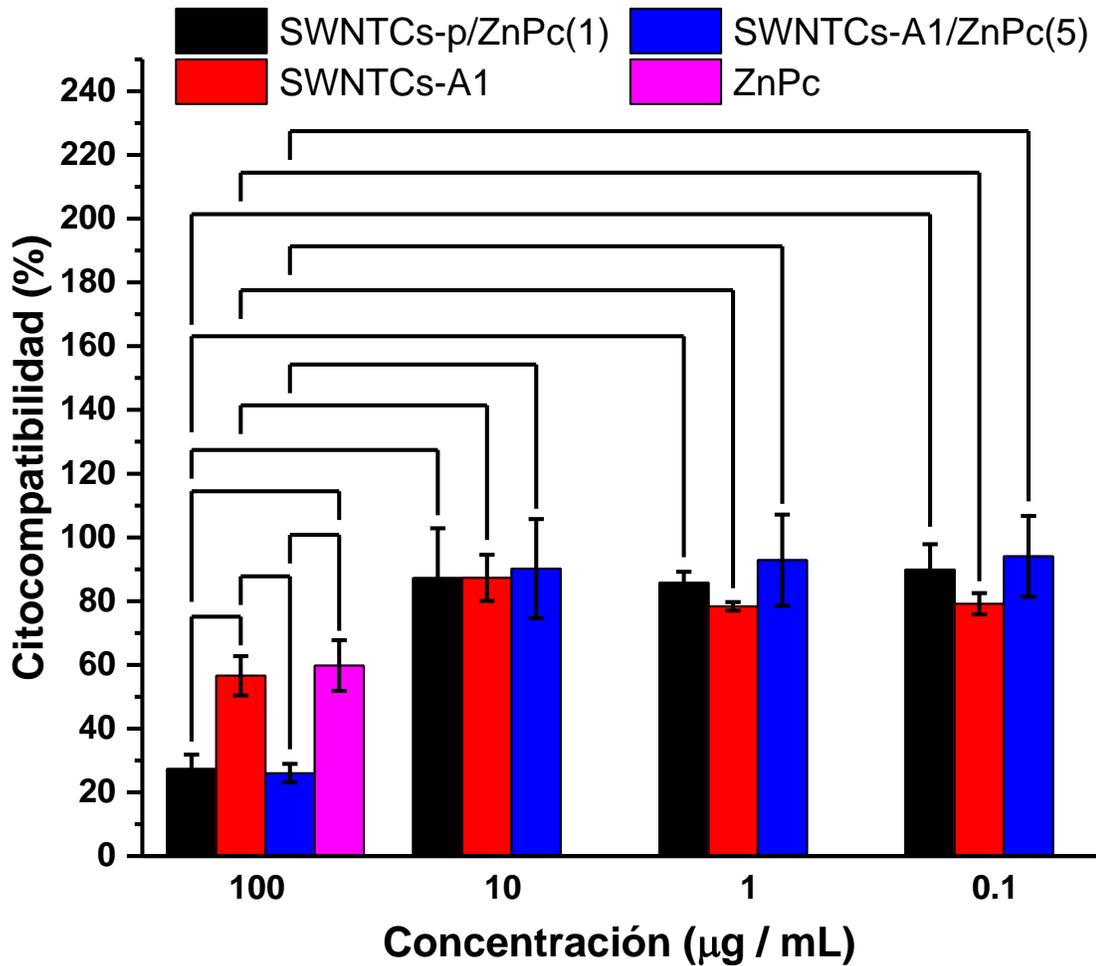
A partir de las observaciones en las micrografías, se consideró llevar a cabo la purificación de ambos nanomateriales, disolviendo el sistema correspondiente en EtOH en repetidas ocasiones, extrayendo el sólido de interés por centrifugación bajo las condiciones de 10,200 rpm durante un período de tiempo de 2 min y dejando secar a temperatura ambiente. De igual manera se procedió a disminuir la cantidad de material fotosensibilizador usado en los acoplamientos posteriores, utilizando 5 mg de ZnPc. Cabe resaltar que el resto de las proporciones se mantuvieron sin cambio.

### 5.3. Análisis de citocompatibilidad

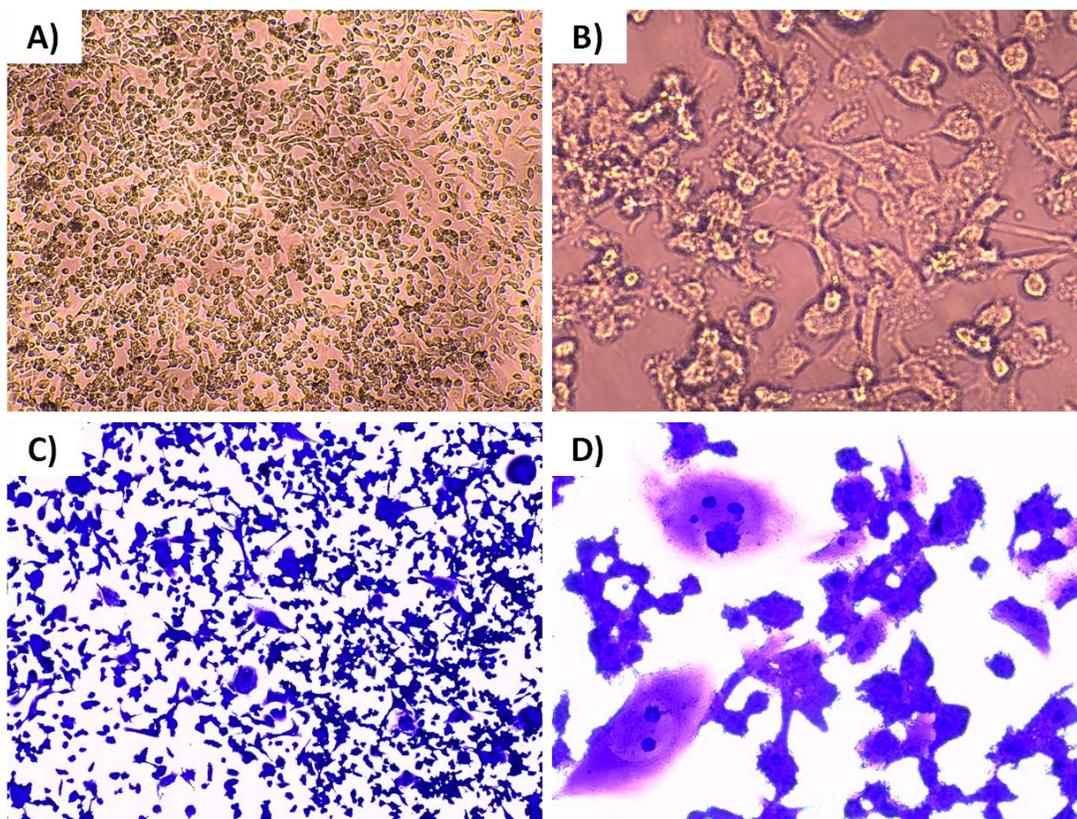
Los resultados a través del ensayo de viabilidad celular en células de cáncer de mama MDA-MB-231 para nanomateriales fueron plasmados en un gráfico estadístico (**Figura 59**), en donde la prueba ANOVA indicó que existe una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en la citocompatibilidad de las muestras dependiente de la concentración estudiada. Todos los sistemas, independientemente de su naturaleza presentaron niveles muy destacados de citocompatibilidad ( $> 80\%$ ) a concentraciones  $\leq 10 \mu\text{g/mL}$ . Lo anterior fue un gran indicio de que estos materiales por sí mismos a dichas concentraciones no afectan la estructura celular, sin embargo aún se sigue trabajando en la búsqueda de un porcentaje mayor en citocompatibilidad, a través de modificaciones en temperatura o tiempo de reacción.

Sin embargo, un detalle tomado a consideración fue la baja solubilidad de los nanotubos al momento de llevar a cabo este procedimiento experimental, los cuales fueron dispersados en EtOH 4 h previo a que fueran depositados en los pozos de la placa celular, ya que para evitar este proceso es necesario llevar a cabo una modificación estructural de la ZnPc con grupos

funcionales hidrofílicos. Esto además de facilitar la parte experimental de este estudio, podría mejorar la internalización en ambientes biológicos sin complicación alguna.

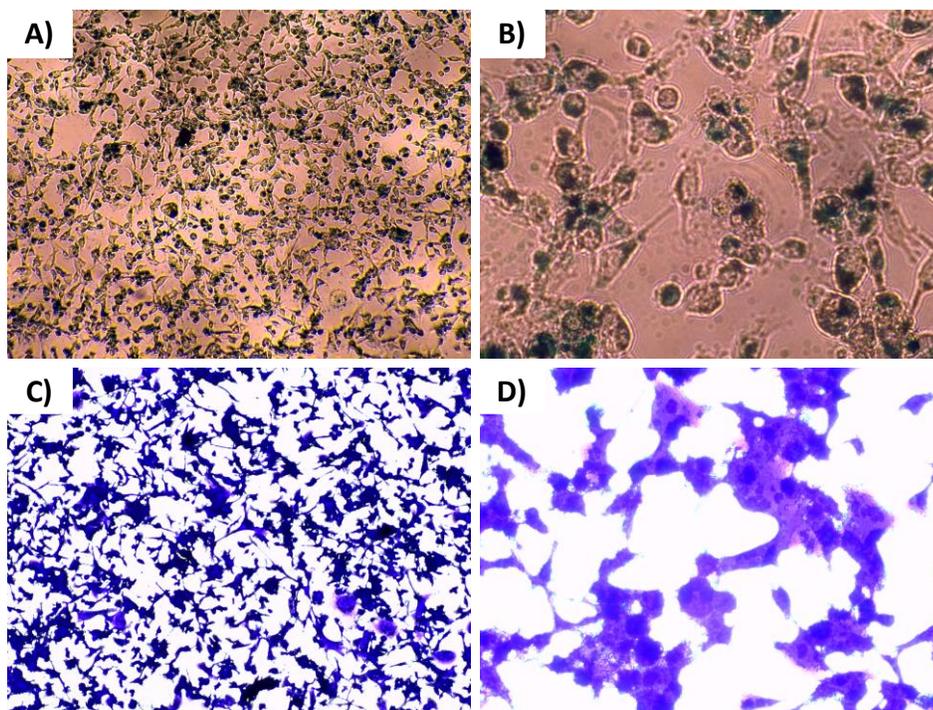


**Figura 59.** Citocompatibilidad de los sistemas SWNTCs-p, SWNTCs-A1, SWNTCs-A1/ZnPc(5) y ZnPc a valores de concentración de 100, 10, 1 y 0.1 µg/mL a 48 h después del tratamiento. Los corchetes relacionan muestras que presentaron una diferencia estadísticamente significativa entre si ( $p < 0.05$ ).



**Figura 60.** Micrografías de células MDA-MB-231 usadas como control tras 48 h. **A)** Células sin tinción y **C)** teñidas con cristal violeta (magnificación 4x). **B)** Células sin tinción y **D)** teñidas con cristal violeta (magnificación 20x).

En las **Figuras 60** y **67** se presentan las micrografías ópticas de células teñidas y sin teñir expuestas a las distintas muestras objeto de estudio y PBS (control). En general, se observó que para la concentración más alta (100  $\mu\text{g/mL}$ ), todas las células exhibieron la presencia de aglomerados, mismos que no fueron observables en las micrografías de las células usadas como control (**Figura 60**). Por otro lado, las células de control se mantuvieron intactas durante su proliferación tras 48 h.



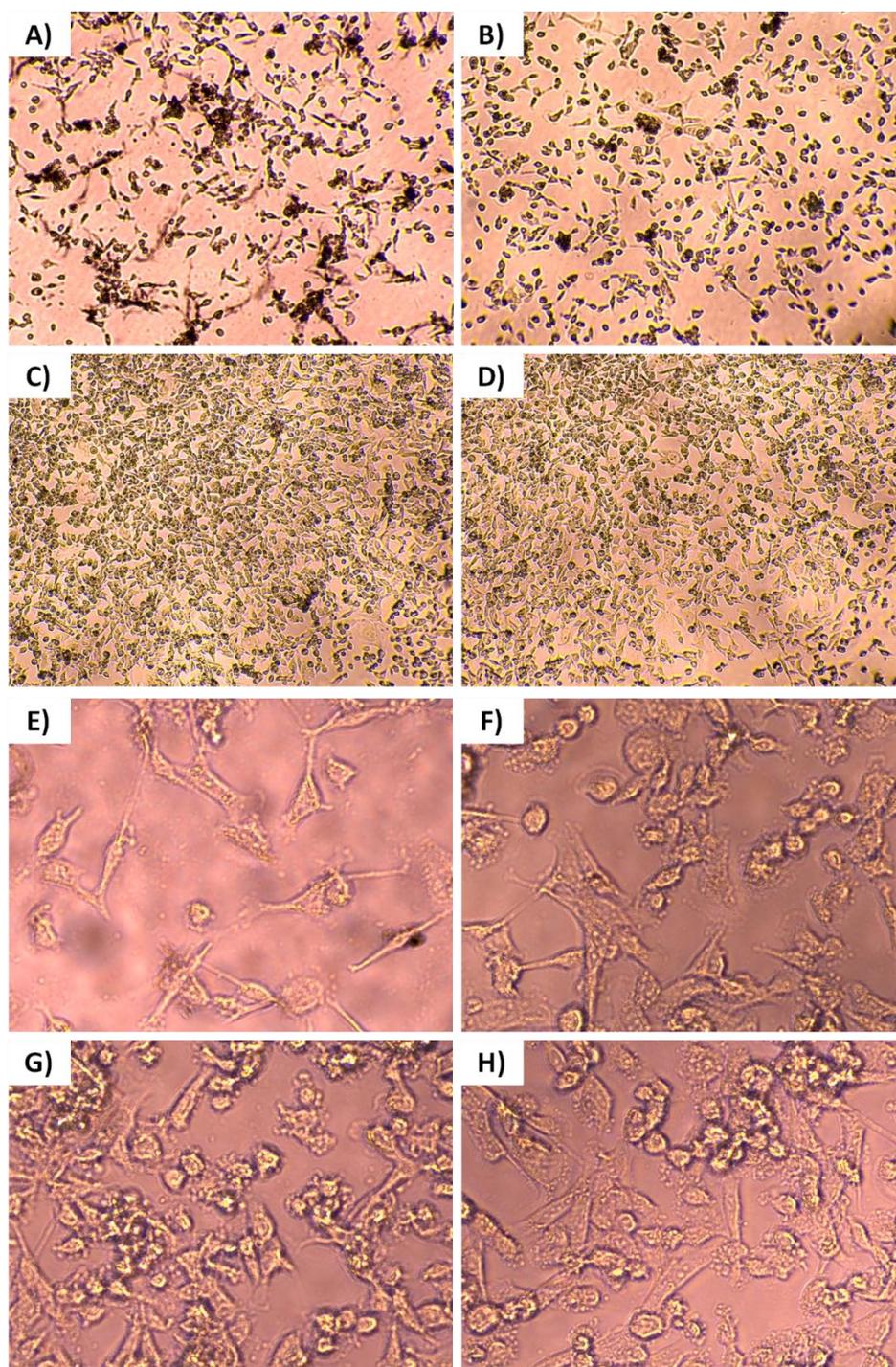
**Figura 61.** Micrografías de células MDA-MB-231 después de ser tratadas 48 h con ZnPc (100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). **A)** Células sin tinción y **C)** teñidas con cristal violeta (magnificación 4x). **B)** Células sin tinción y **D)** teñidas con cristal violeta (magnificación 20x)

El estudio celular efectuado utilizando ZnPc a 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  trajo como consecuencia una reducción en el porcentaje de la citocompatibilidad, lo cual fue notorio al observar células dañadas, no unidas y deformadas (**Figura 61**). Por otra parte, las micrografías en las cuales fueron empleados 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de los nanomateriales se observó una mayor cantidad de células con una morfología deteriorada y poca cohesión entre ellas. Conforme se redujo la concentración se visualizó una mayor cantidad de células estables para cada material, esto también se pudo corroborar a partir de las imágenes teñidas, en donde se apreciaron más detalladamente la morfología celular.

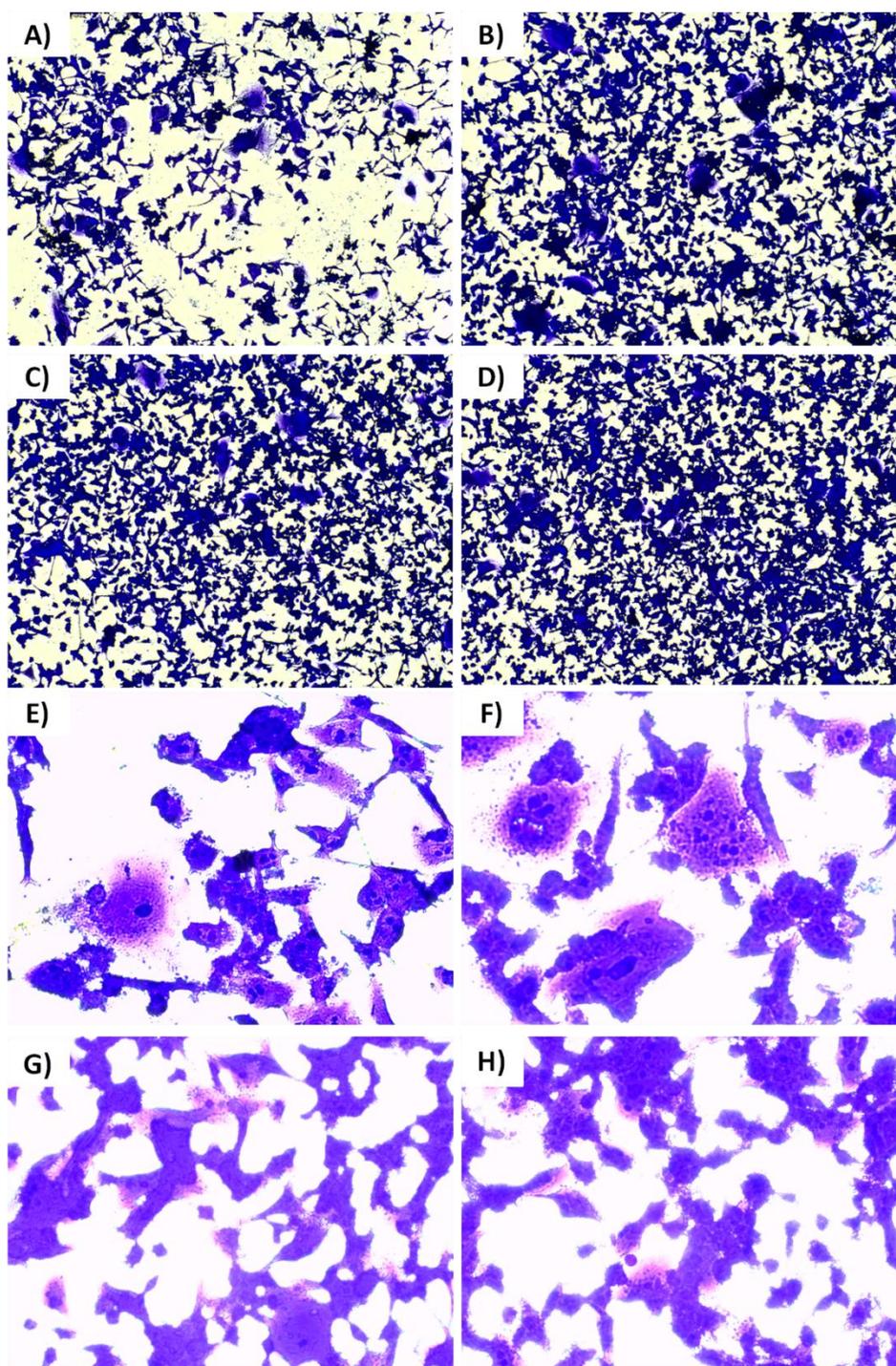
Las micrografías obtenidas de los SWNTCs-p/ZnPc(1) (**Figura 62**) a valores de concentración de 100 y 10  $\mu\text{g/mL}$  se observaron células amorfas, poco unidas entre sí y aglomerados oscuros atribuidos al nanomaterial. Un cambio notorio fue percibido tras disminuir la concentración, visualizando una mayor citocompatibilidad. Esto mismo fue perceptible para las micrografías en las cuales se uso tinción con cristal violeta (**Figura 63**), ya que el daño en la membrana celular fue mucho más notorio con esta técnica al mayor valor de concentración.

En el caso de los SWNTCs-A1 (**Figura 64**) para el valor máximo de concentración en relación a los NTCs prístinos acoplados a la ZnPc, se observó una mayor cantidad de células, lo cual fue posible corroborar por el estudio estadístico. También se vió una mayor cantidad aglomerados, los cuales fueron perceptibles en la **Figura 65**. Probablemente esto se haya debido a la presencia de los grupos amino derivados de la funcionalización.

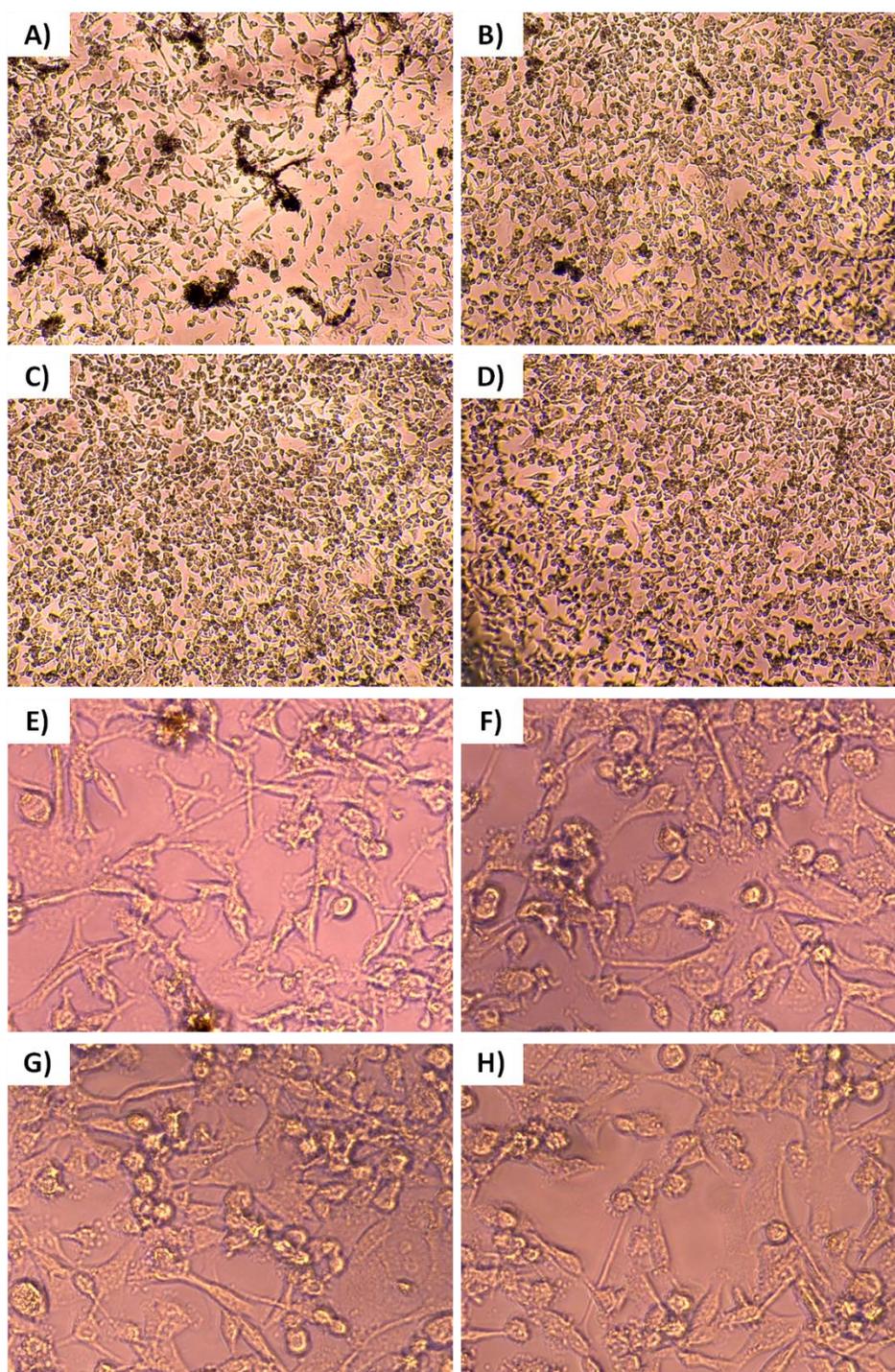
Por último, en las **Figuras 66 y 67**, en las cuales se visualizó la citocompatibilidad del sistema SWNTCs-A1/ZnPc(5), se observa un mayor porcentaje de células vivas a una concentración de 1.0  $\mu\text{g/mL}$ , lo cual se corroboró en las imágenes obtenidas con tinción. A pesar de existir una notoria disminución en las células, estas no se encontraron tan deformadas en comparación al resto de los estudios. En este caso no fue posible apreciar aglomerados, solo se visualizaron manchas oscuras.



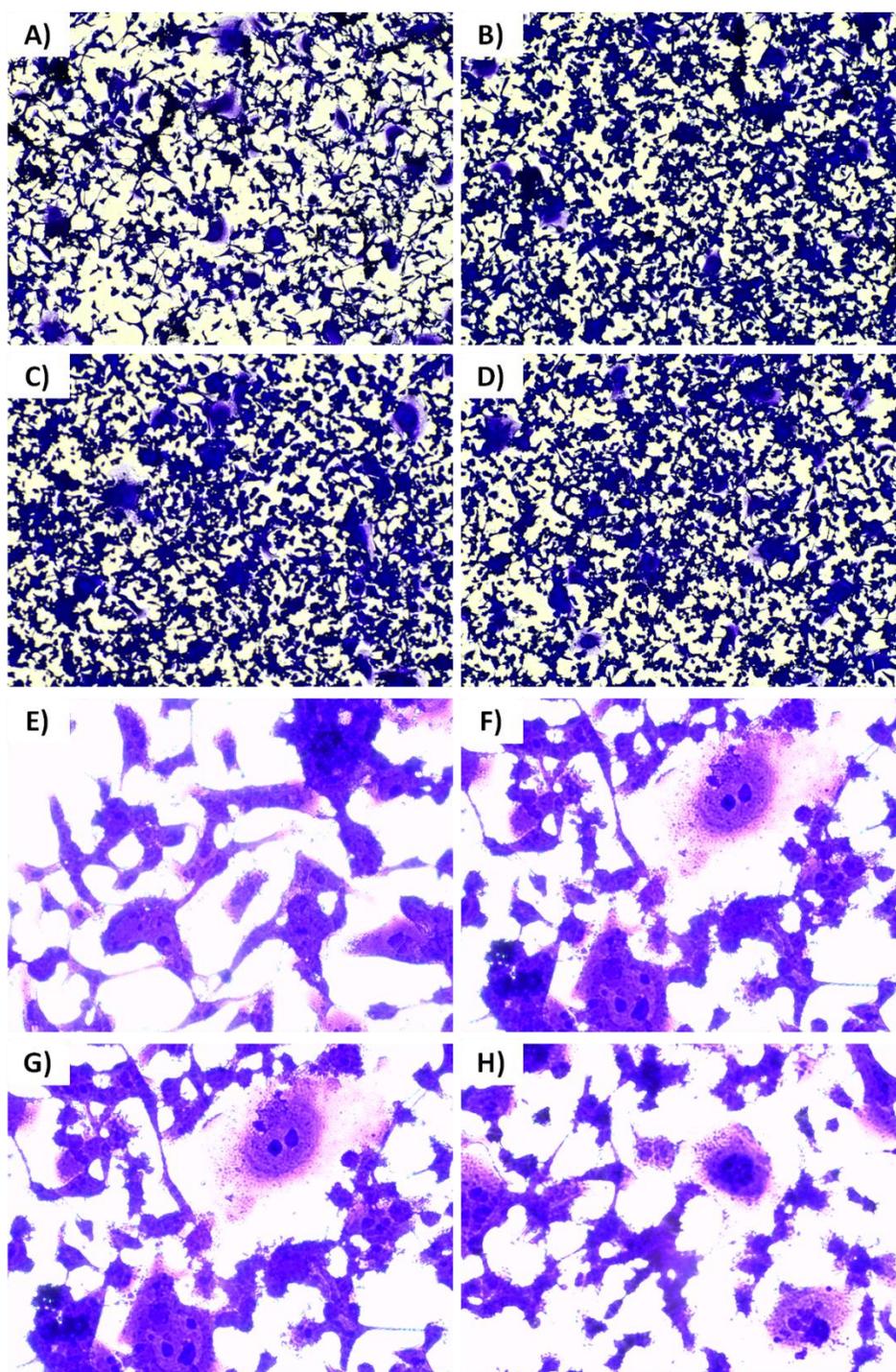
**Figura 62.** Micrografías de células MDA-MB-231 sin tinción tras 48 h con SWNTCs-p/ZnPc(1) a **A)** 100, **B)** 10, **C)** 1.0, **D)** 0.1  $\mu\text{g/mL}$  con magnificación de 4x, y **E)** 100, **F)** 10, **G)** 1.0, **H)** 0.1  $\mu\text{g/mL}$  con magnificación de 20x.



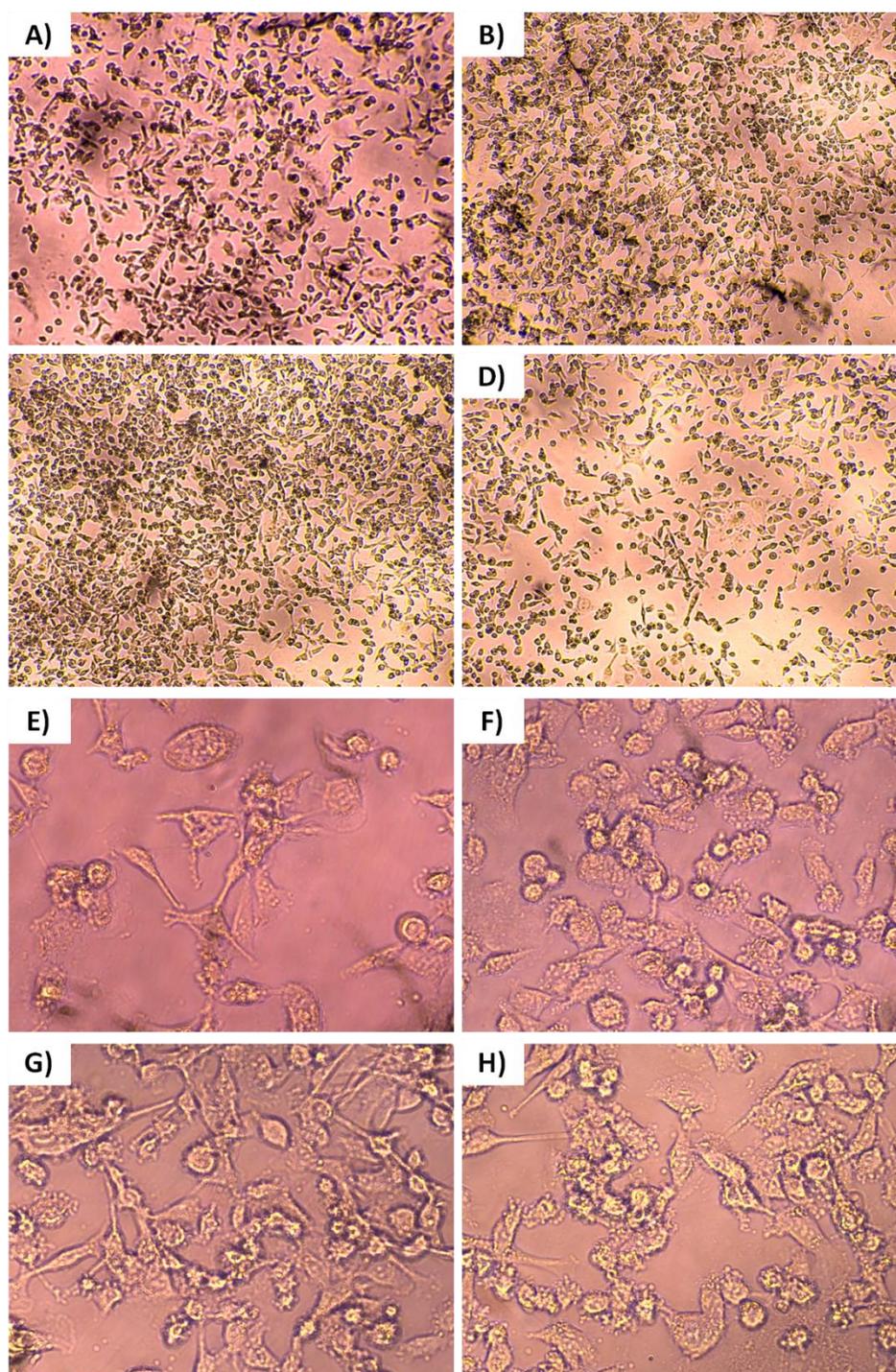
**Figura 63.** Micrográficas de células MDA-MB-231 teñidas con cristal violeta tras 48 h con SWNTCs-p/ZnPc(1) a **A)** 100, **B)** 10, **C)** 1.0, **D)** 0.1  $\mu\text{g/mL}$  con magnificación de 4x, y **E)** 100, **F)** 10, **G)** 1.0, **H)** 0.1  $\mu\text{g/mL}$  con magnificación de 20x.



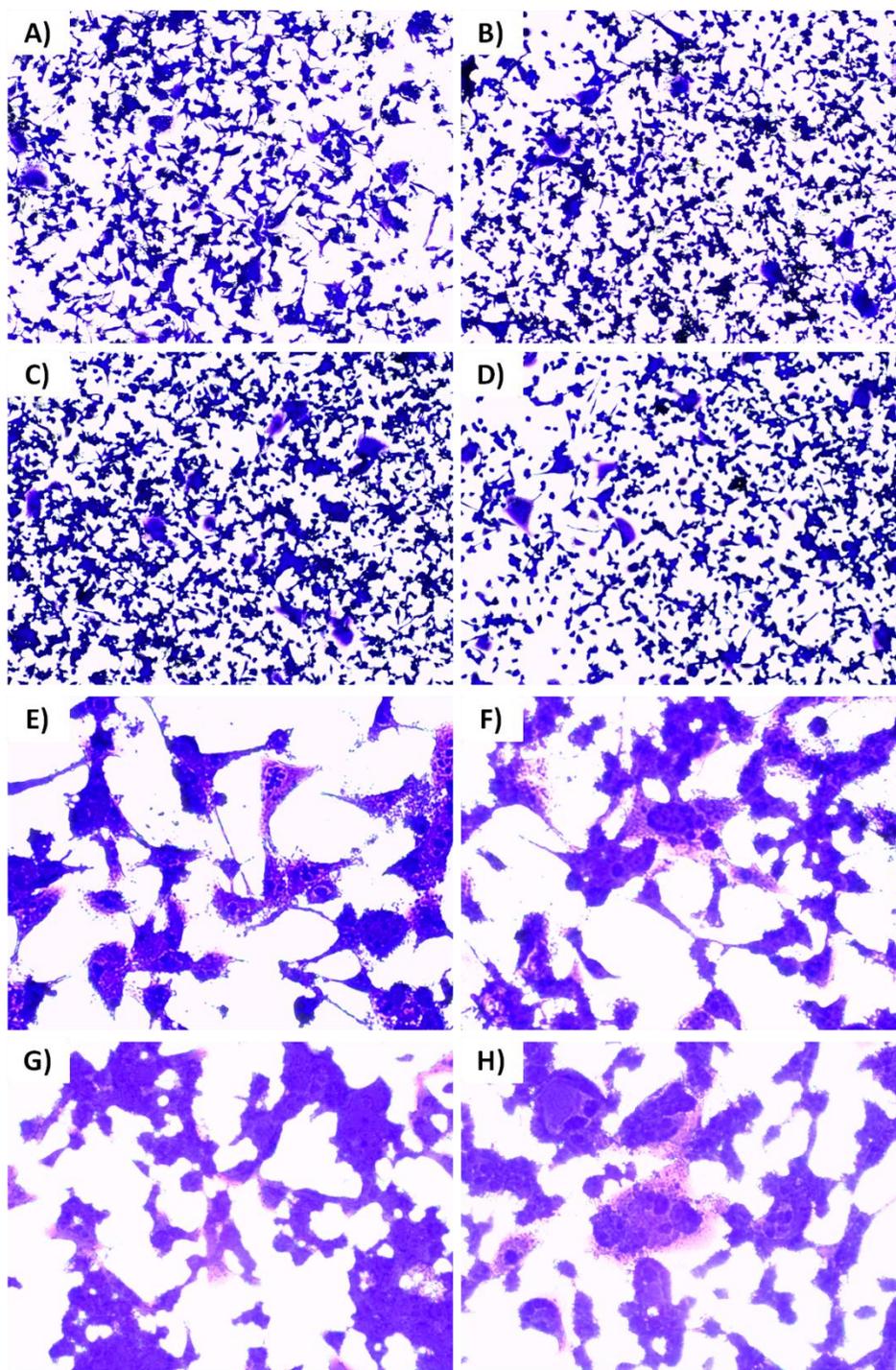
**Figura 64.** Micrografías de células MDA-MB-231 sin tinción tras 48 h con SWNTCs-A1 a **A)** 100, **B)** 10, **C)** 1.0, **D)** 0.1 µg/mL con magnificación de 4x, y **E)** 100, **F)** 10, **G)** 1.0, **H)** 0.1 µg/mL con magnificación de 20x.



**Figura 65.** Micrográficas de células MDA-MB-231 teñidas con cristal violeta tras 48 h con SWNTCs-A1 a **A)** 100, **B)** 10, **C)** 1.0, **D)** 0.1 µg/mL con magnificación de 4x, y **E)** 100, **F)** 10, **G)** 1.0, **H)** 0.1 µg/mL y con magnificación de 20x.



**Figura 66.** Micrografías de células MDA-MB-231 sin tinción tras 48 h con SWNTCs-A1/ZnPc(5) a **A)** 100, **B)** 10, **C)** 1.0, **D)** 0.1 µg/mL con magnificación de 4x, y **E)** 100, **F)** 10, **G)** 1.0, **H)** 0.1 µg/mL con magnificación de 20x.



**Figura 67.** Micrográficas de células MDA-MB-231 teñidas con cristal violeta tras 48 h con SWNTCs-A1/ZnPc(5) a **A)** 100, **B)** 10, **C)** 1.0, **D)** 0.1  $\mu\text{g/mL}$  con magnificación 4x, y **E)** 100, **F)** 10, **G)** 1.0, **H)** 0.1  $\mu\text{g/mL}$  con magnificación de 20x.

## VI. CONCLUSIONES

- El análisis por microscopía FESEM indicó la presencia de la ZnPc en cada nanomaterial analizado, denotando el sistema SWNTCs-A1/ZnPc(5) manifestó una mejor distribución del Ps.
- Factores como el tiempo de reacción y temperatura durante el proceso de síntesis por microondas, y el tiempo de sonicado para la obtención de las nanoestructuras, influyeron notablemente en las características de los nanotubos, sobre todo en la capacidad de adsorción.
- Los sistemas nanoestructurados obtenidos presentaron la formación de una nueva banda de absorción hacia una longitud de onda cercana a los 700 nm, lo cual indicó un efecto sinérgico entre los SWNTCs funcionalizados y la ZnPc.
- El nanomaterial SWNTCs-A1/ZnPc(5) demostró excelentes resultados de citocompatibilidad en células de cáncer de mama MDA-MB-23 con un porcentaje de supervivencia cercano al 95%.
- Los estudios por espectroscopia IR sobre los nanotubos funcionalizados denotaron la presencia de señales de vibración de estiramiento del grupo  $-NH_2$ , revelando una adecuada funcionalización.
- El monitoreo por espectroscopia IR y UV/vis realizado a los sobrenadantes durante el proceso de sonicado denotó una disminución en las señales típicas de la ZnPc, con lo cual se indicó que el compuesto fotosensible se acopló al nanotubo exitosamente.
- Los espectros por espectroscopia IR manifestaron en cada nanomaterial la presencia de señales típicas de la ZnPc. Por otra parte, el análisis del sobrenadante dió como resultado

el espectro del EtOH, esto revela que el baño ultrasónico no modifica estructuralmente los productos obtenidos.

- Se determinó el uso del baño ultrasónico como una técnica eficiente para el acoplamiento entre la ZnPc y los SWNTCs, cuya técnica facilitó su dispersión en el medio de reacción.
- Se asumió que la manera en la cual interactúan los nanotubos con la ZnPc es mediante interacciones del tipo  $\pi\pi$ , en base a lo observado por microscopía FESEM para el acoplamiento dado por los SWNTCs-p y la sustancia fotosensibilizadora.
- Se asumió que el zinc interactúa con los grupos amino de los SWNTCs-A1, y se consideró la posibilidad de modificar estructuralmente la ZnPc para facilitar la interacción entre los NTCs.
- La microscopía FESEM denotó la presencia de la ZnPc en forma de puntos negros distribuidos longitudinalmente sobre los NTCs y se corroboró mediante el análisis elemental EDX con la presencia del zinc.
- En los materiales en los cuales se emplearon 10 mg de la ZnPc resultaron poco eficientes en base a lo observado por espectroscopia UV/vis y microscopía FESEM, en este último visualizaron cristales de gran tamaño a consecuencia de una mala distribución del Ps.
- Los estudios biológicos realizados demostraron que los nanomateriales tienen una citocompatibilidad dependiente de la concentración e independiente de su naturaleza. A concentraciones  $\leq 10$  ug/mL todos los sistemas presentaron niveles destacados de citocompatibilidad, superiores al 80%.

---

## VII. FUENTES DE CONSULTA

- (1) Narayanan, D. L.; Saladi, R. N.; Fox, J. L. *Int. J. Dermatol.* **2010**, *49*, 978-986.
- (2) Leiva, M. H.; Beltrán, B. E.; Alarcón, E. A.; Puicón, J.; Marcial, E. J.; Capellino, A. R. A.; Salas, R. M. *Rev. Fac. Med. Hum.* **2020**, *20*, 464-470.
- (3) Parkin, D. M.; Pisani, P.; Ferlay, J. C. A. *Cancer J. Clin.* **1999**, *49*, 33-64.
- (4) Jemal, A.; Bray, F.; Center, M.; Ferlay, J.; Ward, E.; Forman, D. C. A. *Cancer J. Clin.* **2011**, *61*, 69-90.
- (5) Henley, S. J.; Thomas, C. C.; Weir, H. K.; Wu, M.; Benard, V. B.; Richardson, L. C.; Ward, E.; Sherman, R. L.; Kohler, B. A.; Scott, S.; Lewis, D. R.; Cronin, K.; Ma, J.; Islami, F.; Jemal, A.; Anderson, R. N.; Firth, A. U. *Cancer.* **2020**, *126*, 2225-2249.
- (6) Jones, P. A.; Baylin, S. B. *Cell.* **2007**, *128*, 683-692.
- (7) Peralta, R.; Valdivia, A.; Mendoza, M.; Rodriguez, J.; Marrero, D.; Paniagua, L.; Romero, P.; Taniguchi, K.; Salcedo, M. *Rev. Med. Inst. Mex. Seguro Soc.* **2015**, *53*, 178-187.
- (8) De la Garza, J. G.; Juárez, P. *El cáncer*; Universidad Autónoma de Nuevo León: México, 2014; pp 35-52.
- (9) De la Garza, J. G.; Juárez, P. *El cáncer*; Universidad Autónoma de Nuevo León: México, 2014; pp 59-82.
- (10) Lamas, B. *Nutrición*; Red Tercer Milenio: México, 2012, p 32.
- (11) Abrahamse, H.; Mfouo, I.; Kruger, A.; Mokwena, G. *Photodiagn. Photodyn. Ther.* **2018**, *22*, 147-154.
- (12) De la Garza, J. G.; Juárez, P. *El cáncer*; Universidad Autónoma de Nuevo León:

- 
- México, 2014; pp 97-143.
- (13) Kuri, W.; Castro, F. En: Teorías y hechos sobre la vida. Las células; Muñoz, J., Ed.; Consejo Nacional de Fomento Educativo y Editorial Alhambra Mexicana S. A. de C. V.: Mexico, 1987, capítulo 18, pp 199-219.
- (14) Milena, A.; Vanaccia, S.; Quiceno, J.; Riveros, M. *Psicología desde el Caribe*. **2007**, *20*, 50-75.
- (15) Caicedo, J. J.; Quintero, E.; Robledo, J. F.; Perry, F.; Ramirez, C.; Duarte, C.; Angel, J.; Diaz, S.; Orozco, A.; Viaña, L. F.; Torregrosa, E.; Torres, F.; Sanchez, R. *Rev. Colomb. Cir.* **2007**, *22*, 47-71.
- (16) Melado, L.; Hernández G.; Muñoz, M.; García, J.; Santo, J. O. *Prog Obstet Ginecol*. **2009**, *52*, 14-24.
- (17) Galán, E. F.; Puerto, D. N. Manual para la detección temprana del cáncer de piel y recomendaciones para la disminución de exposición a radiación ultravioleta; Instituto Nacional de Cancerología ESE: Colombia, 2015, pp 12-14.
- (18) Navarrete, G. *G Rev. Fac. Med. UNAM*. **2003**, *46*, 130-133.
- (19) Buendía, A.; Mazuecos, J.; Camacho, F. M. *Manual de dermatología Vol. 1*; Grupo Aula Médica S. L.: España, 2018; pp 2-27.
- (20) Galán, E. F.; Puerto, D. N. Manual para la detección temprana del cáncer de piel y recomendaciones para la disminución de exposición a radiación ultravioleta; Instituto Nacional de Cancerología ESE: Colombia, 2015, pp 14-62.
- (21) Gloster, H. M.; Neal, K. *J. Am. Acad. Dermatol*. **2006**, *55*, 741-760.
- (22) Esteva, A.; Kuprel, B.; Novoa, R. A.; Ko, J.; Swetter, S. M.; Blau, H. M.; Thrun, S. *Nature*. **2017**, *542*, 115-118.

- 
- (23) Nizran, P.; Linares, M. A.; Zakaria, A. *Prim. Care. Clin. Office Pract.* **2015**, *42*, 645-659.
- (24) Castañera, P.; Eljure, J. *Revista de la facultad de medicina de la UNAM.* 2016, *59*, 6-14.
- (25) Mahler, V.; Diepgen, T. L. *Br. J. Dermatol.* **2002**, *146*, 1-6.
- (26) Martínez, G. *Rev. Cubana Farm.* 2005, *39*, 0-0.
- (27) Carvajal, C. *Rev. Med. Leg. Costa Rica.* **2019**, *36*, 91-100.
- (28) Salazar, M. *Síntesis y caracterización de ftalocianinas de silicio como precursores de fármacos para terapia fotodinámica contra el cáncer.* Tesis de fin de grado en farmacia, Universitas Miguel Hernández, Facultad de Farmacia, Elche, España, 2015, p 1-3.
- (29) Ledesma, C. *Evaluación de una estrategia terapéutica para el cáncer colorectal basada en fototerapia: caracterización y efectos sobre la viabilidad celular de un derivado de las ftalocianinas.* Tesis de maestro en investigación biomédica, Universidad de Valencia, Valencia, España, 2016, p 3-9.
- (30) Pedraza, J.; Cárdenas, N. *Educ. Química.* **2006**, *17*, 164-173.
- (31) García, D. *Tecnia.* **2010**, *20*, 5-11.
- (32) Ruiz, J.; Rebollo, N. *Dermatología Rev. Mex.* **2009**, *53*, 178-186.
- (33) Orellana, G.; Villén, L.; Jiménez, M. E. *Desinfección mediante fotosensibilizadores: Principios básicos. SolarSafeWater: Tecnologías solares para la desinfección y descontaminación del agua;* J. Blanco and MA Blesa, Unsam: San Martín, Argentina, 2015, pp 237-251.
- (34) García, D. *Fotosensibilización y el sensibilizador: síntesis, propiedades y limitaciones. SolarSafeWater: Tecnologías solares para la desinfección y descontaminación del*

- 
- agua*; J. Blanco and MA Blesa, Unsam: San Martín, Argentina, 2015, pp 227-242.
- (35) González, P.; Regadera, J.; Juarranz, A. *Arch. Esp. Urol.* **2008**, *61*, 1135-1144.
- (36) Moreno, G. A.; Eng, A.; Alvarado, A.; Camps, A. *Med Cutan. Iber. Lat. Am.* **2007**, *35*, 255-268.
- (37) Passardi, S.; Galimberti, G.; Galimberti, R. *Dermatología C. M. Q.* **2016**, *14*, 12-16.
- (38) Abrahamse, H.; Hamblin, M. R. *Biochem. J.* **2016**, *473*, 347-364.
- (39) Allison, R. R.; Downie, G. H.; Cuenca, R.; Hu, X.; Childs, C.; Sibata, C. H. *Photodiagn. Photodyn. Ther.* **2007**, *1*, 27-42.
- (40) Salazar, M. *Síntesis y caracterización de ftalocianinas de silicio como precursores de fármacos para terapia fotodinámica contra el cáncer*. Tesis de fin de grado en farmacia, Universitas Miguel Hernández, Facultad de Farmacia, Elche, España, 2015, p 3-9.
- (41) Nyokong, T.; Matshitse, R.; Ngoy, B. P.; Managa, M.; Mack, J. *Photodiagn. Photodyn. Ther.* **2019**, *26*, 101-110.
- (42) Kobayashi, N. *Curr. Opin. in Solid State Mater. Sci.* **1999**, *4*, 345-353.
- (43) Kharisov, B. I.; Garza, L. A.; Leonor, B. *Ingenierias.* **2004**, *7*, 71-84.
- (44) Arslan, S. *J. Life Sci.* **2016**, *6*, 189-197.
- (45) Sakamoto, K.; Ohno, E. *Materials.* **2009**, *2*, 1127-1179.
- (46) Owens, J. W.; Smith, R.; Robinson, R.; Robins, M. *Inorg. Chim. Acta.* **1998**, *279*, 226-231.
- (47) Ballesteros, B. *Nuevos sistemas dador-aceptor ftalocianina-fulereno y ftalocianina-nanotubo: síntesis, caracterización y estudios fotofísicos*. Tesis de doctor en ciencias químicas, Universidad Autónoma de Madrid, Facultad de ciencias, Departamento de química organicas, Madrid, España, 2008, p 9-28.

- 
- (48) Ghani, F.; Kristen, J.; Riegler, H. *J. Chem. Eng. Data.* **2012**, *57*, 439-449.
- (49) Darwent, J. R.; Douglas, P.; Harriman, A.; Porter, G.; Richoux, M. *Coord. Chem. Rev.* **1982**, *44*, 83-126.
- (50) Nemykin, V.; Lukyanets, E. *Arkivoc.* **2010**, *1*, 136-208.
- (51) Zheng, G.; Lovell, J. F.; Liu, T. W. B.; Chen, J. *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 2839-2857.
- (52) Kharisov, B. I. *Ingenierias.* **2003**, *6*, 3-5.
- (53) Huang, Z. *Technol. Cancer Res. Treat.* **2005**, *4*, 283-293.
- (54) Griffiths, J.; Schofield, J.; Wainwright, M.; Brown, S. B. *Dyes Pigm.* **1997**, *33*, 65-78.
- (55) Cañete, M.; Soriano, J.; Villanueva, A.; Stockert, J. C. *Int. J. Mol. Sci.* **2014**, *15*, 22772-22785.
- (56) Chen, N.; Jia, L.; Shao, J.; Xue, J.; Dai, Y.; Liu, H.; Huang, J. *Eur. J. Cancer.* **2012**, *48*, 2086-2096.
- (57) Nakashima, N.; Murakami, Hiroto.; Nomura, T. *Chem. Phys. Lett.* **2003**, *378*, 481-485.
- (58) Assali, M. *Nanotubos de carbono biocompatibles: síntesis y aplicaciones en la biomedicina*. Tesis de doctor, Universidad de Sevilla, Instituto de Investigaciones Químicas, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Sevilla, España, 2012.
- (59) Wu, Y. *Nanotubos de nitruro de boro: propiedades fisicoquímicas y potenciales aplicaciones*. Tesis de fin de grado. Universidad Complutense, Facultad de farmacia, Madrid, España, 2017, pp 1-18.
- (60) Perfecto, C. *Síntesis y caracterización de nanotubos de carbono y nanohilos de silicio: aplicaciones tecnológicas*. Tesis de doctor. Universidad Autónoma de Madrid, Facultad de Ciencias, Departamento de Química Física Aplicada, Madrid, España, 2012, pp 7-16.
- (61) Askeland, D. *Ciencia e ingeniería de los materiales*; International Thomson Editores:

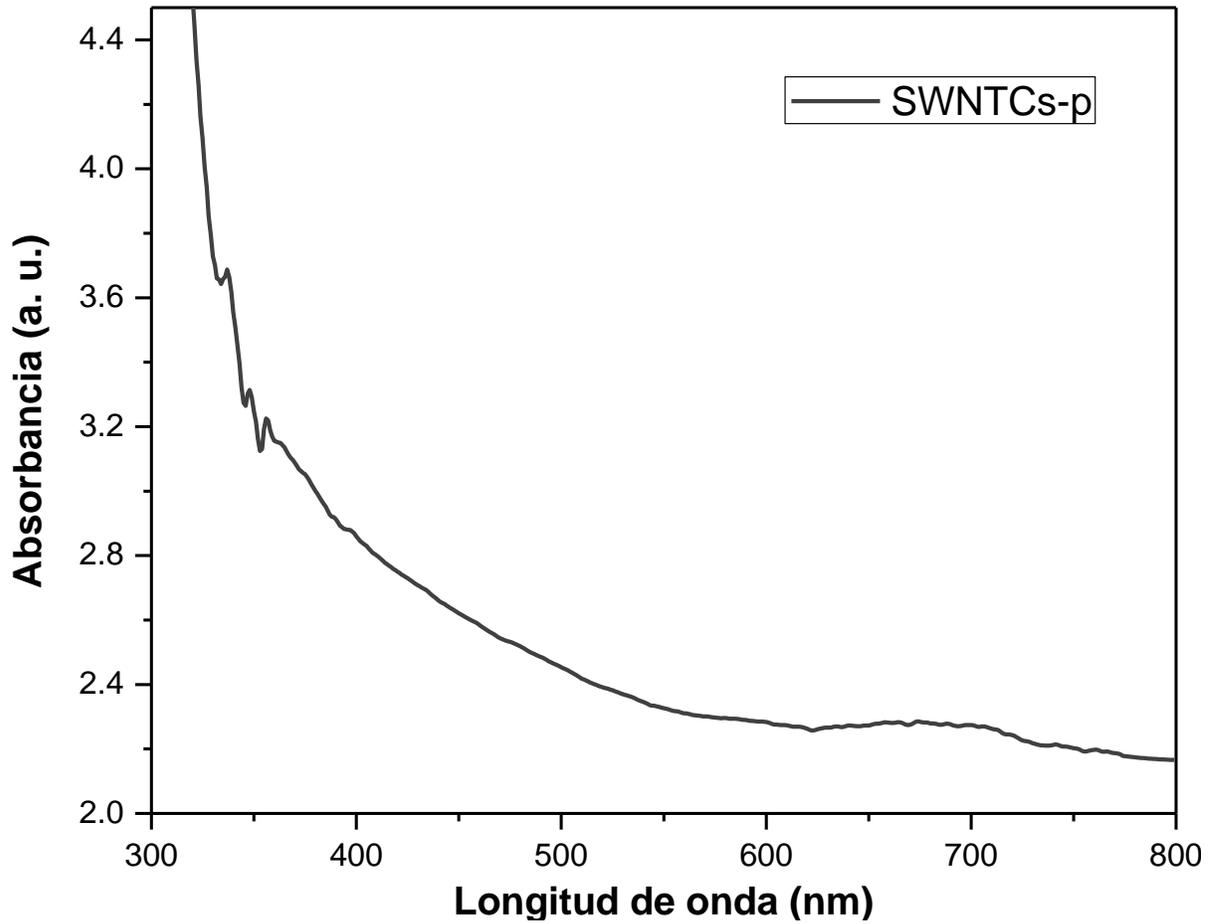
- 
- Mexico, 1998; pp 5-18.
- (62) Ballesteros, B. *Nuevos sistemas dador-aceptor ftalocianina-fulereno y ftalocianina-nanotubo: síntesis, caracterización y estudios fotofísicos*. Tesis de doctor en ciencias químicas, Universidad Autónoma de Madrid, Facultad de ciencias, Departamento de química orgánicas, Madrid, España, 2008, pp 3-8; 151-170.
- (63) Sá, J. J. *Nanotubos de carbono modificados con ftalocianina de cobalto (CoPc): Estudio de propiedades electrocatalíticas y aplicación como sensor para hidracina*. Tesis de maestro en química, Universidad Federal de Los Valles de Jequitinhonha y Mucuri, Diamantina, Brasil, 2011, pp 30-34.
- (64) Shackelford, J. *Introducción a la ciencia de los materiales para ingenieros*; Pearson Educación: Madrid, 2005; pp 140-144.
- (65) Liu, C.; Zhang, Y.; Zhang D. *J. Phys. Chem. B*. **2006**, *110*, 4671-4674.
- (66) Strano, M.; Dyke, C.; Ursey, M.; Barone, P.; Allen, M.; Shan, H.; Kittrel, C.; Hauge, R.; Tour, J.; Smalley, R. *Science*. **2003**, *301*, 1519-1522.
- (67) Autschbach, J.; Zurek, E. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 13079-13088.
- (68) Sá, J. J. *Nanotubos de carbono modificados con ftalocianina de cobalto (CoPc): Estudio de propiedades electrocatalíticas y aplicación como sensor para hidracina*. Tesis de maestro en química, Universidad Federal de Los Valles de Jequitinhonha y Mucuri, Diamantina, Brasil, 2011, pp 25-30.
- (69) Hirsch, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 1853-1859.
- (70) Sáenz, A.; Pérez, C.; López, L.; Barajas, L.; Cantú, L.; Ávila, C.; Cabello, C. *Rev. LatinAm. Metal. Mat.* **2015**, *35*, 27-33.
- (71) Misra, D. S.; Misra, A.; Tyagi, P.; Rai, P. *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2007**, *7*, 1820-1823.

- 
- (72) Song, Y.; Guo, Z.; Hu, J.; Shi, J.; Li, S.; Qin, Y.; Zhu, D. *Chem. Phys. Lett.* **2005**, *401*, 352-356.
- (73) Minati, L.; Speranza, G.; Torrenzo, S.; Toniutti, L.; Migliaresi, C.; Maniglio, D.; Ferrari, M.; Chiasera, A. *Surf. Sci.* **2010**, *604*, 1414-1419.
- (74) Rao, N.; Ramya, E.; Momen, N. *J. Nanosci.* **2018**, *18*, 4764-4770.
- (75) Pinillos, J. F.; Gallardo, C. *J. Appl. Pharm. Sci.* **2015**, *5*, 143-152.
- (76) Jain, S.; Thakare, V. S.; Das, M.; Jain, A. K.; Patil, S. *Nanomedicine.* **2010**, *5*, 1277-1301.
- (77) Van, J. E.; Allen, C.; Sharman, W. *J. Porphyrins Phthalocyanines.* **2001**, *5*, 161-169.
- (78) Torres, T.; Bottari, G.; Suanzes, J. A.; Trukhina, O. *J. Phys. Chem. Lett.* **2011**, *2*, 905-913.
- (79) Furuyama, T.; Satoh, K.; Kushiya, T.; Kobayashi, N. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 765-776.
- (80) Ballesteros, B. *Nuevos sistemas dador-aceptor ftalocianina-fulereno y ftalocianina-nanotubo: síntesis, caracterización y estudios fotofísicos.* Tesis de doctor en ciencias químicas, Universidad Autónoma de Madrid, Facultad de ciencias, Departamento de química orgánicas, Madrid, España, 2008, pp 40-42; 171-220.
- (81) Nyokong, T.; Ogbodu, R. O.; Antunes, E. *Plyhde.* **2013**, *60*, 59-67.
- (82) Guldi, D. M.; Torres, T.; Ballesteros, B.; De la Torre, G.; Ehli, C.; Amador, G. M.; Agulló, F. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 5061-5068.
- (83) Capidelli, S.; Ballesteros, B.; Filoramo, A.; Díaz, D.; De la Torre, G.; Torres, T.; Rahaman, G.; Ehli, C.; Kiessling, F.; Werner, F.; Sgobba, V.; Guldi, D.; Cioffi, C.; Prato, M.; Bourgoin, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 11503-11509.

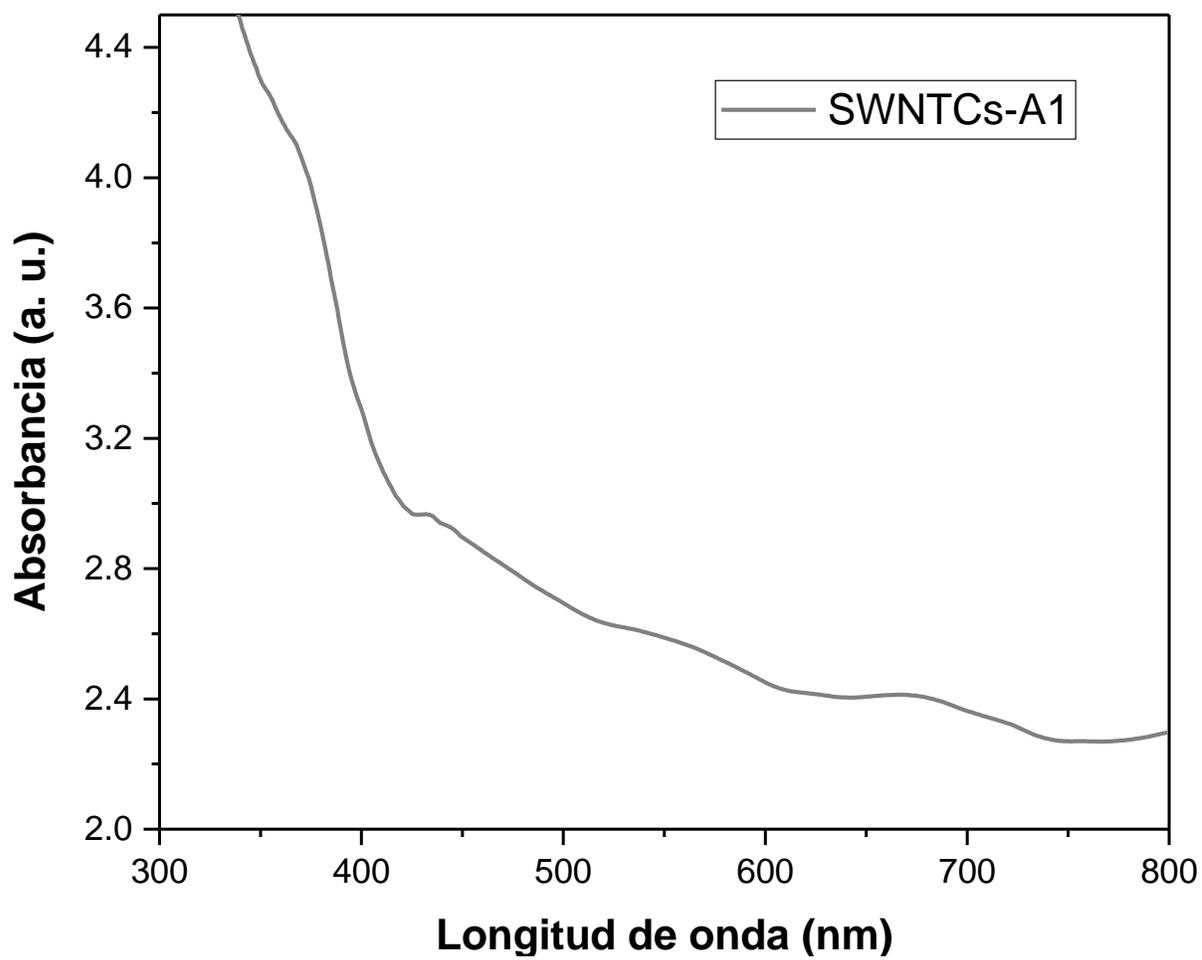
- 
- (84) Adronov, A.; Cheng, F. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 5053-5059.
- (85) Nyokong, T.; Matshitse, R., Khene, S. *Diam. Relat. Mater.* **2019**, *94*, 218-232.
- (86) Dai, L.; Xing, Y. *Nanomedicine.* **2019**, *4*, 207-218.
- (87) Szunerits, S.; Gary, M.; Durand, J.; Mauriello, C.; Knezevic, N.; Galán, R.; Boukherroub, R.; Teodorescu, F.; Croissant, J.; Hocine, O.; Seric, M.; Raehm, L.; Stojanovic, V.; Aggad, D.; Maynadier, M.; Garcia, M. *Mater. Chem. B.* **2016**, *4*, 5803-5808.
- (88) Senge, M. O.; Paszko, E.; Ehrhardt, C.; Kelleher, D. P.; Reynolds, J. V. *Photodiagn. Photodyn. Ther.* **2011**, *8*, 14-29.
- (89) Nyokong, T.; Matshitse, R., Managa, M. *Diam. Relat. Mater.* **2020**, *101*, 607-617.
- (90) He, F.; Yang, P.; Gai, S.; Yang, D.; Wang, Z.; Wang, C.; Yang, G.; Zhong, C.; Dai, Y. *Chem. Eng. J.* **2019**, *361*, 117-128.
- (91) Nyokong, T.; Chidawanyika, W. *Carbon.* **2010**, *48*, 2831-2838.
- (92) Nyokong, T.; Ogbodu, R. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2015**, *151*, 174-183.
- (93) Rivero, I. A.; Lopez, T. Ortiz, E.; Alvarez, M.; Navarrete, J.; Odriozola, J. A.; Martinez, F.; Pérez, E. A.; Escobar, P.; Espinoza, K. A. *Nanomedicine.* **2010**, *6*, 777-785.
- (94) Patsaeva, S.; Burikov, S.; Dolenko, T.; Starokurov, Y.; Yuzhakov, V. *Mol. Phys.* **2010**, *108*, 2427-2436.

## VIII. ANEXOS

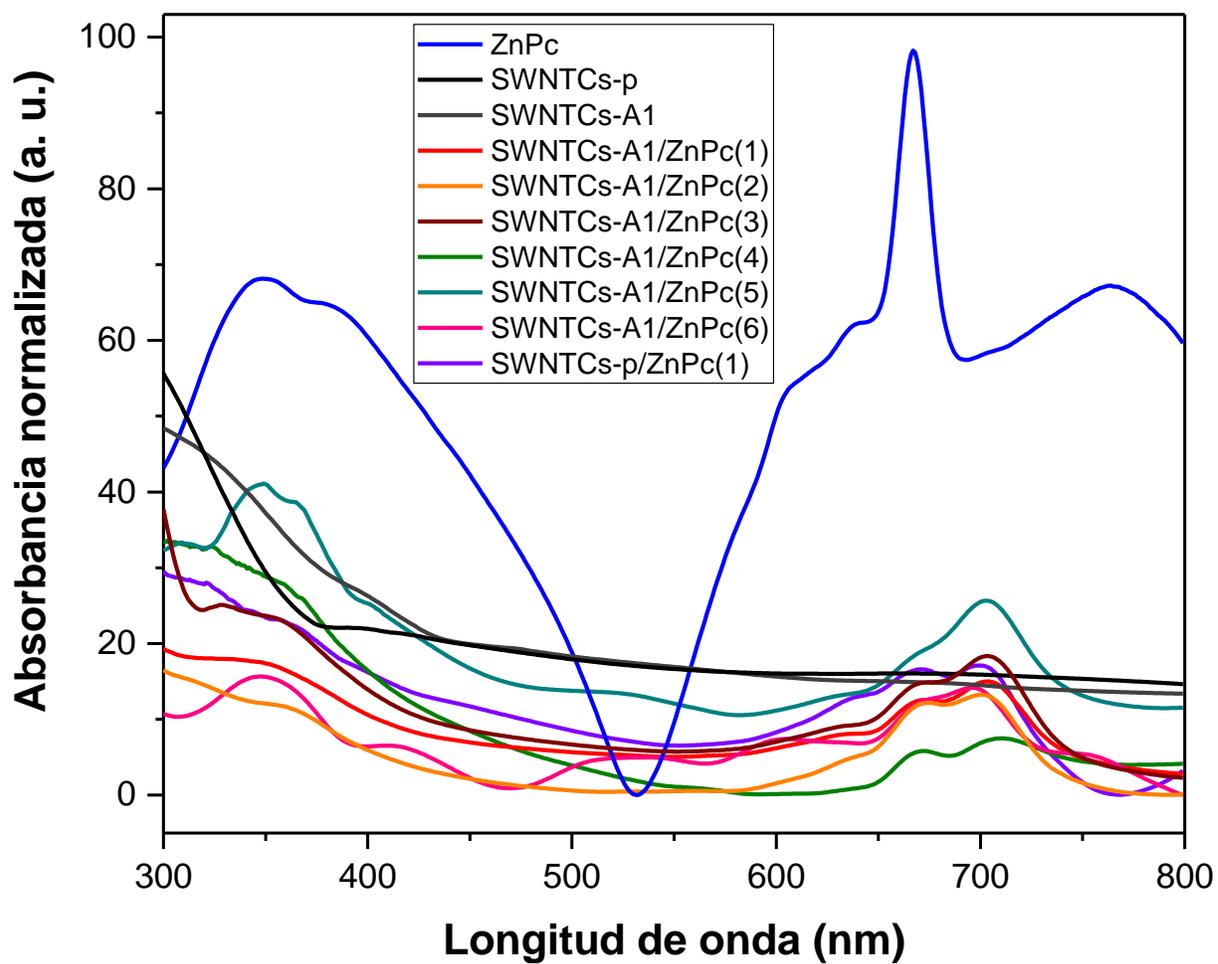
### 8.1. Caracterización espectroscópica por UV/vis.



**Figura 68.** Análisis UV/vis de los SWNTCs-p.

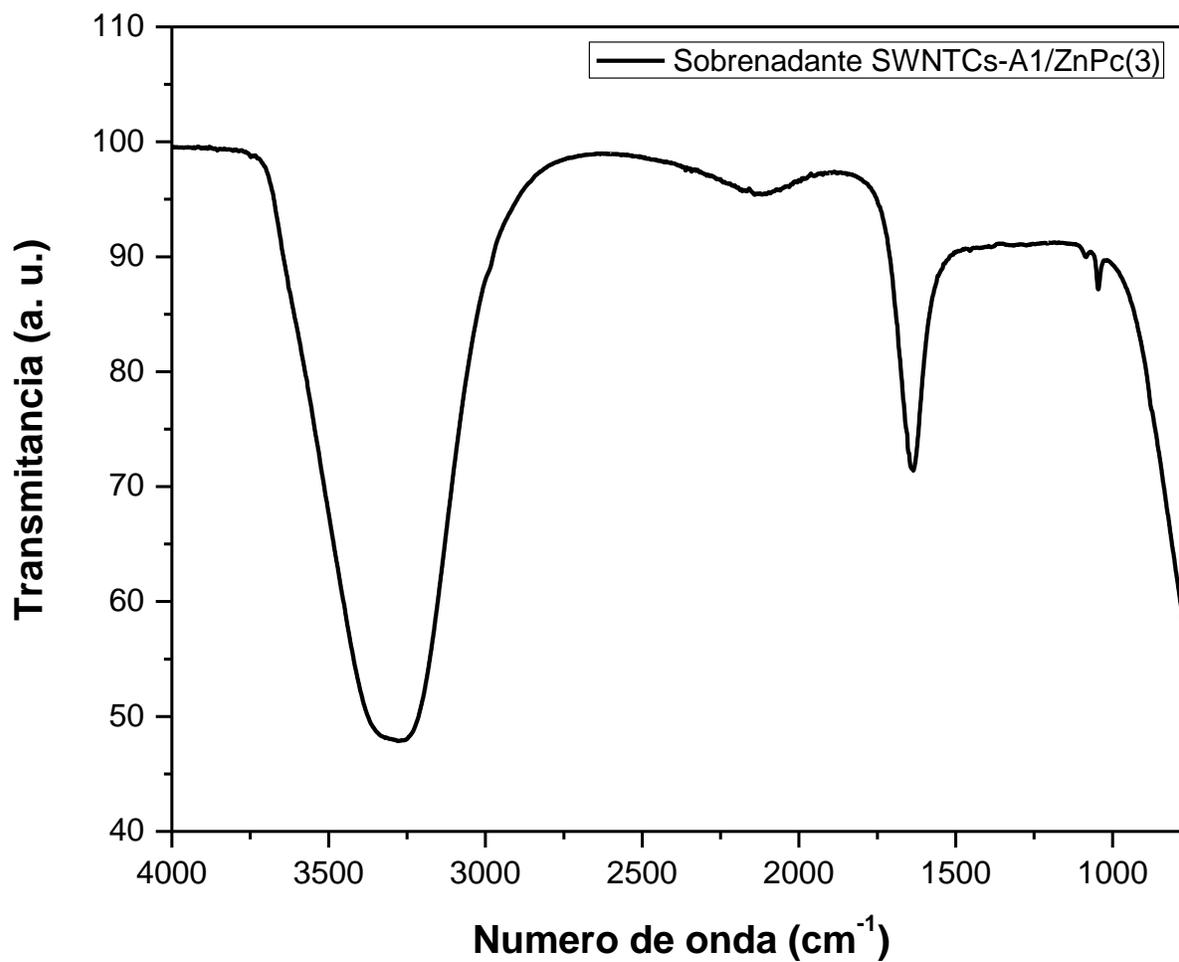


**Figura 69.** Análisis UV/vis de los SWNTCs-A1.

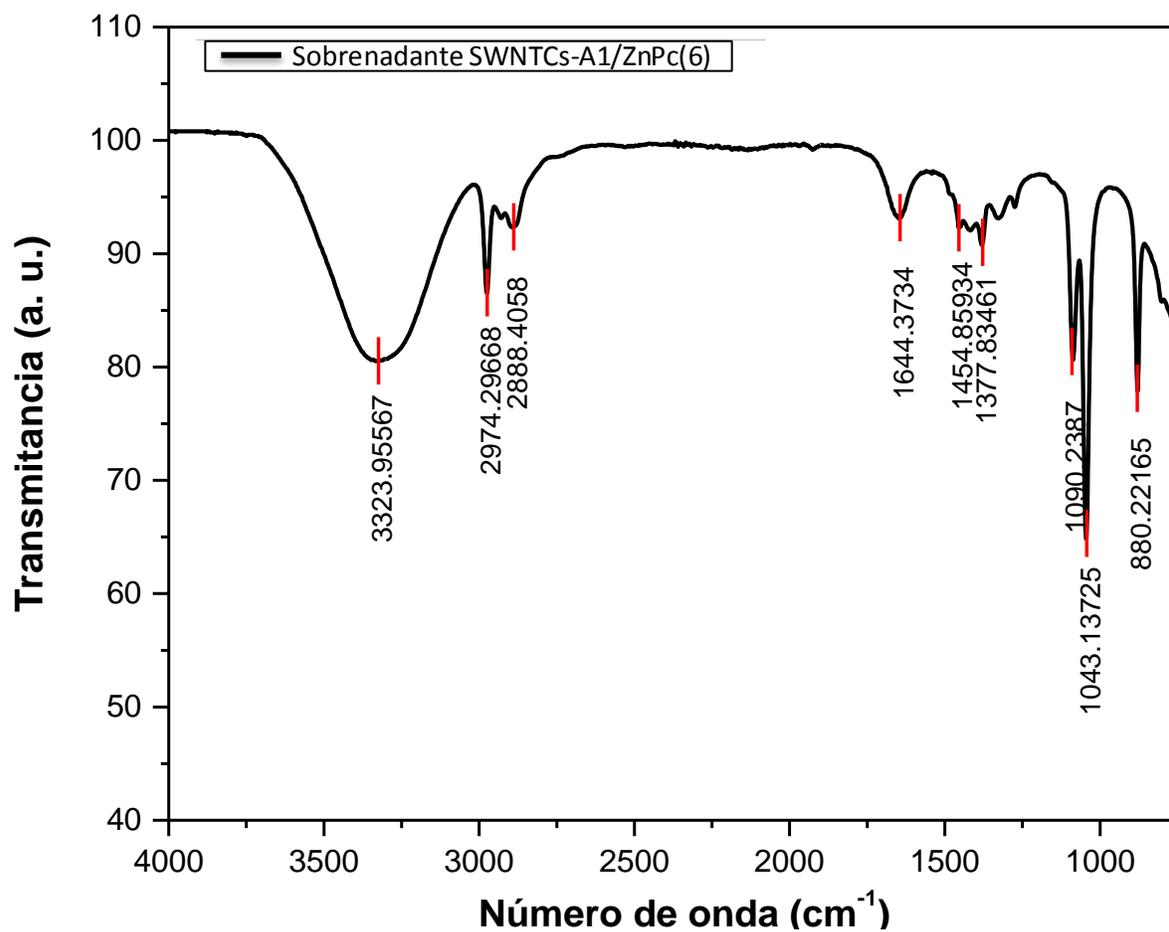


**Figura 70.** Análisis UV/vis normalizado respecto a la ZnPc de todos los sistemas nanoestructurados.

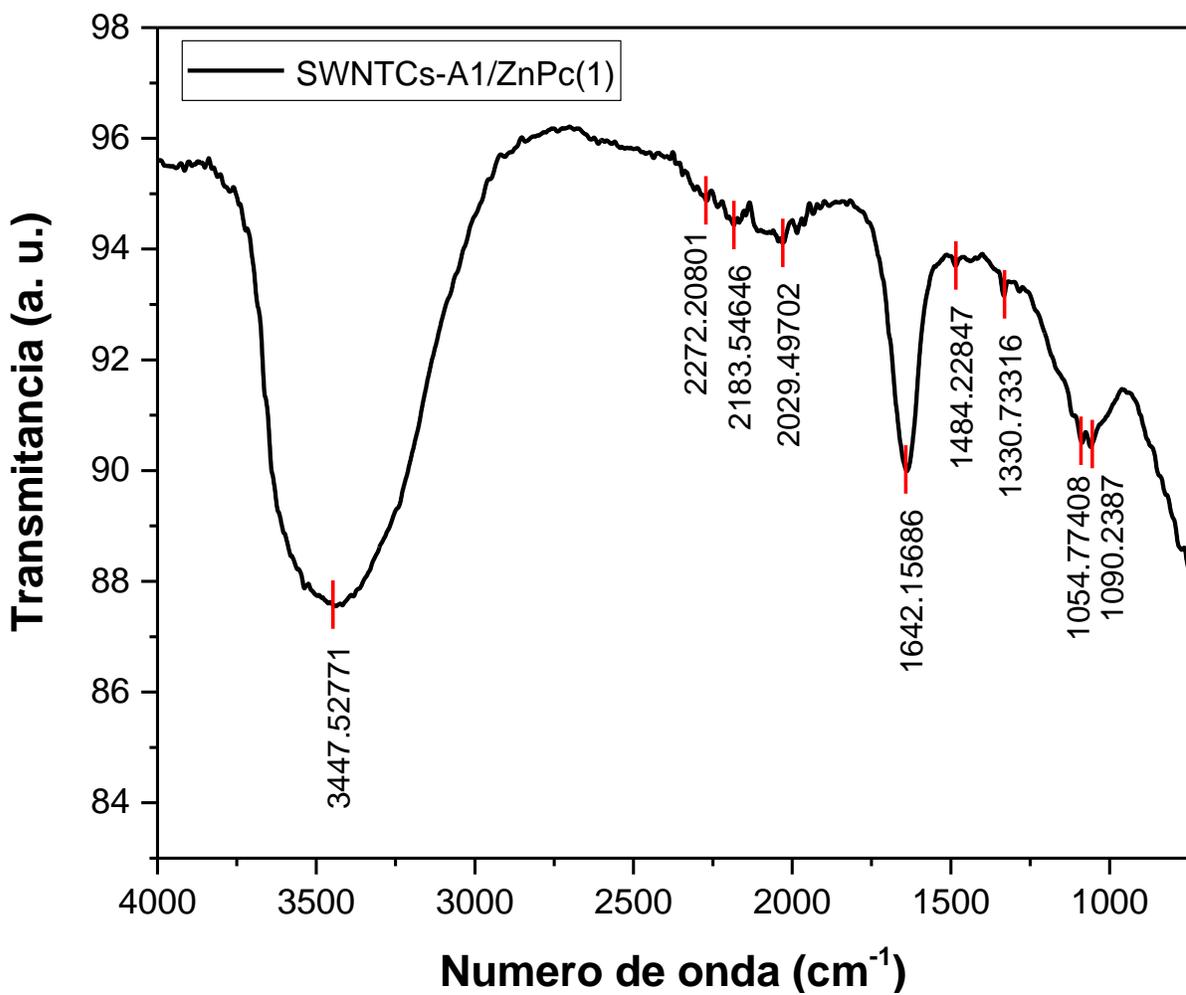
## 8.2. Caracterización espectroscópica por IR.



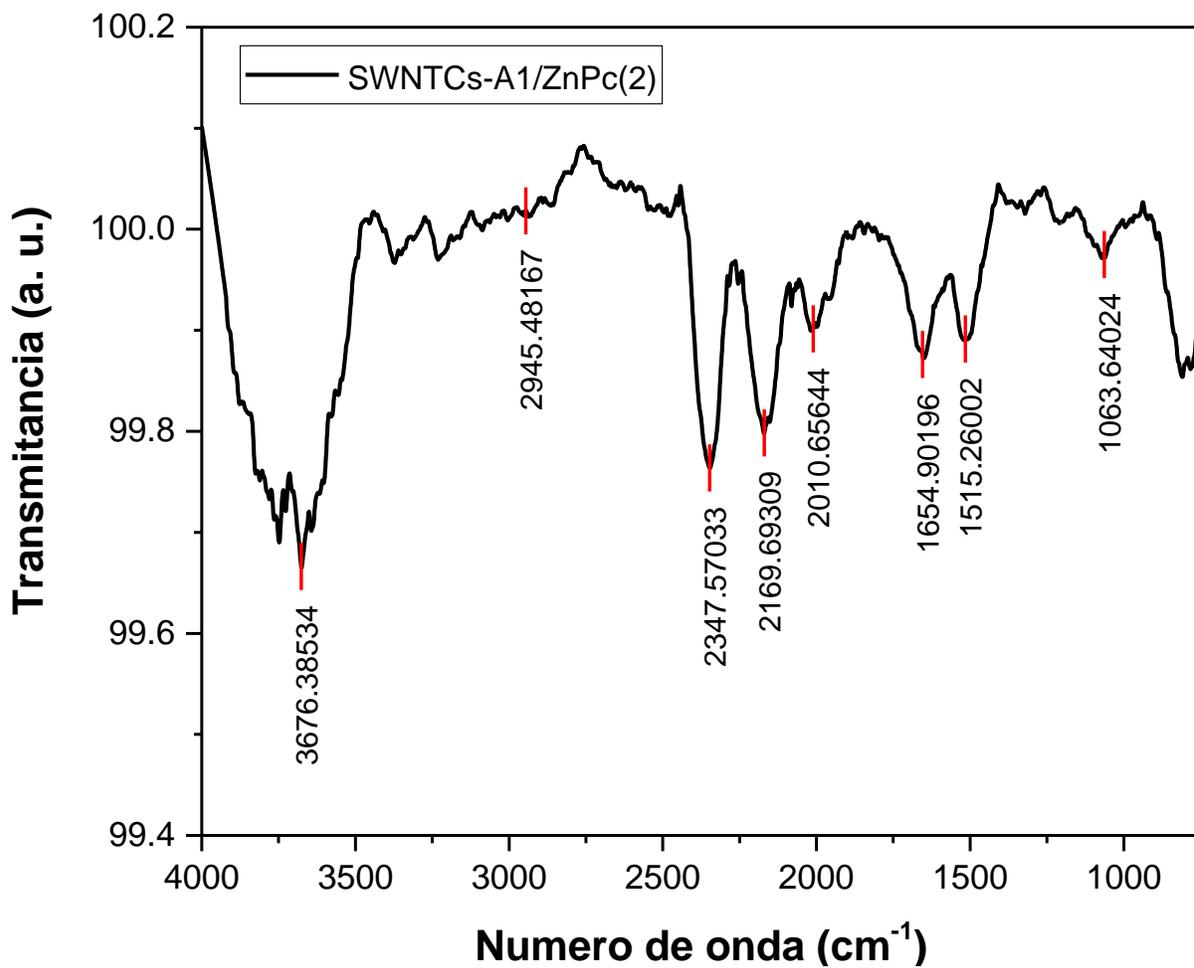
**Figura 71.** Análisis por espectroscopia IR del sobrenadante del sistema SWNTCs-A1/ZnPc(3).



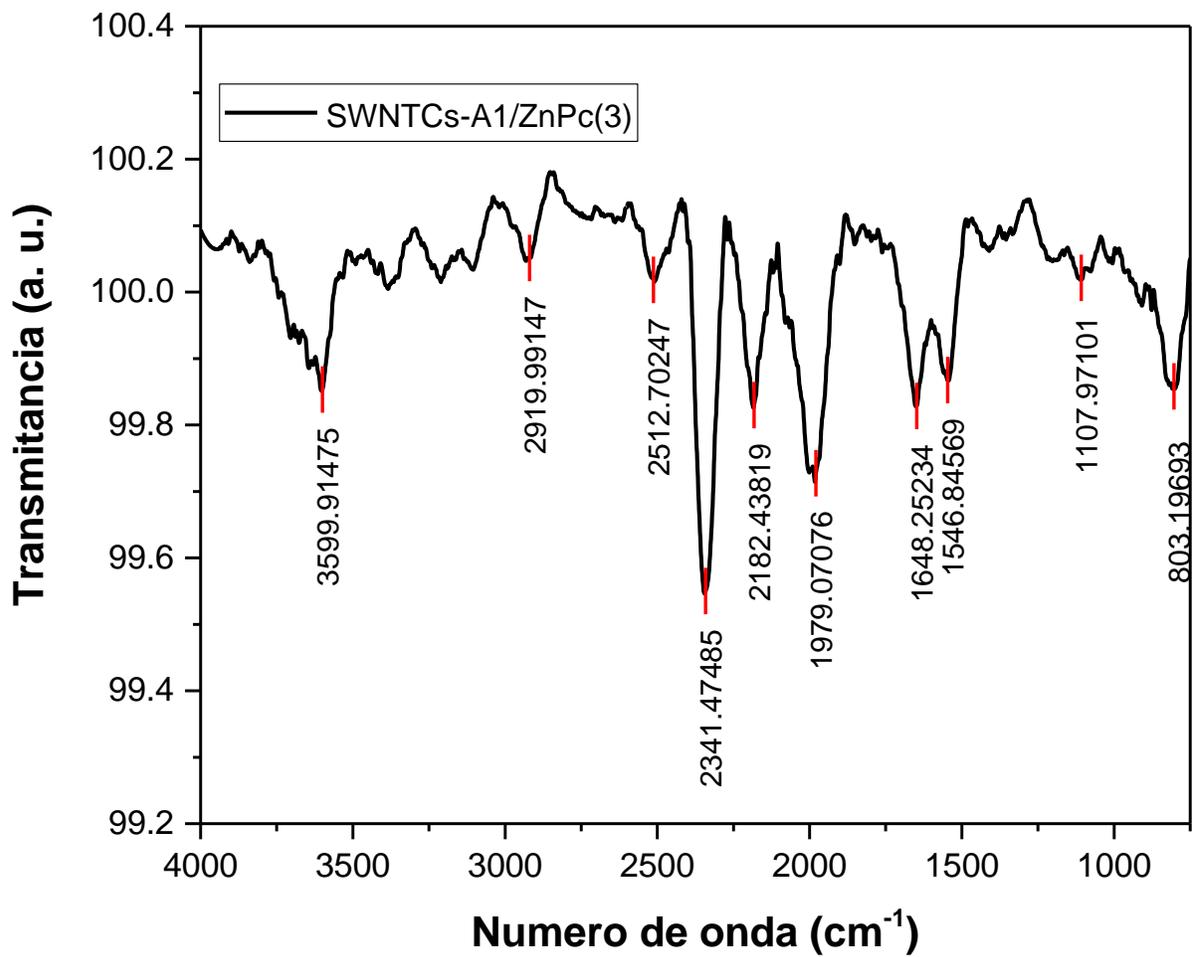
**Figura 72.** Análisis por espectroscopia IR del sobrenadante del sistema SWNTCs-A1/ZnPc(6).



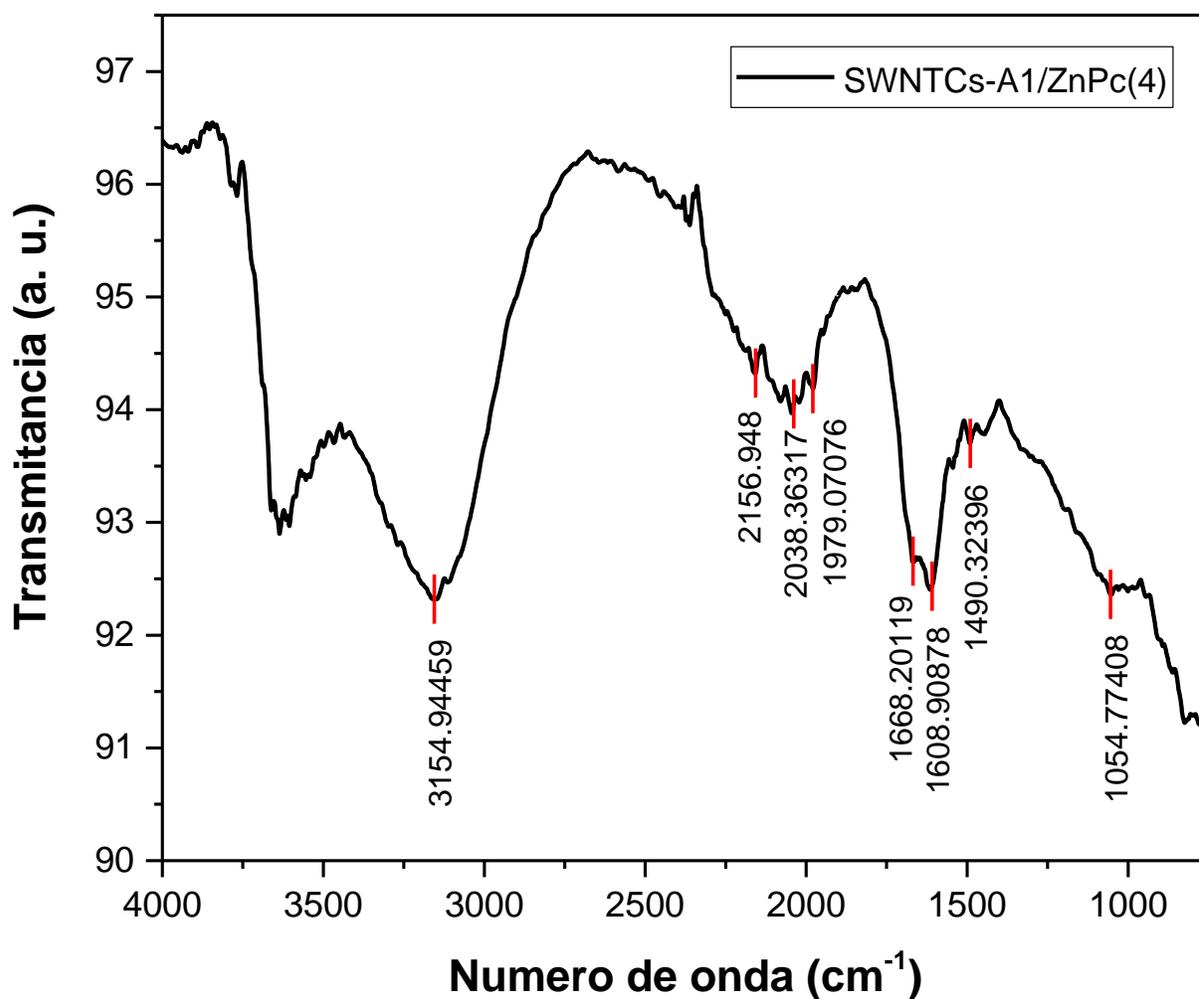
**Figura 73.** Análisis por espectroscopia IR del sistema SWNTCs-A1/ZnPc(1).



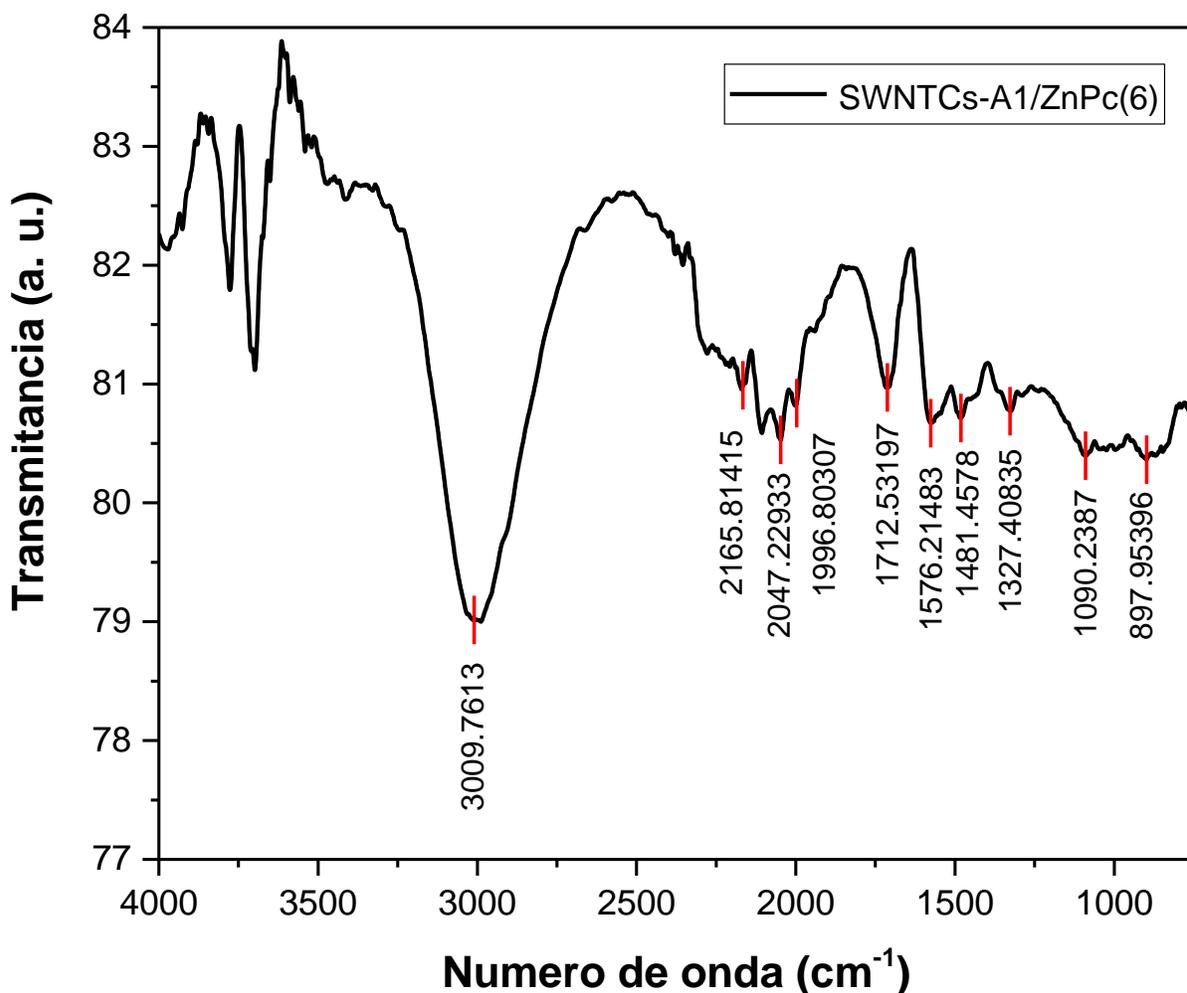
**Figura 74.** Análisis por espectroscopia IR del sistema SWNTCs-A1/ZnPc(2).



**Figura 75.** Análisis por espectroscopia IR del sistema SWNTCs-A1/ZnPc(3).



**Figura 76.** Análisis por espectroscopia IR del sistema SWNTCs-A1/ZnPc(4).



**Figura 77.** Análisis por espectroscopia IR del sistema SWNTCs-A1/ZnPc(6).