

SEP

SES

TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO



Instituto Tecnológico de Tijuana

Centro de Graduados e Investigación en Química

**“NUEVOS ENFOQUES EN EL DESARROLLO DE NANOPARTÍCULAS
MAGNÉTICAS FLUORESCENTES PARA APLICACIONES BIOMÉDICAS Y
AMBIENTALES”**

Trabajo de Tesis

Presentado por

M.C. Arturo Iván Pavón Hernández

Para obtener el grado de

Doctor en Ciencias en Química

Directora de tesis

Dra. Georgina Esther Pina Luis

Codirector de tesis

Dr. Manuel Alatorre Meda

Tijuana, B.C.

Junio 2020

HOJA DE APROBACIÓN



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico de Tijuana

Tijuana, Baja California,

28/septiembre/2021

OFICIO No. 089/DEPI/2021

Asunto: Autorización de Impresión de Tesis

MARIBEL GUERRERO LUIS
JEFA DEL DEPARTAMENTO DE SERVICIOS ESCOLARES
PRESENTE

En lo referente al trabajo de tesis, "Nuevos enfoques en el desarrollo de nanopartículas magnéticas fluorescentes para aplicaciones biomédicas y ambientales". Presentado por C. **Arturo Iván Pavón Hernández**, alumno del Doctorado en Ciencias en Química con número de control **D08211522**; 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 envío un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E

*Excelencia en Educación Tecnológica.
Por una juventud integrada al desarrollo de México.*



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

ccp. Archivo
GHE/lap



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

"2019, Año del Caudillo del Sur, Emiliano Zapata"

Tijuana, B.C., 09/julio/2020
Oficio No. 087/CG/2020

Asunto: Se autoriza impresión de trabajo de tesis

C. YAZMÍN MALDONADO ROBLES
JEFA DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
PRESENTE

Los que suscriben tienen a bien informar que el manuscrito de tesis titulado "Nuevos enfoques en el desarrollo de nanopartículas magnéticas fluorescentes para aplicaciones biomédicas y ambientales", presentado por el C. Arturo Iván Pavón Hernández, (con número de control D08211522), cumple con los requisitos de calidad y formato para tesis de Doctorado en Ciencias en Química. Por consiguiente se aprueba y autoriza al interesado para que proceda a la impresión del mismo.

ATENTAMENTE

GEORGINA ESTHER PINA LUIS
Presidenta

MANUEL ALATORRE MEDA
Secretario del Jurado

IGNACIO ALFREDO RIVERO ESPEJEL
1er. Vocal del Jurado

MERCEDES TERESITA OROPEZA GUZMÁN
2do. Vocal del Jurado

AMELIA OLIVAS SARABIA
3er. Vocal del Jurado

C.p. Oficina de Titulación
C.p. Expediente
C.p. Interesado
GEPL/MAM/IARE/MTOG/AOS/enmv





TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico de Tijuana

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TIJUANA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

CARTA DE CESIÓN DE DERECHOS

En la ciudad de Tijuana, B.C. del 09 de diciembre del 2020, el C. Arturo Iván Pavón Hernández, alumno del Programa de Doctorado en Ciencias en Química con número de control D08211522, manifiesta que es autor intelectual del presente trabajo de tesis bajo la dirección de Dra. Georgina Esther Pina Luis y ceden los derechos del trabajo titulado "Nuevos enfoques en el desarrollo de nanopartículas magnéticas fluorescentes para aplicaciones biomédicas y ambientales" 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: gpinaluis@tectijuana.mx Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

Arturo Iván Pavón Hernández



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



CONTENIDO

HOJA DE APROBACIÓN	II
CONTENIDO	V
LISTA DE ABREVIATURAS	XI
LISTA DE ESQUEMAS.....	XIV
LISTA DE FIGURAS	XV
LISTA DE TABLAS	XXII
AGRADECIMIENTOS.....	XXIII
RECONOCIMIENTOS INSTITUCIONALES	XXIV
VITA Y ÁREAS DE ESTUDIO	XXV
RESUMEN.....	XXVIII
ABSTRACT.....	XXX
PUBLICACIONES.....	XXXII
I. INTRODUCCIÓN	1
II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	4
2.1 JUSTIFICACIÓN	4
2.2 OBJETIVO GENERAL	4
2.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4

III.	TEORÍA GENERAL Y ANTECEDENTES	6
3.1	MAGNETISMO	6
3.1.1	Momento magnético	6
3.1.2	Permeabilidad magnética	6
3.1.3	Ciclo de histéresis.....	7
3.2	TIPOS DE MAGNETISMO	8
3.2.1	Diamagnetismo	8
3.2.2	Paramagnetismo.....	9
3.2.3	Ferromagnetismo.....	9
3.2.4	Nanomagnetismo.....	10
3.3	NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS	11
3.3.1	Síntesis de nanopartículas magnéticas	13
3.3.2	Síntesis por coprecipitación de nanopartículas magnéticas de Fe ₃ O ₄	15
3.3.3	Modificación superficial de nanopartículas magnéticas	16
3.3.3.1	Modificación superficial de nanopartículas magnéticas con silicio.....	17
3.3.3.2	Modificación superficial de nanopartículas magnéticas con quitosano.....	18
3.4	NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS COMO PLATAFORMAS TERAGNÓSTICAS ...	18
3.5	PUNTOS CUÁNTICOS DE CdTe Y SU APLICACIÓN EN ENTORNOS BIOLÓGICOS	21

3.6	NANOPARTÍCULAS MAGNETICAS FLUORESCENTES.....	24
3.6.1	Síntesis de nanopartículas magnéticas fluorescentes	25
3.6.1.1	Nanopartículas magnéticas fluorescentes basadas en una estructura núcleo-coraza	26
3.6.1.2	Nanopartículas magnéticas fluorescentes basadas en una matriz polimérica o sílice	28
3.6.1.3	Nanopartículas magnéticas fluorescentes basada en una síntesis covalente	29
IV.	EXPERIMENTAL	31
4.1	GENERALIDADES.....	31
4.1.1	Materiales reactivos y solventes	31
4.1.2	Instrumentos	31
4.2	ETAPAS EXPERIMENTALES	33
4.2.1	Síntesis de nanopartículas magnéticas	34
4.2.2	Síntesis de nanopartículas magnéticas funcionalizadas con aminoácidos.....	35
4.2.3	Síntesis de puntos cuánticos de CdTe.....	36
4.2.4	Evaluación del proceso FRET por fluorescencia	36
4.2.5	Sensor radiométrico basado en FRET para el reconocimiento de iones Cu ²⁺	37
4.2.6	Síntesis de nanopartículas magnéticas fluorescentes	38

4.2.7	Incorporación de materiales biocompatibles por el método de capa por capa	39
4.2.7.1	Incorporación de polímeros biocompatibles	39
4.2.7.2	Incorporación de doxorubicina y ácido fólico en nanopartículas magnéticas fluorescentes	40
V.	RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	41
5.1	SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS	41
5.1.1	Caracterización por microscopia electrónica de transmisión	41
5.1.2	Caracterización por difracción de rayos X	42
5.1.3	Caracterización por espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier de nanopartículas magnéticas de Fe ₃ O ₄	43
5.1.4	Caracterización por análisis termogravimétrico	44
5.2	MODIFICACIÓN SUPERFICIAL DE NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS CON AMINOÁCIDOS.....	45
5.2.1	Caracterización por microscopia electrónica de transmisión y microscopia electrónica de barrido por emisión de campo.	45
5.2.2	Caracterización por espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier de nanopartículas magnéticas modificadas con aminoácidos.....	47
5.2.2	Caracterización por potencial Z	52
5.2.3	Caracterización por magnetometría de muestra vibracional	54
5.3	CARACTERIZACIÓN DE PUNTOS CUÁNTICOS	56

5.3.1	Caracterización por microscopia electrónica de transmisión	56
5.3.2	Caracterización por difracción de rayos X	57
5.3.3	Caracterización por UV Visible y fluorescencia.....	58
5.3.4	Caracterización por espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier	60
5.4	SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS FLUORESCENTES	61
5.4.1	Caracterización por espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier	63
5.4.2	Caracterización por microscopia electrónica de transmisión	64
5.4.3	Caracterización por difracción de rayos X	66
5.4.4	Caracterización por magnetometría de muestra vibracional	68
5.4.5	Caracterización óptica mediante espectroscopia de fluorescencia molecular y epifluorescencia.....	69
5.4.6	Evaluación de los conjugados triptófano y puntos cuánticos como sensor radiométrico basado en la transferencia de energía resonante de Förster.....	76
5.4.6.1	Estudio del proceso FRET entre Trp y puntos cuánticos de CdTe/AM	76
5.4.6.2	Sistema FRET para el reconocimiento y detección de iones metálicos	82
5.5	INCORPORACIÓN DE MATERIALES BIOCOMPATIBLES POR EL MÉTODO DE CAPA POR CAPA.....	86

5.5.1	Incorporación de ácido fólico en nanopartículas magnéticas fluorescentes modificadas con materiales biocompatibles	96
5.5.1.1	Caracterización por potencial Z	97
5.5.1.2	Caracterización por microscopia electrónica de barrido por emisión de campo	99
5.6	ESTUDIO DE ENCAPSULACIÓN DE DOXORRUBICINA EN NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS FLUORESCENTES.....	101
5.6.1	Caracterización por espectroscopia de UV-Visible y de fluorescencia.....	101
5.6.2	Encapsulación de doxorubicina en nanopartículas magnéticas fluorescentes.....	105
5.7	NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS FLUORESCENTES PARA APLICACIÓN BIOMÉDICA	108
5.7.1	Cinética de liberación de doxorubicina	113
VI.	CONCLUSIONES	114
VII.	REFERENCIAS	116

LISTA DE ABREVIATURAS

AA	Aminoácido
Alg	Alginato de sodio
AMP	3- ácido mercapto-propiónico
Arg	Arginina
Dadmac	Poli (cloruro de dimetil amonio)
Dox	Doxorrubicina
DRX	Difracción de rayos x
DTG	Análisis térmico diferencial
EDS	Espectroscopia de energía dispersiva
FA	Ácido fólico
FE SEM	Microscopia electrónica de barrido
Fe₃O₄@AA	Nanopartículas magnéticas modificadas con aminoácido
Fe₃O₄@Arg	Nanopartículas magnéticas modificadas con arginina
Fe₃O₄@Gly	Nanopartículas magnéticas modificadas con glicina
Fe₃O₄@Lys	Nanopartículas magnéticas modificadas con lisina
Fe₃O₄@Phe	Nanopartículas magnéticas modificadas con fenilalanina

Fe₃O₄@Trp	Nanopartículas magnéticas modificadas con triptófano
Fe₃O₄@Tyr	Nanopartículas magnéticas modificadas con tirosina
FRET	Transferencia de energía resonante de Förster
FT-IR	Espectroscopia de Infrarrojo por Transformada de Fourier
Gly	Glicina
Hc	Campo coercitivo
I.F.	Intensidad de fluorescencia
Lys	Lisina
M	Molar
Mr	Magnetización remanente
Ms	Magnetización de saturación
nm	Nanómetro
NPMs	Nanopartículas magnéticas
NPMsF	Nanopartículas magnéticas fluorescentes
NPs	Nanopartículas
Phe	Fenilalanina
QDs	Puntos cuánticos

TEM	Microscopia electrónica de transmisión
TGA	Análisis termogravimétrico
Trp	Triptófano
Tyr	Tirosina
UV-Vis	Ultravioleta visible
VSM	Magnetometría de muestra vibracional

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Metodología experimental.	33
Esquema 2. Ruta de síntesis por coprecipitación.....	34
Esquema 3. Ruta de síntesis para la modificación de nanopartículas magnéticas con los respectivos aminoácidos.....	35
Esquema 4. Ruta de síntesis para la incorporación de puntos cuánticos en nanopartículas magnéticas.....	38

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Parámetros importantes de una curva de histéresis magnética. Se esquematizan la magnetización de saturación (M_s), la magnetización remanente (M_r) y el campo coercitivo (H_c).	7
Figura 2. a) Configuración dipolar atómica para un material diamagnético con y sin campo aplicado, b) configuración de dipolos atómicos con y sin campo aplicado para un material paramagnético.	9
Figura 3. Relación de tamaño-coercitividad a medida que disminuyen las partículas.	11
Figura 4. Nanopartículas magnéticas multifuncionales.	12
Figura 5. Estructura cristalina espinela inversa de magnetita.....	13
Figura 6. Características para considerar en NPs teragnósticas.....	20
Figura 7. a) Imagen TEM, b) histograma y c) EDS de NPMs de Fe_3O_4	41
Figura 8. a) Patrón de difracción de Rayos-X estándar de magnetita (Fe_3O_4) y b) NPMs de Fe_3O_4	42
Figura 9. Espectro de FT-IR de nanopartículas magnéticas.	43
Figura 10. Análisis termogravimétrico de NPMs de Fe_3O_4	44
Figura 11. Imágenes TEM en resolución alta de a) Fe_3O_4 b) $Fe_3O_4@Trp$ c) $Fe_3O_4@Tyr$ y d) $Fe_3O_4@Phe$	45
Figura 12. Imágenes FESEM de a) $Fe_3O_4@Arg$, b) $Fe_3O_4@Lys$ y c) $Fe_3O_4@Gly$. ..	46
Figura 13. Espectros de infrarrojo de a) Fe_3O_4 , b) $Fe_3O_4@Arg$, c) $Fe_3O_4@Lys$, d) $Fe_3O_4@Gly$, e) $Fe_3O_4@Trp$, f) $Fe_3O_4@Tyr$, g) $Fe_3O_4@Phe$	47

Figura 14. Coordinación monodentada entre átomos de Fe de la magnetita frente al grupo carboxilato del aminoácido.....	49
Figura 15. a) y b) Análisis termogravimétrico (TGA) de nanopartículas de Fe ₃ O ₄ y de Fe ₃ O ₄ @AA, c) y d) análisis térmico diferencial de nanopartículas de Fe ₃ O ₄ y de Fe ₃ O ₄ @AA.....	50
Figura 16. Valores de potencial Z de NPMs de Fe ₃ O ₄ y Fe ₃ O ₄ @AA.....	53
Figura 17. Curvas de magnetización de NPMs de a) Fe ₃ O ₄ , b) Fe ₃ O ₄ @Phe, c) Fe ₃ O ₄ @Trp y d) Fe ₃ O ₄ @Tyr.	54
Figura 18. Caracterización de QDs de CdTe@AMP: a) Imagen TEM en campo claro, b) histograma de distribución de tamaño y d) espectro de EDS.....	56
Figura 19. Patrón de difracción de rayos-X de: a) estándar de CdTe y b) QDs de CdTe.	57
Figura 20. Espectros de UV-Visible y de fluorescencia de QDs de CdTe.	58
Figura 21. Espectros de FT-IR de: a) QDs de CdTe@AMP y b) AMP.	60
Figura 22. Mecanismo de reacción de forma generalizada para la bioconjugación de QDs en Fe ₃ O ₄ @Arg.	62
Figura 23. Espectros de FT-IR de nanopartículas magnéticas fluorescentes de: a) Fe ₃ O ₄ @Arg@QDs, b) Fe ₃ O ₄ @Lys@QDs, c) Fe ₃ O ₄ @Gly@QDs, d) Fe ₃ O ₄ @Trp@QDs, e) Fe ₃ O ₄ @Tyr@QDs y f) Fe ₃ O ₄ @Phe@QDs.....	63
Figura 24. a) Imágenes TEM de las NPMsF de Fe ₃ O ₄ @Trp@QDs, b) histograma de distribución de tamaño y c) mapeo elemental por EDS.....	64
Figura 25. Imágenes TEM de Fe ₃ O ₄ @Arg@QDs: a) en modo campo claro y b) en modo contraste Z.	66

Figura 26. Patrón de DRX de a) Fe_3O_4 , b) QDs y c) $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Arg}@ \text{QDs}$	67
Figura 27. VSM de a) Fe_3O_4 , b) $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Trp}$ y c) $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Trp}@ \text{QDs}$	68
Figura 28. Espectros de fluorescencia de nanocompositos de $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{AA}@ \text{QDs}$...	69
Figura 29. NPMs fluorescentes: a) bajo luz ambiental, b) bajo luz UV y c) bajo luz UV en presencia de un magneto externo.	70
Figura 30. Fotomicrografías de $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Arg}@ \text{QDs}$: a) Campo claro, b) canal de emisión roja de fluorescencia y c) intercalado de imágenes de (a) y (b).	71
Figura 31. Fotomicrografías de: a) $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Lys}@ \text{QDs}$ y b) $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Gly}@ \text{QDs}$	72
Figura 32. Espectro de fluorescencia de $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Trp}$ excitado a 295 nm (negro), nanocomposito $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Trp}@ \text{CdTe QDs}$, excitado a 295 nm (rojo) y excitado a 460 nm (azul).	73
Figura 33. Emisión de luz de $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Trp}@ \text{QDs}$ bajo microscopia de fluorescencia. a) Campo claro, b) canal de fluorescencia (emisión en rojo) y c) traslape de ambos canales (campo claro y de fluorescencia).	74
Figura 34. Emisión de luz de $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Trp}@ \text{QDs}$ bajo microscopía de fluorescencia. Imágenes del nanocomposito $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Trp}@ \text{QDs}$ en contacto con pétalos de flores blancas (arriba d-f, escala 25 μm , abajo, g-i 100 μm). Las imágenes d-f corresponden al control (agua).	75
Figura 35. Área de solapamiento de la banda de absorción de los QDs frente a la banda de emisión del Trp.	76
Figura 36. Titulación FRET de Trp con QDs de $\text{CdTe}@ \text{AMP}$	77
Figura 37. Titulación de Trp frente a QDs de $\text{CdTe}@ \text{AMP}$ bajo luz UV.	78

Figura 38. Gráficos de intensidad de fluorescencia relativa contra la relación [Trp]/[QDs].....	80
Figura 38. Gráficos de la Ecuación de Stern-Volmer.....	81
Figura 41. Espectros de fluorescencia del sensor radiométrico Trp-QDs adicionando concentraciones diferentes de Cu^{2+} : a) señal de referencia (Trp) y b) señal de informe (QDs).....	83
Figura 42. Imágenes de fluorescencia del reconocimiento de Cu^{2+} mediante el sensor radiométrico de Trp-QDs en luz UV.	84
Figura 43. Gráficos de Stern-Volmer del sensor radiométrico de Trp-QDs frente a concentraciones diferentes de Cu^{2+}	84
Figura 44. Gráfico de relación F_0/F con respecto a la concentración.....	85
Figura 45. Gráfico de Stern-Volmer modificado del sensor fluorescente radiométrico de Trp-QDs frente a concentraciones de Cu^{2+}	86
Figura 46. Método de capa por capa para la incorporación de materiales biocompatibles.	88
Figura 47. Estudio de potencial Z de las nanopartículas magnéticas fluorescentes: a) $\text{Fe}_3\text{O}_4@Arg@QDs$, b) $\text{Fe}_3\text{O}_4@Lys@QDs$ y c) $\text{Fe}_3\text{O}_4@Gly@QDs$	89
Figura 48. Estructura del nanocomposito $\text{Fe}_3\text{O}_4@Arg@QDs$	90
Figura 49. Variación del potencial Z de NPMs de Fe_3O_4 , $\text{Fe}_3\text{O}_4@AA$ y $\text{Fe}_3\text{O}_4@AA@QDs$	90
Figura 50. Poli (cloruro de dimetilamonio).	91

Figura 51. Diagramas de fase de potencial Z: I) NAQ, II) NLQ y III) NGQ. Columna A: NPMsF, Columna B: Primer capa con Polidadmac, Columna C: Segunda capa con alginato de sodio.	92
Figura 52. Incorporación de cinco capas de polimeros sobre la superficie de las NPMsF de Fe ₃ O ₄ @AA@QDs.....	94
Figura 53. Espectros de fluorescencia molecular de las NPMsF modificadas con polímeros: a) NAQ, b) NLQ y c) NGQ.	95
Figura 54. Estructura química del FA: a) pteridina, b) p-amino-benzoato y c) ácido glutámico.....	96
Figura 55. Cambios en el potencial Z por el ensamblaje de polidadmac, alginato de sodio y FA sobre las NPMsF (pH 7.4).....	97
Figura 56. Imágenes tomadas de NAQ bajo luz UV en cada etapa del método de capa por capa.	99
Figura 57. Imágenes de FE-SEM de NPMsF modificadas con FA: a) NAQBioFA, b) NLQBioFA y c) NGQBioFA.....	100
Figura 58. Mapeo elemental de las NAQ modificadas con FA.	100
Figura 59. a) Espectro en 3D de la doxorrubicina, b) mapa de contorno de longitud de onda de excitación y emisión.	101
Figura 60. Espectro de fluorescencia de doxorrubicina (λ_{em} a 591 nm).....	102
Figura 61. Espectro de UV-Vis de doxorrubicina.....	102
Figura 62. Estructura química de doxorrubicina.	103
Figura 63. Equilibrio de disociación de doxorrubicina en medio acuoso.	103

Figura 64. Interacción electrostática de doxorubicina frente a nanopartículas magnéticas.....	104
Figura 65. a) Espectros de UV Visible de doxorubicina a concentraciones diferentes y b) curva de calibración de doxorubicina.	105
Figura 66. Encapsulación de doxorubicina frente al sistema $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Lys}@\text{QDs}$ (NLQDOXA).	106
Figura 67. Espectros de UV-Vis de encapsulación de doxorubicina en los sistemas $\text{Fe}_3\text{O}_4@AA@\text{QDs-Dox}$: a) Arg, b) Lys y c) Gly.	107
Figura 68. Nanomaterial multifuncional con: propiedades ópticas, magnéticas y terapéuticas.....	109
Figura 69. Estudio de potencial Z: Efecto de la carga superficial por union electrostática de doxorubicina, Polidadmac y ácido fólico.	110
Figura 70. Espectros de fluorescencia molecular de: a) $\text{Fe}_3\text{O}_4@Arg@\text{QDs-Dox}$, b) $\text{Fe}_3\text{O}_4@Lys@\text{QDs-Dox}$ y $\text{Fe}_3\text{O}_4@Gly@\text{QDs-Dox}$	111
Figura 71. Imágenes de epifluorescencia de nanopartículas magnéticas fluorescentes de: a) y d) $\text{Fe}_3\text{O}_4@Arg@\text{QDs}$, b) y e) $\text{Fe}_3\text{O}_4@Lys@\text{QDs}$, c) y f) $\text{Fe}_3\text{O}_4@Gly@\text{QDs}$, en campo claro y canal de emisión roja, respectivamente (escala 100 μm).	112
Figura 72. Imágenes de epifluorescencia de nanopartículas magnéticas fluorescentes con doxorubicina: a) y d) $\text{Fe}_3\text{O}_4@Arg@\text{QDs-Dox}$, b) y e) $\text{Fe}_3\text{O}_4@Lys@\text{QDs-Dox}$, c) y f) $\text{Fe}_3\text{O}_4@Gly@\text{QDs-Dox}$, en campo claro y canal de emisión roja, respectivamente (escala 25 μm).....	112

Figura 73. Estudio de liberación de fármaco de doxorubicina por UV-Visible de: a) $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Arg}@Q\text{Ds-Dox-Dadmac-FA}$, b) $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Lys}@Q\text{Ds-Dox-Dadmac-FA}$ y c) $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Gly}@Q\text{Ds-Dox-Dadmac-FA}$ 113

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Ventajas y desventajas de los métodos de síntesis de NPMs.	14
Tabla 2. Efecto del tamaño de las NPMs de Fe ₃ O ₄ modificadas con AA.....	46
Tabla 3. Modos de coordinación exhibidos por el ligando carboxilato y un metal.....	48
Tabla 4. Datos teóricos de QDs obtenidos de las regresiones de Peng y colaboradores.	59
Tabla 5. Incremento del tamaño de partícula derivado de las modificaciones superficiales en la nanopartícula magnética.....	65
Tabla 6. Parámetros FRET de los conjugados Trp-QDs.....	79
Tabla 7. Resumen de nanomateriales sintetizados por etapas.....	87
Tabla 8. Valores de potencial Z en cada etapa de recubrimiento.	94
Tabla 9. Valores de potencial Z en cada etapa del método de capa por capa.	98
Tabla 10. Resumen de réplicas de encapsulación de fármaco en sistemas Fe ₃ O ₄ @AA@QDs.	108
Tabla 11. Resumen de valores de potencial Z de los sistemas teragósticos.	109

AGRADECIMIENTOS

Primero que nada, agradezco enormemente a todos mis profesores que formaron parte de mi vida estudiantil, gracias por todas las herramientas que me dieron para lograr este propósito. En especial a mi mentora la Dra. Georgina Esther Pina Luis por haberme permitido ser parte de su grupo de trabajo desde la licenciatura, maestría y finalmente el doctorado. Quiero resaltar la gran persona que es y que desde muy en el fondo le voy a extrañar mucho. A su grupo de trabajo con quienes compartí momentos muy felices, por el apoyo que me dieron en su debido tiempo. Agradecer a mi familia por el apoyo que siempre me brindaron y hasta la fecha lo siguen haciendo.

RECONOCIMIENTOS INSTITUCIONALES

El presente trabajo se desarrolló en los laboratorios del Centro de Graduados e Investigación Química del Tecnológico Nacional de México campus Tijuana, bajo la dirección de la Dra. Georgina Esther Pina Luis como directora de tesis y el Dr. Manuel Alatorre Meda como codirector de tesis.

Se agradece a la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez por la realización de los estudios de propiedades magnéticas bajo la dirección del Dr. José Trinidad Elizalde Galindo.

Se agradece al Centro de Investigación de Materiales Avanzados por la realización de los estudios de micrografías bajo la dirección del Dr. Francisco Paraguay Delgado.

Se agradece a la Universidad Autónoma de Baja California por la realización de algunos estudios por espectroscopia infrarroja bajo la dirección del Dr. Jose Manuel Cornejo.

Se agradece el apoyo brindado por el CONACyT para la realización de los estudios de Posgrado.

Así mismo, el suscrito agradece al Tecnológico Nacional de México campus Tijuana por el apoyo brindado para la realización de estos estudios.

VITA Y ÁREAS DE ESTUDIO

Datos generales

Nombre: Arturo Iván Pavón Hernández
Curp: PAHA891215HHGVRR05
RFC: PAHA891215BA4
CVU: 633320
Entidad federativa: Hidalgo
Nacionalidad: Mexicana

Grados académicos

Título: Ingeniero en Nanotecnología
Nivel de escolaridad: Licenciatura **Estatus:** Grado obtenido
Opcion de titulación: Tesis **Fecha:** 29/04/2013
Título de tesis: “Síntesis y funcionalización de nanopartículas de óxido de hierro”
País de obtención de grado: México
Nacionalidad: Mexicana

Grados académicos

Título:	Maestro en Ciencias en Química		
Nivel de escolaridad:	Maestría	Estatus:	Grado obtenido
Opcion de titulación:	Tesis	Fecha:	11/08/2016
Título de tesis:	“Obtención de nanopartículas magnéticas fluorescentes: Estudio de su toxicidad e internalización celular”		
País de obtención de grado:	México		
Nacionalidad:	Mexicana		

Publicaciones

2020	Pavón-Hernández, A. I.; Rodríguez-Velázquez, E.; Alatorre-Meda, M.; Elizalde Galindo, J. T.; Paraguay-Delgado, F.; Tirado-Guizar, A.; Pina-Luis, G. Magnetic Nanocomposite with Fluorescence Enhancement Effect Based on Amino Acid Coated-Fe ₃ O ₄ Functionalized with Quantum Dots. Mater. Chem. Phys. 2020, 251, 123082.
-------------	---

Participación en congresos y talleres

- 2019** Taller de materiales magnéticos. IV Semana académica. Arturo I. Pavón-Hernández y Georgina E. Pina-Luis. Tijuana B. C. México.
- 2018** Preparación de nanopartículas magnéticas fluorescentes y su modificación con polímeros biocompatibles. Nacional, IV Simposio Mexicano de Química Supramolecular; Arturo I. Pavón-Hernández, Antonio Tirado-Guizar, Manuel Alatorre-Meda y Georgina E. Pina-Luis. Colima, México.
- 2018** Desarrollo de nanopartículas magnéticas fluorescentes: propiedades fisicoquímicas y biocompatibilidad. XI Simposio Internacional: Investigación Química en la Frontera; Arturo I. Pavón-Hernández, Antonio Tirado-Guizar, Manuel Alatorre-Meda, Eustolia Rodríguez-Velázquez y Georgina E. Pina-Luis. Tijuana, B.C., México.
- 2018** Síntesis y caracterización de nanopartículas magnéticas fluorescentes modificados con puntos cuánticos por enlace covalente usando aminoácidos como agentes espaciadores. IV Simposio de Nanociencia y Nanotecnología. Arturo, Pavón-Hernández, Antonio, Tirado-Guizar, Manuel, Alatorre-Meda, Georgina, Pina-Luis. Ensenada, B.C., México.
- 2018** Nuevos enfoques en el desarrollo de nanopartículas magnéticas fluorescentes para la teragnóstica en células de cáncer. Programa de Seminarios del Posgrado en Ciencias en Química. Arturo I. Pavón-Hernández, Manuel Alatorre-Meda, y Georgina E. Pina-Luis. Tijuana, B.C., México.
- 2017** Nanopartículas magnéticas y sus aplicaciones en medicina. XV Escuela de verano de química. Arturo I. Pavón-Hernández, Antonio Tirado-Guizar, Manuel Alatorre-Meda y Georgina E. Pina-Luis.

RESUMEN

Nuevos enfoques en el desarrollo de nanopartículas magnéticas fluorescentes para aplicaciones biomédicas y ambientales

Por

Arturo Iván Pavón Hernández

Doctor en Ciencias en Química

Tecnológico Nacional de México, campus Tijuana B.C. 2020

Dra. Georgina Esther Pina Luis

Directora de Tesis

Dr. Manuel Alatorre Meda

Codirector de Tesis

En los últimos años, se ha tenido una gran atención en el diseño de nuevos sistemas basados en nanopartículas magnéticas fluorescentes (NPMsF) con características multifuncionales. Un aspecto muy atractivo de esta clase de nanomateriales es que pueden ser manipulados mediante un campo magnético externo y al mismo tiempo ser monitorizadas por fluorescencia. Tienen aplicación potencial en el área biomédica como plataformas multifuncionales para liberación de fármacos, marcado celular y acarreadores de fármacos. En el área biomédica son usados como sensores para el reconocimiento y detección de especies metálicas. En el presente trabajo se describe la fabricación de nanopartículas magnéticas

fluorescentes utilizando aminoácidos como agentes espaciadores, por una síntesis covalente por esterificación mediada por una carbodiimida. Primeramente, se obtienen nanopartículas modificadas con aminoácidos (AA): Triptófano (Trp), Tirosina (Tyr), Fenilalanina (Phe), Arginina (Arg), Lisina (Lys) y Glicina (Gly) bajo un método por coprecipitación en solo paso sin usar un agente espaciador. La ventaja del uso de aminoácidos se debe a la biocompatibilidad que estas presentan, y se demostró tener sitios activos para el anclaje de los puntos cuánticos (QDs) de CdTe modificados con 3-ácidomercaptopropiónico (AMP) mediante una reacción covalente. Los sistemas generados fueron NPMsF con la siguiente arquitectura $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{AA}@\text{QDs}$. Los sistemas $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Arg}@\text{QDs}$, $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Lys}@\text{QDs}$ y $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Gly}@\text{QDs}$ fueron cargados con doxorubicina, recubiertas con polímeros biocompatibles y funcionalizados con ácido fólico (FA) con posible aplicación dual para diagnóstico y tratamiento en cáncer. Para el sistema, $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Trp}@\text{QDs}$ mostró un efecto de fluorescencia mejorada debido a una Transferencia de Energía Resonante de Förster (FRET) donde el Trp funciona como un donador de energía y los QDs de $\text{CdTe}@\text{AMP}$ como aceptores de energía. Basado en estos resultados, se evaluaron los parámetros FRET del Trp y QDs de $\text{CdTe}@\text{AMP}$ y se usaron como sensores radiométricos para el reconocimiento de Cu^{2+} . Estos nanocompositos fueron caracterizados por Espectroscopia infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR), Potencial Z, Espectroscopia de fluorescencia, Espectroscopia de UV Vis, Microscopia Electrónica de Trasmisión en resolución alta (TEM), Difracción de Rayos X (DRX), Análisis termogravimétrico (TGA) y Magnetometría de Muestra Vibracional (VSM).

ABSTRACT

New approaches in the development of fluorescent magnetic nanoparticles for biomedical and environmental applications

by

Arturo Iván Pavón Hernández

Ph. D. In Chemical Sciences

Tecnológico Nacional de México, campus Tijuana B.C. 2020

Dra. Georgina Esther Pina Luis

Thesis advisor

Dr. Manuel Alatorre Meda

In recent years, great attention has been paid to the design of new systems based on fluorescent magnetic nanoparticles (NPMsF) with multifunctional characteristics. A very attractive aspect of this class of nanomaterials is that they can be manipulated by an external magnetic field and at the same time be monitored by fluorescence. They have potential application in the biomedical area as multifunctional platforms for drug delivery, cell targeting, and drug carriers. In the biomedical area, they are used as sensors for the recognition and detection of metallic species. In the present work, the manufacture of fluorescent magnetic nanoparticles using amino acids as spacing agents, by a covalent synthesis by carbodiimide-mediated esterification is described. Firstly, amino acid modified nanoparticles (AA): Tryptophan (Trp), Tyrosine

(Tyr), Phenylalanine (Phe), Arginine (Arg), Lysine (Lys) and Glycine (Gly) are obtained under a single-step coprecipitation method use a spacer. The advantage of the use of amino acids is due to their biocompatibility, and it was demonstrated to have active sites for the anchoring of quantum dots (QDs) of CdTe modified with 3-mercaptopropionic acid (AMP) by means of a covalent reaction. The systems generated were NPMsF with the following architecture $\text{Fe}_3\text{O}_4@AA@QDs$. $\text{Fe}_3\text{O}_4@Arg@QDs$, $\text{Fe}_3\text{O}_4@Lys@QDs$ y $\text{Fe}_3\text{O}_4@Gly@QDs$ systems were loaded with doxorubicin, coated with biocompatible polymers and functionalized with folic acid (FA) with possible dual application for cancer diagnosis and treatment. For the system, $\text{Fe}_3\text{O}_4@Trp@QDs$ showed an enhanced fluorescence effect due to a Förster Resonant Energy Transfer (FRET) where Trp functions as an energy donor and CdTe@AMP QDs as energy acceptors. Based on these results, the FRET parameters of Trp and QDs of CdTe @ AMP were evaluated and used as radiometric sensors for Cu^{2+} recognition. These nanocomposites were characterized by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), Z Potential, Fluorescence Spectroscopy, UV Vis Spectroscopy, High Resolution Transmission Electron Microscopy (TEM), X-ray Diffraction (DRX), Thermogravimetric Analysis (TGA) and Vibrational Sample Magnetometry (VSM).

PUBLICACIONES

Pavón-Hernández, A. I.; Rodríguez-Velázquez, E.; Alatorre-Meda, M.; Elizalde Galindo, J. T.; Paraguay-Delgado, F.; Tirado-Guizar, A.; Pina-Luis, G. Magnetic Nanocomposite with Fluorescence Enhancement Effect Based on Amino Acid Coated-Fe₃O₄ Functionalized with Quantum Dots. *Mater. Chem. Phys.* 2020, 251, 123082. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2020.123082>

I. INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, se ha dado gran importancia al desarrollo de nanopartículas multifuncionales con propiedades magnéticas y ópticas.¹ Un tipo de nanomaterial basado en este concepto son las nanopartículas magnéticas (NPMs) fluorescentes. Esta clase de nanomateriales están constituidos por algún tipo de nanopartícula magnética y puntos cuánticos (QDs) o fluoróforos orgánicos. Una de las principales ventajas es que pueden ser manipuladas mediante un campo magnético externo y al mismo tiempo ser monitorizadas por fluorescencia. Además, se resalta el efecto sinérgico de los grupos funcionales presentes y el efecto del tamaño asociado a una escala nanométrica, lo que permite tener aplicaciones potenciales en el área biomédica y ambiental.

En relación con lo anterior, son una clase de nanomateriales muy prometedoras, pero no es una tarea fácil obtenerlas, ya que hay que considerar algunos desafíos en su fabricación. Uno de los detalles principales para el diseño de estos nanocompuestos, es que envuelven etapas múltiples de síntesis y el riesgo de que el núcleo magnético o las especies involucradas apaguen al fluoróforo.²

Los métodos de síntesis más utilizados son el autoensamblaje de capa por capa (LbL), reacciones covalentes, encapsulación en una matriz de sílice o polímeros que contienen un fluoróforo, sin embargo, en la mayoría de los casos, las propiedades magnéticas y fluorescentes se ven reducidas. Es por ello por lo que se buscan nuevas alternativas para la obtención de este tipo de nanocompuestos.

En los últimos años, se ha tenido un gran interés en la obtención de nanopartículas magnéticas (NPMs) funcionalizadas directamente con aminoácidos (AA), debido a que dan estabilidad coloidal, son moléculas biocompatibles con afinidad alta a sistemas biológicos, además, proveen grupos funcionales activos para la interacción con otras moléculas.³⁻⁵ Tienen aplicación potencial en el reconocimiento y captura de bacterias, remoción de contaminantes metálicos y han sido utilizados para el tratamiento de células tumorales. Aunque hay estudios como su uso en la incorporación de moléculas o fluoróforos fluorescentes, por enlace covalente directo. No existe reportes sobre el potencial del AA como conector de otras nanopartículas para formar nanocompuestos fluorescentes.

Por otra parte, los QDs son semiconductores nanocristalinos con diámetros entre 2 y 10 nm, presentan propiedades ópticas y electrónicas únicas debido al confinamiento cuántico. A diferencia de los fluoróforos orgánicos éstas exhiben mejor estabilidad fotoquímica, rendimientos cuánticos y absorptividad molar altos. Es importante mencionar que, dependiendo del tamaño, son capaces de emitir fluorescencia a distintas longitudes de onda.⁶ Se ha demostrado que los QDs de CdTe modificados con ácido 3-mercaptopropiónico (AMP), presentan carga superficial negativa debido a que los grupos ácidos del AMP quedan expuestos en la superficie, lo que permite que tengan mejor dispersión en medios acuosos.

Además, ofrecen la posibilidad de emitir en el infrarrojo cercano permitiendo aplicaciones en el área biomédica como agentes de contraste y en el área ambiental como sensores de encendido o apagado de la fluorescencia para el reconocimiento de especies biológicas o metálicas.⁷

En este trabajo, se describe por primera vez la conjugación de QDs de CdTe modificados con AMP en la superficie de NPMs modificadas con AA mediante una reacción de amidación, obteniendo NPMsF sin usar materiales poliméricos ni precursores de sílice. Además, se diseñó como una nanopartícula multifuncional con aplicación potencial en el área ambiental como su uso en sensores para el reconocimiento de Cu^{2+} y con posible aplicación biomédica para liberación de fármaco y el reconocimiento en células de cáncer, para este último, cargando doxorubicina como agente terapéutico mediante el autoensamblaje de polímeros biocompatibles y usando como elemento de orientación el ácido fólico.

II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

2.1 Justificación

Actualmente, se tiene la necesidad de desarrollar nuevos materiales nanoestructurados multifuncionales que presenten propiedades magnéticas y ópticas para aplicaciones potenciales en el área biomédica y ambiental. De especial interés, para este propósito, es la síntesis de nanopartículas magnéticas fluorescentes capaces de manipular mediante campos magnéticos externos y de emitir señales detectables para el reconocimiento de especies biológicas o iones metálicos.

2.2 Objetivo general

El objetivo de este proyecto es desarrollar nuevos sistemas basados en nanopartículas magnéticas fluorescentes, con características multifuncionales portadoras de fármacos/agentes de contraste y conjugadas con receptores para posible aplicación en células de cáncer y su uso como sensores para aplicaciones en el área ambiental.

2.3 Objetivos específicos

- Sintetizar NPMs de Fe_3O_4 funcionalizadas con aminoácidos mediante síntesis por coprecipitación directa.
- Sintetizar QDs de CdTe modificadas con AMP.
- Sintetizar NPMs fluorescentes mediante reacciones de amidación.
- Evaluar las NPMs fluorescentes como posibles sensores para el reconocimiento de iones metálicos.

- Evaluar conjugados de QDs y Trp como sensores para el reconocimiento de Cu^{2+} .
- Estudiar métodos diferentes de conjugación del ácido fólico en nanopartículas magnéticas fluorescentes.
- Incorporar un agente terapéutico (doxorrubicina) para cáncer.
Estudiar el cargado y perfil de liberación de fármaco.
- Caracterizar en cada etapa de síntesis por espectroscopia de UV-visible, espectroscopia de infrarrojo (FT-IR), fluorescencia molecular, análisis termogravimétrico (TGA), espectroscopia de energía dispersiva (EDS) y microscopia electrónica de transmisión.
- Obtener las curvas de magnetización en cada etapa de síntesis.

III. TEORÍA GENERAL Y ANTECEDENTES

3.1 Magnetismo

El magnetismo es un fenómeno físico que presentan algunos materiales y que se caracteriza por las fuerzas de atracción o repulsión sobre otros materiales.⁸ Entre los materiales más conocidos que presentan propiedades magnéticas están el hierro, níquel, cobalto y algunas aleaciones. La manifestación más sorprendente de magnetismo en sólidos es la magnetización espontánea de materiales ferromagnéticos, tales como el hierro o magnetita. Sin embargo, los principios básicos y los mecanismos que explican el fenómeno magnético son complejos y son objeto de estudio hasta nuestros días.

3.1.1 Momento magnético

El momento angular orbital y el momento angular de espín dan origen al momento magnético el cual se define como la efectividad del campo magnético asociado a un electrón.⁹ Decir que los electrones y núcleos poseen un momento magnético, significa que en cierto modo se comportan como pequeños imanes.

3.1.2 Permeabilidad magnética

La permeabilidad magnética se define como la capacidad de un material a ser magnetizado como respuesta al campo magnético aplicado.¹⁰ Matemáticamente se expresa mediante la siguiente ecuación:

$$\mu = \frac{B}{H} \quad (1)$$

donde B representa la inducción magnética, μ representa la permeabilidad magnética absoluta del material situado en el campo y H representa la intensidad del campo magnético.

3.1.3 Ciclo de histéresis

El ciclo de histéresis es una representación gráfica de los diferentes estados por los que pasa un material ferromagnético (Figura 1). Su comportamiento depende de la permeabilidad y susceptibilidad magnética del material en cuestión. Una curva de histéresis de un material ferromagnético inicialmente describe un estado no magnetizado.¹¹ En este estado los dominios magnéticos presentan una orientación aleatoria y por lo tanto una magnetización resultante nula.

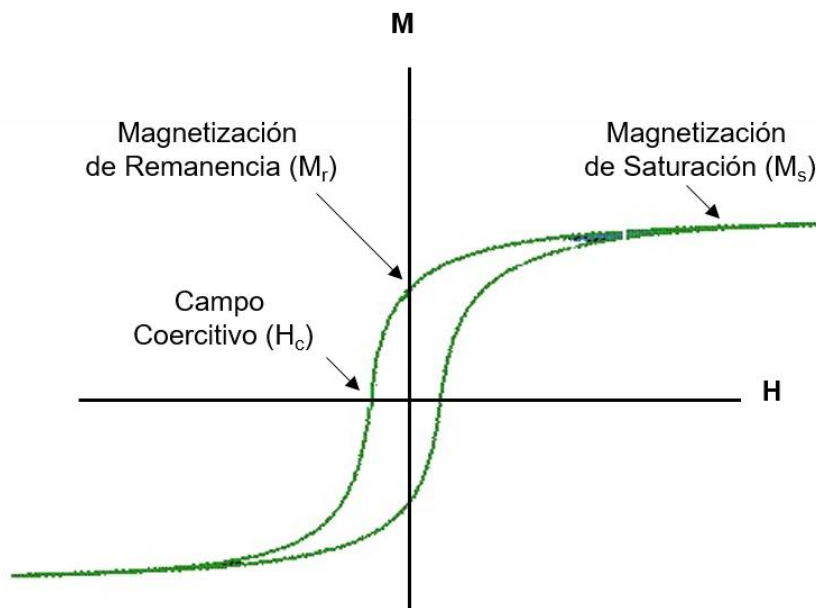


Figura 1. Parámetros importantes de una curva de histéresis magnética. Se esquematizan la magnetización de saturación (M_s), la magnetización remanente (M_r) y el campo coercitivo (H_c).

Cuando el material es sometido a un campo magnético H , los dominios magnéticos del material ferromagnético se orientan al campo inducido. Mientras mayor sea el campo, los dominios crecen y aumenta la magnetización neta. La mayor cantidad de magnetización que puede tener un material se produce cuando los dominios están orientados apropiadamente, este valor máximo de magnetización se le conoce como magnetización de saturación (M_s) (Figura 1).¹² Se le denomina magnetización remanente (M_r) cuando $H = 0$, en este punto el material ferromagnético retiene un grado considerable de magnetización. Cuando $B = 0$ presenta un valor de H_c que se denomina campo coercitivo, que es el campo opuesto necesario para desmagnetizar la muestra (Figura 1).¹²

3.2 Tipos de magnetismo

Entre los distintos tipos de magnetismo se incluyen el diamagnetismo, paramagnetismo y ferromagnetismo. Todos los materiales presentan por lo menos uno de estos tipos de magnetismo,¹³ y el comportamiento depende de la respuesta de los dipolos magnéticos atómicos y electrónicos a la aplicación de un campo magnético externo.¹⁴

3.2.1 Diamagnetismo

El diamagnetismo es una forma muy débil de magnetismo que no es permanente y persiste sólo mientras el campo externo está presente. Es inducido por un cambio en el movimiento orbital de los electrones debido al campo magnético aplicado. La magnitud del momento magnético inducido es extremadamente pequeña y en una dirección opuesta a la del campo aplicado.¹⁵ En la Figura 2a se ilustra de forma esquemática las configuraciones de los momentos magnéticos

dipolares para un material diamagnético con y sin campo magnético externo aplicado.

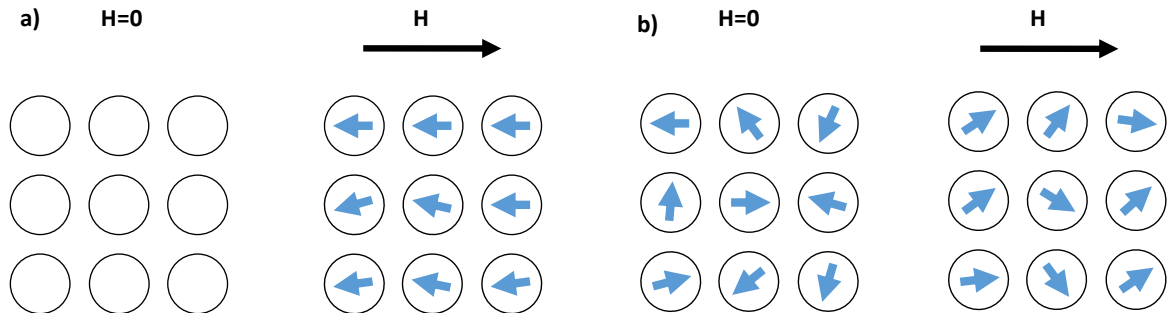


Figura 2. a) Configuración dipolar atómica para un material diamagnético con y sin campo aplicado, b) configuración de dipolos atómicos con y sin campo aplicado para un material paramagnético.

3.2.2 Paramagnetismo

En algunos materiales sólidos, cada átomo posee un momento magnético dipolar permanente en virtud de la cancelación incompleta del spin de los electrones y/o de los momentos magnéticos orbitales. En ausencia de un campo magnético aplicado, las orientaciones de estos momentos magnéticos atómicos son al azar, de tal manera que una pieza de material no posee una magnetización neta permanente.¹⁶ Estos dipolos atómicos son libres para girar y se produce paramagnetismo cuando se alinean de forma preferente a un campo externo, tal como se muestra en la Figura 2b.

3.2.3 Ferromagnetismo

Una muestra ferromagnética de dimensiones macroscópicas contiene en general un número de regiones pequeñas (denominadas dominios magnéticos) que

están magnetizadas espontáneamente, dentro de cada dominio la imanación espontánea se debe a la existencia de un campo molecular que tiende a producir una alineación paralela de los dipolos atómicos.¹⁶

3.2.4 Nanomagnetismo

Recientemente se ha suscitado un gran interés en el nanomagnetismo debido a sus propiedades y a la gama amplia de aplicaciones potenciales. El superparamagnetismo se basa en el comportamiento similar al paramagnetismo. Sin embargo, la diferencia radica en la estructura del material (dominios magnéticos), ya que los materiales superparamagnéticos presentan un régimen de monodominio por debajo de un diámetro crítico.¹⁷ Según la teoría del dominio magnético, el monodominio se ve afectado por varios factores como la saturación magnética, anisotropía cristalina y morfología de las partículas.¹³ En un material ferromagnético sus propiedades magnéticas son bien descritas en una curva de histéresis (Figura 1); los parámetros más importantes para su estudio son la remanencia y la coercitividad.¹³ Para materiales magnéticos que se encuentran en la escala nanométrica la coercitividad es la propiedad de mayor interés, debido a que es dependiente del tamaño de la partícula. A medida que se disminuye el tamaño de una partícula los dominios magnéticos se van compactando hasta llegar al régimen de un solo dominio (Figura 3). Debido a la disminución de tamaño, la coercitividad aumenta hasta un punto máximo y luego disminuye hasta cero presentándose en esta etapa el fenómeno del superparamagnetismo, el cual describiremos a continuación.

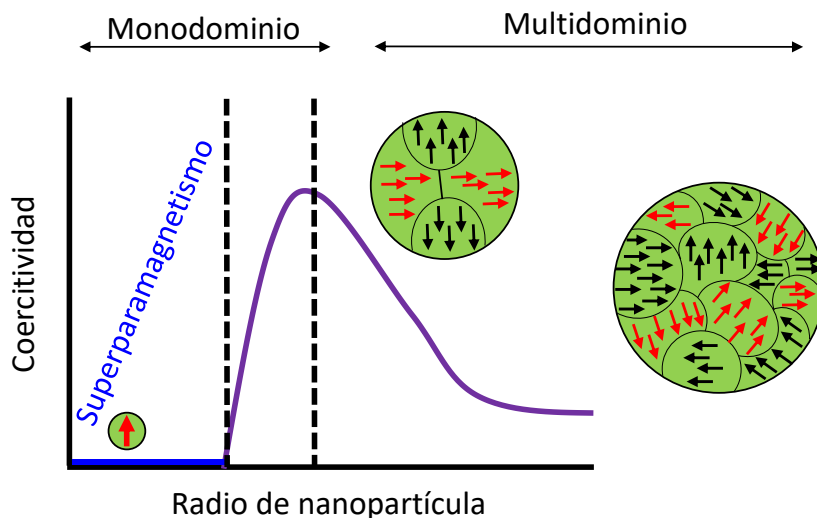


Figura 3. Relación de tamaño-coercitividad a medida que disminuyen las partículas.

3.3 Nanopartículas magnéticas

Una de las características más distintivas que presentan las nanopartículas magnéticas (NPMs) sobre otras, es que pueden ser manipuladas bajo la influencia de un campo magnético externo. Esto se debe a que presentan un tipo de magnetismo llamado superparamagnetismo. Gracias a esta característica, se tiene que las NPMs solo presentarán sus propiedades magnéticas cuando son expuestas a un campo magnético externo sin presentar magnetización remanente.

Este tipo de nanopartículas ofrecen aplicaciones atractivas en diferentes áreas de investigación como en catálisis,¹⁸ almacenamiento de datos,¹⁹ biotecnología/biomédica,²⁰ MRI²¹ y remediación ambiental.²²

Cabe mencionar, que existen varios tipos de NPMs, entre las más comunes se encuentran las de óxido de hierro, aleaciones de hierro-platino, cobalto-níquel y de óxidos de cobalto. Sin embargo, la utilización de dicho material dependerá de la

aplicación que se le desee asignar. Un aspecto importante que se considera al trabajar con las NPMs es que la superficie es muy susceptible para modificarse con moléculas orgánicas, dándoles opciones de aplicación en varias disciplinas. La modificación superficial sobre la nanopartícula magnética es muy importante en el área biomédica, debido a que estas modificaciones permiten que las nanopartículas sean compatibles con organismos vivos. Para aplicaciones biomédicas, algunos materiales que pueden ser utilizados para el recubrimiento de NPMs son receptores biológicos, corazas poliméricas, ácidos nucleicos, bicapas lipídicas, moléculas fluorescentes, entre otros. La incorporación de más de un material sobre las NPMs las hace sistemas multifuncionales (Figura 4).²²

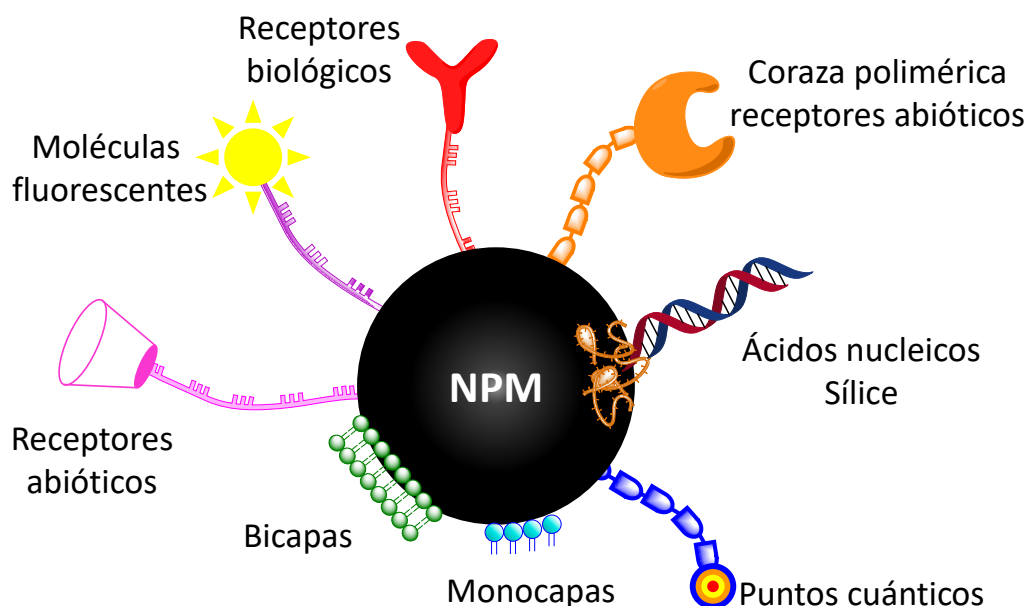


Figura 4. Nanopartículas magnéticas multifuncionales.

3.3.1 Síntesis de nanopartículas magnéticas

En las últimas décadas, se ha tenido un gran interés en la obtención de NPMs de magnetita (Fe_3O_4) ya que este tipo de materiales tienen aplicación potencial en diversas áreas de investigación. Las NPMs de Fe_3O_4 presentan una estructura cristalina de espinela inversa (Figura 5), la cual está constituida por 32 aniones de O^- (esferas rojas), 16 cationes de Fe^{3+} (esferas azules), y 8 cationes de Fe^{2+} (esferas amarillas).²³

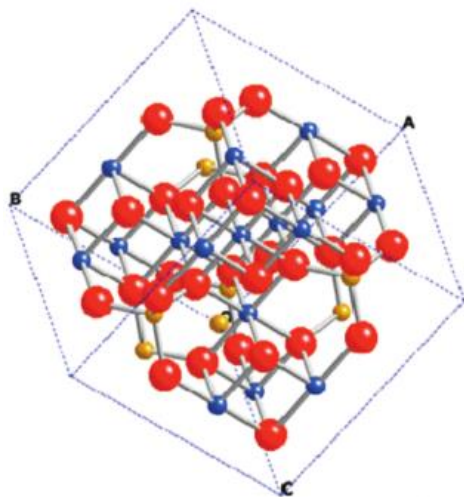


Figura 5. Estructura cristalina espinela inversa de magnetita.

La mitad de los iones Fe^{3+} se encuentran coordinados en forma tetraédrica, y la otra mitad junto con los iones Fe^{2+} se encuentran coordinados octaédricamente, generando un celda unitaria de $(\text{Fe}_8^{3+})_{tet}(\text{Fe}_8^{3+} - \text{Fe}_8^{2+})_{oct}\text{O}_{32}$.²³

Para la producción de NPMs de Fe_3O_4 , se han desarrollado una gran variedad de métodos de síntesis para la obtención de nanopartículas monodispersas. Entre los métodos de síntesis más comunes se tiene: la síntesis por microemulsión,²⁴ síntesis por descomposición térmica,²⁵ síntesis por una vía

hidrotérmica²⁶ y la síntesis por coprecipitación.²⁶ Cabe mencionar que los aspectos más importantes que se deben tomar en cuenta de los métodos de síntesis para la obtención de las NPMs son que éstos proporcionen un control de tamaño eficiente, valores de magnetización altos, distribución de partículas estrechas y estabilidad coloidal. En términos generales, en la Tabla 1 se aprecian las ventajas y desventajas que hay entre los cuatro métodos de síntesis más utilizados reportados por Lu A.-H y colaboradores en 2007.²⁷

Tabla 1. Ventajas y desventajas de los métodos de síntesis de NPMs.

Parámetros	Coprecipitación	Descomposición térmica	Microemulsión	Hidrotérmico
T (°C)	20-90	100-320	20-50	220
Tiempo	minutos	horas-días	horas	horas-días
Solvente	agua	compuestos orgánicos	compuestos orgánicos	agua-etanol
Distribución de tamaño	bueno	muy bueno	bueno	muy alto
Control de tamaño	moderado	muy alto	bueno	muy alto
Propiedades magnéticas	altas	altas	bajas	medias

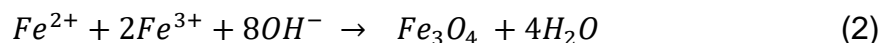
En resumen, se muestra que la síntesis por coprecipitación es la ruta más viable para la obtención de NPMs, esto se debe a la simplicidad del método ya que la reacción se lleva a cabo en cuestión de minutos, a temperaturas no mayores a los 100 °C, en medios acuosos y permite obtener propiedades magnéticas altas. Un

aspecto importante es que este método se basa en una ruta de síntesis por química verde; mientras tanto para los otros métodos de síntesis es necesario la utilización de compuestos orgánicos o en algunos casos se utilizan temperaturas elevadas.

3.3.2 Síntesis por coprecipitación de nanopartículas magnéticas de Fe₃O₄.

La síntesis por coprecipitación de Fe₃O₄ consiste en la formación de cristales mixtos en que (iones Fe²⁺/Fe³⁺) se incorporan para formar una red cristalina. Es un método de síntesis muy bien estudiado para la obtención de NPMs de Fe₃O₄ se destaca por ser versátil y sobre todo que es una síntesis por química verde, ya que no genera contaminantes para el medio ambiente.

Cabe mencionar, que la reacción de formación de la magnetita se muestra en la Ecuación 2 y ha sido discutida por Schüth, F y colaboradores.²⁸



Para que se lleve a cabo esta reacción, se debe tomar en cuenta algunas consideraciones como el tipo de sales de hierro a utilizar (nitratos, sulfatos o cloruros), la relación molar (Fe²⁺/Fe³⁺), el pH de la solución y la fuerza iónica.²⁹ Sin embargo, la magnetita tiende a oxidarse en presencia de oxígeno y se transforma en maghemita, es por ello que se recomienda burbujear con gas de nitrógeno a la solución para prevenir dicha oxidación.

Por otro lado, para llegar a la estructura de magnetita mediante esta vía de síntesis, se ha reportado por Jong-Duk Kim y colaboradores³⁰ que ésta se transforma en fases diferentes antes de llegar a su estructura iniciando por

akaganeíta, goethita, hematita, maghemita y finalmente magnetita. También, otros autores reportan que los mecanismos de reacción se pueden elucidar por oxidación u oxolación dependiendo del medio de la reacción.²⁹

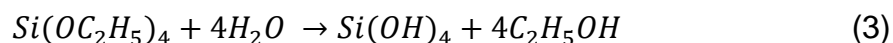
3.3.3 Modificación superficial de nanopartículas magnéticas

A pesar de que se han reportado numerosos avances en la síntesis de NPMs de Fe_3O_4 , el prevenir la oxidación y controlar su estabilidad contra la aglomeración o precipitación constituye un reto aún por resolver. Por ello, es necesario modificar la superficie de estos nanomateriales para lograr su estabilidad química. Una de las alternativas más viable es crear una capa impenetrable, la importancia de esta modificación radica en dos aspectos: una que el oxígeno no pueda alcanzar la superficie de las partículas, previniendo la oxidación y dándoles estabilidad química,²³ y la otra es que el tipo de recubrimiento seleccionado generaría sitios activos para la funcionalización de otras especies o que permita el reconocimiento de analitos de interés.

Para aplicaciones biomédicas y biológicas es necesario que el tipo de recubrimiento en NPMs de Fe_3O_4 sea biocompatible. Algunos ejemplos involucran, el uso de SiO_2 ,³¹ polietilenglicol,³² quitosano,³³ polisacáridos,³⁴ ácidos nucleicos,³⁵ albúmina de suero bovino (BSA),³⁶ celulosa³⁷ y aminoácidos.³⁸

3.3.3.1 Modificación superficial de nanopartículas magnéticas con silicio

Uno de los materiales más utilizados para la modificación superficial de las NPMs de Fe₃O₄ es el óxido de silicio (SiO₂). Se ha demostrado que este material es biocompatible e inerte sobre la superficie, evitando el contacto directo del núcleo magnético con otras especies e interacciones no deseadas.³⁹ Una de las características más importantes de la utilización de SiO₂ es que tiene una gran cantidad de grupos silanoles en su superficie, lo que permite una amplia variedad de reacciones y la unión de moléculas biológicas como antígeno-anticuerpos, péptidos, proteínas, ácidos nucleicos y proteínas. Existen tres metodologías ya reportadas para el recubrimiento de nanopartículas con sílice. El primer método se basa en el conocido proceso de Stöber,⁴⁰ en donde la sílice es formada *in situ* a través de la hidrólisis (Ecuación3) y condensación (Ecuación4) de un precursor sol-gel, tal como el TEOS (ortosilicato de tetraetilo).



El segundo método se basa en la deposición de silicio de una solución de ácido silícico.⁴¹ El tercer método se basa en un método de emulsión, en la que las micelas o micelas inversas se utilizan para confinar y controlar el recubrimiento de sílice.⁴² El espesor del recubrimiento de sílice puede ajustarse mediante la variación de la concentración de amonio y la relación de TEOS en agua. La superficie de las

NPMs recubiertas con sílice adquiere un carácter hidrófilo y se modifica fácilmente con otro grupo funcional.

3.3.3.2 Modificación superficial de nanopartículas magnéticas con quitosano

El quitosano es un biopolímero que puede ser utilizado para el recubrimiento de NPMs. Es un poli aminosacárido producido por la des acetilación de la quitina obtenida de la cáscara de camarón.⁴³ Es biodegradable, biocompatible, bioactivo y un hidrogel policationico.⁴³ Los grupos reactivos que le confieren estas propiedades son los grupos OH y NH₂. Estos grupos pueden estar involucrados en la formación de especies mediante enlaces de hidrógeno de manera intra o intermolecular.⁴⁴ Uno de los métodos más sobresalientes para la incorporación de quitosano en nanopartículas magnéticas es mediante una ruta hidrotérmica, el quitosano carboximetilado es unido por enlace covalente en la nanopartícula magnética mediante el uso de una carbodiimida.⁴⁵ Este biopolímero puede ser utilizado en diferentes áreas de investigación como la medicina, biotecnología e industria farmacéutica.

3.4 Nanopartículas magnéticas como plataformas teragnósticas

La palabra teragnóstica es un término que se define como la combinación de técnicas de diagnóstico y terapia en un solo material para el tratamiento de cáncer, y fue mencionado por primera vez por Funkhouser en el año 2002.⁴⁶ En contraste, Este tipo de materiales deben de cumplir los siguientes requisitos como son: ser selectivos hacia el tejido, tener sensibilidad a estímulos externos, suministrar un

agente terapéutico y un aspecto muy importante es que sean biodegradables/biocompatibles.⁴⁷

Basado en este concepto, las nanopartículas teragnósticas tienen como objetivo diagnosticar en tiempo real algún tipo de tumor y si este se detecta realizar la terapia de manera simultánea. Sobre la base de las consideraciones anteriores, es necesario que el tipo de nanopartícula a utilizar tenga la capacidad de ser modificada en su superficie, dotándolas con materiales biocompatibles y que generen grupos funcionales para el anclaje de elementos de orientación que permitirán la captación de las células de cáncer, así mismo definir su composición y la morfología de la nanopartícula como se muestra en la Figura 6.⁴⁸

Curiosamente un tipo de nanopartícula que cumple con estos requisitos son las NPMs, estos materiales tienen ventaja sobre otras debido a sus propiedades superparamagnéticas, lo que permite manipularlas bajo un campo magnético externo. Anteriormente, se mencionó que un material teragnóstico es aquel que presenta características de diagnosticar y realizar terapia frente a células de cáncer. Las NPMs pueden ser utilizadas con este fin, ya que con un fin de diagnóstico éstas pueden ser usadas como agentes de contraste, utilizando la resonancia magnética por imagen (MRI) o de lo contrario soportar materiales luminiscentes (puntos cuánticos o fluoróforos orgánicos) que pueden ser monitorizadas por microscopia de fluorescencia confocal. Por la parte terapéutica, las NPMs pueden ser cargadas con fármacos y llevar a cabo su liberación de forma controlada mediante hipertermia o utilizar las técnicas de fototerapia.

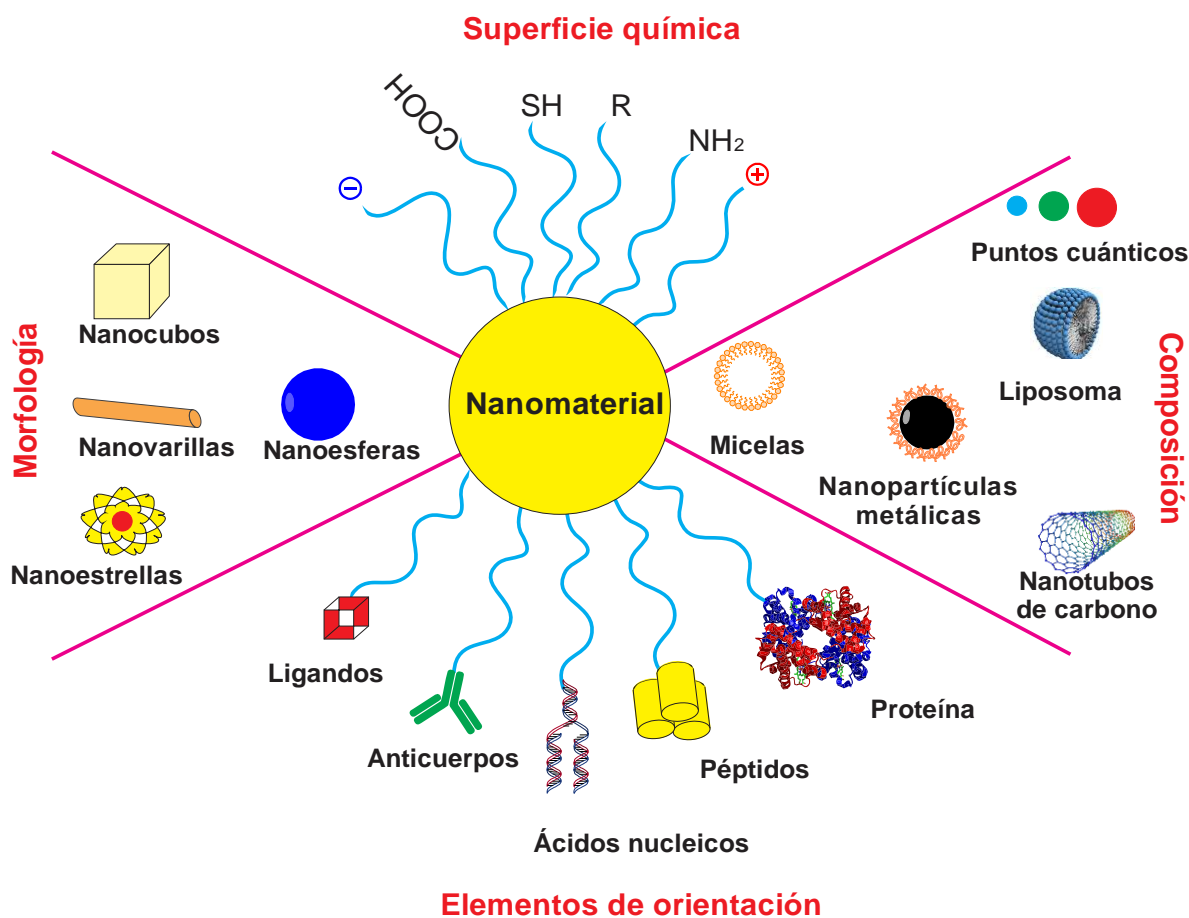


Figura 6. Características para considerar en NPs teragnósticas.

Por otra parte, se sabe que el ácido fólico tiene afinidad hacia los receptores de folato, estos son un tipo de glicoproteína que se encuentra anclado en la membrana celular. En la literatura se ha reportado que este folato tiene interacción con la glicoproteína mediante enlaces de hidrógeno,⁴⁹ y como consecuencia de esto, el ácido fólico es usado como elemento de orientación para el reconocimiento de células de cáncer. Esto se logra debido a que en una célula de cáncer se sobre expresa en mayor cantidad las glicoproteínas que en una célula sana.

Como antecedentes, Pramanik y colaboradores reportaron la síntesis de nanopartículas magnéticas fluorescentes conjugadas con ácido fólico,⁵⁰ para el

reconocimiento de células de cáncer. Los autores reportan la utilización del ácido 3-fosfonopropanoico como agente espaciador y utilizaron la fluoresceína como material luminiscente. Tanto el ácido fólico como la fluoresceína fueron anclados covalentemente mediante la utilización de una carbodiimida, la cual funciona como un agente entrecruzante, ampliamente usado para conjugar sustancias biológicas.

En las investigaciones de Hong y colaboradores reportaron la conjugación de ácido fólico en NPMs sin la incorporación de un marcador luminiscente, ya que aprovecharon las propiedades de la magnetita como agente de contraste. Las NPMs fueron modificadas con dextrano y posteriormente con ácido trifloro acético, el acoplamiento mediante enlace covalente del ácido fólico fue llevado a cabo utilizando el agente entrecruzante carbodiimida (EDC).⁵¹

3.5 Puntos cuánticos de CdTe y su aplicación en entornos biológicos

Los puntos cuánticos (QDs) son semiconductores nanoestructurados con tamaños entre 2-20 nm. Debido al confinamiento cuántico, presentan propiedades ópticas y electrónicas únicas como: bandas de emisión estrecha, fotoestabilidad, rendimientos cuánticos y coeficientes de absortividad altos; además, otro aspecto que resalta es que su emisión de fluorescencia puede ser modulada con el tamaño de la partícula.⁵²

En la literatura se han reportado una gran variedad de QDs, entre los más característicos son los de tipo binario CdS, CdSe, CdTe;⁵³⁻⁵⁵ los de tipo núcleo coraza como CdTe@CdSe y InP@ZnS^{56,57} y algunos dopados como Mn:ZnS,⁵⁸ por mencionar algunos. Dependiendo de la naturaleza de los QDs tendrán aplicación potencial en algunas áreas de investigación.

Los QDs de CdTe se han manejado ampliamente en el área biológica y médica, debido a su emisión de rojo intenso a infrarrojo cercano (NIR) en intervalos de longitudes de onda entre 650 a 900 nm. La ventaja de usar este tipo de QDs es que tienen gran profundidad de penetración en tejidos, minimizan la auto fluorescencia y tienen un contraste alto.^{59,60}

Por lo general, la obtención de QDs de CdTe se lleva a cabo por rutas de síntesis organometálicas, ya que exhiben excelentes propiedades ópticas; sin embargo, en la mayoría de los casos son procesos que involucran de especies químicas fuertes que son muy tóxicas para los ambientes fisiológicos. Una de las alternativas, es la síntesis química coloidal, ya que esta se lleva a cabo en medios acuosos y resulta conveniente debido a la naturaleza hidrofílica en las células y tejidos. Para la fabricación de QDs de CdTe se utilizan como agentes de protección, ya que se usa para prevenir la recombinación no radiactiva de electrones y huecos en los sitios de la superficie, para controlar la cinética del crecimiento de partículas y para prevenir la agregación mediante impedimento estérico.⁶¹ Los agentes de protección más utilizados son el 3-ácido mercaptopropiónico (AMP) y ácido tioglicólico y glutatión.

En términos generales, se sabe que los QDs de CdTe muestran una toxicidad alta para aplicaciones biomédicas. Sin embargo, existen alternativas para su uso en esta área de investigación. Las estrategias más utilizadas es el uso de recubrimientos de materiales biocompatibles como biopolímeros, sílice, proteínas y polisacáridos; con estas características se ha disminuido la toxicidad de los QDs.

Los QDs de CdTe tienen aplicación potencial en imagen celular, en el trabajo reportado por Jackie Y. Ying y colaboradores, describen la síntesis de QDs de CdTe estabilizados con glutatión (GSH) en solución acuosa. Demuestran la obtención de rendimientos cuánticos del 45%, similares a los QDs sintetizados por vías organometálicas, los tamaños de partícula obtenidos fueron de 4 nm. Además, debido a la reactividad de la superficie de los QDs, estas fueron conjugadas con biotina para inmunotinción y con péptidos para el reconocimiento de células vivas.⁶²

Otro estudio es el reportado por Vandana Ghormade y colaboradores, en su trabajo demuestran la biocompatibilidad de los QDs de CdTe estabilizados con MPA (CdTe@MPA), el cual fueron embebidos en nanopartículas de quitosano. El proceso de síntesis utilizado es basado en la unión electrostática. Por una parte, las nanopartículas de quitosano son de naturaleza catiónica formadas por quitosano y trifosfato de sodio, estos interaccionan con los QDs de CdTe@MPA aniónicos que los atrapa en la malla polimérica. La citocompatibilidad fue evaluada en línea celular de fibroblastos embrionarios de ratón NIH3T3 durante 24 y 48 h. Los estudios demostraron, que los CdTe@MPA embebidos en quitosano no presentaron citotoxicidad a concentraciones de 1 a 10 $\mu\text{g/mL}$.⁶³

3.6 Nanopartículas magnéticas fluorescentes

En las últimas décadas, se ha tenido un gran interés en el desarrollo de nuevos nanocompuestos con características multifuncionales capaces de tener dos o más propiedades en un solo material.⁶⁴ Las nanopartículas magnéticas fluorescentes (NPMsF) destacan bajo este concepto, debido a las propiedades magnéticas y ópticas que presentan. Por lo general, están constituidos por un núcleo magnético derivado de NPMs de óxidos de hierro o algún tipo de aleación, y de fluoróforos orgánicos o semiconductores nanocristalinos como los QDs.⁶⁵⁻⁶⁷

Una de las ventajas atractivas de las NPMsF es su uso potencial en diversas áreas de investigación que implique monitorizar y manipular al mismo tiempo.⁶⁸ Tal es el caso en el área biomédica, donde el objetivo es usarlos como sistemas de agentes de contraste y como soportes de acarreadores de fármacos para el tratamiento con células de cáncer.⁶⁹ En el área ambiental pueden ser usados como sensores para el reconocimiento y remoción de metales pesados en aguas residuales.⁷⁰ Uno de los aspectos más importantes de las NPMsF es el control del espacio entre las especies que emiten fluorescencia y las magnéticas, por lo que se busca, mantener ambas propiedades inalteradas o al menos no muy reducidas en el sistema híbrido.

3.6.1 Síntesis de nanopartículas magnéticas fluorescentes

Uno de los desafíos en la obtención de nanopartículas magnéticas fluorescentes es que envuelven etapas múltiples de síntesis. Por una parte, implica obtener nanopartículas magnéticas y por otro lado un fluoróforo orgánico o QDs. La selección de los materiales es crucial en el diseño del nanocomposito fluorescente, ya que de ello dependerá la aplicación al cual se quiera asignar. Por lo general, en cuestiones biomédicas se requiere que sean biocompatibles, que presenten una susceptibilidad magnética alta y que las propiedades fluorescentes no se vean afectadas. Los candidatos más prometedores es el uso de NPMs de Fe_3O_4 con recubrimientos biocompatibles, ya que éstos han sido aprobados por la FDA.⁵ Para la selección del fluoróforo los QDs son los materiales más adecuados, debido a sus propiedades ópticas, el cual presentan bandas de emisión estrechas, estabilidad fotoquímica, rendimientos cuánticos y coeficientes de absortividad molar altos, además, su fluorescencia no se apaga fácilmente en entornos fisiológicos y no son radioactivos a diferencia de los fluoróforos orgánicos.

La síntesis de NPMsF aún se encuentra en una etapa de desarrollo lo que implica cierta dificultad en obtenerlas. En general en la literatura se han reportado hasta ocho tipos principales de nanocompuestos magnéticos fluorescentes como: (i) los derivados de un núcleo magnético recubiertas con una coraza de sílice que contenga un componente fluorescente; (ii) NPMs recubiertas con polímeros funcionalizadas con moléculas fluorescentes; (iii) agregados iónicos que contienen un núcleo magnético y compuestos iónicos fluorescentes; (iv) NPMs recubiertas con bicapas lipídicas etiquetadas con especies fluorescentes; (v) de un núcleo

magnético enlazado covalentemente a una entidad fluorescente mediante el uso de un agente espaciador; (vi) de un núcleo magnético recubierto directamente de una coraza de semiconductor; (vii) de nanocompositos magnéticos dopados con QDs y (viii) de NPMs y QDs encapsuladas con una matriz de sílice o polímero.¹ Dada la dificultad de algunos métodos de síntesis, las estrategias más utilizadas para la obtención de estos nanocompositos magnéticos fluorescentes son aquellas que involucran el uso de una matriz de sílice o polimérica, estructuras núcleo coraza y la síntesis covalente.

3.6.1.1 Nanopartículas magnéticas fluorescentes basadas en una estructura núcleo-coraza

Una de las virtudes del uso de SiO₂ como recubrimiento en NPMs es que le confiere estabilidad y biocompatibilidad, además, que funciona como un agente espaciador entre las NPMs y los fluoróforos para evitar el abatimiento de ésta por los núcleos magnéticos. Otro punto importante, es que la coraza de SiO₂ es inerte y ópticamente transparente, lo que permite la incorporación de fluoróforos orgánicos o QDs. Además, permite la funcionalización de otras especies mediante los grupos silanoles que presenta en la superficie.

En la investigación por Daxiang Cui y colaboradores, reportan la obtención de nanocompositos magnéticos fluorescentes con una coraza de sílice funcionalizadas mediante una síntesis por microemulsión inversa a temperatura ambiente. Como es de esperar, todo el proceso implica etapas múltiples de síntesis, desde la obtención de NPMs mediante un método por coprecipitación, la obtención

de QDs de CdTe por síntesis coloidal y finalmente la síntesis por microemulsión inversa basado en la catálisis de hidrólisis de TEOS.⁷¹

Otro trabajo es el reportado por Wenhai Huang y colaboradores en el que describen la obtención de nanocompositos magnéticos luminiscentes basado en la combinación del proceso sol-gel y técnicas de autoensamblaje. Para esta metodología, las NPMs de Fe_3O_4 fueron recubiertas con sílice, formando una estructura núcleo coraza ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$), posteriormente utilizaron 3-aminopropiltrimetoxisilano para funcionalizar la superficie de las $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ con grupos amino. Finalmente, los QDs de CdSe modificados con ácido tioglicólico fueron ensamblados electrostáticamente en la superficie de las NPMs recubiertas con sílice.⁷²

Otro trabajo que involucra NPMsF es el estudio reportado por Yoon-Sik Lee y colaboradores, ellos llevaron a cabo la fabricación de QDs embebidos en una coraza de sílice que contiene un núcleo de NPMs de Fe_3O_4 . Como primera estrategia de síntesis fue la obtención de NPMs estabilizadas con PVP, posteriormente el recubrimiento con sílice fue basado en el método de Stöber con algunas modificaciones. Seguido a esto, la superficie fue funcionalizada con 3-mercaptopropiltriethoxisilano, dejando grupos -SH en la superficie para la inmovilización de los QDs de $\text{CdSe}@\text{CdS}@\text{ZnS}$, finalmente realizaron un recubrimiento con TEOS para encapsular a los QDs. Los tamaños de partícula obtenidos fueron de 100 nm. En el presente trabajo demostraron la separación de células de cáncer de mama humano MDA-MB231.⁷³

3.6.1.2 Nanopartículas magnéticas fluorescentes basadas en una matriz polimérica o sílice

Otra de las estrategias para la obtención de NPMsF es la utilización de una matriz polimérica o de sílice que encapsulen a las NPMs y QDs, donde estos están distribuidos homogéneamente en el nanocomposito. Un ejemplo de ello es el estudio reportado por Moustapha Hassan y colaboradores en 2014, en el que desarrollaron vesículas poliméricas como sistemas nanoacarreadores para imagen multimodal y liberación de fármacos anticancerígenos. El sistema está basado en el diseño de vesículas de Poli (ácido láctico-co-glicólico) que encapsulan agentes de contraste como NPMs de Fe_3O_4 , QDs de Mn:ZnS y el fármaco anticancerígeno busulfan por un método de evaporación-emulsión.⁷⁴

En el trabajo reportado por Yufang Zhu y colaboradores llevaron a cabo el diseño de nanopartículas de sílice mesoporosa magnética con QDs de grafeno como plataformas multifuncionales para la liberación controlada de fármaco, hipertermia magnética y terapia fototérmica. El diseño de su plataforma se basa en la encapsulación de NPMs de Fe_3O_4 en una matriz de sílice mesoporosa a través de un proceso sol-gel, posteriormente fue modificado con grupos amino utilizando 3-aminopropiltriethoxisilano, el cargado de doxorubicina fue adsorbido en la superficie (electrostático). Los QDs de grafeno fueron modificados con grupos hidroxilo, epoxi y carboxilo para sellar las salidas de los canales mesoporosos y evitar que se filtre la doxorubicina, estos fueron conjugados covalentemente usando carbodiimidias.⁷⁵

3.6.1.3 Nanopartículas magnéticas fluorescentes basada en una síntesis covalente

Una de las ventajas del uso de carbodiimidas como agentes reticulantes es que no se requiere de una matriz polimérica o de sílice para conjugar dos tipos de nanoestructuras. Estas tienen como función mediar la formación de enlaces amida entre grupos amino y ácidos carboxílicos, basta con que ambas nanoestructuras tengan los grupos funcionales adecuados para la conjugación.

En el trabajo reportado por Paresh Chandra Ray y colaboradores demuestran la obtención de NPMsF multifuncionales para la separación selectiva, identificación y erradicación de superbacterias resistentes a medicamentos. Las metodologías empleadas son menores en comparación a las rutas de síntesis de núcleo-coraza o en el uso de una matriz polimérica. Su proceso experimental parte de la obtención de NPMs de Fe_3O_4 funcionalizadas con ácido hexanoico empleando una síntesis por coprecipitación, cabe mencionar que los grupos ácidos quedan en la superficie de las NPMs de Fe_3O_4 disponibles para reaccionar con grupos amino. Los QDs de carbono con emisión en rojo fueron sintetizados por microondas asistida utilizando como precursor fenilendiamina, estos quedan funcionalizados con grupos amino. La obtención de las NPMsF se llevó a cabo utilizando una síntesis por esterificación mediada por 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDC).⁷⁶

Hipótesis

El desarrollo de nanopartículas magnéticas recubiertas con aminoácidos y modificadas con puntos cuánticos fluorescentes permitirá su uso como sensores de metales de interés biológico y ambiental. Su modificación con agentes terapéuticos y moléculas afines a receptores le conferirán potencialidad para su posterior aplicación en el diagnóstico y la terapia contra cáncer.

IV. EXPERIMENTAL

4.1 Generalidades

El desarrollo experimental de este proyecto se realizó en el laboratorio de nanosensores ópticos y fotoluminiscencia molecular en el Centro de Graduados e Investigación en Química del Instituto Tecnológico de Tijuana, a cargo de la Dra. Georgina Esther Pina Luis.

4.1.1 Materiales reactivos y solventes

Los materiales y reactivos utilizados fueron obtenidos de las compañías Sigma Aldrich y VWR con grado de pureza alta.

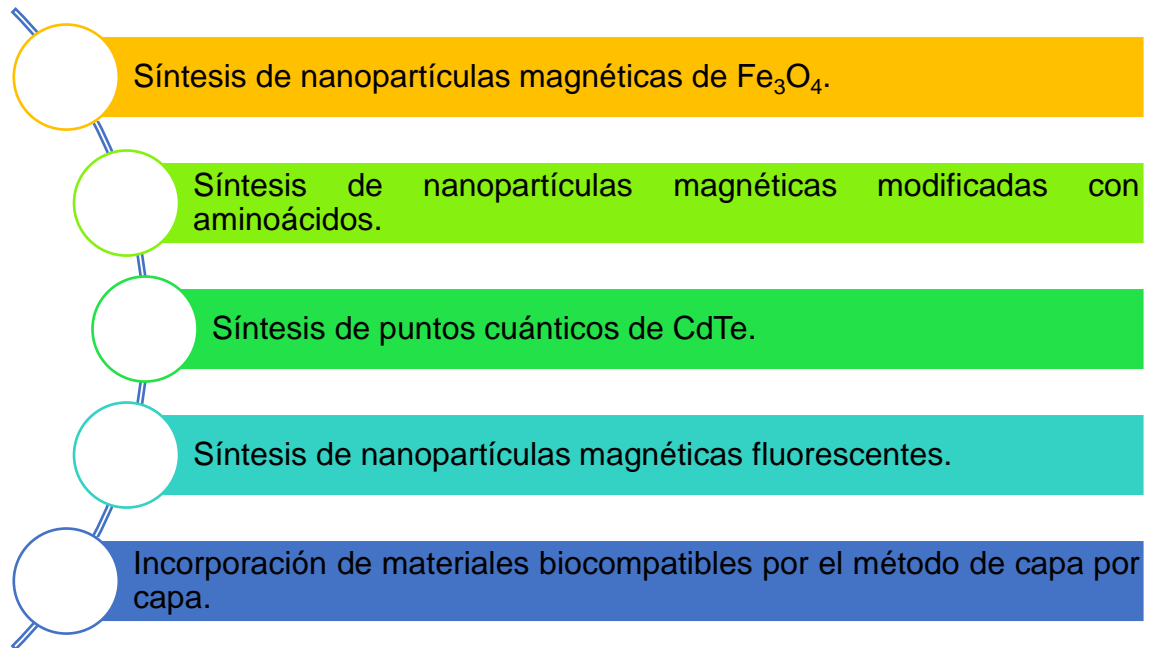
4.1.2 Instrumentos

- Los instrumentos utilizados para las respectivas caracterizaciones se muestran a continuación:
- Para la obtención de los espectros de infrarrojo se utilizó el equipo: Espectrómetro de Infrarrojo Perkin Elmer FT-IR/FT-NIR modelo Spectrum 400 (PerkinElmer Inc. Boston, MA, USA).
- Para la obtención de los espectros de absorción se utilizó el equipo: Espectrofotómetro Shimadzu UV-2700 (Kyoto, Japan).
- Para la obtención de los espectros de fluorescencia se utilizó el equipo: Espectrofotómetro de fluorescencia Horiba Nanolog.
- Para la obtención de las micrografías se utilizó el equipo:
- Microscopio electrónico de transmisión (TEM) Jeol JEM 2200 FS (modo STEM, Akishima, Japón).

- Para la obtención de los estudios de Potencial Z se utilizó el equipo: Espectrofotómetro de correlación de fotones: Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, Worcestershire, UK).
- Para la obtención de los análisis térmicos se utilizó el equipo: TGA Q500 V20.13 Build 39 Universal V4.5A TA Instrument (159 Lukens Drive, New Castle, USA).
- Para la obtención de los difractogramas se utilizó el equipo: Siemens D-5000 diffractometer with Cu-K α radiation at 34 kV and 25 mA (Billerica, Massachusetts, USA).
- Para la obtención de las propiedades magnéticas se utilizó el equipo: Versalab™ 3 T, Cryogen-free Physical Property Measurement System by Quantum Design (San Diego, USA).

4.2 Etapas experimentales

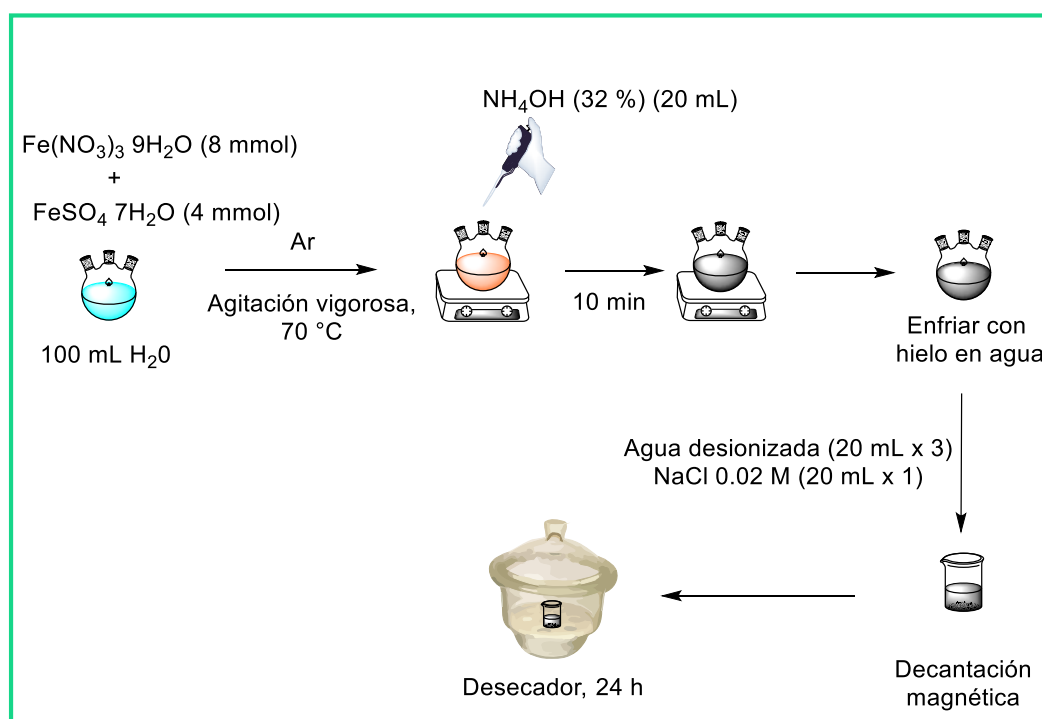
Las etapas experimentales de este proyecto se realizaron como se muestra en el Esquema 1:



Esquema 1. Metodología experimental.

4.2.1 Síntesis de nanopartículas magnéticas

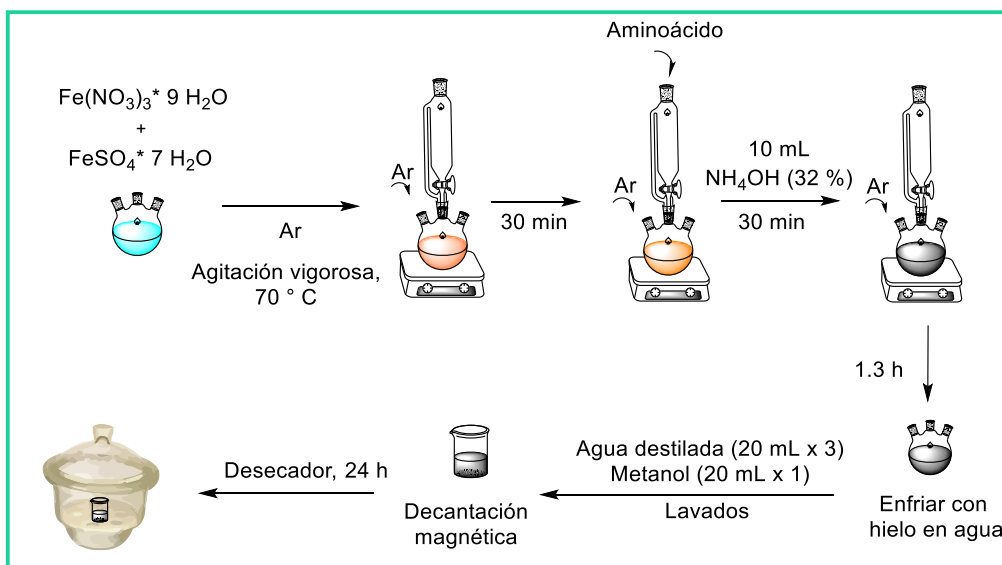
La obtención de nanopartículas magnéticas de magnetita (Fe_3O_4) se realizó de acuerdo con la ruta de síntesis reportada en el 2016 por Farshad Yazdani y Mahdieh Seddigh con algunas modificaciones.⁷⁷ Las NPMs fueron preparadas por un método convencional por coprecipitación, con algunas modificaciones. Previamente, se disolvieron 1.112 g (4 mmol) de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y 3.232 g (8 mmol) de $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, en 100 mL de agua desionizada bajo gas de argón, con agitación vigorosa a 75 °C. A la solución se le adicionó 20 mL de NH_4OH (32 %). El precipitado de magnetita fue lavado con agua desionizada (30 mL x 2) y con una solución de cloruro de sodio 2 mM (25 mL x 1) y separado por decantación magnética. En el 8×10^{-3} M la ruta de síntesis seguida.



Esquema 2. Ruta de síntesis por coprecipitación.

4.2.2 Síntesis de nanopartículas magnéticas funcionalizadas con aminoácidos

La funcionalización de las nanopartículas magnéticas con aminoácidos ($\text{Fe}_3\text{O}_4@AA$) se llevó a cabo utilizando la ruta de síntesis por coprecipitación descrita por Davaran Soodabeh y colaboradores publicada en 2013.⁷⁸ Primeramente, se disolvieron 1.112 g (4 mmol) de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y 3.232 g (8 mmol) de $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, en 100 mL de agua desionizada bajo gas de argón, con agitación vigorosa a 75 °C. Después de 30 min, se adicionó el aminoácido correspondiente. La relación molar fue 4 Fe (II): 8 Fe (III):8 aminoácido. Después de otros 30 min, se adicionaron rápidamente a la mezcla de reacción 10 mL de NH_4OH (32 %) y la reacción continuó con agitación durante 1.5 h. La reacción se detuvo sometiéndola a un baño de agua con hielo. El proceso de reacción se muestra en el Esquema 3.



Esquema 3. Ruta de síntesis para la modificación de nanopartículas magnéticas con los respectivos aminoácidos.

Las $\text{Fe}_3\text{O}_4@AA$ fueron separadas por decantación magnética y se hicieron lavados con agua destilada (20 mL x 3) y con metanol (20 mL x 1). Finalmente, las NPMs recubiertas con aminoácidos se dejaron en un desecador por 24 h.

4.2.3 Síntesis de puntos cuánticos de CdTe

Para la obtención de puntos cuánticos (QDs) de CdTe, se utilizó la ruta de síntesis reportada por Pina y colaboradores en 2017.⁷⁹ En un matraz de tres bocas, se disolvieron 0.4 mmol de ácido 3-mercaptopropionico (AMP) y 0.4 mmol $\text{ClCd}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ en 100 mL de H_2O . Bajo agitación magnética, se ajustó el pH de la solución a 10, adicionando gota a gota una solución de NaOH (1 M). Después de 5 min de agitación vigorosa, se añadió 100 mL de una solución de K_2TeO_3 (0,08 mmol) y 4.2 mmol de NaBH_4 a la mezcla de reacción. Después de otros 5 min de agitación, el matraz se conectó a un condensador y reflujo a 100 °C. La síntesis se dejó por un tiempo de 2 h, ya que es de interés la obtención de QDs que tengan emisión en el infrarrojo cercano.

4.2.4 Evaluación del proceso FRET por fluorescencia

Para evaluar el proceso FRET se llevó a cabo una titulación por adición sucesiva de la especie aceptora (QDs de CdTe) frente la especie donadora (Trp). Primeramente, se preparó una solución de Trp a una concentración de 100 μM en solución salina amortiguada por fosfatos (PBS), se tomaron 3 mL y se adicionó en una celda de fluorescencia. Posteriormente, se añadieron cantidades crecientes de una dispersión de QDs de CdTe partiendo de una concentración de 1.46×10^{-6} M,

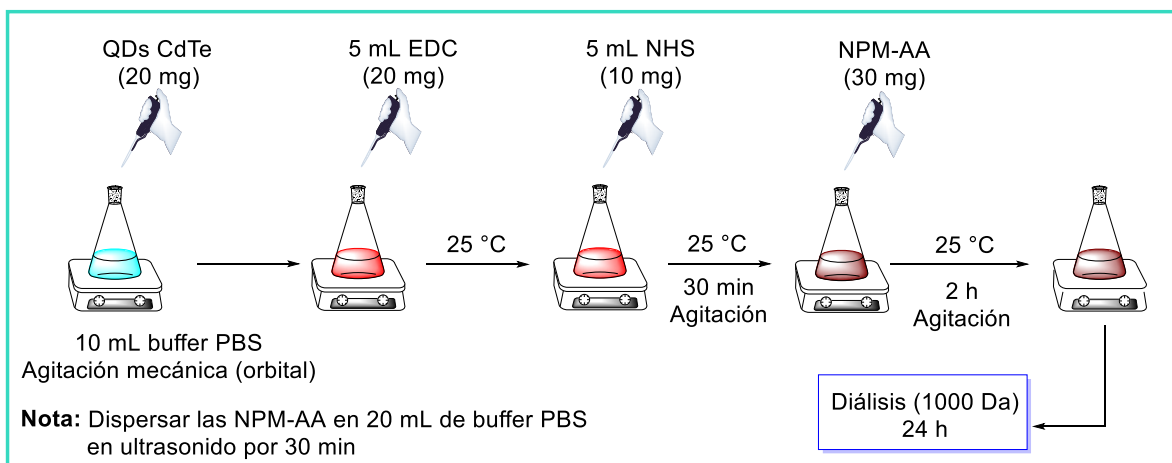
bajo condiciones de agitación y se obtuvieron los espectros de emisión resultantes de cada adición.

4.2.5 Sensor radiométrico basado en FRET para el reconocimiento de iones Cu^{2+}

Típicamente, se adicionaron 2 mL de los conjugados Trp-QDs en una celda de cuarzo, que se utilizó como solución de trabajo. Posteriormente, se adicionaron cantidades Cu^{2+} previamente calculadas. Las concentraciones finales presentadas fueron de 4.74, 9.43, 14.08, 18.69, 23.26, 27.78, 32.26, 36.70, 41.10 y 45.40 μM . Los espectros de fluorescencia fueron obtenidos bajo una longitud de onda de excitación de 378 nm. Todos los cambios de color fueron observados bajo luz UV.

4.2.6 Síntesis de nanopartículas magnéticas fluorescentes

Para la obtención de nanopartículas magnéticas fluorescentes (NPMsF) de $\text{Fe}_3\text{O}_4@AA@QDs$ se siguió la ruta de síntesis reportada por Jiaoning Tang y colaboradores publicada en 2016, con algunas modificaciones.⁸⁰ Se dispersaron 20 mg de QDs en 10 mL de una solución buffer de PBS en un matraz Erlenmeyer, posteriormente se prepararon soluciones de EDC (4 mg/mL) y NHS (2 mg/mL) las cuales se adicionaron a la dispersión de QDs, la mezcla se dejó agitando mecánicamente (orbital) por 30 min. Pasado el tiempo de reacción, se adicionaron 30 mg de los nanomateriales previamente sintetizados ($\text{Fe}_3\text{O}_4@AA$) y la reacción se dejó a temperatura ambiente por un tiempo de 2 h con agitación mecánica (orbital). Una vez que la reacción fue finalizada, el producto se dejó en reposo por 24 h y a continuación se hicieron lavados con agua destilada (20 mL x 3), el material fue recuperado por decantación magnética y se dispersaron en 15 mL con agua destilada para su almacenamiento (Esquema 4).



Esquema 4. Ruta de síntesis para la incorporación de puntos cuánticos en nanopartículas magnéticas.

4.2.7 Incorporación de materiales biocompatibles por el método de capa por capa

4.2.7.1 Incorporación de polímeros biocompatibles

La incorporación de materiales poliméricos a las nanopartículas magnéticas fluorescentes (NPMsF) de $\text{Fe}_3\text{O}_4@AA@QDs$ fue llevada a cabo mediante un proceso de autoensamblaje de capa por capa (LBL), reportada por Duan Zhenfeng y colaboradores en 2017, con algunas modificaciones.⁸¹ Primeramente, se prepararon dos soluciones al 0.1% de alginato de sodio y de poli (cloruro de dimetilamonio) (DADMAC) en una solución tampón PBS. Posteriormente, se adicionaron 1 mL de $\text{Fe}_3\text{O}_4@AA@QDs$ y 1 mL de la solución de DADMAC en un vial de 25 mL, bajo agitación por orbital a 250 rpm durante 15 min. Pasado el tiempo se hicieron lavados con agua desionizada (3 mL x 3) y el material fue recuperado por decantación magnética. Para la incorporación de la segunda capa de polímero, se adicionó 1 mL de alginato de sodio, se agitó por orbital a 250 rpm durante 15 min, y posteriormente se hicieron lavados con agua desionizada (3 mL x 3). El producto fue recuperado por decantación magnética y almacenado en medio acuoso. El estudio se llevó a cabo hasta la incorporación de cuatro capas.

4.2.7.2 Incorporación de doxorubicina y ácido fólico en nanopartículas magnéticas fluorescentes

La incorporación del fármaco doxorubicina (Dox) y el ácido fólico (FA) fue llevada a cabo mediante el proceso de autoensamblaje de capa por capa,⁸¹ siguiendo los estudios previos de la incorporación de los polímeros biocompatibles. Primeramente, se prepararon soluciones de Dox y FA (1 mg/mL) en solución salina amortiguada por fosfatos (PBS) y una solución al 0.1% de DADMAC.

Posteriormente, en un vial de 25 mL se adicionaron 2 mL de $\text{Fe}_3\text{O}_4@AA@QDs$ y 2 mL de Dox, la mezcla se agitó por orbital a 250 rpm durante 15 min. Pasado este tiempo, se hicieron lavados con PBS (5 mL x3) y el producto fue recuperado por decantación magnética. A continuación, se adicionaron 2 mL de DADMAC y 2 mL de solución PBS y se agitó por orbital a 250 rpm durante 15 min. Este mismo proceso se repite para la incorporación del FA.

V. RESULTADOS Y DISCUSIONES

5.1 Síntesis y caracterización de nanopartículas magnéticas

5.1.1 Caracterización por microscopía electrónica de transmisión

La obtención de NPMs de magnetita (Fe_3O_4) se llevó a cabo usando la ruta de síntesis por coprecipitación. En la imagen de TEM en resolución alta (Figura 7), se determinó que el diámetro de las nanopartículas es de 6.7 ± 1.3 nm con morfología semi esférica. Por otro lado, mediante estudios por espectroscopia de energía dispersiva se observaron señales características de hierro y oxígeno a 6.6 keV y 0.7 keV, respectivamente. La composición atómica de hierro es de 92.43% y para oxígeno de 7.57%, lo cual confirma que las NPMs de Fe_3O_4 se encuentran libre de impurezas.

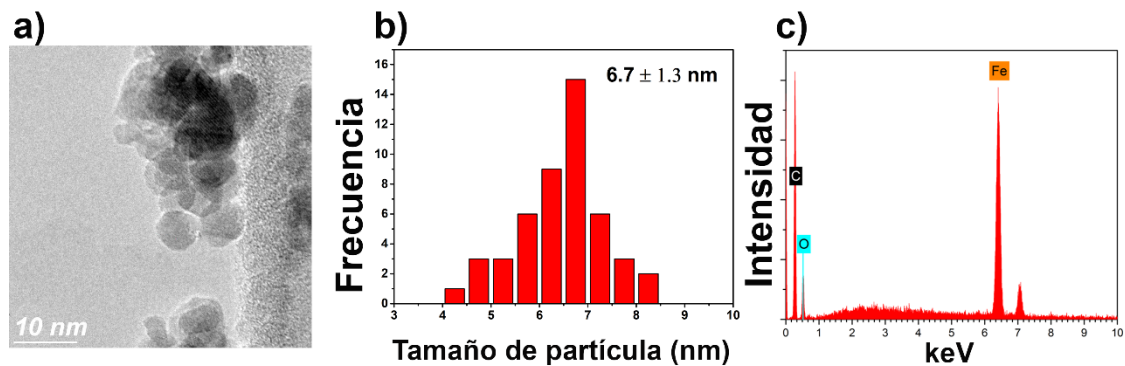


Figura 7. a) Imagen TEM, b) histograma y c) EDS de NPMs de Fe_3O_4 .

5.1.2 Caracterización por difracción de rayos X

Para determinar la fase cristalina de las nanopartículas magnéticas éstas fueron caracterizadas mediante difracción de rayos X (DRX). En la Figura 8a se aprecia el patrón de difracción de las NPMs de Fe_3O_4 y el patrón de difracción de polvo estándar correspondiente a la estructura cúbica de espinela inversa (Figura 8b). Previamente, se observan seis picos característicos para las NPMs de Fe_3O_4 ($2\theta = 30.25^\circ, 35.58^\circ, 43.34^\circ, 53.66^\circ, 57.26^\circ$ y 62.90°) con sus respectivos índices de Miller ((220), (311), (400), (422), (511) y (440)). Estos picos son similares a los reportados con la base de datos en el archivo JCPDS (PDF No. 65-3107) corroborando la obtención de nanopartículas magnéticas de Fe_3O_4 . Los resultados obtenidos son similares a los reportados por Bagherpour y colaboradores.⁸²

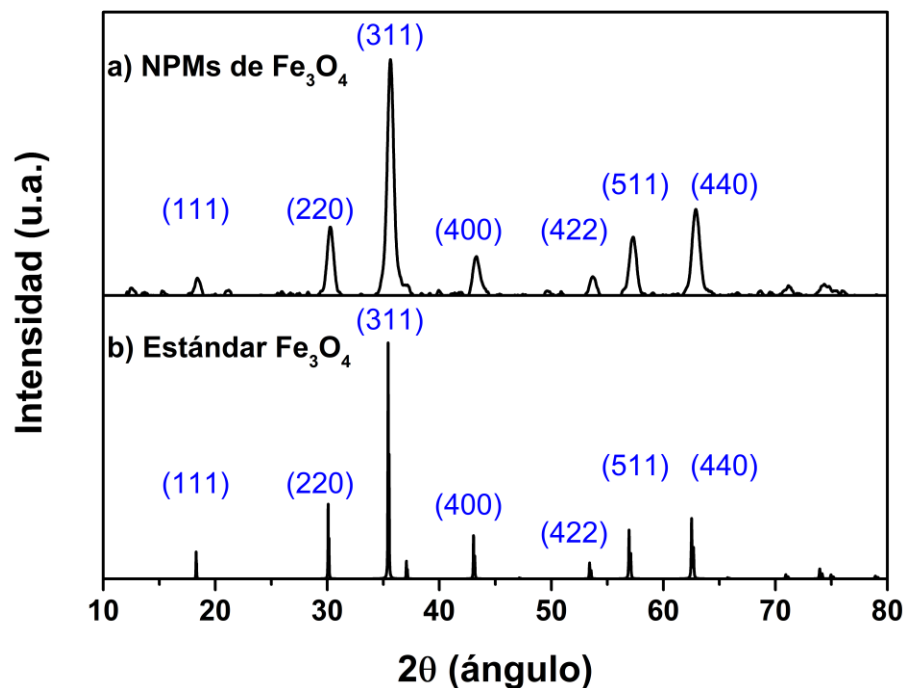


Figura 8. a) Patrón de difracción de Rayos-X estándar de magnetita (Fe_3O_4) y b) NPMs de Fe_3O_4 .

5.1.3 Caracterización por espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier de nanopartículas magnéticas de Fe_3O_4

Las NPMs obtenidas se caracterizaron por espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR). En la Figura 9 se observa el espectro de FT-IR obtenido donde se destacan señales a 3280 cm^{-1} de los estiramientos del enlace O-H, también se muestra una señal pequeña a 1622 cm^{-1} debida a la vibración de flexión de los enlaces H-O-H y a 573 cm^{-1} se observa la señal de estiramiento del enlace Fe-O característica de la magnetita, como ha sido reportada por Mohamad Ali y colaboradores en 2016.⁸³

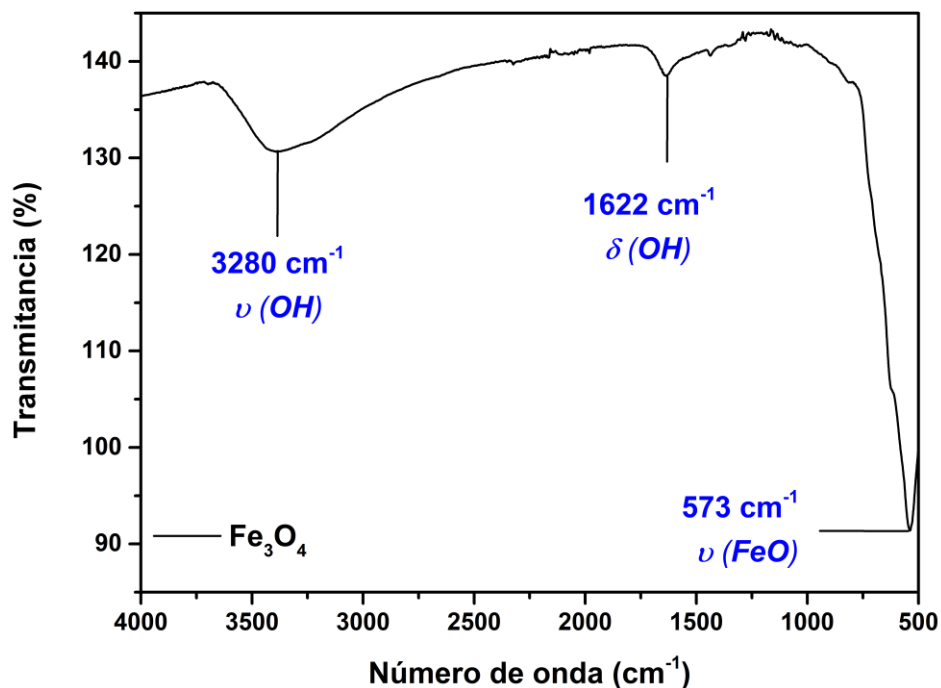


Figura 9. Espectro de FT-IR de nanopartículas magnéticas.

5.1.4 Caracterización por análisis termogravimétrico

Mediante análisis termogravimétrico se determinó que las NPMs de Fe_3O_4 liberan agua absorbida de 100 °C hasta 300 °C. La pérdida de masa de magnetita pura se detiene en 400 °C con una sola etapa de descomposición significativa y casi ninguna evidencia de material orgánico (Figura 10).

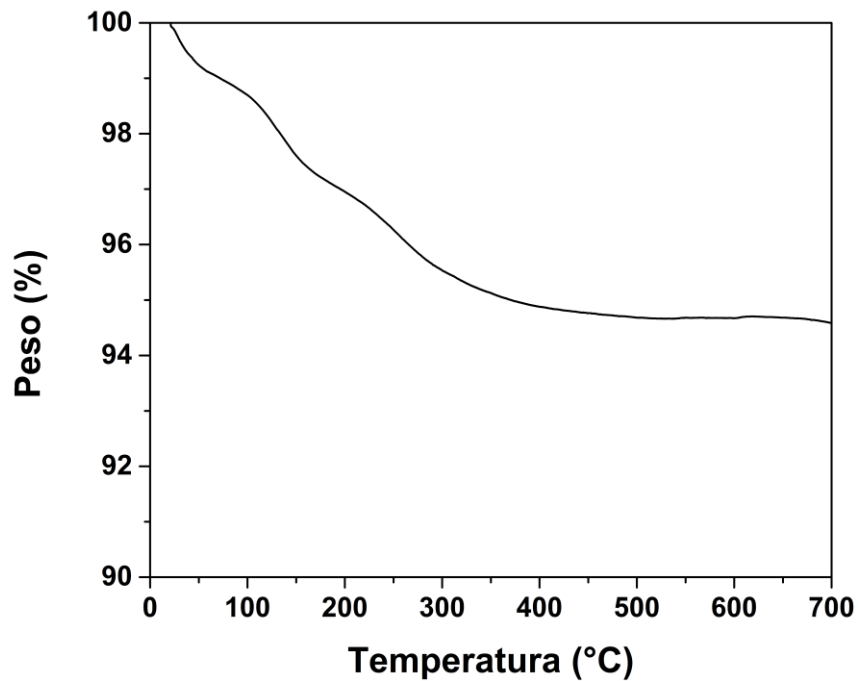


Figura 10. Análisis termogravimétrico de NPMs de Fe_3O_4 .

5.2 Modificación superficial de nanopartículas magnéticas con aminoácidos

5.2.1 Caracterización por microscopía electrónica de transmisión y microscopía electrónica de barrido por emisión de campo.

La obtención de nanopartículas modificadas con aminoácidos ($\text{Fe}_3\text{O}_4@AA$) se llevó a cabo mediante una síntesis por coprecipitación de un solo paso, sin usar un agente espaciador. En la Figura 11 se presentan las imágenes TEM en resolución alta de NPMs de Fe_3O_4 , $\text{Fe}_3\text{O}_4@Trp$, $\text{Fe}_3\text{O}_4@Tyr$ y $\text{Fe}_3\text{O}_4@Phe$ (arriba), con su correspondiente histograma de distribución de tamaño (abajo), las imágenes muestran que todas las nanopartículas presentan una morfología cuasi esférica.

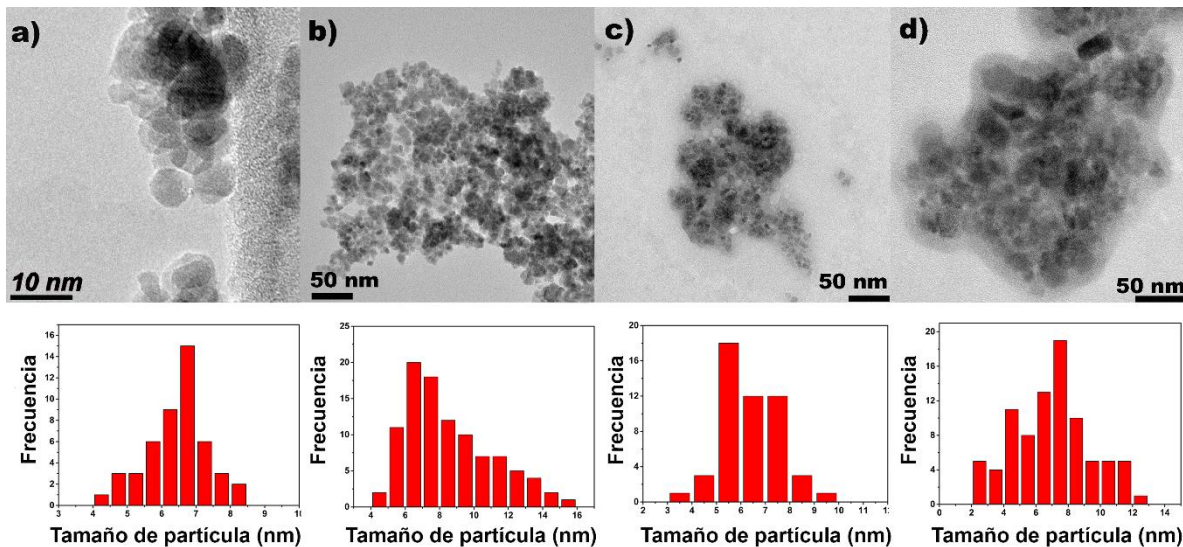


Figura 11. Imágenes TEM en resolución alta de a) Fe_3O_4 b) $\text{Fe}_3\text{O}_4@Trp$ c) $\text{Fe}_3\text{O}_4@Tyr$ y d) $\text{Fe}_3\text{O}_4@Phe$.

Además, los estudios indican que hay un ligero incremento del tamaño de las $\text{Fe}_3\text{O}_4@AA$ en relación con las NPMs de Fe_3O_4 (Tabla 2). Es conocido que los AA actúan como un agente estabilizante con un efecto inhibitorio en el crecimiento de

las nanopartículas, por lo que, aunque el tiempo de reacción se incrementó, el tamaño de las nanopartículas modificadas con AA no aumenta considerablemente.^{78,84} Esto se debe a que el aminoácido tiene un efecto estabilizante sobre las NPMs.⁸⁵

Tabla 2. Efecto del tamaño de las NPMs de Fe₃O₄ modificadas con AA.

Muestra	Tamaño de partícula
Fe ₃ O ₄	6.7 ± 1.3 nm
Fe ₃ O ₄ @Trp	8.0 ± 2.2 nm
Fe ₃ O ₄ @Phe	7.0 ± 1.2 nm
Fe ₃ O ₄ @Tyr	7.5 ± 2.9 nm

Por otro lado, algo similar ocurre con las NPMs de Fe₃O₄@Arg, Fe₃O₄@Lys y Fe₃O₄@Gly. Al ser estos aminoácidos de naturaleza no hidrofóbica, en relación con los anteriores, no hay un efecto distinto a estos. Mediante estudios preliminares por microscopia electrónica de barrido por emisión de campo (FESEM), se observa que estos nanomateriales tienen tamaños por debajo de los 20 nm (Figura 12).

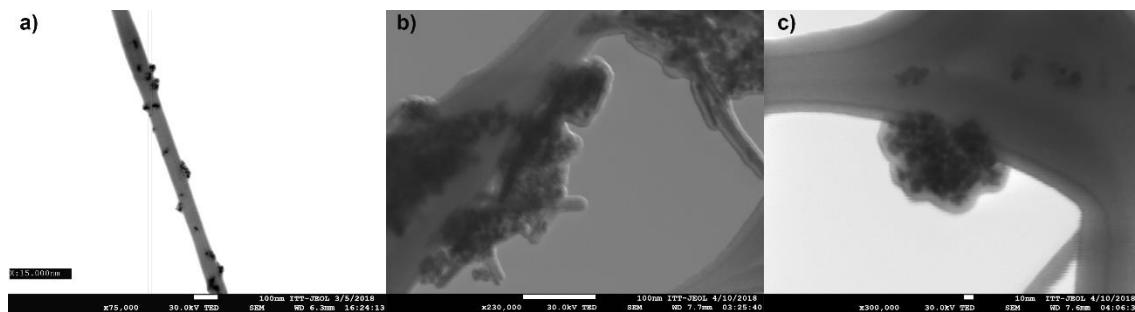


Figura 12. Imágenes FESEM de a) Fe₃O₄@Arg, b) Fe₃O₄@Lys y c) Fe₃O₄@Gly.

5.2.2 Caracterización por espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier de nanopartículas magnéticas modificadas con aminoácidos

Los espectros de FT-IR de NPMs de Fe_3O_4 y modificadas con aminoácidos ($\text{Fe}_3\text{O}_4 @\text{AA}$) se muestran en la Figura 13. Para todos los espectros, una banda de absorción fuerte es observada a 572 cm^{-1} atribuido a las vibraciones de estiramiento del enlace Fe-O señales que corresponden a las NPMs de Fe_3O_4 . Además, las NPMs de Fe_3O_4 presentan una señal fuerte a 3280 cm^{-1} atribuida al estiramiento del enlace O-H que corresponden a los grupos hidroxilo presentes en la superficie de la nanopartícula (Figura 13a).

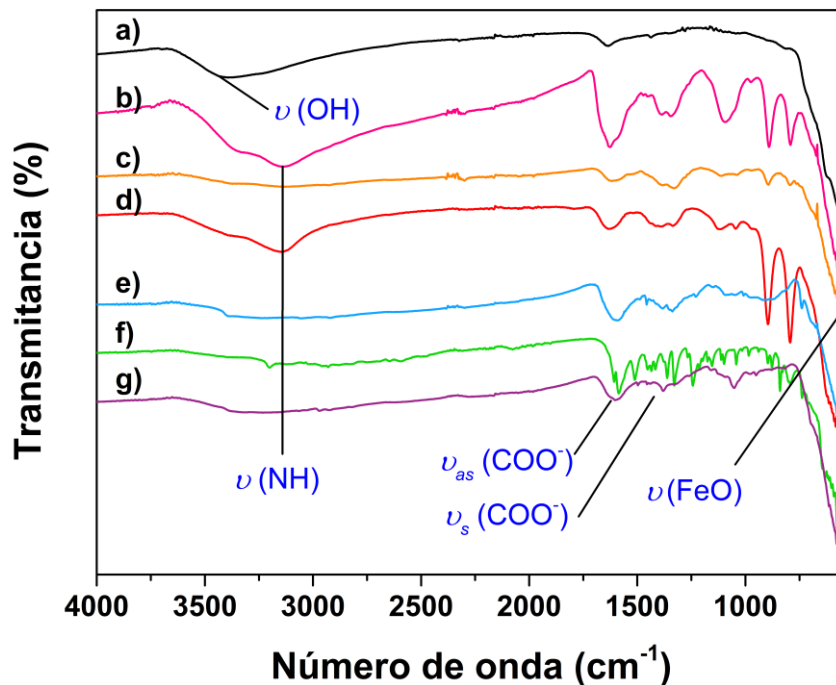


Figura 13. Espectros de infrarrojo de a) Fe_3O_4 , b) $\text{Fe}_3\text{O}_4 @\text{Arg}$, c) $\text{Fe}_3\text{O}_4 @\text{Lys}$, d) $\text{Fe}_3\text{O}_4 @\text{Gly}$, e) $\text{Fe}_3\text{O}_4 @\text{Trp}$, f) $\text{Fe}_3\text{O}_4 @\text{Tyr}$, g) $\text{Fe}_3\text{O}_4 @\text{Phe}$.

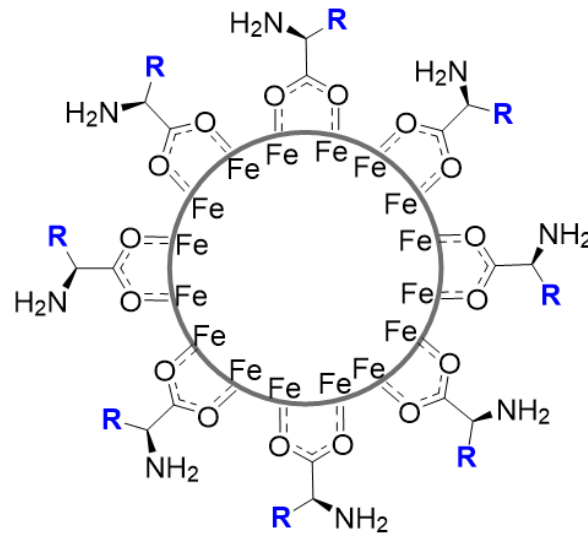
Cabe resaltar que también se observa una banda de absorción fuerte a 3150 cm^{-1} correspondiente a las vibraciones de estiramiento del enlace N-H, esto se ve mayormente reflejado en $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Arg}$, $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Gly}$ y $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Tyr}$ (Figura 13b, 13d, y 13f). Por otro lado, cuando las NPMs se modifican con AA, aparecen dos bandas representativas correspondientes al grupo carboxilato del AA: la vibración de estiramiento asimétrica COO^- entre 1540 y 1650 cm^{-1} y una vibración de estiramiento simétrica COO^- entre 1300 y 1420 cm^{-1} . A partir de la diferencia entre el número de onda de estas señales, se puede elucidar el tipo de enlace que se lleva a cabo entre el Fe y el AA.

En la Tabla 3 se muestran los modos de coordinación característicos y la diferencia en el número de onda de las señales simétrica y asimétrica de los grupos carboxilatos.^{86,87}

Tabla 3. Modos de coordinación exhibidos por el ligando carboxilato y un metal.

Tipo de interacción	Número de onda (cm^{-1})
Monodentado	$\Delta(200-320)$
Bidentado quelante	$\Delta(140-190)$
Bidentado puente	$\Delta < 110$

Para estos estudios, el $\Delta(v_{\text{as}}-v_{\text{s}})$ está en un intervalo de 200 a 320 cm^{-1} lo que indica que el enlace entre el Fe y AA es de tipo monodentado. Un esquema representativo se muestra en la Figura 14. Estos resultados indican que la unión de los AA con las NPMs es mediante los grupos carboxilatos, dejando libres los grupos aminos, como sitios activos, para modificaciones posteriores.



R: Arg, Lys, Gly, Trp, Tyr, Phe

Figura 14. Coordinación monodentada entre átomos de Fe de la magnetita frente al grupo carboxilato del aminoácido.

5.2.1 Caracterización por análisis termogravimétrico de las nanopartículas magnéticas de Fe_3O_4 modificadas con aminoácidos

Como se describió anteriormente, las NPMs de Fe_3O_4 sin modificar presentan estabilidad térmica a temperaturas altas. Sin embargo, cuando son modificadas con los respectivos aminoácidos en la superficie, se pueden apreciar etapas diferentes de descomposición térmica, las cuales corroboran la incorporación del aminoácido en la superficie de la nanopartícula magnética. La cantidad de incorporación de Arg, Lys, Gly, Trp, Tyr y Phe fue de 11.86%, 6.19%, 8.40%, 34%, 35% y 8%, respectivamente (Figura 15a y 15b).

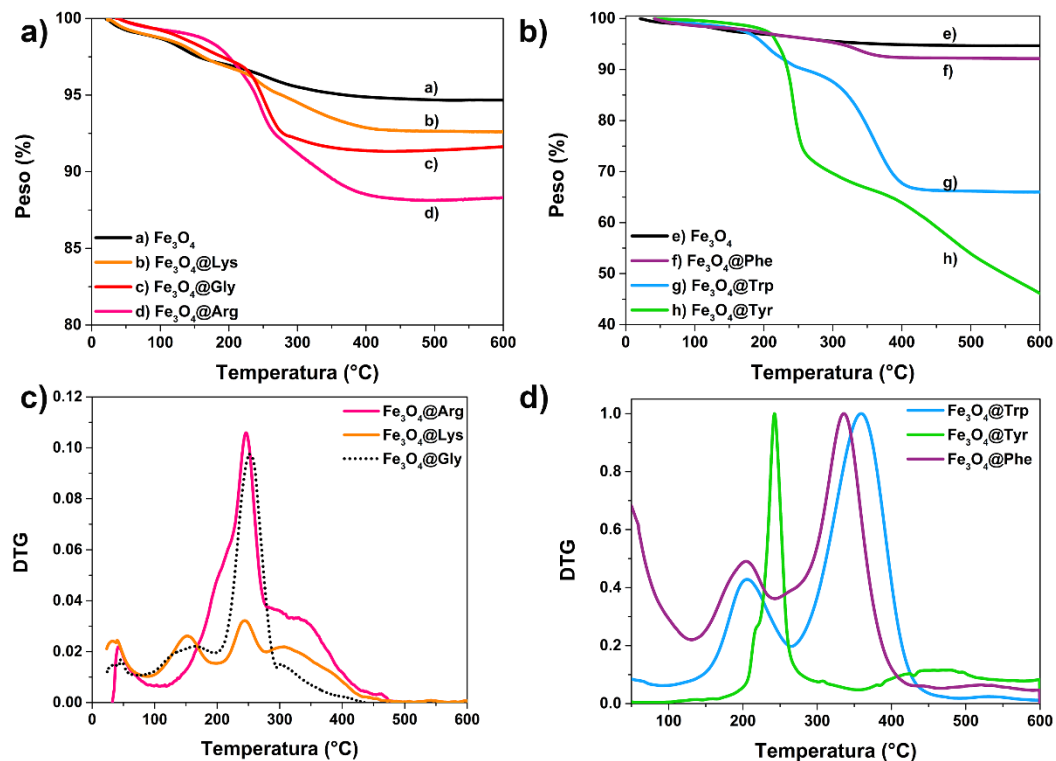


Figura 15. a) y b) Análisis termogravimétrico (TGA) de nanopartículas de Fe_3O_4 y de $\text{Fe}_3\text{O}_4@AA$, c) y d) análisis térmico diferencial de nanopartículas de Fe_3O_4 y de $\text{Fe}_3\text{O}_4@AA$.

Con referencia a lo anterior, se obtuvieron los análisis térmicos diferencial (DTG) para conocer las etapas de descomposición de las NPMs modificadas con aminoácidos. Para los sistemas $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Arg}$, $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Lys}$ y $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Gly}$ se aprecian dos etapas de descomposición térmica. La primera etapa de descomposición ocurre a una temperatura aproximadamente de 246 °C, ésta representa una ruptura por desaminación oxidativa y la segunda etapa de descomposición ocurre a una temperatura de 336 °C que representa la descarboxilación del ácido. La etapa de descomposición por debajo de los 150 °C se atribuye a la pérdida de moléculas de agua que se encuentran fisisorbidos en la superficie de las nanopartículas modificadas (Figura 15c). Para los sistemas $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Trp}$ y $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Phe}$ se presenta la primera etapa de descomposición a 202 °C y 205 °C, respectivamente (Figura 15d). Para $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Phe}$ se deriva una ruptura de C_6H_6 y una desaminación oxidativa para $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Trp}$. Por otro lado, la segunda etapa de descomposición ocurre a 336 °C, atribuida a la liberación del grupo NH_3^+ para $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Phe}$, mientras tanto en el sistema $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Trp}$ ocurre a 359 °C correspondiente a la descarboxilación del ácido y formación de la molécula del indol. Para $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Tyr}$ se muestran dos picos máximos de descomposición a 242°C y 443 °C, la primera se debe a la formación del ácido p-hidroxibenzoico y la segunda a la formación del fenol. ^{4,88}

5.2.2 Caracterización por potencial Z

Resulta importante determinar la carga superficial de las NPMs de Fe_3O_4 y $\text{Fe}_3\text{O}_4@AA$ para su uso potencial en aplicaciones biológicas. Con este objetivo se determinó el potencial Z de las nanopartículas a un pH fisiológico (7.4). Los estudios muestran que las NPMs de Fe_3O_4 presentan una carga superficial negativa con valor de -24.6 mV (Figura 16). Esto es debido a que los grupos OH presentes en la superficie de las NPMs se encuentran desprotonados a pH 7.4, ya que, el punto isoeléctrico de la magnetita es de 6.1.⁸⁹ La funcionalización con los AA en su forma de zwitterion, disminuye la carga negativa de las NPMs para todos los casos. La unión de los AA a la superficie de las nanopartículas de Fe_3O_4 se produce como ya se ha señalado, por los grupos carboxilato del AA, dejando los grupos NH_2 de los AA libres. Estos grupos se encuentran protonados a pH 7.4, lo cual explica porque la carga negativa de las nanopartículas decrece después de la modificación con los AA. Consecuentemente, la modificación con Arg, muestra la mayor disminución de la carga negativa, dado el carácter de este AA que posee un grupo guanidinio y una pI de 10.76.^{78,90}

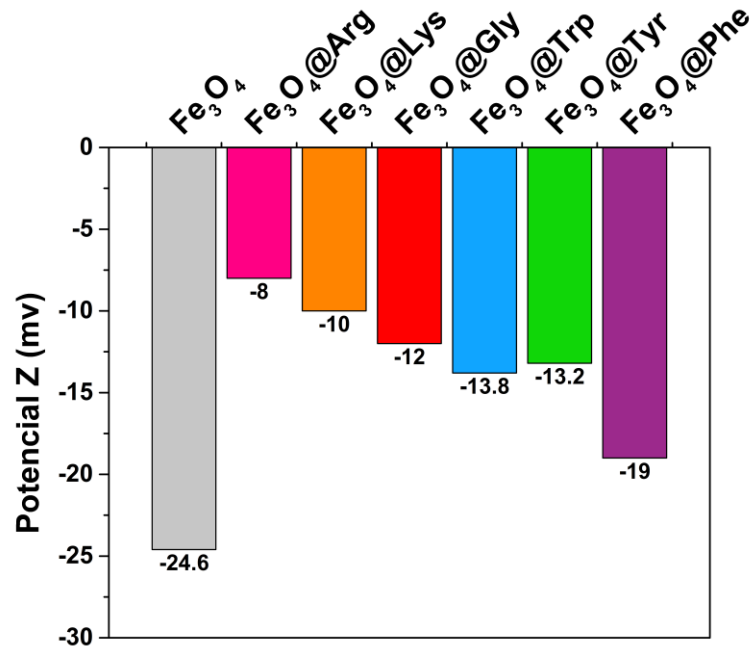


Figura 16. Valores de potencial Z de NPMs de Fe_3O_4 y $\text{Fe}_3\text{O}_4@AA$.

5.2.3 Caracterización por magnetometría de muestra vibracional

Las propiedades magnéticas de las nanopartículas fueron estudiadas por magnetometría de muestra vibracional (VSM). La magnetización de saturación (M_s) fue obtenida aplicando un campo magnético de $-10000 \leq H \text{ (Oe)} \leq 10000$. Para las NPMs de Fe_3O_4 y $\text{Fe}_3\text{O}_4 @\text{AA}$ (Trp, Tyr, Phe) se observa que no hay histéresis magnética y que las curvas son completamente reversibles sin remanencia y sin campo coercitivo. Estos resultados demuestran el comportamiento superparamagnético característico de estas nanopartículas. Los valores de magnetización de saturación obtenidos fueron de 89 emu/g para NPMs de Fe_3O_4 , 45 emu/g para $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Phe}$, 39 emu/g para $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Trp}$ y 35 emu/g para $\text{Fe}_3\text{O}_4 @\text{Tyr}$ (Figura 17).

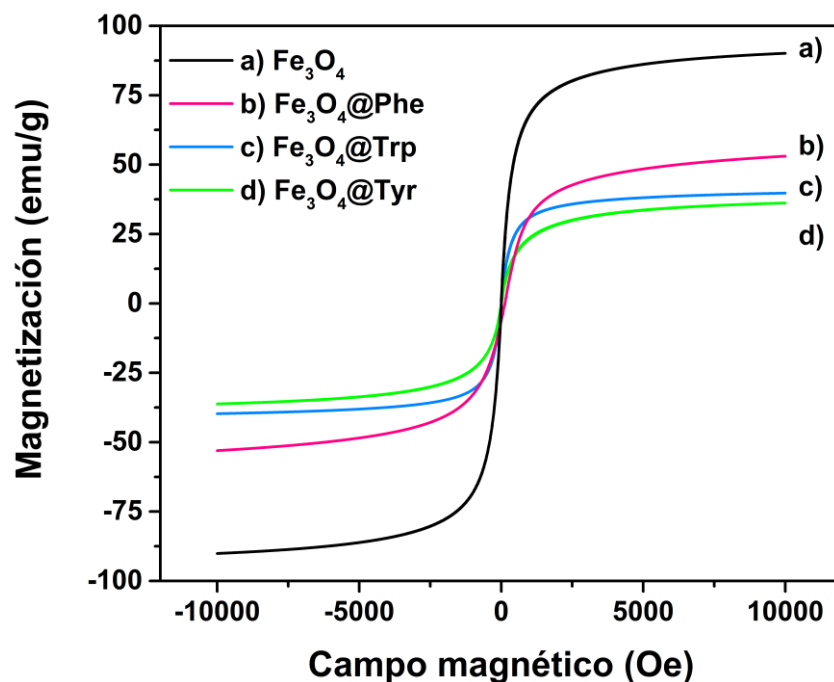


Figura 17. Curvas de magnetización de NPMs de a) Fe_3O_4 , b) $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Phe}$, c) $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Trp}$ y d) $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Tyr}$.

Estos valores de magnetización son suficientes para permitir que las nanopartículas de $\text{Fe}_3\text{O}_4@AA$ sean atraídas por un imán pequeño.^{91,92} La disminución de la magnetización de saturación es atribuida a la densidad del recubrimiento de los AA, que la que se presenta con otros recubrimientos, como los polímeros biocompatibles que son moléculas de mayor tamaño, o con sílice que tiene carácter diamagnético.^{70,93,94}

5.3 Caracterización de puntos cuánticos

5.3.1 Caracterización por microscopía electrónica de transmisión

La obtención de QDs de CdTe recubiertos con el ligando ácido 3-mercaptopropiónico (AMP) fueron caracterizados por TEM de resolución alta, además, se muestra el histograma de distribución de tamaño y el espectro de EDS (Figura 18). La imagen TEM en campo claro revela que los QDs presentan una morfología esférica (Figura 19a) con tamaños homogéneos de 5.03 ± 0.99 nm (Figura 18b). Los resultados del análisis por EDS confirman la composición elemental de los QDs de CdTe@AMP, en el espectro se aprecian las transiciones características de Cd a 23 keV (K_{α}) y 26 keV (K_{β}) y para Te a 27 keV (K_{α}) y 30 keV (K_{β}) (Figura 18c).

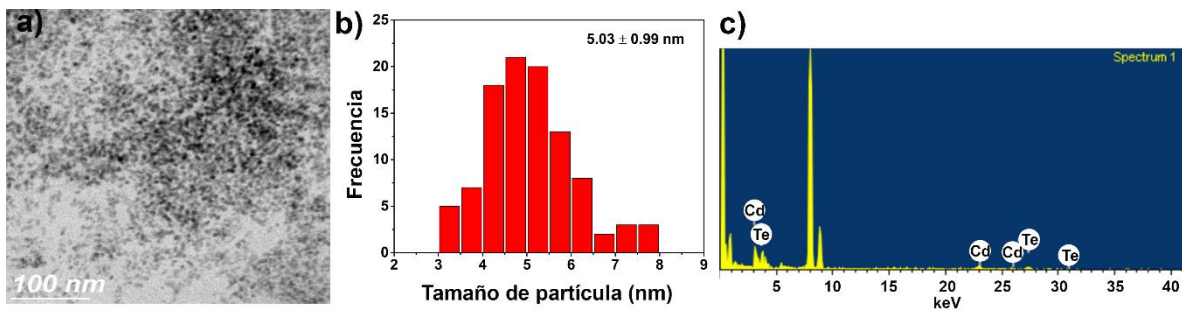


Figura 18. Caracterización de QDs de CdTe@AMP: a) Imagen TEM en campo claro, b) histograma de distribución de tamaño y d) espectro de EDS.

5.3.2 Caracterización por difracción de rayos X

En la Figura 19a se muestra el patrón de difracción de polvo estándar correspondiente a CdTe macroscópico con estructura cristalina cúbica (blenda de zinc) y el patrón de difracción de los QDs de CdTe (Figura 19b). Se observan tres picos característicos para los QDs de CdTe ($2\theta = 25.45^\circ$, 42.00° y 50.20°) con sus respectivos índices de Miller ((111), (220) y (311)), los cuales son semejantes a los patrones de difracción de CdTe macroscópico. Los resultados obtenidos son similares a los reportados en la literatura.^{95,96}

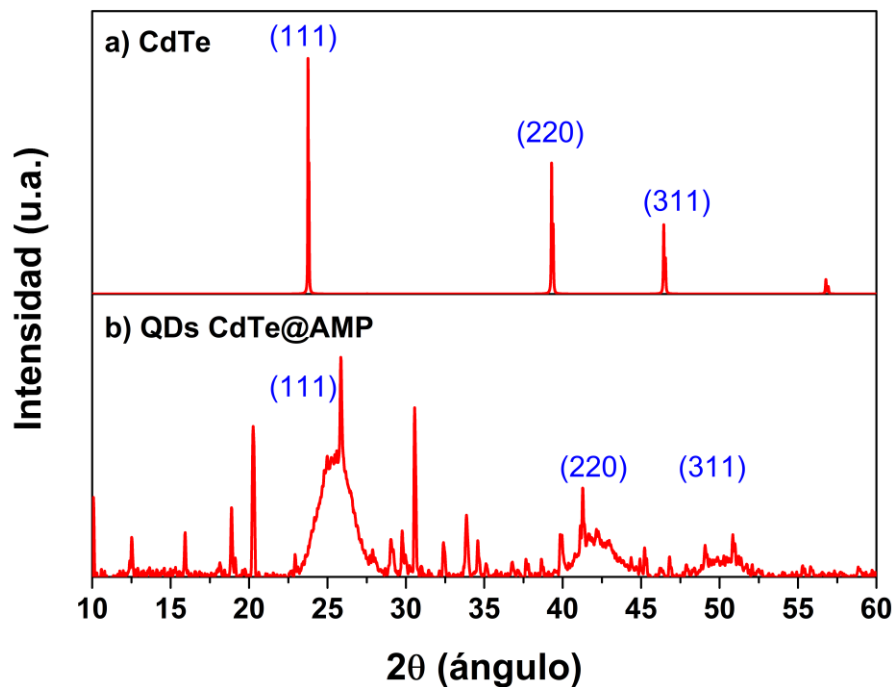


Figura 19. Patrón de difracción de rayos-X de: a) estándar de CdTe y b) QDs de CdTe.

5.3.3 Caracterización por UV Visible y fluorescencia

Los QDs de CdTe modificados con AMP fueron caracterizados por espectroscopia de UV-Visible y fluorescencia molecular. En la Figura 20 se muestra el espectro de fluorescencia normalizada de los QDs de CdTe con una banda de emisión máxima a 658 nm y una banda de absorción máxima a 575 nm.

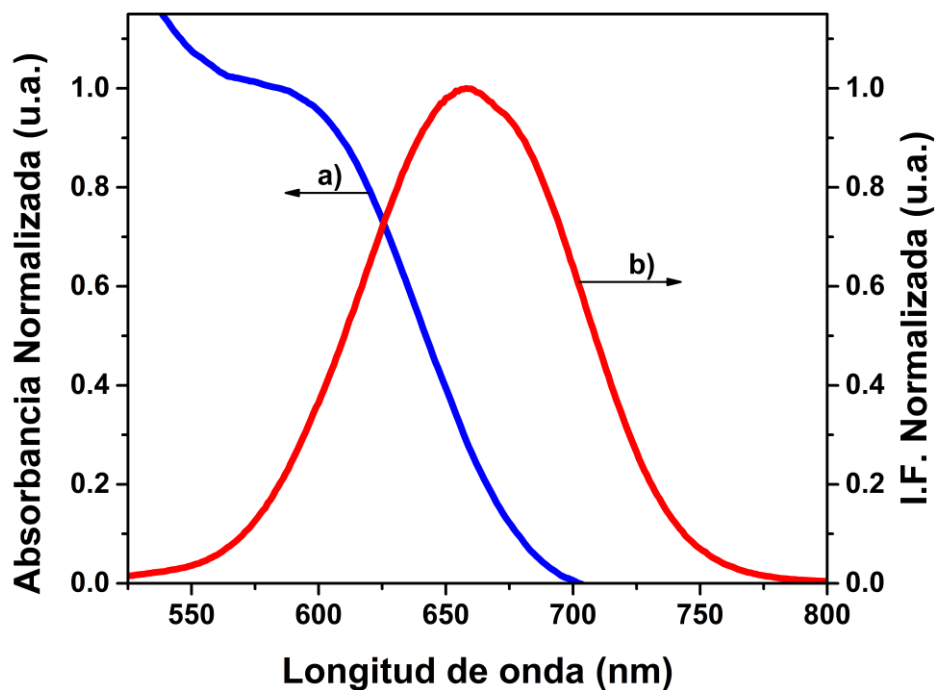


Figura 20. Espectros de UV-Visible y de fluorescencia de QDs de CdTe.

Las determinaciones de tamaño, coeficiente de absorción y concentración teórica se realizaron usando las regresiones de Peng y colaboradores.⁹⁷ Para este caso, se utilizó la regresión específica de QDs de CdTe para determinar el diámetro de la nanopartícula mostrada en la Ecuación 5.

$$D = 9.8127 \times 10^{-7} \lambda^3 - 1.7147 \times 10^{-3} \lambda^2 + 1.0064 \lambda - 194.84 \quad (5)$$

donde D representa el diámetro de los QDs expresado en nanómetros y λ la longitud de onda de emisión máxima de fluorescencia. Para la determinación del coeficiente de absortividad molar (ϵ) se usó la Ecuación 6.

$$\epsilon = 10043D^{2.12} \quad (6)$$

En la Tabla 4 se muestra un resumen de las propiedades de los QDs de CdTe sintetizados.

Tabla 4. Datos teóricos de QDs obtenidos de las regresiones de Peng y colaboradores.

Material	λ_{\max} (nm)	A_{\max} (u.a.)	Diámetro (nm)	ϵ (L/Mol)	[CdTe] (Mol/L)
CdTe	658	0.029	4.52	246146	1.78×10^{-5}

Con esto se infiere que el diámetro teórico de los QDs de CdTe es de 4.52 nm aproximadamente, que es similar a los datos obtenidos por TEM; también se determinó que el coeficiente de absortividad molar es de 246146 L/mol. La concentración de la solución madre de los QDs es de 1.78×10^{-5} M determinada por la Ley de Lamber-Beer. Cabe mencionar que los QDs sintetizados se dejaron crecer lo máximo posible para que emitan cercano al infrarrojo, debido a su uso potencial como agentes de contraste en bioimagen.⁷

5.3.4 Caracterización por espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier

Por otra parte, en la Figura 21 se presentan los espectros de FT-IR de los QDs de CdTe@AMP y del AMP. Primeramente, se analizan las señales del ligando ácido 3-mercaptopropiónico (AMP). Se observa una banda de absorción fuerte entre 3000 y 3500 cm^{-1} atribuida a las vibraciones de estiramiento del enlace O-H, también se observan las señales de estiramiento asimétrica y simétrica del grupo COO^- a 1553 cm^{-1} y 1421 cm^{-1} , respectivamente. Otras señales características del AMP se presentan a 2570 cm^{-1} correspondiente al estiramiento S-H y la señal a 615 cm^{-1} correspondiente a la vibración de flexión del enlace C-S. En el espectro de los QDs de CdTe@AMP no se observa la señal a 2570 cm^{-1} de la vibración de estiramiento del enlace S-H lo que corrobora la incorporación covalente del ligando a los QDs por el grupo tiol.

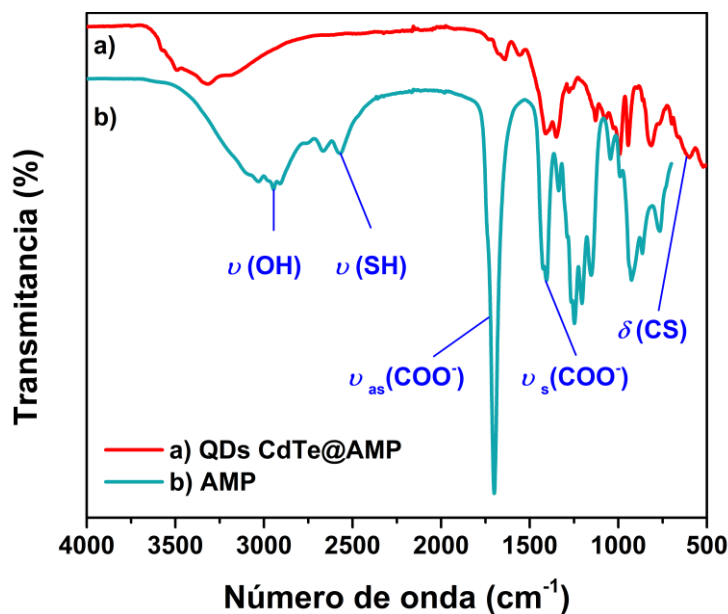


Figura 21. Espectros de FT-IR de: a) QDs de CdTe@AMP y b) AMP.

5.4 Síntesis de nanopartículas magnéticas fluorescentes

La obtención de nanopartículas magnéticas fluorescentes (NPMsF) se llevó a cabo incorporando QDs de CdTe@AMP. Para ello, se utilizaron las NPMs previamente modificadas con aminoácidos ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@Arg}$, $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@Lys}$, $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@Gly}$ y $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@Trp}$). Debido a que los QDs presentan grupos ácidos carboxílicos en su superficie y las NPMs están modificadas con aminoácidos que tienen los grupos amino libres, se puede llevar a cabo la conjugación de estos dos nanomateriales a través de reacciones de condensación para la formación de un enlace covalente. Cabe resaltar, que la incorporación de los QDs en NPMs modificadas con aminoácidos se lleva a cabo utilizando una carbodiimida, específicamente la EDC, la cual promueve la formación de enlaces amida entre ácidos carboxílicos y aminas. En la Figura 22 se muestra el mecanismo de reacción de forma generalizada de la conjugación entre QDs y NPMs@Arg. Primeramente, hay una activación del grupo carboxilato de los QDs promovido por la EDC formando el intermedio o-acylisourea. Posteriormente, la adición de NHS a las reacciones que conllevan EDC incrementa la solubilidad y estabilidad del intermedio activo, generando un buen grupo saliente. Finalmente, se adiciona la especie que contiene grupos amino para la formación del enlace amida y mediante diálisis es recuperado el producto deseado, obteniendo así nanopartículas magnéticas fluorescentes.

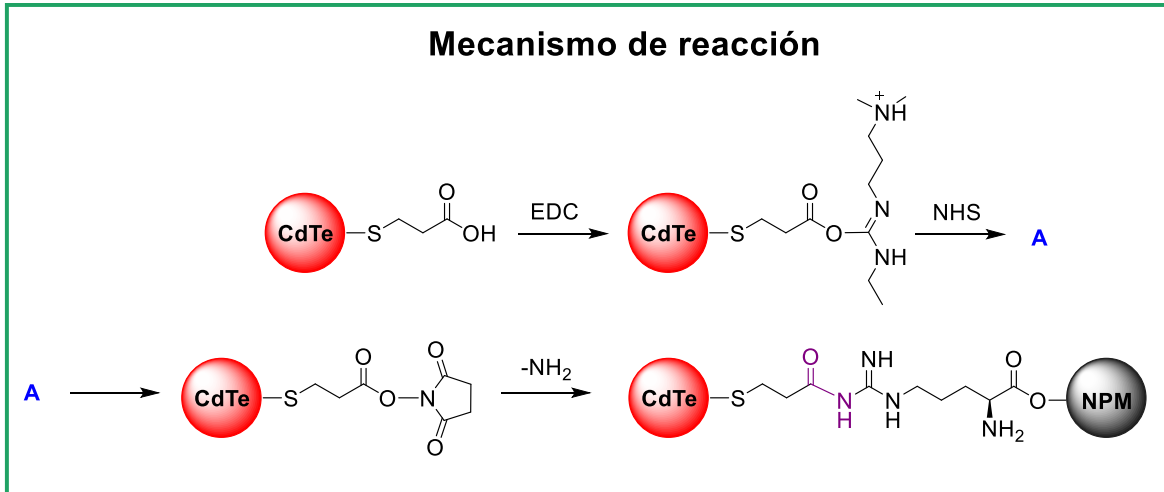


Figura 22. Mecanismo de reacción de forma generalizada para la bioconjugación de QDs en $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Arg}$.

5.4.1 Caracterización por espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier

Todas las NPMsF de $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@AA@QDs}$ fueron caracterizadas por espectroscopia de FT-IR (Figura 23). Los espectros de FT-IR de las NPMs muestran una banda de estiramiento a 1653 cm^{-1} correspondiente al grupo carbonilo de amida, a 1653 cm^{-1} , otra banda de flexión a 1550 cm^{-1} correspondiente al grupo N-H de amidas secundarias, una banda de estiramiento a 1320 cm^{-1} correspondiente al grupo C-N y una banda de estiramiento a 3300 cm^{-1} de N-H. Sobre la base de estos resultados, se confirma la conjugación de los QDs en las NPMs modificadas con aminoácido mediante la formación de un enlace covalente.

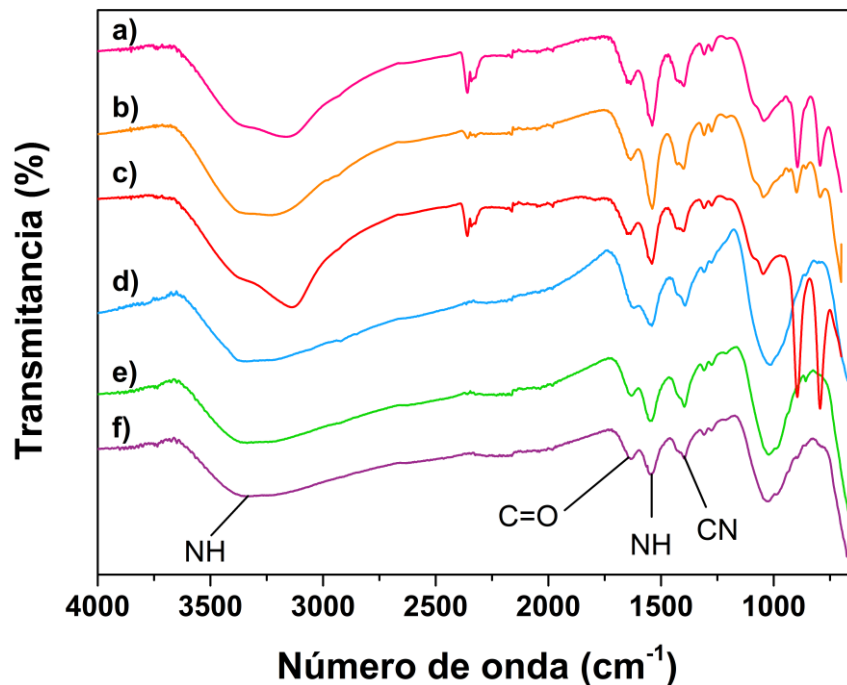


Figura 23. Espectros de FT-IR de nanopartículas magéticas fluorescentes de: a) $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@Arg@QDs}$, b) $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@Lys@QDs}$, c) $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@Gly@QDs}$, d) $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@Trp@QDs}$, e) $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@Tyr@QDs}$ y f) $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@Phe@QDs}$.

5.4.2 Caracterización por microscopía electrónica de transmisión

Para los estudios por TEM se seleccionaron las NPMsF de $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Trp}@\text{QDs}$ y $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Arg}@\text{QDs}$. Las imágenes de TEM en campo claro y el histograma de distribución de tamaño correspondiente a las NPMs de $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Trp}@\text{QDs}$ son mostrados en la Figura 24 a), b). En la imagen TEM se aprecia que la morfología del nanocomposito es cuasi esférica con tamaños de 22.11 ± 3.85 nm.

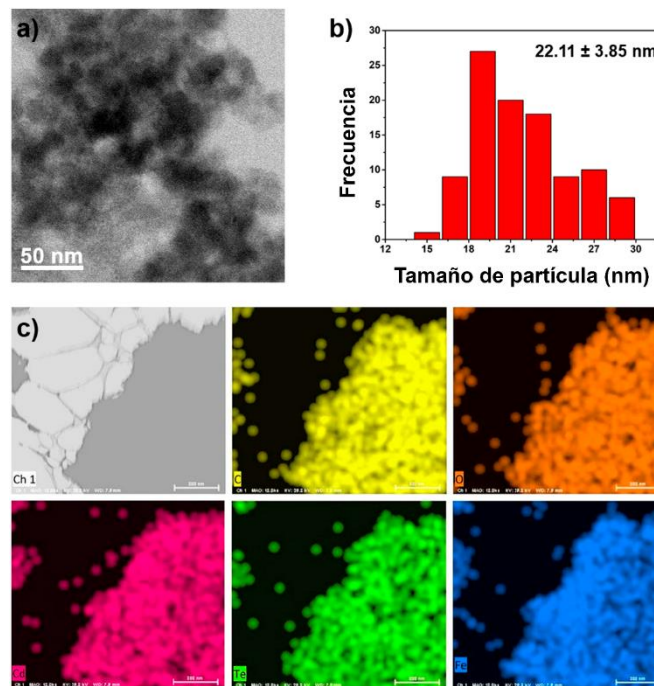


Figura 24. a) Imágenes TEM de las NPMsF de $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Trp}@\text{QDs}$, b) histograma de distribución de tamaño y c) mapeo elemental por EDS.

En la Tabla 5 se muestra un resumen del aumento del tamaño de partícula en cada etapa de la síntesis. En secciones anteriores, se mencionaba que al incorporar el aminoácido (Trp) se observaba un ligero incremento en el tamaño en relación con las NPMs de Fe_3O_4 . Sin embargo, cuando las NPMs de $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Trp}$ se

conjugan con los QDs se aprecia un incremento en el tamaño de partícula de 8.0 ± 2.2 nm a 22.11 ± 3.8 nm, respectivamente.

Tabla 5. Incremento del tamaño de partícula derivado de las modificaciones superficiales en la nanopartícula magnética.

Muestra	Tamaño de partícula
Fe_3O_4	6.7 ± 1.3 nm
$\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Trp}$	8.0 ± 2.2 nm
$\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Trp}@\text{QDs}$	22.1 ± 3.8 nm

En el mapeo elemental obtenido por espectroscopia de energía dispersiva (EDS) (Figura 24c) se muestra una distribución uniforme de los elementos en las NPMsF de $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Trp}@\text{QDs}$. La presencia de carbono (amarillo) es atribuido al aminoácido triptófano, para oxígeno (naranja) corresponden a la magnetita y triptófano, para cadmio (rosa) y telurio (verde) a los QDs y hierro (azul) a magnetita. Por otro lado, para elucidar el tamaño de partícula y morfología de las NPMsF de $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Arg}@\text{QDs}$ se obtuvieron las imágenes TEM en campo claro y contraste z mostrados en la Figura 25 a) y b). En la Figura 25a se muestra la imagen TEM en campo claro de la distribución homogénea de NPMs de Fe_3O_4 del nanocomposito. Mediante imagen de TEM en modo contraste Z, se puede apreciar densidad de materia brillante, atribuida a los QDs de CdTe, ya que estos elementos tienen mayor peso atómico que los átomos de Fe.

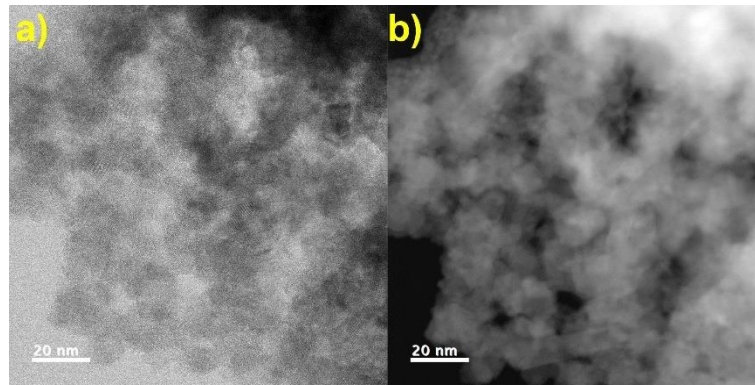


Figura 25. Imágenes TEM de $\text{Fe}_3\text{O}_4@Arg@QDs$: a) en modo campo claro y b) en modo contraste Z.

5.4.3 Caracterización por difracción de rayos X

Las NPMsF de $\text{Fe}_3\text{O}_4@Arg@QDs$ fueron caracterizadas mediante difracción de rayos-X (Figura 26). En la Figura 26c se muestra el patrón de difracción correspondiente de $\text{Fe}_3\text{O}_4@Arg@QDs$. Para este patrón de difracción, se observa una secuencia de picos característicos que incluyen $2\theta = 25.87^\circ, 30.47^\circ, 35.82^\circ, 42.90^\circ, 50.49^\circ, 57.45^\circ$ y 63.05° , con índices de Miller (111), (220), (311), (220), (311), (511) y (440), respectivamente. Esto es congruente, debido a que estos picos característicos son correspondientes a las NPMs de Fe_3O_4 (Figura 26a) y de los QDs de CdTe (Figura 26b). Analizando a detalle, se aprecia que hay un traslape entre los planos a (400) y (220) de las NPMs de Fe_3O_4 y QDs, respectivamente. Esto sugiere que no hay cambios en la estructura cristalina de ambos materiales, ya que para ambos casos muestran sus patrones adecuados, confirmando que el aminoácido arginina no interfiere en un cambio en la estructura, solo funciona como un agente espaciador para la unión de la NPMs con los QDs.

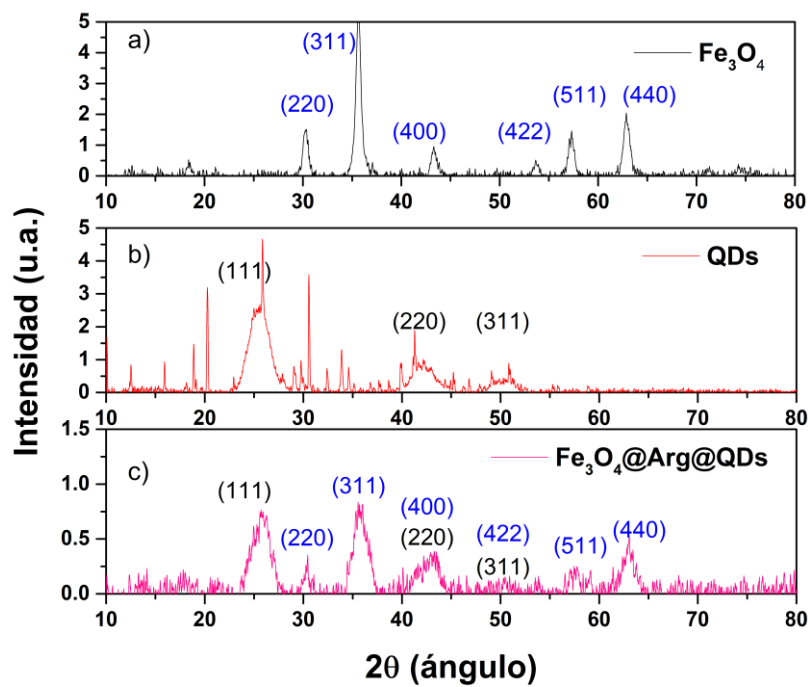


Figura 26. Patrón de DRX de a) Fe_3O_4 , b) QDs y c) $\text{Fe}_3\text{O}_4@Arg@QDs$.

5.4.4 Caracterización por magnetometría de muestra vibracional

Para el análisis de VSM se analizó una muestra representativa. En la Figura 27, se muestra el estudio para el composito $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Trp}@\text{QDs}$. Los valores de magnetización obtenidos de Fe_3O_4 , $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Trp}$ y $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Trp}@\text{QDs}$ fueron de 89 emu/g, 39 emu/g, y 36 emu/g, respectivamente (Figura 27). Cabe señalar que, para los tres casos, no se aprecia el ciclo de histéresis magnética. Los valores de magnetización remanente y campo coercitivo son cero, mostrando un comportamiento superparamagnético típico de estas nanopartículas.

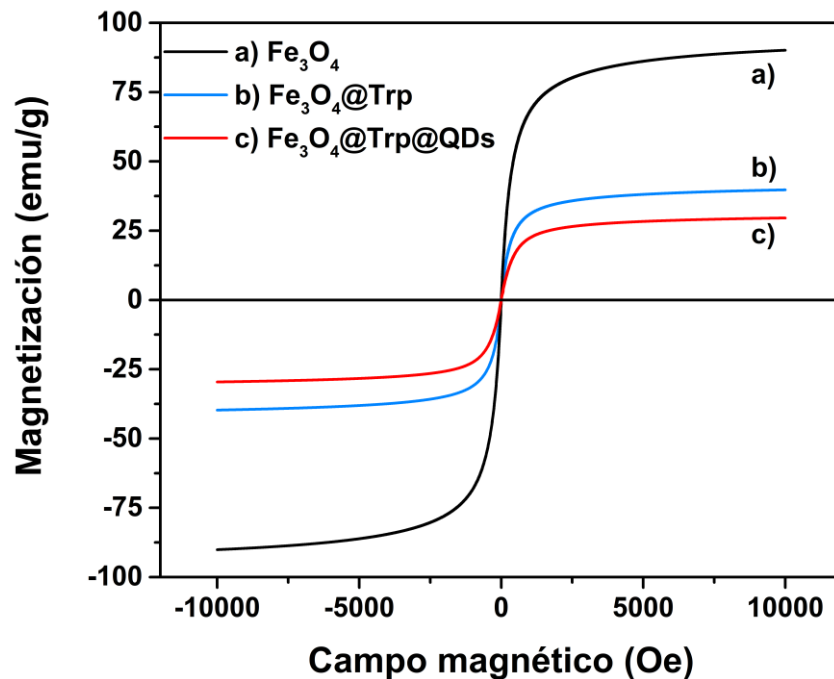


Figura 27. VSM de a) Fe_3O_4 , b) $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Trp}$ y c) $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Trp}@\text{QDs}$.

5.4.5 Caracterización óptica mediante espectroscopia de fluorescencia molecular y epifluorescencia

Mediante estudios por espectroscopia de fluorescencia molecular se demostró la conjugación de QDs en las NPMs. En la Figura 28 se muestran todos los espectros de fluorescencia de las NPMs de $\text{Fe}_3\text{O}_4@AA@QDs$. La banda de emisión máxima característica de los QDs se aprecia entre 650 a 665 nm.

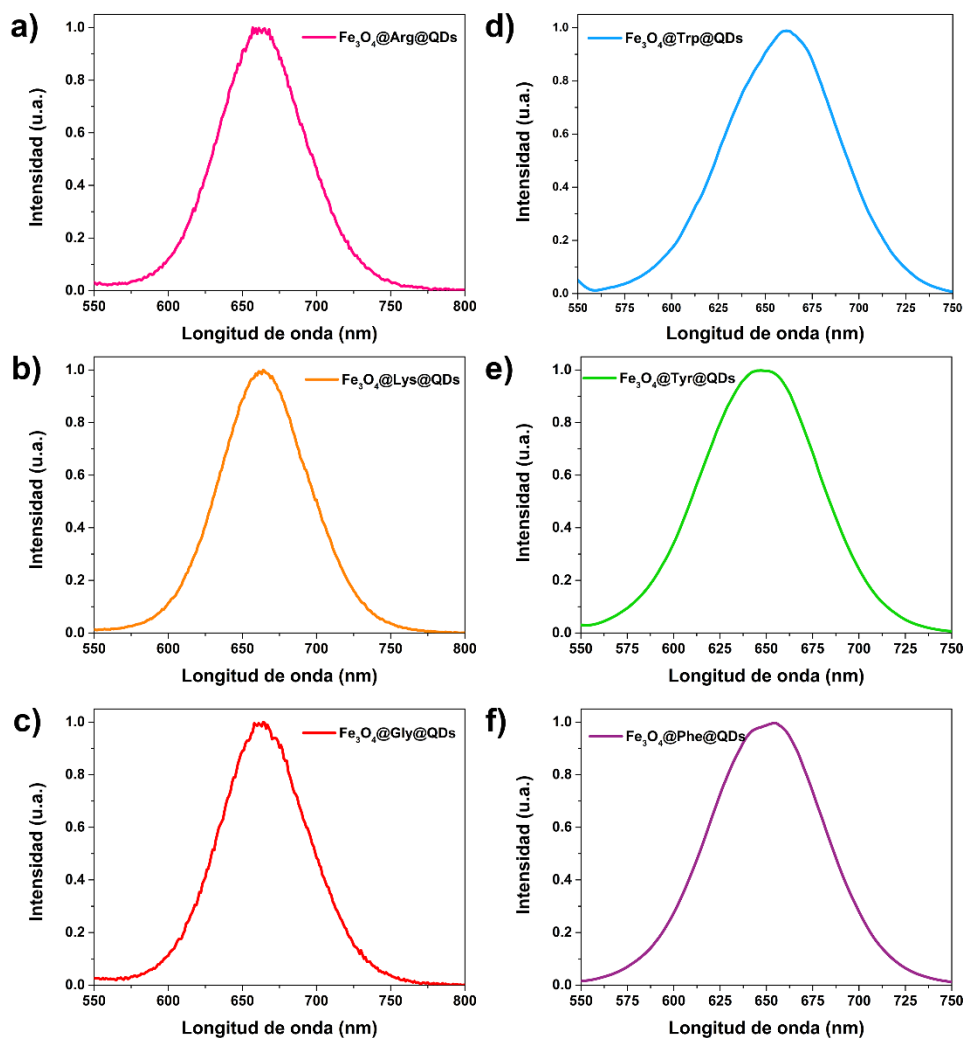


Figura 28. Espectros de fluorescencia de nanocompositos de $\text{Fe}_3\text{O}_4@AA@QDs$.

Se realizó un experimento cualitativo de las nanopartículas magnéticas fluorescentes para observar sus propiedades ópticas. Previamente, se tomó una fotografía en condiciones de luz blanca donde se puede apreciar que estos materiales se encuentran dispersos (Figura 29a) y por otro lado en luz ultravioleta mostrando las propiedades ópticas de los QDs con una emisión entre 650 a 665 nm, que se encuentra en las fronteras del infrarrojo cercano (Figura 29b). Por otra parte, se realizó el mismo experimento, pero en presencia de un campo magnético externo utilizando un imán de neodimio, después de cuatro minutos se observa como las NPMs fluorescentes son recuperadas debido a las propiedades superparamagnéticas de las nanopartículas (Figura 29c); y además que la recuperación es de un 100%, ya que en el sobrenadante no se observa la emisión característica de los QDs. Con estos experimentos y mediante los estudios por FT-IR, y Fluorescencia molecular se comprueba que efectivamente los QDs fueron incorporados en las NPMs modificadas con aminoácidos.

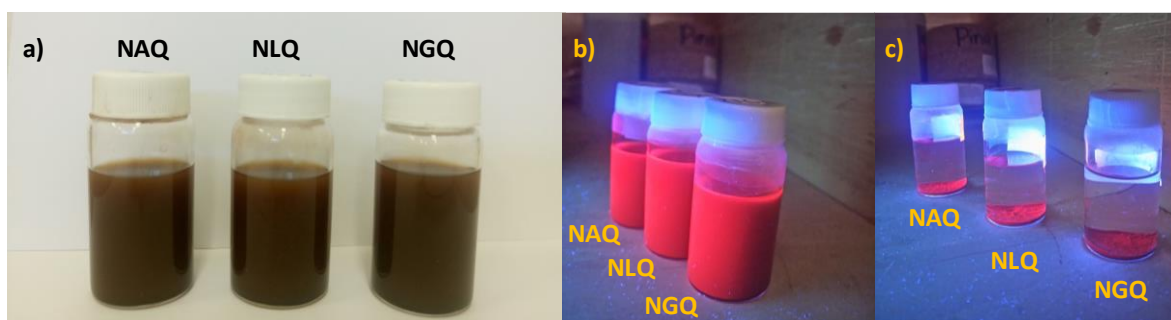


Figura 29. NPMs fluorescentes: a) bajo luz ambiental, b) bajo luz UV y c) bajo luz UV en presencia de un magneto externo.

Por otra parte, las NPMs fluorescentes fueron caracterizadas por Epifluorescencia. Para dicho experimento, se tomó una alícuota de las NPMsF y se soportaron en un portaobjetos/cubreobjetos. Se dejó secar a temperatura ambiente en condiciones oscuras por un día. Las muestras fueron analizadas en el microscopio de fluorescencia ZOE, utilizando canales de campo claro y el canal de emisión roja de fluorescencia con una excitación a 460 nm.

En la Figura 30 se muestran las fotomicrografías (escala de 25 μm) correspondientes a $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@Arg@QDs}$. En la imagen se pueden apreciar la distribución de estos nanomateriales de manera uniforme en toda el área de campo estudiado. Cabe mencionar, que las partículas no fueron redispersadas en su totalidad, y es por ello por lo que se observan en forma de agregados (Figura 30a). Por otra parte, al cambiar al canal de emisión roja de fluorescencia se pueden apreciar las propiedades ópticas de los QDs de CdTe, que tienen como característica emitir en el infrarrojo cercano (Figura 30b).

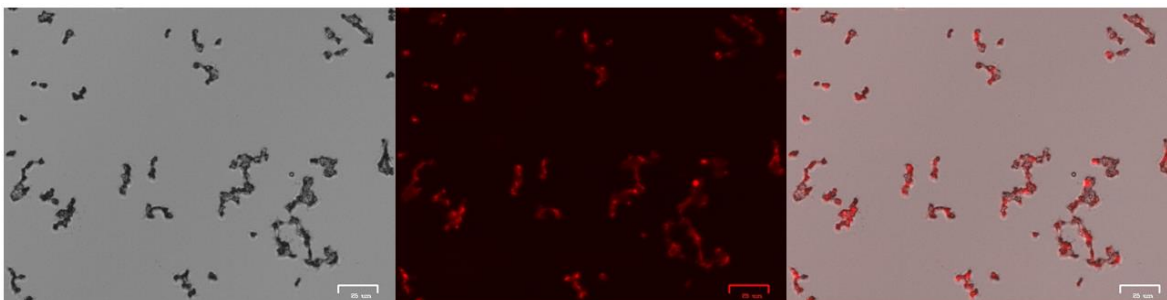


Figura 30. Fotomicrografías de $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@Arg@QDs}$: a) Campo claro, b) canal de emisión roja de fluorescencia y c) intercalado de imágenes de (a) y (b).

Además, se muestra que los QDs solo se encuentran en las partículas magnéticas. Esto se puede observar al momento de intercalar la fotomicrografía de

campo claro con el canal rojo de emisión de fluorescencia (Figura 30c). Los sistemas $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Lys}@\text{QDs}$ y $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Gly}@\text{QDs}$ mostraron el mismo comportamiento que el nanocomposito $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Arg}@\text{QDs}$ (Figura 31).

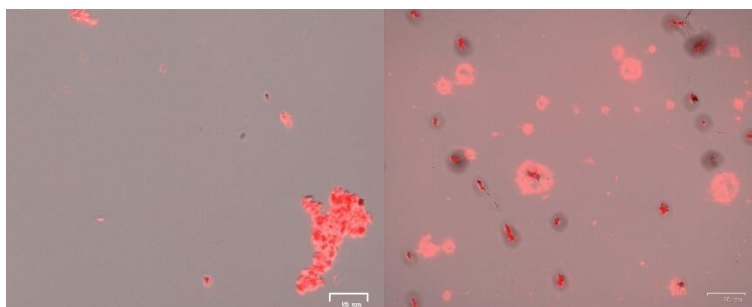


Figura 31. Fotomicrografías de: a) $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Lys}@\text{QDs}$ y b) $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Gly}@\text{QDs}$.

Un aspecto especial en las NPMsF de $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Trp}@\text{QDs}$ es que la presencia del Trp y QDs de $\text{CdTe}@\text{AMP}$ da como resultado un proceso de FRET (Transferencia de Energía Resonante de Förster). En este sentido, el Trp es la especie donadora de energía y los QDs son los aceptores de energía, como se ilustra en la Figura 32a. Como se puede ver, cuando el nanocomposito se excita a la longitud de onda de absorción máxima del Trp (295 nm), la intensidad de la banda de fluorescencia del Trp, alrededor de 360 nm, disminuye (en comparación con la intensidad de la fluorescencia de la banda del $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Trp}$, excitado a 295 nm). Simultáneamente, la intensidad de la banda de fluorescencia CdTe QDs a 660 nm aumenta (en comparación con la intensidad de la banda de fluorescencia CdTe QDs del nanocomposito excitado a 460 nm).

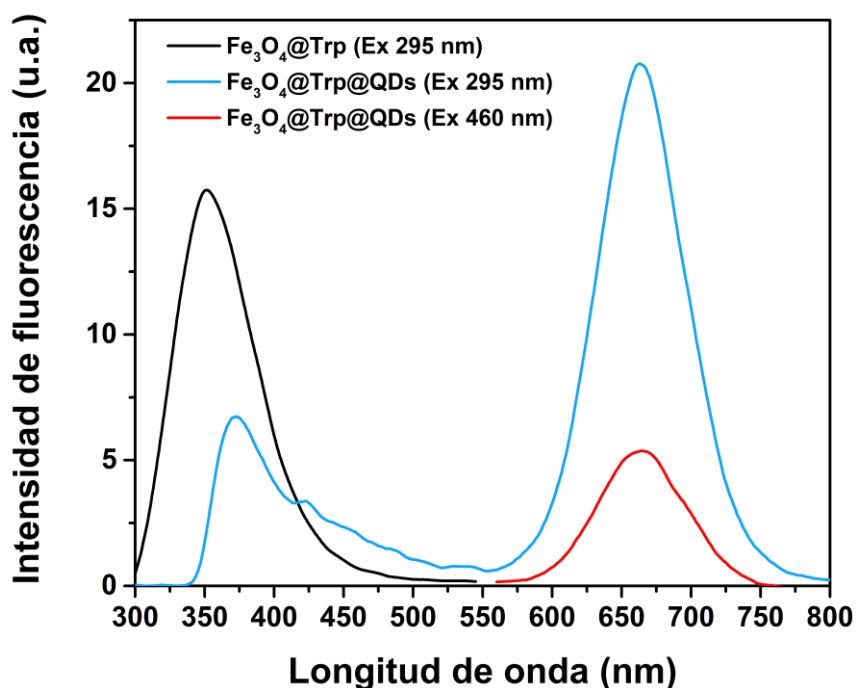


Figura 32. Espectro de fluorescencia de $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Trp}$ excitado a 295 nm (negro), nanocomposito $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Trp}@\text{CdTe QDs}$, excitado a 295 nm (rojo) y excitado a 460 nm (azul).

Cabe señalar que la transferencia de energía entre Trp y QDs ha sido reportado previamente.⁹⁸ Los resultados muestran la proximidad entre el donante y el aceptor (menos de 7 nm) en el nanocompuesto y confirman la incorporación efectiva de los QDs en las NPMs modificadas con Trp. Este comportamiento confiere una mejora de la fluorescencia al nanocomposito, que es una excelente propiedad para usar este material como una nanoplataforma fluorescente para terapia contra el cáncer y como un nanosensor para la determinación de analitos diferentes. Las propiedades ópticas de este nanocomposito fueron corroboradas por microscopia de fluorescencia. En la imagen de fluorescencia se observa la distribución homogénea de las NPMsF de Fe₃O₄@Trp@QDs en campo claro (Figura 33a), canal de fluorescencia en emisión roja (Figura 33b) y el intercalado de ambos canales (Figura 33c).

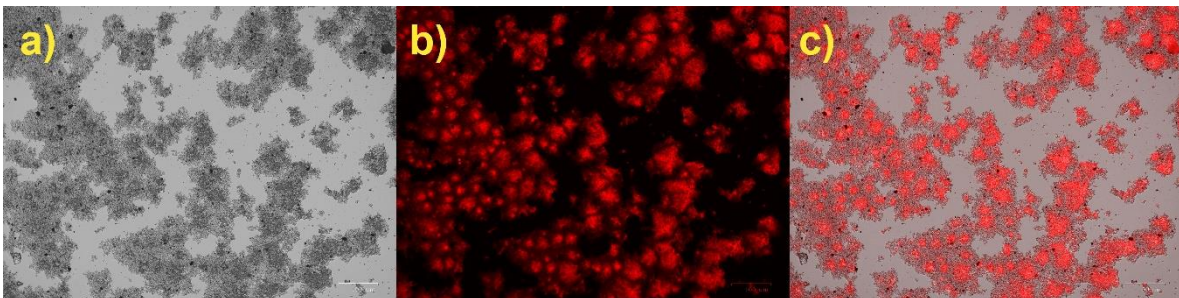


Figura 33. Emisión de luz de Fe₃O₄@Trp@QDs bajo microscopia de fluorescencia. a) Campo claro, b) canal de fluorescencia (emisión en rojo) y c) traslape de ambos canales (campo claro y de fluorescencia).

En otro experimento, el nanocomposito $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Trp@QDs}$ fue puesto en contacto con pétalos de rosa blanca como substrato, durante 8 h en condiciones oscuras. En la Figura 34d se muestra la imagen correspondiente al experimento control en agua en campo claro, y en las Figuras 34 e) y f) bajo los canales de fluorescencia en verde y roja donde no se observa emisión por parte del pétalo rosa. Sin embargo, cuando el substrato se impregna con el nanocomposito, se aprecia un brillo muy intenso en los canales de fluorescencia (verde y roja) debido a las propiedades ópticas de los QDs presentes (Figura 34h y 34i). Además, se puede observar la distribución homogénea del nanomaterial.

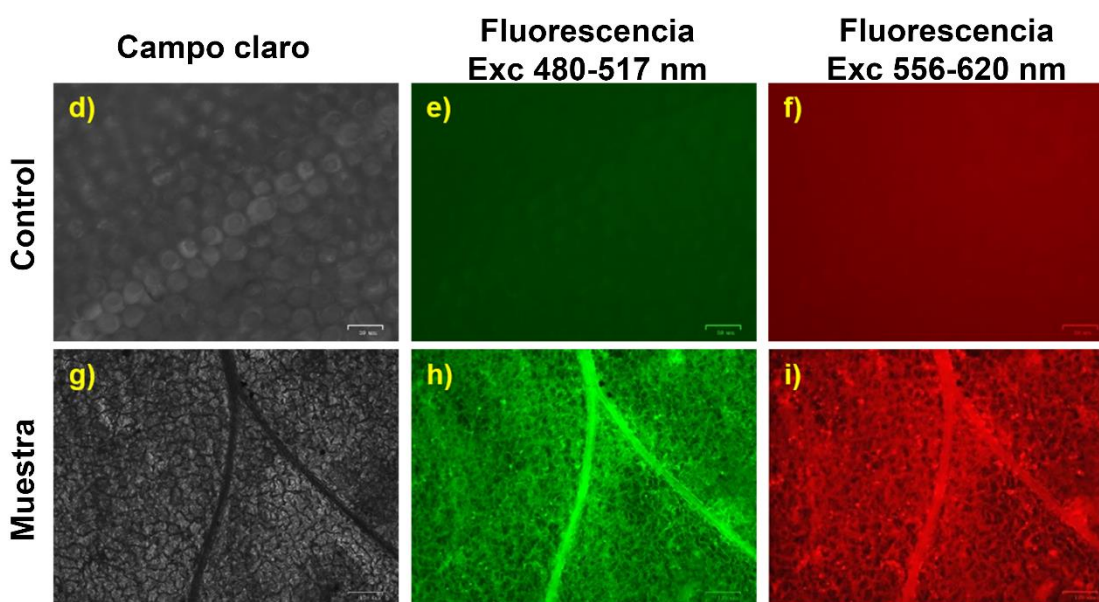


Figura 34. Emisión de luz de $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Trp@QDs}$ bajo microscopía de fluorescencia. Imágenes del nanocomposito $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Trp@QDs}$ en contacto con pétalos de flores blancas (arriba d-f, escala 25 μm , abajo, g-i 100 μm). Las imágenes d-f corresponden al control (agua).

5.4.6 Evaluación de los conjugados triptófano y puntos cuánticos como sensor radiométrico basado en la transferencia de energía resonante de Förster

5.4.6.1 Estudio del proceso FRET entre Trp y puntos cuánticos de CdTe/AM

Como se describió en la sección anterior, se produce un proceso FRET en el nanocomposito de $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Trp}@ \text{QDs}$, debido a la presencia del Trp que actúa como donador de energía y los QDs que participan como aceptores (Figura 32). Uno de los requisitos para que se produzca el proceso FRET, es que exista un traslape entre la banda de emisión de fluorescencia del donador y la banda de absorción del aceptor. En la Figura 35, se confirma que existe un traslape espectral entre la banda de emisión de fluorescencia del Trp y la banda de absorción de los QDs.

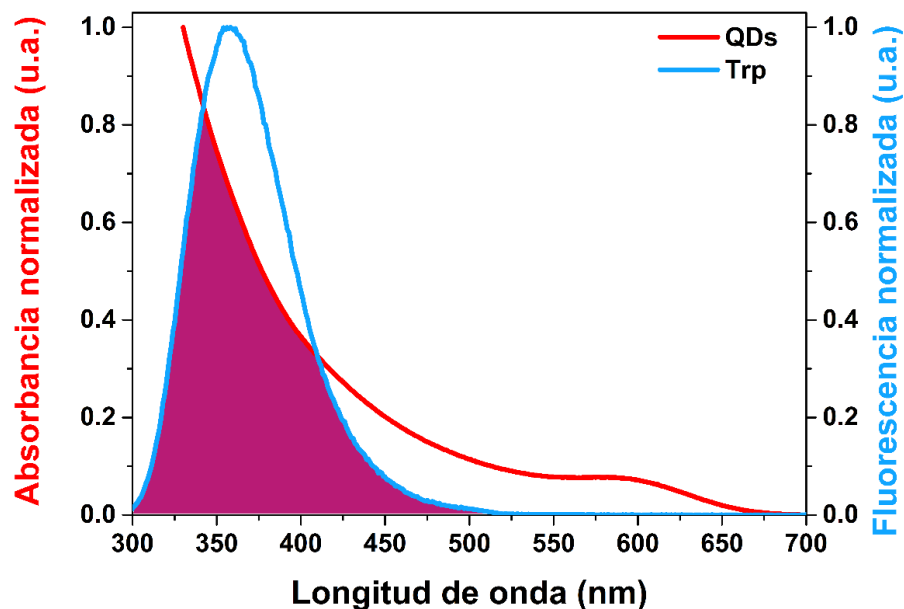


Figura 35. Área de solapamiento de la banda de absorción de los QDs frente a la banda de emisión del Trp.

Para observar de manera más detallada este fenómeno, se llevó a cabo una titulación del aminoácido Trp con los QDs de CdTe@AMP, en un intervalo de concentraciones de los QDs de 0 a 114 nM.

En la Figura 36 se muestra la evolución de los espectros de emisión de fluorescencia correspondientes a la titulación. Se puede observar un abatimiento de la banda de emisión de fluorescencia del Trp a 370 nm y un aumento de la banda de emisión de fluorescencia de los QDs de CdTe/AMP a 658 nm, lo cual muestra un comportamiento típico de un proceso FRET eficiente.

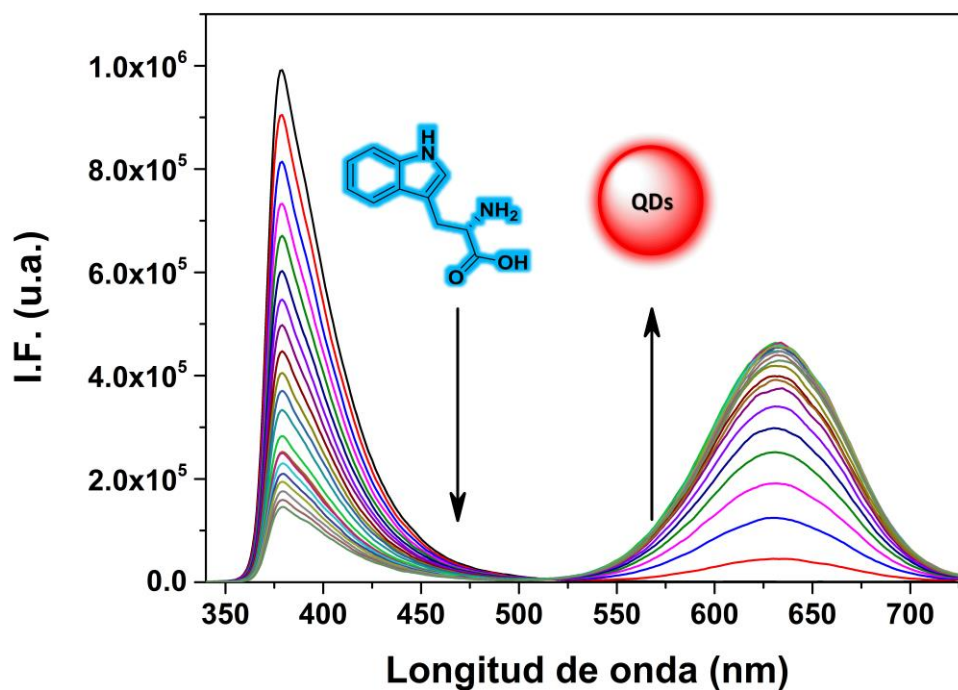


Figura 36. Titulación FRET de Trp con QDs de CdTe@AMP.

Un estudio cualitativo del proceso FRET de los conjugados Trp y QDs se observa en la Figura 37. La señal de referencia es Trp, cuando no está en contacto con los QDs mantiene su emisión de fluorescencia en color azul. Sin embargo, cuando se van añadiendo cantidades crecientes de QDs, se observa el abatimiento de la emisión de fluorescencia del Trp y un aumento de la emisión de fluorescencia de los QDs. El estudio se llevó a cabo bajo luz UV.

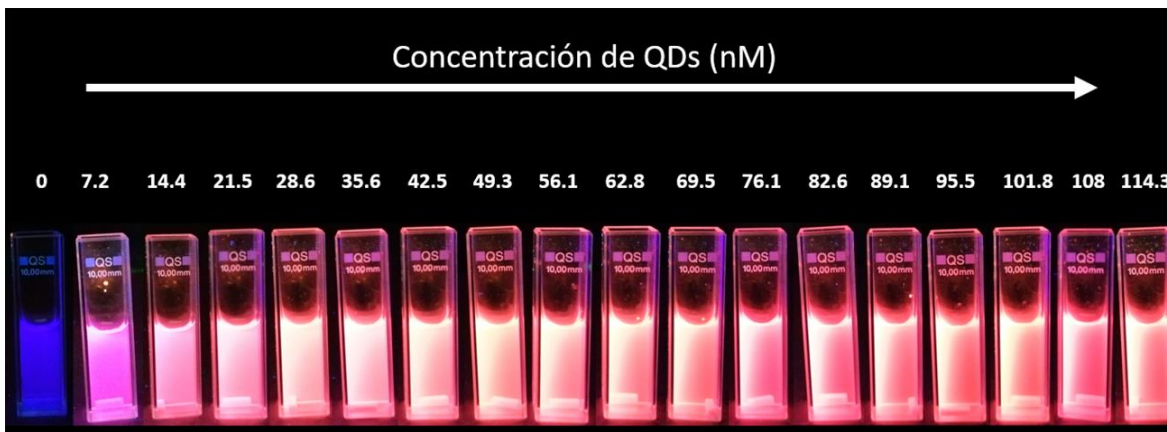


Figura 37. Titulación de Trp frente a QDs de CdTe@AMP bajo luz UV.

Por otra parte, se determinaron los parámetros principales que caracterizan el proceso FRET como son: la eficiencia (E), la distancia de Förster (R_0), la distancia donador-aceptor (r_0) y la integral de traslape (J).

La eficiencia (E) se determinó usando la Ecuación 7

$$E = 1 - \frac{F_{DA}}{F_D} = \frac{R_0^6}{R_0^6 + r^6} \quad (7)$$

donde E es la eficiencia del proceso FRET, F_{DA} es la intensidad de fluorescencia integrada del donador en presencia del aceptor, F_D es la intensidad

de fluorescencia integrada del donador en ausencia del aceptor, R_0 es la distancia de Förster para la cual ha ocurrido una transferencia de energía del 50% y r es la distancia entre el donador y aceptor.

La distancia de Förster se determina mediante la Ecuación 8:

$$R_0^6 = 8.79 \times 10^{-25} K^2 n^{-4} \Phi J(\lambda) \quad (8)$$

donde K^2 es el factor de orientación relativa en el espacio relacionado a las transiciones de los dipolos del donador y aceptor, el cual para una orientación aleatoria se asume un valor de 2/3; Φ representa el rendimiento cuántico del donador en ausencia del aceptor; n es el índice de refracción del medio y $J(\lambda)$ la integral de traslape de la emisión del donador y la absorción del aceptor. Este último parámetro se calcula usando la Ecuación 9:

$$J(\lambda) = \int_0^{\infty} F_D(\lambda) \varepsilon_A(\lambda) \lambda^4 d\lambda \quad (8)$$

donde $F_D(\lambda)$ es la intensidad de fluorescencia integrada corregida del donador en el intervalo de longitudes de onda de $\lambda + \Delta\lambda$ y ε_A es el coeficiente de absortividad del aceptor de λ . En la Tabla 6 se muestra un resumen de los parámetros FRET de los conjugados Trp-QDs, obtenidos de las ecuaciones 7-9.

Tabla 6. Parámetros FRET de los conjugados Trp-QDs.

Conjugado	$J(\text{cm}^3\text{Lmol}^{-1})$	E	$R_0(\text{nm})$	$r(\text{nm})$
Trp-QDs	7.08×10^{-13}	0.85	4.97	3.70

Para obtener un análisis más detallado del sistema FRET, se grafica la dependencia de la intensidad de fluorescencia relativa del Trp a la longitud de onda de emisión máxima con la relación [Trp]/[QDs]. En la Figura 38 se puede observar la disminución de la intensidad de fluorescencia del Trp a medida que se va incrementando la concentración de QDs, y un aumento de la intensidad de fluorescencia de los QDs a medida que aumenta la relación [Trp]/[QDs] hasta llegar a un punto de saturación.

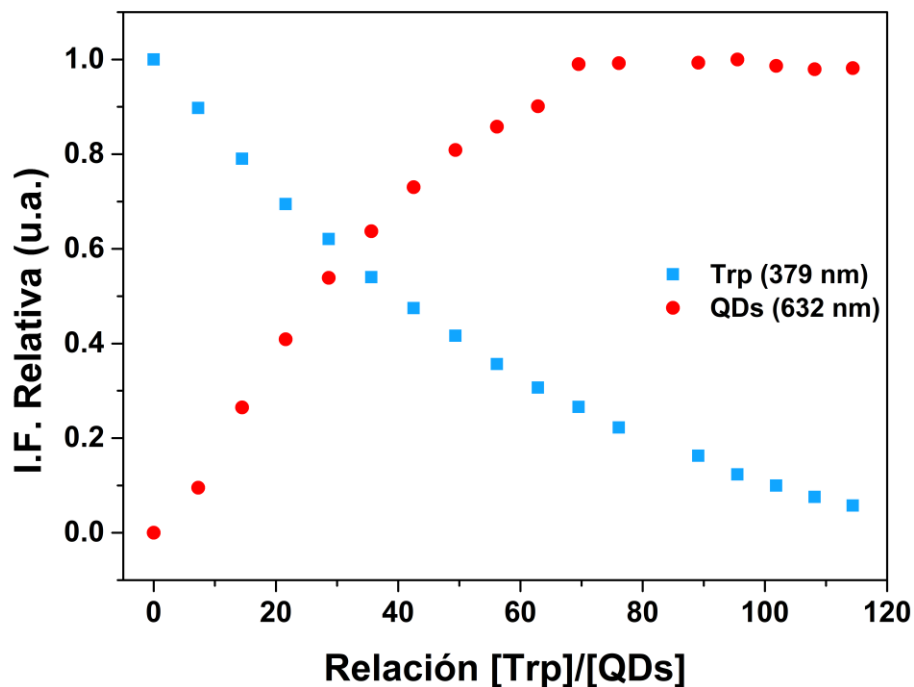


Figura 38. Gráficos de intensidad de fluorescencia relativa contra la relación [Trp]/[QDs].

Para conocer el tipo de abatimiento de fluorescencia presente, ya sea dinámico o estático, se usó la ecuación de Stern Volmer que se muestra a continuación:

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{sv}[Q] \quad (10)$$

donde F_0 es la intensidad de fluorescencia en ausencia del abatidor, F es la intensidad de fluorescencia en presencia de abatidor, K_{sv} es la constante de Stern-Volmer y $[Q]$ es la concentración del abatidor. La Figura 38 muestra un comportamiento no lineal de F_0/F en función de la concentración del abatidor, indicando que está ocurriendo tanto un proceso de abatimiento estático, como dinámico.

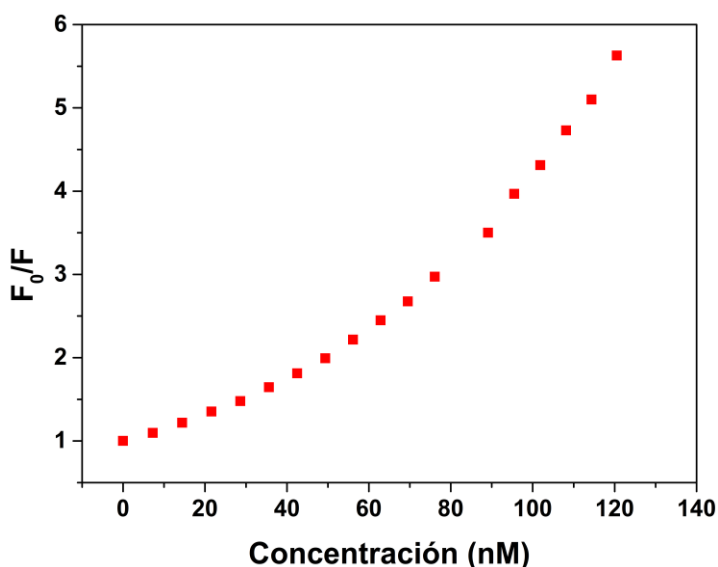


Figura 39. Gráficos de la Ecuación de Stern-Volmer.

Para la determinación del valor de las constantes se utilizó la Ecuación de Stern-Volmer modificada, el cual explica el modelo de un abatimiento estático (Ecuación 11):

$$\frac{1}{F_0 - F} = \frac{1}{F_0} + \frac{1}{KF_0[Q]} \quad (11)$$

donde K es la constante de enlace del complejo donador-abatidor.

5.4.6.2 Sistema FRET para el reconocimiento y detección de iones metálicos

Los sensores fluorescentes para la detección de especies metálicas son basados solo por el cambio de la intensidad de la fluorescencia (encendido o apagado). Sin embargo, la mayoría de éstos no son de uso práctico, ya que el cambio de la intensidad de fluorescencia individual no es altamente reproducible debido a la interferencia de la eficiencia instrumental o a las condiciones ambientales. Es por ello, la importancia del uso de sensores fluorescentes radiométricos basados en FRET, ya que estos reducen las limitaciones mencionadas anteriormente mediante auto calibración.

Por otra parte, se sabe que el cobre está presente de forma natural en todas las aguas, sedimentos y suelos. En la literatura, se ha reportado que el ion Cu^{2+} juega un papel importante para medios biológicos, sin embargo, en concentraciones altas es tóxico para la salud causando enfermedades neurodegenerativas. Es por ello, que se usó como analito para los estudios que se muestran a continuación.

En el presente trabajo, los conjugados Trp-QDs presentan respuesta al ion Cu^{2+} . Como bien se mencionó, una medición radiométrica involucra la relación de dos intensidades de emisión a longitudes de onda diferentes, un ejemplo de ello se aprecia en la Figura 41. Una de las características de estos sistemas es observar que un pico de emisión permanece como señal de referencia (constante), en este sentido, el Trp cumple con esta función (Figura 41a). Mientras tanto, el otro pico de emisión tiene la función de ser la señal de informe (abatimiento de la intensidad),

para este caso, a medida que se va incrementando la concentración de Cu^{2+} (0 a $36.70 \mu\text{M}$) la intensidad de fluorescencia de los QDs va disminuyendo (Figura 41b).

Adicionalmente, en la Figura 42 se muestra la variación del cambio de color en la emisión del sensor fluorescente radiométrico de Trp-QDs. A una concentración de $45.40 \mu\text{M}$ de Cu^{2+} , se aprecia que la fluorescencia de los QDs es abatida completamente por el efecto de este metal. Por otro lado, se recupera la emisión en azul correspondiente al Trp como señal de referencia.

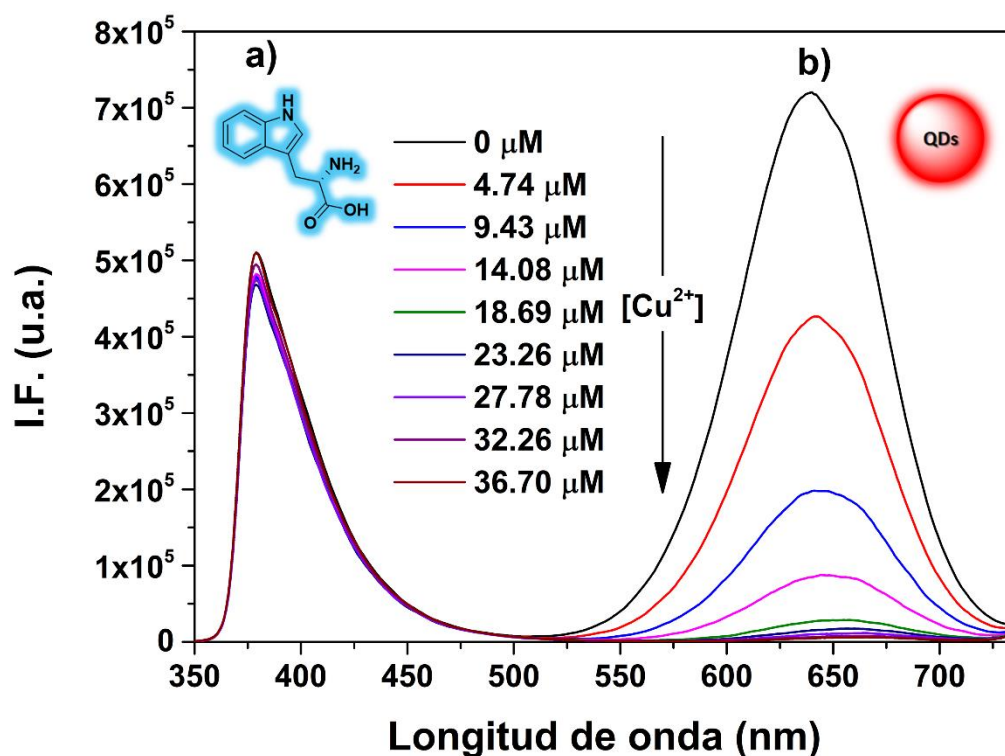


Figura 40. Espectros de fluorescencia del sensor radiométrico Trp-QDs adicionando concentraciones diferentes de Cu^{2+} : a) señal de referencia (Trp) y b) señal de informe (QDs).

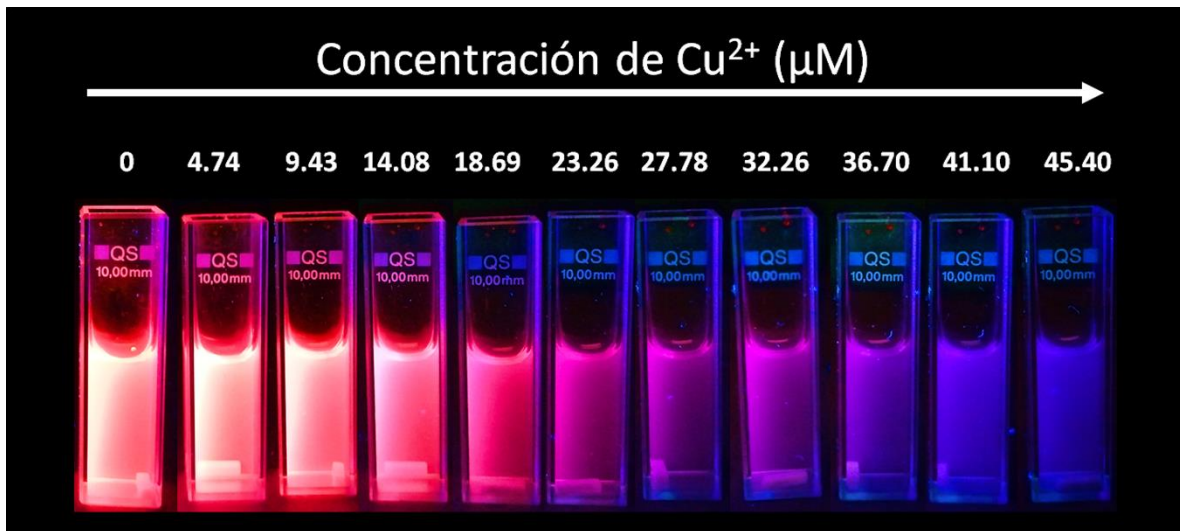


Figura 41. Imágenes de fluorescencia del reconocimiento de Cu^{2+} mediante el sensor radiométrico de Trp-QDs en luz UV.

Los gráficos de Stern-Volmer demuestran que no hay linealidad en el intervalo de concentración estudiado, lo que indica que están presentes los dos tipos de abatimiento: el dinámico y el estático (Figura 43).

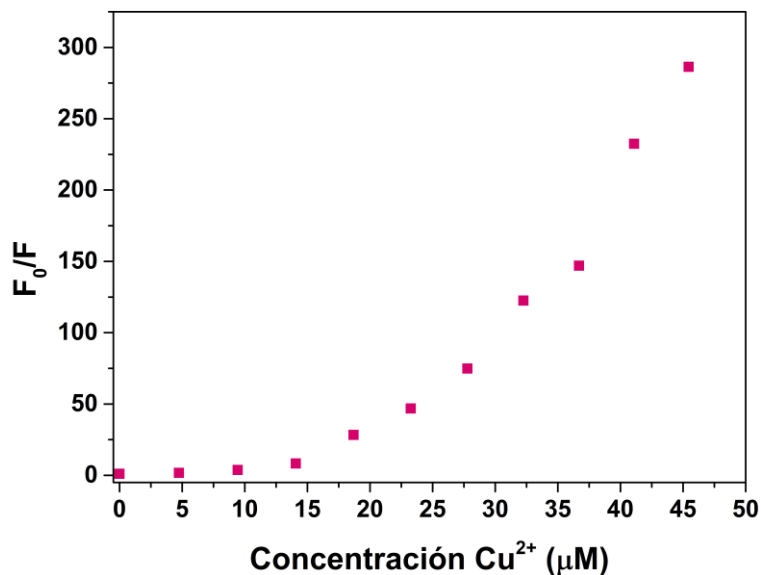


Figura 42. Gráficos de Stern-Volmer del sensor radiométrico de Trp-QDs frente a concentraciones diferentes de Cu^{2+} .

En un análisis más detallado, en los gráficos de F_0-F vs $[Q]$ se observa que presenta linealidad a concentraciones muy bajas entre 0 a 15 μM , lo que indica que en este intervalo de concentraciones predomina solo un tipo de abatimiento (Figura 44). Con base en estos estudios, se utilizó la Ecuación de Stern-Volmer modificada ya que este describe el tipo de abatimiento estático. El gráfico correspondiente es $1/F_0-F$ vs $1/[Q]$ el cual permite determinar las constantes del enlace del complejo donador-aceptor (Figura45). Para estos conjugados la constante de enlace es de $6 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$.

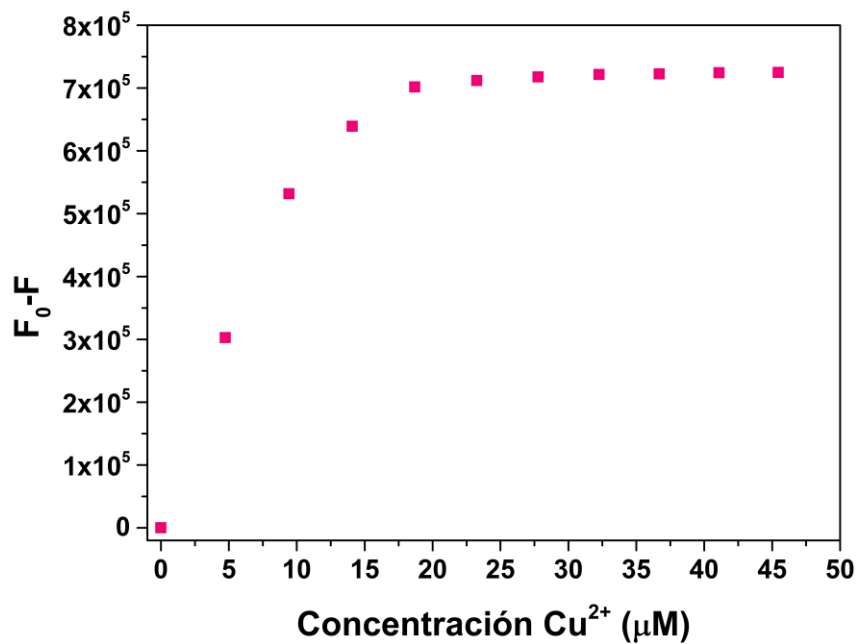


Figura 43. Gráfico de relación F_0-F con respecto a la concentración.

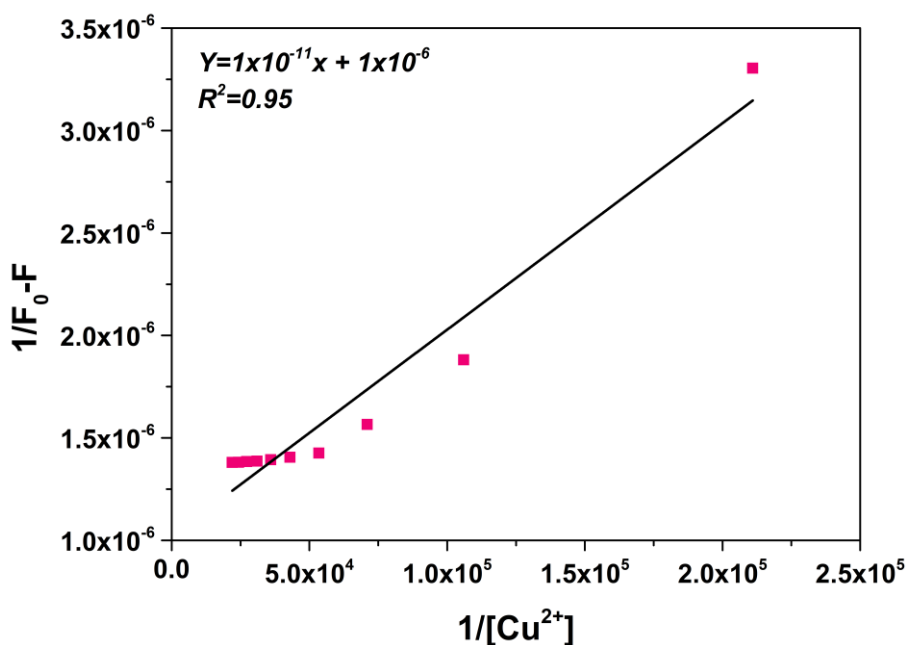


Figura 44. Gráfico de Stern-Volmer modificado del sensor fluorescente radiométrico de Trp-QDs frente a concentraciones de Cu^{2+} .

5.5 Incorporación de materiales biocompatibles por el método de capa por capa

Una de las técnicas más novedosas para el recubrimiento de materiales biocompatibles en la superficie de nanopartículas es la ingeniería de capa por capa (LbL), la cual consiste en el autoensamblaje de especies catiónicas y aniónicas que permitan modificar la superficie de las nanoestructuras.

En la Tabla 6 se muestra un resumen de todos los materiales sintetizados hasta el momento. La etapa uno constituye la obtención de las NPMs de Fe_3O_4 , la etapa dos la modificación con los aminoácidos y la etapa tres la conjugación de NPMs de $Fe_3O_4@AA$ con QDs. Cabe mencionar, que estos fueron separados en relación con la naturaleza de los aminoácidos. El grupo A constituido por aminoácidos básicos y el grupo B constituido por aminoácidos hidrofóbicos. Para la

modificación superficial con los polímeros biocompatibles de las NPMsF de $\text{Fe}_3\text{O}_4@AA@QDs$ se decidió tomar el grupo A como primeros sistemas de estudios preliminares.

Tabla 7. Resumen de nanomateriales sintetizados por etapas.

Grupo	Etapa 1	Etapa 2	Etapa 3
		$\text{Fe}_3\text{O}_4@AA$	$\text{Fe}_3\text{O}_4@AA@QDs$
A	Fe_3O_4	$\text{Fe}_3\text{O}_4@Arg$	$\text{Fe}_3\text{O}_4@Arg@QDs$
		$\text{Fe}_3\text{O}_4@Lys$	$\text{Fe}_3\text{O}_4@Lys@QDs$
		$\text{Fe}_3\text{O}_4@Gly$	$\text{Fe}_3\text{O}_4@Gly@QDs$
B	Fe_3O_4	$\text{Fe}_3\text{O}_4@Trp$	$\text{Fe}_3\text{O}_4@Trp@QDs$
		$\text{Fe}_3\text{O}_4@Tyr$	$\text{Fe}_3\text{O}_4@Tyr@QDs$
		$\text{Fe}_3\text{O}_4@Phe$	$\text{Fe}_3\text{O}_4@Phe@QDs$

Los $\text{Fe}_3\text{O}_4@AA@QDs$ fueron recubiertas con polímeros biocompatibles utilizando Policloruro de dimetilamonio (Dadmac) y alginato de sodio (Alg).

Se estudió el número de capas posibles para la incorporación de estos materiales. Además, en la última capa se inmovilizó FA con el objetivo de tener un elemento de orientación para la detección de células de cáncer. Un esquema general se muestra en la Figura 46 del nanomaterial bajo estos criterios.

Incorporación de polímeros biocompatibles por LbL

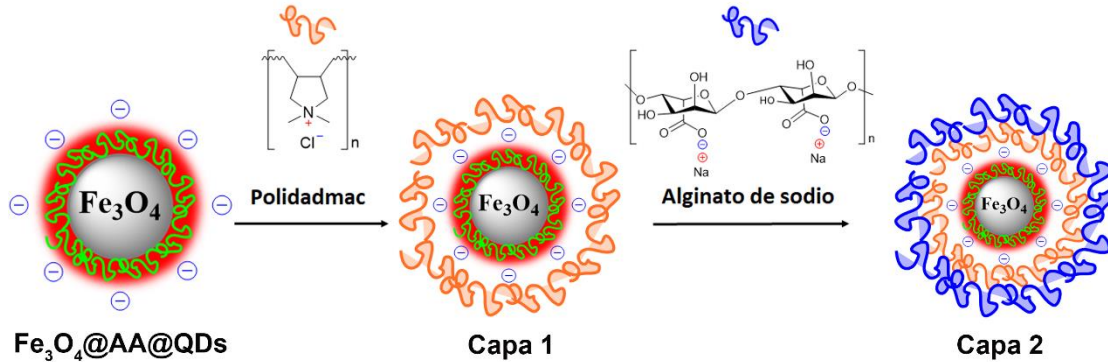


Figura 45. Método de capa por capa para la incorporación de materiales biocompatibles.

Una vez que se obtuvieron las NPMsF $\text{Fe}_3\text{O}_4@AA@QDs$ del grupo A, éstas se modificaron con polímeros para dotarlas con características biocompatibles. Para poder aplicar el método de capa por capa, es importante conocer la densidad de carga superficial de los $\text{Fe}_3\text{O}_4@AA@QDs$. En la Figura 47 se muestra el estudio de potencial Z de los nanocompositos de $\text{Fe}_3\text{O}_4@AA@QDs$. Para este caso, presentan valores de potencial Z de -24.18 mV, -25.12 mv y -25.21 mV para $\text{Fe}_3\text{O}_4@Arg@QDs$, $\text{Fe}_3\text{O}_4@Lys@QDs$ y $\text{Fe}_3\text{O}_4@Gly@QDs$, respectivamente.

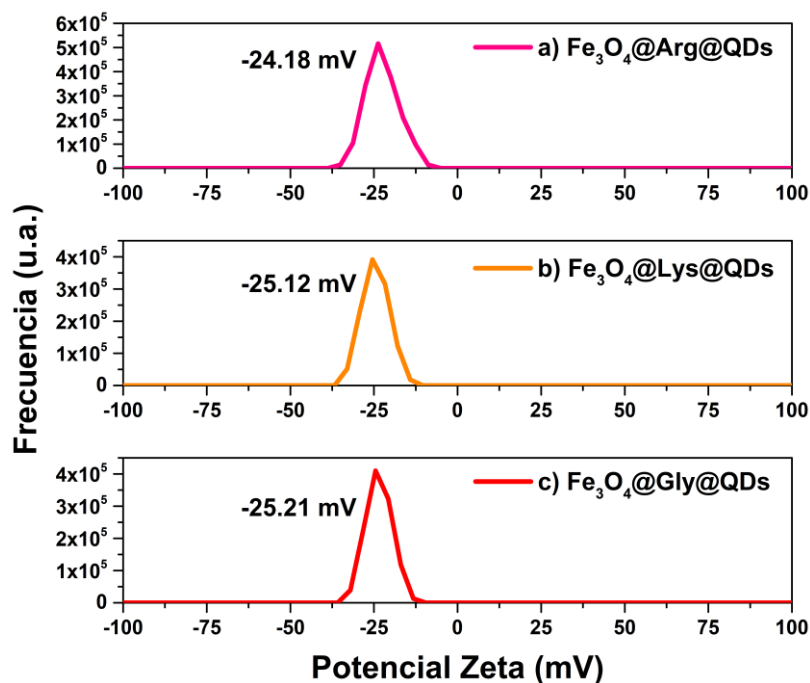


Figura 46. Estudio de potencial Z de las nanopartículas magnéticas fluorescentes: a) $\text{Fe}_3\text{O}_4@Arg@QDs$, b) $\text{Fe}_3\text{O}_4@Lys@QDs$ y c) $\text{Fe}_3\text{O}_4@Gly@QDs$.

La densidad de carga negativa es atribuida a los grupos ácidos del ligando AMP presentes en la superficie de los QDs. Cabe resaltar que los $\text{Fe}_3\text{O}_4@AA@QDs$ se encuentran dispersos a un pH 7.4 (fisiológico); en estas condiciones, el grupo ácido se encuentra en su forma de carboxilato (Figura 48).

Por otra parte, en la Figura 49 se muestra un estudio de potencial Z correspondiente a las tres etapas de síntesis, es evidente que la carga superficial de las NPMs de Fe_3O_4 va cambiando a medida que se modifican con los aminoácidos y los QDs.

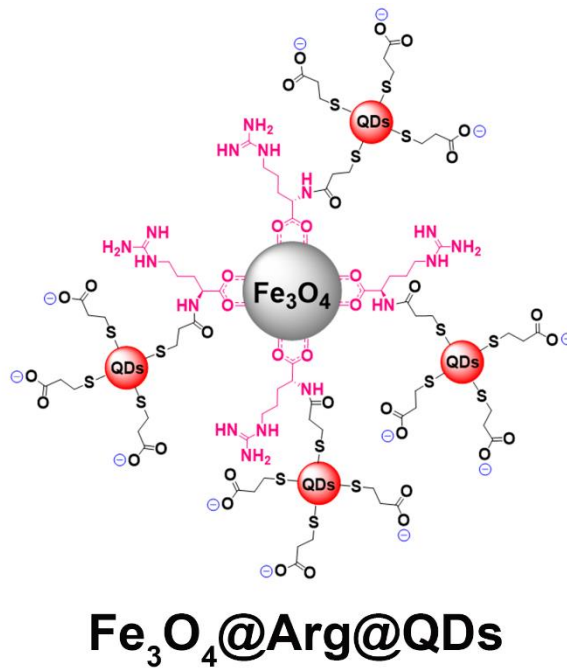


Figura 47. Estructura del nanocomposito Fe₃O₄@Arg@QDs.

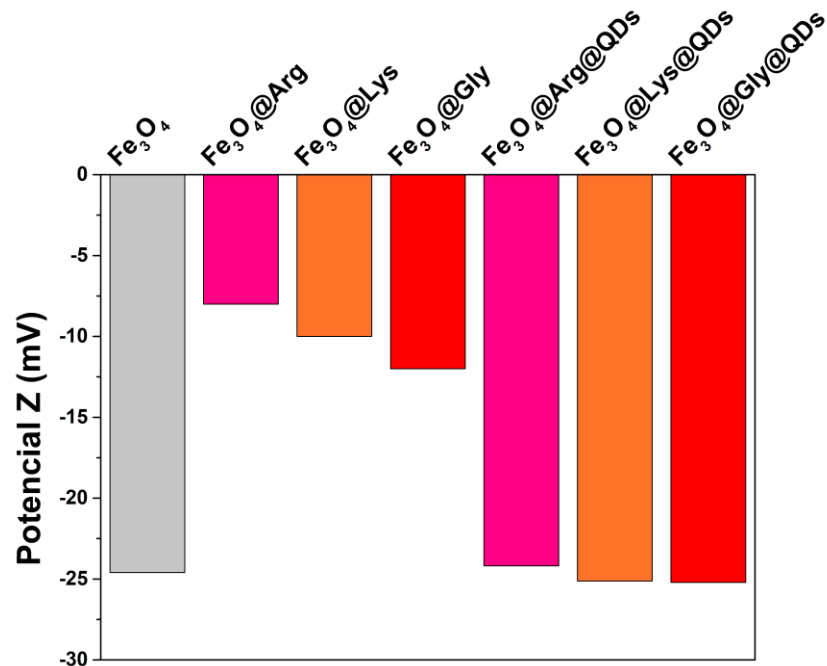


Figura 48. Variación del potencial Z de NPMs de Fe₃O₄, Fe₃O₄@AA y Fe₃O₄@AA@QDs.

Considerando los estudios anteriores por potencial Z, se determinó utilizar la técnica de capa por capa (LBL por sus siglas en inglés) para la incorporación de los biopolímeros a través de interacciones electrostáticas. Se inició utilizando los biopolímeros quitosano y alginato de sodio para los recubrimientos correspondientes. Sin embargo, el experimento no procedió debido a que la propiedad luminiscente de los QDs fue abatida completamente. Esto se debe a que las soluciones de quitosano estaban en ácido acético al 2%, debido a que no es soluble en medio acuoso. Se realizó una prueba cualitativa y la primera muestra se llevó a luz ultravioleta donde se evidenciaba el abatimiento del punto cuántico por el efecto de pH. Tomando en cuenta estos resultados, se decidió cambiar de polímero, para uno que presentara una densidad de cargas positivas y que resultara soluble en un medio acuoso. Se seleccionó el poli (cloruro de dimetilamonio) (Polidadmac) como nuevo polímero con densidad de carga positiva (Figura 50).

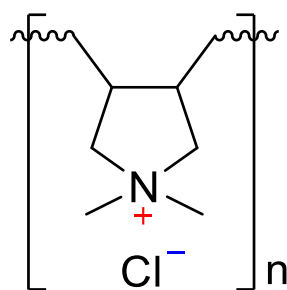


Figura 49. Poli (cloruro de dimetilamonio).

Cabe mencionar que este polímero es sintético; sin embargo, se ha demostrado que no presenta citotoxicidad con las especies de carácter biológico.

Los resultados obtenidos de estos recubrimientos se presentan a continuación. En la Figura 51 se presentan los diagramas de fase obtenidos mediante potencial Z. En la columna A se puede apreciar la carga superficial negativa de $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Arg}@\text{QDs}$ (I), $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Lys}@\text{QDs}$ (II), $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Gly}@\text{QDs}$ (III), no obstante, cuando se incorporó la primera capa del polímero poli (cloruro de dimetilamonio) con densidad de carga positiva, se observó que la superficie de las NPMsF cambió de negativo a positivo, como se aprecia en los diagramas de fase de la columna B. Este efecto ocurre para las tres NPMsF.

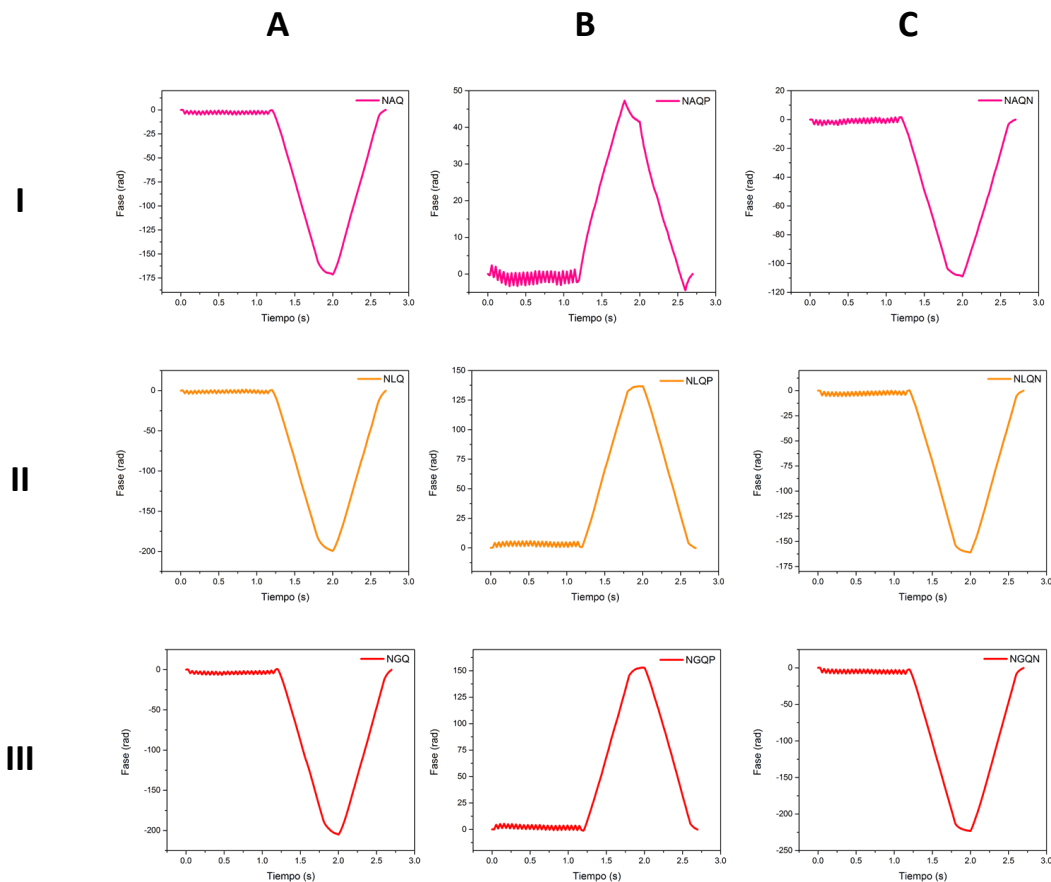


Figura 50. Diagramas de fase de potencial Z: I) NAQ, II) NLQ y III) NGQ. Columna A: NPMsF, Columna B: Primera capa con Polidadmac, Columna C: Segunda capa con alginato de sodio.

Después que se hicieron lavados con agua destilada y se eliminó el sobrenadante por decantación magnética, se prosiguió con la incorporación de la segunda capa de polímero. Dado que las NPMsF ahora presentan una carga superficial positiva por efecto del Polidadmac ($\text{Fe}_3\text{O}_4@AA@QDs@P$), se utilizó el alginato ya que este presenta grupos carboxílicos que le confieren carga negativa a las nanopartículas, lo cual permite la interacción con el Polidadmac y así generar la segunda capa de recubrimiento. El resultado obtenido se muestra en la columna C de la Figura 51 de tal manera que la carga superficial pasa de ser positiva a negativa ($\text{Fe}_3\text{O}_4@AA@QDs@N$), confirmando mediante los diagramas de fase que el alginato de sodio fue incorporado en la superficie de los nanocompositos fluorescentes.

Por otra parte, se demostró la incorporación de hasta cinco capas de polímeros sobre la superficie de las nanopartículas magnéticas fluorescentes (Figura 52). Para los tres sistemas, se observa una tendencia similar con respecto a la carga superficial que presentan. Esto es importante debido a que hay posibilidades de cargar agentes terapéuticos entre cada capa, permitiendo obtener un mejor control en la liberación de fármaco. Además, le confieren biocompatibilidad y estabilidad a los nanocompositos. En la Tabla 8 se muestra un resumen de los valores de potencial Z obtenidos.

Tabla 8. Valores de potencial Z en cada etapa de recubrimiento.

Muestra	Valores de potencial Z (mv)					
	NPMsF	Dadmac	Alginato	Dadmac	Alginato	Dadmac
Fe ₃ O ₄ @Arg@QDs	-24	26	-20	25	-20	27
Fe ₃ O ₄ @Lys@QDs	-25	20	-24	20	-22	42
Fe ₃ O ₄ @Gly@QDs	-25	24	-18	23	-21	21

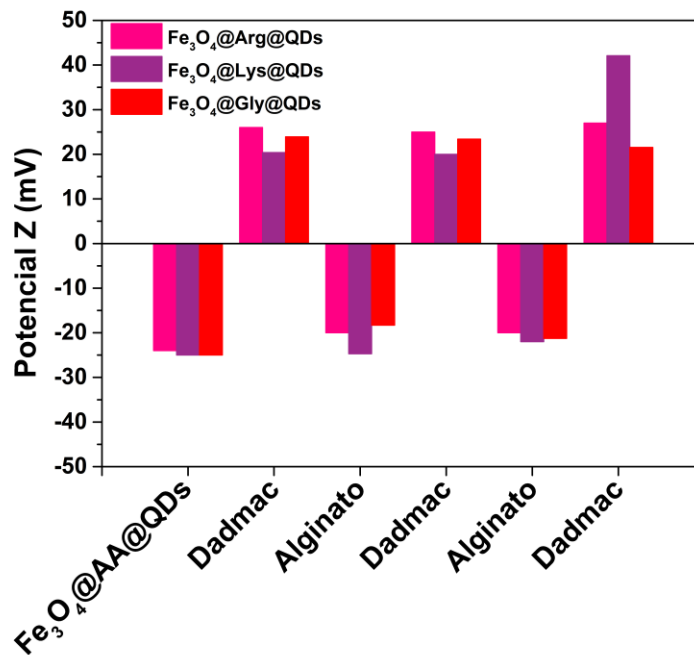


Figura 51. Incorporación de cinco capas de polimeros sobre la superficie de las NPMsF de Fe₃O₄@AA@QDs.

Se obtuvieron los espectros de fluorescencia molecular de las NPMsF cuando se hizo la incorporación de las dos capas poliméricas (Dadmac y alginato). En la Figura 53, se puede apreciar la banda de emisión máxima a 650 nm característico de los QDs de los tres sistemas ($\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Arg}@ \text{QDs}$: NAQ, $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Lys}@ \text{QDs}$: NLQ y $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Gly}@ \text{QDs}$: NGQ). Estos resultados confirman que no existe ninguna interferencia de los polímeros Dadmac y alginato en las propiedades ópticas de los QDs.

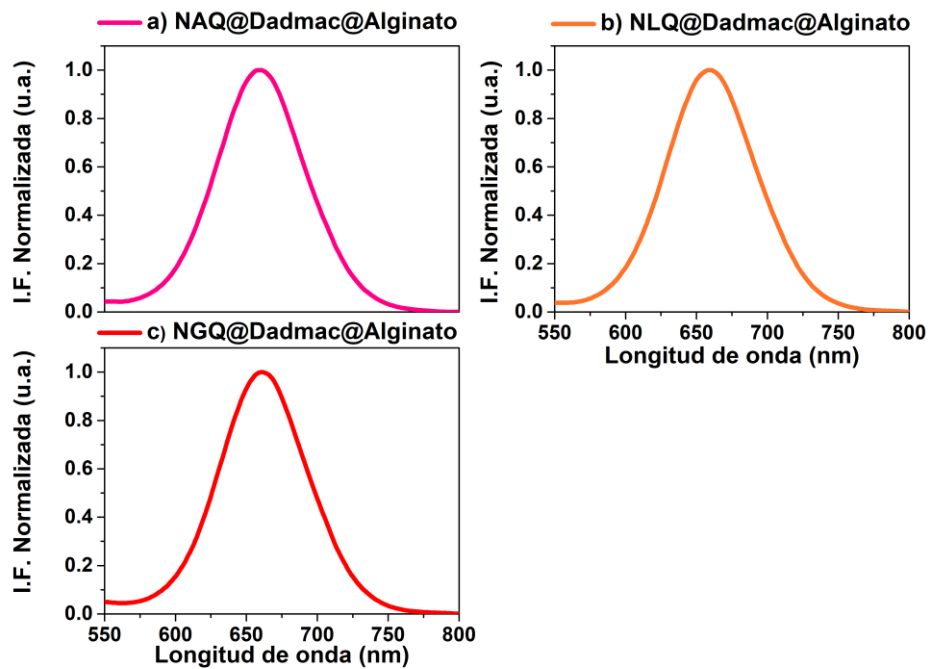


Figura 52. Espectros de fluorescencia molecular de las NPMsF modificadas con polímeros: a) NAQ, b) NLQ y c) NGQ.

5.5.1 Incorporación de ácido fólico en nanopartículas magnéticas fluorescentes modificadas con materiales biocompatibles

La incorporación de ácido fólico (FA) en las NPMsF modificadas con polímeros biocompatibles, se llevó a cabo utilizando la técnica de capa por capa, a un pH de 7.4. Con los estudios mostrados en la sección 5.5 se demostró la modificación de las NPMsF hasta con cinco capas de polímeros alternados. Con base en esto, se propuso la incorporación del ácido fólico en la última capa (la estructura molecular del ácido fólico se muestra en la Figura 54). En referencia con lo anterior, el FA puede incorporarse en la tercera capa, que está constituida de Polidadmac (carga positiva), esto se debe a que a un pH 7.4 el FA se encuentra en su forma de folato (grupos ácidos desprotonados) ya que los pka del α -carboxilo y γ -carboxil son de 3.5 y 5, respectivamente.⁹⁹

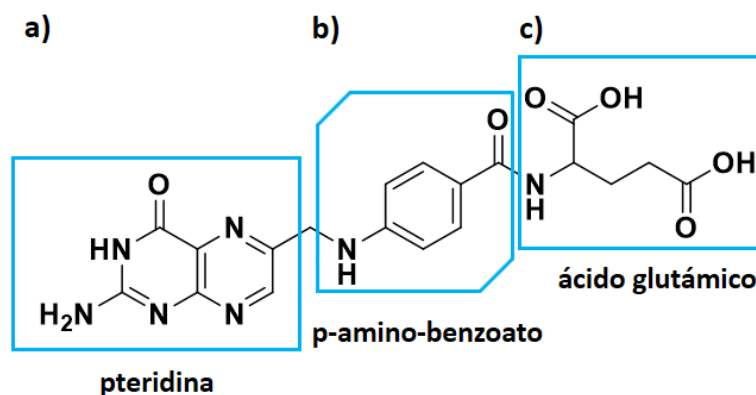


Figura 53. Estructura química del FA: a) pteridina, b) p-amino-benzoato y c) ácido glutámico.

Por lo tanto, se desarrollaron las siguientes arquitecturas para la incorporación de FA en las NPMs fluorescentes ($\text{Fe}_3\text{O}_4@AA@QDs$):

NAQBioFA NAQ@ Dadmac@Alginato@Dadmac@FA

NLQBioFA NLQ@ Dadmac@Alginato@Dadmac@FA

NGQBioFA NGQ@ Dadmac@Alginato@Dadmac@FA

Bio: Dadmac@Alginato@Dadmac

5.5.1.1 Caracterización por potencial Z

Para el ensamble del FA en las NPMsF, se llevaron a cabo mediciones de potencial Z. En la Figura 55, se muestra la incorporación de tres capas de polímero (NPMsF-Dadmac@Alginato@Dadmac) seguido del FA.

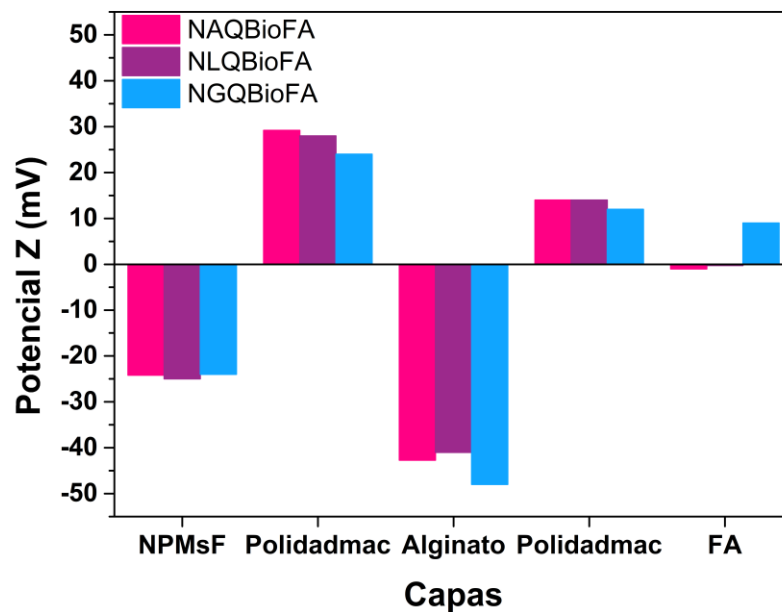


Figura 54. Cambios en el potencial Z por el ensamblaje de polidadmac, alginato de sodio y FA sobre las NPMsF (pH 7.4).

Se puede apreciar, que en la tercera capa correspondiente al Dadmac, estas presentan cargas superficiales positivas para los tres sistemas (NAQ, NLQ, NGQ). Como se mencionó anteriormente, el FA se encuentra en su forma de folato a un pH 7.4 adquiriendo una carga negativa, por lo que, es de esperarse que tenga una interacción electrostática con el polidadmac.

Con referencia a esto, se observa una disminución en la carga superficial de 14 a -1 mV, 14 a 0 mV y 12 a 9 mV para NAQBioFA, NLQBioFA y NGQBioFA, respectivamente. En la Tabla 8 se muestra un resumen de los valores de potencial Z obtenidos en cada etapa.

Tabla 9. Valores de potencial Z en cada etapa del método de capa por capa.

Muestra	NPMsF	Polidadmac	Alginato	Polidadmac	FA
NAQ	-24	29	-42	14	-1
NLQ	-25	28	-41	14	0
NGQ	-24	24	-48	12	9

En la Figura 56 se muestra un estudio cualitativo donde se observa que a medida que se incorporan las capas de los polímeros compatibles las propiedades ópticas de los QDs se mantienen. Sin embargo, cuando se adiciona el FA como última capa se aprecia el abatimiento de la fluorescencia del sistema. En la literatura se ha reportado que el FA es un fuerte abatidor de la fluorescencia debido a su flexibilidad y las fuertes interacciones de los grupos carboxílicos entre los átomos de Cd de los QDs.⁶ Debido a la afinidad alta que tienen los receptores de folato hacia el FA, una vez que se lleve el reconocimiento, se espera que la emisión de los QDs se recupere.

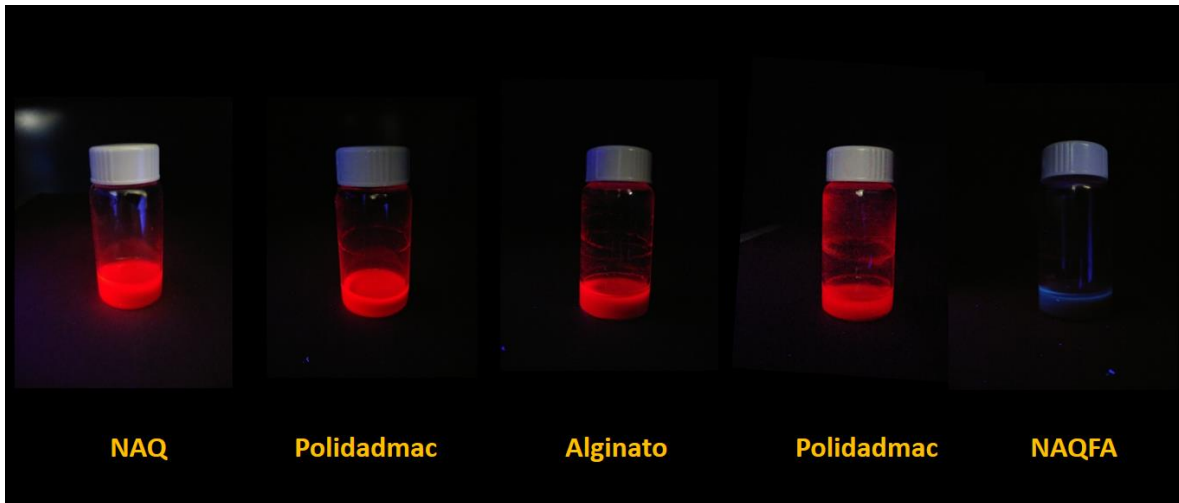


Figura 55. Imágenes tomadas de NAQ bajo luz UV en cada etapa del método de capa por capa.

5.5.1.2 Caracterización por microscopía electrónica de barrido por emisión de campo

Para determinar el tamaño y morfología de las NPMsF (NAQBioFA, NLQBioFA y NGQBioFa) modificadas con ácido fólico, estas fueron caracterizadas por FE-SEM (Figura 57). En las imágenes, se puede observar que los nanomateriales se encuentran en forma de agregados de partículas, con morfologías esféricas. A pesar, de la incorporación de 3 capas de polímeros y FA en la superficie de las NPMs el tamaño de partícula se mantiene por debajo de los 100 nm. Por otra parte, se realizó un mapeo elemental de las NAQBioFA para determinar la composición de éstos. En la Figura 58 se puede apreciar distribución elemental de la composición de las NAQBioFA. Podemos observar la presencia de átomos de C, O, S, N atribuidos a la materia orgánica (aminoácidos, AMP y FA).

También se muestra distribución elemental de Cd y Te, esto es por la presencia de QDs de CdTe@AMP y átomos de Fe correspondiente a la magnetita.



Figura 56. Imágenes de FE-SEM de NPMsF modificadas con FA: a) NAQBioFA, b) NLQBioFA y c) NGQBioFA.

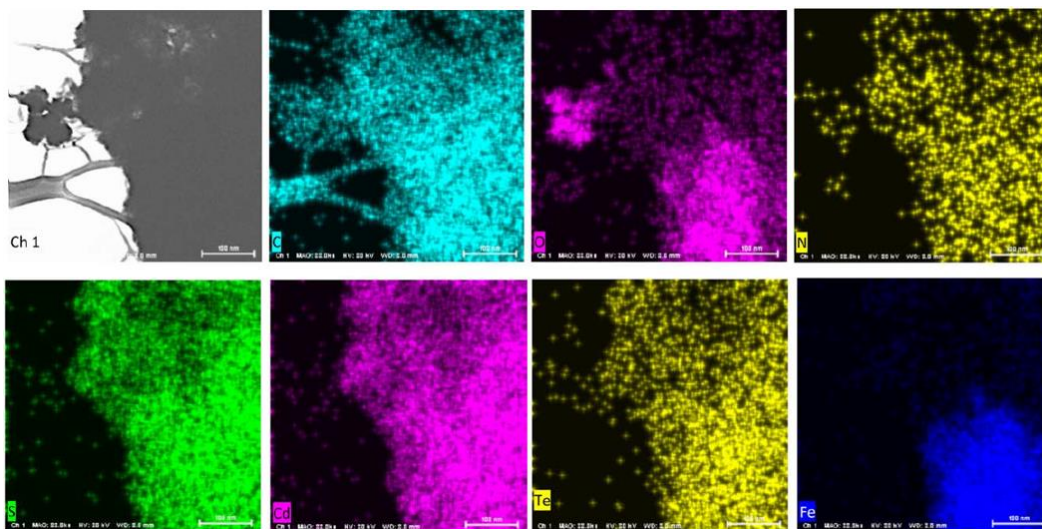


Figura 57. Mapeo elemental de las NAQ modificadas con FA.

5.6 Estudio de encapsulación de doxorrubicina en nanopartículas magnéticas fluorescentes

5.6.1 Caracterización por espectroscopia de UV-Visible y de fluorescencia

Previamente, se caracterizó el fármaco doxorrubicina (Dox) mediante las técnicas de espectroscopia de fluorescencia y UV-Vis. En la Figura 59a se observa un espectro de fluorescencia en 3D (excitación y emisión). En apoyo a estos resultados, mediante un mapa de contorno se aprecia que la longitud de onda de excitación máxima es de 475 nm y la longitud de onda de emisión máxima es de 590 nm (Figura 59b). Bajo estas condiciones, se obtuvo el espectro de fluorescencia de Dox, mostrando que la λ_{\max} es a 591 nm (Figura 60) y el espectro de UV-Vis con una banda de absorción a 500 nm característico del fármaco (Figura 61).

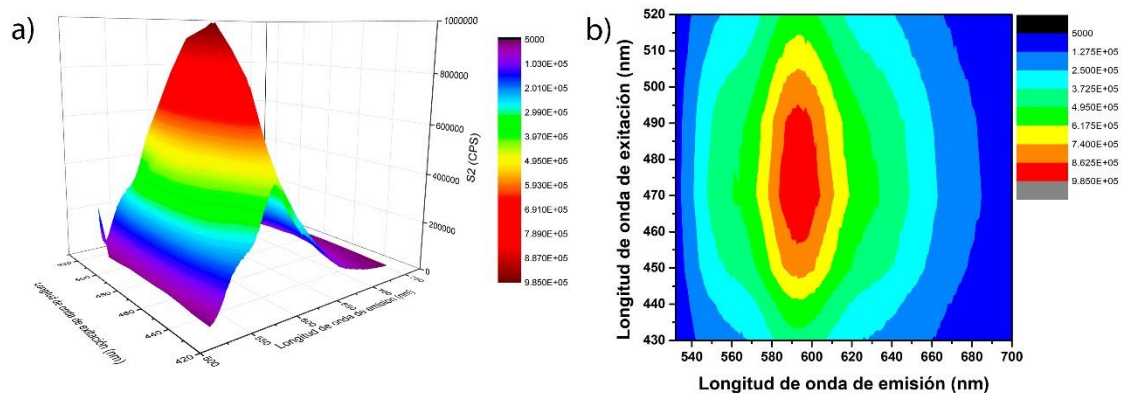


Figura 58. a) Espectro en 3D de la doxorrubicina, b) mapa de contorno de longitud de onda de excitación y emisión.

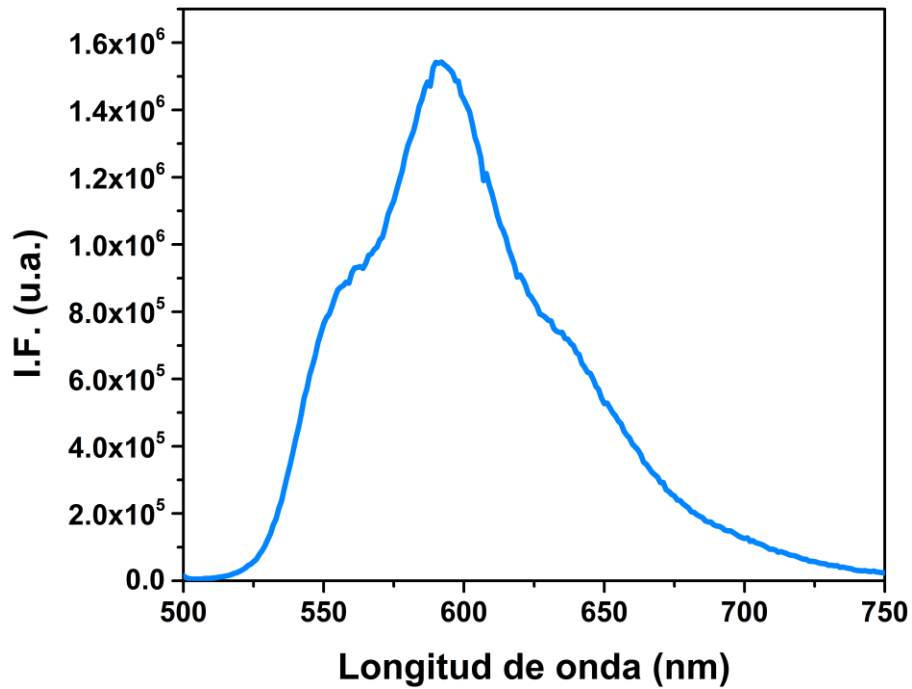


Figura 59. Espectro de fluorescencia de doxorubicina (λ_{em} a 591 nm).

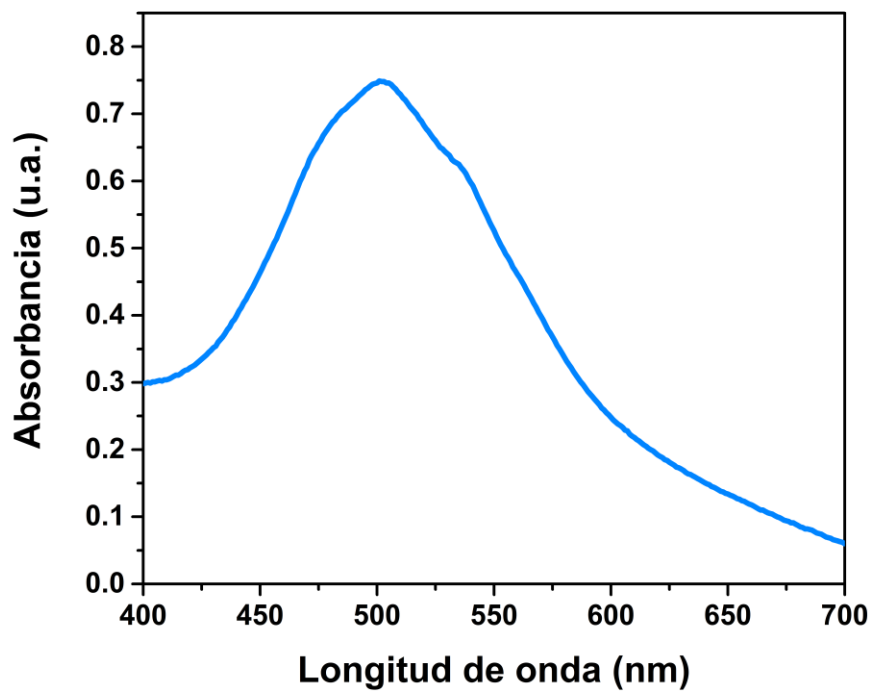


Figura 60. Espectro de UV-Vis de doxorubicina.

Las propiedades ópticas que presenta la Dox se deben a su estructura química, ya que es una molécula rígida, coplanar, y al presentar insaturaciones le permite la deslocalización de electrones debido a los grupos electrodonadores que presenta (Figura 62).

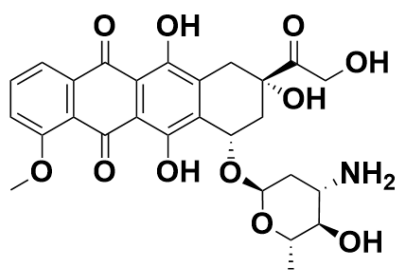


Figura 61. Estructura química de doxorubicina.

La encapsulación de doxorubicina en nanopartículas magnéticas fluorescentes se llevó a cabo utilizando la técnica de capa por capa. El equilibrio químico, por efecto de carga, de la doxorubicina se muestra en la Figura 63, donde se aprecian dos valores de pK_a , una a 8.2 correspondiente al grupo amino y otra a 9.5 correspondiente a grupos -OH de la antraciclina.¹⁰⁰

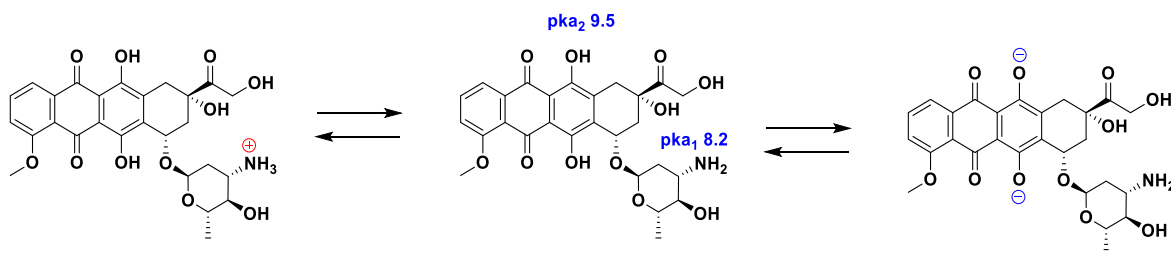


Figura 62. Equilibrio de disociación de doxorubicina en medio acuoso.

Con base en los resultados de potencial z de las nanopartículas magnéticas fluorescentes descritas en la sección 5.4.5, se demostró que la carga superficial es negativa para los tres sistemas, y debido a que la Dox es un fármaco catiónico, es posible inmovilizarlo en la superficie mediante interacción electrostática como se muestra en la Figura 64.

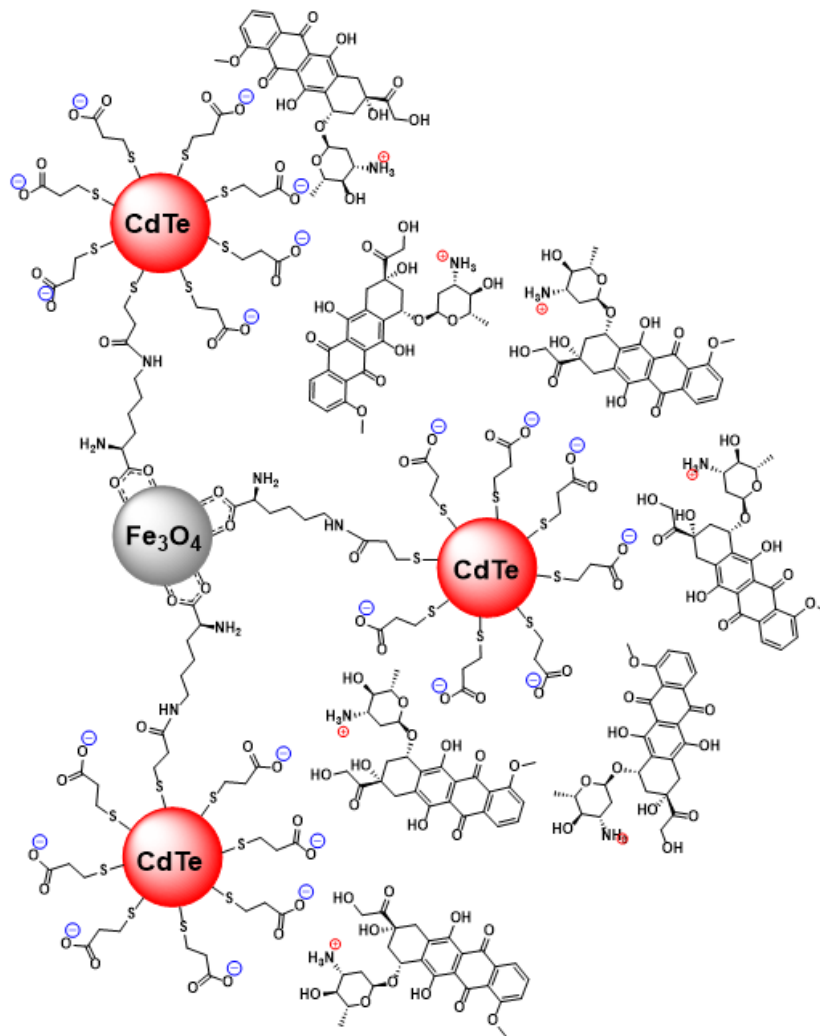


Figura 63. Interacción electrostática de doxorubicina frente a nanopartículas magnéticas.

5.6.2 Encapsulación de doxorubicina en nanopartículas magnéticas fluorescentes

Primeramente, se obtuvieron espectros de UV-Vis de Dox a concentraciones diferentes, partiendo de una concentración inicial de 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en solución tampón de 7.4 (PBS). A partir de estos resultados, se obtuvo la curva de calibración para la determinación de concentración de estudios posteriores (Figura 65). La ecuación de la recta obtenida fue $y=0.0081x+0.0175$ con un factor $R^2=0.9962$.

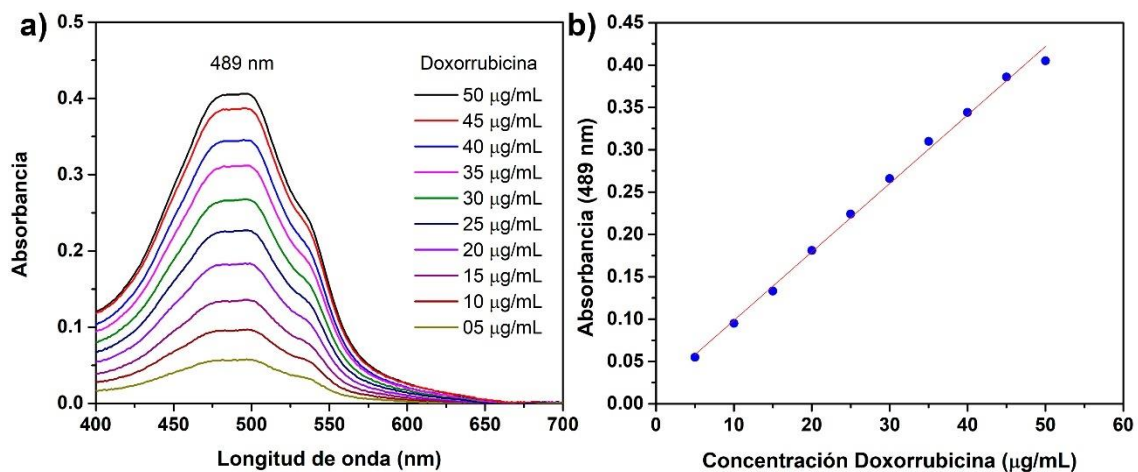


Figura 64. a) Espectros de UV Visible de doxorubicina a concentraciones diferentes y b) curva de calibración de doxorubicina.

Posteriormente, se adicionaron 2 mL de Dox (50 $\mu\text{g}/\text{mL}$) a un vial con 2 mL de $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Lys}@\text{QDs}$ y se dejó reaccionar por 15 min, en agitación por orbital. Pasado el tiempo se decantó la muestra y el sobrenadante fue medido por UV-Vis. En la Figura 66 se muestran los espectros de UV-Vis correspondiente a Dox libre y el sistema $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Lys}@\text{QDs}$ cargados con Dox. Tomando los valores de las absorbancias máximas y utilizando la curva de calibración, se determinó que la concentración de encapsulación fue de 41.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de Dox.

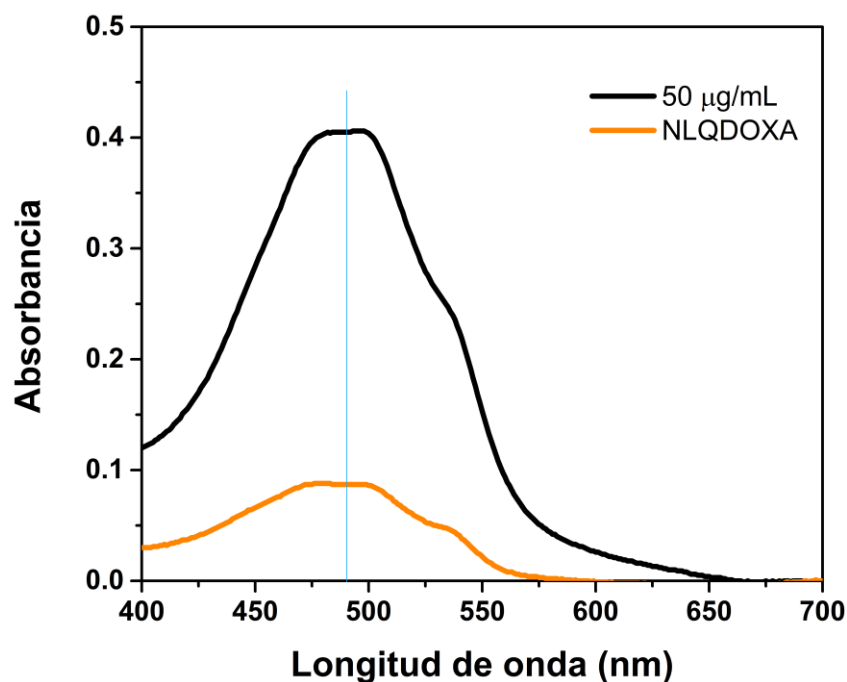


Figura 65. Encapsulación de doxorubicina frente al sistema $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Lys}@\text{QDs}$ (NLQDOXA).

Para determinar el porcentaje de eficiencia de encapsulación se utilizó la Ecuación 9:

$$Eficiencia\ cargado\ (\%) = \left(\frac{Abs_{Dox} - Abs_{sobDox}}{Abs_{Dox}} \right) * 100 \quad (9)$$

donde Abs_{Dox} es la absorbancia de doxorrubicina y Abs_{sobDox} es la absorbancia de Dox del sobrenadante. Sustituyendo los valores de las absorbancias obtenidas, se tiene que el porcentaje de eficiencia de cargado fue de 78.79%.

Para efectos, de experimentos posteriores, se hicieron 3 réplicas en cada sistema de cargado de fármaco. En la Figura 67 se muestran los espectros de UV-Vis confirmando la encapsulación de Dox frente a los sistemas $Fe_3O_4@AA@QDs$ -Dox, la concentración de Dox utilizada fue de 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Para todos los sistemas se obtuvo una encapsulación de Dox mayor al 78%, estos resultados se muestran en la Tabla 9.

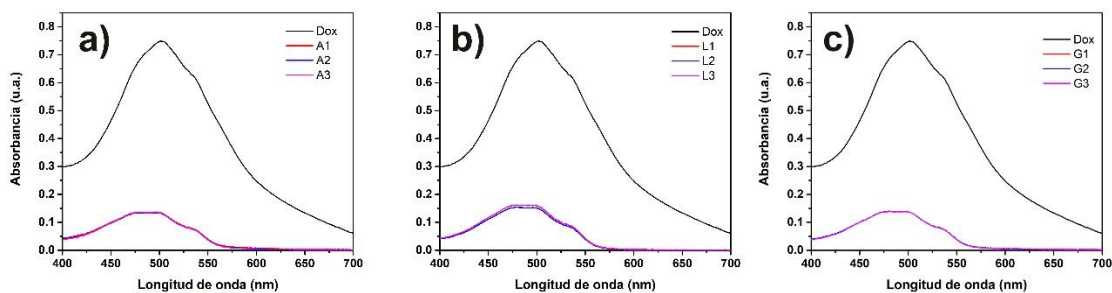


Figura 66. Espectros de UV-Vis de encapsulación de doxorrubicina en los sistemas $Fe_3O_4@AA@QDs$ -Dox: a) Arg, b) Lys y c) Gly.

Tabla 10. Resumen de réplicas de encapsulación de fármaco en sistemas Fe₃O₄@AA@QDs.

Muestra	Réplica	Abs _{Dox}	Abs _{sobDox}	% Eficiencia de encapsulación
Fe ₃ O ₄ @Arg@QDs@Dox	A1	0.747	0.136	81.79
	A2	0.747	0.134	82.06
	A3	0.747	0.135	81.93
Fe ₃ O ₄ @Lys@QDs@Dox	L1	0.747	0.162	78.31
	L2	0.747	0.152	79.65
	L3	0.747	0.160	78.58
Fe ₃ O ₄ @Gly@QDs@Dox	G1	0.747	0.137	81.66
	G2	0.747	0.138	81.53
	G3	0.747	0.139	81.39

5.7 Nanopartículas magnéticas fluorescentes para aplicación biomédica

Una vez corroborado la encapsulación del fármaco en las nanopartículas magnéticas fluorescentes, el estudio de capa por capa de los polímeros y la incorporación del FA, se diseñó el sistema final teragnóstico denotado como: Fe₃O₄@AA@QDs-Dox-Alginato-Dadmac-FA (Figura 68). Siguiendo el protocolo de capa por capa, en la Figura 69 se muestran los valores de potencial Z de los tres sistemas teragnósticos. Se puede apreciar, que conforme se va modificando la superficie, la carga superficial cambia (Tabla 10). Es evidente que la Dox tiene interacción con las nanopartículas magnéticas fluorescentes mediante fuerzas electrostáticas, ya que aumenta la carga superficial de -32 mV, -15 mV y -18 mV hasta valores de -8 mV, -2 mV y -4 mV para Fe₃O₄@Arg@QDs, Fe₃O₄@Lys@QDs y Fe₃O₄@Gly@QDs, respectivamente.

En relación con lo descrito anteriormente, el polímero alginato de sodio se descartó ya que los sistemas $\text{Fe}_3\text{O}_4@AA@QDs\text{-Dox}$ no presentaban una carga positiva muy evidente por efecto de la Dox. Se optó utilizar el Dadmac ya que es un polímero catiónico. Bajo estos resultados el nuevo sistema generado fue $\text{Fe}_3\text{O}_4@AA@QDs\text{-Dox-Dadmac-FA}$.

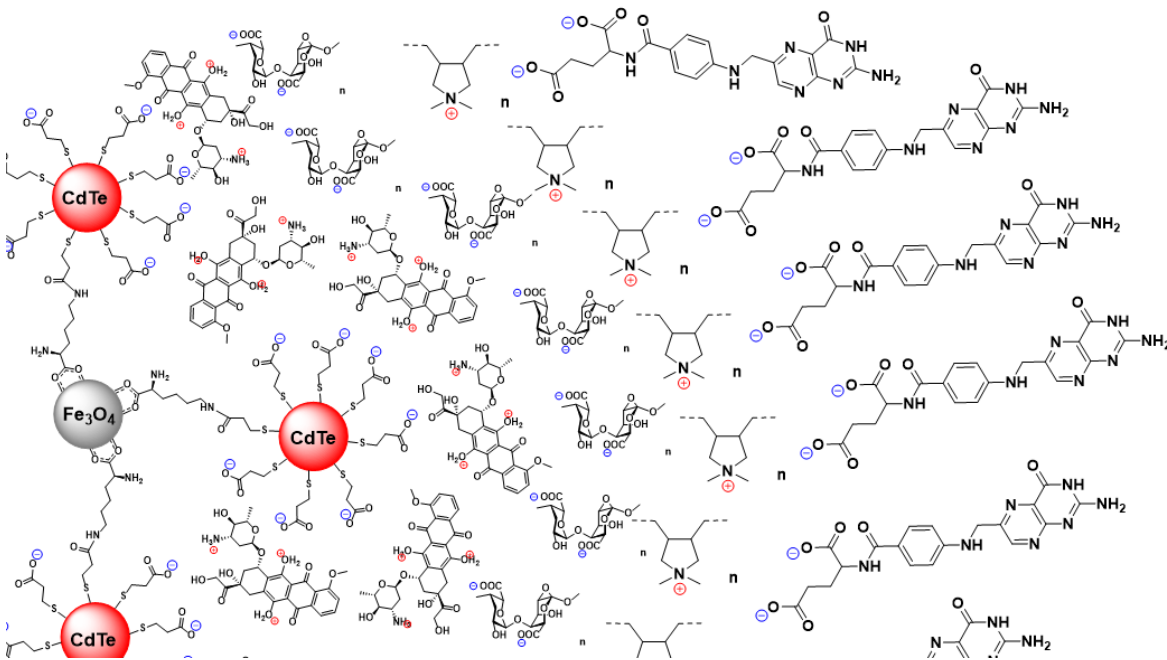


Figura 67. Nanomaterial multifuncional con: propiedades ópticas, magnéticas y terapéuticas.

Tabla 11. Resumen de valores de potencial Z de los sistemas teragósticos.

Muestra	Potencial Z (mV)			
	$\text{Fe}_3\text{O}_4@AA@QDs$	Dox	Dadmac	Ácido fólico
$\text{Fe}_3\text{O}_4@Arg@QDs@Dox$	-32	-8	17	5
$\text{Fe}_3\text{O}_4@Lys@QDs@Dox$	-15	-2	16	3
$\text{Fe}_3\text{O}_4@Gly@QDs@Dox$	-18	-4	23	9

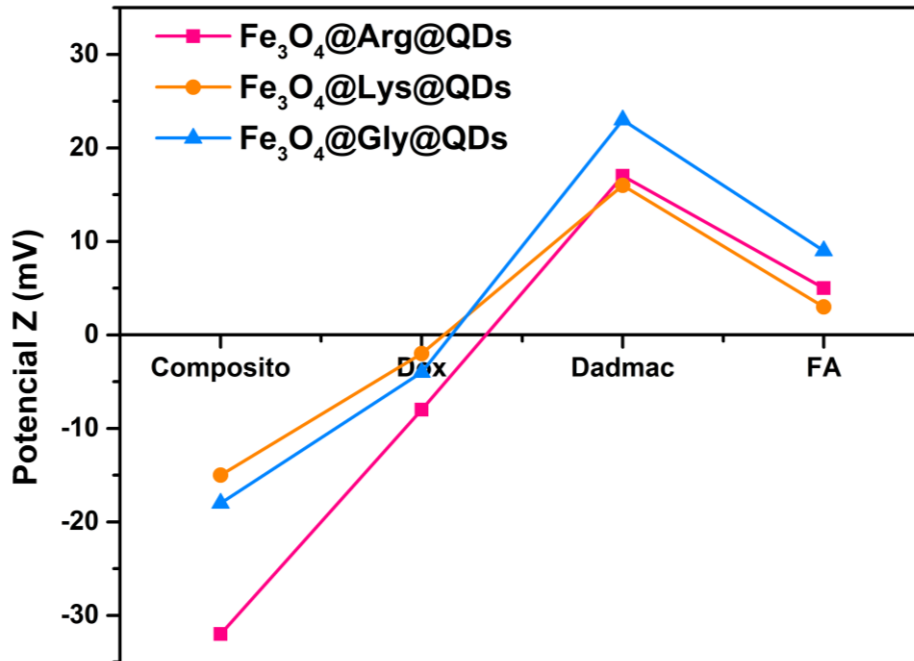


Figura 68. Estudio de potencial Z: Efecto de la carga superficial por unión electrostática de doxorubicina, Polidadmac y ácido fólico.

Con base en los resultados anteriores, se confirma la incorporación de FA como elemento de orientación, debido a que cuando se tiene una capa del polímero catiónico Dadmac, la carga superficial es positiva, pero al adicionar el folato hay un efecto de disminución de carga menos positivos.

Mediante estudios de fluorescencia molecular, se demostró la incorporación de la Dox en los sistemas Fe₃O₄@AA@QDs y en Fe₃O₄@AA@QDs-Dox-Dadmac-FA (Figura 70). En los espectros se aprecia la banda de emisión a 591 nm característica del fármaco, cabe mencionar que no hubo una influencia de abatimiento fuerte del polímero Dadmac y el folato frente a la Dox.

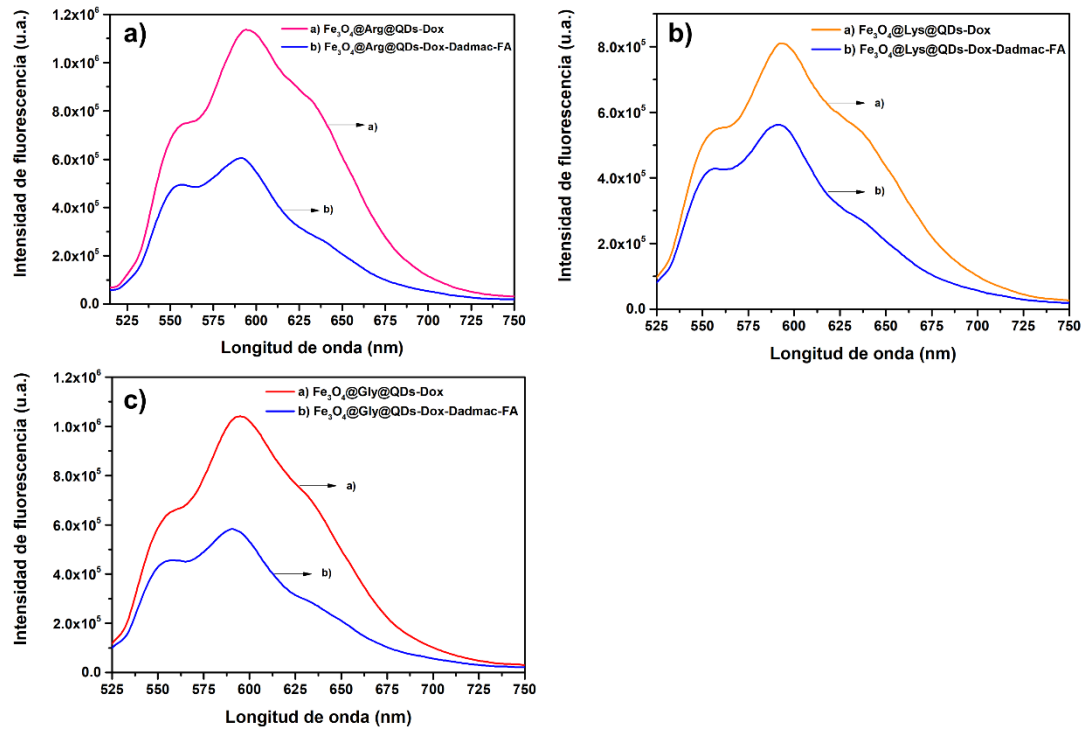


Figura 69. Espectros de fluorescencia molecular de: a) $\text{Fe}_3\text{O}_4@Arg@QDs-Dox$, b) $\text{Fe}_3\text{O}_4@Lys@QDs-Dox$ y $\text{Fe}_3\text{O}_4@Gly@QDs-Dox$.

La emisión de los QDs de CdTe no se aprecia debido a un abatimiento provocado por la Dox y el FA. Mediante estudios por Epifluorescencia, se observa que las NPMsF mantienen sus propiedades ópticas debido a los QDs de CdTe (Figura 71). Como se mencionó anteriormente las propiedades ópticas de los QDs de CdTe se ven afectadas por la interacción de la Dox. Esto se ve reflejado en los estudios de epifluorescencia, cabe destacar que se logra observar la emisión de la Dox en menor intensidad, debido a su rendimiento cuántico menor (Figura 72). En la literatura, se ha reportado un proceso de transferencia de energía de los QDs de CdTe hacia la Dox. Es de esperar, que cuando el sistema teragnóstico cumpla su objetivo, al momento de deshacerse, se observe la emisión de los QDs debido a que el sistema FRET se estaría inhibiendo.

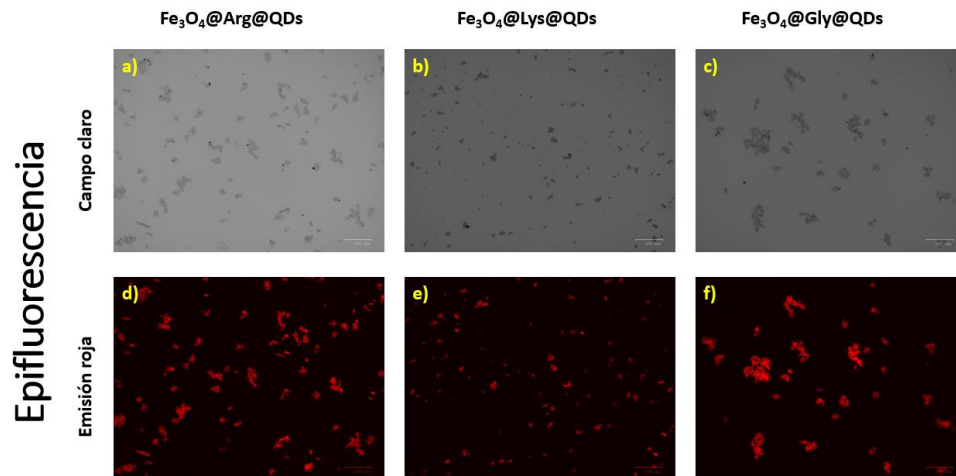


Figura 70. Imágenes de epifluorescencia de nanopartículas magnéticas fluorescentes de: a) y d) $\text{Fe}_3\text{O}_4@Arg@QDs$, b) y e) $\text{Fe}_3\text{O}_4@Lys@QDs$, c) y f) $\text{Fe}_3\text{O}_4@Gly@QDs$, en campo claro y canal de emisión roja, respectivamente (escala 100 μm).

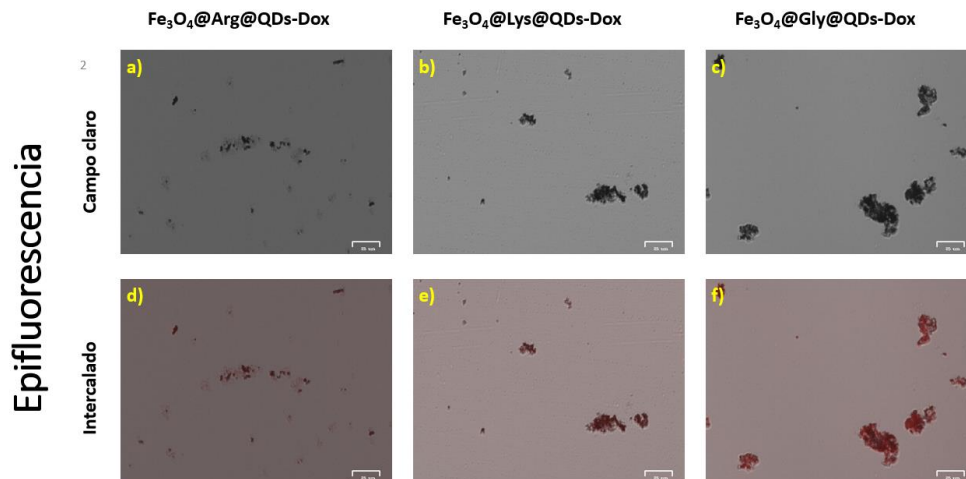


Figura 71. Imágenes de epifluorescencia de nanopartículas magnéticas fluorescentes con doxorubicina: a) y d) $\text{Fe}_3\text{O}_4@Arg@QDs-Dox$, b) y e) $\text{Fe}_3\text{O}_4@Lys@QDs-Dox$, c) y f) $\text{Fe}_3\text{O}_4@Gly@QDs-Dox$, en campo claro y canal de emisión roja, respectivamente (escala 25 μm).

5.7.1 Cinética de liberación de doxorrubicina

El estudio de cinética de liberación de la Dox se llevó a cabo mediante diálisis a 37° C con agitación a 200 rpm, en un medio de liberación a pH 4. Como resultados preliminares, se observó que las primeras 11 h la Dox no tiene una liberación prolongada debido a que no se observa la absorción característica del fármaco. Se espera que al aumentar el tiempo sea posible ver la cinética de liberación (Figura 73).

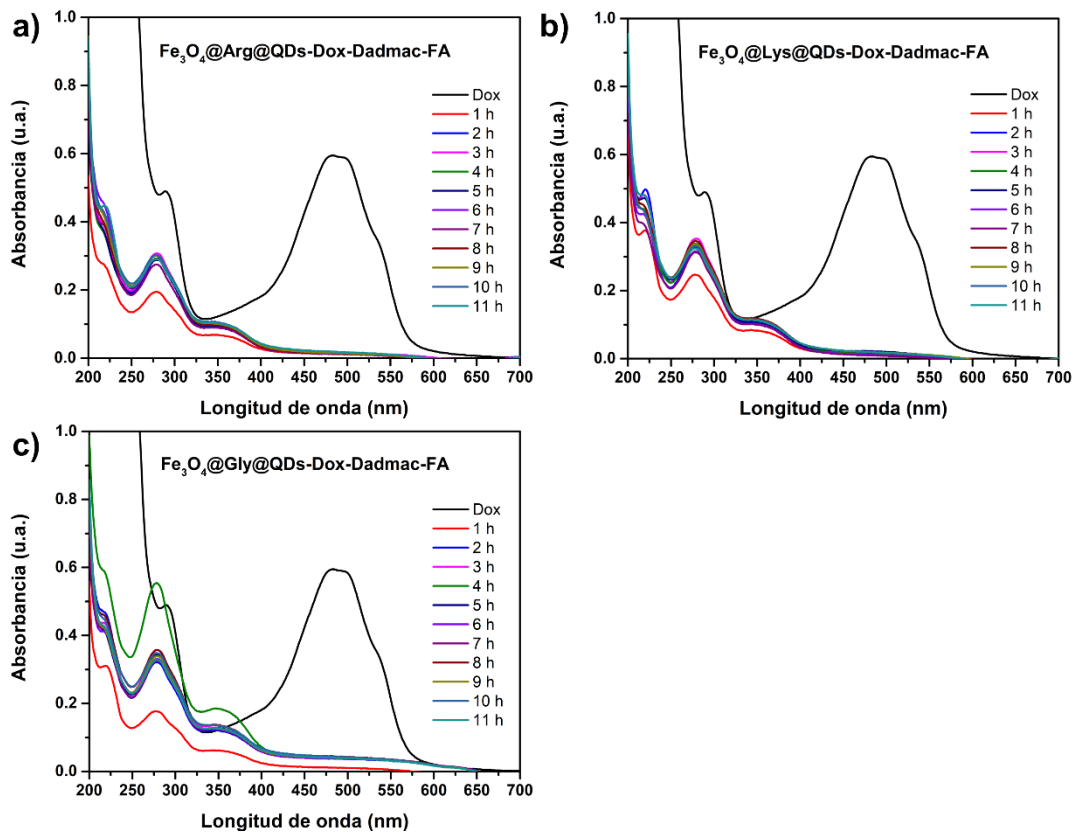


Figura 72. Estudio de liberación de fármaco de doxorrubicina por UV-Visible de: a) $\text{Fe}_3\text{O}_4@Arg@QDs-Dox-Dadmac-FA$, b) $\text{Fe}_3\text{O}_4@Lys@QDs-Dox-Dadmac-FA$ y c) $\text{Fe}_3\text{O}_4@Gly@QDs-Dox-Dadmac-FA$.

VI. CONCLUSIONES

- Se confirma la incorporación de los aminoácidos (Arg, Lys y Gly) sobre la superficie de las NPMs, mediante los estudios por FT-IR y TGA.
- La interacción entre las NPMs y los aminoácidos ocurre a través de un enlace de coordinación del tipo bidentado puente para todos los sistemas.
- Se confirma la incorporación del ácido 3- mercaptopropiónico sobre la superficie de los QDs, a partir de los espectros de infrarrojo.
- Se establece que los aminoácidos funcionan como agentes estabilizantes sobre las NPMs permitiendo obtener tamaños por debajo de 15 nm.
- Se logra la bioconjugación de QDs sobre NPMs modificadas con aminoácidos utilizando una reacción covalente de amidación.
- Se demuestra la utilización de aminoácidos como agentes espaciadores para la conjugación de los QDs en las NPMs, sin la utilización de un precursor de sílice.
- Se confirma mediante los estudios de fluorescencia molecular la obtención de NPMs fluorescentes.
- Se demostró mediante espectroscopia infrarroja y de fluorescencia que los QDs fueron incorporados en el sistema $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Trp}@\text{QDs}$.
- Mediante un fenómeno FRET entre el Trp y QDs, se confirma la obtención de nanopartículas magnéticas fluorescentes.

- Se demuestra en el nanocomposito ocurre una transferencia de energía resonante de Förster, donde el Trp actúa como donador de energía y los QDs actúan como aceptores de energía.
- Se confirma que los conjugados Trp-QDs funcionan como sensores fluorescentes radiométricos para la detección de Cu^{2+} .
- Se establece que el sistema $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Trp} @ \text{QDs}$ tienen gran potencial para su uso como sensor fluorescente radiométrico con capacidad de remoción de metales.
- Se confirma la incorporación de polímeros y biopolímeros en la superficie de las NPMs fluorescentes, mediante los estudios por potencial Z, utilizando la técnica de capa por capa (LBL).
- Se demuestra que tras la modificación con los polímeros en las NPMs fluorescentes estas mantienen sus propiedades ópticas.
- Se demuestra la incorporación de Dox y FA en las NPMs fluorescentes mediante los estudios de potencial Z.
- Se demuestra que el porcentaje de cargado de Dox es del 80% para los tres sistemas.
- Se demuestra el abatimiento de las NPMsF debido a la incorporación del ácido fólico.
 - Los estudios de liberación de fármaco demuestran que se requiere mayor tiempo para llevar a cabo una cinética controlada.

VII. REFERENCIAS

- (1) de Dios, A. S.; Díaz-García, M. E. Multifunctional Nanoparticles: Analytical Prospects. *Anal. Chim. Acta* **2010**, *666* (1), 1–22. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aca.2010.03.038>.
- (2) Corr, S. A.; Rakovich, Y. P.; Gun'Ko, Y. K. Multifunctional Magnetic-Fluorescent Nanocomposites for Biomedical Applications. *Nanoscale Res. Lett.* **2008**, *3* (3), 87–104. <https://doi.org/10.1007/s11671-008-9122-8>.
- (3) Zhang, C.; Shan, C.; Jin, Y.; Tong, M. Enhanced Removal of Trace Arsenate by Magnetic Nanoparticles Modified with Arginine and Lysine. *Chem. Eng. J.* **2014**, *254*, 340–348. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2014.05.133>.
- (4) Marinescu, G.; Patron, L.; Culita, D. C.; Neagoe, C.; Lepadatu, C. I.; Balint, I.; Bessais, L.; Cizmas, C. B. Synthesis of Magnetite Nanoparticles in the Presence of Aminoacids. *J. Nanoparticle Res.* **2006**, *8* (6), 1045–1051. <https://doi.org/10.1007/s11051-006-9134-1>.
- (5) Viota, J. L.; Arroyo, F. J.; Delgado, A. V; Horno, J. Electrokinetic Characterization of Magnetite Nanoparticles Functionalized with Amino Acids. *J. Colloid Interface Sci.* **2010**, *344* (1), 144–149. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jcis.2009.11.061>.
- (6) Morosini, V.; Bastogne, T.; Frochot, C.; Schneider, R.; Franois, A.; Guillemain, F.; Barberi-Heyob, M. Quantum Dot-Folic Acid Conjugates as Potential Photosensitizers in Photodynamic Therapy of Cancer. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2011**, *10* (5), 842–851. <https://doi.org/10.1039/c0pp00380h>.

-
- (7) Zhao, P.; Xu, Q.; Tao, J.; Jin, Z.; Pan, Y.; Yu, C.; Yu, Z. Near Infrared Quantum Dots in Biomedical Applications: Current Status and Future Perspective. *WIREs Nanomedicine and Nanobiotechnology* **2018**, *10* (3), e1483. <https://doi.org/10.1002/wnan.1483>.
- (8) Armstrong, F.; Teo, W. Electricity and Magnetism. *Anaesth. Intensive Care Med.* **2020**, *21* (5), 252–255. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.mpaic.2020.02.010>.
- (9) Parigi, G.; Ravera, E.; Luchinat, C. Magnetic Susceptibility and Paramagnetism-Based NMR. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **2019**, *114–115*, 211–236. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.pnmrs.2019.06.003>.
- (10) Hågenvik, H. O.; Skaar, J. Magnetic Permeability in Fresnels Equation. *J. Opt. Soc. Am. B* **2019**, *36* (5), 1386–1395. <https://doi.org/10.1364/JOSAB.36.001386>.
- (11) Starodubtsev, Y. N.; Kataev, V. A.; Bessonova, K. O.; Tsepelev, V. S. Interrelation of Hysteresis Characteristics of a Soft Magnetic Nanocrystalline Alloy. *Phys. Met. Metallogr.* **2019**, *120* (2), 121–127. <https://doi.org/10.1134/S0031918X19020170>.
- (12) Alonso, J.; Barandiarán, J. M.; Fernández Barquín, L.; García-Arribas, A. Chapter 1 - Magnetic Nanoparticles, Synthesis, Properties, and Applications. In *Micro and Nano Technologies*; El-Gendy, A. A., Barandiarán, J. M., Hadimani, R. L. B. T.-M. N. M., Eds.; Elsevier, 2018; pp 1–40.

- <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813904-2.00001-2>.
- (13) Leslie-Pelecky, D. L.; Rieke, R. D. Magnetic Properties of Nanostructured Materials. *Chem. Mater.* **1996**, *8* (8), 1770–1783. <https://doi.org/10.1021/cm960077f>.
- (14) Echevarria-Bonet, C.; Rojas, D. P.; Espeso, J. I.; Rodríguez Fernández, J.; Rodríguez Fernández, L.; Gorria, P.; Blanco, J. A.; Fdez-Gubieda, M. L.; Bauer, E.; André, G.; et al. Size-Induced Superantiferromagnetism with Reentrant Spin-Glass Behavior in Metallic Nanoparticles of TbCu₂. *Phys. Rev. B - Condens. Matter Mater. Phys.* **2013**, *87* (18), 1–5. <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.87.180407>.
- (15) WAGNER, D. I - Diamagnetism. In *International Series in Natural Philosophy*; WAGNER, D. B. T.-I. to the T. of M., Ed.; Pergamon, 1972; Vol. 48, pp 3–50. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-08-016595-0.50007-X>.
- (16) WAGNER, D. II - Paramagnetism. In *International Series in Natural Philosophy*; WAGNER, D. B. T.-I. to the T. of M., Ed.; Pergamon, 1972; Vol. 48, pp 51-148a. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-08-016595-0.50008-1>.
- (17) Petravic, O. Superparamagnetic Nanoparticle Ensembles. *Superlattices Microstruct.* **2010**, *47* (5), 569–578. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.spmi.2010.01.009>.
- (18) Zhang, Q.; Yang, X.; Guan, J. Applications of Magnetic Nanomaterials in Heterogeneous Catalysis. *ACS Appl. Nano Mater.* **2019**, *2* (8), 4681–4697.

- <https://doi.org/10.1021/acsanm.9b00976>.
- (19) Gu, M.; Zhang, Q.; Lamon, S. Nanomaterials for Optical Data Storage. *Nat. Rev. Mater.* **2016**, *1* (12), 16070. <https://doi.org/10.1038/natrevmats.2016.70>.
- (20) Li, Y.; Wang, N.; Huang, X.; Li, F.; Davis, T. P.; Qiao, R.; Ling, D. Polymer-Assisted Magnetic Nanoparticle Assemblies for Biomedical Applications. *ACS Appl. Bio Mater.* **2020**, *3* (1), 121–142. <https://doi.org/10.1021/acsabm.9b00896>.
- (21) Salunkhe, A.; Khot, V.; Patil, S. I.; Tofail, S. A. M.; Bauer, J.; Thorat, N. D. MRI Guided Magneto-Chemotherapy with High-Magnetic-Moment Iron Oxide Nanoparticles for Cancer Theranostics. *ACS Appl. Bio Mater.* **2020**, *3* (4), 2305–2313. <https://doi.org/10.1021/acsabm.0c00077>.
- (22) Singh, H.; Bhardwaj, N.; Arya, S. K.; Khatri, M. Environmental Impacts of Oil Spills and Their Remediation by Magnetic Nanomaterials. *Environ. Nanotechnology, Monit. Manag.* **2020**, 100305. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.enmm.2020.100305>.
- (23) Rebodos, R. L.; Vikesland, P. J. Effects of Oxidation on the Magnetization of Nanoparticulate Magnetite. *Langmuir* **2010**, *26* (22), 16745–16753. <https://doi.org/10.1021/la102461z>.
- (24) Santra, S.; Tapeç, R.; Theodoropoulou, N.; Dobson, J.; Hebard, A.; Tan, W. Synthesis and Characterization of Silica-Coated Iron Oxide Nanoparticles in Microemulsion: The Effect of Nonionic Surfactants. *Langmuir* **2001**, *17* (10), 2900–2906. <https://doi.org/10.1021/la0008636>.

- (25) Nikitin, A. A.; Shchetinin, I. V.; Tabachkova, N. Y.; Soldatov, M. A.; Soldatov, A. V.; Sviridenkova, N. V.; Beloglazkina, E. K.; Savchenko, A. G.; Fedorova, N. D.; Abakumov, M. A.; et al. Synthesis of Iron Oxide Nanoclusters by Thermal Decomposition. *Langmuir* **2018**, *34* (15), 4640–4650. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.8b00753>.
- (26) Torres-Gómez, N.; Nava, O.; Argueta-Figueroa, L.; García-Contreras, R.; Baeza-Barrera, A.; Vilchis-Nestor, A. R. Shape Tuning of Magnetite Nanoparticles Obtained by Hydrothermal Synthesis: Effect of Temperature. *J. Nanomater.* **2019**, *2019*, 7921273. <https://doi.org/10.1155/2019/7921273>.
- (27) Lu, A.-H.; Salabas, E. L.; Schüth, F. Magnetic Nanoparticles: Synthesis, Protection, Functionalization, and Application. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2007**, *46* (8), 1222–1244. <https://doi.org/10.1002/anie.200602866>.
- (28) Laurent, S.; Forge, D.; Port, M.; Roch, A.; Robic, C.; Vander Elst, L.; Muller, R. N. Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis, Stabilization, Vectorization, Physicochemical Characterizations, and Biological Applications. *Chem. Rev.* **2008**, *108* (6), 2064–2110. <https://doi.org/10.1021/cr068445e>.
- (29) Jolivet, J.-P.; Chanéac, C.; Tronc, E.; Dormann, J. L.; Fiorani, D.; Tronc, E.; Stumm, W.; Sulzberger, B.; Matijevic, E.; Lippard, S. J.; et al. Iron Oxide Chemistry. From Molecular Clusters to Extended Solid Networks. *Chem. Commun.* **2004**, *98* (5), 477–483. <https://doi.org/10.1039/B304532N>.
- (30) Ahn, T.; Kim, J. H.; Yang, H.-M.; Lee, J. W.; Kim, J.-D. Formation Pathways of

- Magnetite Nanoparticles by Coprecipitation Method. *J. Phys. Chem. C* **2012**, *116* (10), 6069–6076. <https://doi.org/10.1021/jp211843g>.
- (31) Dey, C.; Das, A.; Goswami, M. M. Dopamine Loaded SiO₂ Coated Fe₃O₄ Magnetic Nanoparticles: A New Anticancer Agent in PH-Dependent Drug Delivery. *ChemistrySelect* **2019**, *4* (41), 12190–12196. <https://doi.org/10.1002/slct.201902909>.
- (32) Sorasitthiyankarn, F. N.; Muangnoi, C.; Thaweeseest, W.; Ratnatilaka Na Bhuket, P.; Jantaratana, P.; Rojsitthisak, P.; Rojsitthisak, P. Polyethylene Glycol-Chitosan Oligosaccharide-Coated Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles: A Novel Drug Delivery System for Curcumin Diglutamic Acid. *Biomolecules* **2020**, *10* (1). <https://doi.org/10.3390/biom10010073>.
- (33) Frank, L. A.; Onzi, G. R.; Morawski, A. S.; Pohlmann, A. R.; Guterres, S. S.; Contri, R. V. Chitosan as a Coating Material for Nanoparticles Intended for Biomedical Applications. *React. Funct. Polym.* **2020**, *147*, 104459. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2019.104459>.
- (34) Bealer, E. J.; Kavetsky, K.; Dutko, S.; Lofland, S.; Hu, X. Protein and Polysaccharide-Based Magnetic Composite Materials for Medical Applications. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21* (1). <https://doi.org/10.3390/ijms21010186>.
- (35) Sosa-Acosta, J. R.; Iriarte-Mesa, C.; Ortega, G. A.; Díaz-García, A. M. DNA–Iron Oxide Nanoparticles Conjugates: Functional Magnetic Nanoplatforms in Biomedical Applications. *Top. Curr. Chem.* **2020**, *378* (1), 13.

- <https://doi.org/10.1007/s41061-019-0277-9>.
- (36) Azizi, S.; Nosrati, H.; Danafar, H. Simple Surface Functionalization of Magnetic Nanoparticles with Methotrexate-Conjugated Bovine Serum Albumin as a Biocompatible Drug Delivery Vehicle. *Appl. Organomet. Chem.* **2020**, *34* (4), e5479. <https://doi.org/10.1002/aoc.5479>.
- (37) Hosseini, S. H.; Zohreh, N.; Karimi, N.; Gaeini, N.; Alipour, S.; Seidi, F.; Gholipour, N. Magnetic Nanoparticles Double Wrapped into Cross-Linked Salep/PEGylated Carboxymethyl Cellulose; a Biocompatible Nanocarrier for PH-Triggered Release of Doxorubicin. *Int. J. Biol. Macromol.* **2020**, *158*, 994–1006. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.05.040>.
- (38) K., A.; S., S.; Prakash, P.; Nishad, K. V; Komath, M.; Nair, B. N.; G. S., S. Amino Acid Inspired Tunable Superparamagnetic Iron Oxide (SPION) Nanostructures with High Magnetic Hyperthermia Potential for Biofunctional Applications. *New J. Chem.* **2020**, *44* (5), 1962–1970. <https://doi.org/10.1039/C9NJ05343C>.
- (39) Khosroshahi, M. E.; Ghazanfari, L.; Tahriri, M. Characterisation of Binary (Fe₃O₄/SiO₂) Biocompatible Nanocomposites as Magnetic Fluid. *J. Exp. Nanosci.* **2011**, *6* (6), 580–595. <https://doi.org/10.1080/17458080.2010.489582>.
- (40) Stöber, W.; Fink, A.; Bohn, E. Controlled Growth of Monodisperse Silica Spheres in the Micron Size Range. *J. Colloid Interface Sci.* **1968**, *26*, 62–69. [https://doi.org/10.1016/0021-9797\(68\)90272-5](https://doi.org/10.1016/0021-9797(68)90272-5).

- (41) Laurent, S.; Forge, D.; Port, M.; Roch, A.; Robic, C.; Vander Elst, L.; Muller, R. N. Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis, Stabilization, Vectorization, Physicochemical Characterizations and Biological Applications. *Chem. Rev.* **2008**, *108* (6), 2064–2110. <https://doi.org/10.1021/cr068445e>.
- (42) Oh, C.; Lee, Y.-G.; Jon, C.-U.; Oh, S.-G. Synthesis and Characterization of Hollow Silica Microspheres Functionalized with Magnetic Particles Using W/O Emulsion Method. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2009**, *337* (1), 208–212. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2008.12.010>.
- (43) Ravi Kumar, M. N. V. A Review of Chitin and Chitosan Applications. *React. Funct. Polym.* **2000**, *46* (1), 1–27. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1381-5148\(00\)00038-9](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1381-5148(00)00038-9).
- (44) López-Cruz, A.; Barrera, C.; Calero-DdelC, V. L.; Rinaldi, C. Water Dispersible Iron Oxide Nanoparticles Coated with Covalently Linked Chitosan. *J. Mater. Chem.* **2009**, *19* (37), 6870–6876. <https://doi.org/10.1039/B908777J>.
- (45) Lin, H.; Lu, Q.; Ge, S.; Cai, Q.; Grimes, C. A. Detection of Pathogen Escherichia Coli O157:H7 with a Wireless Magnetoelastic-Sensing Device Amplified by Using Chitosan-Modified Magnetic Fe₃O₄ Nanoparticles. *Sensors Actuators B Chem.* **2010**, *147* (1), 343–349. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.snb.2010.03.011>.
- (46) Funkhouser, J. Reinventing Pharma: The Theranostic Revolution. *Curr. Drug Discov.* **2002**, *2*, 17–19.
- (47) Fan, Z.; Fu, P. P.; Yu, H.; Ray, P. C. Theranostic Nanomedicine for Cancer

- Detection and Treatment. *J. Food Drug Anal.* **2014**, *22* (1), 3–17.
<https://doi.org/10.1016/j.jfda.2014.01.001>.
- (48) Kamaly, N.; Xiao, Z.; Valencia, P. M.; Radovic-Moreno, A. F.; Farokhzad, O. C. Targeted Polymeric Therapeutic Nanoparticles: Design, Development and Clinical Translation. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41* (7), 2971–3010.
<https://doi.org/10.1039/c2cs15344k>.
- (49) Wibowo, A. S.; Singh, M.; Reeder, K. M.; Carter, J. J.; Kovach, A. R.; Meng, W.; Ratnam, M.; Zhang, F.; Dann, C. E. Structures of Human Folate Receptors Reveal Biological Trafficking States and Diversity in Folate and Antifolate Recognition. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2013**, *110* (38), 15180–15188.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1308827110>.
- (50) Mohapatra, S.; Mallick, S. K.; Maiti, T. K.; Ghosh, S. K.; Pramanik, P. Synthesis of Highly Stable Folic Acid Conjugated Magnetite Nanoparticles for Targeting Cancer Cells. *Nanotechnology* **2007**, *18* (38), 1–9.
<https://doi.org/10.1088/0957-4484/18/38/385102>.
- (51) Jiang, Q. L.; Zheng, S. W.; Hong, R. Y.; Deng, S. M.; Guo, L.; Hu, R. L.; Gao, B.; Huang, M.; Cheng, L. F.; Liu, G. H.; et al. Folic Acid-Conjugated Fe₃O₄ Magnetic Nanoparticles for Hyperthermia and MRI in Vitro and in Vivo. *Appl. Surf. Sci.* **2014**, *307*, 224–233. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2014.04.018>.
- (52) Pandey, S.; Bodas, D. High-Quality Quantum Dots for Multiplexed Bioimaging: A Critical Review. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2020**, *278*, 102137.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cis.2020.102137>.

- (53) Wang, L.; Nagesha, D. K.; Selvarasah, S.; Dokmeci, M. R.; Carrier, R. L. Toxicity of CdSe Nanoparticles in Caco-2 Cell Cultures. *J. Nanobiotechnology* **2008**, *6*, 1–15. <https://doi.org/10.1186/1477-3155-6-11>.
- (54) Xu, R.; Jiang, Y.; Xia, L.; Zhang, T.; Xu, L.; Zhang, S.; Liu, D.; Song, H. A Sensitive Photoelectrochemical Biosensor for AFP Detection Based on ZnO Inverse Opal Electrodes with Signal Amplification of CdS-QDs. *Biosens. Bioelectron.* **2015**, *74*, 411–417. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bios.2015.06.037>.
- (55) Williams, D. N.; Saar, J. S.; Bleicher, V.; Rau, S.; Lienkamp, K.; Rosenzweig, Z. Poly(Oxanorbornene)-Coated CdTe Quantum Dots as Antibacterial Agents. *ACS Appl. Bio Mater.* **2020**. <https://doi.org/10.1021/acsbm.9b01045>.
- (56) Kim, S.; Fisher, B.; Eisler, H. J.; Bawendi, M. Type-II Quantum Dots: CdTe/CdSe(Core/Shell) and CdSe/ZnTe(Core/Shell) Heterostructures. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125* (38), 11466–11467. <https://doi.org/10.1021/ja0361749>.
- (57) Brunetti, V.; Chibli, H.; Fiammengo, R.; Galeone, A.; Malvindi, M. A.; Vecchio, G.; Cingolani, R.; Nadeau, J. L.; Pompa, P. P. InP/ZnS as a Safer Alternative to CdSe/ZnS Core/Shell Quantum Dots: In Vitro and in Vivo Toxicity Assessment. *Nanoscale* **2013**, *5* (1), 307–317. <https://doi.org/10.1039/c2nr33024e>.
- (58) Labiadh, H.; Chaabane, T. Ben; Piatkowski, D.; Mackowski, S.; Lalevée, J.; Ghanbaja, J.; Aldeek, F.; Schneider, R. Aqueous Route to Color-Tunable Mn-Doped ZnS Quantum Dots. *Mater. Chem. Phys.* **2013**, *140* (2), 674–682.

- <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2013.04.023>.
- (59) Ma, K. G.; Bai, J. Y.; Fang, T.; Guo, H. Q. Synthesis of High-Quality Water-Soluble near-Infrared-Emitting CdTe Quantum Dots Capped with 3-Mercaptobutyric Acid. *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2014**, *14* (7), 4940–4948. <https://doi.org/10.1166/jnn.2014.8071>.
- (60) Liu, L.; Jin, S.; Hu, Y.; Gu, Z.; Wu, H. C. Application of Quantum Dots in Biological Imaging. *J. Nanomater.* **2011**, *2011*. <https://doi.org/10.1155/2011/834139>.
- (61) Jagadeeswari, S.; Asha Jhonsi, M.; Kathiravan, A.; Renganathan, R. Photoinduced Interaction between MPA Capped CdTe QDs and Certain Anthraquinone Dyes. *J. Lumin.* **2011**, *131* (4), 597–602. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jlumin.2010.10.037>.
- (62) Zheng, Y.; Gao, S.; Ying, J. Y. Synthesis and Cell-Imaging Applications of Glutathione-Capped CdTe Quantum Dots. *Adv. Mater.* **2007**, *19* (3), 376–380. <https://doi.org/10.1002/adma.200600342>.
- (63) Ghormade, V.; Gholap, H.; Kale, S.; Kulkarni, V.; Bhat, S.; Paknikar, K. Fluorescent Cadmium Telluride Quantum Dots Embedded Chitosan Nanoparticles: A Stable, Biocompatible Preparation for Bio-Imaging. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **2015**, *26* (1), 42–56. <https://doi.org/10.1080/09205063.2014.982240>.
- (64) Cozzoli, P. D.; Pellegrino, T.; Manna, L. Synthesis, Properties and Perspectives of Hybrid Nanocrystal Structures. *Chem. Soc. Rev.* **2006**, *35*

- (11), 1195–1208. <https://doi.org/10.1039/b517790c>.
- (65) Manikandan, A.; Yogasundari, M.; Thanrasu, K.; Dinesh, A.; Raja, K. K.; Slimani, Y.; Jaganathan, S. K.; Srinivasan, R.; Baykal, A. Structural, Morphological and Optical Properties of Multifunctional Magnetic-Luminescent ZnO@Fe₃O₄ Nanocomposite. *Phys. E Low-dimensional Syst. Nanostructures* **2020**, 114291. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.physe.2020.114291>.
- (66) Fu, A.; Wilson, R. J.; Smith, B. R.; Mullenix, J.; Earhart, C.; Akin, D.; Guccione, S.; Wang, S. X.; Gambhir, S. S. Fluorescent Magnetic Nanoparticles for Magnetically Enhanced Cancer Imaging and Targeting in Living Subjects. *ACS Nano* **2012**, 6 (8), 6862–6869. <https://doi.org/10.1021/nn301670a>.
- (67) Zhou, X.; Chen, L.; Wang, A.; Ma, Y.; Zhang, H.; Zhu, Y. Multifunctional Fluorescent Magnetic Nanoparticles for Lung Cancer Stem Cells Research. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **2015**, 134, 431–439. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2015.07.030>.
- (68) Bigall, N. C.; Parak, W. J.; Dorfs, D. Fluorescent, Magnetic and Plasmonic—Hybrid Multifunctional Colloidal Nano Objects. *Nano Today* **2012**, 7 (4), 282–296. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.nantod.2012.06.007>.
- (69) Arteaga-Cardona, F.; Estévez, J. O.; Méndez-Rojas, M. A.; Hidalgo-Tobón, S.; Dies-Suarez, P.; Silva-González, N. R.; Gracia y Jiménez, J. M.; Cherr, G. N.; Salazar-Kuri, U. Fabrication of a Multifunctional Magnetic-Fluorescent Material for Medical Applications. *Dalt. Trans.* **2020**, 49 (14), 4376–4389.

<https://doi.org/10.1039/C9DT04823E>.

- (70) de la Rosa-Romo, L. M.; Oropeza-Guzmán, M. T.; Olivas-Sarabia, A.; Pina-Luis, G. Flavone Functionalized Magnetic Nanoparticles: A New Fluorescent Sensor for Cu²⁺ Ions with Nanomolar Detection Limit. *Sensors Actuators B Chem.* **2016**, *233*, 459–468. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.snb.2016.04.113>.
- (71) He, R.; You, X.; Shao, J.; Gao, F.; Pan, B.; Cui, D. Core/Shell Fluorescent Magnetic Silica-Coated Composite Nanoparticles for Bioconjugation. *Nanotechnology* **2007**, *18* (31). <https://doi.org/10.1088/0957-4484/18/31/315601>.
- (72) Liu, B.; Wang, D.; Huang, W.; Yu, M.; Yao, A. Fabrication of Nanocomposite Particles with Superparamagnetic and Luminescent Functionalities. *Mater. Res. Bull.* **2008**, *43* (11), 2904–2911. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.materresbull.2007.12.006>.
- (73) Kyeong, S.; Jeong, C.; Kim, H. Y.; Hwang, D. W.; Kang, H.; Yang, J.-K.; Lee, D. S.; Jun, B.-H.; Lee, Y.-S. Fabrication of Mono-Dispersed Silica-Coated Quantum Dot-Assembled Magnetic Nanoparticles. *RSC Adv.* **2015**, *5* (41), 32072–32077. <https://doi.org/10.1039/C5RA03139G>.
- (74) Ye, F.; Barrefelt, Å.; Asem, H.; Abedi-valugardi, M.; El-sera, I.; Sagha, M.; Abu-salah, K.; Alrokayan, S.; Muhammed, M.; Hassan, M. Biodegradable Polymeric Vesicles Containing Magnetic Nanoparticles , Quantum Dots and Anticancer Drugs for Drug Delivery and Imaging. *Biomaterials* **2014**, *35*, 3885–

3894. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2014.01.041>.
- (75) Yao, X.; Niu, X.; Ma, K.; Huang, P.; Grothe, J.; Kaskel, S.; Zhu, Y. Graphene Quantum Dots-Capped Magnetic Mesoporous Silica Nanoparticles as a Multifunctional Platform for Controlled Drug Delivery, Magnetic Hyperthermia, and Photothermal Therapy. *Small* **2017**, *13* (2), 1602225. <https://doi.org/10.1002/smll.201602225>.
- (76) Pramanik, A.; Jones, S.; Pedraza, F.; Vangara, A.; Sweet, C.; Williams, M. S.; Ruppak-Kasani, V.; Risher, S. E.; Sardar, D.; Ray, P. C. Fluorescent, Magnetic Multifunctional Carbon Dots for Selective Separation, Identification, and Eradication of Drug-Resistant Superbugs. *ACS Omega* **2017**, *2* (2), 554–562. <https://doi.org/10.1021/acsomega.6b00518>.
- (77) Yazdani, F.; Seddigh, M. Magnetite Nanoparticles Synthesized by Co-Precipitation Method: The Effects of Various Iron Anions on Specifications. *Mater. Chem. Phys.* **2016**, *184*, 318–323. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2016.09.058>.
- (78) Ebrahiminezhad, A.; Ghasemi, Y.; Rasoul-Amini, S.; Barar, J.; Davaran, S. Impact of Amino-Acid Coating on the Synthesis and Characteristics of Iron-Oxide Nanoparticles (IONs). *Bull. Korean Chem. Soc.* **2012**, *33* (12), 3957–3962. <https://doi.org/10.5012/bkcs.2012.33.12.3957>.
- (79) Ramírez-herrera, D. E.; Tirado-guizar, A.; Paraguay-delgado, F.; Pina-luis, G. Ratiometric Arginine Assay Based on FRET between CdTe Quantum Dots and Cresyl Violet. *Microchim ACTA* **2017**, *184*, 1997–2005.

<https://doi.org/10.1007/s00604-017-2205-4>.

- (80) Wan, X.; Li, S.; Zhuang, L.; Tang, J. L-Tryptophan-Capped Carbon Quantum Dots for the Sensitive and Selective Fluorescence Detection of Mercury Ion in Aqueous Solution. *J. Nanoparticle Res.* **2016**, *18* (7), 202. <https://doi.org/10.1007/s11051-016-3441-y>.
- (81) Lin, M.; Gao, Y.; Diefenbach, T. J.; Shen, J. K.; Hornicek, F. J.; Park, Y. II; Xu, F.; Lu, T. J.; Amiji, M. M.; Duan, Z. Facial Layer-by-Layer Engineering of Upconversion Nanoparticles for Gene Delivery : NIR Initiated FRET Tracking and Overcoming Drug Resistance in Ovarian Cancer Facial Layer-by-Layer Engineering of Upconversion Nanoparticles for Gene Delivery : NIR Initia. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2017**, *9*, 7941–7949. <https://doi.org/10.1021/acsami.6b15321>.
- (82) Bagherpour, A. R.; Kashanian, F.; Ebrahimi, S. A. S. L-Arginine Modi Fi Ed Magnetic Nanoparticles : Green Synthesis and Characterization. *Nanotechnology* **2018**, *29*, 0–7. <https://doi.org/https://doi.org/10.1088/1361-6528/aaa2b5>.
- (83) Zolfigol, M. A.; Safaiee, M.; Bahrami-Nejad, N. Dendrimeric Magnetic Nanoparticle Cores with Co-Phthalocyanine Tags and Their Application in the Synthesis of Tetrahydrobenzo[b]Pyran Derivatives. *New J. Chem.* **2016**, *40* (6), 5071–5079. <https://doi.org/10.1039/C6NJ00243A>.
- (84) Qu, H.; Ma, H.; Zhou, W.; O'Connor, C. J. In Situ Surface Functionalization of Magnetic Nanoparticles with Hydrophilic Natural Amino Acids. *Inorganica*

- Chim. Acta* **2012**, *389*, 60–65.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ica.2012.01.058>.
- (85) Wang, Z.; Zhu, H.; Wang, X.; Yang, F.; Yang, X. One-Pot Green Synthesis of Biocompatible Arginine-Stabilized Magnetic Nanoparticles. *Nanotechnology* **2009**, *20* (46), 465606. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/20/46/465606>.
- (86) Zamani, F.; Hosseini, S. M. Palladium Nanoparticles Supported on Fe₃O₄/Amino Acid Nanocomposite: Highly Active Magnetic Catalyst for Solvent-Free Aerobic Oxidation of Alcohols. *Catal. Commun.* **2014**, *43*, 164–168. <https://doi.org/10.1016/j.catcom.2013.09.029>.
- (87) Palacios, E. G.; Juárez-López, G.; Monhemius, A. J. Infrared Spectroscopy of Metal Carboxylates: II. Analysis of Fe(III), Ni and Zn Carboxylate Solutions. *Hydrometallurgy* **2004**, *72* (1–2), 139–148. [https://doi.org/10.1016/S0304-386X\(03\)00137-3](https://doi.org/10.1016/S0304-386X(03)00137-3).
- (88) Patron, L.; Marinescu, G.; Culita, D.; Diamandescu, L.; Carp, O. Thermal Stability of Amino Acid-(Tyrosine and Tryptophan) Coated Magnetites. *J. Therm. Anal. Calorim.* **2008**, *91* (2), 627–632. <https://doi.org/10.1007/s10973-006-8082-4>.
- (89) Liu, J.; Zhao, Z.; Jiang, G. Coating Fe₃O₄ Magnetic Nanoparticles with Humic Acid for High Efficient Removal of Heavy Metals in Water. *Environ. Sci. Technol.* **2008**, *42* (18), 6949–6954. <https://doi.org/10.1021/es800924c>.
- (90) Park, J. Y.; Choi, E. S.; Baek, M. J.; Lee, G. H. Colloidal Stability of Amino Acid Coated Magnetite Nanoparticles in Physiological Fluid. *Mater. Lett.* **2009**,

- 63 (3–4), 379–381. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2008.10.057>.
- (91) Tucker-Schwartz, A. K.; Garrell, R. L. Simple Preparation and Application of TEMPO-Coated Fe₃O₄ Superparamagnetic Nanoparticles for Selective Oxidation of Alcohols. *Chem. – A Eur. J.* **2010**, *16* (42), 12718–12726. <https://doi.org/10.1002/chem.200903527>.
- (92) Xu, C.; Xu, K.; Gu, H.; Zheng, R.; Liu, H.; Zhang, X.; Guo, Z.; Xu, B. Dopamine as A Robust Anchor to Immobilize Functional Molecules on the Iron Oxide Shell of Magnetic Nanoparticles. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126* (32), 9938–9939. <https://doi.org/10.1021/ja0464802>.
- (93) Li, F.; Sun, J.; Zhu, H.; Wen, X.; Lin, C.; Shi, D. Preparation and Characterization Novel Polymer-Coated Magnetic Nanoparticles as Carriers for Doxorubicin. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **2011**, *88* (1), 58–62. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.06.003>.
- (94) Zhang, Y.; Gong, S. W. Y.; Jin, L.; Li, S. M.; Chen, Z. P.; Ma, M.; Gu, N. Magnetic Nanocomposites of Fe₃O₄/SiO₂-FITC with PH-Dependent Fluorescence Emission. *Chinese Chem. Lett.* **2009**, *20* (8), 969–972. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ccllet.2009.03.038>.
- (95) Silva, F. O.; Carvalho, M. S.; Mendonça, R.; Macedo, W. A. A.; Balzuweit, K.; Reiss, P.; Schiavon, M. A. Effect of Surface Ligands on the Optical Properties of Aqueous Soluble CdTe Quantum Dots. **2012**, 1–10.
- (96) Xiao, J. W.; Ma, S.; Yu, S.; Zhou, C.; Liu, P.; Chen, Y.; Zhou, H.; Li, Y.; Chen, Q. Ligand Engineering on CdTe Quantum Dots in Perovskite Solar Cells for

- Suppressed Hysteresis. *Nano Energy* **2018**, *46* (December 2017), 45–53.
<https://doi.org/10.1016/j.nanoen.2018.01.035>.
- (97) Yu, W. W.; Qu, L.; Guo, W.; Peng, X. Experimental Determination of the Extinction Coefficient of CdTe , CdSe , and CdS Nanocrystals. *Chem. Mater.* **2003**, *15* (17), 2854–2860.
- (98) Tirado-Guizar, A.; Pina-Luis, G.; Paraguay-Delgado, F.; Ramírez-Herrera, D. Size-Dependent Enhanced Energy Transfer from Tryptophan to CdSe/Mercaptopropionic Acid Quantum Dots: A New Fluorescence Resonance Energy Transfer Nanosensor. *Sci. Adv. Mater.* **2014**, *6* (3), 492–499. <https://doi.org/10.1166/sam.2014.1742>.
- (99) He, Y. Y.; Wang, X. C.; Jin, P. K.; Zhao, B.; Fan, X. Complexation of Anthracene with Folic Acid Studied by FTIR and UV Spectroscopies. *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2009**, *72* (4), 876–879.
<https://doi.org/10.1016/j.saa.2008.12.021>.
- (100) Pyne, A.; Kundu, S.; Banerjee, P.; Sarkar, N. Unveiling the Aggregation Behavior of Doxorubicin Hydrochloride in Aqueous Solution of 1-Octyl-3-Methylimidazolium Chloride and the Effect of Bile Salt on These Aggregates: A Microscopic Study. *Langmuir* **2018**, *34* (10), 3296–3306.
<https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.8b00029>.