

SEP

SES

TecNM

TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO



Instituto Tecnológico de Tijuana
Centro de Graduados e Investigación en Química

TRABAJO DE TESIS

“Estudios de Estabilización de Nanopartículas de oro con Copolímeros en Bloques a base de Poli(*N*-vinilcaprolactama)”

Presentado por

I.Q. Jesús Eduardo Márquez Castro

Para obtener el grado de
MAESTRO EN CIENCIAS EN QUÍMICA

Director de tesis

Dr. Ángel Licea Claverie

TIJUANA, B.C

MARZO DE 2022



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico de Tijuana

Tijuana, Baja California, 15/diciembre/2021

Oficio No. 336/CG/2021

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 “**Estudios de estabilización de nanopartículas de oro con copolímeros en bloques a base de poli(N-vinil caprolactama)**”, presentado por el **C. Jesús Eduardo Márquez Castro**, (con número de control M20210035), 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.

ATENTAMENTE

DR. ANGEL LICEA CLAVERÍE
Presidente

DR. ALEJANDRO RAMÍREZ JIMÉNEZ
Secretario del Jurado

DR. IGNACIO ALFREDO RIVERO ESPEJEL
Vocal del Jurado

C.p. Oficina de Titulación
C.p. Expediente
C.p. Interesado
ALC/ARJ/IARE



Calzada del Tecnológico S/N Esq. Av. Castillo de Chapultepec y calle Cuauhtemotzin, Fracc.
Tomás Aquino C.P. 22414, Tijuana, Baja California.
(664) 6078400 Ext. 101 / e-mail: dir_tijuana@tecnm.mx
tecnm.mx | tijuana.tecnm.mx





Instituto Tecnológico de Tijuana

Tijuana, Baja California,
20/enero/2022

OFICIO No. 010/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, "Estudios de estabilización de nanopartículas de oro con copolímeros en bloques a base de poli(N-vinil caprolactama)". Presentado por C. Jesús Eduardo Márquez Castro, alumno de la Maestría en Ciencias en Química con número de control M20210035; informo a usted que a solicitud del comité de tutorial, tengo a bien Autorizar la impresión de Tesis, atendiendo las disposiciones de los Lineamientos para la Operación de Estudios de Posgrado del Tecnológico Nacional de México.

Sin más por el momento le envié un cordial saludo.

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

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



DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
E INVESTIGACIÓN

ccp. Archivo

GHE/lap



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

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



2022 Flores
Año de Magón
PRESENCIA 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. el 08 de diciembre del 2021, el I.Q Jesús Eduardo Márquez Castro alumno del programa Maestría en Ciencias en Química con número de control M20210035, manifiesta que es el autor intelectual del presente trabajo de tesis bajo la dirección del Dr. Ángel Licea Claverie y ceden los derechos del trabajo titulado **“Estudios de estabilización de nanopartículas de oro con copolímeros en bloque a base de poli(N-vinilcaprolactama)”** 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; aliceac@tectijuana.mx. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

Jesús Eduardo Márquez Castro

a



Calzada del Tecnológico S/N Esq. Av. Castillo de Chapultepec y calle Cuauhtemotzin,
Frac. Tomás Aquino C.P. 22414, Tijuana, Baja California.
(664) 6078400 Ext. 101 / e-mail: dir_tijuana@tecnm.mx
tecnm.mx | tijuana.tecnm.mx



Dedicatorias

CONTENIDO

Carta de liberación de tesis	i
Carta de autorización de impresión emitida por la DEPI	ii
Carta de cesión de derechos	iii
Dedicatorias	iv
CONTENIDO.....	v
Lista de Figuras	x
Lista de Tablas.....	xiv
Agradecimientos.....	xv
Reconocimientos institucionales	xvi
Resumen	xvii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	3
2.1 Justificación	3
2.2 Planteamiento del proyecto.....	3
2.3 Objetivo general.....	3
2.4 Objetivos específicos	3
III. TEORIA GENERAL	5
3.1 Resonancia de plasmones superficiales localizada (LSPR).....	6
3.2 Polimerización por transferencia de cadena reversible de adición-fragmentación (RAFT).....	7
3.3 Poli(N-vinilcaprolactama)	9
3.4 Estabilización de nanopartículas de oro con copolímeros	10
3.5 Terapia fototérmica.....	11
3.6 Hipótesis	13

IV. EXPERIMENTAL	13
4.1 Reactivos, disolventes y gases	13
4.2 Equipos	15
4.3 Síntesis del agente RAFT (CTA).....	16
4.4 Síntesis del macro agente RAFT (macro-CTA) funcionalizado con PEG M_n 5000 g/mol	18
4.5 Purificación de los monómeros.....	19
4.6 Síntesis de los copolímeros en bloques.....	19
4.6.1 Síntesis de los copolímeros en bloques PEG- <i>b</i> -PNVCL	19
4.6.2 Síntesis de los copolímeros en bloques PEG- <i>b</i> -P(NVCL- <i>co</i> -NVP)	21
4.7 Modificación del grupo terminal de los copolímeros en bloques PEG- <i>b</i> -PNVCL y PEG- <i>b</i> -P(NVCL- <i>co</i> -NVP).....	22
4.8 Síntesis de nanobastones de oro (AuNRs)	24
4.9 Síntesis de nanotetrápodos de oro (AuNTPs).....	25
4.10 Determinación del grado de fidelidad para la funcionalización de los copolímeros en bloques	26
4.11 Estabilización de nanopartículas de oro con los copolímeros en bloques con grupo terminal tiol.....	26
4.12 Caracterización térmica de nanopartículas de oro	27
4.13 Técnicas analíticas empleadas	27
4.13.1 Resonancia magnética nuclear de hidrógeno (RMN- ¹ H).....	27
4.13.2 Análisis termogravimétrico (TGA)	27
4.13.3 Dispersión de luz dinámica (DLS).....	28
4.13.4 Calorimetría diferencial de barrido (DSC).....	28
4.13.5 Espectroscopia de UV-visible	28
4.13.6 Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (IR)	29

4.13.7 Cromatografía de permeación en gel (GPC).....	29
4.13.8 Microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (FESEM).....	29
4.13.9 Microscopía electrónica de transmisión (TEM).....	29
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
5.1. Síntesis y caracterización del agente RAFT (CTA).....	30
5.1.1 Caracterización por espectroscopia de infrarrojo (FT-IR) del CTA	30
5.1.2 Caracterización por resonancia magnética nuclear de hidrógeno (RMN- ¹ H) del CTA.....	31
5.1.3 Caracterización por resonancia magnética nuclear de carbono 13 (RMN- ¹³ C) del CTA.....	32
5.1.4 Caracterización por análisis termogravimético (TGA) del CTA	33
5.2 Síntesis y caracterización de macro agente RAFT (macro-CTA) funcionalizado con polietilenglicol (PEG) M_n 5000 g/mol	34
5.2.1 Caracterización por resonancia magnética nuclear de hidrógeno (RMN- ¹ H) del macro-CTA.....	34
5.2.2 Caracterización por espectroscopia de infrarrojo (FT-IR) del macro-CTA.....	35
5.2.3 Caracterización por análisis termogravimético (TGA) del macro-CTA	36
5.3 Síntesis y caracterización de los copolímeros en bloques PEG- <i>b</i> -PNVCL.	37
5.3.1 Caracterización por cromatografía de permeación en gel (GPC) de los copolímeros en bloques PEG- <i>b</i> -PNVCL	37
5.3.2 Caracterización por resonancia magnética nuclear de hidrógeno (RMN- ¹ H) de copolímeros en bloques PEG- <i>b</i> -PNVCL.....	39
5.3.3 Caracterización por espectroscopia de infrarrojo (FT-IR) de los copolímeros en bloques PEG- <i>b</i> -PNVCL	40
5.3.4 Caracterización por análisis termogravimético (TGA) de los copolímeros en bloques PEG- <i>b</i> -PNVCL	41

5.3.5 Caracterización por calorimetría diferencial de barrido (DSC) de los copolímeros en bloques PEG- <i>b</i> -PNVCL	42
5.4. Síntesis y caracterización de los copolímeros en bloques PEG- <i>b</i> -P(NVCL- <i>co</i> -NVP)	43
5.4.1 Caracterización por cromatografía de permeación en gel (GPC) de los copolímeros en bloques PEG- <i>b</i> -P(NVCL- <i>co</i> -NVP)	43
5.4.2 Caracterización por resonancia magnética nuclear de hidrógeno (RMN- ¹ H) de los copolímeros en bloques PEG- <i>b</i> -P(NVCL- <i>co</i> -NVP)	44
5.4.3 Caracterización por análisis termogravimético (TGA) de los copolímeros en bloques PEG- <i>b</i> -P(NVCL- <i>co</i> -NVP)	45
5.4.4 Caracterización por calorimetría diferencial de barrido (DSC) de los copolímeros en bloques PEG- <i>b</i> -P(NVCL- <i>co</i> -NVP)	46
5.4.5 Determinación del punto de turbidez (T_{cp}) de los copolímeros en bloques en medio acuoso	47
5.4.6 Estudio del efecto de la temperatura en el tamaño D_h de los agregados poliméricos en medio acuoso	49
5.4.7 Cambio en el valor del potencial zeta de los agregados poliméricos por efecto del pH del medio	51
5.5 Determinación del grado de fidelidad de los copolímeros en bloques	52
5.6 Reducción del grupo terminal tritiocarbonato a tiol para la modificación de los copolímeros en bloques	53
5.7 Síntesis y caracterización de nanobastones de oro (AuNRs)	55
5.7.1 Caracterización por espectroscopía de UV-visible	55
5.7.2 Caracterización mediante microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (FESEM)	56
5.7.3 Caracterización mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM)	57
5.7.4 Caracterización óptica de AuNRs	59

5.7.5 Incremento en la temperatura del medio por irradiación en el infrarrojo cercano (NIR) de AuNRs.....	60
5.8 Estabilización de AuNRs con copolímeros en bloques con grupo terminal tiol	62
5.8.1 Incremento de la temperatura en el medio por irradiación NIR de AuNRs estabilizadas con copolímeros en bloques con grupo terminal tiol.....	65
5.8.2 Estudio de agregación de AuNRs estabilizadas con copolímeros en bloque con grupo terminal tiol.....	67
5.8.3 Cambio en el valor del potencial zeta por efecto del pH del medio de AuNRs estabilizadas con copolímeros en bloques con grupo terminal tiol.....	68
5.9 Determinación del contenido de nanobastones de oro en agregados (AuNRs) con copolímeros en bloques mediante análisis termogravimético (TGA)	70
5.10 Síntesis y caracterización de nanotetrápodos de oro (AuNTPs).....	71
5.10.1 Estabilización de AuNTPs con PEG M_n 6000 g/mol	71
5.10.2 Caracterización mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM)	72
5.10.3 Incremento de la temperatura en el medio por irradiación NIR de AuNTPs	74
VI. CONCLUSIONES.....	75
VII. REFERENCIAS	77
ANEXOS	83

Lista de Figuras

Figura 1. Resonancia de plasmónes superficiales localizada (LSPR) de nanobastones de oro.	6
Figura 2. A) Especies de CTA, B) Mecanismo general de la polimerización RAFT.	8
Figura 3. Esquema de estabilización de nanopartículas de oro con tioles.....	11
Figura 4. Ruta de síntesis del agente RAFT (CTA).	17
Figura 5. Ruta de síntesis del macro agente RAFT (macro-CTA).	18
Figura 6. Ruta de síntesis de los copolímeros en bloques PEG- <i>b</i> -PNVCL.....	20
Figura 7. Ruta de síntesis de los copolímeros en bloques PEG- <i>b</i> -P(NVCL- <i>co</i> -NVP).....	22
Figura 8. Ruta de síntesis de reducción del grupo terminal de tritiocarbonato a tiol de los copolímeros en bloques.	23
Figura 9. Síntesis de nanobastones de oro AuNRs.....	24
Figura 10. Síntesis de nanotetrápodos de oro AuNTPs.....	25
Figura 11. Estabilización de nanopartículas de oro con los copolímeros en bloques con grupo terminal tiol.	26
Figura 12. Espectro de FT-IR del CTA.	30
Figura 13. Espectro de RMN- ¹ H del CTA (CDCl ₃).	31
Figura 14. Espectro de RMN- ¹³ C del CTA (CDCl ₃).	32
Figura 15. Termograma de descomposición del CTA.....	33
Figura 16. Espectro de RMN- ¹ H del CTA (CDCl ₃).	35
Figura 17. Espectro de (FT-IR) del macro-CTA.	36
Figura 18. Termograma de descomposición del macro-CTA con PEG <i>M_n</i> 5000 g/mol.	37
Figura 19. Cromatogramas del tiempo de elución de los copolímeros en bloques PEG- <i>b</i> -PNVCL.	38
Figura 20. Espectro de RMN- ¹ H del copolímero en bloques (PEG- <i>b</i> -PNVCL)-2 (CDCl ₃) 400 MHz.	39
Figura 21. Espectro de FT-IR. A) macro-CTA, B) Copolímero en bloques (PEG- <i>b</i> -PNVCL)-2.	40
Figura 22. Termograma de descomposición del copolímero en bloques (PEG- <i>b</i> -PNVCL)-2.	41

Figura 23. Termogramas de DSC de los copolímeros en bloques. A) (PEG- <i>b</i> -PNVCL)-1, B) (PEG- <i>b</i> -PNVCL)-2.	42
Figura 24. Cromatogramas del tiempo de elución de los copolímeros en bloques PEG- <i>b</i> -P(NVCL- <i>co</i> -NVP).	44
Figura 25. Espectro de RMN- ¹ H del copolímero en bloques PEG- <i>b</i> -P(NVCL- <i>co</i> -NVP)-4 (CDCl ₃) 400 MHz.	45
Figura 26. Termograma de descomposición del copolímero en bloques PEG- <i>b</i> -P(NVCL- <i>co</i> -NVP)-4.	46
Figura 27. Termograma por DSC del copolímero en bloques PEG- <i>b</i> -P(NVCL- <i>co</i> -NVP)-4.	47
Figura 28. Copolímeros en bloques en medio acuoso a diferentes temperaturas por arriba y debajo de su T_{cp}	48
Figura 29. Variación de D_h de copolímeros en bloques en función de la temperatura 48	48
Figura 30. Distribuciones de D_h : A) Copolímeros PEG- <i>b</i> -PNVCL a 25 °C, B) Copolímeros PEG- <i>b</i> -PNVCL a 25 °C, C) Copolímeros PEG- <i>b</i> -P(NVCL- <i>co</i> -NVP) medidos por encima de su T_{pc}	50
Figura 31. Cambio en el valor del potencial zeta de los agregados poliméricos por efecto del pH en medio acuoso a 25 °C.	51
Figura 32. A) Abs del CTA a diferentes concentraciones, B) Curva de calibración del CTA a diferentes concentraciones.	52
Figura 33. Reducción del grupo tritiocarbonato terminal del macro-CTA PEG M_n 5000 g/mol.	54
Figura 34. Reducción del grupo tritiocarbonato terminal de los copolímeros en bloques PEG- <i>b</i> -PNVCL y PEG- <i>b</i> -P(NVCL- <i>co</i> -NVP) de tritiocarbonato a tiol.	54
Figura 35. Espectro de UV-visible de nanobastones de oro AuNRs con una LSPR longitudinal de 805 nm.	55
Figura 36. Micrografía por FESEM de nanobastones de oro AuNRs con una LSPR longitudinal alrededor de 805 nm.	56
Figura 37. Micrografía por TEM de nanobastones de oro AuNRs con una LSPR longitudinal alrededor de 805 nm.	57
Figura 38. Dispersión de tamaños de AuNRs.	58

Figura 39. Arreglo para la caracterización óptica. A) Atenuancia, B) Absorbancia, C) Caracterización óptica de AuNRs con una LSPR longitudinal alrededor de 805 nm.	60
Figura 40. Perfil del incremento de la temperatura de AuNRs con respecto al tiempo de irradiación con un láser de 785 nm.	61
Figura 41. Imágenes térmicas de solución de AuNRs del incremento de la temperatura al irradiarse con un láser de 785 nm.	62
Figura 42. Estabilización de AuNRs con el copolímero en bloques PEG- <i>b</i> -P(NVCL- <i>co</i> -NVP)-4 con grupo terminal tiol.	63
Figura 43. Seguimiento de la estabilización LSPR de AuNRs con copolímeros en bloques con grupo terminal tiol. A) (PEG- <i>b</i> -PNVCL)-1, B) (PEG- <i>b</i> -PNVCL)-2, C) PEG- <i>b</i> -P(NVCL- <i>co</i> -NVP)-3, D) PEG- <i>b</i> -P(NVCL- <i>co</i> -NVP)-4, E) PEG- <i>b</i> -P(NVCL- <i>co</i> -NVP)-5, F) macro-CTA.	64
Figura 44. Agregación al incrementarse la temperatura del copolímero en bloques con grupo terminal tiol PEG- <i>b</i> -P(NVCL- <i>co</i> -NVP)-4 conteniendo AuNRs al irradiarse con un láser de 785 nm.	65
Figura 45. Perfiles del incremento de la temperatura con respecto al tiempo de irradiación con un láser de 785 nm de agregados de copolímeros en bloques con grupo terminal tiol conteniendo AuNRs. A) (PEG- <i>b</i> -PNVCL)-1, B) (PEG- <i>b</i> -PNVCL)-2, C) PEG- <i>b</i> -P(NVCL- <i>co</i> -NVP)-3, D) PEG- <i>b</i> -P(NVCL- <i>co</i> -NVP)-4, E) PEG- <i>b</i> -P(NVCL- <i>co</i> -NVP)-5.	66
Figura 46. A) Distribución de AuNRs dispersas en agua, B) Agregados poliméricos con grupo terminal tiol conteniendo AuNRs medidos arriba de su T_{cp}	67
Figura 47. Cambio en el valor del potencial zeta por efecto del pH del medio medido a 25 °C. A) AuNRs dispersas en agua, B) AuNRs @ Copolímeros en bloques con grupo terminal tiol a 25 °C.	69
Figura 48. Termogramas de descomposición de los copolímeros en bloques con grupo terminal tiol conteniendo AuNRs.	70
Figura 49. Estabilización de AuNTPs. A) Estabilización de AuNTPs con PEG-SH M_n 6000 g/mol, B) Monitoreo de la estabilidad LSPR con el pasar del tiempo.	72
Figura 50. Micrografías por TEM de AuNTPs. A) AuNTPs con una LSPR estrecha analizada después de tres meses de su síntesis, B) AuNTPs con una LSPR ancha analizadas después de dos semanas de su síntesis.	73

Figura 51. Perfiles del incremento de la temperatura de AuNTPs con respecto al tiempo de irradiación con un láser de 785 nm. A) AuNTPs con una LSPR estrecha analizada después de 3 meses, B) AuNTPs con LSPR ancha analizadas después de dos semanas..... 74

Lista de Tablas

Tabla 1. Pesos moleculares obtenidos para los copolímeros de NVCL partiendo de macro-CTA M_n 5000 g/mol variando la relación [M]:[macro-CTA]:[I] con 24 horas de reacción.	38
Tabla 2. Pesos moleculares obtenidos para los copolímeros PEG- <i>b</i> -P(NVCL- <i>co</i> -NVP), partiendo de macro-CTA M_n 5000 g/mol variando la relación [M]:[mCTA]:[I] por GPC.	43
Tabla 3. Variación D_h de los copolímeros en bloques en función de la temperatura.	49
Tabla 4. Grado de fidelidad de los copolímeros en bloques.	53
Tabla 5. Agregación de los copolímeros en bloques con grupo terminal tiol conteniendo AuNRs.	68

Agradecimientos

Reconocimientos institucionales

El presente trabajo se desarrolló en los laboratorios del Centro de Graduados e Investigación en Química del Instituto Tecnológico de Tijuana; en específico en el Laboratorio Síntesis de Polímeros bajo la dirección del Dr. Ángel Licea Claverie.

Se agradece el apoyo brindado por el CONACYT para la realización de estudios de postgrado (No. 1037579) y el desarrollo de esta investigación a través del proyecto CONACYT-CB2016-285419.

Resumen

“Estudios de Estabilización de Nanopartículas de oro con Copolímeros en Bloques a base de Poli(*N*-vinilcaprolactama)”

Presentado por

I.Q. Jesús Eduardo Márquez Castro

Director de Tesis

Dr. Ángel Licea Claverie

En la actualidad el uso de nanopartículas de oro ha tenido un crecimiento considerable, debido a su aplicación potencial en distintas áreas como en la electrónica, en sensores, en el área biomédica, entre otras. Dentro de las aplicaciones biomédicas la estabilidad es de suma importancia por ejemplo para la aplicación hacia la terapia fototérmica.

En el presente trabajo se diseñaron y prepararon copolímeros en bloques con el fin de estabilizar nanopartículas de oro con una resonancia de plasmón superficial localizada LSPR cercana a los 800 nm. La metodología consistió en la síntesis de un agente RAFT de la especie tritioarbonato (CTA) el cual se funcionalizó con polietilenglicol metil éter (PEG), obteniendo un macro-CTA. Se sintetizaron copolímeros en bloques de *N*-vinilcaprolactama y *N*-vinilpirrolidona vía polimerización RAFT, obteniendo PEG-*b*-PNVCL y PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP). La temperatura del punto de turbidez (T_{cp}) se modificó de 35 a 43 °C dependiendo de la composición del copolímero con un D_h de 100 a 200 nm. El grupo terminal tritioarbonato se modificó a tiol, lo que permitió reaccionarlos con nanopartículas de oro. Para ello, se sintetizaron nanobastones de oro (AuNRs) y nanotetrápodos de oro (AuNTPs). Los AuNRs tuvieron una razón de aspecto de 3.75 con longitudes de 64 ± 4 nm. Mientras que los AuNTPs tienen un tamaño de ~ 30 nm. Al ser irradiados con un láser en el (NIR) de 785 nm se generó un aumento de la temperatura en el medio hasta alcanzar los 53 °C para nanobastones y un poco más bajo para nanotetrápodos.

I. INTRODUCCIÓN

El campo de las nanopartículas plasmónicas ha crecido significativamente en las últimas décadas. Existe una gran diversidad de técnicas y nanoestructuras que representa una excelente oportunidad para la investigación biomédica, así como para la detección de imágenes entre otras¹. Las propiedades físicas y químicas de los materiales se ven fuertemente afectados por sus morfologías a escalas nanométricas². Por lo tanto, la síntesis de nanomateriales con la capacidad de controlar con precisión aspectos como la composición, la estabilidad y la forma, se ha convertido un tema importante en la ciencia y tecnología³, ya que se pueden diseñar para tener propiedades específicas.

Debido a sus propiedades ópticas, como la absorción y la dispersión de la radiación electromagnética, las nanopartículas de oro son de interés para su aplicación en la terapia fototérmica. La estrategia terapéutica incluye el uso de la radiación electromagnética para generar calor e inhibir térmicamente la proliferación de células cancerosas⁴ e incluso conduce a una necrosis celular. La hipertermia localizada causada por el aumento de la temperatura inducida por las nanopartículas de oro, conduce a la alteración de la membrana celular y a la desnaturalización de las proteínas, lo que finalmente lleva a la muerte celular⁵, los métodos modernos de la terapia fototérmica caracterizados por una especificidad mejorada, mínimamente invasiva y una mejor selectividad espacio-temporal, dado a esto proporcionan una alternativa prometedora para el tratamiento del cáncer resistentes a la quimioterapia. Sin embargo, la funcionalización de las nanopartículas de oro (AuNPs) es un aspecto importante que, junto con su tamaño y forma determinará el destino final del alojamiento de las partículas tras su administración⁶.

Las modificaciones superficiales que tienen un efecto marcado sobre estos parámetros mencionados anteriormente, protegen contra la agregación, mejoran la biocompatibilidad, además de las interacciones específicas con las células, así como el transporte y la acumulación específica en regiones deseadas⁷, además, de presentar un efecto significativo sobre la vida media de las AuNPs en la sangre, evitando la eliminación por células del sistema retículo endotelial. Estas modificaciones superficiales pueden enmascarar las AuNPs, lo que garantiza un tiempo de flujo sanguíneo más prolongado, hasta llegar a la zona de acción⁸.

Es importante señalar que la funcionalización de la superficie puede alterar las propiedades ópticas de las AuNPs⁹. Esta funcionalización, se puede lograr mediante adsorción física o unión covalente del ligando a la superficie de las nanopartículas, generalmente a través de enlaces tiol. Se ha investigado en las últimas décadas el uso de polímeros para la funcionalización de las AuNPs, donde el poli(etilenglicol) tiol (PEG-SH) es uno de los más utilizados, este se une covalentemente a la superficie de las AuNPs¹⁰, mejorando la biocompatibilidad de las AuNPs y prolonga la vida media en la sangre, además la coraza hidratada del PEG confiere mayor resistencia a la captación endocítica por parte de la membrana celular¹¹.

Morfologías complejas de nanopartículas de oro como los nanobastones (AuNRs) y nanotetrápodos (AuNTPs) tienen la capacidad de recorrer la banda de absorción plasmónica LSPR hacia las regiones del infrarrojo cercano (NIR) de acuerdo a su relación de aspecto (longitud/diámetro) este desplazamiento se va acercando al rango de la primera ventana biológica entre 700-980 nm. Por otro lado, los copolímeros preparados a partir de la polimerización de adición-fragmentación reversible (RAFT) se caracterizan por sus grupos terminales de cadena, como los grupos tritiocarbonatos, ditioéster o xantato, que se pueden reducir fácilmente a un grupo terminal tiol para adherirse fuertemente a la superficie de las nanopartículas de oro¹².

La poli(*N*-vinilcaprolactama) (PNVCL) es un polímero termosensible con mayor potencial de aplicación en el área de la salud¹³, ya que presentan una temperatura crítica inferior de solución en agua (LCST) entre 32 y 37 °C la cual es cercana a la temperatura fisiológica corporal, siendo importante para aplicaciones dentro del campo biomédico¹⁴. Esta temperatura de respuesta se puede modificar usando bloques de polímeros aleatorios hidrofílicos, mientras que la estabilidad a temperatura ambiente se puede mejorar usando bloques de polímeros hidrofóbicos, diversos estudios han demostrado que la PNVCL muestra biocompatibilidad con el organismo humano¹⁵.

II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

2.1 Justificación

Debido al aumento de casos relacionados con el cáncer, es importante emplear alternativas menos invasivas a los tratamientos actuales, estudiando así la estabilidad de nanobastones de oro y nanotetrápodos de oro para su potencial aplicación en la terapia fototérmica

2.2 Planteamiento del proyecto

En este proyecto se plantea preparar copolímeros en bloques del tipo PEG-*b*-PNVCL y PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP) para estudios de agregación en función del pH y la temperatura para la estabilización de nanopartículas de oro con resonancia de plasmón superficial localizada LSPR cercana o entre la primera ventana biológica (700-980 nm).

2.3 Objetivo general

Estudiar la estabilización de nanopartículas de oro con resonancia de plasmón superficial localizada dentro de la primera ventana biológica con copolímeros PEG-*b*-PNVCLy PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP) en función de pH y temperatura.

2.4 Objetivos específicos

- a) Determinar las condiciones adecuadas para sintetizar copolímeros en bloques PEG-*b*-PNVCL y PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP) por el método RAFT, variando la proporción PNVCL: PNVP.
- b) Caracterizar los copolímeros obtenidos en cuanto a su composición química, peso molecular promedio, potencial zeta y la temperatura del punto de turbidez (T_{cp}).
- c) Estudiar el comportamiento de agregación de los copolímeros en función del pH y de la temperatura.
- d) Obtener nanobastones de oro y nanotetrápodos de oro variando la morfología y tamaño con una LSPR ubicada en el rango de absorción de la primera ventana biológica.

- e) Estudiar la estabilización de las nanopartículas de oro utilizando los copolímeros en bloques preparados, encontrando las dimensiones de sus agregados, su LSPR, su contenido de nanopartículas y su estabilidad al almacenamiento en función del pH y la temperatura.
- f) Estudiar el comportamiento fototérmico de las nanopartículas de oro, solas y cargadas con los copolímeros, en cuanto al efecto del aumento de temperatura en el entorno al ser irradiadas con luz en el infrarrojo cercano (NIR).

III. TEORIA GENERAL

La nanociencia es el estudio de los procesos fundamentales que ocurren en las nanoestructuras o nanomateriales, y con ello el estudio de las propiedades de la materia a nivel atómico y molecular como las propiedades térmicas, eléctricas, magnéticas, ópticas, químicas, etc¹⁶. La nanotecnología es una combinación de principios relacionados con la biología, la física y la química; con la cual se crean partículas de tamaño nanométrico con funciones particulares. Con este fin, las nanopartículas de metales nobles como plata, oro, platino, paladio así como los óxidos metálicos como el óxido de zinc y el óxido de titanio, han sido ampliamente estudiados por sus propiedades ópticas¹⁷.

Estas nanopartículas tienen propiedades únicas, debido al área de superficie en relación de volumen, tamaño y forma¹⁸. Por eso se utilizan en diversos campos de diagnóstico como la optoelectrónica, para instrumentos de visualización, la catálisis, la fabricación de biosensores, el diagnóstico o el seguimiento de enfermedades como las células cancerosas, el descubrimiento de fármacos, la detección de metales o reactivos ambientalmente peligrosos y en aplicaciones terapéuticas¹⁹. Las nanopartículas de metales nobles especialmente las de oro presentan propiedades fototérmicas, que se activan en presencia de luz-láser²⁰. Por otro lado, las nanopartículas anisotrópicas tienen mayor estabilidad química, baja toxicidad y alta compatibilidad con el organismo humano. Las investigaciones realizadas mostraron que las nanopartículas, son captadas de cierta manera mediante endocitosis por la membrana celular. Las nanopartículas de oro tienen un gran potencial como agentes fototerapéuticos en la terapia del cáncer²¹, así como su implementación dentro de nanoestructuras útiles para la administración selectiva de fármacos²².

3.1 Resonancia de plasmones superficiales localizada (LSPR)

El plasmón se define como la excitación colectiva de los electrones semi-libres presentes en los metales, al ser iluminados por radiación electromagnética²³, dado que los niveles de energía están muy próximos entre sí, estos electrones son capaces de absorber la radiación electromagnética y liberarla en forma de calor. Sin embargo, esta propiedad se modifica cuando se lleva a escalas nanométricas, donde los electrones superficiales sufren un confinamiento cuántico²⁴, ya que, cuanto menor es el área que permite que los electrones se muevan, mayor es la separación energética. Debido a esta restricción, cuando la luz incide sobre las nanopartículas de oro, el campo eléctrico de la radiación excita los electrones de conducción provocando que se muevan de sus posiciones originales para que los electrones superficiales comiencen a oscilar uniformemente con el campo eléctrico de la luz²⁵. Por este motivo, se produce la absorción de la energía por la superficie de las nanopartículas dando lugar a una banda de absorción denominada banda plasmónica²⁶ LSPR, la posición de la LSPR es en función del tamaño y la morfología de las nanopartículas²⁷ ver **Figura 1**.

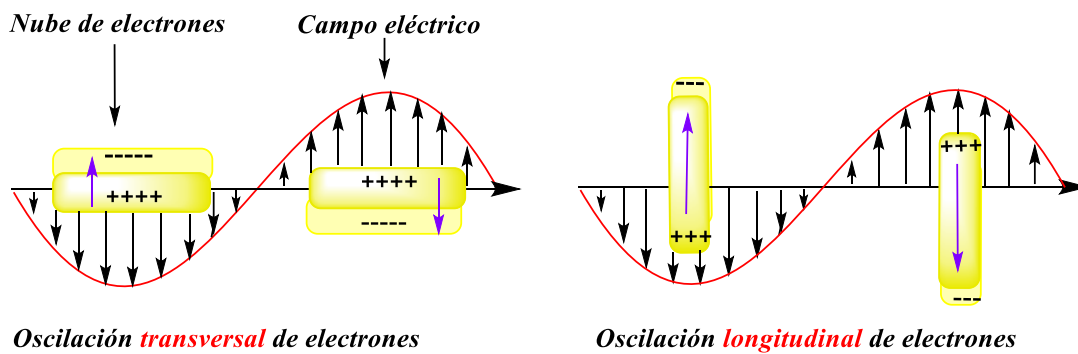


Figura 1. Resonancia de plasmones superficiales localizada (LSPR) de nanobastones de oro.

3.2 Polimerización por transferencia de cadena reversible de adición-fragmentación (RAFT)

En la técnica de polimerización RAFT en base a la estequiometría de la reacción se puede estimar el peso molecular de los copolímeros²⁸. Además, existen diferentes estructuras de CTA pero cada una actúa de manera diferente para cada monómero a emplear, de esta manera se recomienda utilizar el CTA que potencie la polimerización del monómero a utilizar²⁹ ver **Figura 2A**.

Estos compuestos actúan como agentes de control del peso molecular, pues a través de su instauración pueden realizar un proceso de dos pasos de adición y fragmentación, pero la molécula tiene que ser activada de acuerdo al mecanismo de polimerización RAFT. El primer paso es similar a una polimerización por radicales libres, donde comienza la formación de los radicales libres para la iniciación³⁰. La molécula iniciadora (I^*) activa los radicales libres para iniciar al monómero y a medida que crece forma el radical propagante, que se convierte en cadenas propagantes activas $R-P_n^*$ ³¹. En el siguiente paso, estas cadenas transfieren el radical al CTA, que controla la polimerización dándole el carácter *cuasi-viviente*. Con esto, se inicia un mecanismo de adición y fragmentación, ya que los radicales libres de este precursor intermediario son estabilizado por el grupo Z en el CTA. El grupo denominado R regula la fragmentación y, por lo tanto, la capacidad del radical para reaccionar, este grupo R deber ser un buen grupo saliente y también debe permitir el reinicio (R^*) para forma nuevas cadenas propagantes activas, lo cual se le parece mucho a la etapa de iniciación, con la excepción de que el agente iniciador (I) ya no será quien active a la activación y propagación de las cadenas³². Ahora es el grupo R proveniente del CTA (R^*), el que conduce a la formación de la etapa de equilibrio entre el polímero inactivo (P_n) y la cadena propagante activa (P_m^*). Además, también se presenta la etapa de terminación, pero esto no es deseado por que producen cadenas de polímero muertas ver **Figura 2B**.

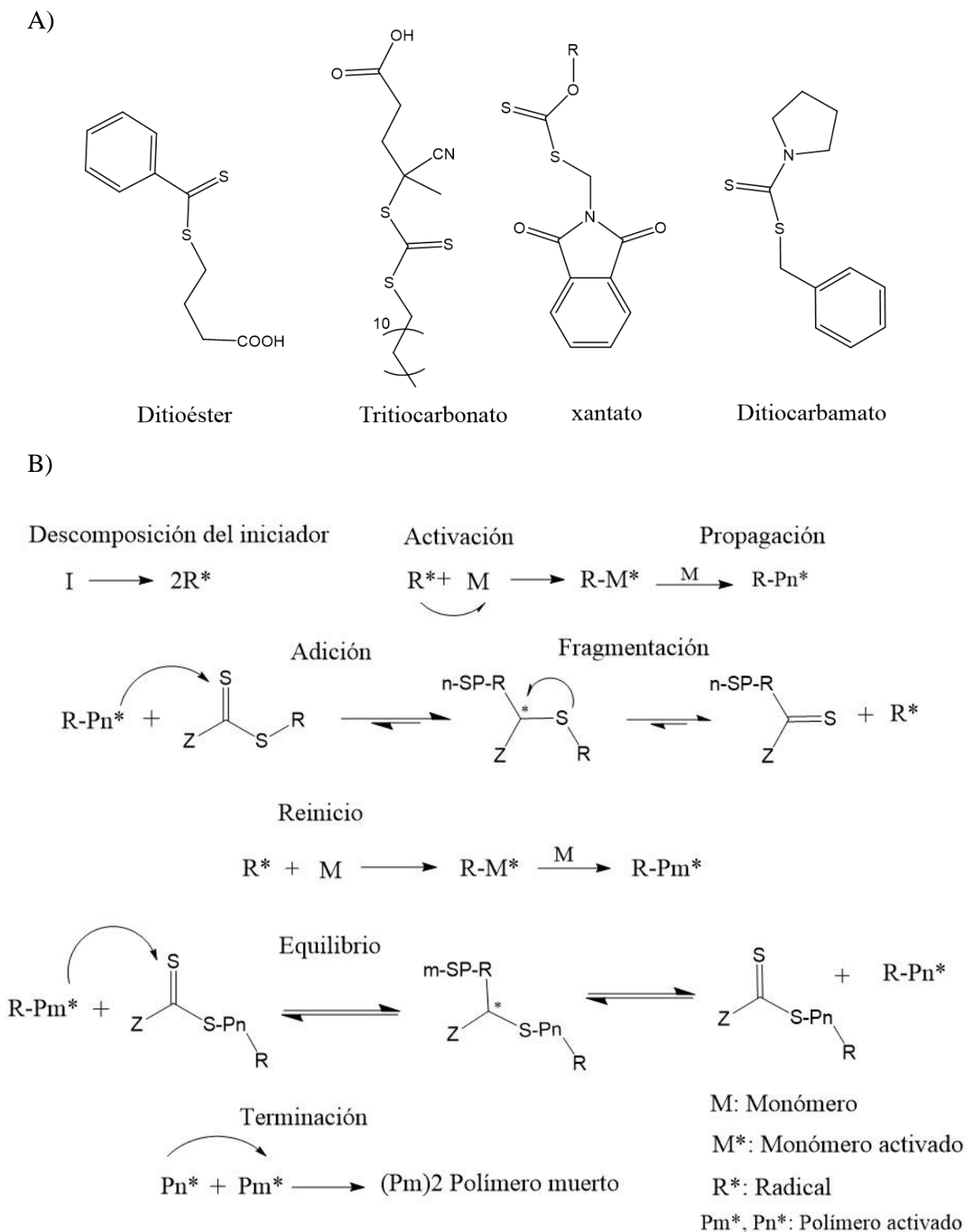


Figura 2. A) Especies de CTA, B) Mecanismo general de la polimerización RAFT.

3.3 Poli(*N*-vinilcaprolactama)

Los polímeros termosensibles (también llamados sensibles al calor), cuya solubilidad depende de la temperatura de la solución, se han estudiado extensamente para aplicaciones biomédicas. La poli(*N*-vinilcaprolactama) (PNVCL) es un polímero no iónico soluble en agua y sensible a la temperatura derivado de un monómero económico de *N*-vinilcaprolactama (NVCL)³³. La PNVCL exhibe una temperatura de solución crítica inferior (LCST) cercana a la temperatura fisiológica corporal (32 - 37 °C). Además, la PNVCL se denomina biocompatible y de baja toxicidad a ciertas concentraciones, que lo convierte en un polímero muy atractivo para diversas aplicaciones biomédicas.

Comparado con la poli(*N*-isopropilacrilamida) (PNIPAM) otro polímero sensible a la temperatura, la PNVCL destaca como un material para aplicaciones biomédicas ya que la hidrólisis del grupo amida de las unidades de la NVCL no forman moléculas pequeñas dañinas para la salud³⁴. Estudios *in vitro* recientes sugieren que la PNVCL se tolera bien en concentraciones por debajo de 10 mg/mL. La PNVCL exhibe un comportamiento de miscibilidad en agua de Flory-Huggins “clásico” (tipo I). Se sabe que la disminución del peso molecular PM de la PNVCL aumenta el valor de la LCST, debido al aumento de la hidrofiliidad del polímero³⁵. De esta manera, el valor de la LCST es muy sensible a los cambios en el PM y a la composición de la solución en la que se encuentra el polímero, ya que la transición hidrofílica e hidrofóbica es altamente ajustable sin cambios estructurales en el polímero³⁶. La naturaleza inactiva de NVCL hace que la síntesis controlada del polímero sea muy desafiante. Mientras que la mayoría de las referencias se centra en la polimerización por radicales libres. Sin embargo, para obtener polímeros bien definidos se ha empleado la polimerización RAFT. De tal manera, para tener un buen control sobre la polimerización la elección del agente RAFT es de suma importancia, para polimerizar los monómeros menos activos la estrategia más adecuada es utilizar un agente RAFT del tipo xantato³⁷.

3.4 Estabilización de nanopartículas de oro con copolímeros

Los polímeros con grupos terminales son importantes para diversas aplicaciones, tanto medicas como para la estabilización de nanopartículas de oro. Se han empleado copolímeros en bloques, biopolímeros conjugados entre otros, para la modificación superficial de las nanopartículas de oro³⁸. Hasta la fecha, se han sintetizado con éxito varios tipos de polímeros con grupos terminales funcionales mediante métodos de polimerización *cuasi-viviente* RAFT, ya que es más favorable debido a su amplio alcance de monómeros, fáciles condiciones de reacción y sin la presencia de metales, además de su facilidad de uso en general³⁹. Aunque lo relevante, es el grupo terminal del polímero de la especie tritioarbonato teniendo en cuenta que estos grupos son muy versátiles y se pueden convertir convenientemente a otros grupos funcionales tales como alquilo, hidroxilo, carboxilo y tiol⁴⁰.

La estabilización estérica consiste, en recubrir los centros metálicos de las nanopartículas de oro con materiales que son estéricamente voluminosos, tales como polímeros y surfactantes. Resultando una barrera estérica que previene el contacto próximo entre los centros metálicos de las nanopartículas, convirtiendo este método de estabilización muy versátil⁴¹. La quimisorción de tioles sobre la superficie de las nanopartículas de oro implica la formación de un enlace covalente azufre-oro (Au-S) y la consecuente pérdida del átomo de hidrógeno del grupo sulfhidrilo. Por lo tanto, es posible considerar que el azufre se encuentra con una hibridación sp^3 con 2 de sus 4 orbitales híbridos participando en enlaces covalentes con los electrones 6s del oro aproximadamente 90°⁴². Sin embargo, los electrones d de los enlaces S-Au también incluyen contribuciones importantes. De esta manera, los átomos del Au interaccionan por atracciones débiles del tipo $5d^{10}$ - $5d^{10}$ que se conoce como efectos aurofílicos y son muy importantes para comprender la estabilidad de estos materiales⁴³ **Figura 3.**

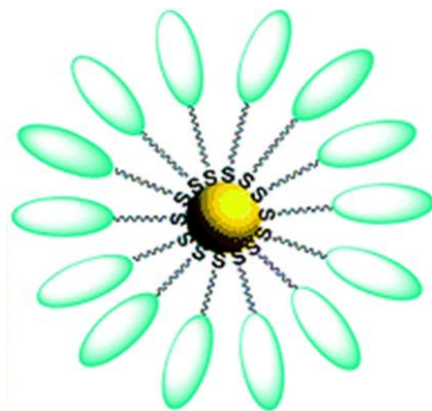


Figura 3. Esquema de estabilización de nanopartículas de oro con tioles.

3.5 Terapia fototérmica

La terapia fototérmica (PTT) es un tratamiento contra el cáncer que induce a la muerte de las células cancerosas por el calor generado en el tejido tumoral, empleando nanopartículas de oro expuestas a la luz en el infrarrojo cercano (NIR). Estos absorbentes en el NIR se utilizan para promover la generación de calor eficaz y, por lo tanto, se han estudiado métodos para mejorar la acumulación selectiva de tales materiales mediante la incorporación de sistemas de administración de fármacos (DDS)⁴⁴. La introducción de DDS mejora la eficiencia de la generación de calor en los tejidos tumorales, al tiempo que minimiza el daño fototérmico a los tejidos normales circundantes y se puede lograr una PTT eficiente, segura y confiable.

En el caso de la PTT, el tumor se irradia con luz en el NIR en un momento específico después de la administración del adsorbente. Para ello, se determinan los parámetros de irradiación, como la intensidad del láser y el tiempo de irradiación⁴⁵. Sin embargo, es casi imposible obtener información precisa relacionada con el tumor (el tamaño del tejido tumoral, la heterogeneidad y la distribución del adsorbente del NIR en el tumor). Es decir, dado que no es fácil optimizar los parámetros de irradiación NIR según cada tumor, se ha optado la estrategia de establecer una dosis de irradiación excesiva para obtener una buena respuesta térmica⁴⁶. De esta manera, el tejido tumoral se calienta a aproximadamente 50 °C o más. Recuerde que los tumores malignos primarios son más sensibles a los cambios de temperatura, por lo que cuando la temperatura se mantiene por encima de los 42 °C durante 10 min o 50 °C durante 5 min, puede destruir eficazmente las células tumorales.

A esta temperatura se llevan a cabo procesos complejos como la desnaturalización de proteínas, que podrían ser fundamentales para la muerte celular, que altera de manera eminentemente las estructuras multi-moleculares de las membranas y los complejos enzimáticos responsables de la síntesis del ADN. Por lo tanto, el proceso de transferencia de calor por foto-enfoque también podría dañar los tejidos normales alrededor de los tumores, causando efectos secundarios de sobrecalentamiento

3.6 Hipótesis

Las nanopartículas de oro recubiertas con los copolímeros en bloque del tipo PEG-*b*-PNVCL-SH o PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP)-SH presentarán las características adecuadas para su potencial aplicación en la terapia fototérmica.

IV. EXPERIMENTAL

4.1 Reactivos, disolventes y gases

Reactivos

4,4-Azobis –(ácido 4-cianopentanoico) (ACVA), 98% (Fluka)

N-vinilcaprolactama (NVCL), 98% (Sigma-Aldrich)

N-vinilpirrolidona (NVP), 97% (Sigma-Aldrich)

Poli-(etilenglicol) metil éter, Mn 5,000 g/mol (Sigma-Aldrich)

Cloroformo deuterado (CDCl₃), 1% TMS (Sigma-Aldrich)

n-Dodeciltiol (CH₃(CH₂)₁₁SH), 98% (Sigma-Aldrich)

Disulfuro de carbono (CS₂), 99.9% (Sigma-Aldrich)

Hidruro de sodio (NaH), 60 % dispersión en aceite mineral (Sigma-Aldrich)

Dimetilaminopiridina (C₇H₁₀N₂), 98% (Sigma-Aldrich)

Diciclohexilcarbodiimida (DCC), 99% (Sigma-Aldrich)

Sulfato de magnesio (MgSO₄), 99% (Sigma-Aldrich)

Sulfato de sodio anhídrido (Na₂SO₄), 99% (Sigma-Aldrich)

Tiosulfato de sodio (Na₂S₂O₃), 99% (Sigma-Aldrich)

Yodo, 99.99 % bases de trazas de metales (Sigma-Aldrich)

Ácido tetracloroáurico (HAuCl₄), 99.999% (Sigma-Aldrich)

Ácido ascórbico (C₆H₈O₆), 99% (Sigma-Aldrich)

Ácido sulfúrico, (H₂SO₄), 98% (Fermont)

Hexametilentetramina (HTM), 99 % (Sigma-Aldrich)

Hidróxido de sodio (NaOH), 97 % pellets (Sigma-Aldrich)

Borohidruro de sodio (NaBH₄), 98% (Sigma-Aldrich)

Bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB), 99% (Sigma-Aldrich)

Nitrato de plata (AgNO₃), 99% (Sigma-Aldrich)

n-Hexilamina (CH₃NH(CH₂)₅CH₃), 96% (Sigma-Aldrich)

Tributilfosfina [(CH₃(CH₂)₃)₃P], 97% mezcla de isómeros (Sigma-Aldrich)

Disolventes

Agua destilada (Sparklets)

Acetato de etilo (C₄H₈O₂), 99.9% (Sigma-Aldrich)

Cloruro de metileno (DCM), 99.5% (FERMONT)

Éter etílico (C₂H₅)₂O), 99.8 % (FERMONT)

p-Dioxano, 99.8 (Sigma-Aldrich)

Metanol (CH₃OH), 98% (FERMONT)

Isopropanol, (FERMONT)

Gases

Argón, (99.997 % alta pureza INFRA, S.A de C.V.)

Nitrógeno, (99.998 alta pureza INFRA, S.A de C.V.)

4.2 Equipos

- Equipo espectrofotómetro de infrarrojo con transformada de Fourier (FT-IR, Spectrum 400, FT-IR/FT-NIR Spectrometer, Perkin Elmer.
- Equipo de calorimetría diferencial de barrido (DSC), modelo Q2000 Modulated DSC TA Instruments.
- Equipo de análisis termogravimétrico acoplado a masas (TGA-MS), modelo DISCOVERY, TA Instruments.
- Equipo de RMN-¹H, 400 MHz, Bruker modelo AMX-400.
- Equipo de cromatografía de permeación en gel (GPC), con los siguientes módulos: Bomba HPLC Waters 515, detector de dispersión de luz Dawn DSP (Wyatt Technology), detector de índice de refracción Optilab DSP (Wyatt Technology), 3 columnas en serie Shodex Asahipak: GF-1G 7B, GF-510 HQ y GF-310 HQ. Desgasificador Waters. Dispersión de luz con 18 detectores a diferentes ángulos, $\lambda=633$ nm, modelo Dawn DSP, Wyatt Technology. Detector de índice de refracción interferométrico, modelo Optilab DSP, Wyatt Technology. Módulo de control de temperatura, Waters.
- Equipo de dispersión de luz dinámica (DLS): ZetaSizer (Nano-Zs) nano series, Malvern Instruments. Modelo: ZEN3690 (Láser rojo 630 nm). Medición de dispersión con detector a 90 ° del láser.
- Equipo de espectroscopia de UV-Vis, Varian Cary 100 Agilent-Technologies.
- Equipo de microscopía de electrónica de barrido de emisión de campo (FESEM), JEOL modelo: JSM-7800F.
- Equipo de microscopía electrónica de transmisión (TEM) H7500 (Hitachi Co. Ltd., Tokio, Japón) Volt. Aceleración de 80 kV.
- Diodo de láser con salida a fibra (CNI, MDL-III-785) de 785 nm con potencia de salida variable de 0-500 mW. A la salida de la fibra se acopló un sistema compuesto por una lente de colimación (Thorlabs, F240SMA-/(0) y una lente esférica (Thorlabs, A397TM-B), termómetro comercial (RDXL4SD 4-Channel. Datalogger Thermometer).

4.3 Síntesis del agente RAFT (CTA)

4.3.1 Síntesis del dodecanotiolato de sodio

En un matraz esférico de 250 mL equipado con un agitador magnético se agregaron 3.16 g (79 mmol) de hidruro de sodio y 150 mL de éter etílico, se colocó en agitación y se sumergió en un baño de hielo a 0 °C, después de 10 min se agregaron 18.24 mL (15.4 g, 79 mmol) de *n*-dodeciltiol por goteo durante 15 min en atmosfera inerte. La reacción se mantuvo en agitación durante tres horas a 0 °C, hasta que las burbujas del gas de H₂ no aparecieron, el producto obtenido es un polvo blanco en suspensión ver **Figura 4A**.

4.3.2 Síntesis de S-dodecanotritiocarbonato de sodio

Se agregó gota a gota el disulfuro de carbono (4.2 mL, 79 mmol) a la suspensión de dodecanotiolato de sodio obtenida en la etapa anterior, se observó una tonalidad amarillenta. Esta suspensión se agitó por 18 horas. Se recogió el precipitado de S-dodecanotritiocarbonato de sodio por filtración **Figura 4B**.

4.3.3 Síntesis del bis-(dodecanosulfanil tritioarbonil) disulfito

El S-dodecanotritiocarbonato de sodio se colocó en un matraz esférico y se dispersó en 100 mL de éter etílico. Luego, se agregó una cantidad equimolar de yodo en pequeñas porciones y se continuó agitando a temperatura ambiente durante una hora. Se obtuvo una solución con tonalidad amarillo oscuro con un precipitado blanco, luego se filtró (se eliminó el precipitado) y se lavó con una solución acuosa de tiosulfato de sodio anhídrido (5x100 mL) para eliminar el exceso de yodo. La solución lavada fue de una tonalidad naranja, se secó a través de sulfato de sodio anhídrido a granel, se filtró y luego se secó a presión reducida. Se obtuvo un sólido con una coloración amarillo-naranja **Figura 4C**.

4.3.4 Síntesis del ácido 4-ciano-4 (dodecilsulfaniltiocarbonilsulfanil) pentanoico

En un matraz esférico de tres bocas se agregaron (4.22 g, 15 mmol) del 4,4-Azobis – (ácido 4-cianopentanoico), luego (5.54 g, 10.98 mmol) de bis-(dodecanosulfanil tritioarbonil) disulfito y se agregaron 100 mL de acetato de etilo. La mezcla se agitó por 15 min en atmósfera de nitrógeno.

A continuación, se colocó a reflujo por 18 horas, al finalizar el tiempo de reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y se concentró a baja presión para obtener un sólido de color amarillo-naranja. Posteriormente, se preparó una suspensión utilizando el 4-ciano-4 (dodecilsulfaniltiocarbonilsulfanil) pentanoico y se agregaron 10 veces en volumen de éter etílico se agitó y se mantuvo en refrigeración durante 6 horas. Pasado el tiempo de reacción se decantó y se concentró en el rotoevaporador a presión reducida, esta purificación se realizó por triplicado. Finalmente, el material se pasó a través de una columna empacada con gel de sílice (malla 70 - 230) usando DCM como fase móvil para las primeras dos fases y éter de petróleo para la tercera. Por último, la fase de interés se concentró a presión reducida y se secó en una estufa de vacío durante 24 horas **Figura 4D**. Obteniendo un rendimiento del 70%.

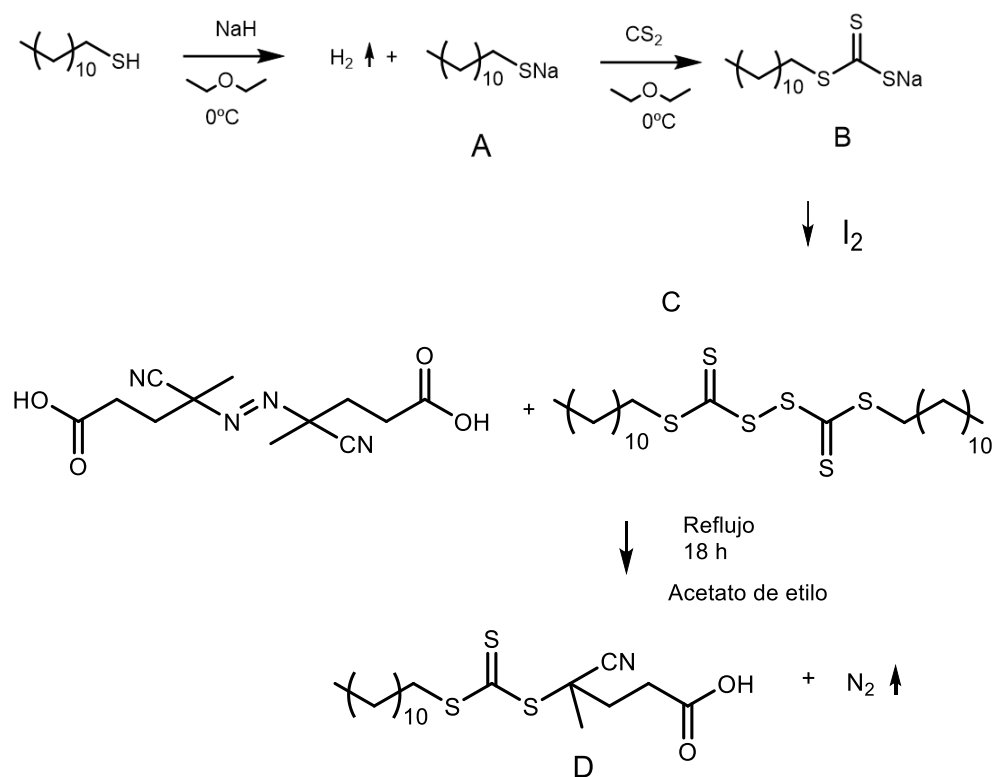


Figura 4. Ruta de síntesis del agente RAFT (CTA).

4.4 Síntesis del macro agente RAFT (macro-CTA) funcionalizado con PEG M_n 5000 g/mol

En un matraz esférico de 250 mL con un agitador magnético⁴⁷, se añadieron (10.2 g, 2 mmol) de poli(etilenglicol) metil éter M_n 5000 g/mol, que se disolvieron en 50 mL de tolueno. La solución se mantuvo en reflujo durante 72 horas alrededor de 105 °C, se adaptó al sistema de destilación una trampa Dean-stark para eliminar la mayor parte de humedad proveniente del PEG. La solución se enfrió a temperatura ambiente y se agregaron (1.6 g, 0.644 mmol) de ácido 4-ciano-4 (dodecilsulfaniltiocarbonilsulfanil) pentanoico (CTA) en 50 mL de DCM y 0.24 g de dimetil (amino piridina) disuelto (DMAP). Se concentró en un matraz de reacción y se sumergió en un baño de hielo, debido a la liberación de calor y se disolvieron 0.82 g de dicitclohexilcarbodiimida (DCC) en 6 mL de DCM que se agregaron lentamente durante 15 min. Una vez completado el goteo se colocó a temperatura ambiente y en agitación constante durante 72 horas.

Una vez pasado el tiempo de reacción se filtró para eliminar la dicitclohexilurea (DCU) formada, que en textura se asemeja a una masa color amarillo pálido con un olor desagradable. La solución que se obtuvo después de la filtración se precipitó agregando éter etílico y se agitó continuamente durante 20 min, luego se agregaron 30 mL éter de petróleo y la solución se mantuvo en reposo por 10 horas a baja temperatura. El precipitado resultante se concentró a presión reducida y esta purificación se realizó por triplicado. Una vez completado los ciclos de purificación del material, se colocó en una estufa de vacío durante 24 horas en la **Figura 5** se muestra la ruta de síntesis.

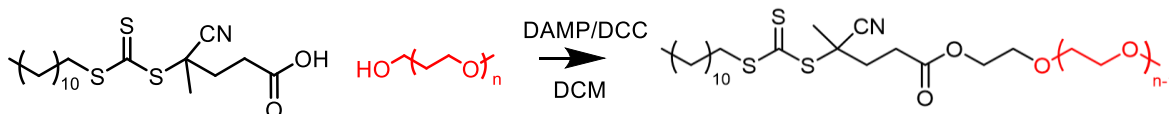


Figura 5. Ruta de síntesis del macro agente RAFT (macro-CTA).

4.5 Purificación de los monómeros

- *N*-vinilcaprolactama: Para la purificación del monómero de NVCL se disolvieron 50 g de este monómero en un vaso de precipitado en 50 mL de éter de petróleo a 40 °C, se agitaron continuamente durante 4 horas. A continuación, el material se colocó en un recrystalizador y se dejó en reposo a 0 °C por 24 horas, una vez pasado el tiempo se retiró el sobrenadante. Este procedimiento se realizó por duplicado, para finalizar se colocó en una estufa de vacío a 30 °C por 24 horas.
- *N*-vinilpirrolidona: Para la purificación de la NVP se montó un equipo de destilación en el que se agregaron 50 mL de monómero en un matraz esférico y se disolvieron 5 g de etanox con agitación continua a 95 °C hasta el punto de ebullición del monómero. El equipo de destilación debe estar bien protegido de la pérdida de calor al ambiente, y el producto una vez destilado se almacena a 0 °C.

4.6 Síntesis de los copolímeros en bloques

4.6.1 Síntesis de los copolímeros en bloques PEG-*b*-PNVCL

Los copolímeros en bloques se sintetizaron vía polimerización RAFT. El procedimiento fue el siguiente: se colocó un baño de aceite mineral a 70 °C, luego se agregaron a un vial de vidrio el monómero de *N*-vinilcaprolactama (NVCL) (2.5 g, 18 mmol) y el macro-CTA en la relación molar [NVCL]:[macro-CTA] de 200:1 (0.5223 g, 0.09 mmol). Se disolvieron en 9 mL de *p*-dioxano y se agitó durante 15 min hasta que la solución fue homogénea. A continuación, se agregó el iniciador 4,4-Azobis-(ácido 4-cianopentanoico) en relación molar [I]:[macro-CTA] de 0.4:1 (0.036 mmol, 0.01 g) y 0.2:1 (0.018 mmol, 0.05 g). La solución se transfirió a las ampolletas de reacción que contenían un agitador magnético, se sometió a 3 ciclos de evacuación de oxígeno de congelación-descongelación en argón, creando una atmósfera inerte para la reacción y finalmente se sellaron con un soplete de (Propano/aire) en condiciones de vacío.

La ampollita sellada se dejó a la intemperie hasta que alcanzó la temperatura ambiente y se colocó en un baño de aceite durante 24 horas de reacción con agitación magnética en la ampollita. Pasando el tiempo de polimerización, se retiró la ampollita del baño, se enfrió con agua a temperatura ambiente, luego con un cortador de vidrio se abrió la ampollita y el contenido se vertió a un vial de vidrio en la **Figura 6** se muestra la ruta de síntesis.

En la formación de bloques por RAFT, se generan muchos subproductos, por lo que la purificación requiere de varios pasos. Esta solución se sometió a un proceso de eliminación de disolvente a presión reducida para tratar de eliminar tanto *p*-dioxano como sea posible. Se purificó disolviendo en la mínima cantidad de DCM y se precipitó en éter etílico con agitación magnética, el producto se colocó a temperatura ambiente durante 1 hora y el líquido sobrenadante se decantó al final. Este proceso de purificación se realizó por 7 veces más. Luego se concentró a presión reducida y se precipitó en una solución 70:30 de (éter etílico/isopropanol) para eliminar los oligómeros que se formaron durante la reacción, se colocó a temperatura ambiente durante 12 horas. Finalmente, el sobrenadante se trató con eliminación de disolvente a presión reducida, cuyo rendimiento se determinó por gravimetría.

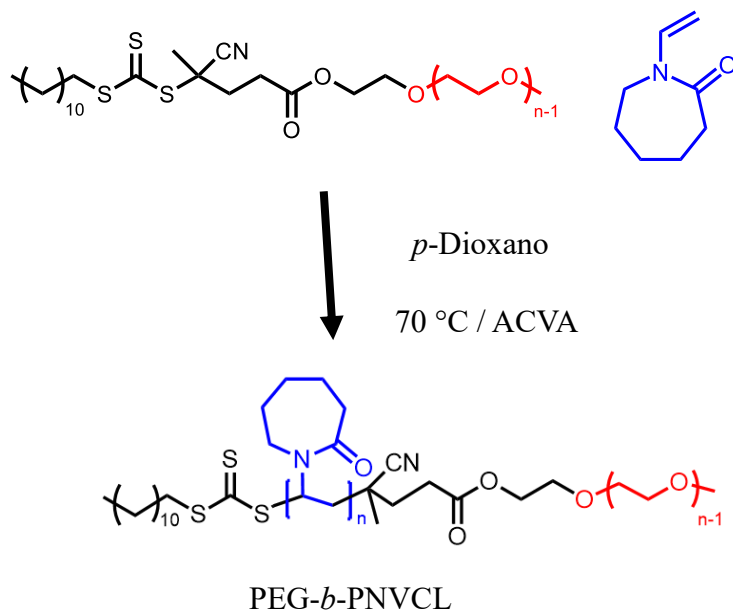


Figura 6. Ruta de síntesis de los copolímeros en bloques PEG-*b*-PNVCL.

4.6.2 Síntesis de los copolímeros en bloques PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP)

Los copolímeros en bloques se sintetizaron vía polimerización RAFT. El procedimiento es el siguiente: se colocó un baño de aceite mineral a 70 °C, luego en un vial de vidrio se agregaron (2.054 g, 14.76 mmol) de *N*-vinilcaprolactama (NVCL) y el monómero de *N*-vinilpirrolidona (NVP) en diferentes proporciones de alimentación 10, 18 y 25% (en mol) (0.34 mL, 3.24 mmol) y el macro-CTA en la relación molar [NVCL]:[NVP]:[macro-CTA] de 200:20:1 (0.5223 g, 0.09 mmol) se disolvieron en 9 mL de *p*-dioxano y se agitó durante 15 min hasta que la solución fue homogénea. Luego, se añadió el iniciador 4,4-Azobis –(ácido 4-cianopentanoico) en una relación molar [I]:[CTA] de 0.4:1 (0.036 mmol, 0.01 g). La solución se pasó a las ampolletas de reacción que contenían un agitador magnético, sometiénolas a 3 ciclos de evacuación de oxígeno congelación-descongelación en argón, creando una atmósfera inerte para la reacción y finalmente se selló con un soplete de (Propano/aire) en presencia de vacío.

La ampolleta sellada se dejó a la intemperie hasta que alcanzó la temperatura ambiente y se colocó en un baño de aceite durante 24 horas de reacción con agitación magnética en la ampolleta. Pasando el tiempo de polimerización, se retiró la ampolleta del baño, se enfrió con agua a temperatura ambiente, luego con un cortador de vidrio se abrió la ampolleta y el contenido se vertió a un vial de vidrio en la **Figura 7** se muestra la ruta de síntesis. En la formación de bloques por RAFT, se generan muchos subproductos, por lo que la purificación requiere de varios pasos. Esta solución se sometió a un proceso de eliminación de disolvente a presión reducida para tratar de eliminar tanto *p*-dioxano como sea posible. Se purificó disolviendo en la mínima cantidad de DCM y se precipitó en éter etílico con agitación magnética, el producto se colocó a temperatura ambiente durante 1 hora y el líquido sobrenadante se decantó al final. Este proceso de purificación se realizó por siete veces más. Luego se concentró a presión reducida y se precipitó en una solución 70:30 éter (etílico/isopropanol) para eliminar los oligómeros que se formaron durante la reacción, se colocó a temperatura ambiente durante 12 horas. Finalmente, el sobrenadante se trató con eliminación de disolvente a presión reducida, cuyo rendimiento se determinó por gravimetría.

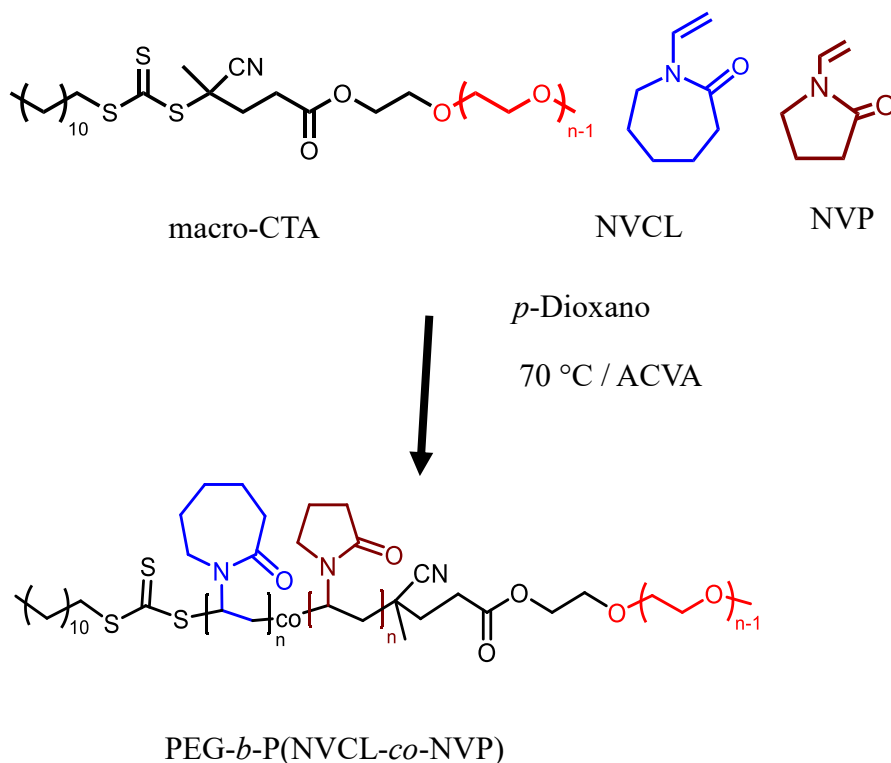


Figura 7. Ruta de síntesis de los copolímeros en bloques PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP).

4.7 Modificación del grupo terminal de los copolímeros en bloques PEG-*b*-PNVCL y PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP)

La reducción del grupo terminal tritiocarbonato de los copolímeros, se realizó mediante la aminólisis, empleando una base como la *n*-hexilamina⁴⁸. Para la reducción se colocaron (200 mg, 0.10 mmol) de cada copolímero en bloque PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP) o PEG-*b*-PNVCL y se disolvieron en 10 mL de *p*-dioxano se agitó hasta que la solución fue homogénea. Luego se agitó por 20 min bajo atmósfera de nitrógeno, se agregó la *n*-hexilamina y tributilfosfina, con una relación molar [n-hexilamina]:[CTA-copolímero]:[tributilfosfina] = [50]:[1]:[10] y la solución se mantuvo en agitación durante 2 horas. Transcurrido el tiempo de reacción, se trató el producto por eliminación del disolvente a presión reducida, se disolvió el producto en la mínima cantidad de DCM y se precipitó en éter etílico, y este proceso de purificación se realizó por triplicado. El producto se filtró, para lo cual se utilizó 300 mL de éter etílico y se lavó sobre el filtro hasta obtener un polvo blanco, el rendimiento fue aproximadamente del 70 % ver **Figura 8**.

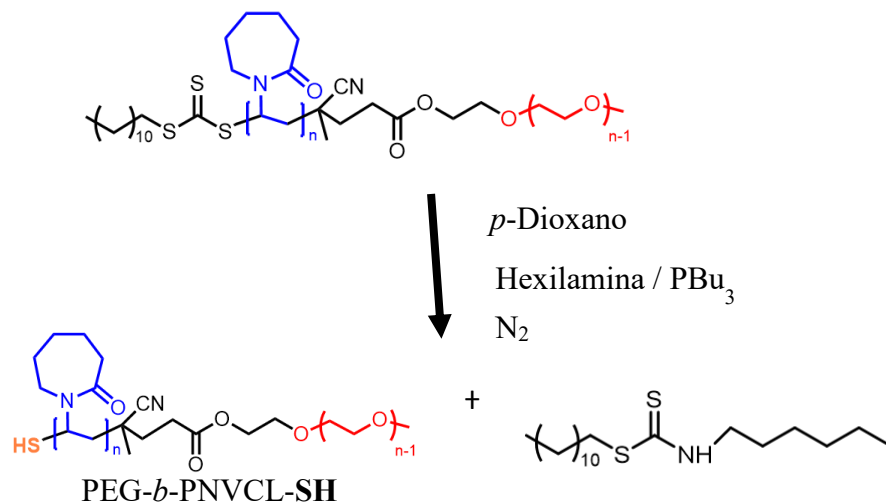
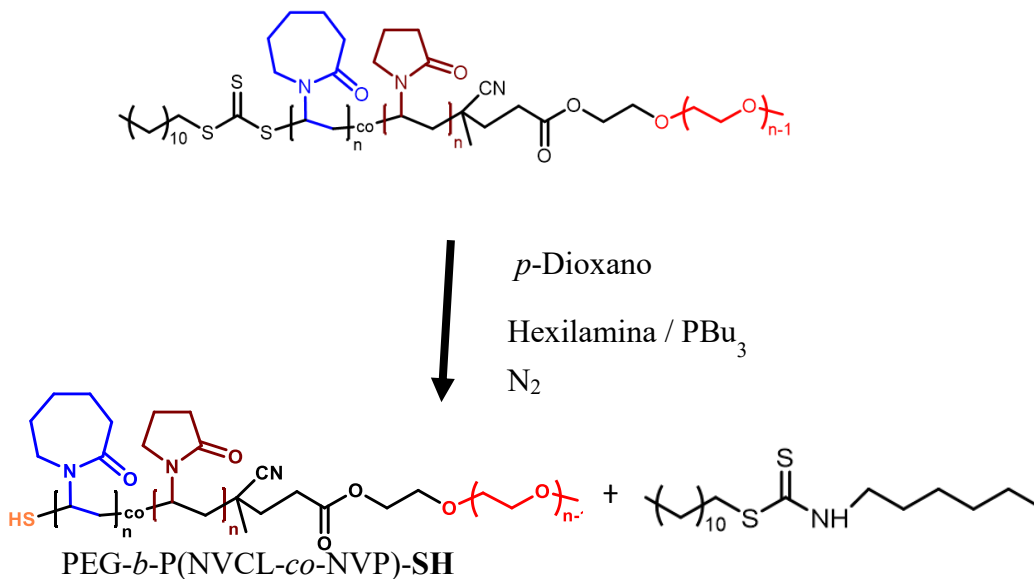
A) PEG-*b*-PNVCL-CTAB) PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP)-CTA

Figura 8. Ruta de síntesis de reducción del grupo terminal de tritricarbonato a tiol de los copolímeros en bloques.

4.8 Síntesis de nanobastones de oro (AuNRs)

Los nanobastones de oro se sintetizaron por medio de la técnica de germinación de semillas reportada por El-Sayed⁴⁹, esta técnica implica la preparación de una solución de semillas a partir de 7.5 mL de una solución 0.1 M de bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB), 0.25 mL de solución 0.01 M de ácido tetracloroáurico HAuCl_4 y 600 μL de borohidruro de sodio (NaBH_4) 0.01M, que se dejó en reposo durante 2 h se observó una coloración marrón en la solución. Luego, se preparó una solución de crecimiento a partir de 5 mL de solución 0.01 M de (HAuCl_4), luego se agregaron 100 mL de solución 0.1 M de (CTAB) hubo un cambio en la coloración (naranja ámbar), posteriormente se agregó 1 mL de solución 0.01 M de nitrato de plata (AgNO_3) y 1 mL de ácido sulfúrico. La solución se colocó en un baño de aceite mineral a 30 °C y se agitó durante 30 min. Cuando la solución alcanzó la temperatura, se agregaron 0.8 mL de ácido ascórbico 0.1 M. Cambiando la solución de ámbar a transparente, momento en el que se agregó la solución de semillas por goteo y se mantuvo en agitación por 1 horas luego se mantiene en reposo durante 6 horas, la dispersión se tornó a una coloración similar a la del vino. La LSPR se verificó por espectroscopía de UV-visible, se purificaron por centrifugación a 10,000 rpm durante 30 min por triplicado decantando el sobrenadante y el producto final fue redispersado en agua, se almacenó en un frasco ámbar a temperatura ambiente ver **Figura 9**.

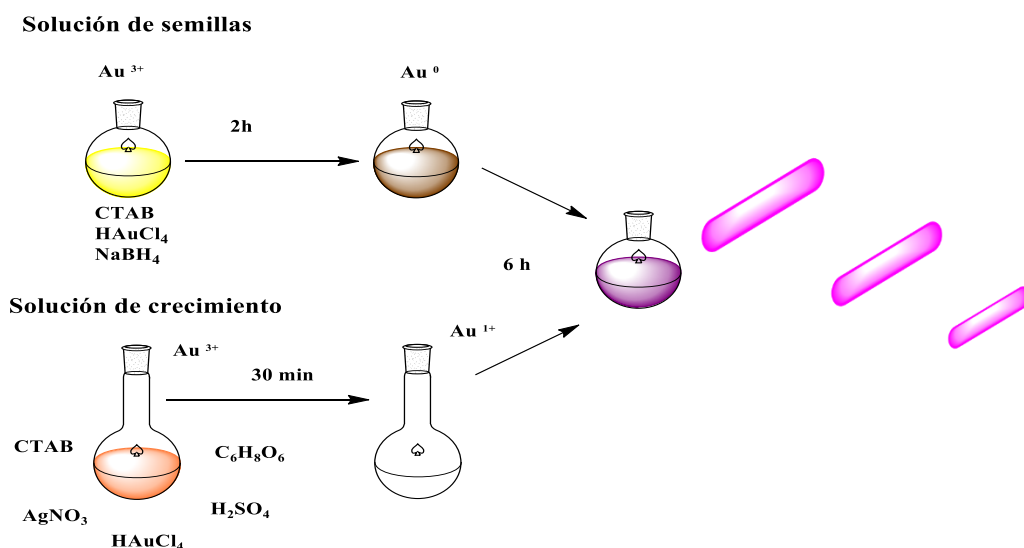


Figura 9. Síntesis de nanobastones de oro AuNRs.

4.9 Síntesis de nanotetrápodos de oro (AuNTPs)

Los nanotetrápodos fueron sintetizados de manera similar que los nanobastones de oro por la técnica de crecimiento de semillas. Se siguió la metodología de Chang y col.⁵⁰ De manera similar, la técnica consiste en la preparación de una solución de semillas y una solución de crecimiento. En un experimento típico para la síntesis de la solución de semillas, en un matraz esférico de 20 mL se agregaron 3.5 mL de una solución de CTAB 0.14 M se mezcló con 0.125 mL de una solución 15 mM H_{AuCl}₄ y 0.50 mL de una solución 100 mM de NaBH₄ fresca, el cual resultó una coloración marrón en la solución, la solución se agitó por 2 min y se almacenó a 25 °C.

Para la síntesis de los nanotetrápodos, se agregaron en un vial de vidrio de 20 mL (0.38 mL, 15 mM) de la solución de H_{AuCl}₄, (3 mL, 0.10 M) de la solución de CTAB, (3.0 mL, 0.10 M) de la solución de hexametilentetramina (HMT), (1 mL, 10 mM) de la solución de ácido ascórbico y agua desionizada (0.62 mL) y se rotuló como solución A. Luego, se agregaron a un vial rotulado como solución B (6.0 mL) de agua desionizada, (60 µL, 1.0 M) de la solución de NaOH y la solución de semillas acorde al volumen óptimo respecto a la posición de la banda LSPR. La solución B se agregó a la solución A y se mezcló con agitación la solución resultante fue incubada a 25 °C por 5 min. Para retirar el exceso de CTAB de la solución fresca de nanotetrápodos se purificó por centrifugación a 9000 rpm por 15 min y los nanotetrápodos fueron redispersados en una solución acuosa de mPEG-SH (1 mL, 1 mg/mL) para finalizar la mezcla se ultrasonificó por 5 min y se agitó por 3 horas a temperatura ambiente ver **Figura 10**.

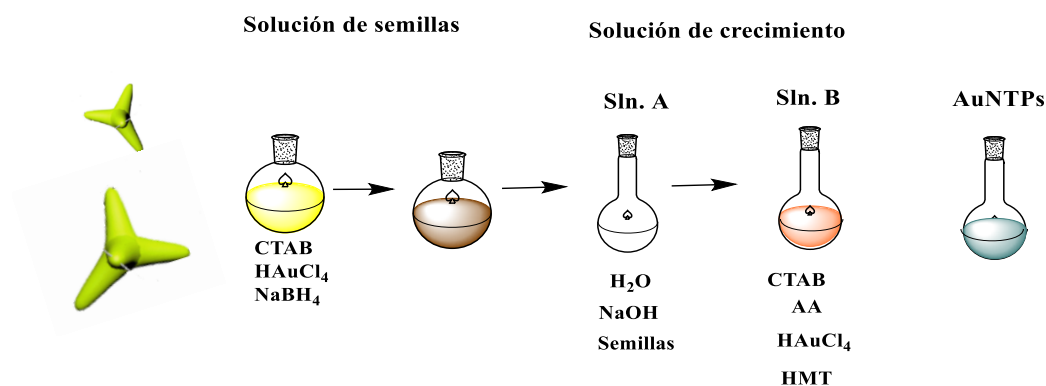


Figura 10. Síntesis de nanotetrápodos de oro AuNTPs.

4.10 Determinación del grado de fidelidad para la funcionalización de los copolímeros en bloques

El grado de fidelidad se determinó para encontrar la relación funcional de los copolímeros, que contienen la porción del tritio carbonato del CTA. Se realizó un barrido de concentraciones del CTA, disuelta en etanol ya que no es soluble en agua debido a la porción hidrófoba de la cadena alifática. Se midió la absorbancia por espectroscopia de UV-visible a concentraciones de 2.2×10^{-5} , 4.9×10^{-5} , 9.9×10^{-5} , 1.4×10^{-4} y 1.9×10^{-4} M. Mientras que el copolímero se analizó a una concentración de 9.829×10^{-5} M disuelto en etanol. Se comparó la intensidad de la absorbancia del CTA en el polímero frente a la curva de calibración del CTA, por lo que se pudo determinar el grado de fidelidad.

4.11 Estabilización de nanopartículas de oro con los copolímeros en bloques con grupo terminal tiol

Las nanopartículas de oro se estabilizaron con los copolímeros en bloques con grupo terminal tiol. Este recubrimiento se llevó a cabo a una concentración de 1 mg/mL de la solución de polímero en solución acuosa. Para ello se disolvieron 5 mg de cada polímero en 5 mL de agua desionizada, se agitó por 3 horas hasta que la solución se volvió homogénea. Se purificaron y concentraron las nanopartículas de oro para agregar la solución de polímero con grupo terminal tiol en una relación de 5 mL de solución de polímero por 3 mL de solución de nanopartícula, se colocó en ultrasonido por 2 min y se agitó por 3 horas más, una vez terminado el proceso de estabilización se dejó en reposo 12 horas más, se tomó el sobrenadante y se transfirió a un vial de vidrio. Este procedimiento se realizó para ambas geometrías de nanopartículas ver **Figura 11**.

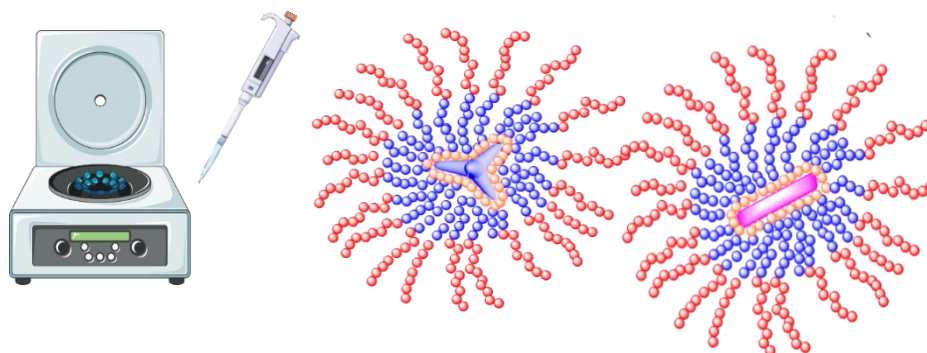


Figura 11. Estabilización de nanopartículas de oro con copolímeros en bloques con grupo terminal tiol.

4.12 Caracterización térmica de nanopartículas de oro

Con las especificaciones del láser descritas anteriormente, se añadió en una celda de cuarzo 1 mL de solución de nanopartícula y polímero, se colocó dentro de una espuma aislante para evitar la disipación de calor. Se insertó un termopar a la solución para monitorear la evolución de la temperatura, la potencia de irradiación se varió de 100 a 500 mW y la medición de la temperatura se llevó a cabo durante 10.5 minutos cada 2 segundos. Durante este periodo, los primeros 30 segundos se perturba el láser para tener un “offset” de referencia se comenzó a temperatura ambiente de 25 °C, después de 30 segundos se comenzó la irradiación de manera continua durante 10 minutos. El láser se colocó a 0.5 cm de la celda de cuarzo.

4.13 Técnicas analíticas empleadas

4.13.1 Resonancia magnética nuclear de hidrógeno (RMN-¹H)

Esta técnica es un método espectroscópico basado en las propiedades magnéticas del núcleo de hidrógeno. Es un método de análisis no destructivo, que se basa en la absorción de energía en la zona de la radiofrecuencia por parte de los núcleos de algunos átomos, cuando se colocan estos a un campo magnético intenso y de alta homogeneidad. Por lo tanto, utilizando esta técnica se determinó la composición química real de los compuestos sintetizados, utilizando cloroformo deuterado como disolvente. 400 MHz, Varian Mercury.

4.13.2 Análisis termogravimétrico (TGA)

El equipo de análisis termogravimétrico (TGA), mide la masa (pérdida o ganancia) de una muestra cuando se expone a un programa de temperatura controlada y que, además de su estabilidad térmica, mide la cantidad y la variación del cambio en el peso de una muestra que depende de la velocidad de calentamiento. Mediante esta técnica, se puede determinar el porcentaje de la pérdida de peso por descomposición, por deshidratación y por pérdida del disolvente, etc. Se utilizó un equipo modelo SDT 2960 Simultaneous DSC-TGA, TA Instruments.

4.13.3 Dispersión de luz dinámica (DLS)

Se utilizó un equipo de dispersión de luz dinámica (DLS) para determinar el D_h y el índice de polidispersidad de los agregados formados en agua y en solución de oro. Se trata de una técnica físico-química empleada para determinar el tamaño de partículas en suspensión que al alcanzar la luz láser se dispersa en todas las direcciones posibles. Los haces de luz son dispersados por diferentes partículas que interfieren entre sí y provocan una cierta intensidad de dispersión. El equipo utilizado fue un ZetaSizer (Nano-ZS) nano series, Malvern Instruments. Modelo: ZEN3690 (Láser rojo de 633 nm). Se midió con un detector a 90° del láser.

4.13.4 Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Esta es una técnica de análisis termoanalítica en la que la diferencia de calor entre una muestra y una referencia se mide en función de la temperatura. La muestra y la referencia se mantienen aproximadamente a la misma temperatura, cuando la muestra presenta un cambio físico tal como una transición de fase, se requerirá un mayor o menor flujo de calor en la muestra en comparación a la referencia, para que ambas se mantengan a la misma temperatura. Mediante esta técnica se determinaron las temperaturas de transición vítrea (T_g) de los polímeros y sus puntos de fusión. Se utilizó un equipo modelo 2920 Modulated DSC, TA Instruments.

4.13.5 Espectroscopia de UV-visible

Esta técnica implica la espectroscopia de fotones en las regiones de ultravioleta (UV)-visible e infrarrojo cercano (NIR). En esta región del espectro electromagnético, las moléculas experimentan una transición electrónica, que en términos de espectroscopia de absorción mide la transición del estado fundamental al estado excitado. Con esta técnica, las soluciones de oro se analizaron para determinar la longitud de onda a la que exhiben la resonancia de plasmón superficial localizada (LSPR). El equipo utilizado fue un Cary 100 Varian Inc.

4.13.6 Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (IR)

Se utilizó el equipo Spectrum 400, FT-IR/FT-NIR Spectrometer Perkin Elmer. Se utilizó espectroscopia de infrarrojo con la transformada de Fourier (FT-IR) para la detección de los principales grupos funcionales. Este método espectroscópico de absorción que utiliza la región del infrarrojo del espectro electromagnético, se basa en el hecho de que los enlaces químicos tienen sus propias frecuencias de vibraciones específicas, correspondiente a los niveles de energía de la molécula, la geometría molecular, las masas atómicas y posiblemente el acoplamiento vibracional.

4.13.7 Cromatografía de permeación en gel (GPC)

Equipo de cromatografía de permeación en gel (GPC) por medio de esta técnica se determinaron los pesos moleculares y la dispersidad de los copolímeros. con los siguientes módulos: Bomba HPLC Waters 515, detector de dispersión de luz Dawn DSP (Wyatt Technology), detector de índice de refracción Optilab DSP (Wyatt Technology), 3 columnas en serie Shodex Asahipak: GF-1G 7B, GF-510 HQ y GF-310 HQ. Desgasificador Waters. Dispersión de luz con 18 detectores a diferentes ángulos, $\lambda = 633$ nm.

4.13.8 Microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (FESEM)

Por medio de Microscopía Electrónica de Barrido de Emisión de Campo (FESEM), se obtuvieron las micrografías de los nanobastones de oro. FESEM utiliza como fuente de electrones, un cañón de emisión de campo que proporciona el haz de electrones de alta y baja energía muy focalizados, llegando a mejorar la resolución espacial y además permite trabajar a muy bajo potencial. El equipo utilizado fue un JEOL modelo: JSM-7800F.

4.13.9 Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

Por Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM) se obtuvieron las micrografías de los nanobastones de oro utiliza un haz de electrones para visualizar un objeto dada la potencia de amplificación de un microscopio óptico está limitada por la longitud de onda de la luz visible y utiliza una muestra ultra fina y que la imagen se obtiene a partir de los electrones que pasan a través de la muestra. Todos los electrones son dirigidos y modulados por una serie de lentes para formar la imagen final con diferentes intensidades de gris. El equipo utilizado fue un (TEM) H7500 (Hitachi Co. Ltd).

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Síntesis y caracterización del agente RAFT (CTA)

En la síntesis del CTA de la especie tritiocarbonato, el rendimiento obtenido fue del 72%, el cual se esperaba comparado al obtenido previamente en el grupo de investigación de polímeros.

5.1.1 Caracterización por espectroscopia de infrarrojo (FT-IR) del CTA

En la caracterización del ácido-4-ciano-4(dodecilsulfaniltiocarbonil sulfanil) pentanoico (CTA) por espectroscopia de infrarrojo, ver **Figura 12** en el espectro, se tiene una banda ancha en $2500\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$ que corresponde al estiramiento de los grupos hidroxilos. A 2900 y 2800 cm^{-1} , se muestran las bandas de los estiramientos C-H alifáticos. A 2200 cm^{-1} se observó la banda correspondiente al estiramiento carbono y nitrógeno del grupo ciano de la molécula del CTA. A 1711 cm^{-1} aparece el estiramiento característico de los grupos carbonilos C=O, a 1063 cm^{-1} aparece una banda de estiramiento C=S.

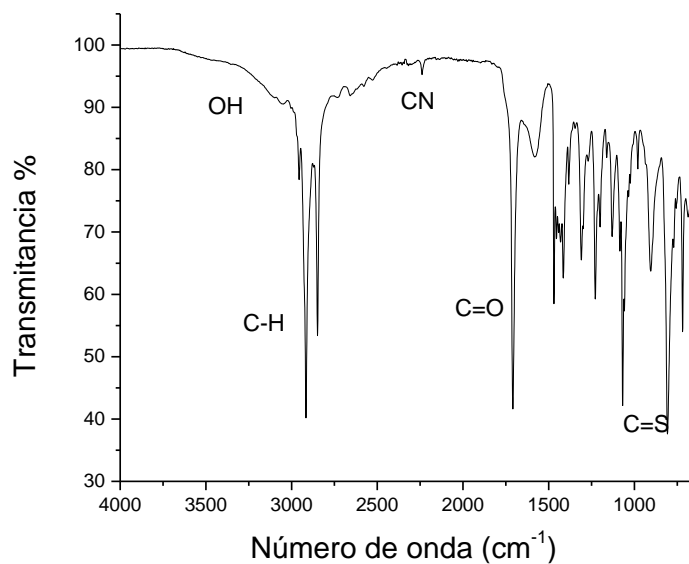


Figura 12. Espectro de FT-IR del CTA.

5.1.2 Caracterización por resonancia magnética nuclear de hidrógeno (RMN-¹H) del CTA

Mediante el análisis de RMN-¹H del agente RAFT (CTA), presentado en la **Figura 13** se observó un triplete con un desplazamiento químico de 0.88 partes por millón (ppm) (g) que integra para tres hidrógenos correspondientes al grupo metilo de la terminación de la cadena alifática del CTA. A 1.26 ppm (f) se observó un singulete bien definido que integra para dieciocho hidrógenos de los nueve metilenos f pertenecientes al resto de la cadena alifática. A 1.69 ppm (e) se ha encontrado un multiplete con poca intensidad que integra para dos hidrógenos que pertenecen al segundo metileno próximo al tritiocarbonato. A 1.89 ppm (d) hay un singulete que integra para tres hidrógenos que pertenece al metilo unido al carbono cuaternario al que está unido el grupo ciano. A 2.50 y 2.37 ppm (b) se tienen dos señales en forma de multipletes, debido al desdoblamiento diasterotópico de las señales, cada una integra para un hidrógeno, lo que indica que pertenecen al metileno, seguido del carbono cuaternario, y este desdoblamiento muestra que ambos hidrógenos no son magnéticamente equivalentes entre sí. A 2.68 ppm (c) se presenta un multiplete con poca intensidad integrando para dos hidrógenos y finalmente a 3.33 ppm (a) se observa un multiplete que integra para dos hidrógenos se atribuye al metileno que se encuentra unido al grupo tritio directamente.

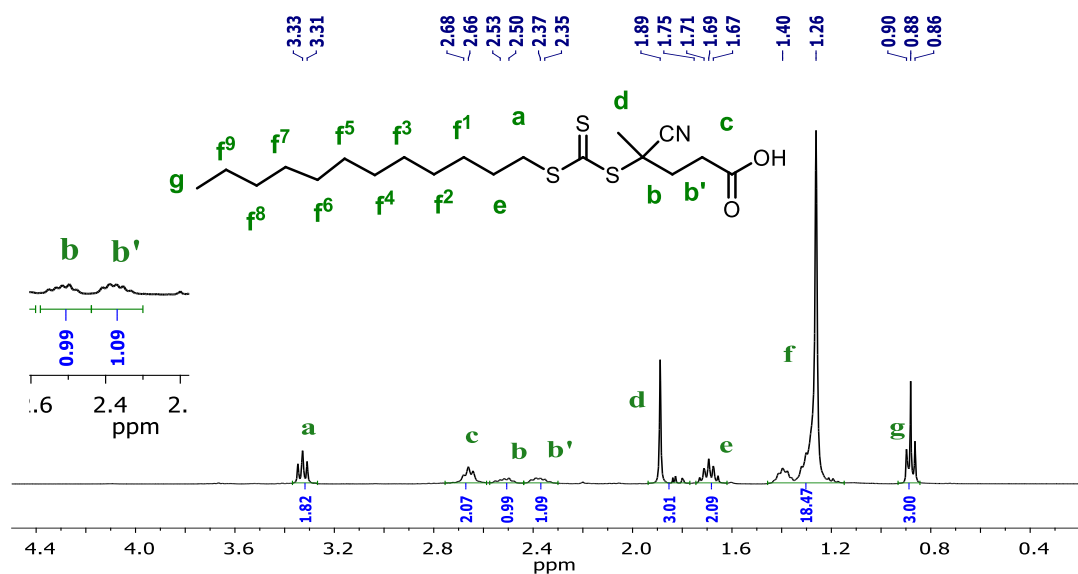


Figura 13. Espectro de RMN-¹H del CTA (CDCl₃).

5.1.3 Caracterización por resonancia magnética nuclear de carbono 13 (RMN-¹³C) del CTA

En la **Figura 14** se muestra el espectro por ¹³C del CTA, se elucidó la estructura basada en carbono 13, por esta técnica se corrobora el resultado que se obtuvo por RMN-¹H. Aproximadamente a 220 ppm a campo bajo se observa una señal de poca intensidad correspondiente al carbono (e) C=S. A 176 ppm (j) aparece el carbonilo del extremo de la estructura, la señal (g) que aparece a 118 ppm es una señal débil que indica la zona de carbono triple enlace nitrógeno C≡N. El disolvente de cloroformo deuterado apareció a 76 ppm y la señal (h) aparece a 45 ppm característico de carbonos cuaternarios. La señal (i) aparece a 36 ppm que corresponde al carbono seguido del carbono cuaternario. A 20 ppm hay una señal (f) del carbono del metilo unido al carbono cuaternario, el resto de las señales corresponden a la estructura alifática de la molécula. De acuerdo a los desplazamientos, se puede hacer una elucidación correcta de la estructura, utilizando ambas técnicas.

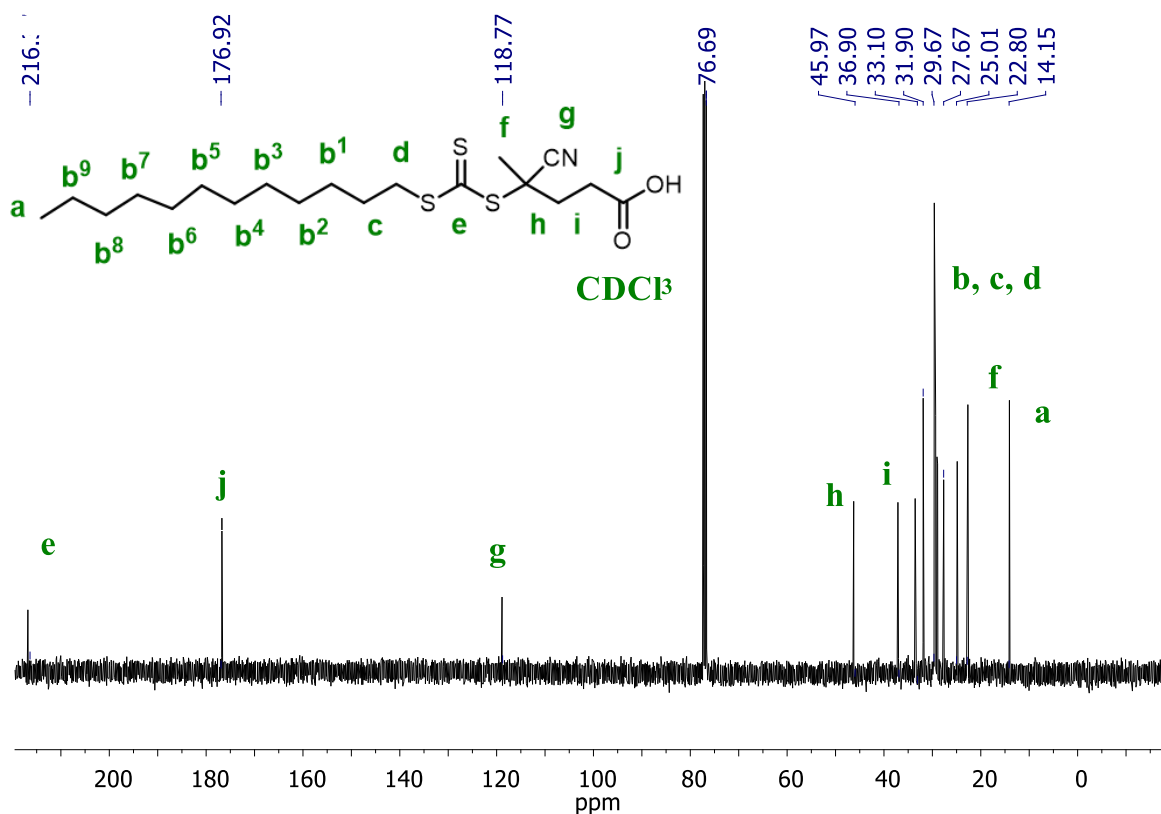


Figura 14. Espectro de RMN-¹³C del CTA (CDCl₃).

5.1.4 Caracterización por análisis termogravimétrico (TGA) del CTA

El análisis termogravimétrico del CTA se presenta en la **Figura 15**, donde se llevó a cabo comenzando a temperatura ambiente con una rampa de incrementos de temperatura de 20 °C /min hasta los 600 °C y enfriando en presencia de nitrógeno. Se observó que el CTA presenta dos etapas de descomposición, la primera etapa ocurre a una temperatura de 207 °C, teniendo en cuenta que el peso molecular del producto es de 404 g/mol, esto se debe al desprendimiento de la cadena alifática con una pérdida del 54.23 %, este por la ruptura del enlace C-S con una pérdida del peso molecular de 170 g/mol. La segunda etapa de descomposición tiene lugar a una temperatura de 244 °C, en esta etapa el porcentaje de descomposición es de 40.82 %, en el cual se le atribuye a la descomposición de los grupos C=O, C=S, C≡N y C-S, dado que tienen mayores energías de enlace y se requieren altas temperaturas para su descomposición, mostrando una relación de residuos de aproximadamente 0.90 %.

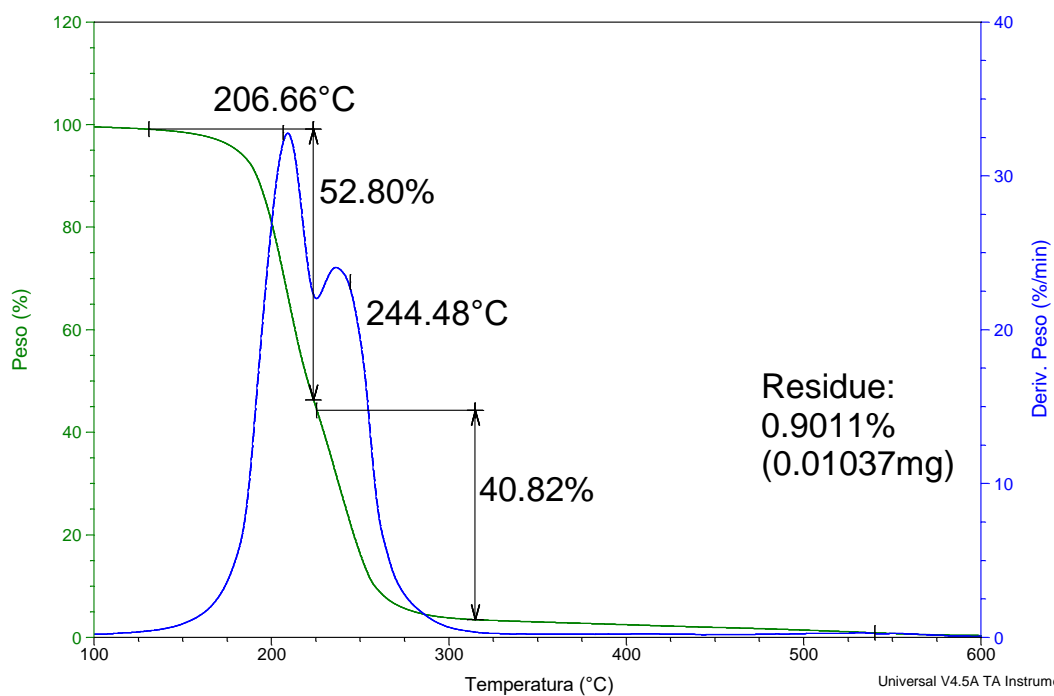


Figura 15. Termograma de descomposición del CTA.

5.2 Síntesis y caracterización de macro agente RAFT (macro-CTA) funcionalizado con polietilenglicol (PEG) M_n 5000 g/mol

La síntesis general del macro-CTA se llevó a cabo mediante la esterificación a temperatura ambiente resultando la unión entre las terminaciones OH en el CTA y en el poli (etilenglicol) metil éter (PEG). El producto final tiene una coloración amarillo opaco con una consistencia en forma de cera con un rendimiento del 72%.

5.2.1 Caracterización por resonancia magnética nuclear de hidrógeno (RMN- ^1H) del macro-CTA

En el espectro de RMN- ^1H que se muestra en la **Figura 16** las señales del PEG aparecen en conjunto con las señales ya presentadas por el CTA. Se observó a 0.88 ppm (g) un multiplete con baja intensidad que integra para tres hidrógenos correspondiente al metilo que se encuentra en la terminación de la cadena alifática. Con un desplazamiento de 1.26 ppm (f 1-9) aparece un singulete con alta intensidad que integra para dieciocho hidrógenos pertenecientes a los nueve metilenos a lo largo de la cadena alifática. A 1.70 ppm (e), hay un multiplete de baja intensidad que integra para dos hidrógenos que se encuentran. A 1.88 ppm (d) se tiene un singulete que integran para tres hidrógenos que se le atribuye al grupo metilo al que está unido al carbono cuaternario. Encontrándose a 3.33 ppm (a) es la señal del metileno de la cadena alifática que se encuentra unido al grupo tritio directamente integrando para dos hidrógenos. A 2.52 y a 2.39 ppm (b) se encuentran dos señales de baja intensidad que integran para un hidrógeno cada una de ellas, que denota a los hidrógenos diasterotópicos del metileno. Muy cerca a esta última señal se encuentra a 2.56 ppm (c) un multiplete de baja intensidad que integran para dos hidrógenos que es el metileno junto al carbono al que está unido el grupo ciano. En las señales del PEG, a 3.64 ppm (j y k), se tiene un singulete intenso junto con las señales satelitales que integran para 471 hidrógenos, se tiene la señal a 3.38 ppm (i) que también pertenece al PEG, es el metoxi terminal que integra para 3 hidrógenos, así como la señal a 4.26 ppm (h) que integra para dos hidrógenos generado por la esterificación entre el CTA y el PEG, el espectro del PEG se encuentra en el **ANEXO A1.1**.

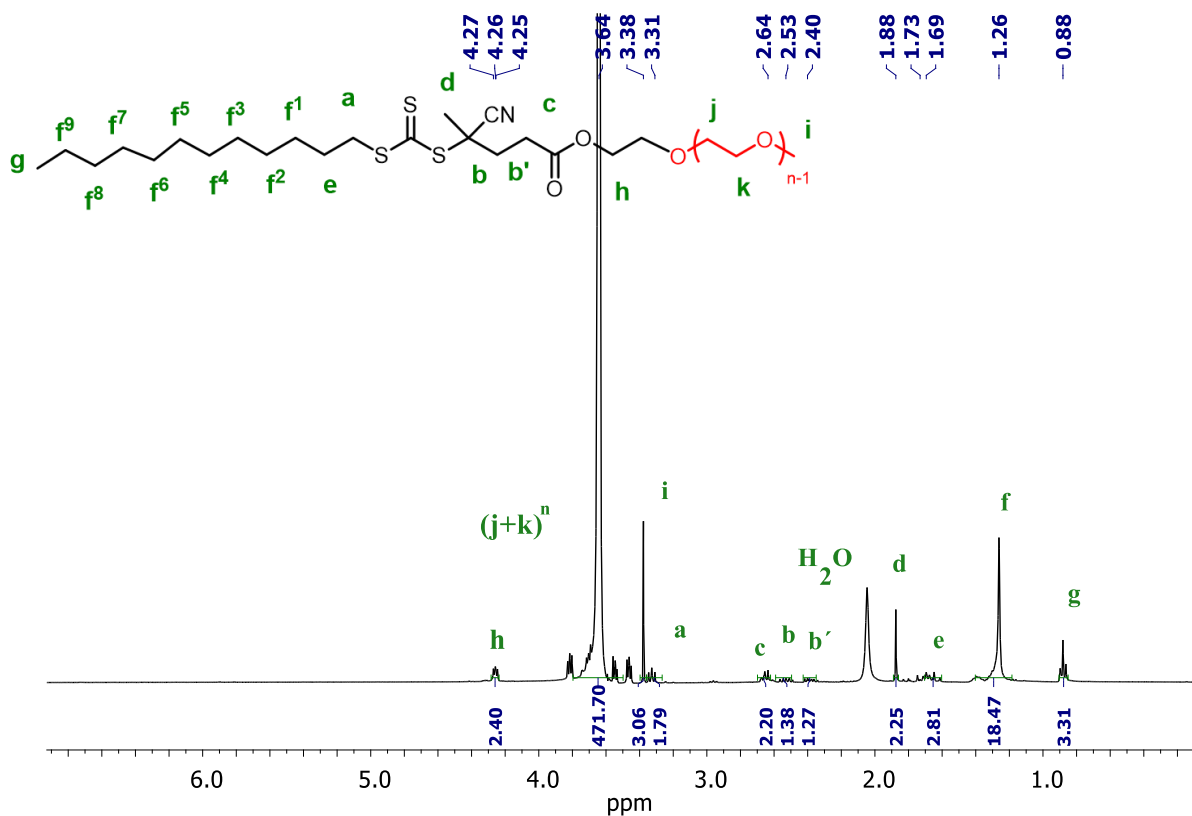


Figura 16. Espectro de RMN-¹H del CTA (CDCl₃).

5.2.2 Caracterización por espectroscopia de infrarrojo (FT-IR) del macro-CTA

Mediante el análisis de FT-IR, se determinó los estiramientos de los principales grupos funcionales del material sintetizado con PEG M_n 5000 g/mol. Donde se identificaron las siguientes señales: Resultando un estiramiento entre 2900 y 2800 cm^{-1} pertenecientes al enlace C-H alifático del CTA y el PEG, en 2200 cm^{-1} se observa una se tiene el estiramiento del enlace $\text{C}\equiv\text{N}$ del grupo ciano. A 1724 cm^{-1} se observó el estiramiento del carbonilo $\text{C}=\text{O}$, y por último en 1100 y 1070 cm^{-1} el estiramiento de la banda éster tal como se muestra en la **Figura 17**. Es notoria la ausencia de la banda OH a entre 2500 y 3500 cm^{-1} comparando con el espectro del CTA, indicando que se llevó a cabo la esterificación. En el **ANEXO A1.2** se encuentra el espectro del PEG.

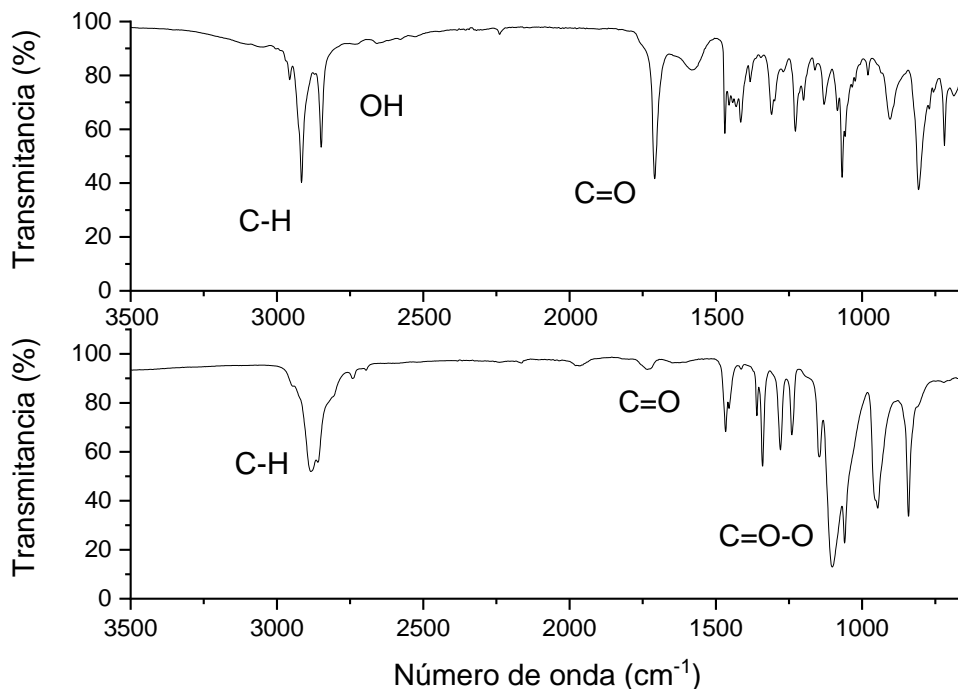


Figura 17. Espectro de (FT-IR) del macro-CTA.

5.2.3 Caracterización por análisis termogravimétrico (TGA) del macro-CTA

En la **Figura 18** se tiene el termograma de TGA para la descomposición del macro-CTA con PEG M_n 5000 g/mol, el cual cuenta con 117 unidades repetitivas. Presentó dos pérdidas de peso conforme aumenta la temperatura. En la primera etapa de descomposición, se produjo a 227 °C con un porcentaje de pérdida de 2.8 %, fue atribuible a la pequeña porción del CTA. La segunda y última pérdida de peso se presentó a los 399 °C es la temperatura típica de descomposición del PEG con un 91.8 % en el **ANEXO A1.3** se tiene el termograma del PEG, cuya temperatura de descomposición es de 387 °C mientras que la temperatura de descomposición del PEG en el macro-CTA se desplazó a 399 °C, debido que está ligado al CTA, y se requiere una temperatura superior para su descomposición.

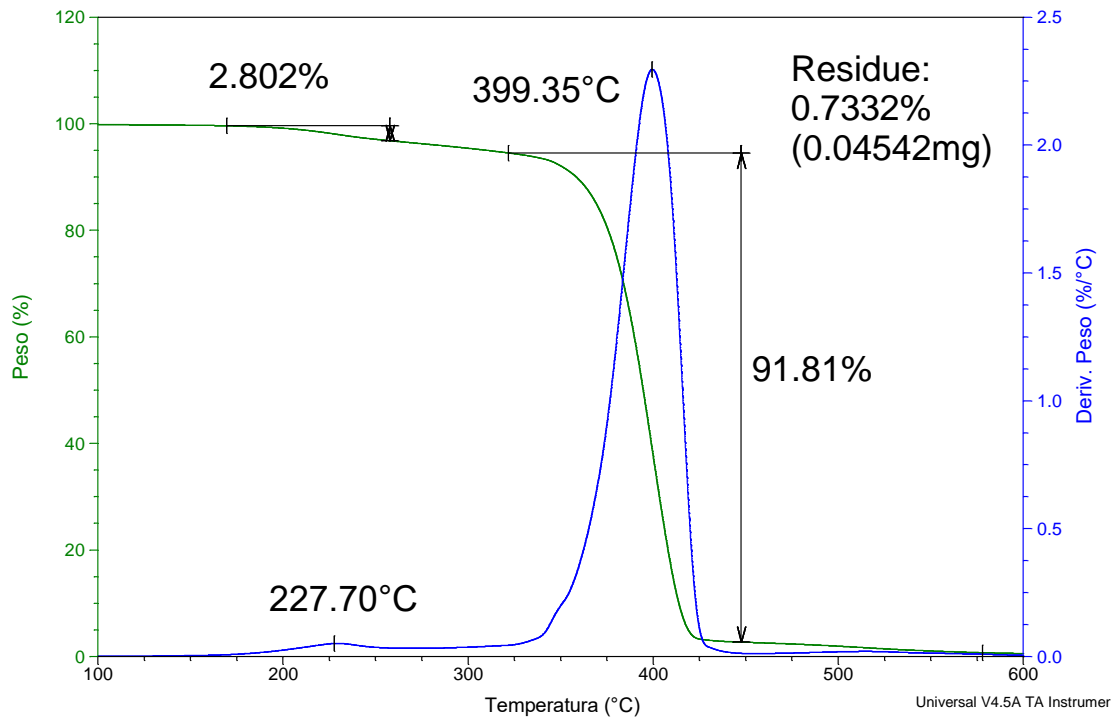


Figura 18. Termograma de descomposición del macro-CTA con PEG M_n 5000 g/mol.

5.3 Síntesis y caracterización de los copolímeros en bloques PEG-*b*-PNVCL.

5.3.1 Caracterización por cromatografía de permeación en gel (GPC) de los copolímeros en bloques PEG-*b*-PNVCL

En la **Tabla 1** se tiene la información obtenida por cromatografía de permeación en gel y las especificaciones de la reacción, se estimó el peso molecular objetivo de 30,000 g/mol para esto se diseñó con un mayor contenido de PNVCL en el copolímero respecto al PEG. El peso molecular por GPC M_n fue muy cercano al peso molecular objetivo, con rendimientos entre el 26 y 35%. La dispersidad es consistente con la técnica de polimerización y mostró un buen control. La diferencia en las relaciones molares [mCTA]:[I] se realizó para obtener copolímeros dentro del mismo intervalo del peso molecular pero con un mayor contenido de tritocarbonato-CTA en la muestra. De esta manera, hay una ligera diferencia en el peso molecular que se obtuvo debido al efecto de la relación [CTA]:[I] sobre la polimerización.

Tabla 1. Pesos moleculares obtenidos para los copolímeros de NVCL partiendo de macro-CTA M_n 5000 g/mol variando la relación [M]:[macro-CTA]:[I] con 24 horas de reacción.

<i>Muestra</i>	<i>[M]:[mCTA]:[I]</i>	M_n <i>Obj.</i> g/mol ^a	<i>Rend</i> % ^b	M_n <i>GPC</i> <i>MeOH</i> (g/mol) ^c	\bar{D} M_w/M_n^c	t_{rx} (h)
P1 (PEG- <i>b</i> -PNVCL)-1	[200]:[1]:[0.4]	33624	35	38130	1.06	24
P2 (PEG- <i>b</i> -PNVCL)-2	[190]:[1]:[0.2]	30840	26	28710	1.07	24

^a El peso molecular objetivo se calculó mediante la formula M_n **Objetivo** = $\left[\left(\frac{M}{macroCTA} \right) * Mo \right] * Conver + M_n mCTA$ asumiendo una conversión del 100 % (PM= Peso molecular del monómero [NVCL], M_n mCTA= Pesos molecular del macro-CTA).

^b El porcentaje de rendimiento se determinó mediante gravimetría por diferencia de pesos.

^c M_n y M_w/M_n se determinaron por GPC con metanol: TEA (99:1) como fase móvil y $dn/dc=0.154$ mL/g.

En la **Figura 19** se tiene los cromatogramas de las muestras descritas anteriormente, cabe destacar que el tiempo de retención es en función del peso molecular, ya que el polímero al tener un mayor peso molecular como es el caso del copolímero P1, su tiempo de elución es menor y pasa por las columnas en tiempos más cortos. A diferencia del copolímero P2, al tener un menor peso molecular su tiempo de elución son más prolongados. Esto debido a que la muestra se retiene por más tiempo en las columnas. Además, junto a los cromatogramas de los copolímeros se tiene el cromatograma del macro-CTA en **ANEXO A2.1** se tiene la distribución de pesos moleculares de los copolímeros.

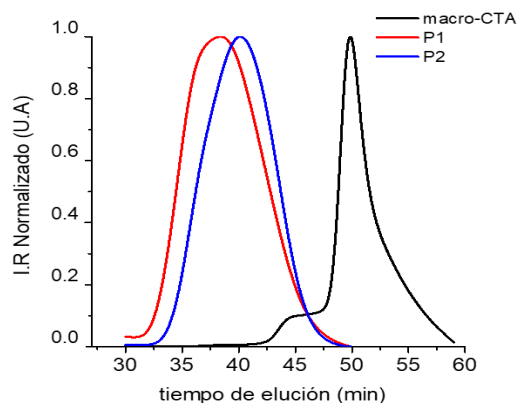


Figura 19. Cromatogramas del tiempo de elución de los copolímeros en bloques PEG-*b*-PNVCL.

5.3.2 Caracterización por resonancia magnética nuclear de hidrógeno (RMN- ^1H) de copolímeros en bloques PEG-*b*-PNVCL

En la **Figura 20** se tiene el espectro de RMN- ^1H correspondiente al copolímero P2, en el espectro se tienen las señales presentadas por el PEG en conjunto a las señales de la PNVCL. La señal del PEG aparece a 3.66 ppm (h) con las señales satelitales en sus costados. A 4.39 ppm (b) se observó una señal bastante ancha que pertenece al metino de la PNVCL. Otra señal muy similar a esta se tiene a 3.23 ppm (d) basado a la relación del número hidrógenos, la integración es el doble en comparación con la señal (b), para el metileno unido a la amina terciaria. De manera similar, se tiene a 2.50 ppm (e) la misma relación para la señal del metileno unido a la amida del anillo de la lactama. En la última señal a 1.75 ppm de la PNVCL, se tiene una señal ancha e intensa, que pertenece al resto de los metilenos del anillo de la lactama los hidrógenos (f) y (c), dado a que se encuentran en un entorno químico muy similar y se adjuntan en una sola señal, para el resto de los sistemas ver **ANEXO 3.1**. En el espectro de RMN- ^1H la integración del metino de la PNVCL es mucho mayor respecto a la del PEG, esto se debe a cadenas de homopolímero de PNVCL que se originaron durante la reacción ya que en la distribución de pesos moleculares se observa en una pequeña población a mayores pesos moleculares.

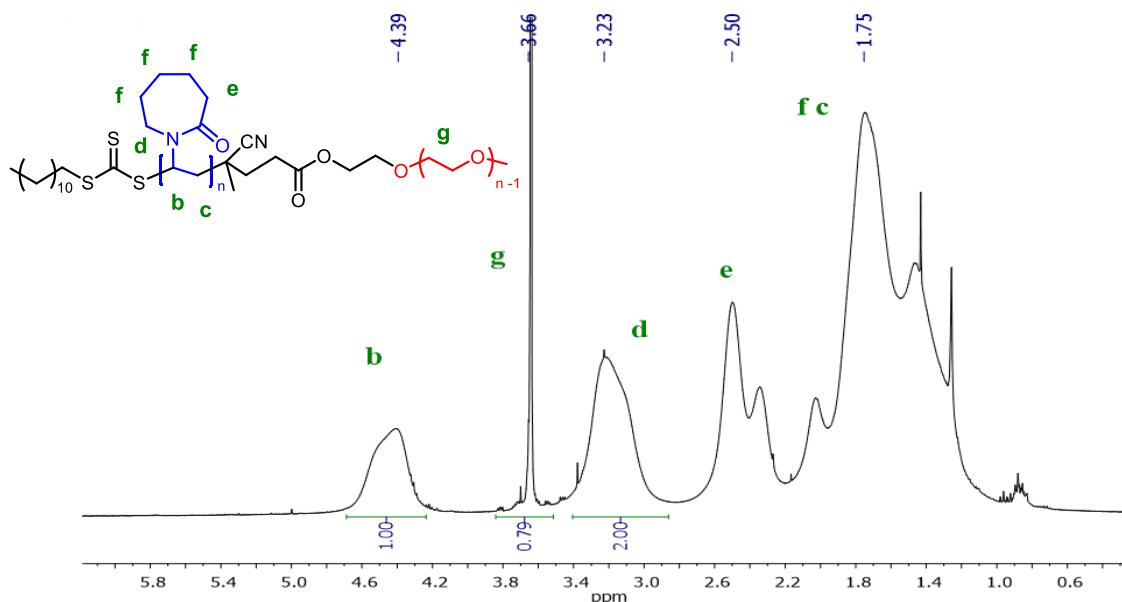


Figura 20. Espectro de RMN- ^1H del copolímero en bloques (PEG-*b*-PNVCL)-2 (CDCl_3) 400 MHz.

5.3.3 Caracterización por espectroscopia de infrarrojo (FT-IR) de los copolímeros en bloques PEG-*b*-PNVCL

En la **Figura 21** se tiene el espectro del copolímero (PEG-*b*-PNVCL)-2 y del macro-CTA donde se muestra la diferencia entre ambos, se identifican las siguientes señales de los principales grupos funcionales del copolímero: el estiramiento C-H característico de la cadena alifática se observó a 2921 cm^{-1} , una característica especial que tiene la PNVCL es que es un material higroscópico, lo que significa que tiene la capacidad de absorber la humedad del medio ambiente y esta se presenta en estiramientos de enlaces OH a 3400 cm^{-1} . Una banda intensa se tiene a 1626 cm^{-1} que se le atribuye al grupo amida, la mayoría de los copolímeros presentan la huella dactilar del PEG, por lo que es difícil indicar señales en esta región. El resto de los espectros de los copolímeros son muy similares entre sí, ya que no hay cambio estructural.

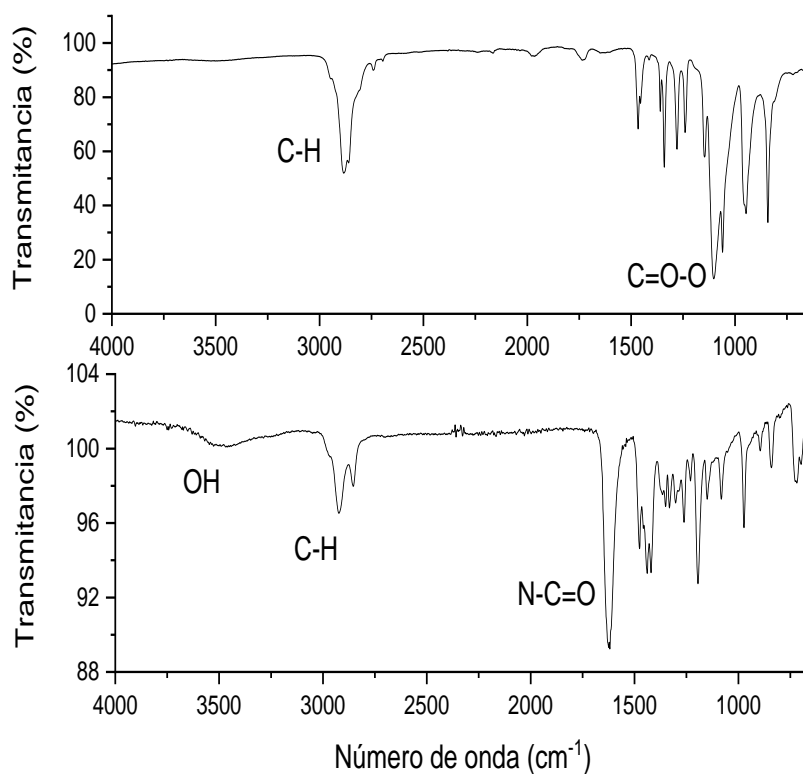


Figura 21. Espectro de FT-IR. A) macro-CTA, B) Copolímero en bloques (PEG-*b*-PNVCL)-2.

5.3.4 Caracterización por análisis termogravimétrico (TGA) de los copolímeros en bloques PEG-*b*-PNVCL

En la **Figura 22** se tiene el termograma que corresponde al copolímero (PEG-*b*-PNVCL)-2 el cual presenta dos etapas de descomposición. En el termograma se muestra un calentamiento inicial de 100 a 600 °C con incrementos de temperatura de 20 °C por min. La primera etapa de descomposición se presentó a los 200 °C indicando la descomposición de la porción del CTA con un porcentaje de descomposición del 2.5 %, mientras que la segunda etapa de descomposición se presentó alrededor de los 434 °C. Como se observó anteriormente, la temperatura de descomposición del PEG fue a 400 °C, mientras que la descomposición de la PNVCL es de alrededor de 440 °C, estas dos etapas de descomposición son muy similares tienden a traslaparse totalmente, dependiendo del contenido de la PNVCL. Sin embargo, se presenta la descomposición temprana del PEG, al momento de descomponerse presenta una pérdida del 92 % cuando se combina con la PNVCL, se tiene un residuo de la muestra total alimentada del 0.9 % en el **ANEXO A4.1** se muestran los TGA del resto de los sistemas.

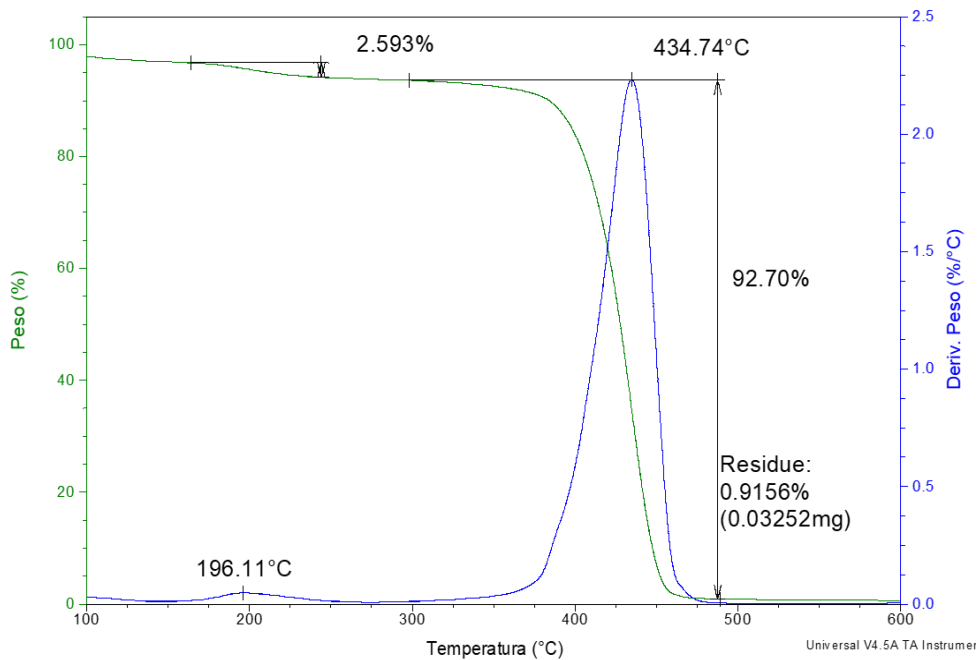


Figura 22. Termograma de descomposición del copolímero en bloques (PEG-*b*-PNVCL)-2.

5.3.5 Caracterización por calorimetría diferencial de barrido (DSC) de los copolímeros en bloques PEG-*b*-PNVCL

En la **Figura 23** se muestran los termogramas de DSC correspondiente de ambos copolímeros los cuales presentan una temperatura de transición vítrea (T_g) a 144 °C y 141 °C asignada a la PNVCL. Por encima de la T_g ocurre una transición termodinámica donde las moléculas ganan energía por lo que hay más movilidad y el polímero adquiere cierta capacidad de deformación sin fractura, disminuyendo su densidad, dureza y rigidez.

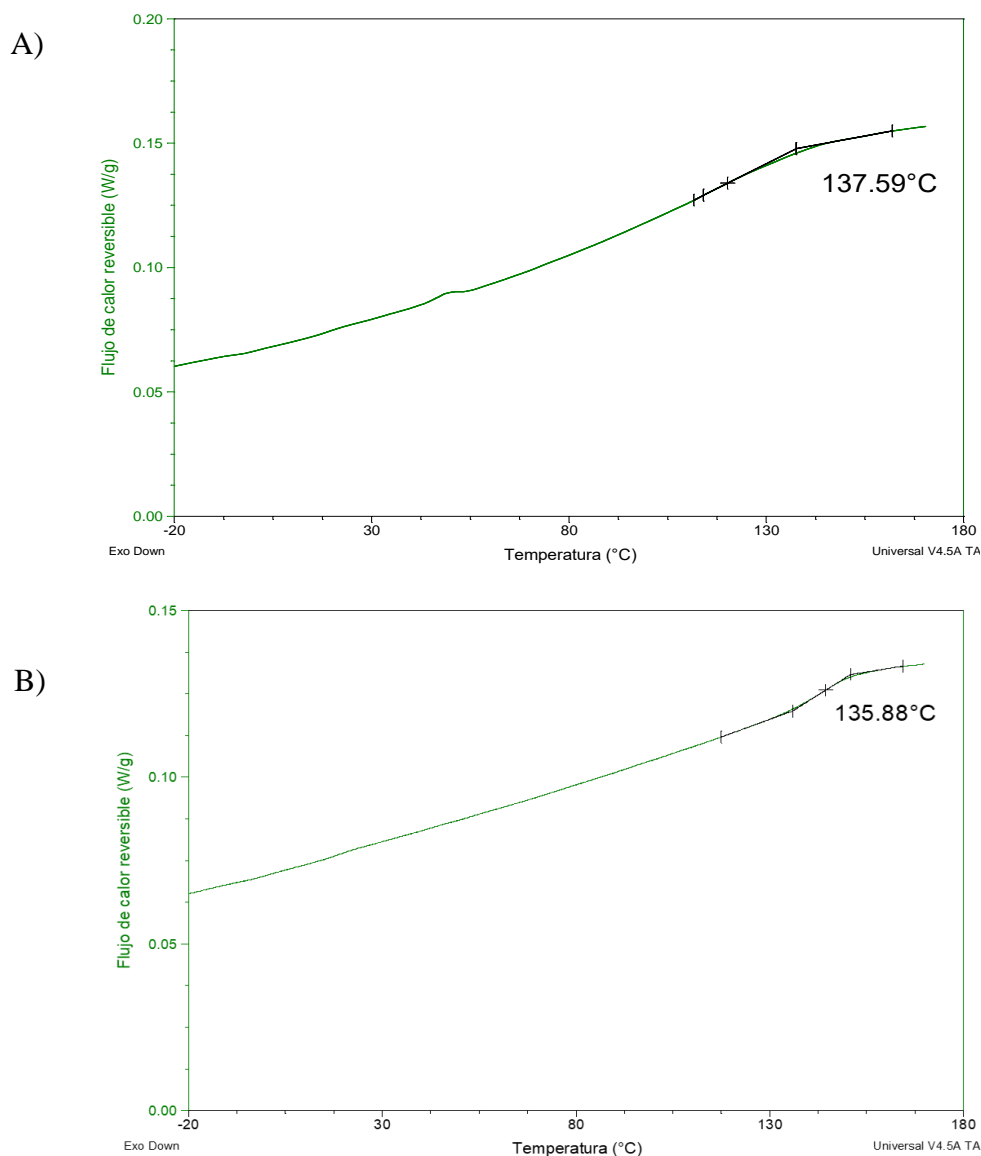


Figura 23. Termogramas de DSC de los copolímeros en bloques. A) (PEG-*b*-PNVCL)-1, B) (PEG-*b*-PNVCL)-2.

5.4. Síntesis y caracterización de los copolímeros en bloques PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP)

Luego con la misma relación molar de los copolímeros anteriormente presentados, se sintetizaron copolímeros en bloque PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP) con una razón de alimentación del 10, 18, y 25 % de NVP en base a moles a la NVCL. Para ajustar su temperatura de punto de turbidez a 40 °C, a una temperatura cercana a la temperatura fisiológica del cuerpo humano.

5.4.1 Caracterización por cromatografía de permeación en gel (GPC) de los copolímeros en bloques PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP)

En la **Tabla 2** se tiene la información obtenida por cromatografía de permeación en gel y de las especificaciones de la reacción, se estimó el peso molecular objetivo en alrededor de 30,000 g/mol, el copolímero se diseñó con un mayor contenido de PNVCL respecto al PEG. El peso molecular M_n por GPC resultó muy cercano al peso molecular objetivo, con un rendimiento entre el 33 y 37%. Las dispersidades fueron adecuadas para la técnica de polimerización entre 1.05 a 1.22, mostrando un buen control sobre la polimerización. En la **Figura 24** los cromatogramas de los copolímeros son muy similares, lo que indica que es mínima la diferencia en el peso molecular en el **ANEXO A5.1** se tienen la distribución de pesos moleculares de los copolímeros PEG-*b*-P(PNVCL-*co*-NVP).

Tabla 2. Pesos moleculares obtenidos para los copolímeros PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP) partiendo de macro-CTA M_n 5000 g/mol variando la relación [M]:[mCTA]:[I] por GPC.

<i>Muestra</i>	[NVCL]:[NVP]: [mCTA]:[I]	Alimentado NVP % mol	M_n Obj. g/mol ^a	Ren <i>d.</i> % ^a	M_n GPC MeOH (g/mol) ^b	\bar{D} M_w/M_n
P3 PEG- <i>b</i> -P(NVCL- <i>co</i> -NVP)-3	[180]:[20]:[1]:[0.4]	10	33062	33	32250	1.05
P4 PEG- <i>b</i> -P(NVCL- <i>co</i> -NVP)-4	[164]:[36]:[1]:[0.4]	18	32613	37	30520	1.21
P5 PEG- <i>b</i> -P(NVCL- <i>co</i> -NVP)-5	[150]:[50]:[1]:[0.4]	25	32220	34	29050	1.22

^a El peso molecular objetivo se calculó mediante la formula $M_n \text{ Objetivo} = \left[\left(\frac{M}{\text{macroCTA}} \right) * Mo \right] * \text{Conver} + M_n \text{mCTA}$ asumiendo una conversión del 100 % (Mo= Peso molecular del monómero, M= [NVCL] + [NVP], M_n mCTA= Pesos molecular del macro-CTA).

^b El porcentaje de rendimiento se determinó mediante gravimetría por diferencia de pesos.

^c M_n y M_w/M_n se determinaron por GPC con metanol: TEA (99:1) como fase móvil y dn/dc=0.154 mL/g.

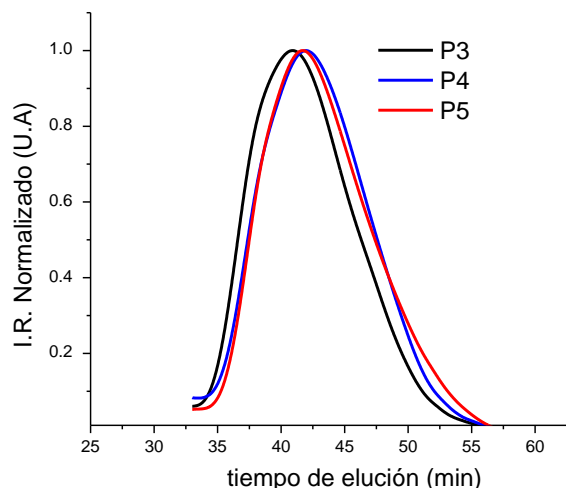


Figura 24. Cromatogramas del tiempo de elución de los copolímeros en bloques PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP).

5.4.2 Caracterización por resonancia magnética nuclear de hidrógeno (RMN-¹H) de los copolímeros en bloques PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP)

En el análisis por RMN-¹H en la **Figura 25**, se tienen las mismas señales presentadas por el PEG y la PNVCL apareciendo las nuevas señales de la PNVP. Se tiene el espectro que pertenece al copolímero P4 con un 18% en alimentación de NVP. Se observó la señal del PEG a 3.64 ppm (g). A 4.42 ppm (b) se tiene una señal bastante ancha perteneciente al metino de la PNVCL. A 3.89 ppm (1) se tiene el metino de la PNVP, que es una señal ancha y traslapa en su totalidad la señal del PEG. Otra señal se tiene a 3.23 ppm (d) traslapada con la señal (5) de la PNVP, es el metileno unido a la amina terciaria en ambos segmentos del polímero, la diferencia del doble de la integración de la señal (b) corresponde al contenido de PNVP. De manera similar, se presentan las mismas integraciones para la señal del metileno unido a la amida a 2.49 ppm (e 4) del anillo de la lactama. En la última señal ancha e intensa de la PNVCL se tiene a 1.75 ppm, que corresponde al resto de los metilenos del anillo del polímero (f y 3) y la señal (c y 2), que se encuentran en un entorno químico muy similar por lo que se adjunta en una sola señal, en los **ANEXOS A6.1** se encuentra el espectro del resto de los copolímeros. En el espectro de RMN-¹H la integración del metino de la PNVCL es mucho mayor respecto a la del PEG, esto se debe a cadenas de homopolímero de PNVCL que se originaron durante la reacción ya que en la distribución de pesos moleculares se observa en una pequeña población a mayores pesos moleculares.

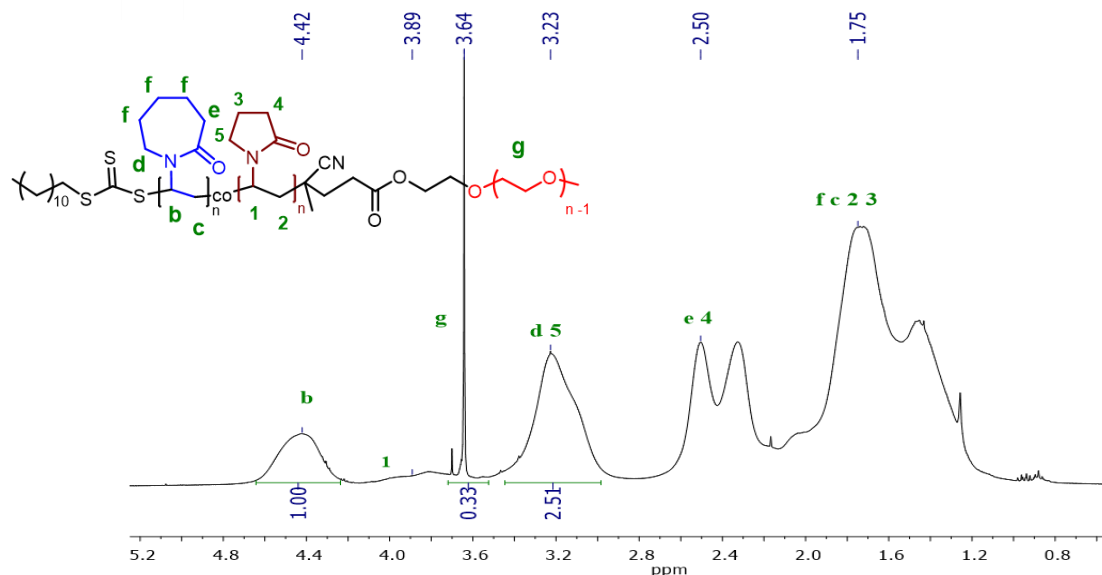


Figura 25. Espectro de RMN- ^1H del copolímero en bloques PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP)-4 (CDCl_3) 400 MHz.

5.4.3 Caracterización por análisis termogravimétrico (TGA) de los copolímeros en bloques PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP)

En la **Figura 26** se tiene el termograma correspondiente al copolímero PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP)-4 el cual presenta dos etapas de descomposición. En el termograma se muestra un calentamiento inicial de 100 a 600 °C con incrementos de temperatura de 20 °C por min. La primera etapa de descomposición se presenta a una temperatura cercana a los 200 °C indicando la descomposición de la porción del CTA, con un porcentaje de descomposición del 2.9 %, mientras que la segunda etapa de descomposición se presenta a los 440 °C. Como se observó anteriormente la temperatura de descomposición del PEG fue a los 400 °C mientras que la PNVCL se descompone alrededor de los 440 °C, al ser muy parecidas estas dos etapas de descomposición se traslapan totalmente dependiendo del contenido de PNVCL. Sin embargo, se tiene la descomposición temprana del PEG, este copolímero al momento de descomponerse presenta una pérdida del 89.2 % en conjunto, de la muestra total alimentada presentó un residuo del 1.7 % a los 300 °C hay una pequeña descomposición que pueden ser cadenas de polímeros de bajo peso molecular en el **ANEXO A7.1** se muestran los termogramas del resto de los sistemas.

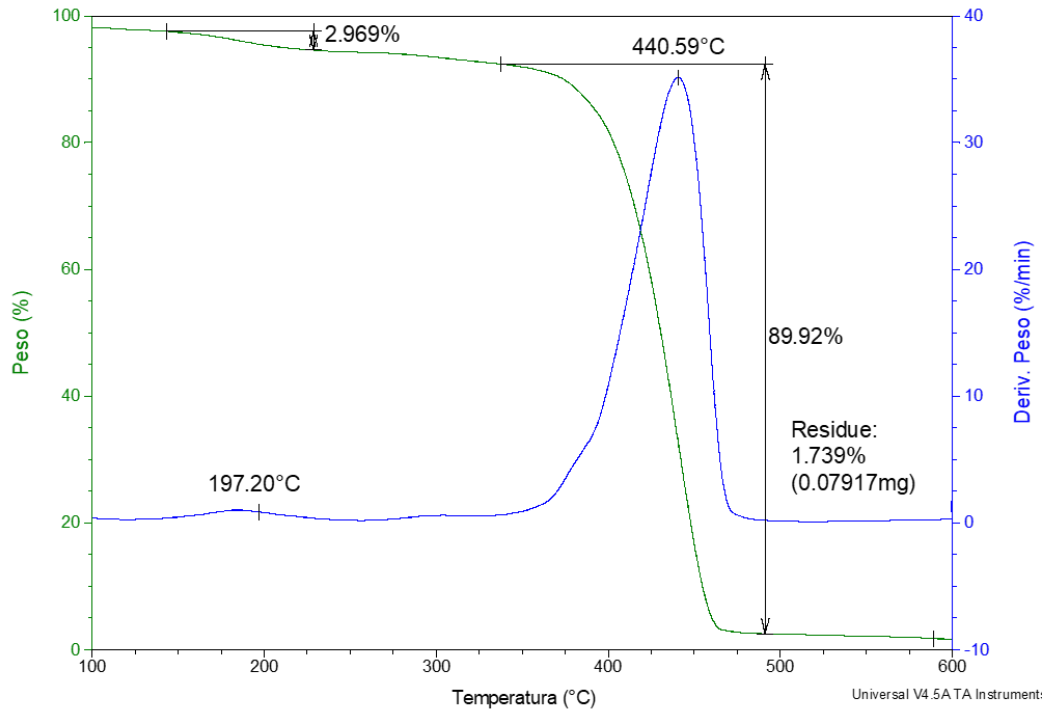


Figura 26. Termograma de descomposición del copolímero en bloques PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP)-4.

5.4.4 Caracterización por calorimetría diferencial de barrido (DSC) de los copolímeros en bloques PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP)

En la **Figura 27** se tiene el termograma de DSC correspondiente al copolímero PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP)-4, donde a los 144 °C los copolímeros presentaron una temperatura de transición vítrea (T_g) de la PNVCL ocurriendo una transición termodinámica y por encima de la T_g ocurre una transición termodinámica donde las moléculas ganan energía por lo que hay más movilidad y el polímero adquiere cierta capacidad de deformación sin fractura, disminuyendo su densidad, dureza y rigidez en el **ANEXO A8.1** se encuentran los termogramas del resto de los copolímeros.

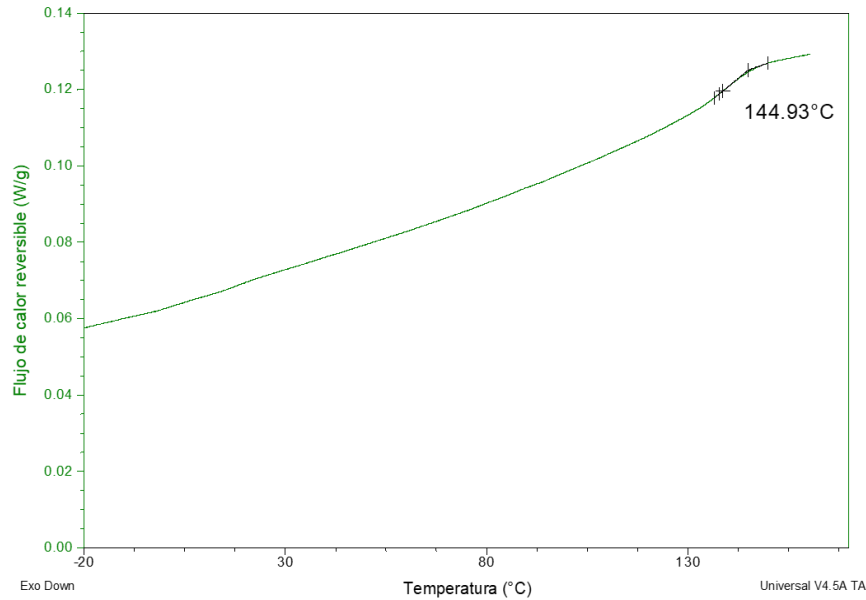


Figura 27. Termograma por DSC del copolímero en bloque PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP)-4.

5.4.5 Determinación del punto de turbidez (T_{cp}) de los copolímeros en bloques en medio acuoso

Se estudió la variación del diámetro hidrodinámico en función de la temperatura, para determinar la temperatura de punto de turbidez (T_{cp}) de los copolímeros en bloque PEG-*b*-PNVCL y PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP). La PNVCL presenta una LCST en un rango de 32-37 °C, sin embargo, al formar copolímeros en bloques con la PNVP es modificada a mayores temperaturas de respuesta dependiendo del contenido de PNVP. Esta propiedad está relacionada con el carácter hidrófilo-hidrófobo, ya que la PNVCL debajo de su T_{cp} genera enlaces de hidrógeno ver **Figura 28** y una vez que se alcanza esta temperatura los enlaces tienden a disociarse, aumentando la hidrofobicidad llevándose a cabo una separación de fase. En la **Figura 29** se muestra la T_{cp} para los diferentes copolímeros, los copolímeros PEG-*b*-PNVCL exhiben una T_{cp} de 35 °C, a medida que aumenta la temperatura estos diámetros hidrodinámicos aumentan hasta los 900 nm. Por el contrario, en los sistemas PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP), aumentó la T_{cp} de 37, 39 y 43 °C, presentó una disminución en el diámetro hidrodinámico en comparación de los sistemas anteriores, y este cambio en el tamaño se debe al factor de empaquetamiento incluso a 40 °C se tienen D_h alrededor de 200 nm.

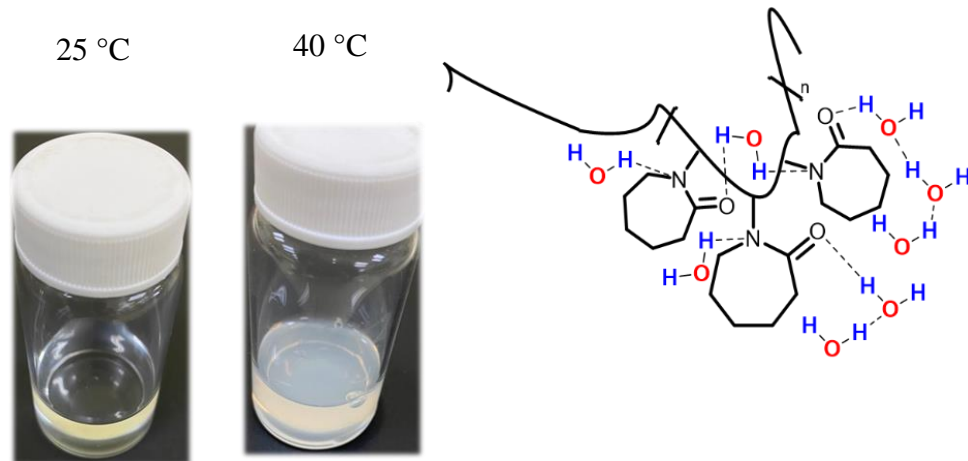


Figura 28. Copolímeros en bloques en medio acuoso a diferentes temperaturas por arriba y debajo de su T_{cp} .

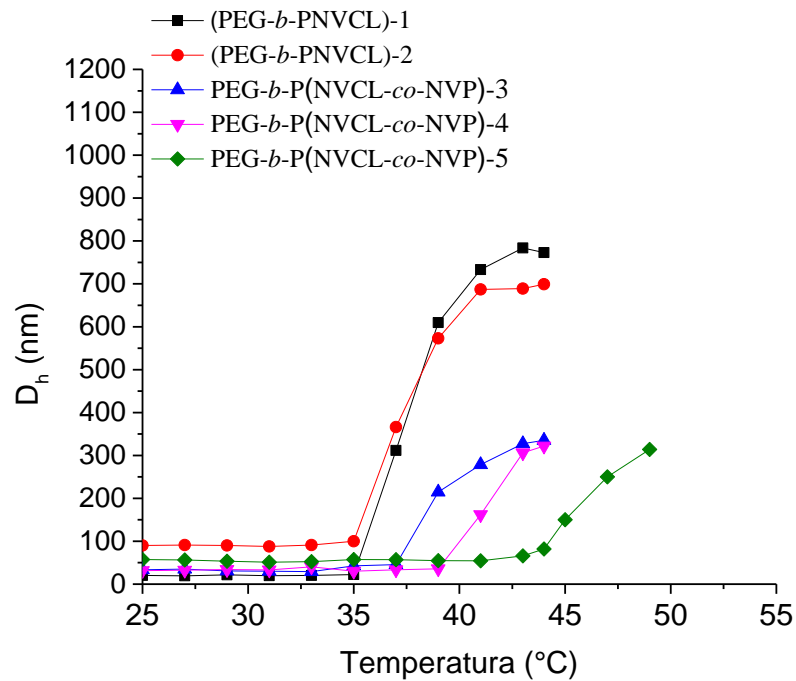


Figura 29. Determinación de la T_{cp} en agua de los copolímeros en bloques en función de la temperatura

5.4.6 Estudio del efecto de la temperatura en el tamaño D_h de los agregados poliméricos en medio acuoso

En la determinación de tamaños por DLS las soluciones se prepararon por dispersión directa en agua, con 24 h de agitación, esta medición se realizó a 25 °C que presentó dos distribuciones de tamaño una a 14 nm y la segunda a 130 nm con intensidades diferentes indicando que hay una menor proporción de agregados de mayor tamaño, debido a la naturaleza hidrofílica del copolímero a esta temperatura, sin embargo, la polidispersidad que presentan son entre 0.1 y 0.2 ver **Figura 30A-B**. Cuando se miden un grado más alto que la T_{cp} para aumentar el carácter hidrófobo del copolímero, la distribución de tamaños resultó unimodal con un D_h de 200 nm y con una polidispersidad entre 0.1 y 0.2 en la **Tabla 3** se muestra la información de los copolímeros, mientras que en la **Figura 30C** se tiene la distribución de tamaños arriba de la T_{cp} . Además, los sistemas tienden a reducir el D_h a medida que aumenta el contenido de PNVP.

Tabla 3. Variación de D_h de los copolímeros en bloques en función de la temperatura.

<i>Muestra</i>	D_h (nm) ^a		<i>T</i> •C	D_h (nm) ^b	
		<i>PDI</i>			<i>PDI</i>
(PEG- <i>b</i> -PNVCL)-1	137 (14)	0.205	37	265	0.148
(PEG- <i>b</i> -PNVCL)-2	112 (18)	0.173	37	226	0.131
PEG- <i>b</i> -P(NVCL- <i>co</i> -NVP)-3	108 (14)	0.274	38	228	0.038
PEG- <i>b</i> -P(NVCL- <i>co</i> -NVP)-4	107 (15)	0.237	39	185	0.164
PEG- <i>b</i> -P(NVCL- <i>co</i> -NVP)-5	98 (14)	0.232	44	123	0.216

^a Copolímeros disueltos en agua medidos a 25 °C.

^b Copolímeros disueltos en agua medidos arriba de su T_{cp} .

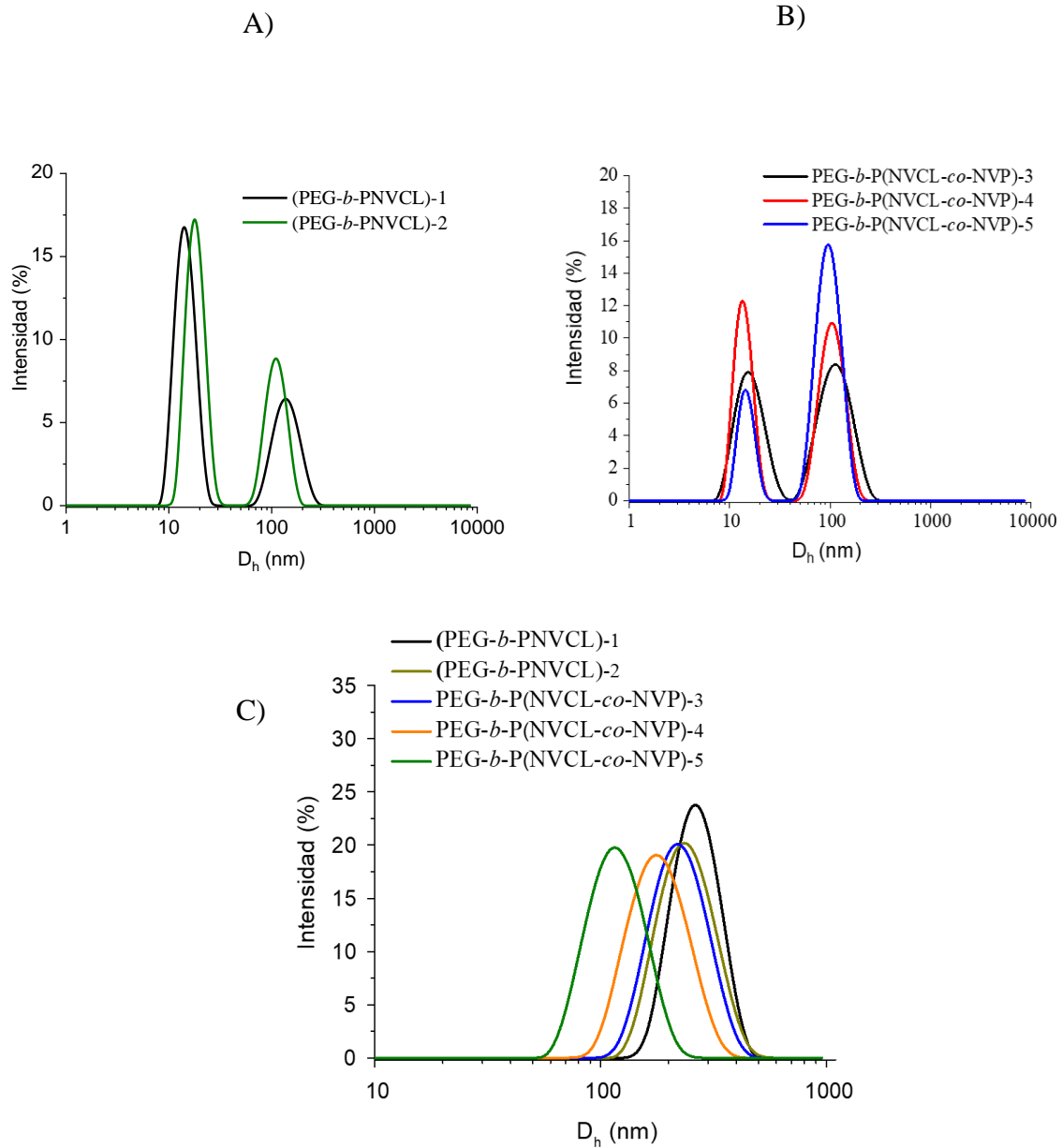


Figura 30. Distribuciones de D_h : A) Copolímeros PEG-*b*-PNVCL a 25 °C, B) Copolímeros PEG-*b*-PNVCL a 25 °C, C) Copolímeros PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP) medidos por encima de su T_{cp} .

5.4.7 Cambio en el valor del potencial zeta de los agregados poliméricos por efecto del pH del medio

El potencial zeta se refiere a partículas coloidales dispersas en una solución cargadas eléctricamente, debido a sus propiedades iónicas siendo la carga superficial de la partícula. Tienen como propiedad un punto isoeléctrico donde, el número de cargas positivas es igual al número de cargas negativas, resultando una carga neta del agregado igual a cero. Esta propiedad es proporcionada por los grupos ionizables de la molécula, y además del efecto aniónico o catiónico proporcionado por el iniciador en la **Figura 31** se tiene la variación de la carga superficial en función del pH. A pH bajo presentan cargas ligeramente positivas, todos los sistemas tienen un punto isoeléctrico a un pH entre 3 y 4, la carga superficial se vuelve negativa a medida que aumenta el pH, la carga superficial al pH de 8 es de -8 mV el resto de los copolímeros tuvieron el mismo comportamiento.

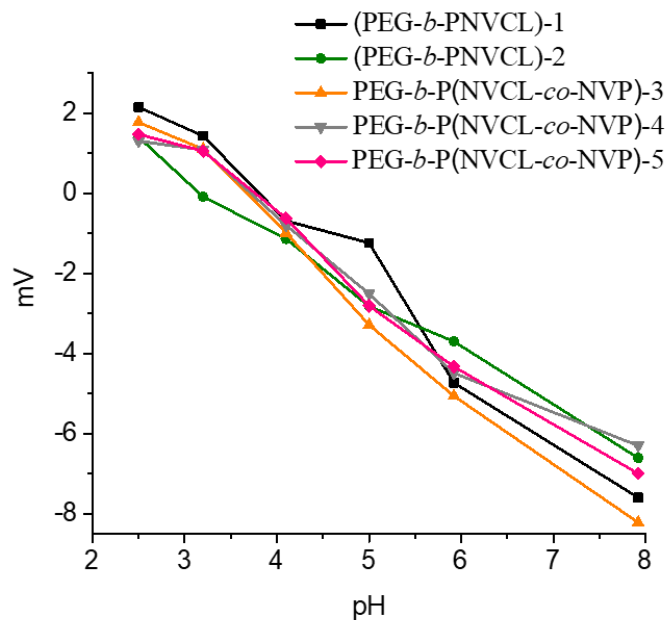


Figura 31. Cambio en el valor del potencial zeta de los agregados poliméricos por efecto del pH en medio acuoso a 25 °C.

5.5 Determinación del grado de fidelidad de los copolímeros en bloques

Se determinó el grado de fidelidad para la funcionalización de los copolímeros en bloque, para ello se realizó un barrido de concentraciones molares de 2.22×10^{-5} M a 1.98×10^{-4} M del CTA de partida. A medida que aumenta la concentración a su vez aumenta la intensidad de la banda cercana a los 300 nm, la cual corresponde a las transiciones electrónicas $n-\pi^*$ por parte del azufre al orbital π^* , alcanzando una Abs máxima de 1.1 ver **Figura 32A**.

Luego se realizó una curva de calibración para determinar el contenido de tritiocarbonato CTA en la muestra del polímero, donde se graficó cada una de las intensidades de acuerdo a la concentración del CTA resultando un ajuste de $R^2=0.99$ y una absorptividad molar $\epsilon=5851 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ver **Figura 32B**. Si bien en la **Tabla 4** se tiene el grado de fidelidad en porcentaje de cada uno de los copolímeros, este grado de fidelidad indica el porcentaje de funcionalización en la muestra, de acuerdo a la relación $[\text{CTA}]:[\text{I}]$ que se empleó dónde puede aumentar o disminuir este porcentaje en **ANEXO A9.1** se tiene el ejemplo de los cálculos.

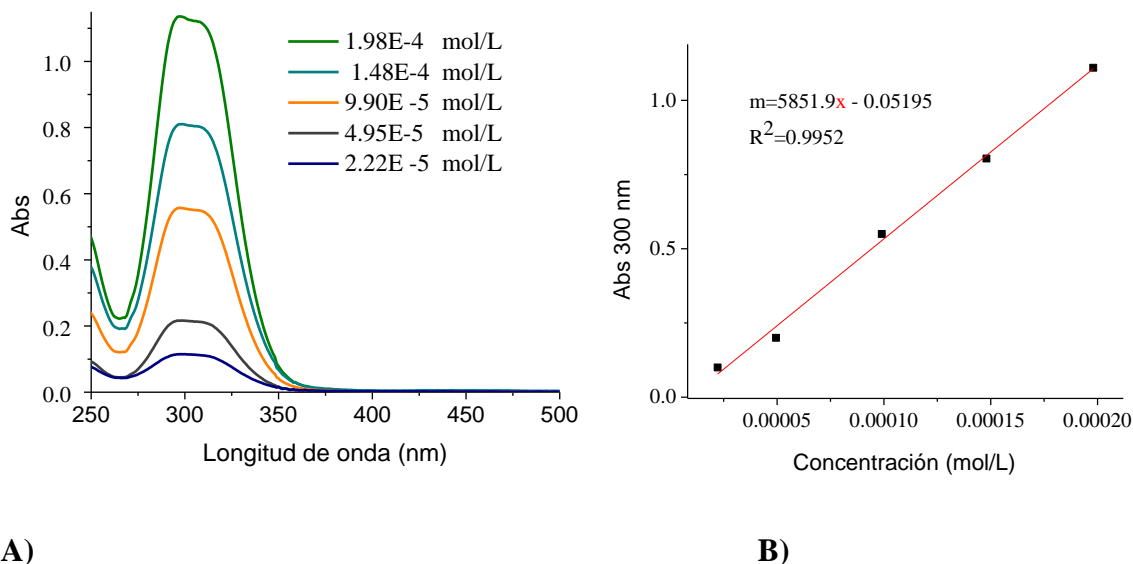


Figura 32. A) Abs del CTA a diferentes concentraciones, B) Curva de calibración del CTA a diferentes concentraciones.

Tabla 4. Grado de fidelidad de los copolímeros en bloques.

Muestra	Grado de fidelidad (%)
(PEG- <i>b</i> -PNVCL)-1	42
(PEG- <i>b</i> -PNVCL)-2	70
PEG- <i>b</i> -P(NVCL- <i>co</i> -NVP)-3	40
PEG- <i>b</i> -P(NVCL- <i>co</i> -NVP)-4	41
PEG- <i>b</i> -P(NVCL- <i>co</i> -NVP)-5	39

5.6 Reducción del grupo terminal tritiocarbonato a tiol para la modificación de los copolímeros en bloques

Se realizó la reducción química de los copolímeros para convertir el tritiocarbonato del CTA en tioles y se utilizaron para estabilizar las nanopartículas de oro, esta se llevó a cabo por aminólisis usando la hexilamina y como catalizador la tributilfosfina, se utilizó una relación [hexilamina]:[CTA-copolímero]:[tributilfosfina] [50]:[1]:[10].

Siendo inevitable el homoacoplamiento disulfuro debido a la alta reactividad de los tioles. Para ello, una vez que se realizó la reducción el tiempo de purificación es decisivo para su uso efectivo. Es complicado eliminar la hexilamina en la muestra, ya que al decantar el polímero una vez precipitado en éter etílico sigue presente en la muestra. Tiene un olor característico y es fácil de detectar, se estandarizó un método de purificación y se siguió por RMN-¹H hasta que desaparecen las señales de la amina. Como pruebas preliminares, se inició con la reducción del macro-CTA, con un alto contenido de tritiocarbonato que resulta tener una banda intensa cercana a los 300 nm a una concentración de 1 mg/mL, esta señal es el resultado de la banda $n-\pi^*$ de los electrones libres del azufre al orbital π^* en la **Figura 33** se muestra la disminución de esta banda después de la reducción. El cambio de coloración es muy evidente ya que pasa de una coloración amarillo ocre a un polvo blanco, indicando la disociación del tritiocarbonato y la modificación del polímero.

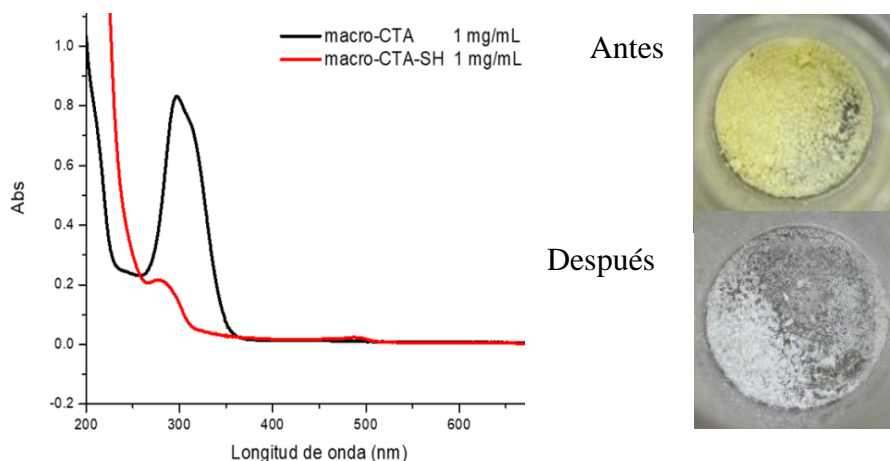


Figura 33. Reducción del grupo tritiocarbonato terminal del macro-CTA PEG M_n 5000 g/mol.

En el caso de la reducción de los copolímeros PEG-*b*-PNVCL y PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP) se espera que el contenido de tritiocarbonato sea menor, ya que ha sufrido un proceso de polimerización, a medida que aumenta la temperatura el CTA se degrada. La relación [CTA]:[I] puede ayudar a obtener un mayor contenido de tritiocarbonato en la muestra, al disminuir la concentración del iniciador. Esto se muestra claramente en la **Figura 34** donde el copolímero PEG-*b*-PNVCL se sintetizó con una relación CTA:I de [1]:[0.2] la cual es el doble de la relación que se utilizó para preparar otros copolímeros. El resultado es una banda de absorción más intensas lo que indica un mayor contenido de tritiocarbonato en comparación con los copolímeros que se sintetizaron con una relación de [1]:[0.4] en el **ANEXO A10.1** se tiene el resto de los copolímeros.

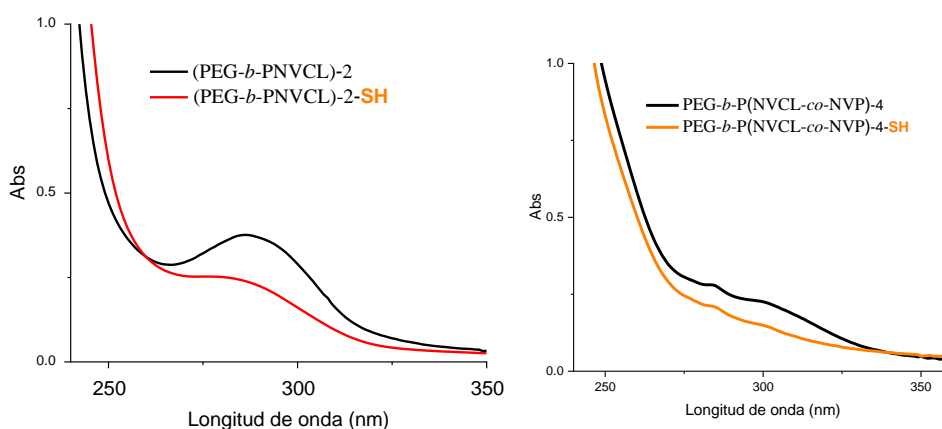


Figura 34. Reducción del grupo tritiocarbonato terminal de los copolímeros en bloques PEG-*b*-PNVCL y PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP) de tritiocarbonato a tiol.

5.7 Síntesis y caracterización de nanobastones de oro (AuNRs)

5.7.1 Caracterización por espectroscopía de UV-visible

Se sintetizaron nanobastones de oro de acuerdo a la técnica de crecimiento de semillas, utilizando una solución de CTAB 0.1 M. En un primer paso consiste en la preparación de semillas de oro en presencia de un estabilizante y un agente reductor, luego en un segundo paso, se adicionan a una solución de crecimiento que contiene el precursor del oro. En la presencia de semillas se da la formación de nanobastones obteniendo al final una coloración rojiza. El espectro de UV-visible de la dispersión de AuNRs se muestra en la **Figura 35**, una vez terminado el tiempo de reacción, se verificó la banda de absorción de la LSPR. Donde se observó una intensa banda de absorción cerca a los 800 nm correspondiente al plasmón longitudinal del nanobastón. Una banda adicional aparece alrededor de los 500 nm que pertenece a la LSPR transversal, el grosor de los nanobastones dependerá de este pico de absorción. Esta dispersión contiene CTAB, que es un surfactante citotóxico a ciertas concentraciones. Por lo tanto, se requiere un método de purificación por centrifugación y redispersión en agua desionizada, para eliminar el surfactante lo que ocasiona un desplazamiento en la posición de la LSPR. El cambio de la posición de la banda de absorción de la LSPR, se debe a las interacciones de la superficie de las nanopartículas con el medio, cuando se elimina el CTAB y se reemplaza con agua se produce un desplazamiento de aproximadamente 20 nm.

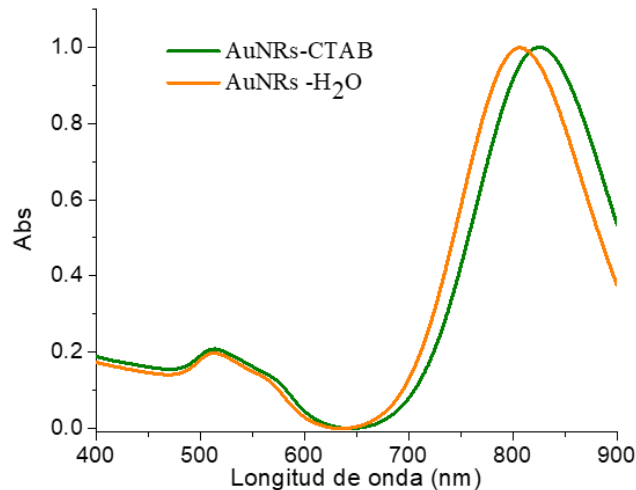


Figura 35. Espectro de UV-visible de nanobastones de oro (AuNRs) con una LSPR longitudinal de 805 nm.

5.7.2 Caracterización mediante microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (FESEM)

La morfología de los nanobastones se observó por FESEM. En las micrografías que se muestran en la **Figura 36** son visibles partículas cilíndricas, sin embargo, no fue posible determinar dimensiones exactas de los AuNRs si bien; se observó una homogeneidad en cuanto a la morfología cilíndrica de las nanopartículas.

Entre estas se encuentran nanopartículas con morfología esférica, esto se debe a que la síntesis no es totalmente limpia y contiene subproductos esféricos. De esta manera se debe prestar atención a las relaciones de intensidad en el espectro de UV-visible, ya que si existe una alta intensidad en la LSPR transversal a 500 nm indica una alta concentración de esferas.

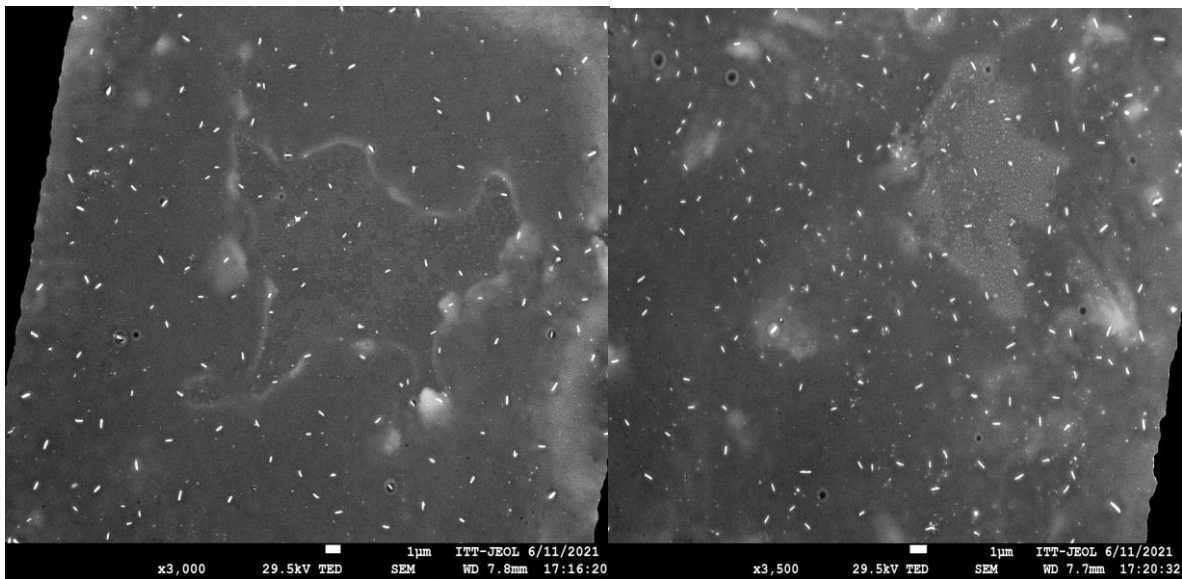


Figura 36. Micrografía por FESEM de nanobastones de oro AuNRs con una LSPR longitudinal alrededor de 805 nm.

5.7.3 Caracterización mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM)

La dispersión de AuNRs se analizaron por TEM en la cual se usó un voltaje de aceleración de 80kV y un tiempo de exposición de 2 segundos. En comparación a las micrografías por FESEM se tiene una mejor resolución de las nanopartículas. En efecto, en la **Figura 37** se termina de confirmar la morfología de los AuNRs, resultando partículas cilíndricas en conjunto con nanopartículas esféricas. Se puede ver que la mayoría de las nanopartículas de oro sintetizadas tienen una morfología de bastón muy bien definida. Se muestra claramente la homogeneidad de las AuNRs, con una longitud promedio de 64 nm y un diámetro promedio de 14 nm. Mientras que en la **Figura 38** se muestra la dispersión de tamaños, donde se tomó una muestra de 100 nanopartículas y se obtuvo la relación longitud / diámetro, resultando una razón de aspecto de 3.75.

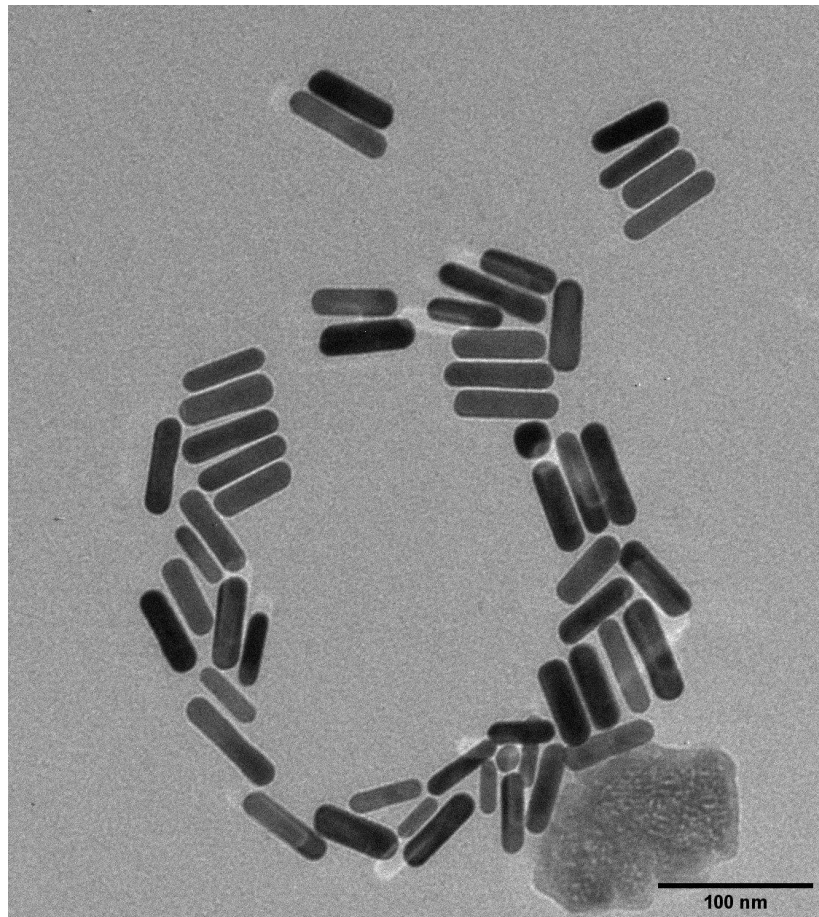


Figura 37. Micrografía por TEM de nanobastones de oro AuNRs con una LSPR longitudinal alrededor de 805 nm.

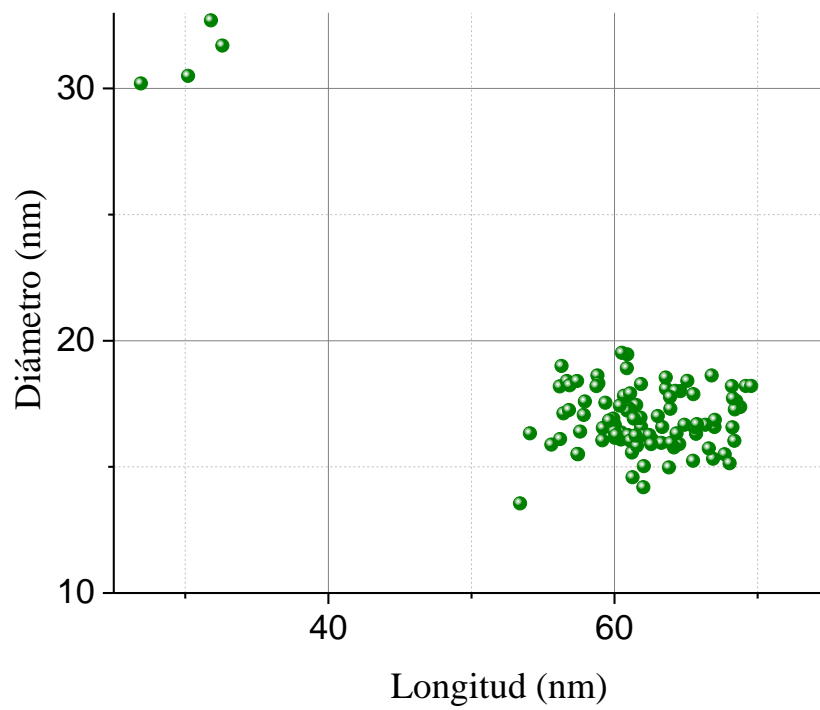
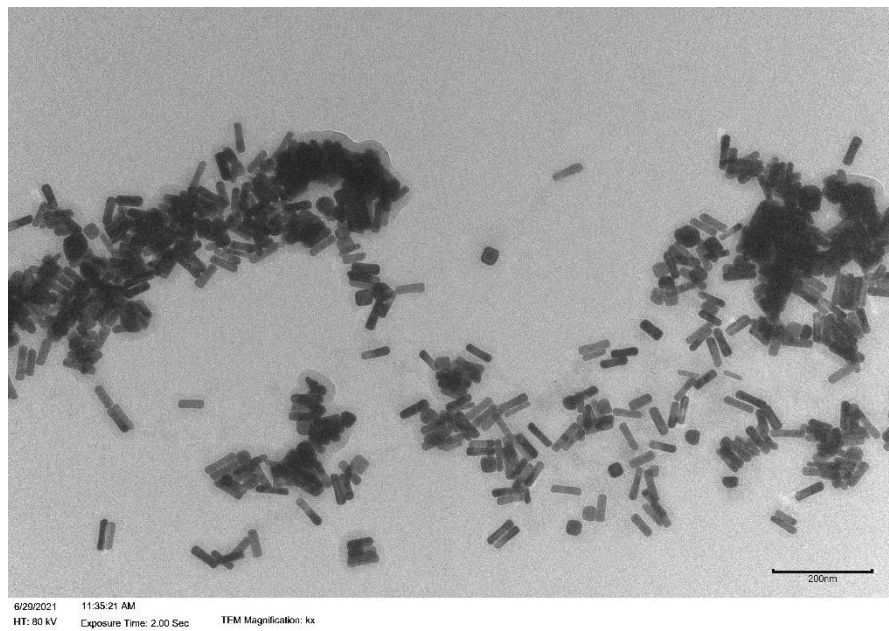


Figura 38. Dispersión de tamaños de AuNRs.

5.7.4 Caracterización óptica de AuNRs

La caracterización óptica de las nanopartículas en dispersión coloidal consiste principalmente en la medición espectroscópica de su transmitancia y reflectancia (difusa o direccional) en la región visible del espectro. Es decir, se mide la luz que atraviesa la muestra y de esta se obtienen las pérdidas por absorción y dispersión. En cada una de las configuraciones ver **Figura 39A**, se utilizó una lámpara de luz blanca (lámpara halógena de xenón USHIO FDS 24V 150W). El haz de luz blanca es colimado utilizando la lente L1 (lente colimadora) y después, mediante la lente L2 (lente esférica con foco de 15 cm), se enfoca en el espectrómetro (Ocean Optics, USB4000-VIS-NIR). La cubeta que contiene a la muestra se coloca a la entrada de una esfera integradora, el tamaño del haz de luz que ilumina la muestra se ajusta con un diafragma (D) colocado enfrente de ésta. En el primer arreglo **Figura 39A**, se mantiene abierta la apertura de la parte trasera de la esfera integradora la cual permite que la luz que pasa a través de la muestra sea captada por el detector. La señal es una medida de la extinción (que se reduce tanto por pérdidas de absorción como de dispersión) y permite estimar lo que se conoce como atenuancia (D), la cual se define como $D = -\log_{10} T_D$, donde T_D es la señal normalizada que se obtiene del cociente de la medición de una muestra de nanopartículas y la muestra de referencia (agua).

Para medir la absorbancia (A), que cuantifica sólo las pérdidas por absorción, es necesario coleccionar la luz dispersa. Para esto, se cierra la apertura trasera de la esfera integradora, de esta manera toda la luz que atraviesa la muestra es coleccionada (tanto la luz esparcida como la luz que pasa sin perturbarse). Este caso se muestra esquemáticamente en la **Figura 39B**. Para el caso de nanopartículas cuyos tamaños sean mucho menores a la longitud de onda, la absorbancia se puede obtener como $A \approx -\log T_A$, donde T_A es la señal normalizada del cociente de la muestra de nanopartículas y la muestra de referencia (agua) medidas a través de la fibra. La caracterización óptica de los nanobastones de oro sintetizados se muestra en la figura **Figura 39C**. Los espectros de atenuancia y absorbancia obtenidos mediante el arreglo experimental de espectroscopía implementado la diferencia entre ambos espectros es mínima, lo que indica un grado de dispersión mínimo prediciendo una buena respuesta térmica. En este caso, no se normalizó el espectro debido a las características de la medición.

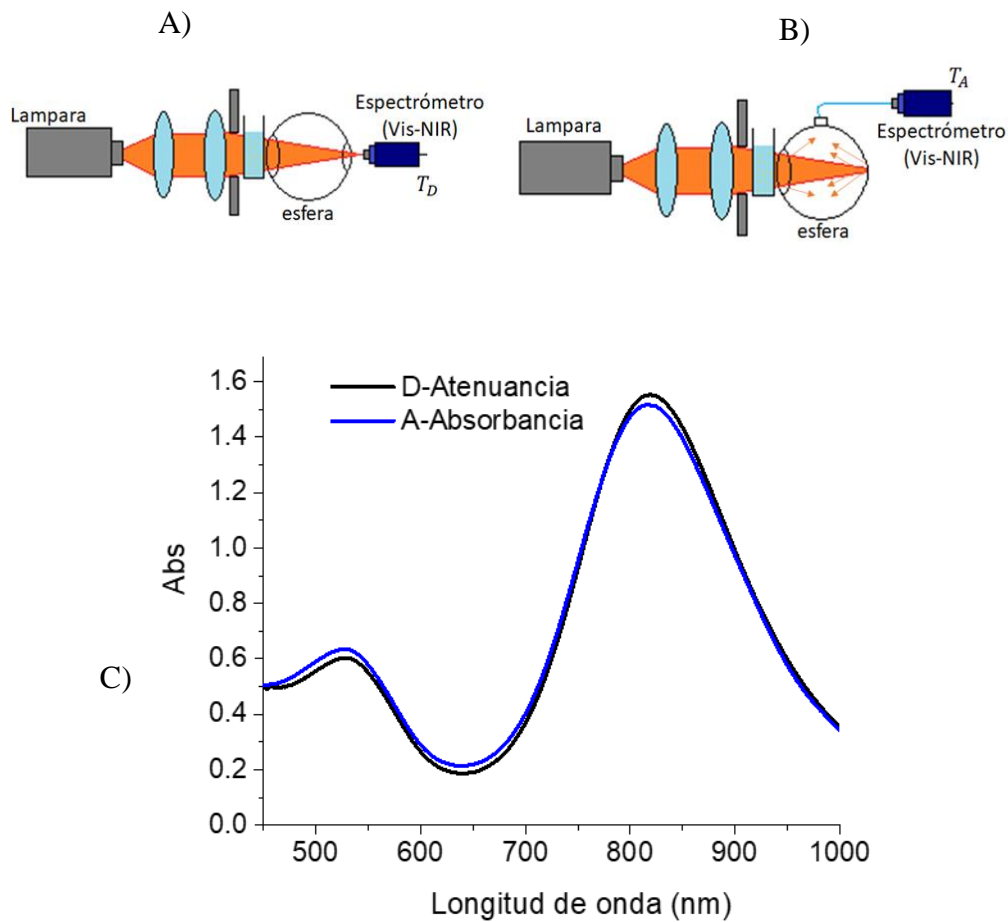


Figura 39. Arreglo para la caracterización óptica. A) Atenuancia, B) Absorbancia, C) Caracterización óptica de AuNRs con una LSPR longitudinal alrededor de 805 nm.

5.7.5 Incremento en la temperatura del medio por irradiación en el infrarrojo cercano (NIR) de AuNRs

La caracterización fototérmica de las AuNRs se logró aislando la celda de cuarzo cuando se irradió con un láser de 785 nm a una distancia de 0.5 cm, el láser se colocó alejado de las salidas del termopar ver **Figura 40**. La potencia del láser se varió de 100 a 500 mW, y se tomó como blanco la irradiación del agua a una potencia de 500 mW, de esta manera se confirmó que no hay aumento de la temperatura en el medio debido a la irradiación de las salidas del termopar. Se monitoreó la evolución de la temperatura al irradiarse comenzando a los 25 °C en cada una de las mediciones. Durante este periodo de medición, los primeros 30 segundos se obturó el láser para tener un “offset” y después de este tiempo se comenzó la irradiación de manera continua durante 10 minutos.

El aumento de la temperatura en el medio aumentó a medida que se aumenta la potencia del láser, se partió de una potencia de 100 mW y se obtuvo un aumento máximo de la temperatura hasta llegar a los 33 °C, a una potencia de 500 mW se tiene un aumento máximo de la temperatura hasta llegar a los 53 °C. Dentro de la celda cuando se alcanza esta temperatura se forma una estela de vapor en la superficie de la celda. La caracterización óptica indica la absorción neta de las AuNRs, mientras que en la caracterización térmica se confirma la buena conversión térmica. Al contar con una buena evolución de la temperatura con el tiempo los convierte en materiales con un buen potencial para la terapia fototérmica.

En la **Figura 41** se tienen las imágenes térmicas de la solución de AuNRs al momento de ser irradiadas con el láser, se ve claramente como ocurre el aumento de la temperatura a medida que pasa el tiempo, las distintas tonalidades de naranja-rojo indican la disipación de la temperatura en el medio hasta alcanzar los 37 °C.

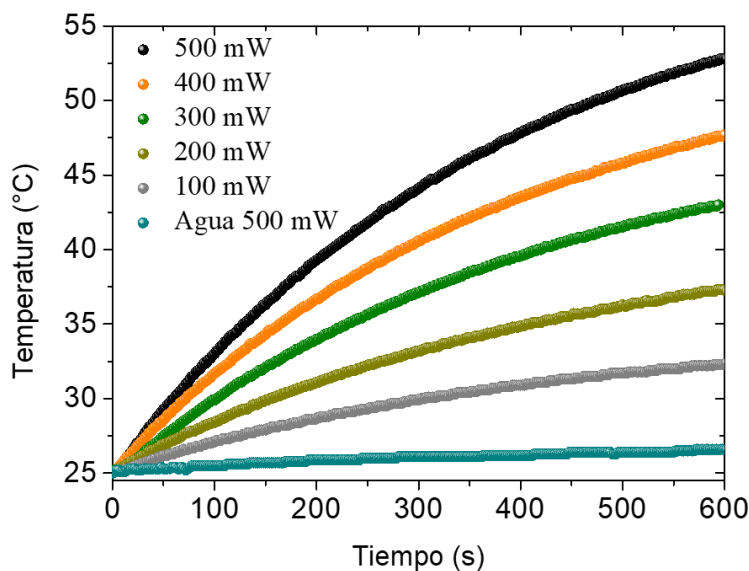


Figura 40. Perfil del incremento de la temperatura de AuNRs con respecto al tiempo de irradiación con un láser de 785 nm.

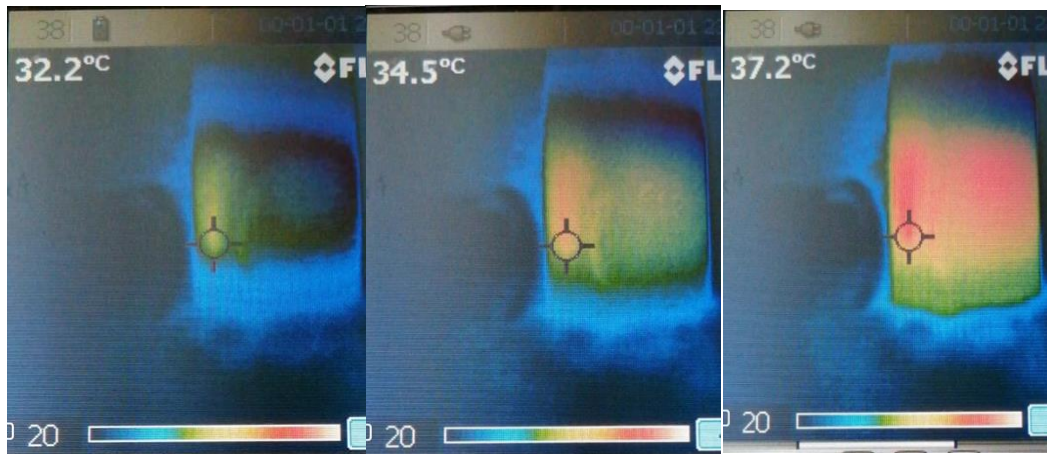


Figura 41. Imágenes térmicas de solución de AuNRs mostrando el incremento de la temperatura al irradiarse con un láser de 785 nm.

5.8 Estabilización de AuNRs con copolímeros en bloques con grupo terminal tiol

La estabilización de AuNRs se realizó utilizando los copolímeros en bloques modificados con grupo terminal tiol, debido a las interacciones ya descritas anteriormente entre las terminaciones del polímero y la superficie de la nanopartícula. Se utilizaron 5 mL de una solución de 1 mg/mL de polímero en agua, y se estabilizaron 3 mL de solución de nanopartículas. Una vez purificadas se colocó la dispersión de nanopartículas estabilizadas en agitación por 3 horas llevándose a cabo la quimisorción del azufre sobre la superficie de las nanopartículas. Después de la estabilización, se verificó la posición de LSPR, en la **Figura 42** se compara la LSPR de las nanopartículas purificadas con agua y con la LSPR de la misma solución de partículas aún recubiertas con CTAB, se observó que durante la estabilización de las AuNRs con los copolímeros con grupo terminal tiol, hubo un desplazamiento en la LSPR longitudinal y la banda de absorción LSPR transversal permaneció sin cambios. El cambio en la posición de la banda LSPR se debe a las interacciones superficiales de las nanopartículas al estar expuestas con el polímero. La nueva posición de la banda LSPR se centró entre la banda de la LSPR purificadas con agua y la banda de la LSPR recubiertas con CTAB.

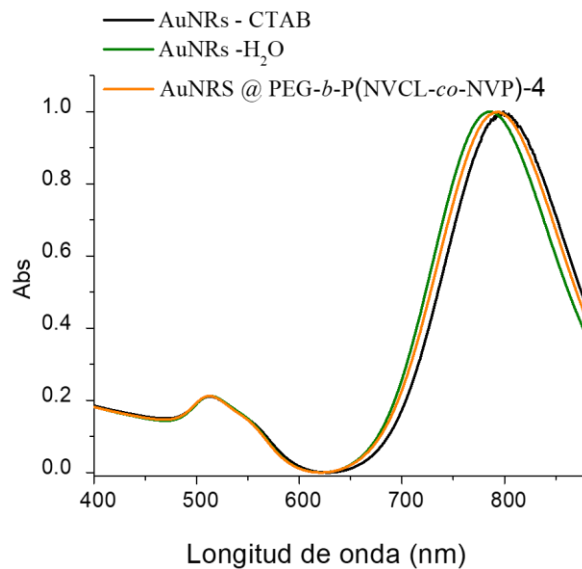


Figura 42. Estabilización de AuNRs con el copolímero en bloques PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP)-4 con grupo terminal tiol.

Este mismo comportamiento también se presentó en las AuNRs que fueron estabilizadas con el macro-CTA PEG M_n 5000 g/mol con grupo terminal tiol ver **ANEXO A11.1**, ya que se demostró que la muestra presentó un alto contenido de tioles, sin embargo, se utilizó una relación 1:1 de mL solución de polímero por mL de solución de nanopartículas. De esta manera buscando una mejor interacción entre las nanopartículas y los copolímeros con grupo terminal tiol, se decidió utilizar una relación 5:3 mL de solución de polímero en agua por 3 mL de solución de nanopartículas, ya que se expone a un ligero exceso de solución de polímero con terminación tiol, para lograr una mejor estabilización. En la **Figura 43A-F** se muestra el seguimiento de la posición de la LSPR en el tiempo, y no se observó ningún desplazamiento hacia mayores o menores longitudes de onda si bien es notorio que la intensidad de las bandas LSPR disminuye con el tiempo, sin embargo, no hay indicio de precipitación en la solución en el tiempo. En un intento de explicar esta disminución en la intensidad de la absorbancia, la solución se sumergió durante un minuto en un baño ultrasónico y la banda de absorción LSPR se abatió por completo siendo evidente la precipitación en la solución, concluyendo que la muestra presentó inestabilidad de los AuNRs ver **Figura 43A**.

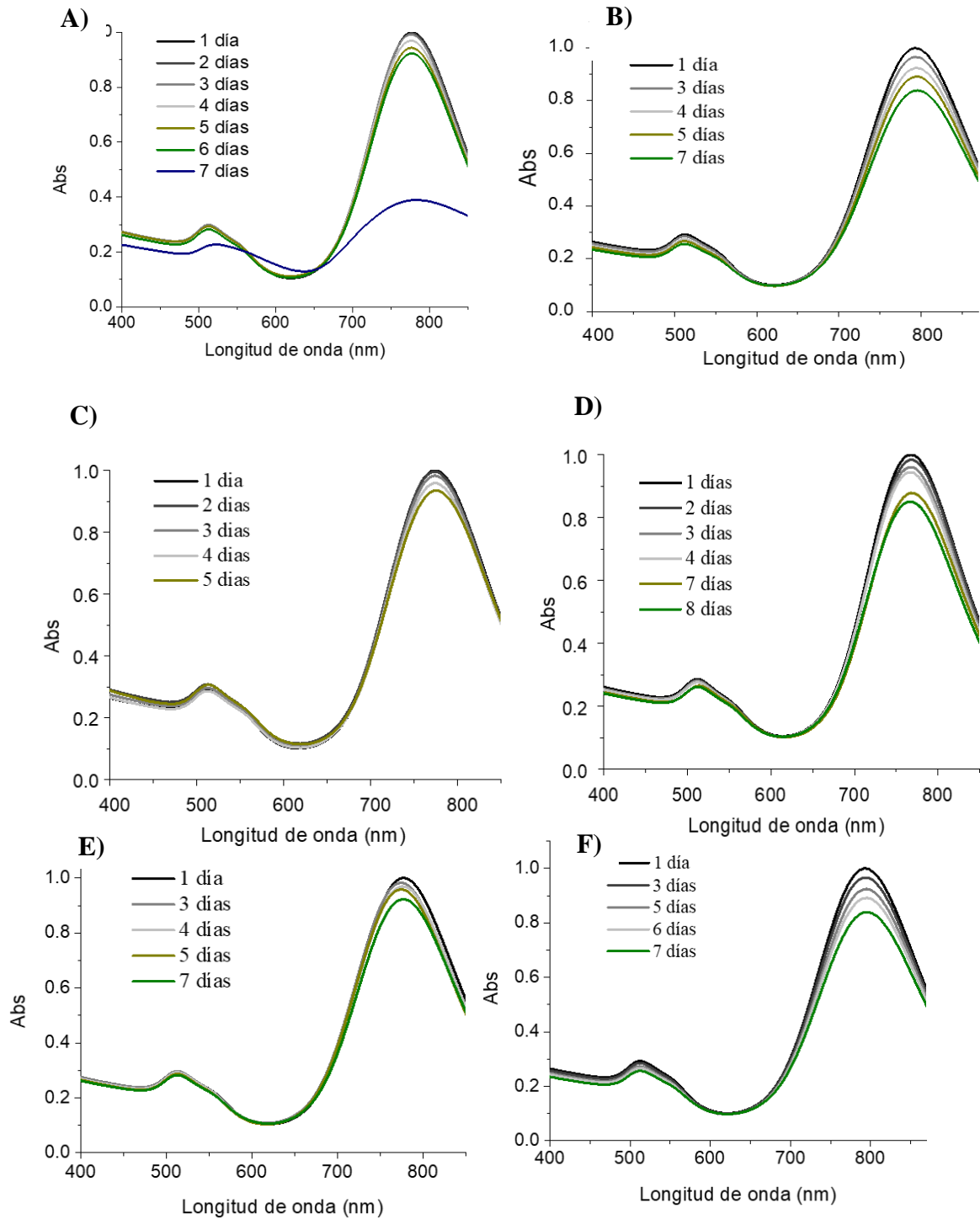


Figura 43. Seguimiento de la estabilización LSPR de AuNRs con copolímeros en bloques con grupo terminal tiol. A) (PEG-*b*-PNVCL)-1, B) (PEG-*b*-PNVCL)-2, C) PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP)-3, D) PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP)-4, E) PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP)-5, F) macro-CTA.

5.8.1 Incremento de la temperatura en el medio por irradiación NIR de AuNRs estabilizadas con copolímeros en bloques con grupo terminal tiol

Una vez estabilizados las AuNRs con los polímeros con grupo terminal tiol, se examinó su comportamiento fototérmico para comparar si había diferencia en cuanto al incremento de la temperatura cuando las nanopartículas se encuentran en contacto con el polímero y cuando no. La medición se realizó de la misma manera que las AuNRs en agua, en este caso se utilizó 1 mL de dispersión de polímero-nanopartícula, se inició a los 25 °C, donde los primeros 30 segundos se obturó el láser para tener un “offset” y luego de este tiempo se inició la irradiación de manera continua durante 10 minutos. La solución era transparente a temperatura ambiente, lo que indica que el polímero era soluble a esta temperatura, a medida que aumenta el tiempo de irradiación la temperatura fue aumentando hasta alcanzar la T_{cp} del polímero, la solución se volvió turbia ocurriendo la agregación del polímero con los AuNRs ver **Figura 44**.

Se compara con el blanco irradiando agua a 500 mW confirmando que no hubo aumento en la temperatura del medio debido a la irradiación de las salidas del termopar. En cada muestras se varió la intensidad de la potencia iniciando en 100 mW hasta 500 mW, y el perfil del aumento de la temperatura en el medio se comportaron de manera similar a las AuNRs en agua, sin embargo, existen ligeras diferencias en los perfiles del aumento de la temperatura, esto se debe a la manera de agregación del copolímero, donde las partículas de 200 nm tienden a dispersar la luz y disminuye la absorción de la nanopartículas, incluso con la máxima potencia se alcanzan temperaturas de 50 °C ver **Figura 45A-E**.

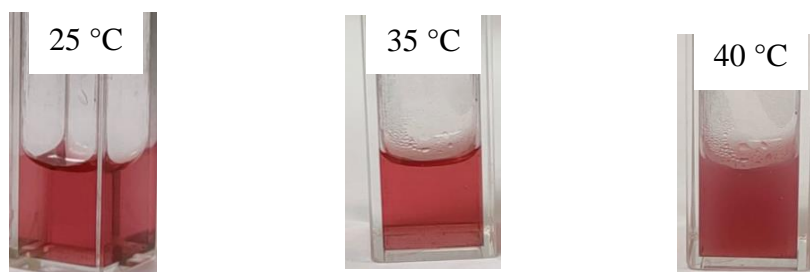


Figura 44. Agregación al incrementarse la temperatura del copolímero en bloques con grupo terminal tiol PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP)-4 conteniendo AuNRs al irradiarse con un láser de 785 nm.

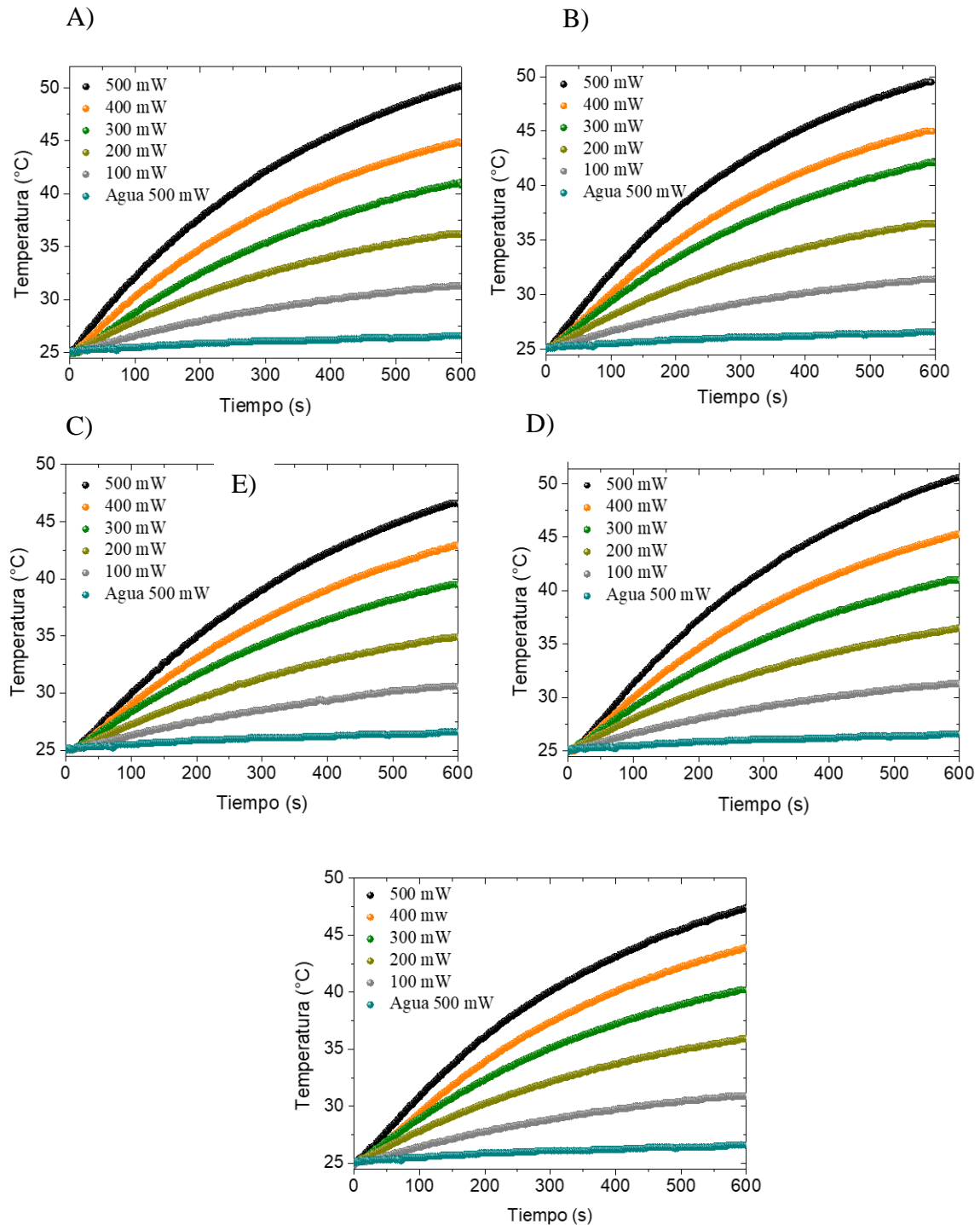


Figura 45. Perfiles del incremento de la temperatura con respecto al tiempo de irradiación con un láser de 785 nm de agregados de copolímeros en bloques con grupo terminal tiol conteniendo AuNRs. A) (PEG-*b*-PNVCL)-1, B) (PEG-*b*-PNVCL)-2, C) PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP)-3, D) PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP)-4, E) PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP)-5.

5.8.2 Estudio de agregación de AuNRs estabilizadas con copolímeros en bloque con grupo terminal tiol

Se determinó el D_h de los agregados poliméricos conteniendo AuNRs por DLS, en la **Figura 46A** se tiene la distribución de los AuNRs dispersas en agua, presentó dos distribuciones la primera de 74 nm perteneciente a la longitud de la nanopartícula la segunda se encuentra a 3.5 nm esta se debe a semillas que no crecieron durante la reacción. En la **Figura 46B** se tienen las distribuciones de los agregados poliméricos medidos por arriba de su T_{cp} conteniendo AuNRs, lo que conduce a un aumento del carácter hidrófobo del polímero, las distribuciones obtenidas fueron alrededor de los 200 nm. Están ausentes las distribuciones de AuNRs solas, con el aumento de segmento de la PNVP los agregados presentan la tendencia de disminuir el D_h . En **Tabla 5** se resume la información obtenida.

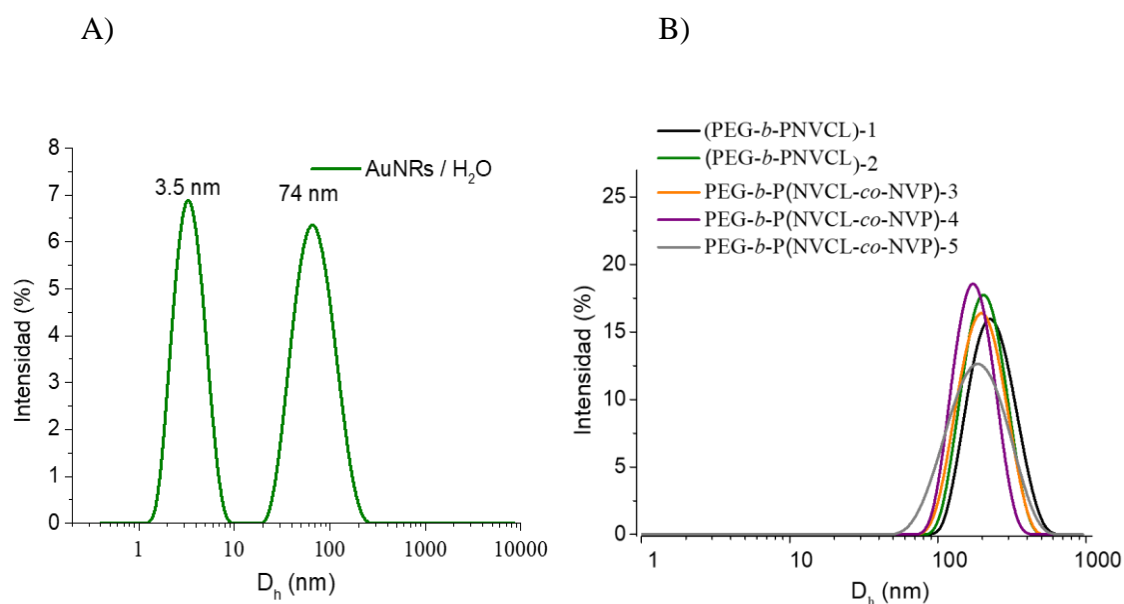


Figura 46. A) Distribución de AuNRs dispersas en agua, B) Agregados poliméricos con grupo terminal tiol conteniendo AuNRs medidos arriba de su T_{cp} .

Tabla 5. Agregación de los copolímeros en bloques con grupo terminal tiol conteniendo AuNRs.

<i>Muestra</i>	<i>T °C</i>	<i>D_h</i> (<i>nm</i>)	<i>PDI</i>
AuNRs @ (PEG- <i>b</i> -PNVCL)-1	35	242	0.221
AuNRs @ (PEG- <i>b</i> -PNVCL)-2	35	190	0.125
AuNRs @ PEG- <i>b</i> -P(NVCL- <i>co</i> -NVP)-3	37	206	0.279
AuNRs @ PEG- <i>b</i> -P(NVCL- <i>co</i> -NVP)-4	39	185	0.222
AuNRs @ PEG- <i>b</i> -P(NVCL- <i>co</i> -NVP)-5	43	199	0.225

5.8.3 Cambio en el valor del potencial zeta por efecto del pH del medio de AuNRs estabilizadas con copolímeros en bloques con grupo terminal tiol

El potencial zeta se refiere a las partículas coloidales dispersas en una solución que portan cargas debido a sus características iónicas, y es la carga eléctrica de la superficie de la partícula. De la manera similar que, a los agregados poliméricos dispersos en agua, se realizó un barrido de pH midiendo su carga superficial. En la **Figura 47A** se tiene la variación de la carga superficial de las AuNRs dispersas en agua a 25 °C, a pH más bajo presentan una carga superficial positiva de 17 mW, a medida que aumenta el pH disminuye esta carga superficial, hasta alcanzar el punto isoeléctrico que se encuentra entre un pH 8 y 9. Mientras que a un pH entre 9 y 11 presentan cargas superficiales negativas. Por otro lado, en los agregados poliméricos conteniendo AuNRs ver **Figura 47B** está claro que hay una disminución en los valores de la carga superficial. Los valores registrados son muy similares al comportamiento de los agregados poliméricos dispersos en agua. Sin embargo, hay un cambio el punto isoeléctrico, mientras que las AuNRs dispersas en agua lo presentan a un pH de 8, los copolímeros dispersos en agua lo presentan a un pH de 4 y los agregados de polímero-AuNRs su punto isoeléctrico es a un pH entre 5 y 6, este cambio es muy evidente debido al efecto del polímero sobre la nanopartícula, indicando el recubrimiento sobre la AuNRs.

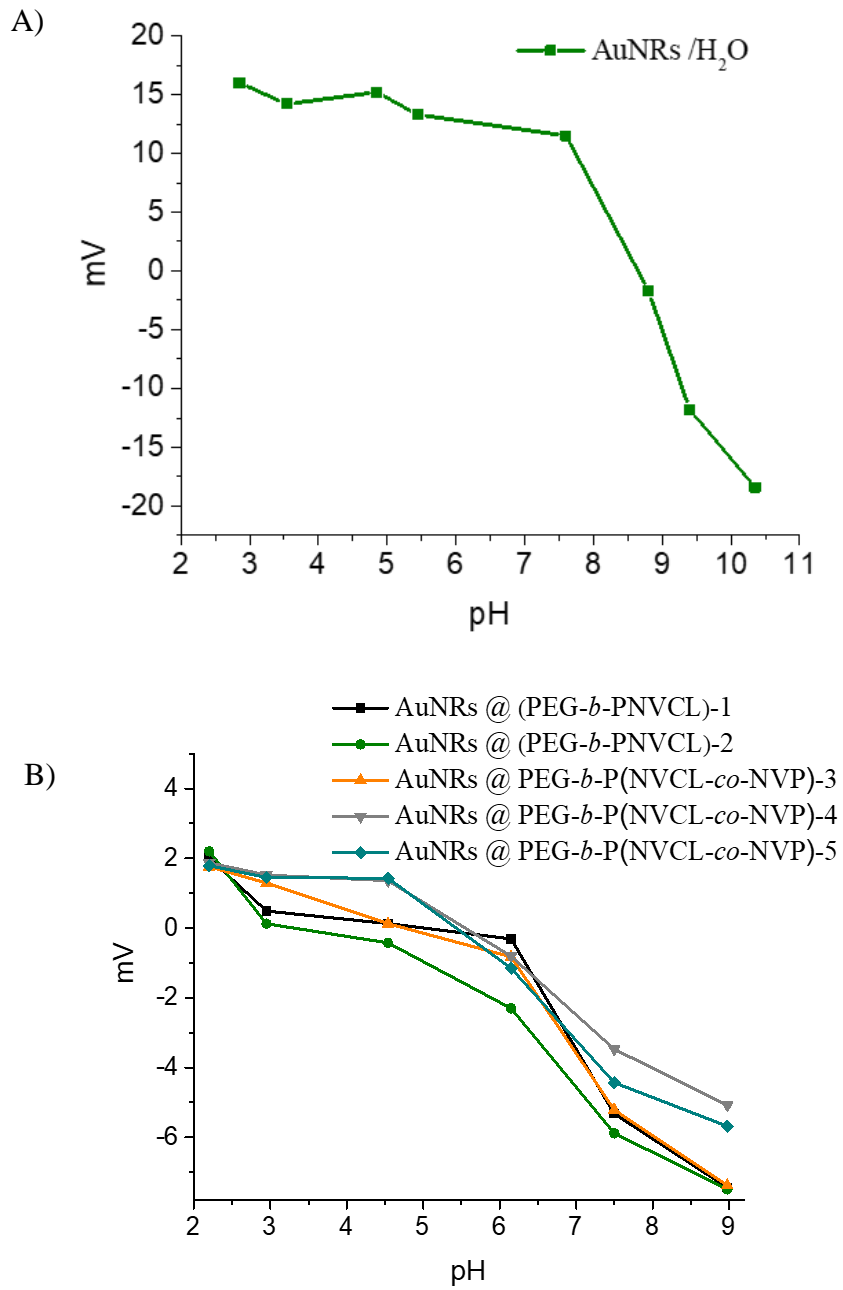


Figura 47. Cambio en el valor del potencial zeta por efecto del pH del medio medido a 25°C. A) AuNRs dispersas en agua, B) AuNRs @ Copolímeros en bloques con grupo terminal tiol a 25 °C.

5.9 Determinación del contenido de nanobastones de oro en agregados (AuNRs) con copolímeros en bloques mediante análisis termogravimétrico (TGA)

Una vez que las AuNRs se estabilizaron y evaluaron térmicamente, se congelaron y liofilizaron, resultando esponjas de color rojo intenso. Las muestras se colocaron en una estufa por 24 horas para eliminar la mayor humedad posible. En la **Figura 48** se tiene los termogramas de los copolímeros con AuNRs, donde la etapa de descomposición del polímero ocurre alrededor de los 440 °C, sin embargo, tienen un porcentaje de residuo más alta comparándolo con el copolímero solo, este aumento se debe al contenido de AuNRs en la muestra. Estos sistemas con la relación 5:3 de mL solución de polímero por mL de solución AuNRs, los porcentajes de contenido van entre el 9 y 12 %, para estos porcentajes, presentan un buen comportamiento fototérmico lo cual es muy adecuado para utilizar la menor cantidad de AuNRs, siempre que presenten una buena estabilidad en el tiempo y aumente la temperatura por exposición a la irradiación mientras se mantenga dentro de los intervalos de la terapia fototérmica.

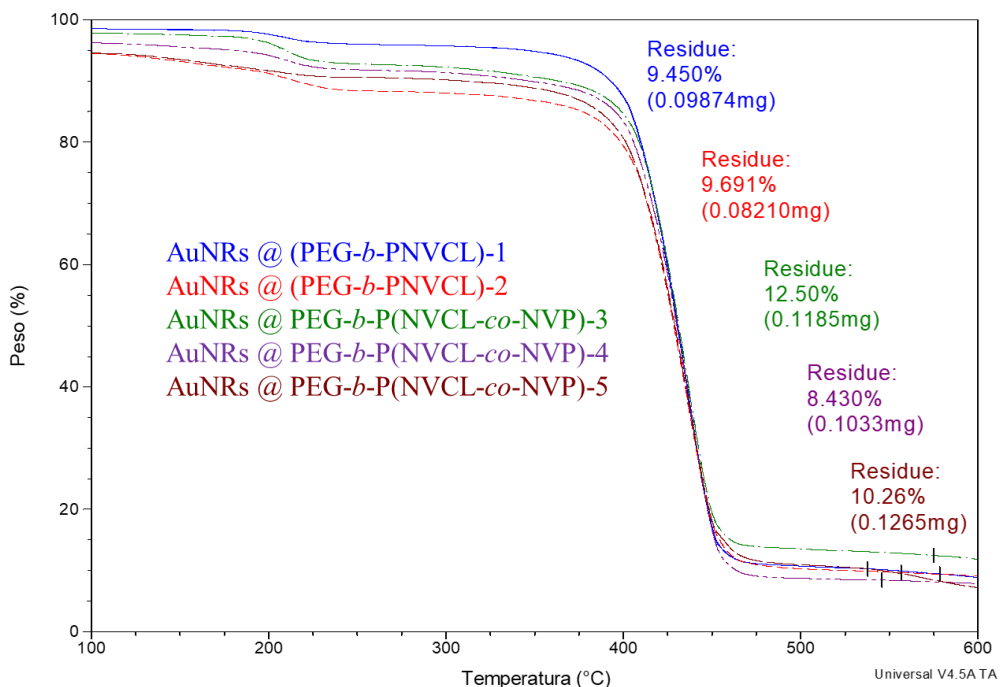


Figura 48. Termogramas de TGA de los copolímeros en bloques con grupo terminal tiol conteniendo AuNRs.

5.10 Síntesis y caracterización de nanotetrápodos de oro (AuNTPs)

5.10.1 Estabilización de AuNTPs con PEG M_n 6000 g/mol

Se sintetizaron nanotetrápodos de oro de acuerdo a la técnica de crecimiento de semillas, utilizando diferentes concentraciones de la solución de CTAB como se describió en la metodología. En el primer paso, consiste en preparar la solución de semillas en presencia del estabilizante CTAB y el reductor NaBH_4 , luego en el segundo paso, éstas se adicionan a una solución de crecimiento que contiene el precursor de oro, el estabilizante y el reductor. Se procede a la formación de nanotetrápodos, constituidos por un centro a partir del cual crecen los cuatro vértices externos, adquiriendo una morfología de 4 picos al final se tiene una coloración verdosa.

En la **Figura 49A** se tiene el espectro de UV-vis para la solución de nanotetrápodos una vez finalizado el tiempo de reacción, se verificó la banda de absorción LSPR. Donde se observó una banda intensa de absorción alrededor de los 800 nm que corresponde a la LSPR longitudinal de los picos extremos de la partícula, se mostró una banda de absorción LSPR adicional a los 500 nm, que representa el núcleo de la partícula y su grosor dependería de esta banda de absorción. Los nanotetrápodos se encuentran dispersos en CTAB, un surfactante que presenta citotoxicidad como se mencionó anteriormente a ciertas concentraciones. Por lo tanto, se requieren purificar por centrifugación y redispersión en agua desionizada, para eliminar el surfactante, lo que provoca que la LSPR se desplace durante este proceso. Esta modificación en la posición de la banda de absorción LSPR se debe a la interacción de la superficie de las nanotetrápodos con el medio, donde una vez que se elimina el CTAB y se reemplaza con agua, provoca un desplazamiento aproximadamente de 50 nm. Dado que la partícula es termodinámicamente inestable, intentará encontrar su estado fundamental en este caso esferas. Los nanotetrápodos una vez purificados se estabilizaron con PEG-SH M_n 6000 g/mol, ya que se observó un desplazamiento de la banda de absorción LSPR, mientras que los nanotetrápodos que no fueron estabilizados al menos en 14 horas cambió su morfología a esferas. Se realizó un seguimiento de la estabilización con el pasar de los días, en el cual, no se observó un desplazamiento a mayores o menores longitudes de onda, sin embargo, la intensidad de la absorbancia disminuye con el tiempo **Figura 49B**.

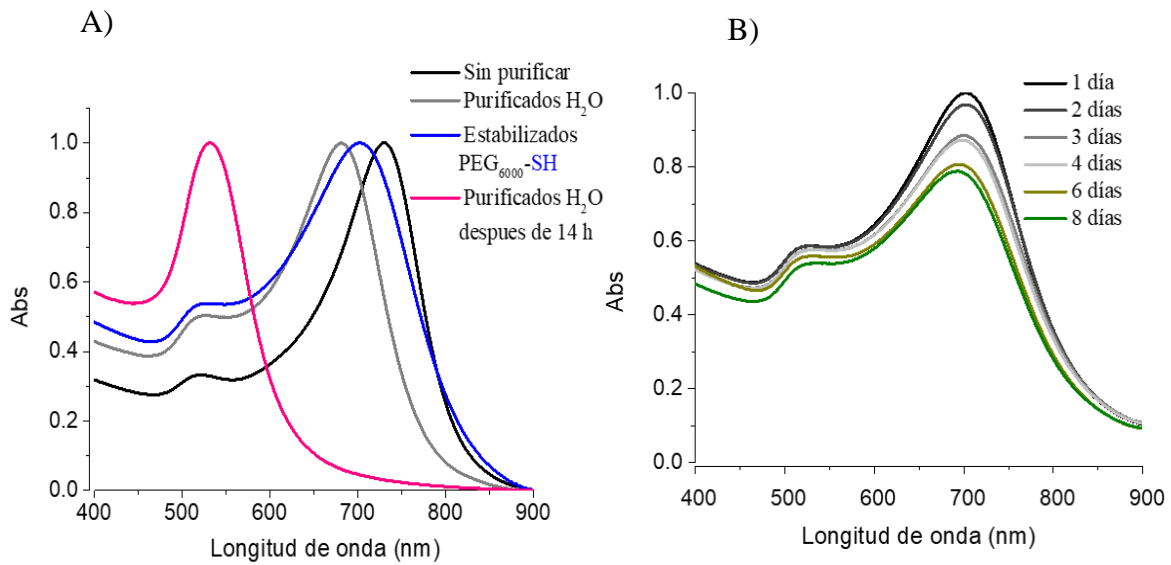


Figura 49. Estabilización de AuNTPs. A) Estabilización de AuNTPs con PEG-SH M_n 6000 g/mol, B) Monitoreo de la estabilidad LSPR con el pasar del tiempo.

5.10.2 Caracterización mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM)

Las morfologías de los AuNTPs se analizaron por TEM en la cual se usó un voltaje de aceleración de 80kV y un tiempo de exposición de 2 segundos. Se confirma en la **Figura 50A** la morfología de las AuNTPs, se observaron partículas en forma de picos combinada con nanopartículas esféricas esto puede deberse a que la síntesis no produjo de exclusiva durante el crecimiento anisotrópico, que da origen a la formación de los cuatro picos, luego se determinaron las dimensiones longitudinales y transversales de los nanotetrápodos. Se puede ver que la mayoría de las nanopartículas de oro sintetizadas presentan una morfología de picos bien definida. Cabe destacar, que la muestra se analizó por TEM tres meses después de su síntesis por lo que se observaron deformaciones en la morfología. Las dimensiones que presentaron oscilan entre los 25 y 30 nm desde la parte superior del pico hacia su eje transversal. Comparando con los AuNRs son más pequeños, y la homogeneidad de esta estructura está relacionada con lo estrecho de la banda de absorción longitudinal LSPR. En la segunda síntesis se obtuvo una banda de absorción más ancha ver **ANEXO 12.1** y se analizaron por TEM dos semanas después de su síntesis donde se observaron morfologías heterogéneas **Figura 50B**.

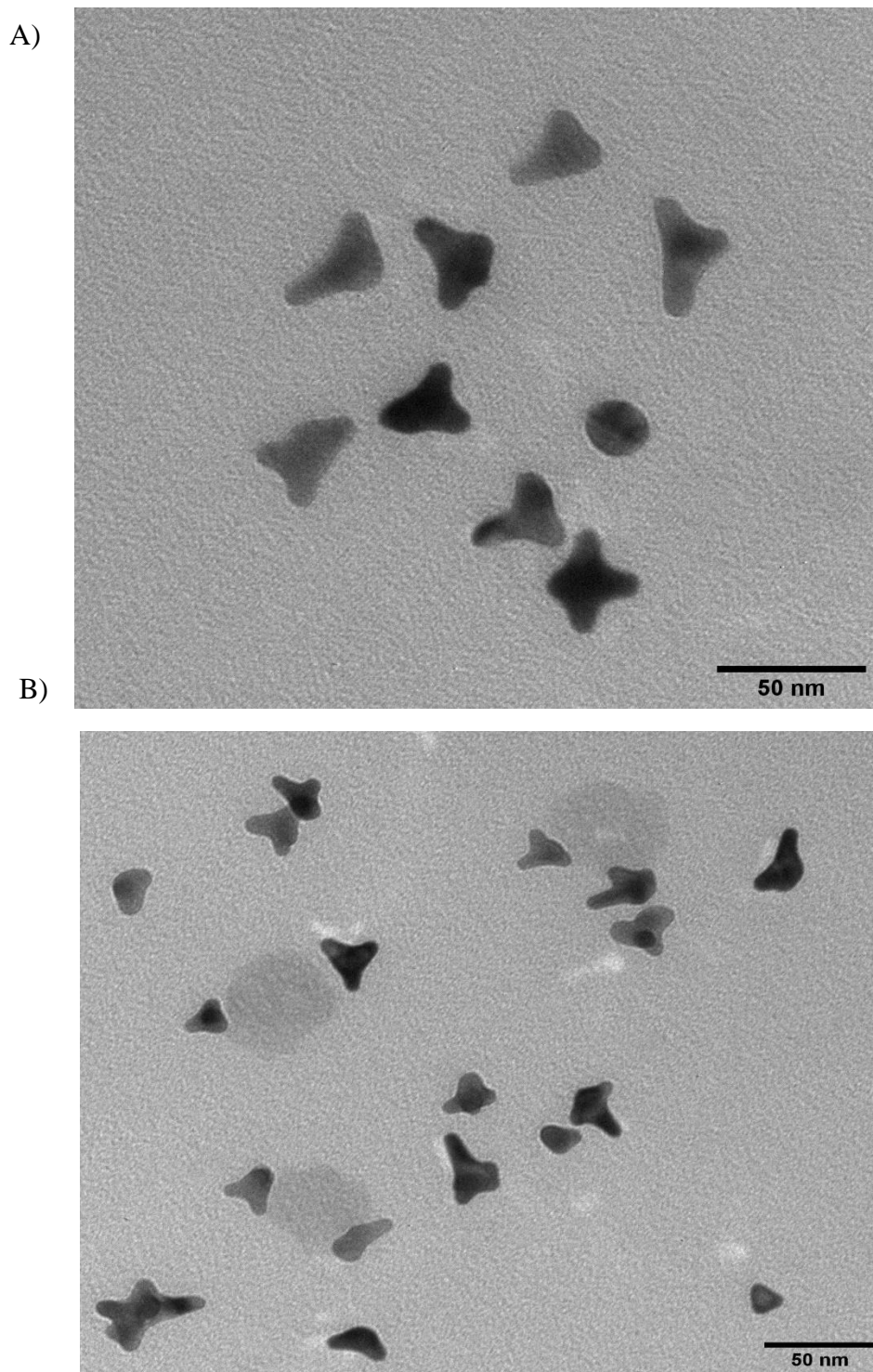


Figura 50. Micrografías por TEM de AuNTPs. A) AuNTPs con una LSPR estrecha analizada después de tres meses de su síntesis, B) AuNTPs con una LSPR ancha analizadas después de dos semanas de su síntesis.

5.10.3 Incremento de la temperatura en el medio por irradiación NIR de AuNTPs

Una vez que los AuNTPs se estabilizaron, se examinó su comportamiento fototérmico y se determinó el incremento de la temperatura cuando la nanopartícula se encuentra unida al polímero. La medición se realizó de manera similar que las AuNRs dispersas en agua, se utilizó 1 mL de solución de polímero-nanopartícula, se inició de una temperatura de 25 °C donde los primeros 30 segundos se obturó el láser para tener un “offset” y después de este tiempo se comenzó la irradiación de manera continua durante 10 minutos. Se comparó de manera similar el blanco de agua irradiando a 500 mW, confirmando que no hay algún aumento en la temperatura del medio, debido a la irradiación de las salidas del termopar. Durante cada medición, la intensidad de la potencia se varió iniciando en 100 mW hasta 500 mW. En la **Figura 51A** se tienen una menor respuesta térmica al ser irradiadas, debido al largo periodo de envejecimiento de 3 meses comparado con los AuNTPs recién sintetizados, así como la deformación que sufre la estructura con el tiempo de esta forma reduce la respuesta térmica. En comparación a los tetrápodos analizados después de dos semanas y que obtuvo una banda de absorción ancha, la respuesta térmica fue similar a la de los AuNRs presentando incrementos en la temperatura hasta los 45 °C con una potencia máxima de 500 mW ver **Figura 51B**.

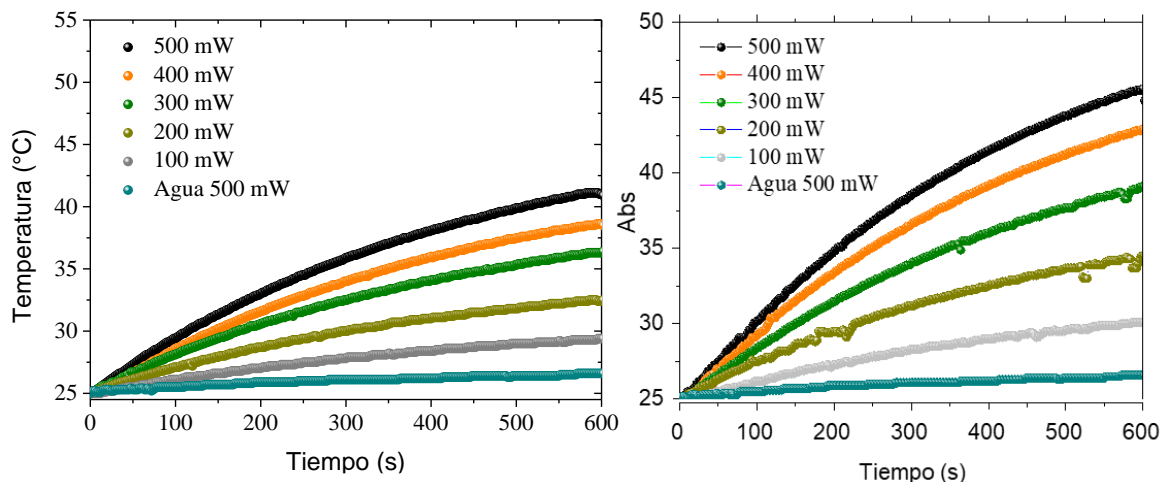


Figura 51. Perfiles del incremento de la temperatura de AuNTPs con respecto al tiempo de irradiación con un láser de 785 nm. A) AuNTPs con una LSPR estrecha analizada después de 3 meses, B) AuNTPs con LSPR ancha analizadas después de dos semanas.

VI. CONCLUSIONES

El uso del macro agente RAFT funcionalizado con PEG de M_n 5000 g/mol, permitió preparar copolímeros en bloques de PEG-*b*-PNVCL y PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP) con control de su peso molecular, dispersidad y composición.

Se modificó el punto de turbidez de los copolímeros en bloques en agua desde 35 a 43 °C en función del contenido de PNVP en ellos.

Los copolímeros en bloque formaron agregados cercanos a los 200 nm de diámetro dispersos en agua por arriba de la T_{cp} del copolímero; fue notoria la disminución del D_h al aumentar el contenido de NVP provocando una contracción del agregado.

Se logró la reducción del grupo terminal tritiocarbonato a tiol en los copolímeros en bloques, siendo notorio el cambio de coloración de la muestra además de la disminución de la banda de absorción perteneciente al tritiocarbonato.

El comportamiento fototérmico de los nanobastones de oro (AuNRs) dispersos en agua preparados con dimensiones de $(64 \pm 4$ longitud y 14 ± 4 diámetro) nm y con una razón de aspecto de 3.75 fue favorable en cuanto al incremento de la temperatura en el medio al ser irradiadas con un láser de 785 nm, llegando hasta a los 53 °C.

La estabilización de los AuNRs con los diferentes sistemas de copolímeros en bloque con grupo terminal tiol fue efectiva, sin mostrar algún indicio de precipitación o aglomeración con el paso de los días, presentando una buena estabilización hasta por 8 días.

Hay una diferencia de 4 °C en la respuesta térmica de los AuNRs solos y los AuNRs estabilizados con los copolímeros al ser irradiados con luz en el infrarrojo cercano NIR (785 nm) esto debido a las interacciones entre ellos.

Los AuNRs estabilizados con los copolímeros en bloque con grupo terminal tiol formaron agregados con un diámetro de alrededor de los 200 nm, siendo adecuados para la aplicación biomédica.

La formación de agregados con los copolímeros en bloques con grupo terminal tiol muestran un cambio del potencial zeta de los (AuNRs); al estar en contacto con lo copolímeros se modificó su punto isoeléctrico a un pH entre 5 y 6.

Los nanotetrápodos de oro preparados (AuNTPs) con dimensiones de 30 nm presentaron una banda de absorción estrecha, indicando una homogeneidad en la morfología mostrando 4 picos hacia los extremos. Estas nanoestructuras mostraron inestabilidad en el tiempo desplazándose su LSPR a valores típicos para nanoesferas de oro a 500 nm en cuestión de horas.

El uso de PEG-tiol como estabilizante ayudó a preservar los AuNTPs, llegando a conservar su estructura hasta por 3 meses. Sin embargo, fue notorio un engrosamiento en los picos. Esta deformación disminuye la respuesta térmica al ser irradiadas con el láser.

VII. REFERENCIAS

- (1) Cai, S.; Yang, R. Two-Dimensional Nanomaterials With Enzyme-Like Properties for Biomedical Applications. *Front. Chem.* **2020**, *8*, 1109.
- (2) Yang, H.; He, H.; Tong, Z.; Xia, H.; Mao, Z.; Gao, C. The Impact of Size and Surface Ligand of Gold Nanorods on Liver Cancer Accumulation and Photothermal Therapy in the Second Near-Infrared Window. *J. Colloid Interface Sci.* **2020**, *565*, 186–196.
- (3) Hu, X.; Zhang, Y.; Ding, T.; Liu, J.; Zhao, H. Multifunctional Gold Nanoparticles: A Novel Nanomaterial for Various Medical Applications and Biological Activities. *Front. Bioeng. Biotechnol.* **2020**, *8*, 1–17.
- (4) Sztandera, K.; Gorzkiewicz, M.; Klajnert-Maculewicz, B. Gold Nanoparticles in Cancer Treatment. *Mol. Pharm.* **2019**, *16*, 1–23.
- (5) Zou, L.; Wang, H.; He, B.; Zeng, L.; Tan, T.; Cao, H.; He, X.; Zhang, Z.; Guo, S.; Li, Y. Current Approaches of Photothermal Therapy in Treating Cancer Metastasis with Nanotherapeutics. *Theranostics.* **2016**, *6*, 762–772.
- (6) Khlebtsov, B. N.; Khanadeev, V. A.; Maksimova, I. L.; Terentyuk, G. S.; Khlebtsov, N. G. Silver Nanocubes and Gold Nanocages: Fabrication and Optical and Photothermal Properties. *Nanotechnologies Russ.* **2010**, *5*, 454–468.
- (7) Liu, Y.; Cao, C. S.; Yu, Y.; Si, Y. M. Thermal Ablation in Cancer (Review). *Oncol. Lett.* **2016**, *12*, 2293–2295.
- (8) Barar, J.; Omidi, Y. Surface Modified Multifunctional Nanomedicines for Simultaneous Imaging and Therapy of Cancer. *BioImpacts* **2014**, *4*, 3–14.
- (9) Lin, L. K.; Uzunoglu, A.; Stanciu, L. A. Aminolated and Thiolated PEG-Covered Gold Nanoparticles with High Stability and Antiaggregation for Lateral Flow Detection of Bisphenol A. *Small.* **2018**, *14*, 1–10.
- (10) Shanmugam, V.; Selvakumar, S.; Yeh, C. S. Near-Infrared Light-Responsive Nanomaterials in Cancer Therapeutics. *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 6254–6287.

-
- (11) Zhang, X.; Wang, H.; Wu, B. Effects of Pharmaceutical PEGylation on Drug Metabolism and Its Clinical Concerns. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* **2014**, *10*, 1–12.
- (12) Liu, J.; Detrembleur, C.; Mornet, S.; Jérôme, C.; Duguet, E. Design of Hybrid Nanovehicles for Remotely Triggered Drug Release: An Overview. *J. Mater. Chem. B.* **2015**, *3*, 6117–6147.
- (13) Dittrich, J.; Kather, M.; Holzberger, A.; Pich, A.; Gohlke, H. Cumulative Submillisecond All-Atom Simulations of the Temperature-Induced Coil-to-Globule Transition of Poly(N-Vinylcaprolactam) in Aqueous Solution. *Macromolecules.* **2020**, *53*, 9793–9810.
- (14) Biswas, G.; Jena, B. C.; Samanta, P.; Mandal, M.; Dhara, D. Synthesis, Self-Assembly and Drug Release Study of a New Dual-Responsive Biocompatible Block Copolymer Containing Phenylalanine Derivative. *J. Macromol. Sci. Part A Pure Appl. Chem.* **2021**, *58*, 1–12.
- (15) Beija, M.; Marty, J. D.; Destarac, M. Thermoresponsive Poly(N-Vinyl Caprolactam)-Coated Gold Nanoparticles: Sharp Reversible Response and Easy Tunability. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 2826–2828.
- (16) Foladori, G. Nanotechnology Public Policy in Latin America. *Probl. Desarro.* **2016**, *47*, 59–81.
- (17) Menon, S.; S., R.; S., V. K. A Review on Biogenic Synthesis of Gold Nanoparticles, Characterization, and Its Applications. *Resour. Technol.* **2017**, *3*, 516–527.
- (18) Jain, P. K.; Huang, X.; El-Sayed, I. H.; El-Sayed, M. A. Noble Metals on the Nanoscale: Optical and Photothermal Properties and Some Applications in Imaging, Sensing, Biology, and Medicine. *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 1578–1586.
- (19) Amreddy, N.; Muralidharan, R.; Babu, A.; Mehta, M.; Johnson, E. V.; Zhao, Y. D.; Munshi, A.; Ramesh, R. Tumor-Targeted and PH-Controlled Delivery of Doxorubicin Using Gold Nanorods for Lung Cancer Therapy. *Int. J. Nanomedicine* **2015**, *10*, 6773–6788.

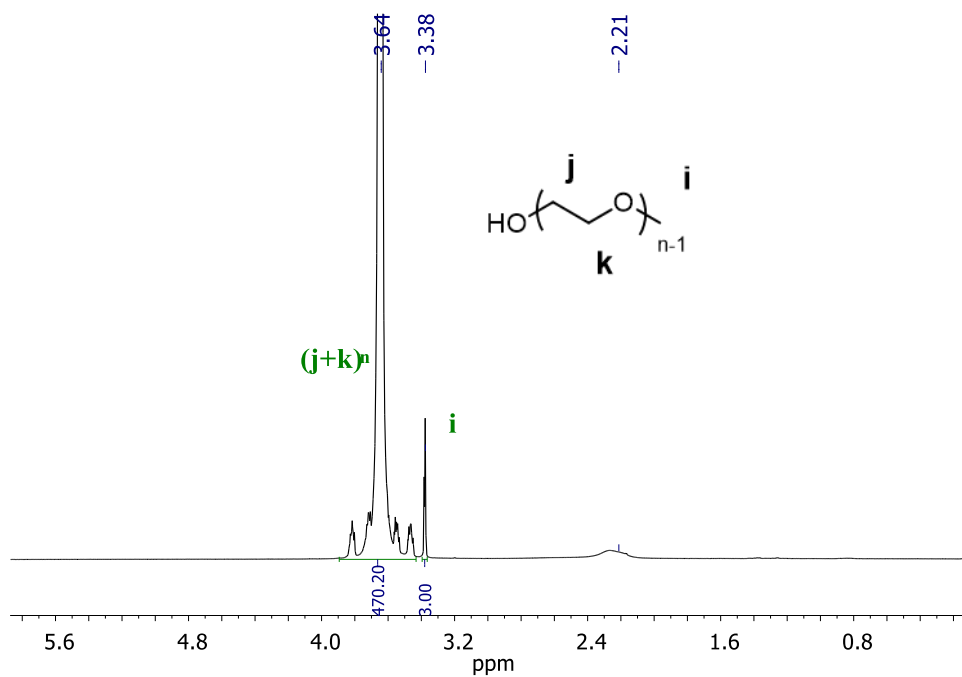
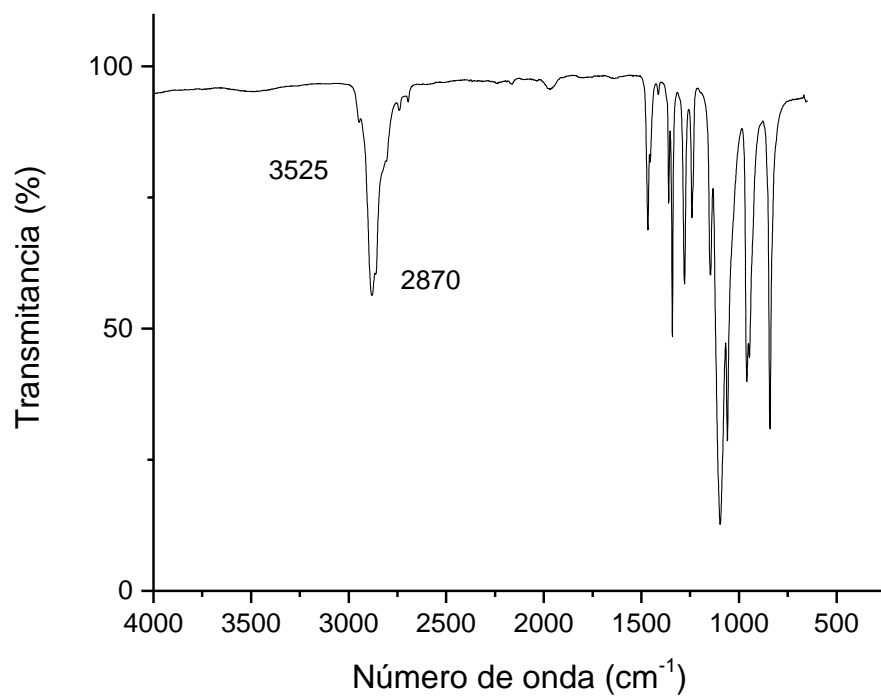
-
- (20) Hutter, E.; Fendler, J. H. Exploitation of Localized Surface Plasmon Resonance. *Adv. Mater.* **2004**, *16*, 1685–1706.
- (21) Singh, P.; Kim, Y. J.; Wang, C.; Mathiyalagan, R.; El-Agamy Farh, M.; Yang, D. C. Biogenic Silver and Gold Nanoparticles Synthesized Using Red Ginseng Root Extract, and Their Applications. *Artif. Cells, Nanomedicine Biotechnol.* **2016**, *44*, 811–816.
- (22) Hua, Y.; Chandra, K.; Dam, D. H. M.; Wiederrecht, G. P.; Odom, T. W. Shape-Dependent Nonlinear Optical Properties of Anisotropic Gold Nanoparticles. *J. Phys. Chem. Lett.* **2015**, *6*, 4904–4908.
- (23) Verma, J.; Lal, S.; Van Noorden, C. J. F. Nanoparticles for Hyperthermic Therapy: Synthesis Strategies and Applications in Glioblastoma. *Int. J. Nanomedicine.* **2014**, *9*, 2863–2877.
- (24) Abadeer, N. S.; Murphy, C. J. Recent Progress in Cancer Thermal Therapy Using Gold Nanoparticles. *J. Phys. Chem. C.* **2016**, *120*, 4691–4716.
- (25) El-Sayed, M. A. Some Interesting Properties of Metals Confined in Time and Nanometer Space of Different Shapes. *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 257–264.
- (26) Pereira, S. O.; Barros-Timmons, A.; Trindade, T. Polymer@gold Nanoparticles Prepared via RAFT Polymerization for Opto-Biodetection. *Polymers (Basel).* **2018**, *10*, 189.
- (27) Chang, S.; Li, Q.; Xiao, X.; Wong, K. Y.; Chen, T. Enhancement of Low Energy Sunlight Harvesting in Dye-Sensitized Solar Cells Using Plasmonic Gold Nanorods. *Energy Environ. Sci.* **2012**, *5*, 9444–9448.
- (28) Moad, C. L.; Moad, G. Fundamentals of Reversible Addition – Fragmentation Chain Transfer (RAFT). *Chemistry Teacher International.* **2020**, *3*, 3-17.
- (29) Moad, G. RAFT Polymerization to Form Stimuli-Responsive Polymers. *Polym. Chem.* **2017**, *8*, 177–219.

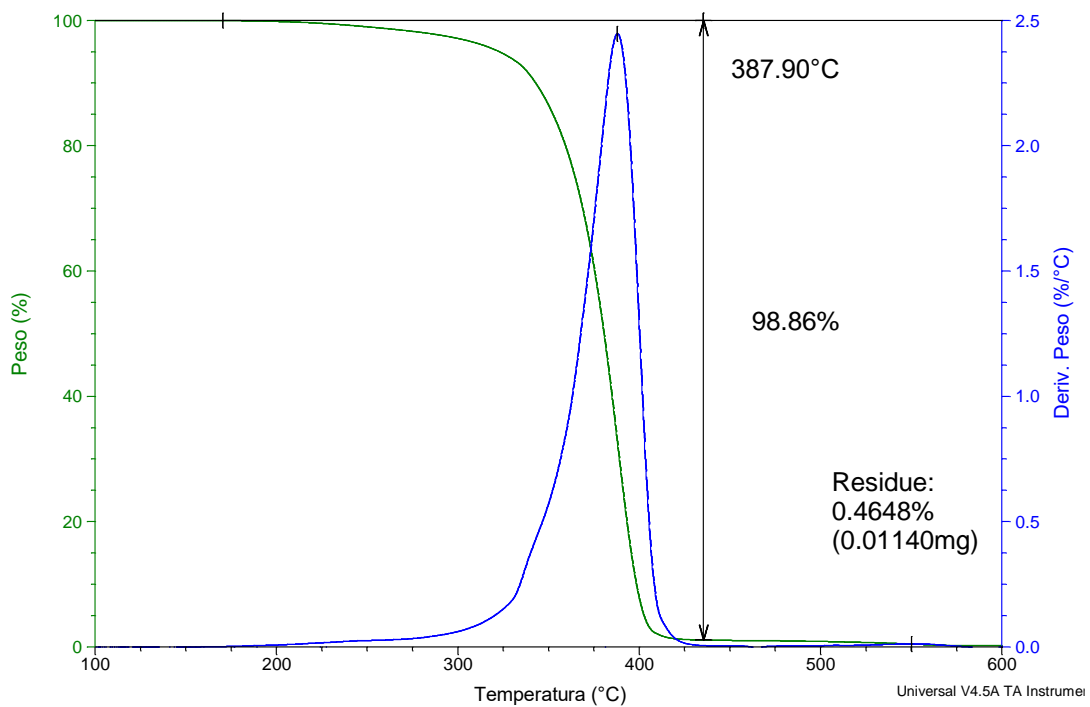
-
- (30) Fairbanks, B. D.; Gunatillake, P. A.; Meagher, L. Biomedical Applications of Polymers Derived by Reversible Addition - Fragmentation Chain-Transfer (RAFT). *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2015**, *91*, 141–152.
- (31) Moad, G.; Rizzardo, E.; Thang, S. H. Radical Addition-Fragmentation Chemistry in Polymer Synthesis. *Polymer (Guildf)*. **2008**, *49*, 1079–1131.
- (32) Altarawneh, I.; Rawadieh, S.; Gomes, V. G. The Influence of Intermediate Radical Termination and Fragmentation on Controlled Polymer Synthesis via RAFT Polymerization. *Des. Monomers Polym.* **2014**, *17*, 430–437.
- (33) Hu, Q.; Huang, Z.; Duan, Y.; Fu, Z.; Bin Liu. Reprogramming Tumor Microenvironment with Photothermal Therapy. *Bioconjug. Chem.* **2020**, *31*, 1268–1278.
- (34) Góis, J. R.; Costa, J. R. C.; Popov, A. V.; Serra, A. C.; Coelho, J. F. J. Synthesis of Well-Defined Alkyne Terminated Poly(N-Vinyl Caprolactam) with Stringent Control over the LCST by RAFT. *RSC Adv.* **2016**, *6*, 16996–17007.
- (35) Zhang, L.; Liang, Y.; Meng, L. Thermo-Sensitive Amphiphilic Poly(N-Vinylcaprolactam) Copolymers: Synthesis and Solution Properties. *Polym. Adv. Technol.* **2010**, *21*, 720–725.
- (36) Kermagoret, A.; Fustin, C. A.; Bourguignon, M.; Detrembleur, C.; Jérôme, C.; Debuigne, A. One-Pot Controlled Synthesis of Double Thermoresponsive N-Vinylcaprolactam-Based Copolymers with Tunable LCST. *Polym. Chem.* **2013**, *4*, 2575–2583.
- (37) Zhao, X.; Coutelier, O.; Nguyen, H. H.; Delmas, C.; Destarac, M.; Marty, J. D. Effect of Copolymer Composition of RAFT/MADIX-Derived N-Vinylcaprolactam / N-Vinylpyrrolidone Statistical Copolymers on Their Thermoresponsive Behavior and Hydrogel Properties. *Polym. Chem.* **2015**, *6*, 5233–5243.
- (38) Doberenz, F.; Zeng, K.; Willems, C.; Zhang, K.; Groth, T. Thermoresponsive Polymers and Their Biomedical Application in Tissue Engineering-A Review. *J. Mater. Chem. B.* **2020**, *8*, 607–628.

-
- (39) Chen, H.; Zou, H.; Paholak, H. J.; Ito, M.; Qian, W.; Che, Y.; Sun, D. Thiol-Reactive Amphiphilic Block Copolymer for Coating Gold Nanoparticles with Neutral and Functionable Surfaces. *Polym. Chem.* **2014**, *5*, 2768–2773.
- (40) Boyer, C.; Bulmus, V.; Davis, T. P. Efficient Usage of Thiocarbonates for Both the Production and the Biofunctionalization of Polymers. *Macromol. Rapid Commun.* **2009**, *30*, 493–497.
- (41) Häkkinen, H. The Gold-Sulfur Interface at the Nanoscale. *Nat. Chem.* **2012**, *4*, 443–455.
- (42) Vericat, C.; Vela, M. E.; Benitez, G.; Carro, P.; Salvarezza, R. C. Self-Assembled Monolayers of Thiols and Dithiols on Gold: New Challenges for a Well-Known System. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 1805–1834.
- (43) Roper, M. G.; Skegg, M. P.; Fisher, C. J.; Lee, J. J.; Dhanak, V. R.; Woodruff, D. P.; Jones, R. G. Atop Adsorption Site of Sulphur Head Groups in Gold-Thiolate Self-Assembled Monolayers. *Chem. Phys. Lett.* **2004**, *389*, 87–91.
- (44) Bagley, A. F.; Hill, S.; Rogers, G. S.; Bhatia, S. N. Plasmonic Photothermal Heating of Intraperitoneal Tumors through the Use of an Implanted Near-Infrared Source. *ACS Nano.* **2013**, *7*, 8089–8097.
- (45) Chen, F.; Cai, W. Nanomedicine for Targeted Photothermal Cancer Therapy: Where Are We Now?. *Nanomedicine.* **2015**, *10*, 1–3.
- (46) Nomura, S.; Morimoto, Y.; Tsujimoto, H.; Arake, M.; Harada, M.; Saitoh, D.; Hara, I.; Ozeki, E.; Satoh, A.; Takayama, E.; Hase, K.; Kishi, Y.; Ueno, H. Highly Reliable, Targeted Photothermal Cancer Therapy Combined with Thermal Dosimetry Using a near-Infrared Absorbent. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 1–7.
- (47) DiazDuarte-Rodriguez, M.; Cortez-Lemus, N. A.; Licea-Claverie, A.; Licea-Rodriguez, J.; Méndez, E. R. Dual Responsive Polymersomes for Gold Nanorod and Doxorubicin Encapsulation: Nanomaterials with Potential Use as Smart Drug Delivery Systems. *Polymers (Basel).* **2019**, *11*, 939.
- (48) Li, M.; De, P.; Li, H.; Sumerlin, B. S. Conjugation of RAFT-Generated Polymers to Proteins by Two Consecutive Thiol-Ene Reactions. *Polym. Chem.* **2010**, *1*, 854–859.

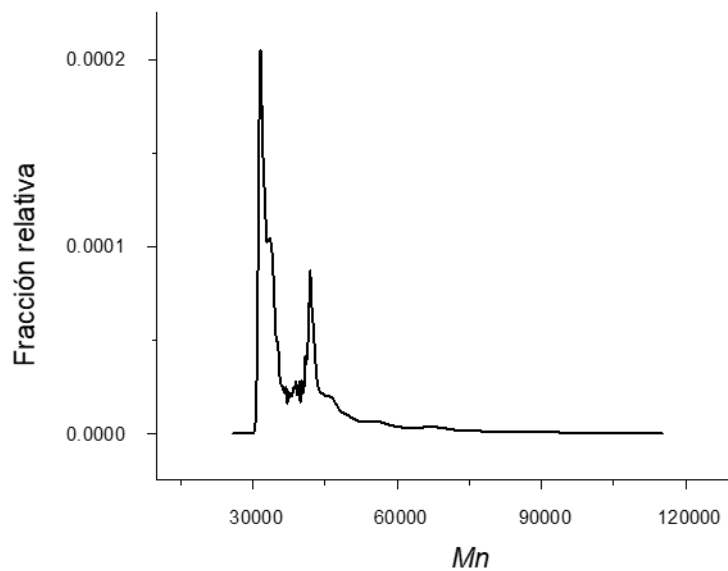
- (49) Nikoobakht, B.; El-Sayed, M. A. Preparation and Growth Mechanism of Gold Nanorods (NRs) Using Seed-Mediated Growth Method. *Chem. Mater.* **2003**, *15*, 1957–1962.
- (50) Chang, Y. X.; Zhang, N. N.; Xing, Y. C.; Zhang, Q.; Oh, A.; Gao, H. M.; Zhu, Y.; Baik, H.; Kim, B.; Yang, Y.; Chang, W. S.; Sun, T.; Zhang, J.; Lu, Z. Y.; Lee, K.; Link, S.; Liu, K. Gold Nanotetrapods with Unique Topological Structure and Ultranarrow Plasmonic Band as Multifunctional Therapeutic Agents. *J. Phys. Chem. Lett.* **2019**, *10*, 4505–4510.

ANEXOS

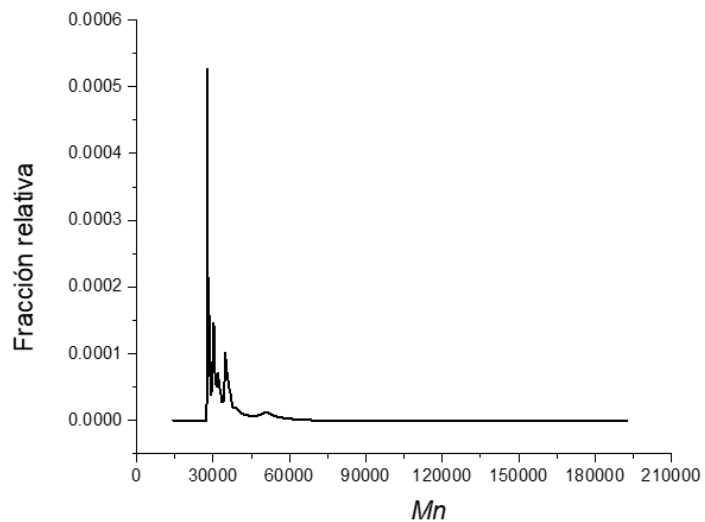
ANEXO A1.1. Espectro de RMN-¹H del PEG M_n 5000 g/mol.ANEXO A1.2. Espectro de FT-IR del PEG M_n 5000 g/mol.



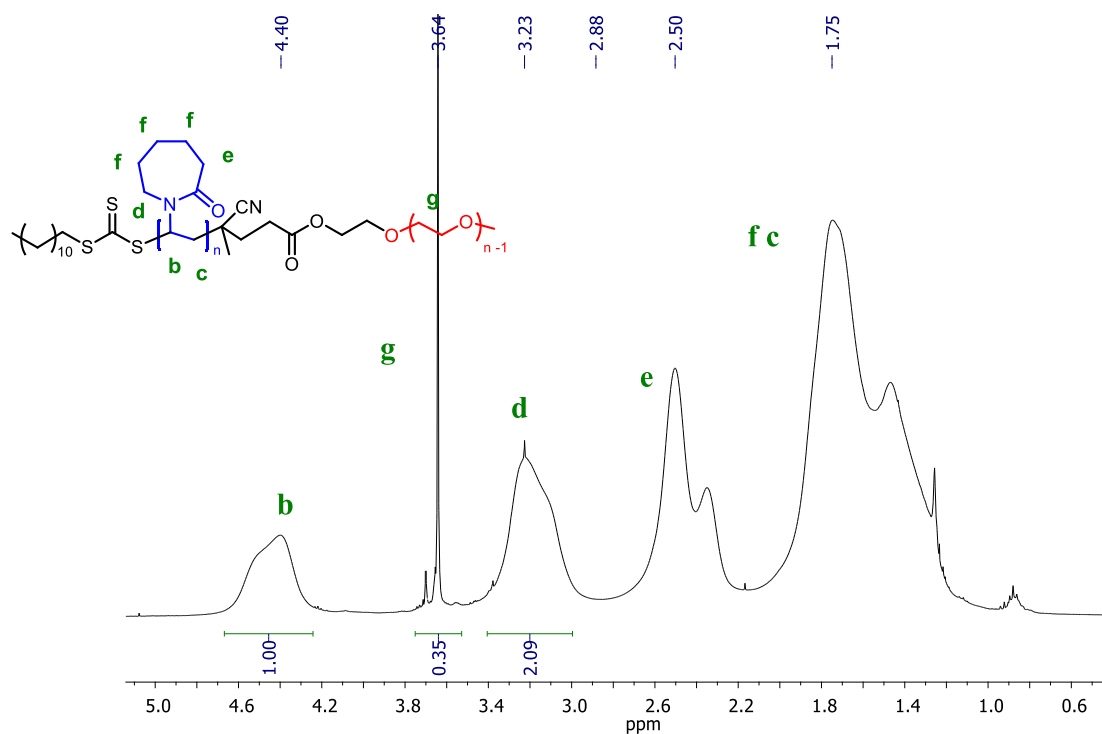
ANEXO A1.3. Termograma por TGA del PEG M_n 5000 g/mol.



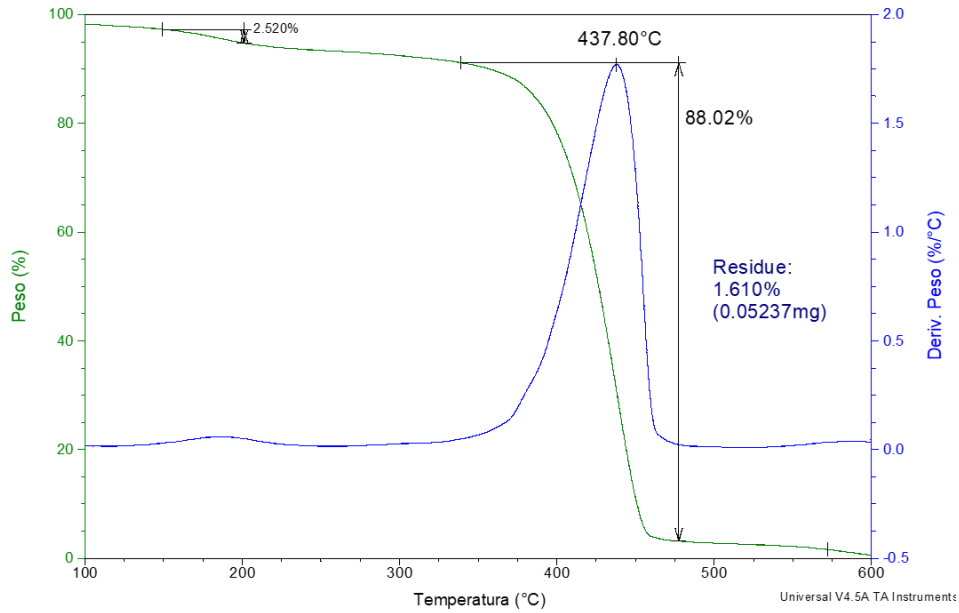
ANEXO A2.1. Distribución del peso molecular del copolímero en bloques (PEG-*b*-PNVCL)-1.



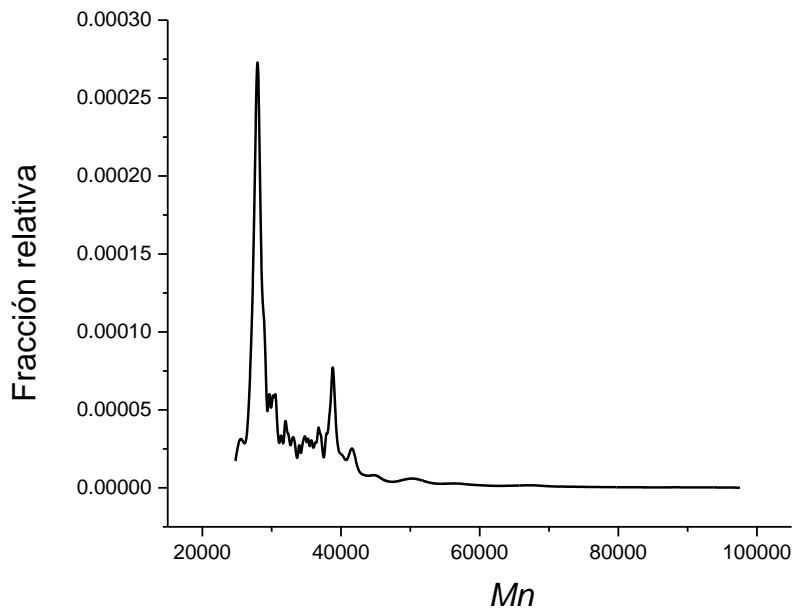
ANEXO A2.2. Distribución del peso molecular del copolímero en bloques (PEG-*b*-PNVCL)-2.



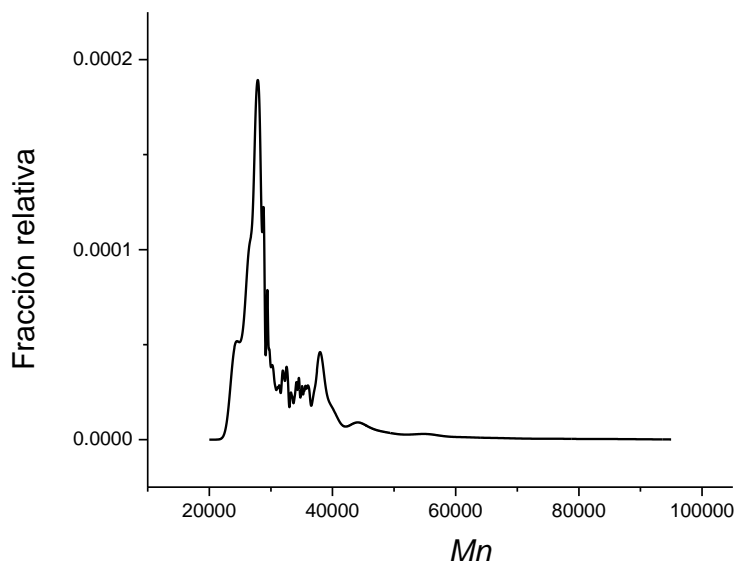
ANEXO A3.1. Espectro de RMN-¹H de copolímero (PEG-*b*-PNVCL)-1 (CDCl₃) 400 MHz.



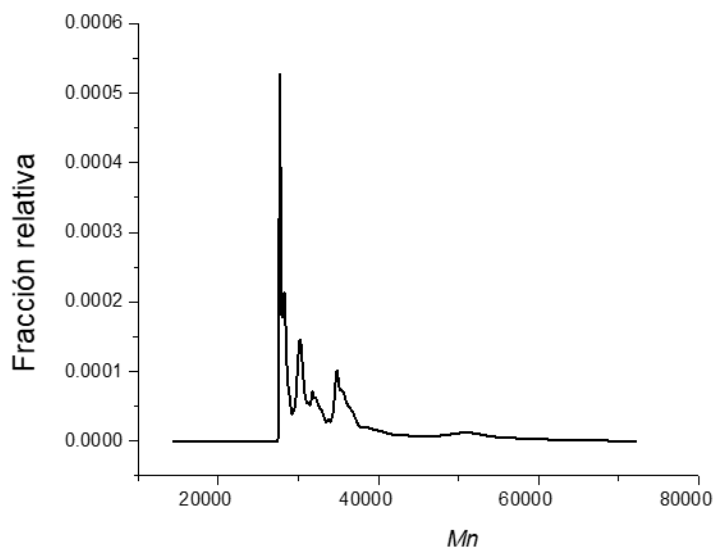
ANEXO A4.1. Termograma por TGA del copolímero (PEG-*b*-PNVCL)-1.



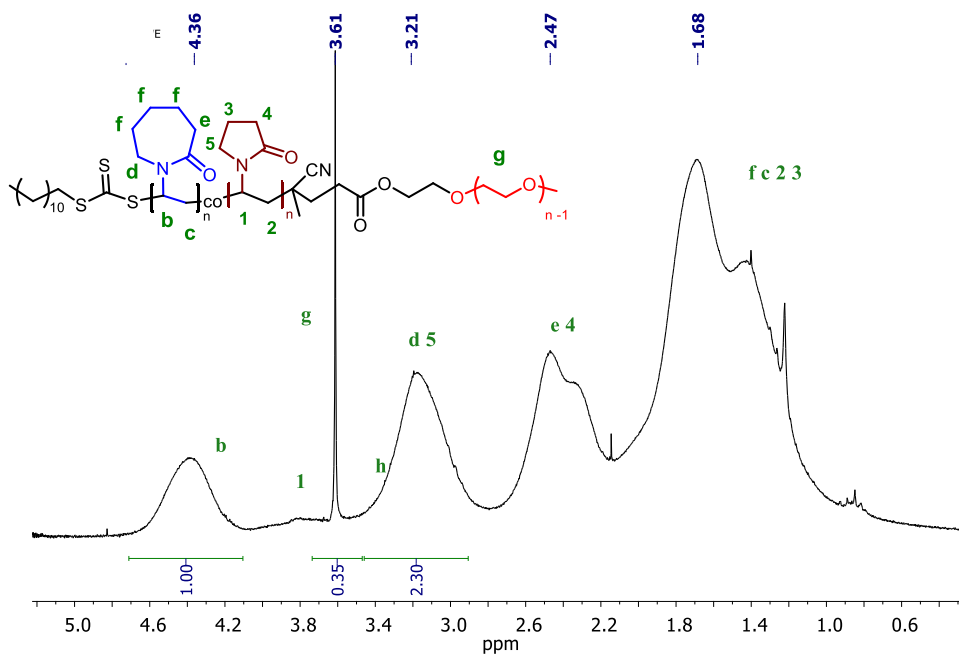
ANEXO A5.1. Distribución del peso molecular del copolímero en bloques PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP)-3.



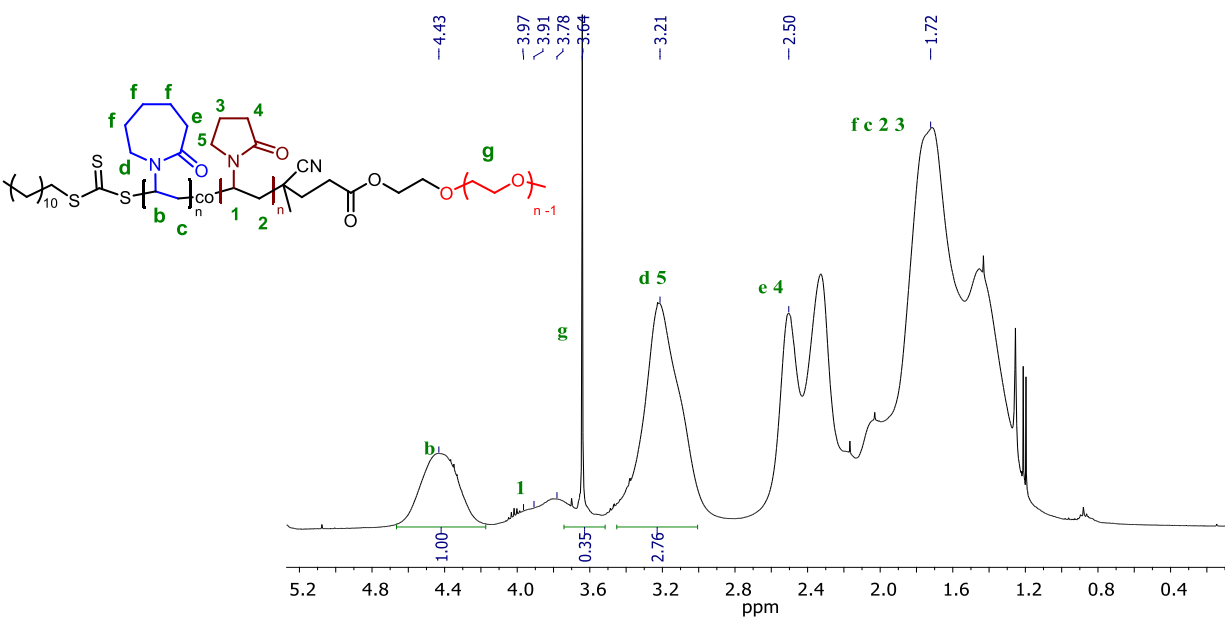
ANEXO A5.2. Distribución del peso molecular del copolímero en bloques PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP)-4.



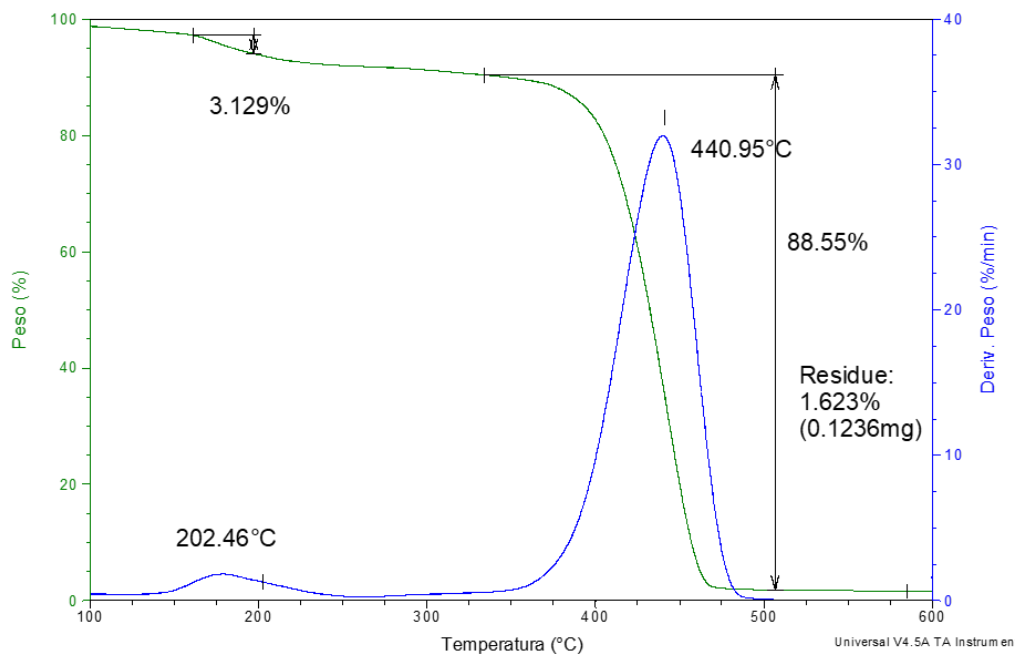
ANEXO A5.3. Distribución del peso molecular del copolímero en bloques PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP)-5.



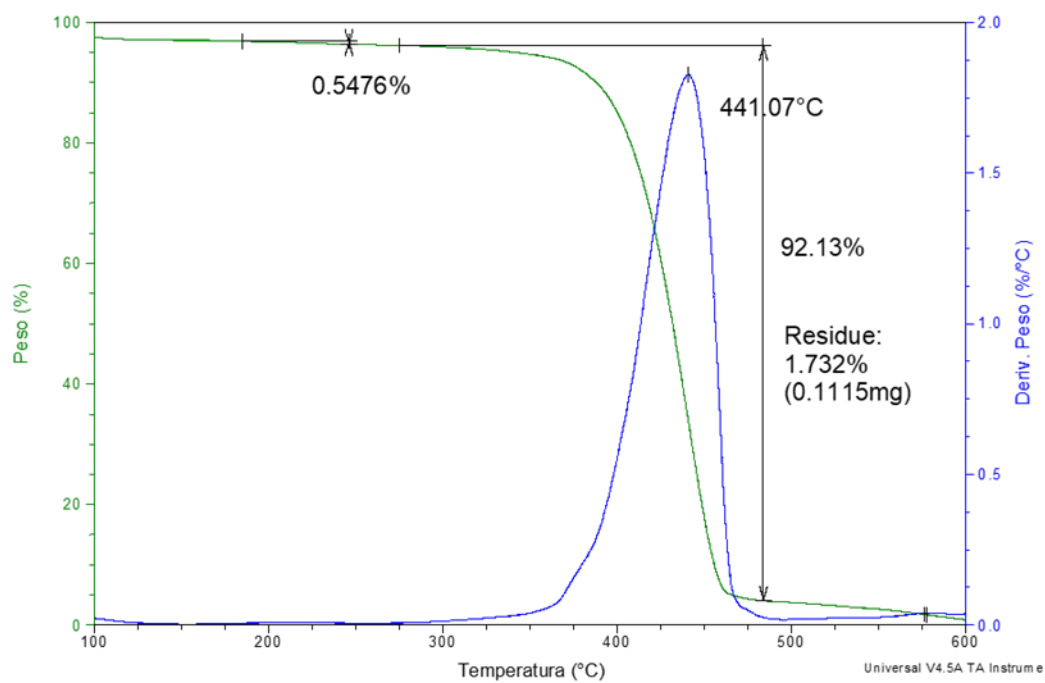
ANEXO A6.1. Termograma por TGA del copolímero PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP)-3.



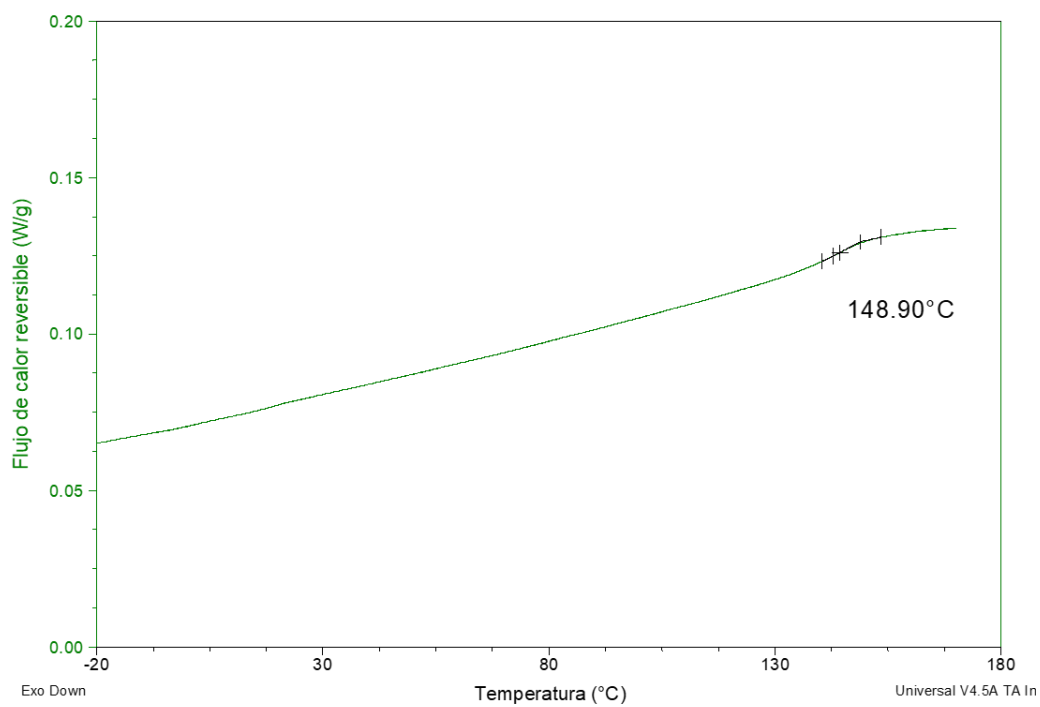
ANEXO A6.2. Espectro de RMN-¹H de copolímero PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP)-5 (CDCl₃) 400 MHz.



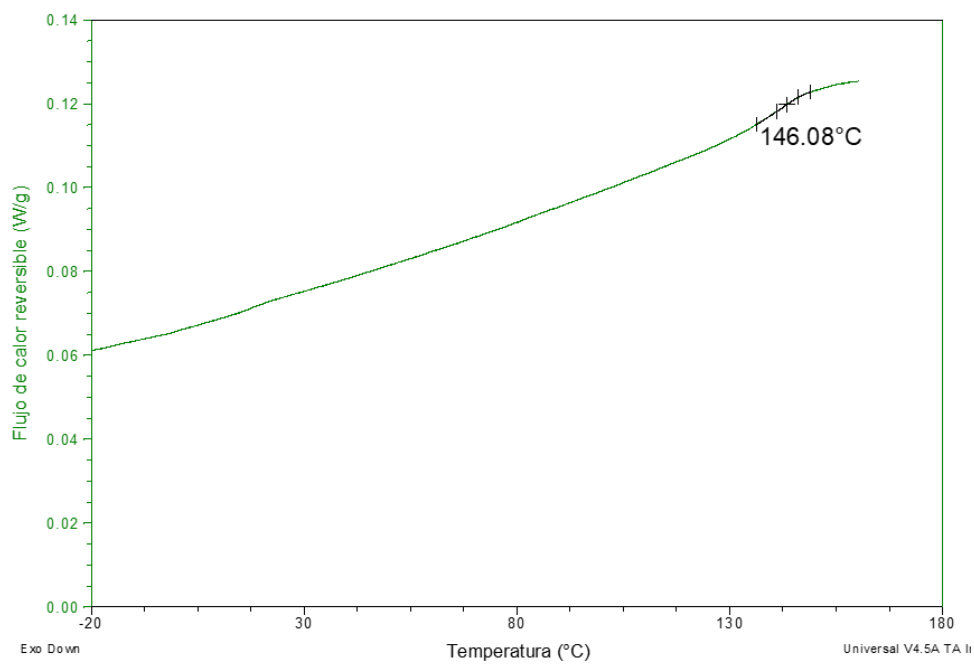
ANEXO A7.1. Termograma por TGA del copolímero PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP)-3.



ANEXO A7.2. Termograma por TGA del copolímero PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP)-5.



ANEXO A8.1. Termograma por TGA del copolímero PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP)-3.



ANEXO A8.2. Termograma por TGA del copolímero PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP)-5.

M_n polímero= 30,520 g/mol

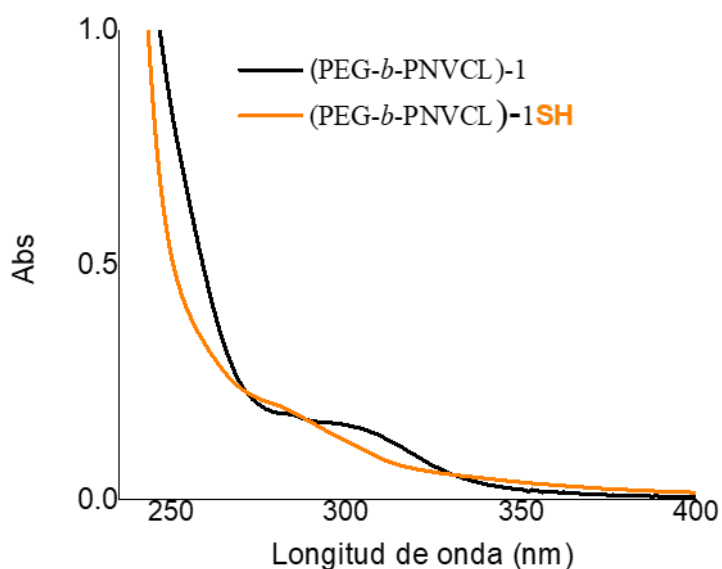
Abs por UV-visble del copolimero a una concentración de 3 mg/mL en etanol= 0.22

$$\text{Concentración molar} = \frac{0.003 \text{ g/mL}}{30,520 \text{ g/mol}} = 9.829 \times 10^{-8} \text{ mol/mL} = 9.829 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$$

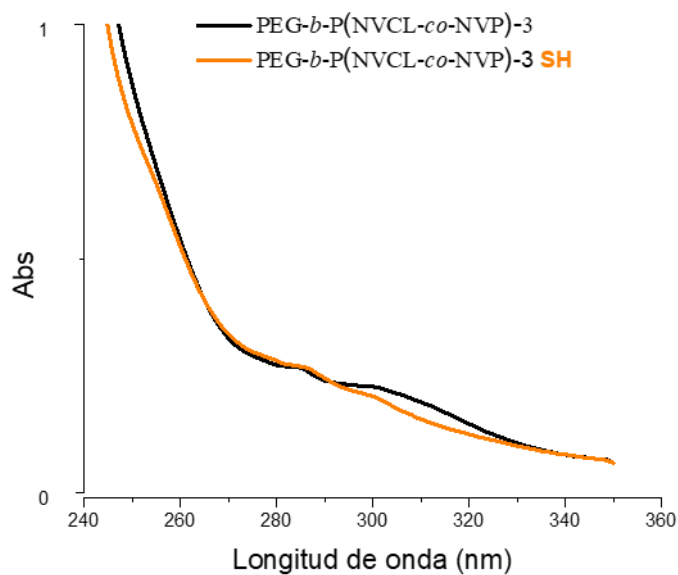
Se busca en la curva de calibración del CTA la Abs de 0.22 y se obtiene la concentración molar de $4.797 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$

$$\text{Dividiendo } \frac{4.215 \times 10^{-5} \text{ mol/L}}{9.829 \times 10^{-5} \text{ mol/L}} = 0.42 \times 100 = 42\%$$

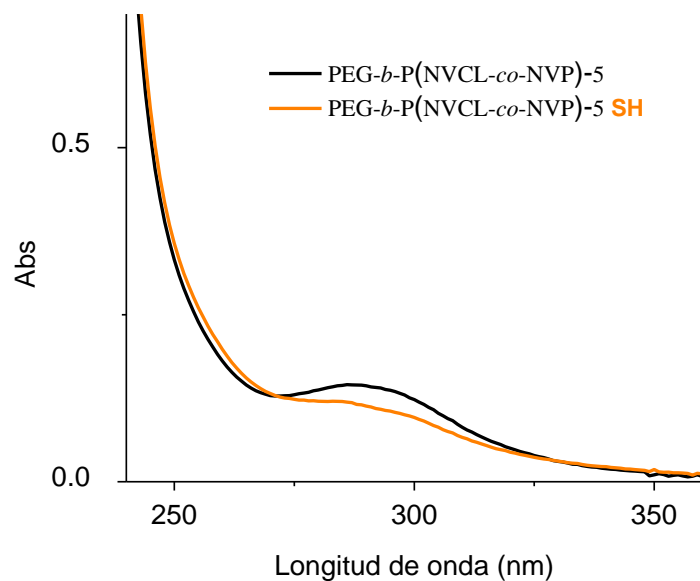
ANEXO A9.1. Cálculos para determinar el grado de fidelidad de los copolímeros en bloques.



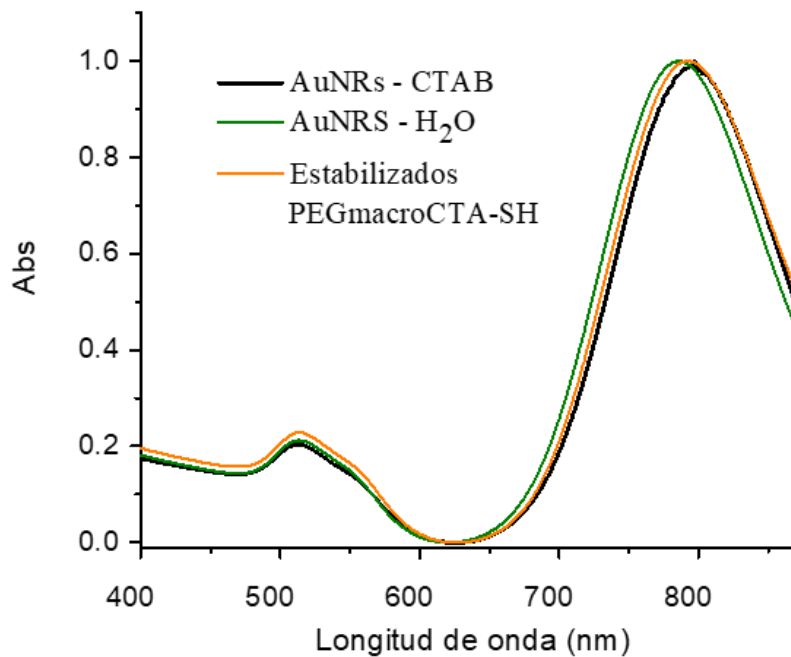
ANEXO A10.1. Reducción del grupo terminal tritiocarbonato del copolímero (PEG-b-PNVCL)-1 a tiol.



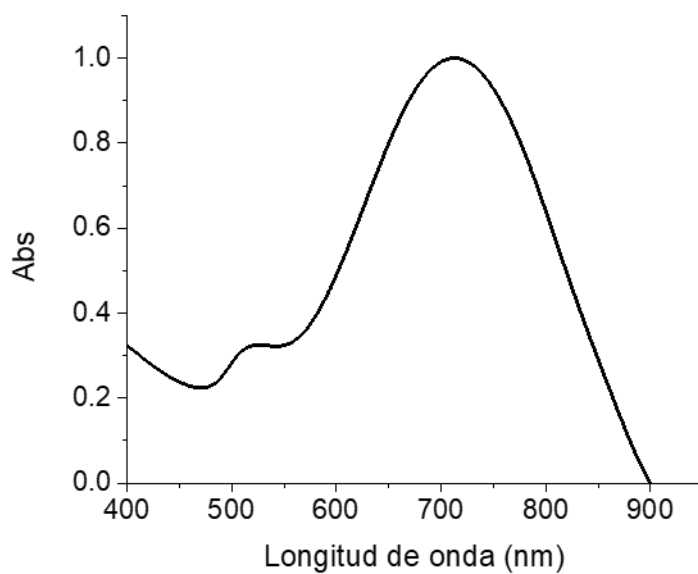
ANEXO A10.2. Reducción del grupo terminal tritiocarbonato del copolímero PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP)-3 a tiol.



ANEXO A10.3. Reducción del grupo terminal tritiocarbonato del copolímero PEG-*b*-P(NVCL-*co*-NVP)-5 a tiol.



ANEXO A11.1. Estabilización de AuNRs con macro-CTA PEG M_n 5000 g/mol con grupo terminal tiol.



ANEXO A10.2. Banda de absorción ancha de la LSPR cercana a los 800 nm de AuNTPs.