



Casa abierta al tiempo

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA–UNIDAD IZTAPALAPA
DIVISIÓN DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA**

TESIS

**“SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ORO
MODIFICADAS CON CURCUMINA Y POLIVINILPIRROLIDONA”**

PRESENTA

VERÓNICA SANTAMARÍA DÁVILA

PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS (QUÍMICA)

ASESOR:

DR. NIKOLA BATINA SKELEDZIJA

CO-ASESORA:

DRA. ELIZABETH MALDONADO ALVARADO

SINODALES

DR. NIKOLA BATINA SKELEDZIJA

DR. PABLO GUSTAVO DAMIÁN MATSUMURA

DR. IVÁN RAFAEL QUEVEDO PARTIDA

CIUDAD DE MÉXICO

DICIEMBRE, 2018



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00088

Matrícula: 2163803032

SINTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ORO MODIFICADAS CON CURCUMINA Y POLIVINILPIRROLIDONA.

En la Ciudad de México, se presentaron a las 15:00 horas del día 13 del mes de diciembre del año 2018 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

- DR. NIKOLA BATINA SKELEDZIJA
- DR. IVAN RAFAEL QUEVEDO PARTIDA
- DR. PABLO GUSTAVO DAMIAN MATZUMURA




VERONICA SANTAMARIA DAVILA
ALUMNA

Bajo la Presidencia del primero y con carácter de Secretario el último, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS (QUIMICA)
DE: VERONICA SANTAMARIA DAVILA

y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

aprobar

REVISÓ



DR. JOSE ANTONIO DE LOS REYES HEREDIA
SECRETARIO GENERAL

Acto continuo, el presidente del jurado comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.

DIRECTOR DE LA DIVISION DE CBI



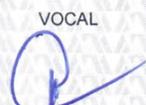
DR. JESUS ALBERTO OCHOA TAPIA

PRESIDENTE



DR. NIKOLA BATINA SKELEDZIJA

VOCAL



DR. IVAN RAFAEL QUEVEDO PARTIDA

SECRETARIO



DR. PABLO GUSTAVO DAMIAN MATZUMURA

Éste trabajo se realizó en el Laboratorio de Nanotecnología e Ingeniería Molecular del Departamento de Química, División de Ciencias Básicas e Ingeniería de la Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalapa bajo la dirección del **Dr. Nikola Batina Skeledzija** y la co-asesoría de la **Dra. Elizabeth Maldonado Alvarado**.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada con No. de becario CONACYT: 616294.

Al Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada para Titulación. Con No. de folio 18BTM0185.

Al Dr. Nikola Batina Skeledzija por permitirme trabajar en su laboratorio y su asesoría en el proyecto de tesis.

A la Dra. Elizabeth Maldonado Alvarado por el asesoramiento en la síntesis y caracterización de nanopartículas y su incondicional apoyo en cada paso a realizar de la presente tesis.

A la Dra. Eva Ramón Gallegos por la donación de reactivos y su asesoramiento parcial en la realización de éste proyecto.

Al Dr. Pablo Damián Matsumura por la asesoría y correcciones realizadas a lo largo de la realización del proyecto.

Al Dr. Iván Rafael Quevedo Partida por permitirme hacer parte de la caracterización de las nanopartículas (DLS y NTA) en la Universidad Iberoamericana; por su asesoría y correcciones de la presente tesis.

Al Departamento de Química por permitirme hacer uso del equipo de infrarrojo (ATR) ubicado en el edificio T.

A la Ing. Patricia Castillo por el análisis de TEM de las nanopartículas sintetizadas.

A Dra. Michelle Arredondo Espinoza por su incondicional apoyo y asesoramiento en el proyecto de tesis.

A Gregorio Nicolás Juárez Luna por su gran apoyo y asesoría para realizar los análisis de DLS y NTA y a Alexandro Téllez Plancarte por su asesoría para realizar la caracterización de IR (ATR) y AFM; además de su apoyo incondicional.

Ésta tesis está dedicada a...

A mis padres, Beto y Vero, y mi hermana Dasha por su gran apoyo incondicional en el nuevo reto que decidí emprender al realizar la Maestría fuera de casa. Gracias Infinitas.

Al Nanoteam (Fer García, Alex Téllez, Nat Pineda y Jorge Campoy) por ser parte fundamental y divertida durante la realización de mi proyecto de Tesis, gracias por su verdadera e inigualable amistad. Amigos para toda la vida.

A Eli Maldonado y Mich Arredondo por su apoyo, asesoría y amistad, son parte de mi vida.

A Álvaro Ochoa, amigo divertido e incondicional que uno tiene en las etapas importantes de la vida, dándome siempre ánimos. Amigo: La vida nos junto y nosotros somos una bomba, así que a seguir disfrutando de la vida.

A Jesús Herrera por su amistad y todo el apoyo brindado en situaciones importantes académicas y personales y a Ismael Farrera por su amistad incondicional, las charlas motivacionales y los consejos para seguir teniendo éxito en la vida.

A Diana Gómez, Yes Martínez y Mariana Martinez, por su gran amistad, por cada noche de desvelo y de convivencia que hicieron más amena mi estadía durante la Maestría. Son las mejores roomies que uno puede tener.

A Josué González por su apoyo parcial e incondicional durante la realización de mi Maestría y por todo el aprendizaje que tuve a su lado.

Al grupo de retas de volley de playa (donde todos son IQ's, menos yo) por cada reta y "after". Las verdaderas amistades están en los buenos y malos momentos. Gracias Julio López, Gabi Rodríguez, Joss Carmona, Luis Ramos, Gabi Hernández, Alex Romero, Alejandro Ortega (Magno), Ingrid Marín, Beto Hernández, Mara Cordero, Luis Pedroza, Quique Cervantes, Abraham Saavedra (Lagarto), Abraham Carrillo y Reyna Montez.

A Óscar Martínez por su apoyo incondicional en la recta final de ésta etapa. You're my sunshine.

Y no podían faltar las fantásticas, Dana, Leiko y Mariana, gracias por estar siempre.

Contenido

Agradecimientos	IV
Ésta tesis está dedicada a.....	V
Índice de figuras	IX
Índice de tablas.....	XI
Lista de siglas.....	XII
RESUMEN.....	XIII
1. INTRODUCCIÓN.....	15
1.1. Cáncer y sus tratamientos	15
1.2. Propiedades de las nanopartículas	16
1.2.1. Nanopartículas de oro.....	19
1.2.2. Síntesis de nanopartículas de oro (NPAu)	19
1.3. Curcumina	20
1.4. Polivinilpirrolidona (PVP).....	23
1.5. Caracterización de nanomateriales	23
1.5.1. Espectroscopia UV-Visible (UV-Vis).....	25
1.5.2. Espectroscopia Infrarrojo por Reflectancia Total Atenuada (FTIR-ATR).....	28
1.5.3. Dispersión Dinámica de Luz (DLS).....	30
1.5.4. Análisis de Rastreo de Partículas (NTA)	31
1.5.5. Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM).....	31
1.5.6. Microscopía de Fuerza Atómica (AFM).....	34
1.6. Justificación.....	37
1.7. Hipótesis	38
1.8. Objetivos	38
1.8.1. Objetivo general.....	38
1.8.2. Objetivos particulares	38
2. MATERIALES Y MÉTODOS	39
2.1. Reactivos y equipos	39
2.2. Síntesis de nanopartículas de oro-curcumina-PVP.	40
3. RESULTADOS.....	42
3.1. Caracterización por espectroscopia Ultravioleta-Visible (UV-Vis).....	42

3.2.	Caracterización por espectroscopia Infrarrojo- Reflectancia Total Atenuada (FTIR-ATR).....	43
3.2.1.	Nanopartículas de oro-curcumina.....	43
3.2.2.	Nanopartículas de oro-curcumina-PVP.....	45
3.2.3.	Comparación de caracterización en cada etapa de modificación	46
3.3.	Caracterización por Dispersión Dinámica de Luz (DLS).....	48
3.4.	Caracterización por Análisis de Rastreo de Partículas (NTA).....	49
3.5.	Caracterización por Microscopia Electrónica de Transmisión (TEM)	50
3.5.1.	Nanopartículas de oro- citrato comerciales.....	50
3.5.2.	Nanopartículas de oro-curcumina.....	51
3.5.3.	Nanopartículas de oro-curcumina-PVP.....	52
3.6.	Caracterización por Microscopia de Fuerza Atómica	53
3.6.1.	Nanopartículas de oro-citrato comerciales	53
3.6.2.	Nanopartículas de oro-curcumina.....	54
3.6.3.	Nanopartículas de oro-curcumina-PVP.....	56
4.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	59
4.1.	Caracterización por espectroscopia UV-Visible (UV-Vis)	59
4.2.	Caracterización por espectroscopia Infrarrojo por Reflectancia Total Atenuada (FTIR-ATR).....	59
4.3.	Caracterización por Dispersión Dinámica de Luz (DLS).....	60
4.4.	Caracterización por Análisis de Rastreo de Partículas (NTA).....	60
4.5.	Caracterización por Microscopia Electrónica de Transmisión (TEM)	61
4.6.	Caracterización por Microscopia de Fuerza Atómica (AFM)	62
4.7.	Análisis de distribución de tamaño de partícula mediante software SPIP a partir de las imágenes de AFM.....	63
4.8.	Comparación del tamaño de nanopartícula de las diferentes técnicas de caracterización utilizadas	63
4.9.	Comparación de la síntesis de nanopartículas de oro modificadas con curcumina y PVP por diferentes técnicas.	66
5.	CONCLUSIONES.....	70
6.	PROSPECTIVAS.....	71
7.	APÉNDICES.....	72

7.1. Cálculo del número de moléculas de curcumina unidas alrededor de las nanopartículas de oro	72
7.2. Preparación de muestras para caracterización de nanopartículas de oro-curcumina-PVP	79
7.2.1. Espectroscopia UV-Visible (UV-Vis).....	79
7.2.2. Espectroscopia Infrarrojo por Reflectancia Total Atenuada (FTIR-ATR).....	79
7.2.3. Dispersión Dinámica de Luz (DLS).....	80
7.2.4. Análisis de Rastreo de Partículas (NTA)	80
7.2.5. Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM).....	80
7.2.6. Microscopía de Fuerza Atómica (AFM).....	80
8. REFERENCIAS	82

Índice de figuras

<i>Figura 1. Células normales y células cancerígenas en cáncer de mama.</i>	15
<i>Figura 2. Métodos de síntesis de nanopartículas.</i>	18
<i>Figura 3. Formación de nanopartículas de oro.</i>	19
<i>Figura 4. Formación de nanopartículas de oro.</i>	20
<i>Figura 5. Estructura de la curcumina en forma ceto-enol.</i>	21
<i>Figura 6. Actividad biológica de la curcumina.³¹</i>	22
<i>Figura 7. Estructura de polivinilpirrolidona.</i>	23
<i>Figura 8. Espectro electromagnético.</i>	24
<i>Figura 9. Intervalo de medición de diferentes Microscopias</i>	24
<i>Figura 10. Componentes de un espectrofotómetro Ultravioleta-Visible.</i>	27
<i>Figura 11. Funcionamiento de un espectrofotómetro de infrarrojo ATR.</i>	29
<i>Figura 12. Esquema del equipo para DLS (a) y respuesta (b).</i>	30
<i>Figura 13. Esquema del equipo para Análisis de Rastreo de Nanopartículas.</i>	31
<i>Figura 14. Esquema del Microscopio Electrónico de Transmisión⁶</i>	33
<i>Figura 15. Funcionamiento del Microscopio de Fuerza Atómica.</i>	34
<i>Figura 16. Modos de operación del cantiléver en AFM de acuerdo con la naturaleza del movimiento de la punta. a) modo de contacto, b) modo de no contacto y c) modo contacto.</i>	36
<i>Figura 17. Metodología de síntesis y caracterización.</i>	40
<i>Figura 18. Propuesta de síntesis de nanopartículas de oro modificadas con curcumina y PVP.</i>	41
<i>Figura 19. Espectros de UV-Visible de cada etapa de modificación de la nanopartícula.</i>	42
<i>Figura 20. Espectro de infrarrojo por ATR de a) Curcumina, b) NPAu-cur y c) estructura de la curcumina.</i>	43
<i>Figura 21. Acercamiento del espectro de infrarrojo por ATR de A) curcumina y B) NPAu-cur.</i>	44
<i>Figura 22. Espectros de infrarrojo por ATR de a) PVP, b) NPAu-cur-PVP y c) estructura del PVP.</i>	45
<i>Figura 23. Comparación de espectros de infrarrojo por ATR de cada etapa de modificación de la nanopartícula.</i>	47
<i>Figura 24. Promedio de diámetro hidrodinámico de la partícula por DLS.</i>	48
<i>Figura 25. Promedio de diámetro hidrodinámico de la partícula por NTA.</i>	49

<i>Figura 26. Imágenes de TEM de nanopartículas de oro con citrato comerciales a diferente resolución.</i>	50
<i>Figura 27. Histograma de distribución de tamaño de partícula de nanopartículas de oro comerciales.</i>	50
<i>Figura 28. Imágenes de TEM de nanopartículas de oro con curcumina a diferente resolución.</i>	51
<i>Figura 29. Histograma de distribución de tamaño de partícula de nanopartículas de oro con curcumina.</i>	51
<i>Figura 30. Imágenes de TEM de nanopartículas de oro con curcumina y PVP a diferente resolución.</i>	52
<i>Figura 31. Histograma de distribución de tamaño de partícula de las nanopartículas de oro con curcumina y PVP.</i>	52
<i>Figura 32. Imágenes de AFM de NPAu-cit comerciales.</i>	53
<i>Figura 33. Imágenes AFM de NPAu-cit analizadas mediante software SPIP y b) Histograma de distribución de tamaño de partícula mediante software SPIP de NPAu-cit.</i>	54
<i>Figura 34. Imágenes de AFM de NPAu-cur.</i>	55
<i>Figura 35. a) Imágenes de AFM de NPAu-cur analizadas mediante software SPIP y b) Histograma de distribución de tamaño de partícula mediante software SPIP de NPAu-cur.</i>	56
<i>Figura 36. Imágenes de AFM de NPAu-cur-PVP.</i>	57
<i>Figura 37. a) Imagen de AFM de NPAu-cur-PVP analizadas mediante software SPIP y b) Histograma de distribución de tamaño de partícula mediante software SPIP de NPAu-cur-PVP.</i>	58
<i>Figura 38. Comparación de las técnicas de caracterización empleadas para las NPAu-cit comerciales.</i>	64
<i>Figura 39. Comparación de las técnicas de caracterización empleadas para las NPAu-cur.</i>	65
<i>Figura 40. Comparación de las técnicas de caracterización empleadas para las NPAu-cur-PVP.</i>	65
<i>Figura 41. Comparación de la modificación de nanopartículas de oro con curcumina y PVP.</i>	67
<i>Figura 42. Comparación de la modificación de NPAu-cur y NPAu-cur-PVP con base a la caracterización de AFM.</i>	68

Índice de tablas

<i>Tabla 1. Técnicas de caracterización de nanopartículas, aporte, preparación de la muestra y resolución.</i>	<i>25</i>
<i>Tabla 2. Reactivos y equipos</i>	<i>39</i>
<i>Tabla 3. Porcentaje de frecuencia del tamaño de nanopartículas de oro. comerciales en TEM.....</i>	<i>50</i>
<i>Tabla 4. Porcentaje de frecuencia del tamaño de nanopartículas de oro con curcumina... </i>	<i>51</i>
<i>Tabla 5. Porcentaje de frecuencia del tamaño de nanopartículas de oro con curcumina y PVP.</i>	<i>52</i>
<i>Tabla 6. Tamaño de nanopartículas estándar y sintetizadas de cada técnica de caracterización.....</i>	<i>68</i>

Lista de siglas

AFM	Microscopia de Fuerza Atómica
Cur	Curcumina
DLS	Dispersión Dinámica de Luz
FTIR-ATR	Espectroscopia de Infrarrojo por Reflectancia Total Atenuada
NPAu-cit	Nanopartículas de oro con citrato (comerciales)
NPAu-cur	Nanopartículas de oro con curcumina
NPAu-cur-PVP	Nanopartículas de oro con curcumina y PVP
NTA	Análisis de Rastreo de Nanopartícula
PVP	Polivinilpirrolidona
SPIP	Scanning Probe Image Processor Procesador de imagen de exploración de escaneo
TEM	Microscopia Electrónica de Transmisión
UV-Vis	Espectroscopia de absorbancia Ultravioleta-Visible

RESUMEN

El uso de nanofármacos para el tratamiento de enfermedades cada vez es más frecuente; un ejemplo de ello son las nanopartículas de oro utilizadas como vehículos de fármacos dirigidos a lugares específicos para diagnóstico temprano y tratamiento de cáncer, pues tienen excelente compatibilidad y características físicas (forma y tamaño) que permiten su fácil modificación. Así mismo, existen estudios recientes enfocados en el uso de curcumina (derivado del rizoma de la cúrcuma que ha sido utilizada como tratamiento de varias enfermedades en la antigüedad) para combatir el cáncer ya que posee gran variedad de propiedades de interés entre ellas la propiedad anticancerígena; estudiada por varios investigadores debido a que en la antigüedad se utilizaba como remedio natural en la medicina tradicional de China e India. Desafortunadamente el uso clínico de la curcumina se ha visto limitado debido a su baja biodisponibilidad y rápida degradación en el hígado, por lo que surge la necesidad de desarrollar nuevos sistemas de nanopartículas que incrementen la actividad biológica de la curcumina. Adicionalmente, el polímero polivinilpirrolidona, es uno de los excipientes más usados comúnmente para preparar nanopartículas debido a sus efectos de suspensión, estabilidad y antiplastificado.

Es por ello que en ésta tesis se presenta una caracterización detallada de la síntesis de nanopartículas de oro modificadas con curcumina, basada en el artículo (*Singh, 2013*), más una capa de polivinilpirrolidona; por ser una vía sencilla y asequible, utilizando técnicas de moderna tecnología que demuestran el éxito de la síntesis mediante espectroscopia de absorbancia UV-Visible, espectroscopia de infrarrojo por Reflectancia Total Atenuada; tamaño de las nanopartículas, comportamiento e interacción en medio acuoso mediante Dispersión Dinámica de Luz y Análisis de Rastreo de Nanopartícula; distribución de tamaño de partícula con Microscopía Electrónica de Transmisión; y análisis de superficie a nivel nanométrico con Microscopía de Fuerza Atómica.

Los resultados obtenidos permiten ver la modificación, tamaño y comportamiento a vacío, temperatura ambiente y medio acuoso, dando información de importancia para continuar con la modificación y optimización de nanopartículas de oro con curcumina para posible uso como nanofármacos contra cáncer con alta eficiencia en la eliminación de células cancerosas.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Cáncer y sus tratamientos

El cáncer es una de las principales causas de muerte en el mundo, en el año 2015 se presentaron 8.8 millones de defunciones donde una de cada seis correspondía a muerte ocasionada por cáncer.¹ Es importante mencionar que existen diversos tipos de tratamientos contra el cáncer como son cirugía, radioterapia, terapias sistémicas² (quimioterapia, inmunoterapia, terapia hormonal) y trasplante de células madre.³ Estos tratamientos aun cuando han mostrado tener la capacidad de mejorar el pronóstico de los pacientes y así como su calidad de vida, presentan la desventaja de ocasionar efectos secundarios graves en el organismo, dañando células sanas debido a su baja especificidad. Generalmente, se aplica a los pacientes una combinación de los tratamientos anteriormente mencionados, sin poder eliminar por completo el tumor.

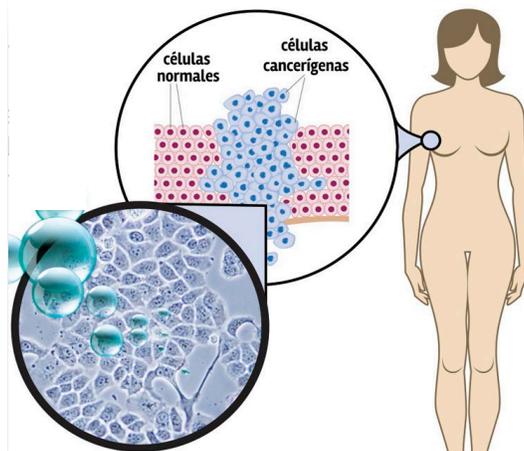


Figura 1. Células normales y células cancerígenas en cáncer de mama.⁴

La nanotecnología aplicada al cáncer está emergiendo como un nuevo campo interdisciplinario de investigación pasando por disciplinas como la química, biología, ingeniería y medicina, por mencionar algunas, donde se espera obtener grandes avances principalmente en la detección, diagnóstico y tratamiento del cáncer. Con este surgimiento de la nanotecnología y nanociencia se han realizado

estudios sobre nanopartículas-nanofármacos que presentan mejores beneficios en comparación con un fármaco clásico, debido a las interesantes propiedades que presentan como tamaño, forma, morfología, efectos inducidos por la superficie, y composición química, su interacción con componentes intracelulares, debido a lo anterior se desea que sean primordialmente biodegradables sobre todo biocompatibles.⁵

1.2. Propiedades de las nanopartículas

Las partículas con dimensiones menores a 100 nm se denominan nanopartículas o partículas ultrafinas y de 100 a 2500 nm se consideran partículas finas. Las nanopartículas desnudas y modificadas con algún reactivo de interés, presentan diversas propiedades de gran importancia e interés para las aplicaciones biomédicas, ya sea en el diagnóstico, detección y/o administración de fármacos; debido a que los sistemas biológicos responden fuertemente a la superficie, tamaño y forma de las nanopartículas, pues la interacción entre las nanopartículas modificadas y las células pueden dañar la integridad de la estructura membranal y ocasionar efectos no deseables.⁵ Es por ello que se requiere ser selectivos en las moléculas que se utilizarán para la modificación de las nanopartículas de interés, las cuales deben de presentar afinidad con las células cancerígenas que se quieren eliminar; así como su tamaño, entre 20 y 100 nm; idealmente una forma esférica con la mayor superficie de interacción posible para tener una mejor respuesta.

Existen dos métodos para la formación de nanopartículas⁶:

➤ **Métodos Físicos** (Ver Figura 2)

Consisten en la división de sólidos máxicos en proporciones más pequeñas mediante:

a) Evaporación térmica: a vacío.

- b) Depósito químico en fase vapor (CVD): descomposición de compuestos volátiles en cámara de vacío o en la superficie de sólido, forma capa delgada de NPs.
- c) Clusters gaseosos: con láser de alta potencia que produce vapores atómicos metálicos acarreados con gas inerte y depositado en óxido monocristalino a ultravacío.
- d) Implantación de iones: fuente de producción de iones del elemento, acelerador de iones, a alta velocidad se implantan en el sólido.
- e) Molienda de partículas macro o micro

➤ **Métodos Químicos** (Ver Figura 2)

Consiste en la fabricación de nanopartículas por condensación de átomos o entidades moleculares en fase gaseosa o solución.

- a) **Método coloidal:** disolución de sal precursor metálico, un reductor y estabilizante en líquido. *Turkevitch
- b) **Reducción fotoquímica y radioquímica:** Para partículas de metales nobles; se utiliza energía por debajo de 60 eV. La ausencia de impurezas al final de método indica que se tienen nanopartículas de alta pureza en condiciones de estado sólido y a bajas temperaturas.
- c) **Irradiación con microondas:** Nanopartículas con baja dispersión de tamaño. Se utilizan campos eléctricos de alta frecuencia capaces de calentar cualquier material conteniendo cargas eléctricas.
- d) **Dendrímeros:** Se consideran nanoreactores pues son moléculas ramificadas con grupos terminales que pueden ser modificados, de alto peso molecular y baja viscosidad, con tamaño de 2 a 15 nm.
- e) **Síntesis solvotermal:** para reactivos que se disuelven difícilmente en agua utilizando mineralizadores.
- f) **Método sol-gel:** proceso químico en fase húmeda. La solución actúa como precursor de red integrada (alcóxidos metálicos y cloruros metálicos).

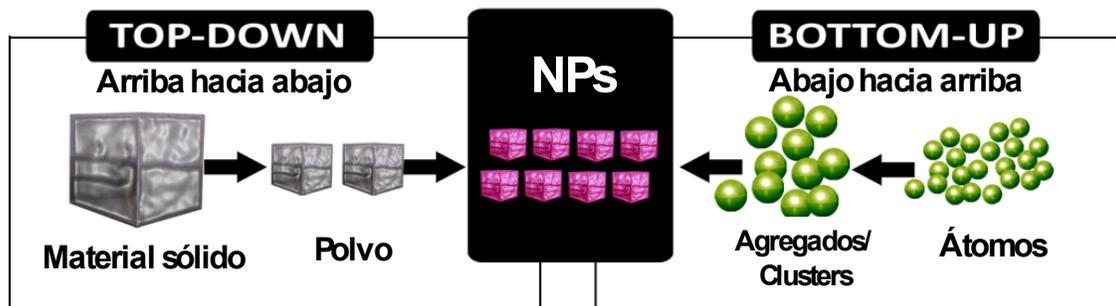


Figura 2. Métodos de síntesis de nanopartículas.⁷

Con respecto a la estabilidad de las nanopartículas, ésta depende de su comportamiento de dispersión y aglomeración. Por ejemplo, si las nanopartículas están dispersas en agua, éste representa el sistema coloidal y se verá afectado por fuerzas atractivas (Fuerzas de van der Waals) y repulsivas. Si dominan las fuerzas atractivas seguramente se presentará el efecto de aglomeración en las nanopartículas; pero si las nanopartículas se estabilizan por fuerzas electrostáticas repulsivas o por estabilidad estérica, el sistema coloidal puede ser cinéticamente estable. La estabilidad electrostática se da en partículas con carga neta positiva o negativa dependiendo del pH del agua y del punto de carga neta cero de las nanopartículas. Es importante mencionar que se presenta un buen acoplamiento entre la parte química de la superficie de la partícula, el agua y la estabilidad y el estado de aglomeración. Por otro lado la estabilidad estérica está ligada a la interacción entre el grupo funcional de la molécula y la nanopartícula y su geometría óptima para dicha interacción, la cuál es específica y selectiva buscando los lugares menos protegidos.⁸

En cuanto a la aglomeración de las nanopartículas, es un fenómeno no deseado, dado que se presenta un cambio constante en la distribución del tamaño de partícula que va desde el orden de nanómetros hasta micrómetros, limitando su uso en el aspecto biológico que se ve reflejado en la disminución de nanopartículas que pueden ser absorbidas, el aumento de material a ingerir para tener el efecto esperado, disminuye la tasa de transporte de nanopartículas y se tiene menor disponibilidad de la superficie de las nanopartículas para reacciones

químicas, entre otros efectos no deseados. Por lo tanto es importante poner atención en los reactivos a utilizar para hacer una síntesis de nanopartículas, seleccionar un buen agente reductor y estabilizador, así como las condiciones óptimas para tener un tamaño esperado de las nanopartículas.

1.2.1. Nanopartículas de oro

Las nanopartículas de oro han mostrado tener propiedades para el tratamiento contra el cáncer^{9,10,11,12} ya sea como vehículo de fármacos a sitios específicos, agentes fototérmicos, agentes de contraste o radiosensibilizadores⁹, así como una alternativa de diagnóstico temprano de cáncer y en nuevas terapias. Esto es debido a sus propiedades físicas como forma, tamaño, fácil modificación de la superficie, excelente biocompatibilidad y propiedades ópticas únicas.^{5,13}

1.2.2. Síntesis de nanopartículas de oro (NPAu)

Actualmente existen numerosos métodos para la síntesis de nanopartículas de oro en combinación con n número de especies modificantes, pero el principio es el mismo, partir de una sal precursora de oro (HAuCl_4) más un agente reductor, en combinación con un agente estabilizante para evitar la aglomeración de las nanopartículas (Ver Figura 3 y 4).

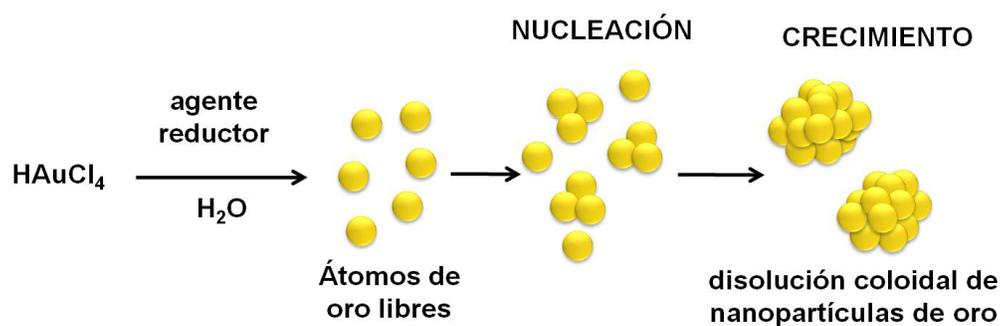


Figura 3. Formación de nanopartículas de oro.¹⁴

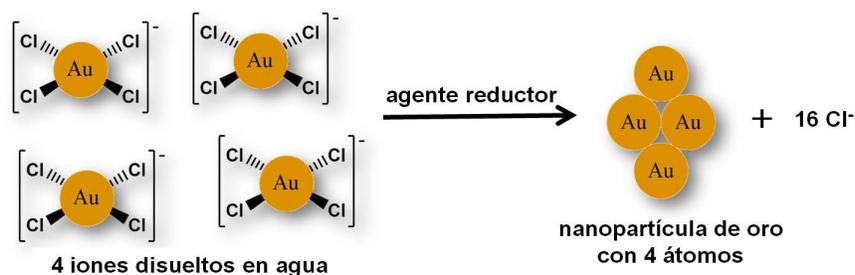


Figura 4. Formación de nanopartículas de oro.¹⁴

A continuación se presentan los primeros métodos de síntesis de nanopartículas de oro.

- **Método coloidal de Turkevitch (1951):** Es el primer método estándar de preparación de coloides metálicos con partículas de oro de 20 nm, la reducción de la sal de oro $[\text{AuCl}_4^-]$ ocurre con el citrato de sodio ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$), que actúa como agente reductor y estabilizador.
- **Método de Brust (1990):** consiste en la producción de partículas de oro con un tamaño de 3 a 5 nm en líquidos orgánicos, no miscibles en agua como el Tolueno. La reacción ocurre con el ácido cloraúrico (HAuCl_4) y bromuro de tetraoctilamonio (TOAB) en tolueno, como agente estabilizador y el borohidruro de sodio (NaBH_4) como agente reductor.

1.3. Curcumina

Actualmente se están realizando estudios enfocados en el uso de la curcumina para combatir el cáncer, debido a que en la antigüedad se utilizaba como remedio natural en la medicina tradicional de China e India,¹⁵ y es uno de los componentes de la planta *Cúrcuma longa*, de origen asiático, a la cual da el color amarillo característico y es el ingrediente activo responsable de la actividad biológica.¹⁶

Varios investigadores de todo el mundo presentan estudios que mencionan que la curcumina posee propiedades farmacológicas antioxidantes, antimicrobianas, antiinflamatorias¹⁷; actividad inmunológica y anticancerígena,^{18,19,20,21,22,23,24} de protección neuronal, cardiovascular y renal.²⁵ Debido a que es estable en el estómago y en el intestino delgado dado el pH presente en estas zonas, se vuelve una molécula atractiva para su estudio, sumado a su elevada lipofilia que le permite una rápida absorción gastrointestinal por difusión pasiva.¹¹ La nomenclatura de la curcumina de acuerdo con la IUPAC es (1E,6E)-1,7-bis(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona (Ver Figura 5).

El uso clínico de la curcumina se ha visto limitado debido a su baja biodisponibilidad y rápida degradación en el hígado¹⁵, por lo que surge la necesidad de desarrollar nuevos sistemas de nanopartículas que incrementen la actividad biológica de la curcumina.



Figura 5. Estructura de la curcumina en forma ceto-enol.

Los estudios realizados sobre curcumina tienen diferentes direcciones, una de ellas es hacia la rama de la química, en cuanto a análisis y caracterización teórica de la molécula, estados de mínima energía, tautómero más estable, distancia entre cada átomo, así como la geometría de los tautómeros.^{26,27,28,29,30}

Por otro lado presentan la caracterización de la molécula mediante técnicas espectroscópicas como espectroscopia Ultravioleta-Visible (UV-Vis), espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FT-IR), Resonancia

Magnética Nuclear (NMR),^{26,27,31} Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM) y espectroscopia de fotoelectrones emitidos por Rayos X (XPS).³²

A su vez, existen artículos que se enfocan en la rama de la biología, mediante el uso de curcumina en combinación con otras moléculas como biopolímeros y su eficiencia de acuerdo al comportamiento observado en ratones de forma *in vitro* e *in vivo*.^{24,33} Parte importante de estas investigaciones, es la aportación sobre que grupos de la molécula de curcumina dan la actividad biológica, pues se sabe que la curcumina interactúa con una serie de biomoléculas a través de la unión covalente y no covalente (Ver Figura 6). El enlace de hidrógeno y la hidrofobicidad de la curcumina, derivada de las estructuras aromáticas y tautoméricas, junto con el grupo enlazante son los responsables de las interacciones no covalentes. La parte dicetona insaturada interactúa covalentemente con tioles de las proteínas y a su vez forma quelatos con metales de transición, reduciendo la toxicidad inducida por el metal y algunos de los complejos metálicos exhiben una actividad antioxidante mejorada como imitadores de enzimas.³⁴

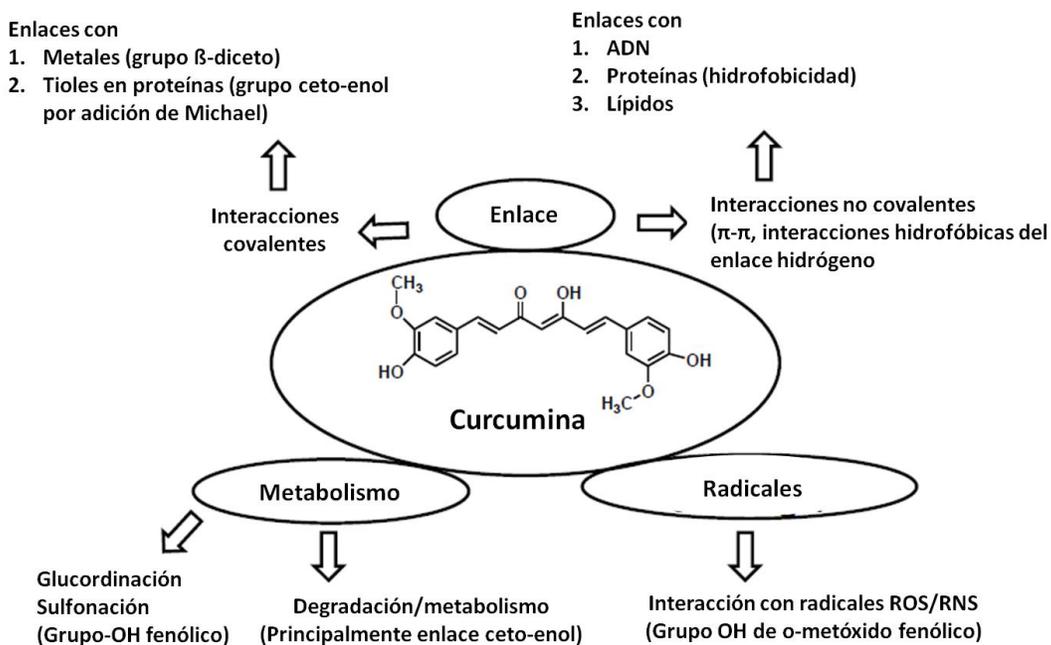


Figura 6. Actividad biológica de la curcumina.³¹

1.4. Polivinilpirrolidona (PVP)

La polivinilpirrolidona mejor conocida por su abreviatura “PVP” (Figura 7), es uno de los excipientes más usados comúnmente para preparar nanopartículas debido a sus efectos de suspensión, estabilidad y antiplastificado.³⁵ Además se ha comprobado que es un buen portador de fármacos y tiene facilidad para facilitar la conjugación de la curcumina con nanopartículas de oro, mejorando la solubilidad de la curcumina en agua.³⁶ Es por ello que se ha contemplado para la modificación de las nanopartículas de oro después de la curcumina.

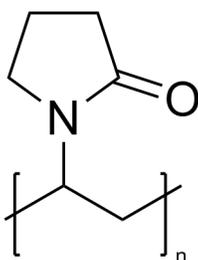


Figura 7. Estructura de polivinilpirrolidona.

1.5. Caracterización de nanomateriales

Para realizar una buena caracterización es necesario recordar el espectro electromagnético, pues es de gran ayuda para saber qué tipo de caracterización podemos realizar de acuerdo a la muestra que se tiene. El espectro electromagnético es la distribución energética del conjunto de las ondas electromagnéticas. Se extiende desde la radiación de menor longitud de onda, a partir de rayos gamma, siguiendo rayos X, luz ultravioleta, luz visible, rayos infrarrojo, hasta las ondas electromagnéticas de mayor longitud de onda, como las ondas de radio (Ver Figura 8). Se puede obtener mucha información acerca de las propiedades físicas de un objeto a través del estudio de su espectro electromagnético, ya sea por la luz emitida (radiación de cuerpo negro) o absorbida por él.

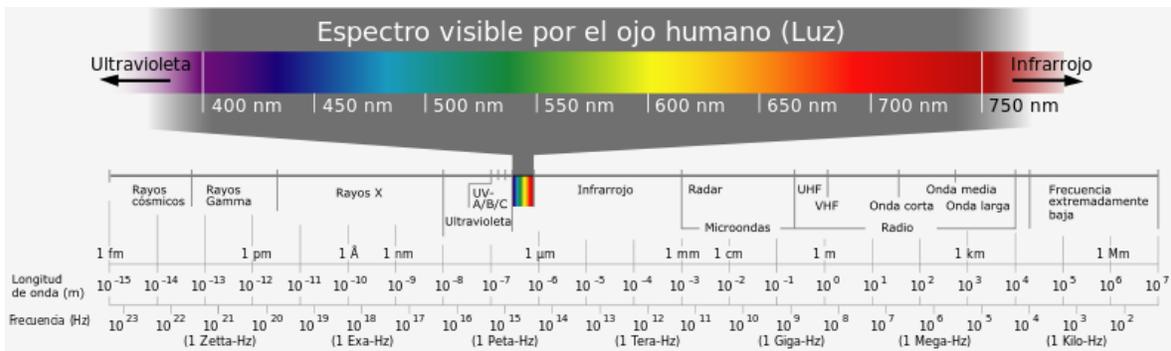


Figura 8. Espectro electromagnético.³⁷

Por otro lado existen diversas técnicas de microscopía de gran utilidad para la caracterización de nanopartículas tales como Microscopía Electrónica de Barrido, Microscopía Electrónica de Transmisión, Microscopía de Fuerza Atómica, sólo por mencionar algunas. En la Figura 9, se puede observar el intervalo de medición para cada una de ellas, pudiendo elegir la microscopía que más nos convenga para la caracterización de nanopartículas de acuerdo a su tamaño.

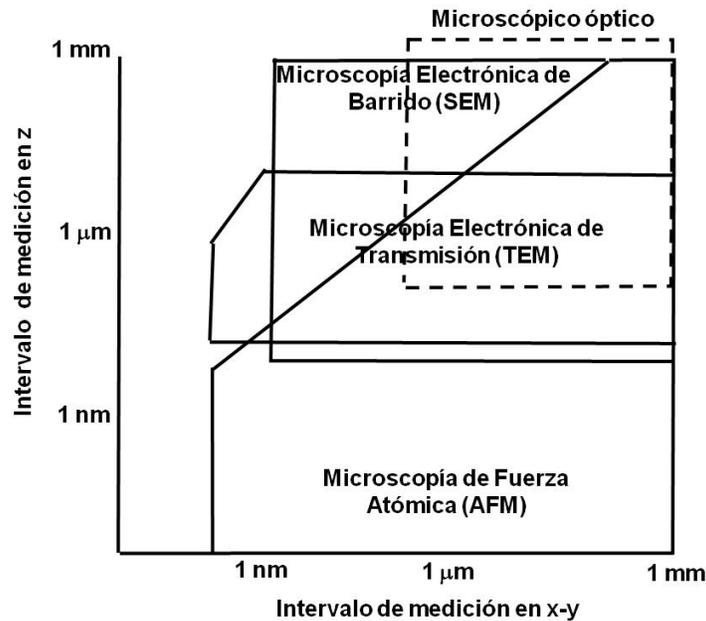


Figura 9. Intervalo de medición de diferentes Microscopías³⁸

En este trabajo se aborda una caracterización detallada con diversas técnicas antes mencionadas, de la síntesis de nanopartículas de oro modificadas con curcumina y polivinilpirrolidona. En la Tabla 1 se observan las técnicas utilizadas, así como la información que aportan cada una de ellas, la preparación de muestra que se necesita y la resolución.

Tabla 1. Técnicas de caracterización de nanopartículas, aporte, preparación de la muestra y resolución.

Técnicas de caracterización	Información que aportan	Preparación de la muestra	Resolución
UV-Vis	Identificación y concentración de compuestos orgánicos conjugados y metales	En solución	ppm
IR	Identificación de grupos funcionales y modificación de nanopartículas	Ambiente	ppm
TEM	Distribución de tamaño de nanopartícula, y tamaño de nanopartícula	Vacío	ppb-ppm
AFM	Morfología de la superficie	Ambiente	ppb-ppm
DLS	Distribución y tamaño de diámetro hidrodinámico de nanopartícula	En solución	ppm
NTA	Concentración, tamaño de diámetro hidrodinámico y carga superficial de nanopartículas	En solución	ppb-ppm

A continuación se presentan los fundamentos de cada técnica de caracterización empleada en éste proyecto de investigación.

1.5.1. Espectroscopia UV-Visible (UV-Vis)

La espectroscopia UV-Visible está basada en el proceso de absorción de la radiación ultravioleta-visible de una molécula con un intervalo de longitud de onda

desde los 200 hasta los 800 nm, causando el movimiento del electrón de un estado basal a un estado excitado, presentándose transiciones electrónicas. Los electrones asociados a estas transiciones corresponden a aquellos más débilmente atraídos por el conjunto de núcleos atómicos que componen la molécula y cuyos estados pueden ser descritos a través de orbitales moleculares que se expresan como combinaciones lineales de orbitales atómicos de la capa de valencia. Las transiciones electrónicas a orbitales moleculares más externos dan lugar a las denominadas transiciones Rydberg presentes en el Ultravioleta de vacío.³⁹

Las bandas que aparecen en un espectro UV-Visible son anchas ya que superponen transiciones vibracionales y electrónicas, por este motivo esta técnica es válida para identificar grupos funcionales en una molécula, grupos cromóforos y conjugación en la molécula.

Las medidas de absorción de la radiación ultravioleta visible encuentran una enorme aplicación en la determinación cuantitativa de una gran variedad de especies, tanto inorgánicas como orgánicas. También tiene aplicación en la determinación cualitativa se usa como técnica secundaria en la identificación y determinación de detalles estructurales, la información obtenida necesita ser complementada por otras técnicas de análisis como la espectroscopia de absorción de radiación IR, RMN.

Para realizar la medición de la absorbancia o transmitancia se usa un espectrofotómetro, el cual consta de: (Ver Figura 10)

- Una fuente de energía radiante (lámpara de deuterio y tungsteno)
- Un monocromador para la selección de radiaciones de una determinada longitud de onda (filtros, prismas, redes de difracción)
- Un compartimiento donde se aloja un recipiente transparente (puede ser de vidrio o cuarzo el cual se usa para UV)

- Un detector de luz y un amplificador convertidor de las señales luminosas en señales eléctricas
- Un sistema de lectura de datos

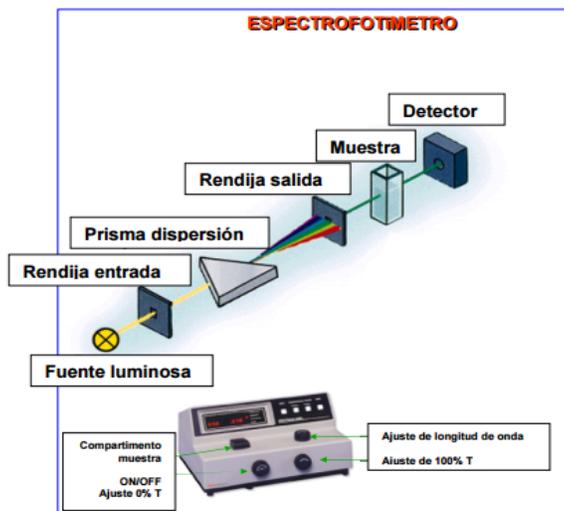


Figura 10. Componentes de un espectrofotómetro Ultravioleta-Visible. ⁴⁰

La absorbancia de una solución es directamente proporcional a su concentración. A mayor número de moléculas mayor interacción de la luz con ellas; también depende de la distancia que recorre la luz por la solución y por ultimo depende de ϵ una constante de proporcionalidad, denominada coeficiente de extinción que es específica de cada cromóforo.⁴¹

Las limitaciones de la ley de Beer:

- A concentraciones altas la distancia media entre las moléculas responsables de la absorción disminuye hasta el punto en que cada molécula altera la distribución de carga de las moléculas vecinas.
- Desviaciones químicas: cuando un analito se disocia, se asocia o reacciona con un disolvente para dar lugar a un producto con un espectro de absorción diferente al del analito.

- Desviaciones instrumentales originadas por la luz policromática: el cumplimiento estricto de la ley solo se observa cuando la radiación es monocromática.

La absorción UV-Vis no es una prueba específica para ningún compuesto determinado. La naturaleza del disolvente, el pH de la solución, la temperatura, la concentración de electrolitos, y la presencia de sustancias interferentes pueden influir en los espectros de absorción de los compuestos. Dado que los compuestos orgánicos generalmente absorben fuertemente en la región del espectro ultravioleta, la muestra debe diluirse en disolventes que sean transparentes para el UV por debajo de la longitud de onda de interés como hexano, heptano, ciclohexano, cloroformo, THF, etanol, metanol, agua.³⁴

1.5.2. Espectroscopia Infrarrojo por Reflectancia Total Atenuada (FTIR-ATR)

La espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier es una de las técnicas espectroscópicas más versátiles y de mayor aplicación en la caracterización e identificación de materiales, análisis de productos farmacéuticos y de síntesis, análisis de contaminantes, ciencia forense, biomedicina, agricultura y alimentación entre otros. Ésta técnica permite la identificación de los grupos funcionales de un compuesto debido a que cuando una molécula absorbe radiación infrarroja, la vibración intramolecular con frecuencia igual a la de la radiación, aumenta en intensidad, lo que genera señales con frecuencias que corresponden a la vibración de un enlace específico. La región infrarroja se divide en tres regiones denominadas infrarrojo cercano (NIR) de 12800-4000 cm^{-1} ; infrarrojo medio (MIR) de 4000-400 cm^{-1} e infrarrojo lejano (FIR) de 400-100 cm^{-1} . El espectrómetro de IR con transformada de Fourier permite la obtención de espectros de forma rápida, precisa y con relaciones Señal/Ruido (S/N) elevadas.

El ATR (Attenuated Total Reflection) es una técnica de muestreo utilizada en el IR, la cual se produce cuando una radiación infrarroja entra en un cristal ATR transmisor y de alto índice de refracción. El cristal está diseñado para permitir una reflexión interna total que crea una onda evanescente sobre la superficie del cristal. Esta onda se extiende a la muestra que se mantiene en contacto íntimo con el cristal, registrándose el espectro de infrarrojo del analito (Ver Figura 11).

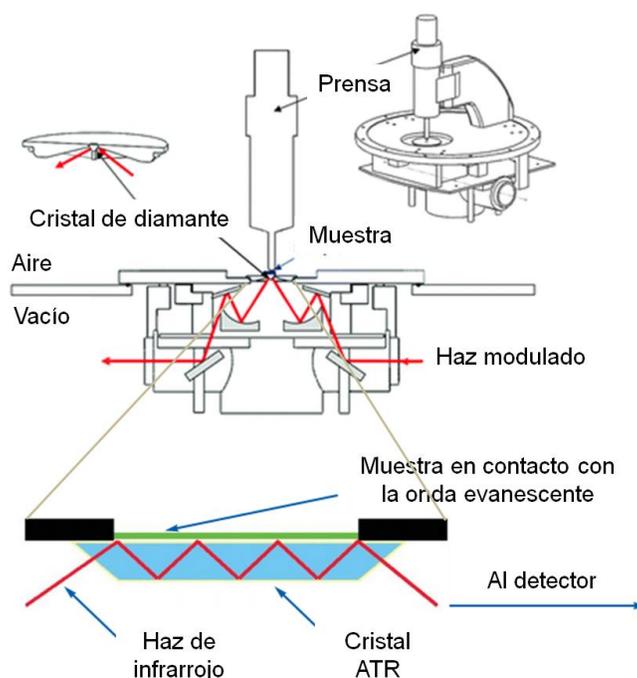


Figura 11. Funcionamiento de un espectrofotómetro de infrarrojo ATR. ⁴²

Al incidir luz infrarroja sobre una molécula, se absorbe la energía provocando que una vibración de enlaces ya sea de flexión (δ), tensión simétrica (v_{sim}) o tensión asimétrica (v_{asim}), similar a un resorte; a esto se le conoce como modo normal de vibración. Para una molécula lineal corresponde $3n-6$, donde "n" es el número de átomos de la molécula), mientras que para una molécula lineal corresponde $3n-5$. Las vibraciones de tensión tienen una frecuencia mayor, mientras que las vibraciones de flexión presentan baja frecuencia. El espectro vibracional de una molécula se considera una propiedad física única y por tanto característica de ésta molécula. Así, entre otras aplicaciones, el espectro IR se

puede usar como “huella dactilar” en la identificación de muestras desconocidas mediante la comparación con espectros de referencia. Las intensidades de las bandas se expresan en Transmitancia (T) o en Absorbancia (A) las cuales se grafican vs número de onda (cm^{-1}).²

1.5.3. Dispersión Dinámica de Luz (DLS)

La Dispersión Dinámica de Luz (DLS) por sus siglas en ingles, también se conoce como espectroscopia de correlación de fotones. Esta técnica es uno de los métodos más populares utilizados para determinar el tamaño de partículas. Se utiliza un haz de luz monocromática, como un láser, en una solución con partículas esféricas en movimiento browniano, la cual provoca un cambio Doppler cuando la luz golpea la partícula en movimiento, cambiando la longitud de onda de la luz entrante; este cambio de longitud de onda de la luz está relacionado con el tamaño de la partícula. Así mismo, es posible calcular la distribución del tamaño de la partícula y su diámetro hidrodinámico, además de dar una descripción del movimiento de la partícula en el medio, mediante la medición del coeficiente de difusión de la partícula y utilizando la función de autocorrelación (Ver Figura 12).⁴³

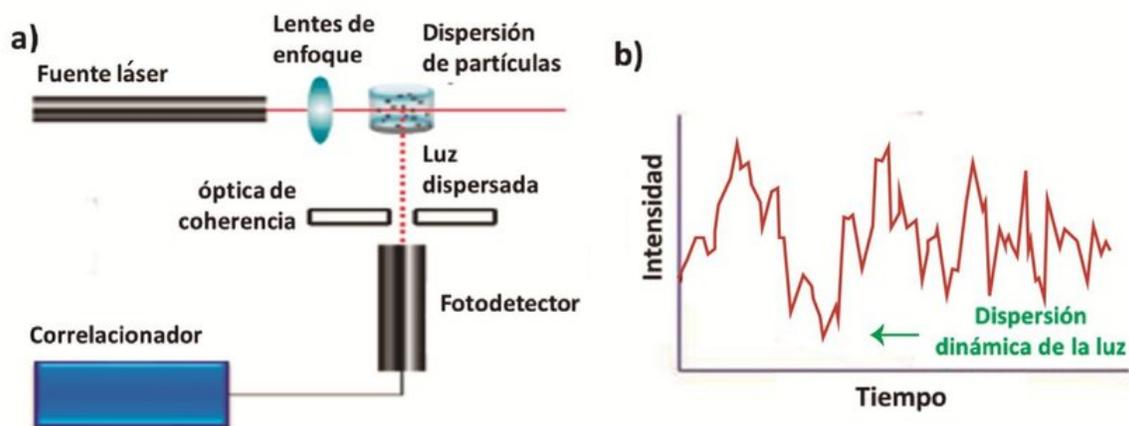


Figura 12. Esquema del equipo para DLS (a) y respuesta (b).⁴³

1.5.4. Análisis de Rastreo de Partículas (NTA)

El Análisis de Rastreo de Nanopartículas (NTA) es uno de los pocos métodos para visualizar y medir las nanopartículas en suspensión en el rango de 10 a 1000 nm basado en el análisis del movimiento browniano de las nanopartículas en una secuencia de video. Las partículas se visualizan mediante la iluminación con un rayo láser. La luz que se dispersa de las partículas se graban con una cámara CCD o CMOS sensible a la luz, que está dispuesta en un ángulo de 90° respecto al plano de irradiación (Ver Figura 13). Éste ángulo permite la detección y seguimiento del movimiento browniano de partículas de tamaño de 10 a 1000 nm.⁴⁴ El tamaño de la partícula, en ésta técnica, está definido como el diámetro de difusión traslacional de una esfera, llamado diámetro hidrodinámico.

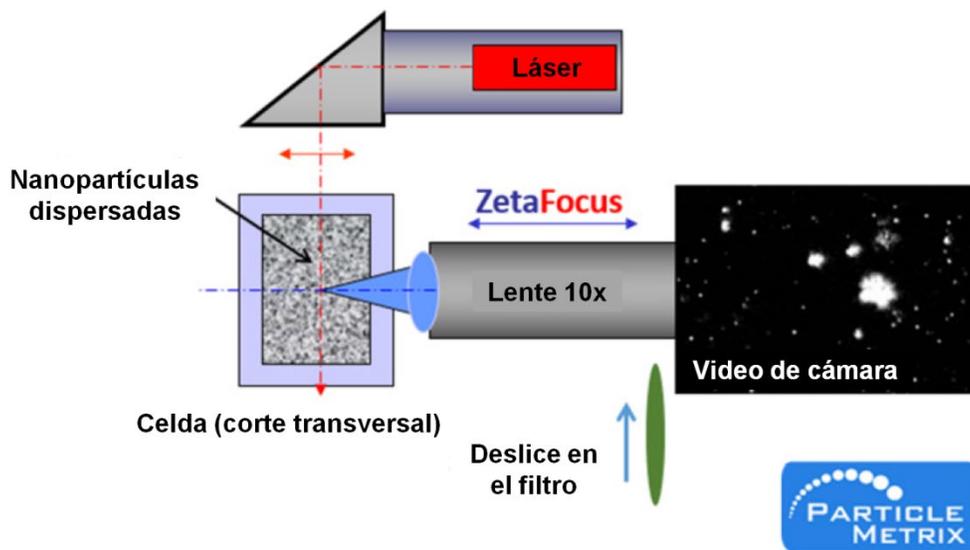


Figura 13. Esquema del equipo para Análisis de Rastreo de Nanopartículas.⁴⁴

1.5.5. Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM)

La Microscopía Electrónica de Transmisión se utiliza frecuentemente en la caracterización de nanomateriales, pues proporciona imágenes directas e información química a nivel atómico y también se puede utilizar para determinar el

tamaño de partículas, dispersión, agregación/aglomeración y desplazamiento dinámico de nanomateriales en un ambiente acuoso.⁴⁵

El Microscopio Electrónico de Transmisión emite un haz de electrones proveniente del filamento de Tungsteno, dirigido hacia el espécimen donde ocurre una interacción la cual se transforma en electrones elásticamente dispersos o electrones no dispersados. Cabe mencionar que Los electrones tienen una longitud de onda mucho menor que las de la luz visible, por ello se pueden mostrar estructuras mucho más pequeñas. Los electrones que rebotan son absorbidos por el objeto y otros lo atraviesan formando una imagen aumentada de la muestra. El aumento del TEM está determinado por la relación de la distancia entre la lente del objetivo y la muestra, y la distancia entre la lente del objetivo y el plano de la imagen. Por otro lado los electrones dispersos y no dispersados se enfocan mediante una serie de lentes electromagnéticas y luego se proyectan en una pantalla para generar una difracción de electrones, una imagen de contraste de amplitud, una imagen de contraste de fase o una imagen de sombra variable según la densidad de electrones no dispersados (Ver Figura 14).⁴⁶

Además de ofrecer una morfología mejor con la alta resolución espacial que tiene y análisis estructural de los nanomateriales; existe una amplia variedad de técnicas analíticas que se pueden acoplar con TEM para diferentes aplicaciones, como análisis químicos de la pérdida de energía de electrones y espectroscopia de energía dispersiva de rayos X con las que se puede investigar cuantitativamente la estructura electrónica y composición química de los nanomateriales, respectivamente.⁴⁷

La ventaja que tiene el TEM sobre SEM es que proporciona una mejor resolución espacial y capacidad para mediciones analíticas adicionales⁴⁸ (Hall et al., 2007).

Por otro lado, hay ciertos inconvenientes pues se requiere de un alto vacío y una sección de muestra delgada para la penetración de haz de electrones, el

análisis es destructivo, se requiere un espesor de muestra de menos de 50 nm al hacer TEM de alta resolución o espectroscopia electrónica y la preparación de la muestra de especímenes delgados es extenuante pues aumenta la posibilidad de alterar la estructura de la muestra. Otra gran preocupación es que los especímenes de TEM pueden llegar a ser dañados o incluso destruidos por intensos haces de electrones de alta tensión. Es por ello que el análisis de TEM es un proceso que consume mucho tiempo.

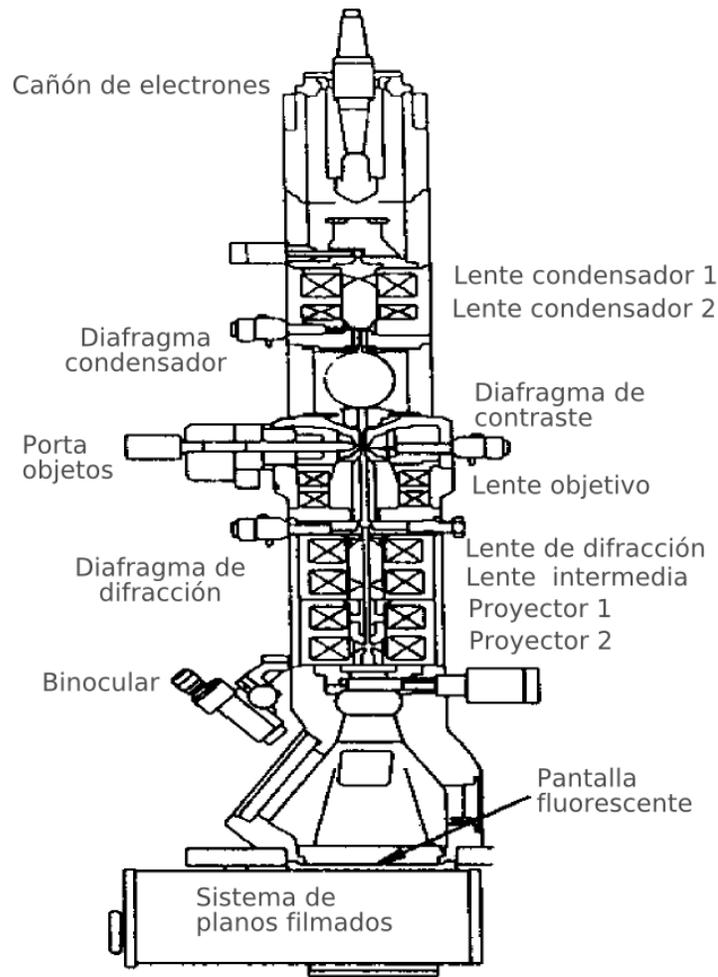


Figura 14. Esquema del Microscopio Electrónico de Transmisión.⁴⁶

1.5.6. Microscopía de Fuerza Atómica (AFM)

El microscopio de fuerza atómica (AFM) es un instrumento mecano-óptico que detecta fuerzas en el orden de nanonewtons que consta de un brazo con una punta afilada en su parte final, la cual realiza un barrido sobre una muestra, donde se registra continuamente la topografía mediante una sonda o punta afilada de forma piramidal o cónica. La sonda va acoplada a una palanca microscópica muy flexible de aproximadamente $200\ \mu\text{m}$ (Figura 15). El resorte constante es de 0.001 y $100\ \text{Nm}^{-1}$ y los movimientos de micras son medidos a $0.1\ \text{Å}$ por el sensor de deflexión.

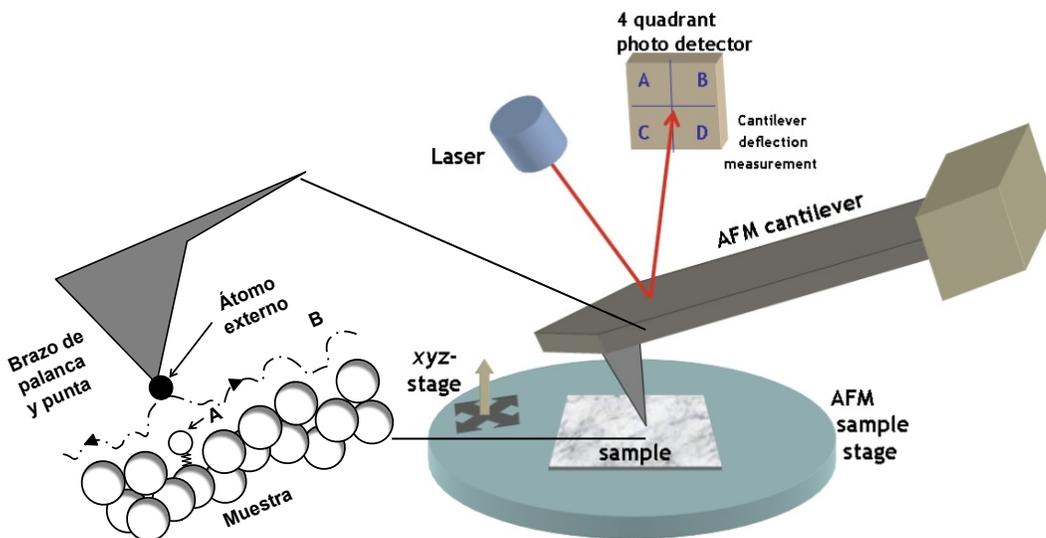


Figura 15. Funcionamiento del Microscopio de Fuerza Atómica.

El AFM muestra información detallada sobre las características de superficie rígida en aire o sumergido en un líquido, incluso pequeñas diferencias que se pueden distinguir en un campo de visión entre $10\ \text{nm}$ y $100\ \mu\text{m}$. Esta combinación de detalles en tres dimensiones constituye un análisis importante de datos cuantitativos (tamaño, aspereza de la superficie y área, sección transversal de las parcelas, etc).^{49,50}

El principal objetivo de las imágenes de AFM es la medición de la fuerza entre la punta y la proximidad de la superficie de la muestra en nivel atómico. Existen tres modos de operación de acuerdo con la naturaleza del movimiento de la punta como se muestra en la Figura 16:⁵¹

a) Modo de contacto:

La punta hace contacto físico con la muestra, moviéndose a través de la muestra, utilizando fuertes fuerzas de repulsión que actúan entre la punta y la muestra. La fuerza en contacto causa que el cantiléver siga los cambios en la topografía con una resolución lateral de 1.5 nm y una resolución vertical de 0.05 nm. Así mismo esta técnica permite analizar aislantes y conductores fácilmente, opera en ambientes de aire y fluidos, proporcionando información acerca de las propiedades físicas como elasticidad, adhesión, dureza y fricción entre otras.

b) Modo No contacto:

Un cantiléver rígido se hace oscilar cerca de la superficie de la muestra a una frecuencia de 50 000-500 000 cps (conteo por segundo, por sus siglas en inglés), sin tener contacto directo con la muestra. El cantiléver se encuentra de 5-10 nm sobre la superficie dentro de la región de la curva de fuerza de la distancia donde las fuerzas de largo alcance de van der Waals son las dominantes. Este modo de AFM es ideal para superficies de membranas, porque las membranas sintéticas son hechas a base de polímeros, los cuales tiene una superficie suave.

c) Modo de contacto intermitente (tapping):

Esta técnica surgió por la necesidad de evitar daños en la superficie, un cantiléver rígido oscila cerca de la superficie en modo no contacto; parte de la oscilación se extiende en un régimen repulsivo, por lo que la punta toca intermitentemente la superficie. La amplitud de amortiguación de una sonda de rápida oscilación se emplea para la superficie de la imagen, y un corto,

intermitente contacto de la punta con muestra impide el desarrollo de deformación de la superficie inelástica.

El funcionamiento del modo de contacto intermitente bajo el agua y el uso de pequeñas amplitudes de oscilación son ideales para formación de imágenes con éxito de una muestra blanda. El cantiléver oscila en el aire libre en su frecuencia de resonancia. El modo de contacto intermitente es un avance en AFM que permite la formación de imágenes de muestras suaves, adhesivas o frágiles, mide composición, adhesión, fricción, y propiedades viscoelásticas, identifica la estructura de dos fases de mezclas de polímero, es menos perjudicial para muestras blandas que la microscopía de fuerza lateral y se puede identificar contaminantes de la superficie que no se ven en las imágenes de altura.

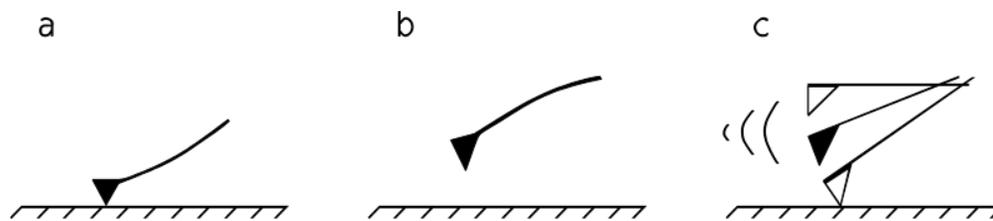


Figura 16. Modos de operación del cantiléver en AFM de acuerdo con la naturaleza del movimiento de la punta. a) modo de contacto, b) modo de no contacto y c) modo de contacto.⁵¹

1.6. Justificación

En los últimos años se ha incrementado el uso de la curcumina como método de prevención y remedio de malestares. Es por ello por lo que la ciencia la ha considerado como una oportunidad para poder combatir el cáncer con base en los beneficios que presentan sus propiedades en combinación con nanopartículas de oro, pues ambos agentes son candidatos potenciales para la fabricación de nanofármacos.

El objetivo de las investigaciones de vanguardia pretende que en tan solo unos meses o incluso días se pueda ver mejoría mediante el suministro directo a las células dañadas, dado que por vía oral en alimentos la efectividad solo se ve reflejada después de varios años de consumo, siendo solamente un método preventivo.

Aunque existen innumerables estudios realizados sobre la estructura, interacción y caracterización teórica de la curcumina que nos ayudan a comprender su comportamiento en vacío y medio acuoso; hasta el momento no se cuenta con suficiente información sobre la caracterización detallada de la curcumina en sistemas nanoestructurados, que permita determinar de manera rápida y efectiva la modificación de la estructura de las nanopartículas de oro con curcumina y caracterizar la interacción que se ha establecido entre ellas.

Por lo que existe la necesidad de caracterizar a detalle la modificación de nanopartículas de oro con curcumina y PVP mediante las técnicas de espectroscopia de UV-Visible (UV-Vis), espectroscopia de Infrarrojo por Reflectancia Total Atenuada (ATR), Dispersión Dinámica de Luz (DLS), Análisis de Rastreo de Nanopartícula (NTA), Microscopia Electrónica de Transmisión (TEM) y Microscopía de Fuerza Atómica (AFM).

1.7. Hipótesis

La caracterización detallada de nanopartículas de oro modificadas con curcumina y polivinilpirrolidona (PVP) da información importante sobre estructura, superficie modificada y comportamiento a vacío, aire y medio acuoso para posible uso como nanofármacos contra cáncer.

1.8. Objetivos

1.8.1. Objetivo general

Estudiar la modificación de la superficie y el comportamiento fisicoquímico de las nanopartículas de oro modificadas con curcumina y polivinilpirrolidona en un intervalo específico de tamaño, temperatura, pH y concentración; mediante diferentes técnicas de caracterización, siendo relevante para posible uso de nanofármacos útiles para la nanomedicina.

1.8.2. Objetivos particulares

- Sintetizar y modificar nanopartículas de oro con curcumina y PVP para obtener propiedades específicas de tamaño y superficie.
- Caracterizar nanopartículas de oro, curcumina, PVP y la modificación de nanopartículas de oro con curcumina y PVP mediante UV-Vis, FTIR-ATR, DLS, NTA, TEM y AFM.
- Caracterizar el tamaño de partícula para cada etapa de modificación mediante el análisis de distribución de tamaño de partícula.
- Comparar y analizar los diferentes resultados de la caracterización de las nanopartículas de oro, curcumina, PVP y nanopartículas de oro modificadas con curcumina y PVP.
- Desarrollar un protocolo de identificación y caracterización de nanopartículas no modificadas y modificadas en cada etapa.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Reactivos y equipos

Tabla 2. Reactivos y equipos

Reactivos	Equipos	
Curcumina (C ₂₁ H ₂₀ O ₆), <i>Curcuma longa</i> turmeric, C1386, (Sigma-Aldrich)	Centrifuga con amplio intervalo de rpm (13 000 y 5 000 rpm).	Limpiador Ultrasonico marca Bransonic, modelo 2510R-MT, USA.
Ácido cloraúrico (HAuCl ₄), (Sigma-Aldrich)	Baño María marca Riossa modelo B40. México.	Balanza analítica marca Sartorius modelo CP1245, AG Gottingen, Alemania
Polivinilpirrolidona (C ₆ H ₉ NO) _n , PVP, <u>9003-39-8</u> (Sigma Aldrich)	Espectrómetro de UV-Visible, Biodrop ubicado en el edificio AI en el Laboratorio de Nanotecnología e Ingeniería Molecular del Área de Electroquímica en la Universidad Autónoma Metropolitana de la Unidad Iztapalapa.	
Agua ultrapura de un sistema (Milli-Q Millipore, USA)	Espectrómetro de Infrarrojo-ATR ubicado en el edificio T de la Universidad Autónoma Metropolitana en la Unidad Iztapalapa.	
Alcohol etílico absoluto anhidro, V569-10, (Mallinckrodt Chemicals, USA)	Microscopio Electrónico de Transmisión marca JEOL modelo JEM2100F, ubicado en el Laboratorio de Microscopia ubicado en el edificio I de la Universidad Autónoma Metropolitana de la Unidad Iztapalapa.	
Placa de Au(111) para análisis en AFM (Arrande Co., Alemania)	Microscopio de Fuerza Atómica marca Digital Instruments, modelo MMAFM-2 ubicado en el edificio AI en el Laboratorio de Nanotecnología e Ingeniería Molecular del Área de Electroquímica en la Universidad Autónoma Metropolitana de la Unidad Iztapalapa	
Nanopartículas de oro con citrato comerciales, 20 nm gold colloid (TED PELLA, INC). ⁵²	Equipo de Dispersión Dinámica de Luz (DLS) en colaboración con el Dr. Iván Quevedo en la Universidad Iberoamericana.	
	Equipo de Análisis de rastreo de partícula (NTA) en colaboración con el Dr. Iván Quevedo en la Universidad Iberoamericana.	

2.2. Síntesis de nanopartículas de oro-curcumina-PVP.

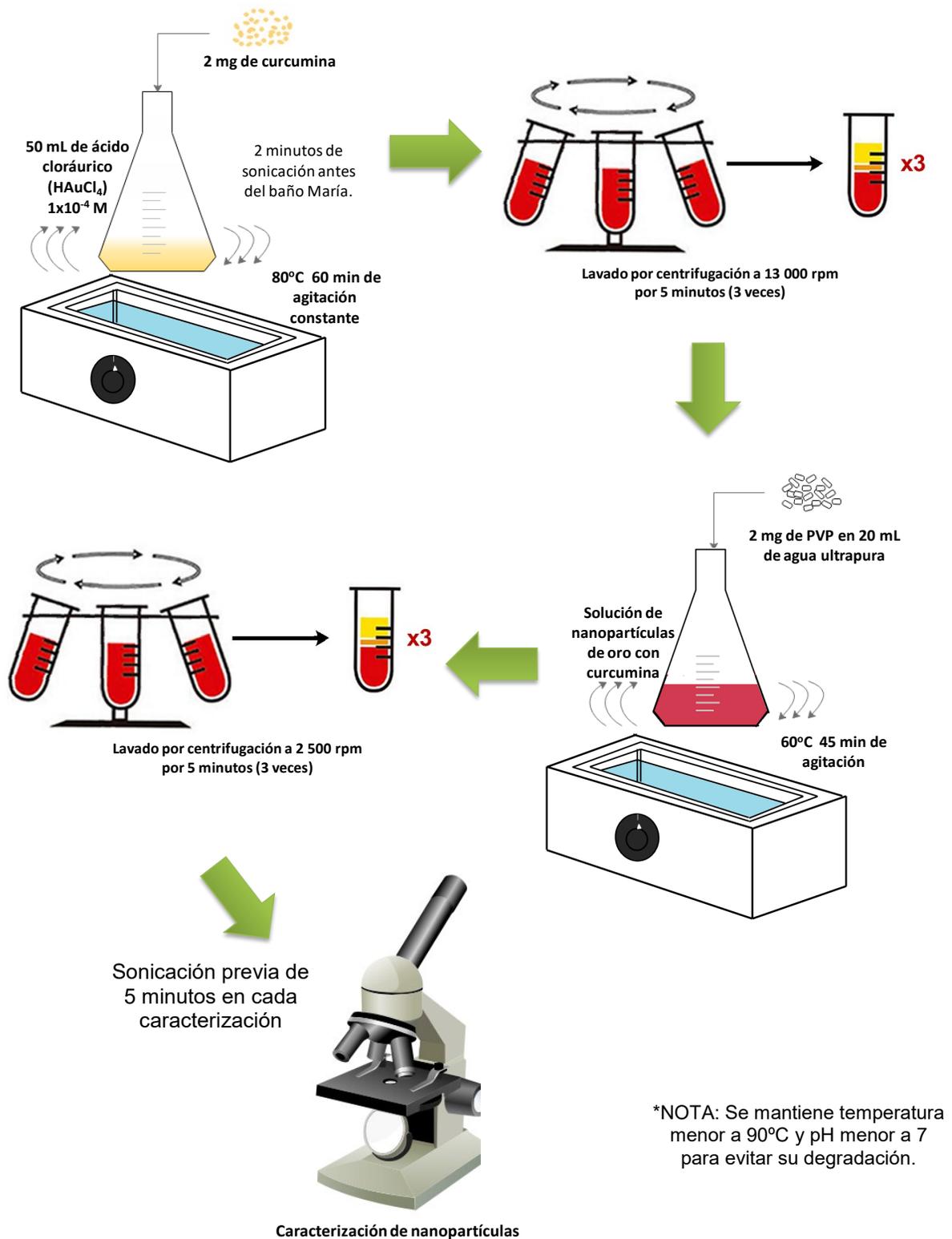


Figura 17. Metodología de síntesis y caracterización.

Para la síntesis de nanopartículas de oro modificadas con curcumina y PVP, se utilizó como precursor sal de oro (HAuCl_4) la cual se hizo reaccionar con curcumina que desempeña el papel de agente reductor y estabilizador para la formación de las nanopartículas. Una vez formadas las nanopartículas de oro con curcumina se tomo una alícuota para la caracterización mediante las diferentes técnicas propuestas en este trabajo. Posteriormente se hizo reaccionar las nanopartículas de oro-curcumina con PVP, el cual es un buen portador de fármacos, facilita la conjugación de la curcumina con las nanopartículas de oro, desempeña el papel de excipiente dando estabilidad a las nanopartículas y aumenta la solubilidad de la nanopartícula en agua. En la Figura 18 se observa el esquema general de síntesis de las nanopartículas y la unión de cada molécula a la nanopartícula.

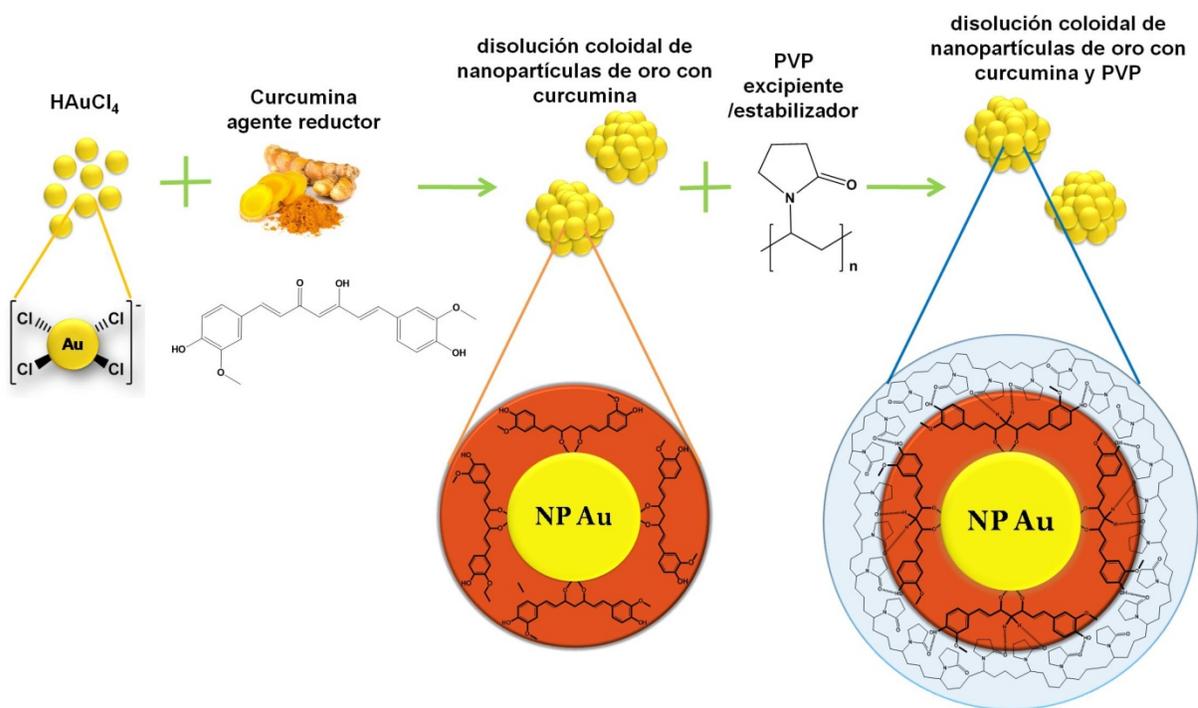


Figura 18. Propuesta de síntesis de nanopartículas de oro modificadas con curcumina y PVP.

3. RESULTADOS

En cada análisis de caracterización se utilizó como estándar nanopartículas de oro comerciales (NPAu-cit) de un tamaño de 20 nm, marca TED PELLA. Estas nanopartículas presentan citrato como agente estabilizador y reductor. Así mismo se muestra la caracterización para la etapa de modificación de las nanopartículas de oro con curcumina (NPAu-cur) y las nanopartículas de oro con curcumina y PVP (NPAu-cur-PVP).

3.1. Caracterización por espectroscopia Ultravioleta-Visible (UV-Vis)

La Figura 19 muestra la comparación de los espectros de absorbancia de UV-Visible entre el estándar, nanopartículas de oro comerciales con citrato (a), que muestra un pico de absorbancia representativo en 526 nm; los productos de síntesis, nanopartículas de oro modificadas con curcumina (b), con un pico de absorbancia en 538 nm; y las nanopartículas de oro modificadas con curcumina y PVP (c), con dos picos de absorbancia en 399 nm y 543 nm; y los reactivos, curcumina (d), apenas visible el pico de absorbancia en 413 nm y polivinilpirrolidona (e), con un pico de absorbancia en 304 nm. (Ver apéndice 7.2.1)

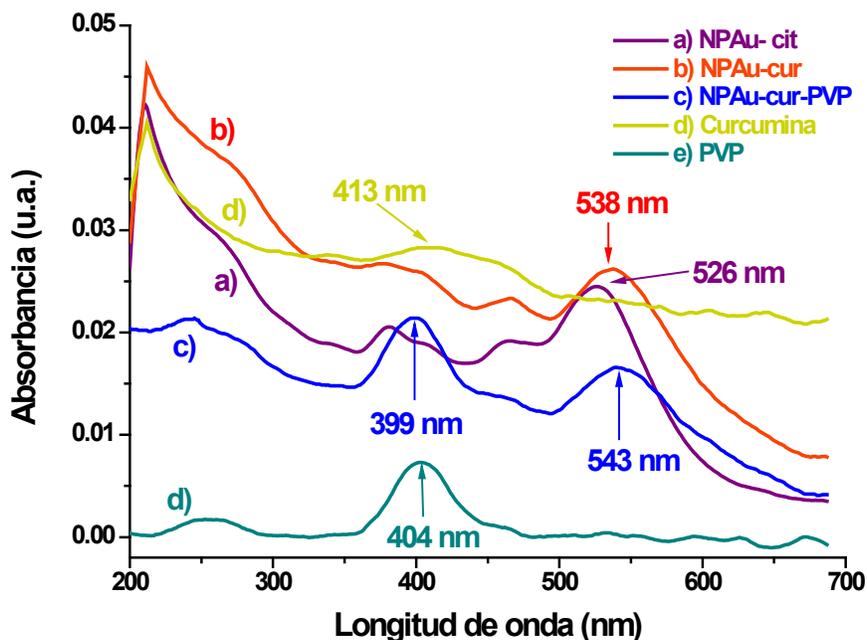


Figura 19. Espectros de UV-Visible de cada etapa de modificación de la nanopartícula.

3.2. Caracterización por espectroscopia Infrarrojo- Reflectancia Total Atenuada (FTIR-ATR)

La interpretación de señales fue con base al libro *The Systematic Identification of Organic Compounds, Shriner*.⁵³

3.2.1. Nanopartículas de oro-curcumina

La Figura 20 muestra la comparación de espectros de infrarrojo por reflectancia total atenuada de curcumina (a), nanopartículas de oro con curcumina (b). Así mismo se señala la identificación de cada grupo de la molécula de la curcumina en cada pico, donde se observa el reactivo y el producto de la síntesis. Es importante mencionar que se buscaba que la curcumina rodeará a las nanopartículas de oro.

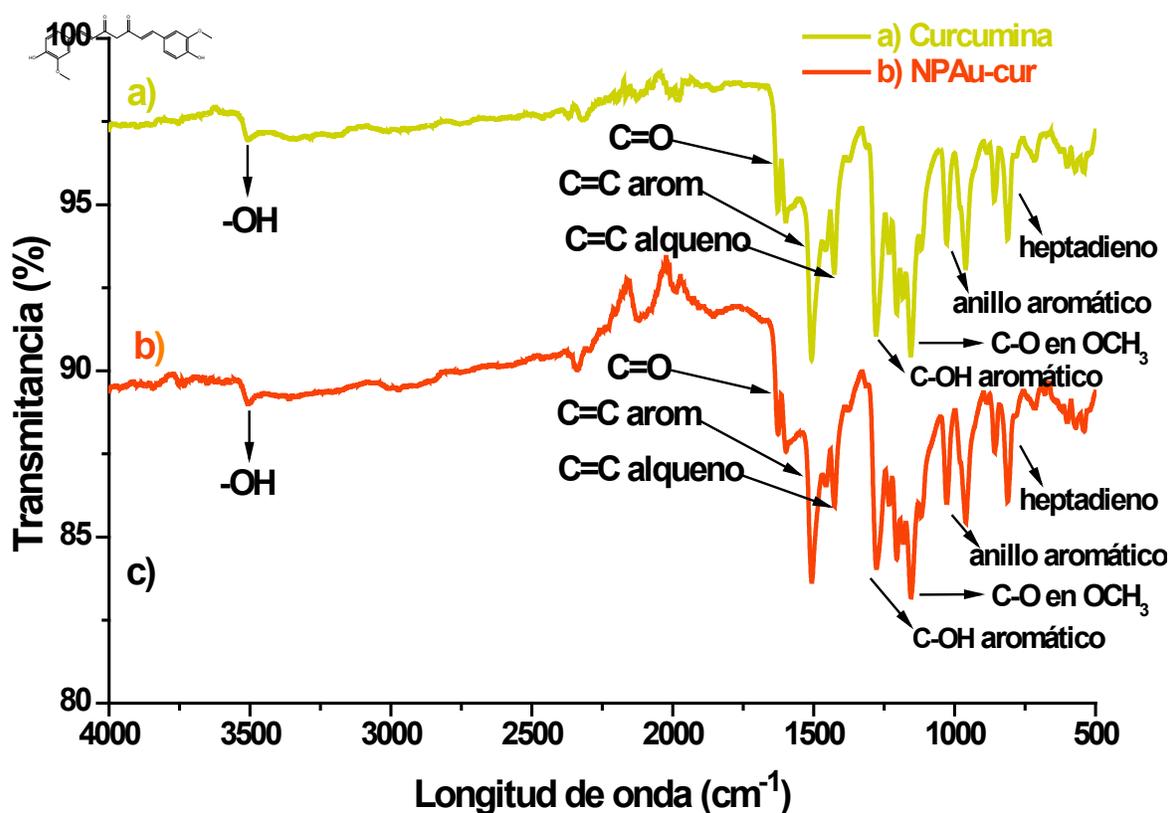


Figura 20. Espectro de infrarrojo por ATR de a) Curcumina, b) NPAu-cur y c) estructura de la curcumina.

La Figura 21 muestra el acercamiento de picos importantes entre 1700 y 500 cm^{-1} , enfatizando en hay una notable similitud entre los espectros de la curcumina (A) y las nanopartículas de oro con curcumina (B).

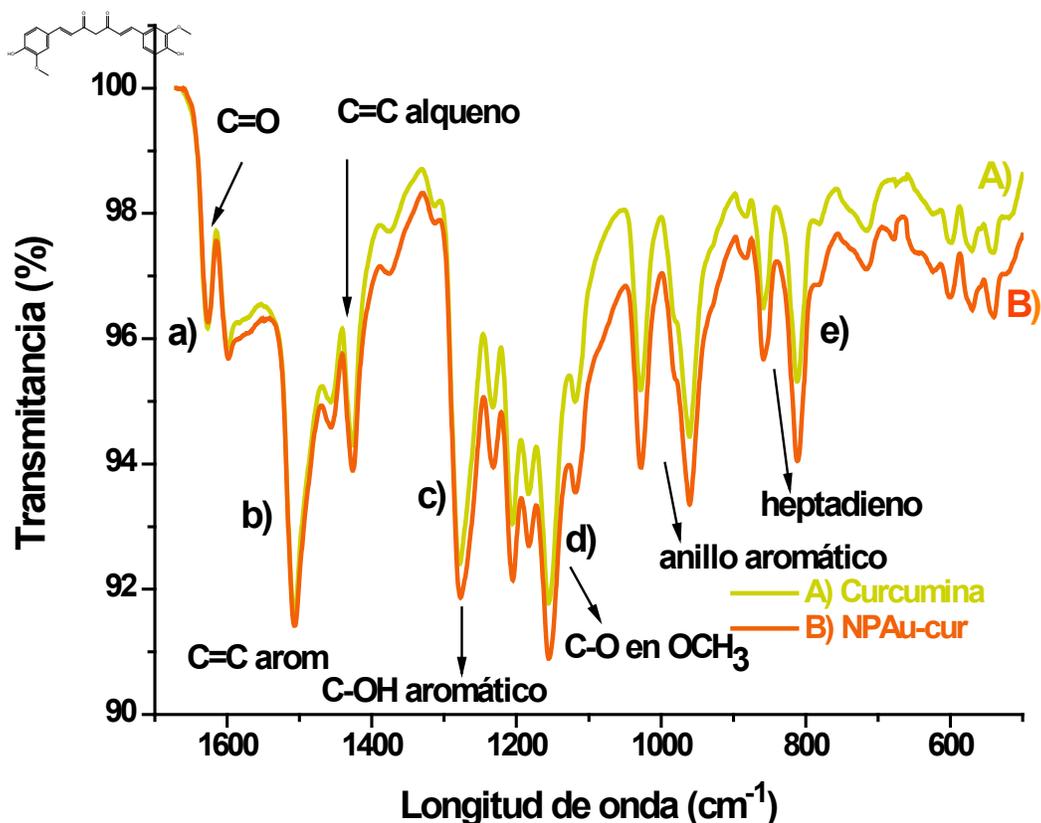


Figura 21. Acercamiento del espectro de infrarrojo por ATR de A) curcumina y B) NPAu-cur.

Las bandas en 2980 cm^{-1} , 1454 cm^{-1} y 1026 cm^{-1} corresponden a las vibraciones de estiramiento de los enlaces C-H alifáticos, de la unión de carbonos (C-C-C) en los anillos aromáticos respectivamente. La banda en 1627 cm^{-1} corresponde a la vibración de carbonilo en una cadena α , β insaturada; 1602 cm^{-1} corresponde a una vibración de estiramiento de un doble enlace entre carbonos en un anillo aromático, mientras que en la banda 1504 cm^{-1} representa un movimiento de flexión de un doble enlace entre carbonos en un alqueno. La banda en 1120 cm^{-1} corresponde al movimiento de flexión del grupo OCH₃. Las bandas a 1274 cm^{-1} , 1231 cm^{-1} y 958 cm^{-1} representan la flexión en el plano del grupo hidroxilo,

de los dos grupos fenólico y enólico respectivamente. Las bandas en 1424 cm^{-1} y 809 cm^{-1} corresponden al grupo de las olefinas con vibraciones de flexión en la cadena del heptadieno de la curcumina. (Ver apartado 4.2 para la discusión de resultados).

3.2.2. Nanopartículas de oro-curcumina-PVP

La Figura 22 muestra la comparación entre los espectros de infrarrojo de polivinilpirrolidona (a) y las nanopartículas de oro con curcumina y polivinilpirrolidona (b). Así mismo se señala la identificación de cada pico con respecto a la molécula del PVP, donde se observa el cambio entre el reactivo y producto de la síntesis.

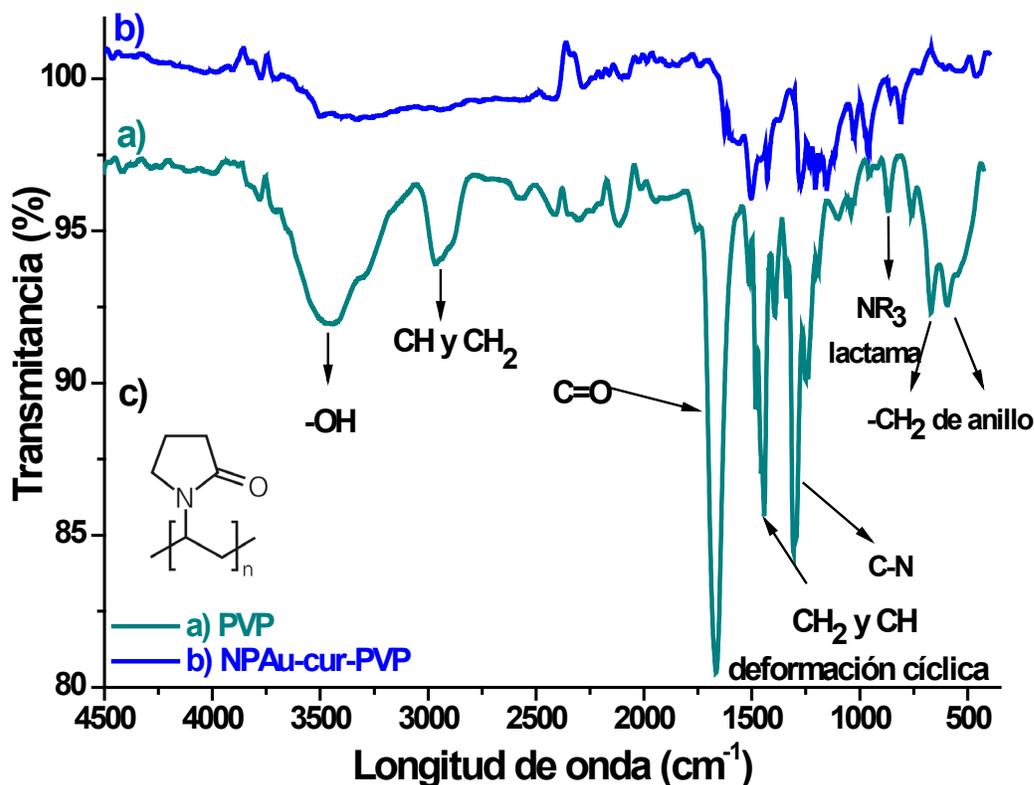


Figura 22. Espectros de infrarrojo por ATR de a) PVP, b) NPAu-cur-PVP y c) estructura del PVP.

Para el espectro de polivinilpirrolidona (a) la banda en 3454 cm^{-1} corresponde al estiramiento del grupo $-\text{OH}$; a 3282 cm^{-1} representan las vibraciones de estiramiento de los enlaces $-\text{NR}_3$ y el pico en 841 cm^{-1} corresponden a los movimientos de flexión de la lactama presente en el polivinilpirrolidona, La banda en 2951 cm^{-1} corresponde a las vibraciones de estiramiento de los enlaces de C-H y C-H₂ del ciclo; los picos en 1422 cm^{-1} representan los movimientos de flexión de C-H y C-H₂ la deformación cíclica y la banda con dos picos en 741 cm^{-1} corresponden a las vibraciones de estiramiento de C-H del anillo fuera del plano. La banda en 1644 cm^{-1} corresponde a las vibraciones de estiramiento por tensión del grupo C=O que tiene como vecino a una amida terciaria. Finalmente el pico en 1285 cm^{-1} corresponde a las vibraciones de estiramiento de C-N. Estas bandas son características del PVP las cuales concuerdan con el espectro obtenido en el artículo (Martha S. Cortés *, 2013).⁵⁴

Para el espectro de nanopartículas de oro modificadas con curcumina y PVP (b) se observa la desaparición de ciertas bandas y picos tal como, la banda correspondiente a la vibración de estiramiento del grupo OH; los picos que se mantienen, con menor intensidad, son los picos de las vibraciones de flexión de C-H₂ y C-H de la deformación cíclica; el pico de vibración por estiramiento de C-N y el pico de movimiento de flexión del enlace de N-R₃. Estas bandas son características para el PVP (Ver también Figura 22 y apartado 4.2 para la discusión de resultados).

3.2.3. Comparación de caracterización en cada etapa de modificación

La Figura 23 muestra la comparación de espectros de cada etapa de modificación de las nanopartículas de oro con curcumina (a) y nanopartículas de oro con curcumina y polivinilpirrolidona (b). Se señala la identificación de cada pico con respecto a la molécula que rodea la nanopartícula en cada etapa de modificación, en el espectro de las nanopartículas de oro modificadas con

curcumina y PVP (b) se observa que disminuyen de intensidad señales características de la curcumina como lo son las vibraciones de estiramiento de los enlaces C=C del anillo aromático, C=C de la cadena del heptadieno, C-O del grupo OCH₃ y los picos característicos del anillo aromático. (Ver apartado 4.2 para la discusión de resultados).

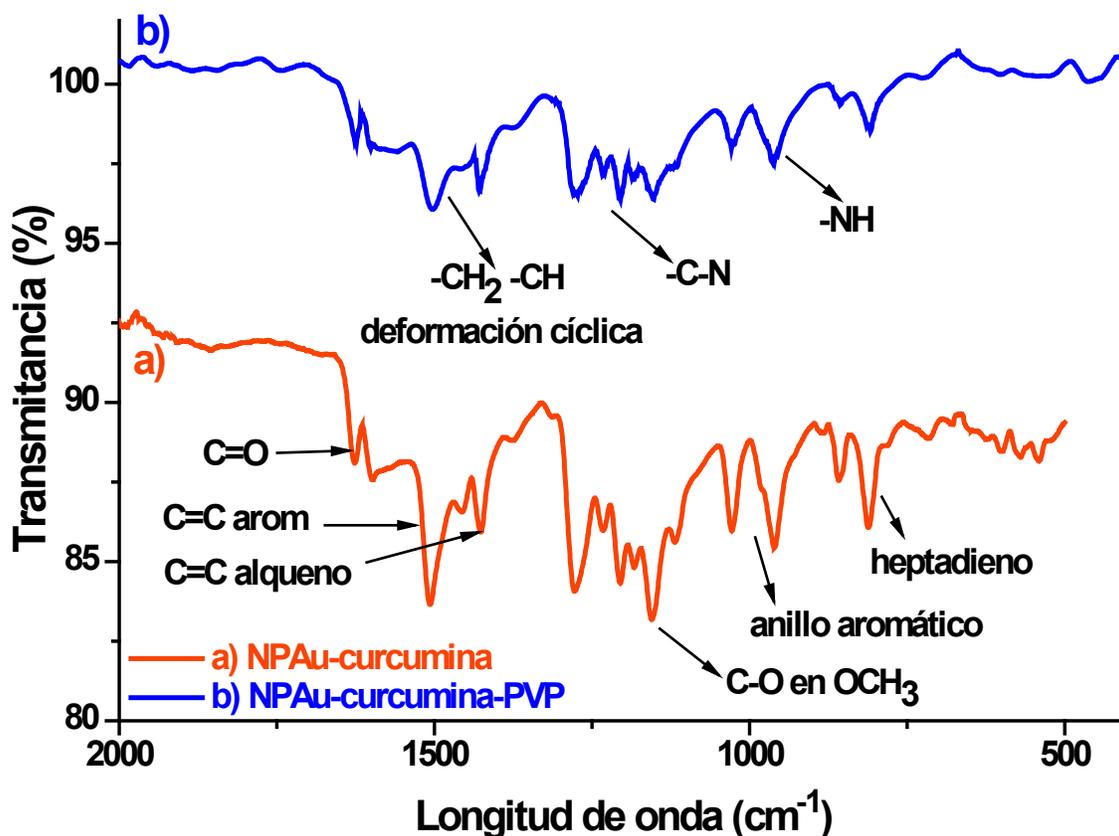


Figura 23. Comparación de espectros de infrarrojo por ATR de cada etapa de modificación de la nanopartícula.

3.3. Caracterización por Dispersión Dinámica de Luz (DLS)

La Figura 24 muestra el promedio de diámetro hidrodinámico, el cual fue medido por Dispersión Dinámica de Luz. Para las nanopartículas de oro con citrato comerciales (a) se presentan dos tamaños de diámetro hidrodinámico de nanopartícula, 32.67 nm y 141.8 nm. Las nanopartículas de oro con curcumina (b), producto de nuestra síntesis, muestran que la mayoría de las nanopartículas tienen tamaño de 78.82 nm de diámetro hidrodinámico y una población más pequeña tiene un tamaño de 21.04 nm. Finalmente, la mayoría de las nanopartículas de oro modificadas con curcumina y PVP (c) tienen un diámetro hidrodinámico de 141.8 nm y una población más pequeña de nanopartículas tienen un tamaño de 42.82 nm.

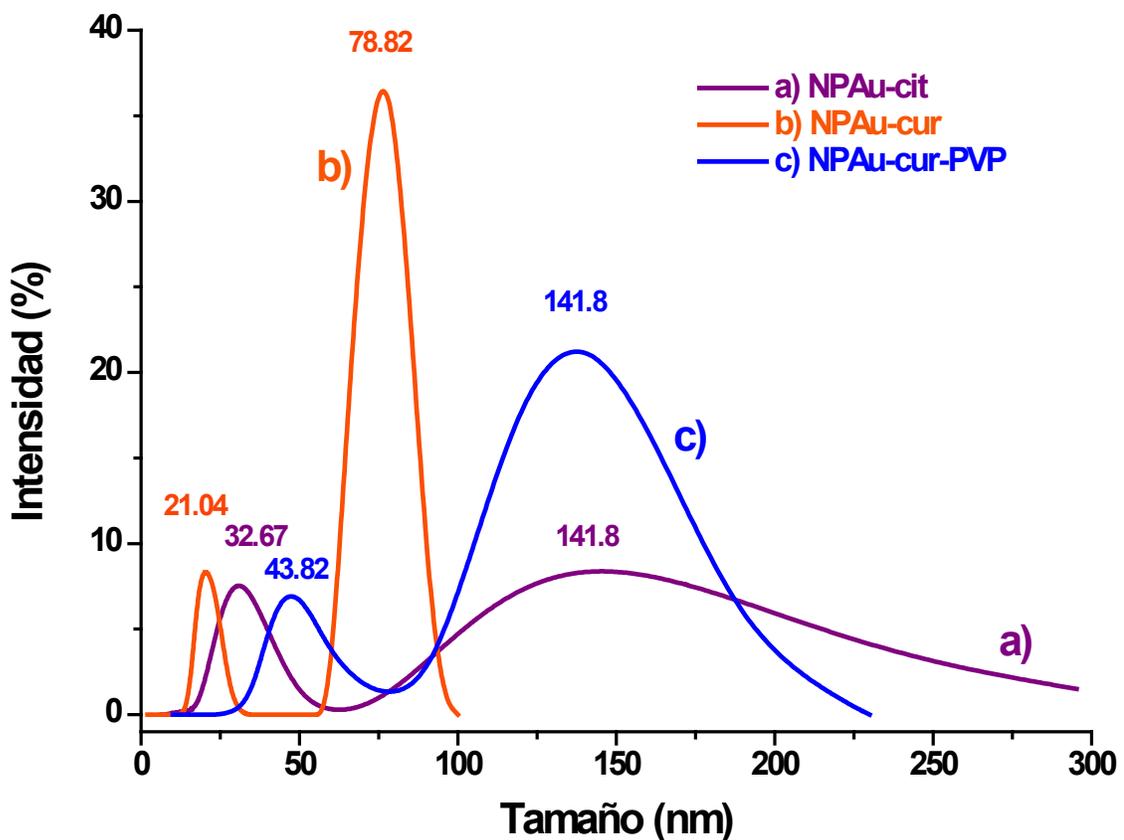


Figura 24. Promedio de diámetro hidrodinámico de la partícula por DLS.

3.4. Caracterización por Análisis de Rastreo de Partículas (NTA)

La Figura 25 muestra el promedio de diámetro hidrodinámico de partícula, medio por la técnica de Análisis de Rastreo de Nanopartícula. Para las nanopartículas de oro comerciales (a), en su mayoría presentan un diámetro hidrodinámico de 33 nm. La mayoría de las nanopartículas de oro con curcumina (b), muestran un diámetro hidrodinámico de 57 nm, siguiendo un diámetro de 95 nm. Finalmente, la mayoría de las nanopartículas de oro modificadas con curcumina y PVP tienen un diámetro hidrodinámico de 94 nm. Los tamaños de nanopartícula mayores a 100 nm corresponden a una posible agregación de las partículas.

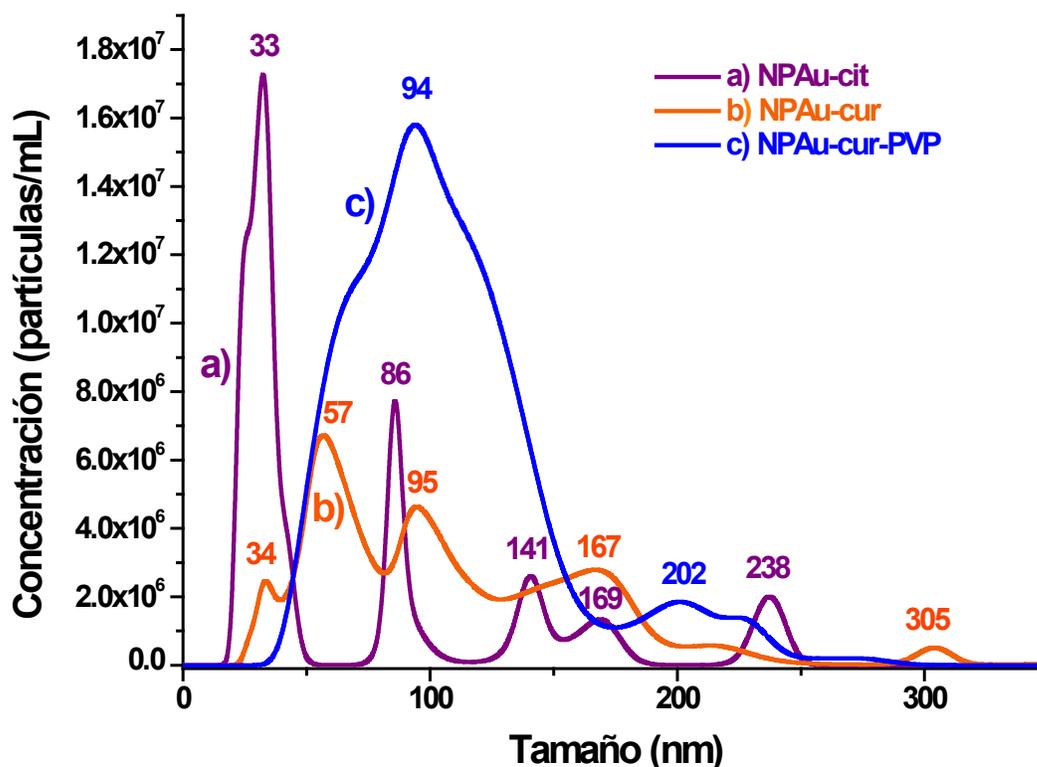


Figura 25. Promedio de diámetro hidrodinámico de la partícula por NTA.

3.5. Caracterización por Microscopia Electrónica de Transmisión (TEM)

3.5.1. Nanopartículas de oro- citrato comerciales

La Figura 26 muestra las imágenes de TEM de las nanopartículas de oro con citrato con una resolución de 200, 50 y 10 nm / barra en imagen, respectivamente. Las imágenes y el tamaño de las nanopartículas corresponden con las especificaciones del producto.³⁵

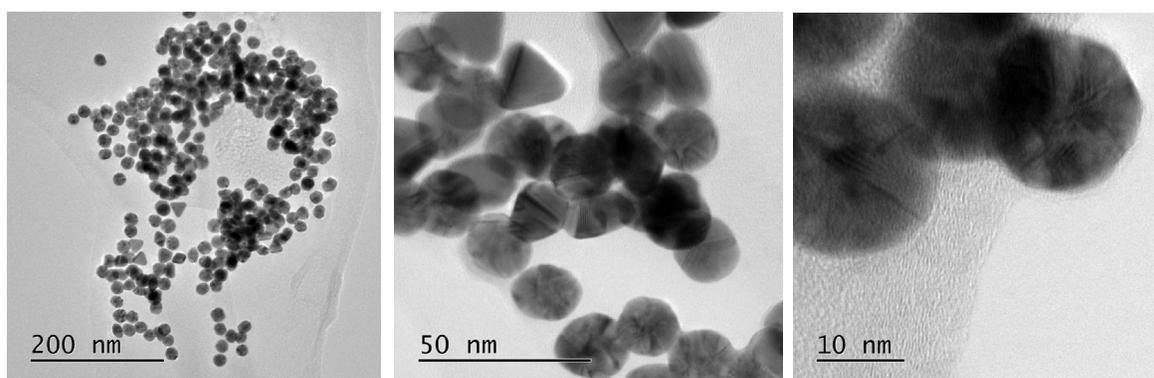


Figura 26. Imágenes de TEM de nanopartículas de oro con citrato comerciales a diferente resolución.

La mayoría de las nanopartículas NPAu-cit presentan un tamaño de 17.86 nm, seguido de 21.43 nm, de acuerdo con el histograma de distribución de tamaño de partícula (Figura 27) y el porcentaje de frecuencia de tamaño de nanopartícula (Tabla 3).

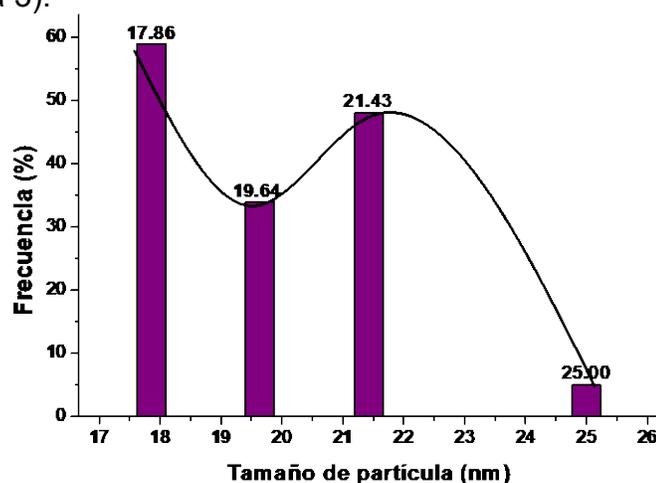


Tabla 3. Porcentaje de frecuencia del tamaño de nanopartículas de oro. comerciales en TEM.

Tamaño de partícula (nm)	Frecuencia (%)
17.86	59
19.64	34
21.43	48
25.00	5

Figura 27. Histograma de distribución de tamaño de partícula de nanopartículas de oro comerciales.

3.5.2. Nanopartículas de oro-curcumina

La Figura 28 muestra las imágenes de Microscopia Electrónica de Transmisión de las nanopartículas de oro con curcumina con una resolución de 200, 50 y 10 nm / barra en imagen, respectivamente. El tamaño de nanopartícula y las imágenes son similares a las nanopartículas de oro comerciales.

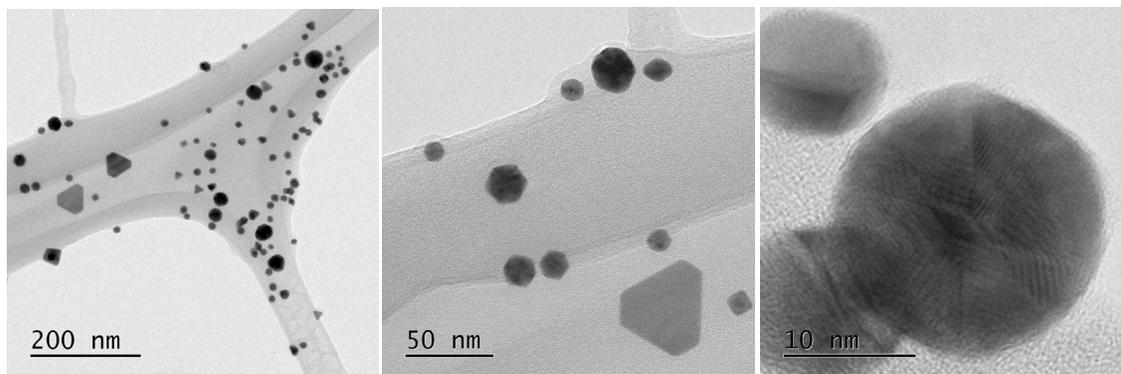


Figura 28. Imágenes de TEM de nanopartículas de oro con curcumina a diferente resolución.

La mayoría de las nanopartículas de oro con curcumina presentan un tamaño de 13.33 nm, de acuerdo con el histograma de distribución de tamaño de partícula (Figura 29) y el porcentaje de frecuencia para cada tamaño de partícula (Tabla 4).

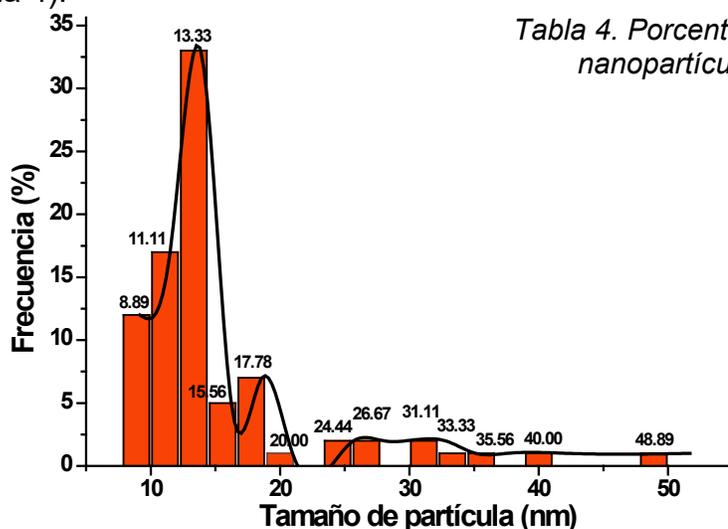


Tabla 4. Porcentaje de frecuencia del tamaño de nanopartículas de oro con curcumina.

Tamaño de partícula (nm)	Frecuencia (%)
8.89	12
11.11	17
13.33	33
15.56	5
17.78	7
20.00	1
24.44	2
26.67	2
31.11	2
33.33	1
35.56	1
40.00	1
48.89	1

Figura 29. Histograma de distribución de tamaño de partícula de nanopartículas de oro con curcumina.

3.5.3. Nanopartículas de oro-curcumina-PVP

La Figura 30 muestra las imágenes de Microscopía Electrónica de Transmisión de las nanopartículas de oro con curcumina y PVP, a una resolución de 200, 50 y 10 nm / barra en imagen, respectivamente.

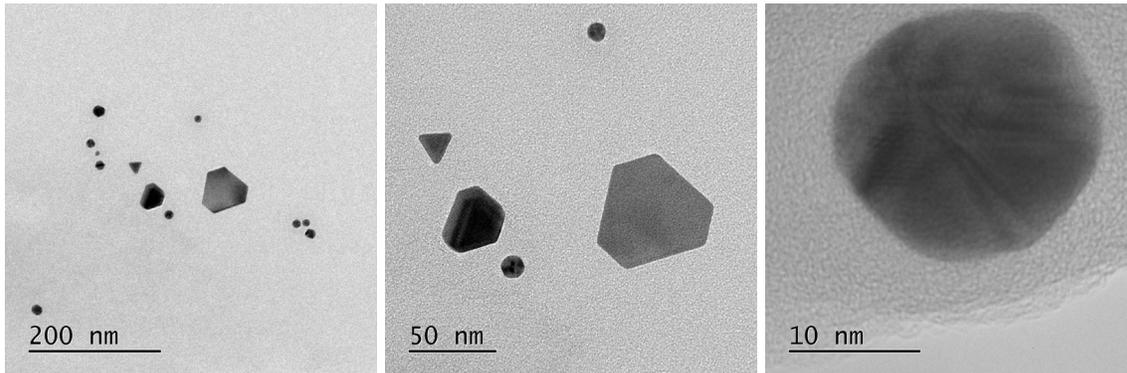


Figura 30. Imágenes de TEM de nanopartículas de oro con curcumina y PVP a diferente resolución.

La mayoría de las nanopartículas de oro con curcumina presentan un tamaño de 14.55 nm, de acuerdo con el histograma de distribución de tamaño de partícula (Figura 31) y el porcentaje de frecuencia para cada tamaño de partícula (Tabla 5).

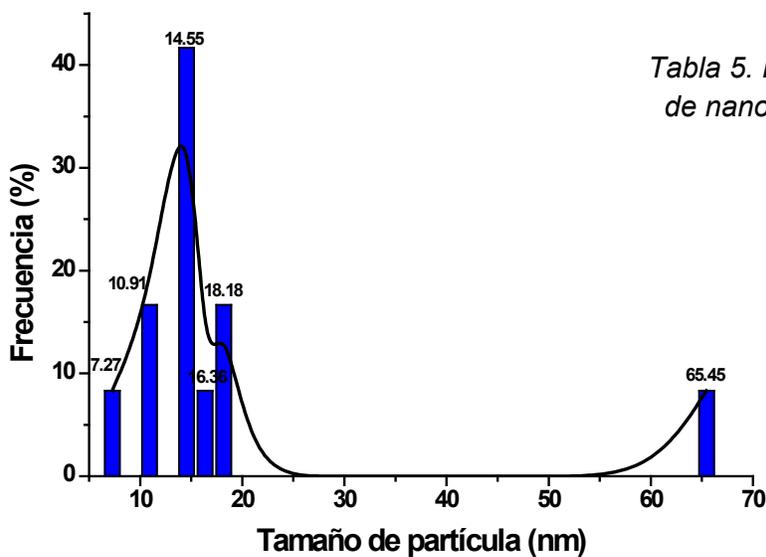


Tabla 5. Porcentaje de frecuencia del tamaño de nanopartículas de oro con curcumina y PVP.

Tamaño de partícula (nm)	Frecuencia (%)
7.27	8.33
10.91	16.66
14.55	41.66
16.36	8.33
18.18	16.66
65.45	8.33

Figura 31. Histograma de distribución de tamaño de partícula de las nanopartículas de oro con curcumina y PVP.

3.6. Caracterización por Microscopia de Fuerza Atómica

3.6.1. Nanopartículas de oro-citrato comerciales

En la Figura 32 a y b se observa la topografía de las nanopartículas de oro con citrato comerciales, sobre una placa de Au(111) recocido, en 2 y 3 dimensiones respectivamente. La imagen se obtuvo con un tamaño de 1.058 μm x 1.058 μm , a una velocidad de escaneo 0.73 Hz. De acuerdo con el análisis de sección, Figura 32 c, el tamaño promedio de las nanopartículas de oro NPAu-cit, es de 28.94 nm de diámetro y 15.91 nm de altura.

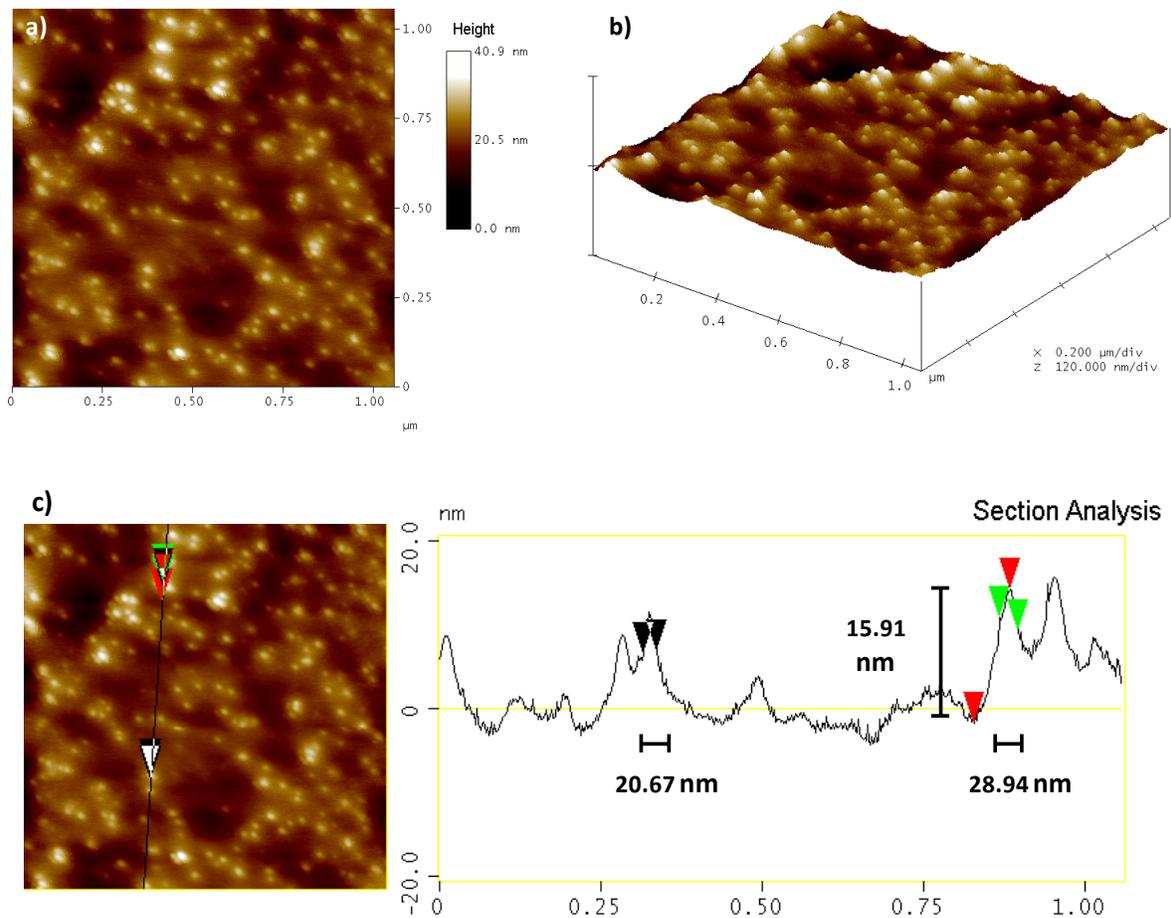


Figura 32. Imágenes de AFM de NPAu-cit comerciales.

3.6.1.1. Análisis de distribución de tamaño de NPAu-cit mediante software SPIP a partir de las imágenes de AFM

La Figura 33a tiene dos imágenes de dos puntos diferentes de la placa de Au donde se observan las NPAu-cit enfatizadas por el software SPIP para obtener un promedio de tamaño de nanopartícula estadísticamente representativo. Éste software es específico para este tipo de análisis. El histograma de distribución de tamaño de partícula (Figura 33b) presenta que la mayor parte de NPAu-cit tienen un tamaño promedio de 23 nm con intervalo desde los 5 nm hasta 40 nm.

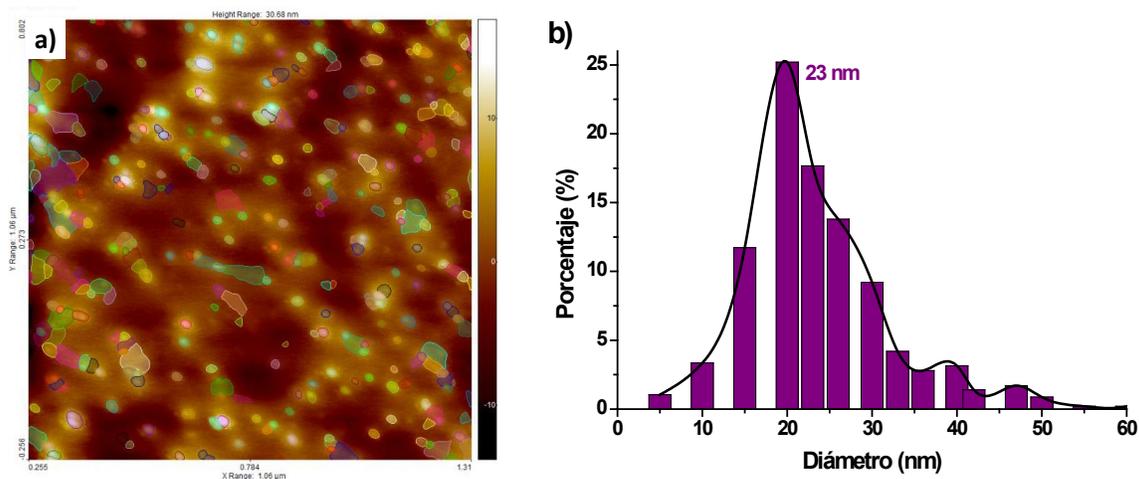


Figura 33. Imágenes AFM de NPAu-cit analizadas mediante software SPIP y b) Histograma de distribución de tamaño de partícula mediante software SPIP de NPAu-cit.

3.6.2. Nanopartículas de oro-curcumina

En la Figura 34 a y b se observa la topografía de las nanopartículas de oro con curcumina, sobre una placa de Au(111) recocido, en 2 y 3 dimensiones respectivamente. La imagen se obtuvo con un tamaño de 515.7 nm x 515.7 nm, a una velocidad de escaneo de 0.48 Hz. De acuerdo con el análisis de sección, Figura 34c, el tamaño promedio de las NPAu-cur es de 44.31 nm de diámetro y 24.19 nm de altura.

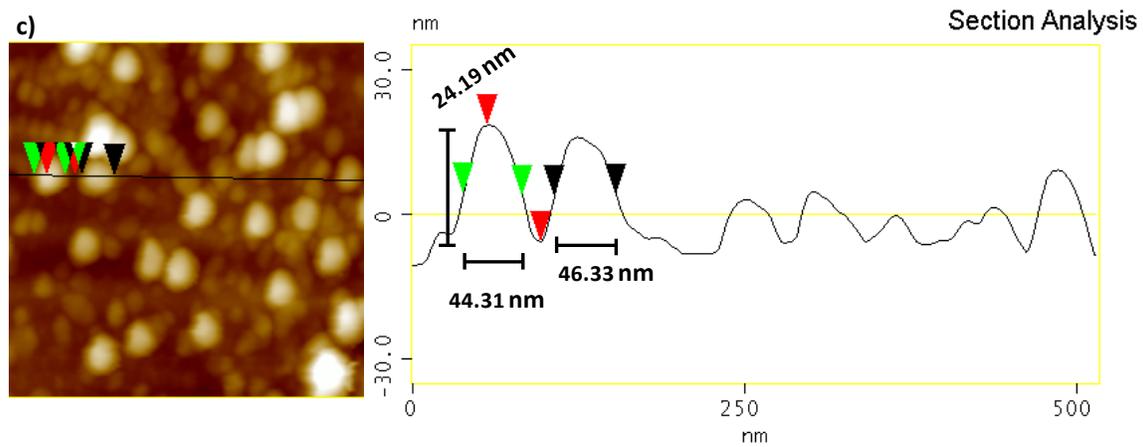
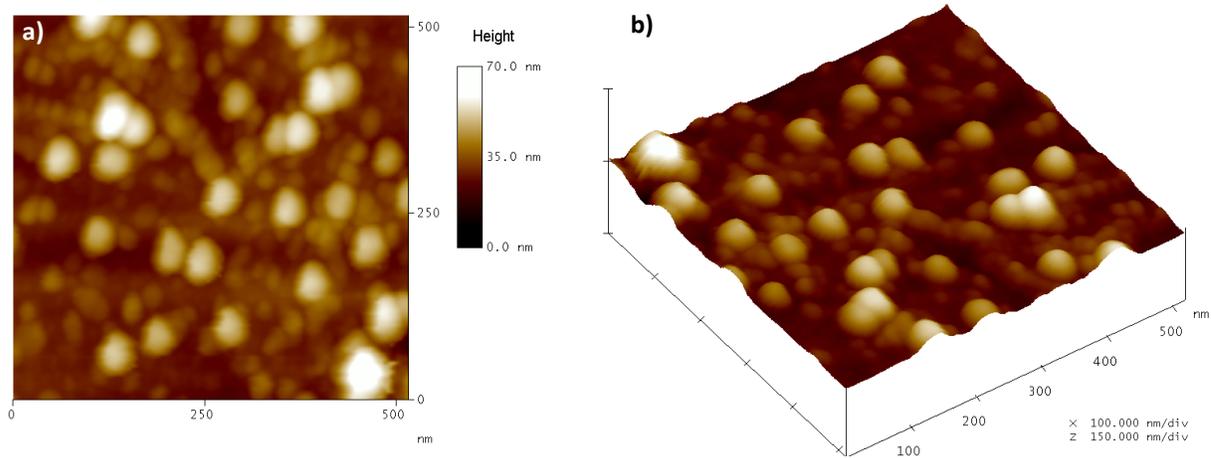


Figura 34. Imágenes de AFM de NPAu-cur.

3.6.2.1. Análisis de distribución de tamaño de NPAu-cur mediante software SPIP a partir de las imágenes de AFM

En la Figura 35a se presentan dos imágenes de dos puntos diferentes de la placa de oro donde se observan las NPAu-cur enfatizadas por el software SPIP. En el histograma de distribución de tamaño de partícula (Figura 35b) se observa que la mayor parte de NPAu-cur tienen un tamaño de 20 nm con intervalo desde los 6 hasta 60 nm.

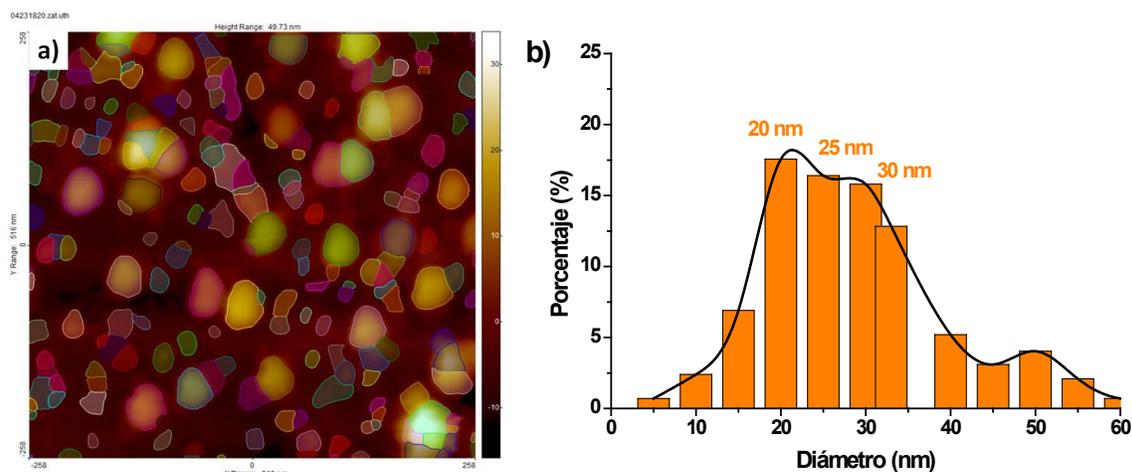


Figura 35. a) Imágenes de AFM de NPAu-cur analizadas mediante software SPIP y b) Histograma de distribución de tamaño de partícula mediante software SPIP de NPAu-cur.

3.6.3. Nanopartículas de oro-curcumina-PVP

En la Figura 36 a y b se observa la topografía de las nanopartículas de oro con curcumina y PVP, sobre una placa de Au(111) recocido, en 2 y 3 dimensiones respectivamente. La imagen se obtuvo con un tamaño de 952.6 nm x 952.6 nm, a una velocidad de escaneo de 0.48 Hz. De acuerdo con el análisis de sección, Figura 36 c, el tamaño promedio de las NPAu-cur-PVP es de 66.98 nm de diámetro y 68.84 nm de altura.

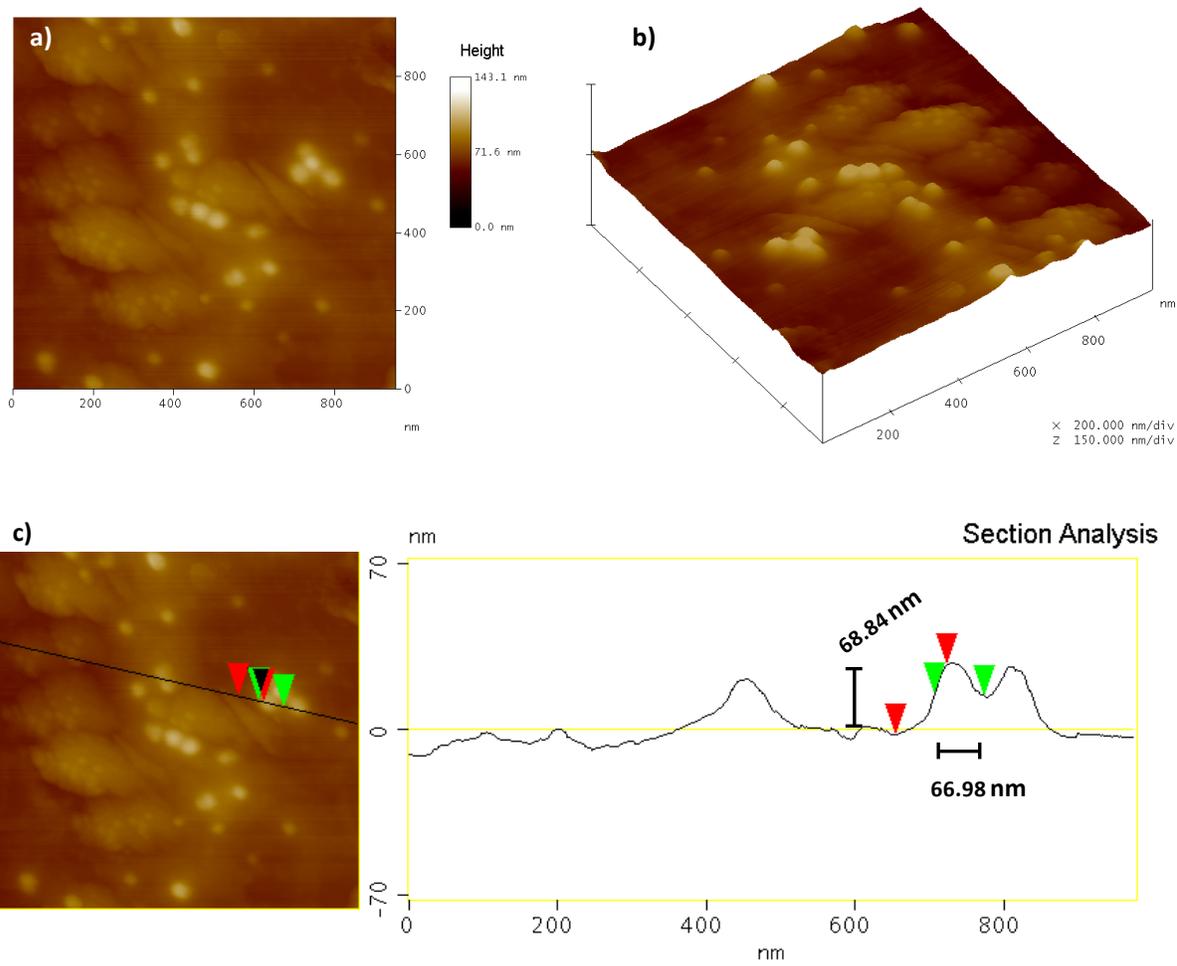


Figura 36. Imágenes de AFM de NPAu-cur-PVP.

3.6.3.1. Análisis de distribución de tamaño de NPAu-cur-PVP mediante software SPIP a partir de las imágenes de AFM

En la Figura 37a se presentan cuatro imágenes de cuatro puntos diferentes de la placa de oro donde se observan las NPAu-cur-PVP enfatizadas por el software SPIP. En el histograma de distribución de tamaño de partícula (Figura 37b) se observa que la mayor parte de nanopartículas de oro con curcumina y PVP tienen un tamaño de 17 nm seguido de un tamaño de 35 nm, con intervalo desde los 6 nm hasta 70 nm.

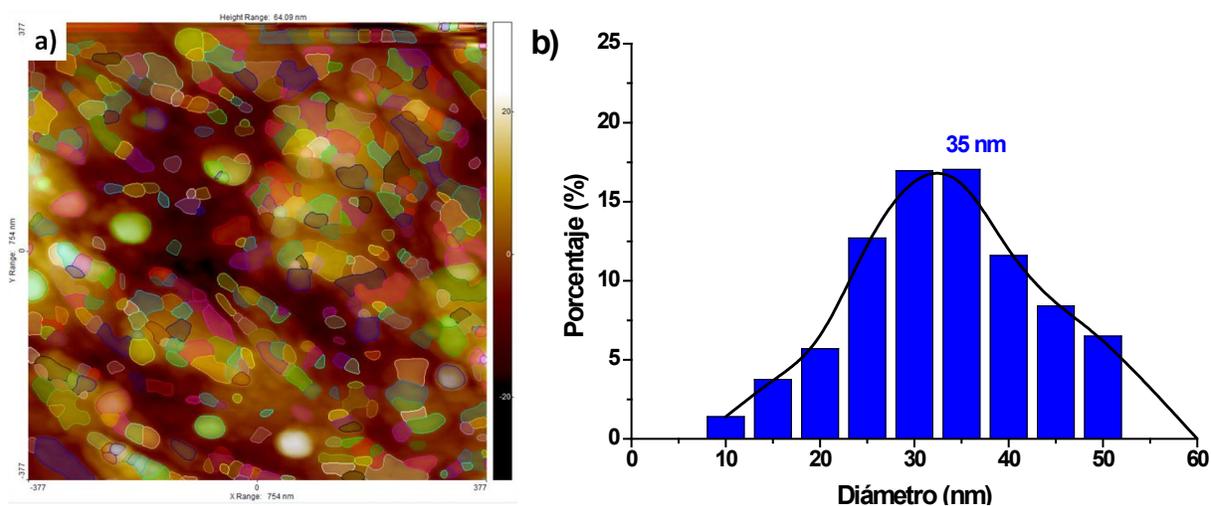


Figura 37. a) Imagen de AFM de NPAu-cur-PVP analizadas mediante software SPIP y b) Histograma de distribución de tamaño de partícula mediante software SPIP de NPAu-cur-PVP.

4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1. Caracterización por espectroscopia UV-Visible (UV-Vis)

En la Figura 19 se observan los picos de absorbancia a diferentes longitudes de onda para cada una de las especies analizadas demuestran que hay un cambio notable entre los reactivos y el producto de síntesis, con lo que se puede decir que la síntesis de nanopartículas de oro con curcumina se llevó a cabo, al igual que la síntesis de nanopartículas de oro con curcumina y PVP.

Cabe mencionar que los picos de absorción para cada una de las tres especies concuerdan con lo reportado en la literatura.^{11,55}

4.2. Caracterización por espectroscopia Infrarrojo por Reflectancia Total Atenuada (FTIR-ATR)

En la Figura 20 y 21 se muestran los espectros de infrarrojo de la curcumina como reactivo y las nanopartículas de oro modificadas con curcumina como producto de la síntesis, donde ambos espectros son similares.

De acuerdo con los resultados obtenidos podemos decir que se está llevando a cabo la síntesis de las nanopartículas de oro cubiertas por la curcumina, esto se demuestra con la similitud entre los espectros. Desafortunadamente, debido a la similitud de los espectros no podemos concretar mediante que grupos se da la unión de la curcumina con las nanopartículas de oro, pues al parecer no sólo contamos con una capa de curcumina que rodee a las nanopartículas de oro, sino que son más capas las que se tienen alrededor de las nanopartículas de oro, claramente demostrado con el espectro de infrarrojo.

En la Figura 22 se observa la comparación de los espectros del polímero polivinilpirrolidona como reactivo y de las nanopartículas de oro modificadas con curcumina y polivinilpirrolidona, donde existe una desaparición de picos al unirse

el polivinilpirrolidona a la capa de curcumina que tienen las nanopartículas en la superficie, confirmando que se llevo a cabo la modificación deseada mediante la unión del PVP con la curcumina mediante los grupos OH.

En la Figura 23 observamos la diferencia entre el espectro de infrarrojo de las nanopartículas de oro con curcumina y las nanopartículas de oro con curcumina y PVP; desaparecen las señales del grupo carbonilo C=O y la banda del grupo OH características del polivinilpirrolidona; por lo que podemos indicar que la unión del polivinilpirrolidona con la curcumina se da mediante el grupo carbonilo.

4.3. Caracterización por Dispersión Dinámica de Luz (DLS)

En DLS (Figura 24) es notable que las nanopartículas presenten una modificación, pues recordemos que la curcumina es poco soluble en agua, mientras que el PVP presenta gran solubilidad con el agua y se refleja en la estabilidad de la nanopartícula de oro con curcumina y PVP.

4.4. Caracterización por Análisis de Rastreo de Partículas (NTA)

En la Figura 25 observamos que la mayoría de las nanopartículas NPAu-cit comerciales tienen un diámetro hidrodinámico de 33 nm lo cual nos indica que presentan estabilidad en el medio acuoso, a su vez vemos que el diámetro hidrodinámico mayor a 100 nm corresponden a la aglomeración de las nanopartículas, en un grado menor. Por otro lado, para las NPAu-cur con diámetro hidrodinámico de 57 nm, en su mayoría, y de acuerdo a la tendencia de los demás diámetros hidrodinámicos que se presentan, vemos que la curcumina da cierta estabilidad, pero a su vez las nanopartículas tienden a aglomerarse con mayor facilidad que las NPAu-cit comerciales.

Finalmente para las NPAu-cur-PVP casi todas las nanopartículas presentan un diámetro hidrodinámico de 94 nm y una minoría de 202 nm, lo que indica que el PVP le da gran estabilidad a la nanopartícula evitando la formación de aglomerados lo cual es ideal y favorece para su uso de las nanopartículas de oro modificadas como vehículos de nanofármacos contra cáncer.

4.5. Caracterización por Microscopia Electrónica de Transmisión (TEM)

Aunque ya existen resultados reportados sobre la caracterización por TEM de nanopartículas comerciales NPAu-cit, se tomó la decisión de caracterizarlas para poder realizar la comparación entre un método estandarizado de nanopartículas de oro comerciales y las nanopartículas de oro sintetizadas con curcumina y a su vez poder comparar las etapas de modificación de las nanopartículas de oro con curcumina sin y con PVP.

Las imágenes de la caracterización por microscopia electrónica de transmisión nos permiten saber que las NPAu-cur que se sintetizaron en el laboratorio, presentan características similares a las NPAu-cit comerciales, específicamente el tamaño de la nanopartícula fue el que se esperaba, lo que nos permitió seguir con la siguiente etapa de modificación de las nanopartículas. Así mismo se observó que la distribución entre estas nanopartículas es diferente, pues las NPAu-cit se encuentran un poco aglomeradas (ver Figura 26), mientras que las NPAu-cur están esparcidas sobre la rejilla (ver Figura 28).

Comparando las etapas de modificación de las nanopartículas de oro, primero con curcumina y luego con PVP, observamos que el tamaño de partícula aumenta sólo 1.22 nm. En cuanto a la distribución de las nanopartículas se observa que las nanopartículas de oro con curcumina y PVP se encuentran completamente disgregadas (Ver Figura 30) en comparación con las nanopartículas de oro con curcumina (Ver Figura 28).

4.6. Caracterización por Microscopia de Fuerza Atómica (AFM)

La topografía de las NPAu-cit comerciales (Figura 32 a y b) y NPAu-cur (Figura 34 a y b) presentan una gran similitud, pues las nanopartículas están distribuidas de manera uniforme a lo largo de la placa de Au recocida, plano a nivel atómico (111). La rugosidad de la película de nanopartículas de oro soportada sobre la placa de Au(111) es expresada por factor $RMS_{[Rq]}$, el cual corrobora la similitud entre ambas nanopartículas de oro, con valores de 3.46 nm y 3.11 nm respectivamente. Con esta información podemos decir que las nanopartículas de oro que sintetizamos tienen las mismas propiedades que las NPAu-cit comerciales.

En cuanto a la topografía de las NPAu-cur-PVP (Figura 36 a y b) la topografía no muestra uniformidad en comparación con las NPAu-cur. En sí, se observa la presencia de aglomeración de las nanopartículas y a la vez, también se observa que están más separadas. Su rugosidad es mayor que las nanopartículas de oro con curcumina, con un valor de 4.22 nm.

Con respecto al análisis de sección podemos ver que las nanopartículas de oro con curcumina presenta un tamaño mayor a las nanopartículas de oro comerciales, en una escala aproximada de 2:1 en cuanto a diámetro. Recordemos que las nanopartículas de oro comerciales tienen alrededor citrato. (Ver Figura 32 c y Figura 34 c).

Ahora comparando el tamaño de las nanopartículas de oro con curcumina sintetizadas sin PVP y con PVP, vemos que las nanopartículas de oro con curcumina y PVP tienen un diámetro mayor que las nanopartículas de oro con curcumina, en una escala 2:1. La altura y diámetro obtenidos del análisis de sección, es similar, deduciendo que las nanopartículas se encuentran más separadas, dando un valor más cercano de una sola nanopartícula (Ver Figura 36 c).

Con esta información obtenida mediante el AFM concluimos que las nanopartículas de oro modificadas con curcumina presentan un comportamiento similar a las nanopartículas de oro comerciales, que si ocurrió la modificación de nanopartículas de oro con curcumina y PVP al presentarse una topografía y diámetro diferente.

4.7. Análisis de distribución de tamaño de partícula mediante software SPIP a partir de las imágenes de AFM

Con ayuda del software “Procesador de imagen de exploración de escaneo”, por sus siglas en ingles, SPIP; se analizó la distribución de tamaño de partículas para cada muestra, obteniendo también el tamaño promedio de las nanopartículas, que se muestra en un histograma.

El software fue de gran utilidad para verificar resultados de conteo y medición de diámetro de cada partícula, hechos manualmente. Éste tipo de análisis al no ser de rutina, se necesita de mucha atención y un poco de experiencia. Para hacer éste análisis se utilizaron imágenes definidas para un conteo exacto de partículas.

El análisis de tamaño de partícula mediante el software SPIP presenta tamaños de nanopartícula más pequeños que los medidos directamente desde el AFM, por lo que sólo estamos considerando los tamaños aproximados a los obtenidos mediante las otras técnicas de caracterización.

4.8. Comparación del tamaño de nanopartícula de las diferentes técnicas de caracterización utilizadas

Dado que la aportación de éste trabajo es la caracterización de la modificación de nanopartículas, a continuación se presenta la comparación entre las técnicas que nos permitieron determinar el tamaño de partícula, así como su distribución.

De acuerdo con los resultados, se observa en general 3 cosas, que el número de partículas que se cuantificó para cada técnica de caracterización, el tamaño de partícula que proporciona cada técnica y el ambiente al que se sometió cada muestra para su caracterización es diferente (a vacío en TEM, a temperatura ambiente en AFM y en suspensión para DLS).

Es por ello que jamás se presentó ni se presentará el mismo tamaño de partícula entre dos técnicas de caracterización, lo que cabe resaltar y rescatar mediante este análisis comparativo es que nos permite ver como las nanopartículas se comportan ante diferentes escenarios al analizarse.

En la Figura 38, Figura 39 y Figura 40 tenemos que la diferencia para el tamaño de nanopartículas de cada etapa de modificación es poca, siendo técnicas afines en el tratamiento de la muestra. Mientras que para DLS el tamaño aumenta debido a su interacción en medio acuoso

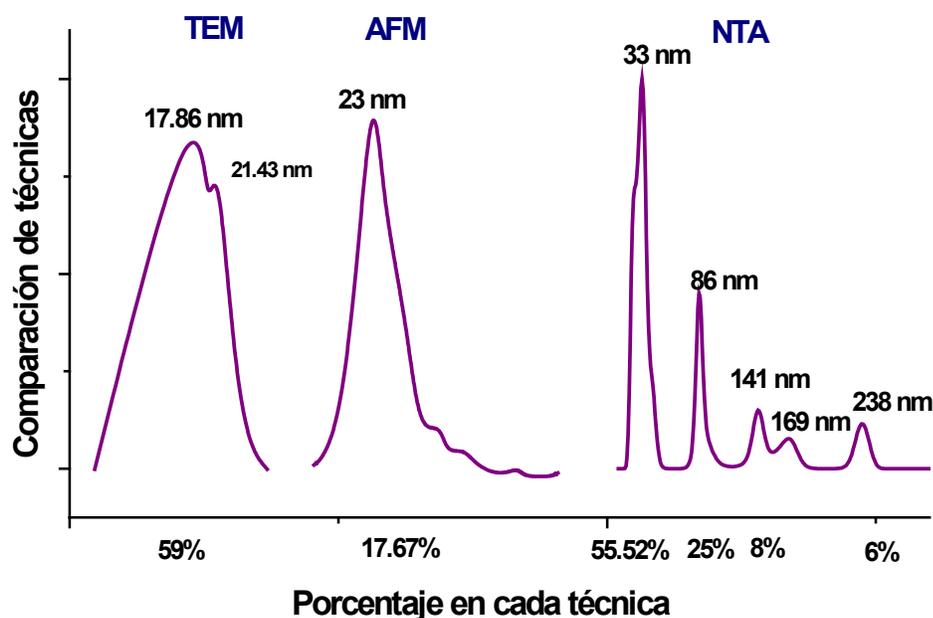


Figura 38. Comparación de las técnicas de caracterización empleadas para las NPAu-cit comerciales.

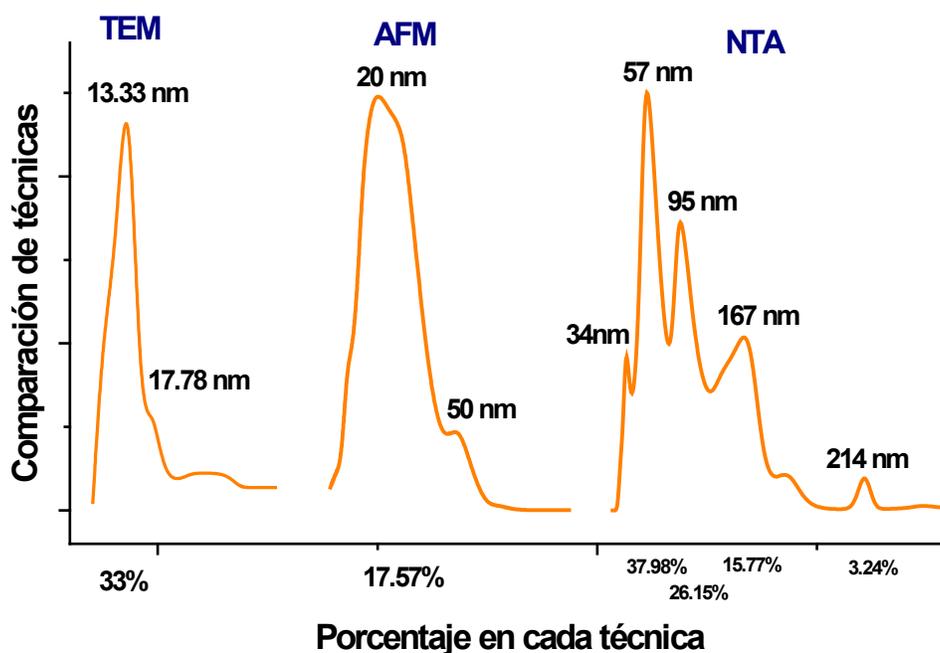


Figura 39. Comparación de las técnicas de caracterización empleadas para las NPAu-cur.

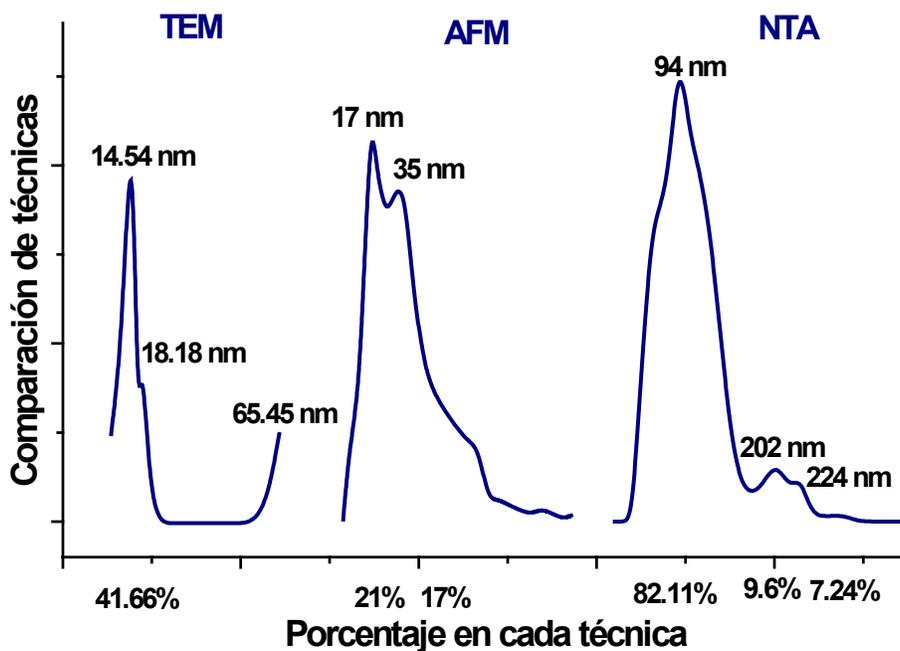


Figura 40. Comparación de las técnicas de caracterización empleadas para las NPAu-cur-PVP.

Cada técnica enseña diferentes valores para cada etapa de modificación de las nanopartículas, sin embargo, la comparación de diámetros en cada etapa de modificación permite ver claramente el incremento del tamaño de las nanopartículas, confirmando que cada modificación fue exitosa.

Es importante recordar que cada técnica mide diferentes propiedades, a condiciones específicas. Las mediciones en TEM son al vacío y mide la interacción de electrones en el centro metálico; el AFM mide muestras secas a temperatura ambiente y muestra la topografía y rugosidad de la muestra; y finalmente el DLS y NTA miden el diámetro hidrodinámico de las partículas en solución acuosa/suspensión.

4.9. Comparación de la síntesis de nanopartículas de oro modificadas con curcumina y PVP por diferentes técnicas.

Esta comparación nos permite reafirmar que la modificación de la nanopartículas se llevo a cabo (Figura 41). En TEM, tenemos un tamaño similar de la nanopartícula de oro (recordemos que en esta técnica se observa la interacción de electrones con metales).

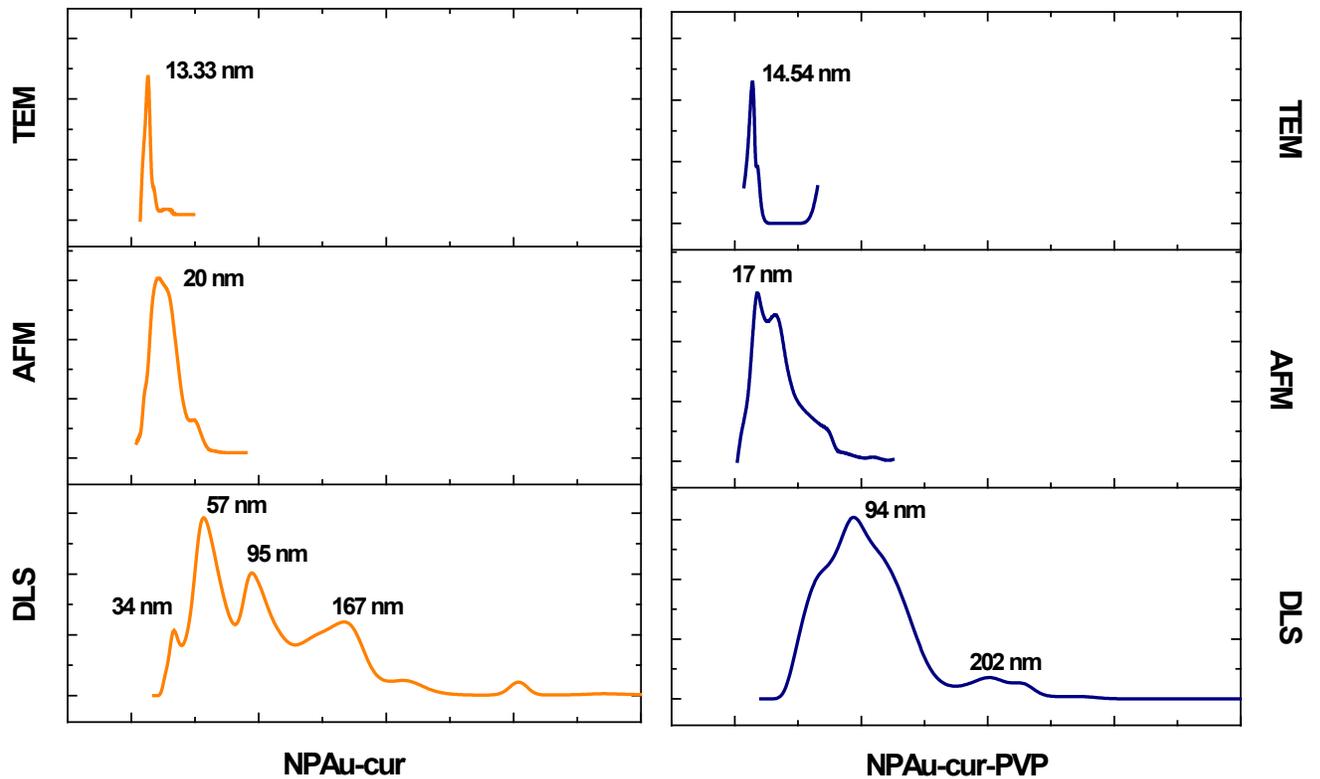


Figura 41. Comparación de la modificación de nanopartículas de oro con curcumina y PVP.

Específicamente en AFM observamos el tamaño de la partícula mediante un escaneo de la superficie de las nanopartículas depositadas en la placa de oro, de cada etapa de modificación donde claramente se ve el aumento de tamaño al adicionar la capa de PVP a la nanopartícula de oro con curcumina (Figura 42).

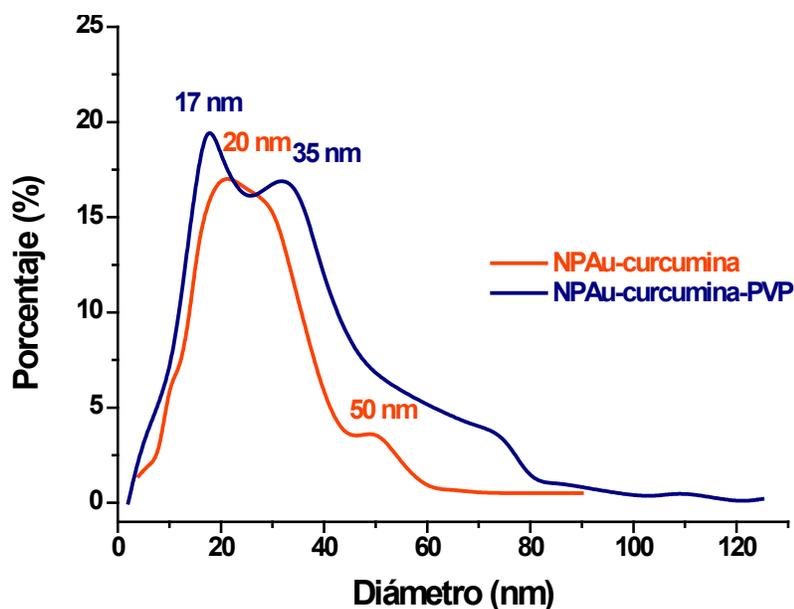


Figura 42. Comparación de la modificación de NPAu-cur y NPAu-cur-PVP con base a la caracterización de AFM.

Finalmente en la Tabla 6 se encuentra condensada la información sobre los tamaños de de cada nanopartícula (estándar y modificadas) y la técnica con la que se obtuvo el tamaño. Los números resaltados en negro son aquellos donde la mayoría de las nanopartículas tienen ese tamaño de partícula.

Tabla 6. Tamaño de nanopartículas estándar y sintetizadas de cada técnica de caracterización.

Técnicas de caracterización	Tamaño de nanopartículas (nm)		
	NPAu-cit	NPAu-cur	NPAu-cur-PVP
TEM	17.86	13.33	14.55
AFM	28.94	44.31	66.98
SPIP/AFM	23	20	35
DLS	32.67	78.82	141.8
NTA	33	57	94

En general para todas las técnicas de caracterización se muestra una tendencia de aumento de tamaño del diámetro, ya sea nominal o hidrodinámico, de la partícula entre cada etapa de modificación de las nanopartículas de oro sintetizadas para éste trabajo, así como la estabilidad que proporciona cada molécula agregada a las nanopartículas. Así mismo se puede comparar los diámetros de las nanopartículas, no olvidando la naturaleza de la muestra al analizarla, es decir, estadísticamente se puede comparar TEM vs AFM vs SPIP y por otro lado DLS vs NTA.

5. CONCLUSIONES

Los resultados de este trabajo demuestran el seguimiento de la modificación de las nanopartículas de oro con curcumina y PVP con una caracterización precisa y detallada a vacío, ambiente (aire) y medio acuoso, para su posible uso como nanofármacos contra cáncer.

- La síntesis de nanopartículas de oro con curcumina y PVP resultó exitosa obteniendo un tamaño de partícula adecuado para su utilización como vehículos de nanofármacos.
- Los espectros de UV-Vis y de ATR confirmaron que la curcumina se enlaza a las nanopartículas de oro y el PVP se enlaza a la curcumina, ambos enlaces forman una capa de gran estabilidad.
- Las imágenes de TEM permitieron saber el tamaño de las nanopartículas de oro en cada modificación.
- Las imágenes de AFM permiten ver la topografía y la rugosidad de las nanopartículas de oro modificadas soportadas en la placa de Au (111).
- Las imágenes de AFM junto con el análisis de tamaño de partícula con ayuda del software SPIP, dieron resultados similares a los de TEM indicando claramente que el proceso de modificación de las nanopartículas de oro.
- La caracterización por DLS permite confirmar la modificación que tuvieron las nanopartículas de oro con curcumina a nanopartículas de oro con curcumina y PVP.

6. PROSPECTIVAS

Estudiar el diseño y comportamiento de las nanopartículas modificadas para potencializar el efecto anticancerígeno con el objetivo de producir nanofármacos contra cualquier tipo de cáncer a largo plazo, así como su detección a una etapa temprana.

Caracterizar detalladamente sistemas nanoestructurados para el área de nanomateriales con aplicación a nuevas tecnologías.

7. APÉNDICES

7.1. Cálculo del número de moléculas de curcumina unidas alrededor de las nanopartículas de oro

- **Concentración de curcumina en la síntesis de nanopartículas de oro-curcumina**

$$2 \text{ mg} \left(\frac{1 \text{ g}}{1000 \text{ mg}} \right) \left(\frac{1 \text{ mol cur}}{368.38 \text{ g cur}} \right) = 5.4291 \times 10^{-6} \text{ mol de curcumina}$$

$$\left(\frac{5.4291 \times 10^{-6} \text{ mol de curcumina}}{50 \text{ mL}} \right) \left(\frac{1000 \text{ mL}}{1 \text{ L}} \right) = 1.0858 \times 10^{-4} \frac{\text{mol}}{\text{L}} \text{ de curcumina}$$

Dado que la concentración de HAuCl_4 es de $1 \times 10^{-4} \text{ M}$, se puede decir que la reacción ocurre 1:1, sin embargo no es así ya que las nanopartículas están formadas por más de un átomo de oro. Por que se presentan los siguientes cálculos para saber la cantidad que cantidad de curcumina está cubriendo las nanopartículas de oro.

- **Cálculo de área superficial de nanopartículas de oro**

Con base en los resultados obtenidos mediante la microscopia electrónica de transmisión (TEM), el tamaño de las nanopartículas, en su mayoría, es de 13.33 nm de diámetro.

Partiendo de la fórmula para el cálculo de área superficial de una esfera, tenemos:

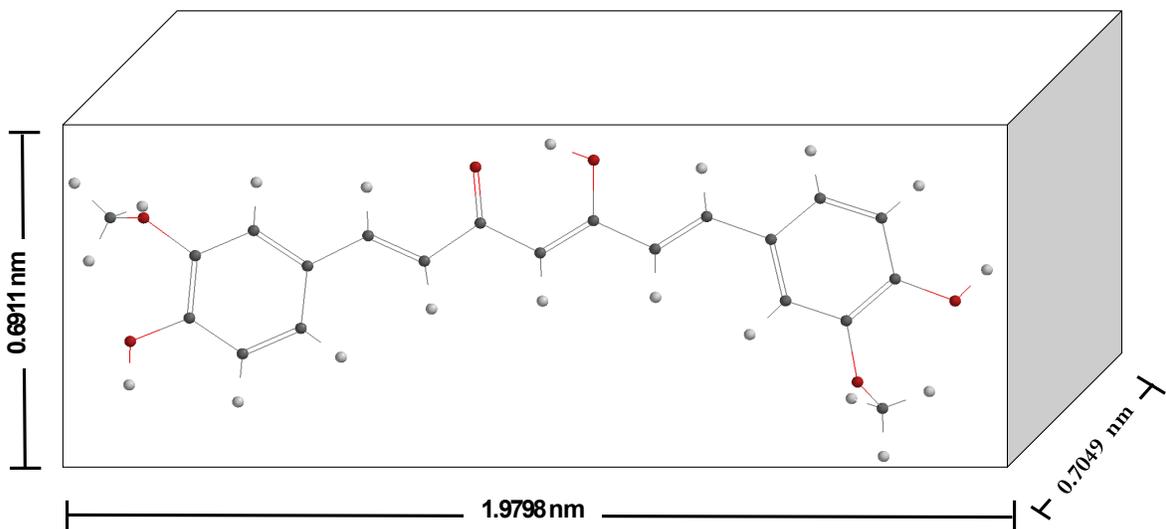
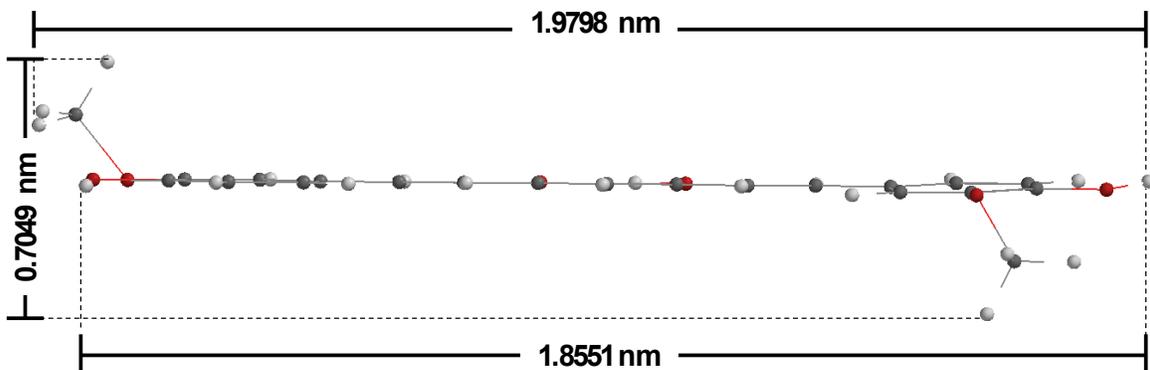
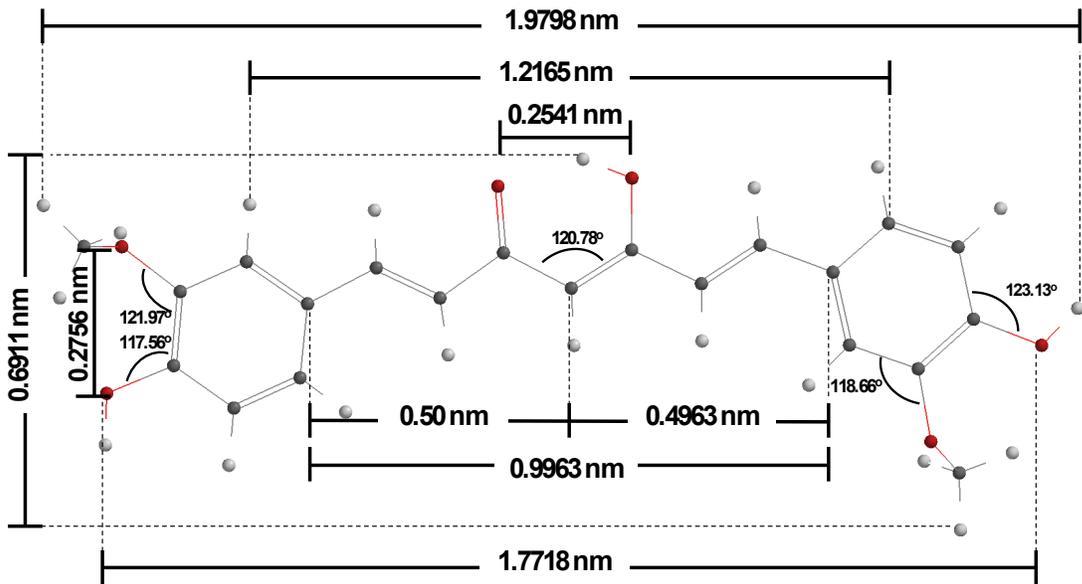
$$\text{Área Superficial}_{\text{NPAu}} = 4 \pi r^2$$

$$AS_{\text{NPAu}} = 4 \pi (6.665 \text{ nm})^2$$

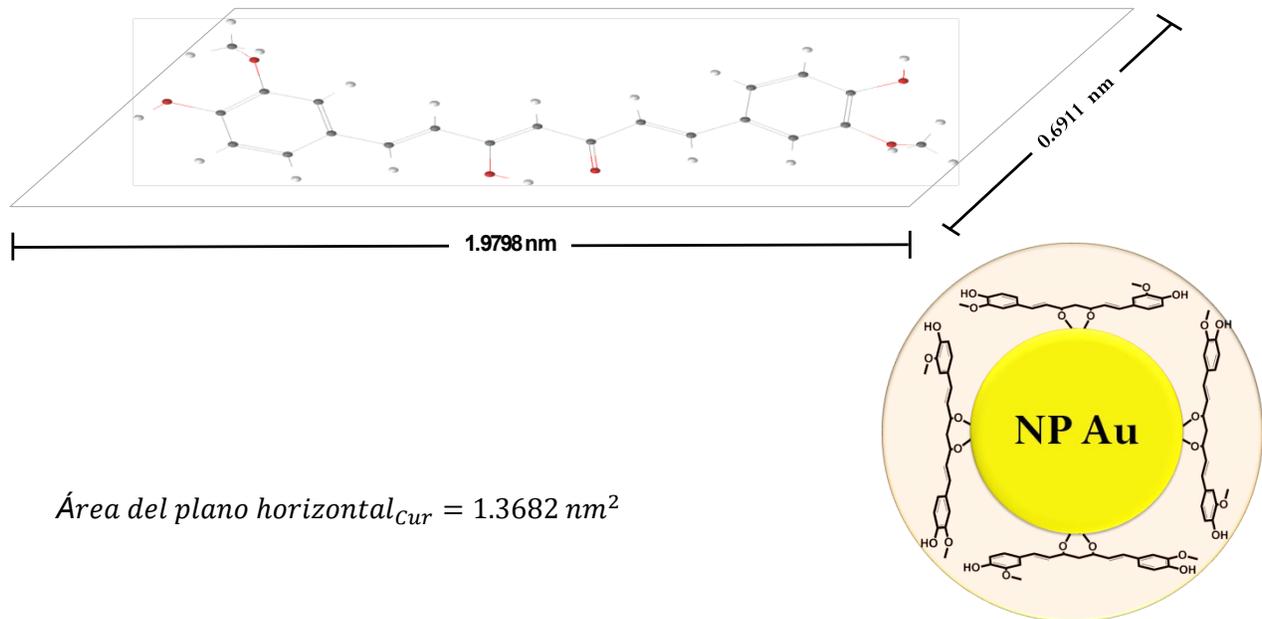
$$\text{Área Superficial}_{\text{NPAu}} = 558.2261 \text{ nm}^2$$



➤ Dimensiones de la curcumina



a) Considerando que la curcumina se une de forma plana horizontal:



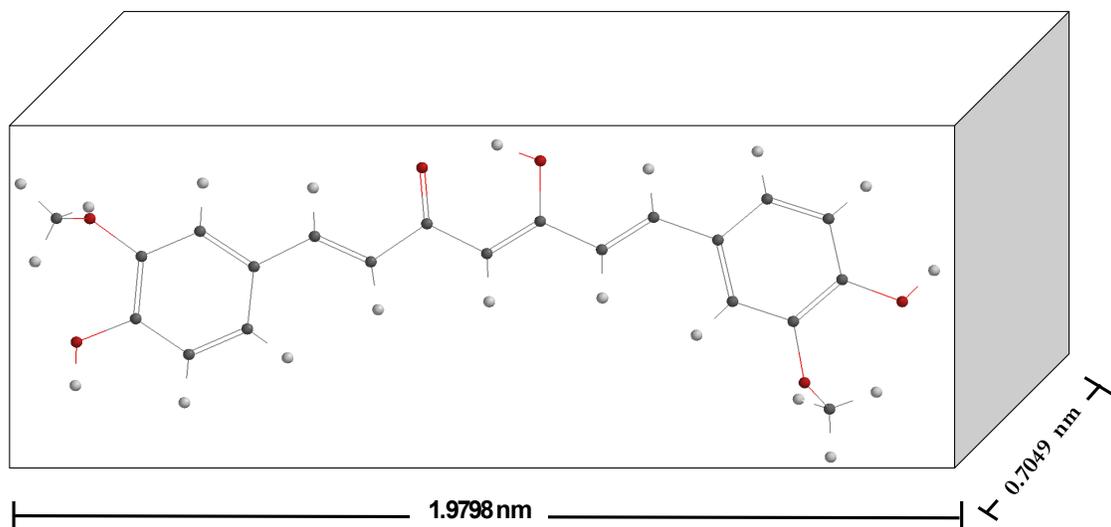
$$\text{Área del plano horizontal}_{Cur} = 1.3682 \text{ nm}^2$$

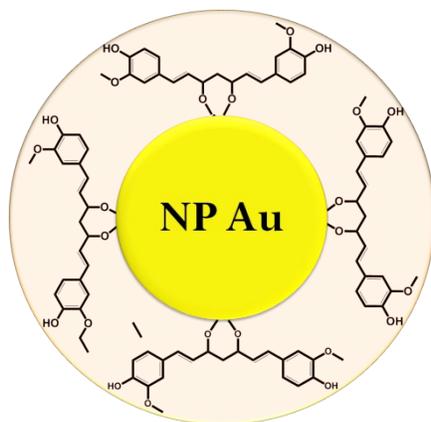
$$\text{Moléculas de curcumina que se unen a la NPAu} = \frac{\text{área superficial de NPAu}}{\text{área del plano horizontal de la curcumina}}$$

$$= \frac{558.2261 \text{ nm}^2}{1.3682 \text{ nm}^2} = 407.98 \sim 407$$

407 moléculas de curcumina que se unen en plano horizontal a una nanopartícula de oro con diámetro de 13.33 nm

b) Considerando que la curcumina se une de forma horizontal:



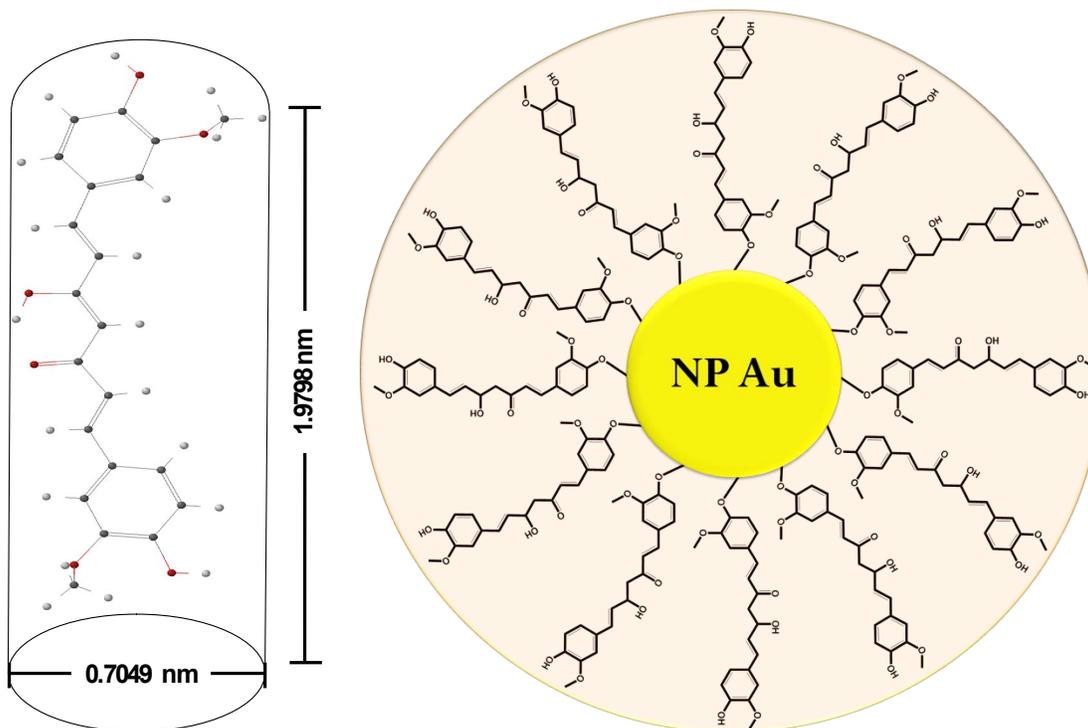


$$\text{Área horizontal}_{cur} = 1.3949 \text{ nm}^2$$

$$\text{Moléculas de curcumina que se unen a la NPAu} = \frac{558.2261 \text{ nm}^2}{1.3949 \text{ nm}^2} = 400.1831 \sim 400$$

400 moléculas de curcumina que se unen de forma horizontal a una nanopartícula de oro con diámetro de 13.33 nm

c) Considerando que la curcumina se une de forma vertical:



$$\text{Área superficial vertical}_{cur} = \pi r^2 = 0.39025 \text{ nm}^2$$

$$\text{Moléculas de curcumina que se unen a la NPAu} = \frac{558.2261 \text{ nm}^2}{0.39025 \text{ nm}^2} = 1430.4255 \sim 1430$$

1430 moléculas de curcumina que se unen de forma vertical a una nanopartícula de oro con diámetro de 13.33 nm

- **Número de moléculas de curcumina disponibles de acuerdo con la concentración de la síntesis.**

$$1 \text{ mol} - 6.023 \times 10^{23} \text{ moléculas}$$

$$1.0858 \times 10^{-4} \text{ mol} - x \text{ moléculas de curcumina}$$

$$x = 6.5397734 \times 10^{19} \text{ moléculas disponibles de curcumina}$$

Ahora, si tenemos 6.5397734×10^{19} moléculas de curcumina disponibles y considerando que se unen cierto número dependiendo la posición de la molécula. Por lo tanto podemos saber el número de nanopartículas de oro con curcumina que se tienen en suspensión.

- a) Plano horizontal

$$\frac{6.5397734 \times 10^{19} \text{ moléculas de curcumina disponibles}}{408 \text{ moléculas de curcumina en una nanopartícula de oro}} = 1.602885637 \times 10^{17} \text{ NPAu} - \text{curc}$$

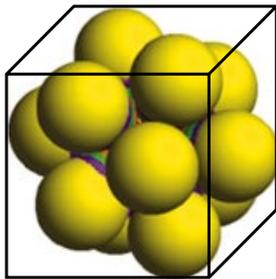
- b) Horizontal

$$\frac{6.5397734 \times 10^{19} \text{ moléculas de curcumina disponibles}}{400 \text{ moléculas de curcumina en una nanopartícula de oro}} = 1.63494335 \times 10^{17} \text{ NPAu} - \text{curc}$$

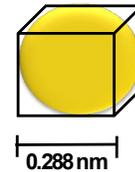
- c) Vertical

$$\frac{6.5397734 \times 10^{19} \text{ moléculas de curcumina disponibles}}{1430 \text{ moléculas de curcumina en una nanopartícula de oro}} = 4.573268112 \times 10^{16} \text{ NPAu - curc}$$

Considerando una celda cristalina (celda unitaria de oro):



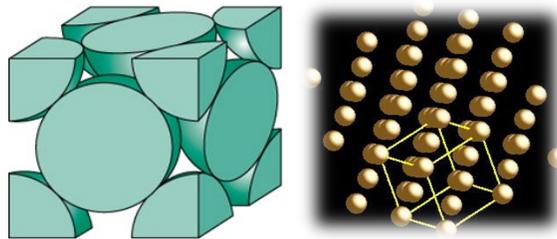
$$\text{Volumen}_{\text{NPAu}} = abc = 2368.5930 \text{ nm}^3$$



$$\text{Volumen}_{\text{átomo de Au}} = abc = 0.0239 \text{ nm}^3$$

$$\text{Número de celdas unitarias} = \frac{2368.5930 \text{ nm}^3}{0.0239 \text{ nm}^3} = 99154.62696 \text{ celdas unitarias}$$

*Cada celda unitaria tiene 4 átomos de oro, tipo de celda FCC (cúbica centrada en las caras)



Si tenemos 99 154 celdas unitarias podemos calcular el número de átomos de oro.

$$99154 \text{ celdas unitarias} \times 4 \text{ átomos} = 396\,616 \text{ átomos de oro}$$

➤ Número de nanopartículas de oro con curcumina

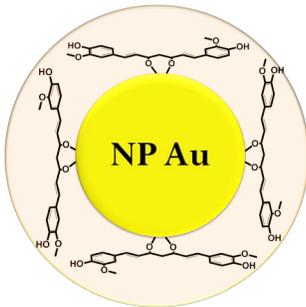
Considerando que la concentración de la solución inicial de ácido clorhídrico es de $1 \times 10^{-4} \text{ M}$

$$1 \times 10^{-4} \frac{\text{mol}}{\text{L}} = \left(\frac{6.023 \times 10^{23}}{1 \text{ mol}} \right) = 6.023 \times 10^{19} \text{ moléculas de oro en solución}$$

$$\frac{6.023 \times 10^{19} \text{ moléculas de oro en solución}}{396\,616 \text{ átomos de oro}} = 1.518597333 \times 10^{14} \text{ nanopartículas de oro}$$

Intuyendo que la curcumina forma una **monocapa** alrededor de la **nanopartícula de oro** podemos calcular el número de moléculas de curcumina que se necesitan para cubrir las nanopartículas de oro.

Si tenemos $1.518597333 \times 10^{14}$ nanopartículas de oro y contemplamos que las moléculas de curcumina se unen en plano horizontal...



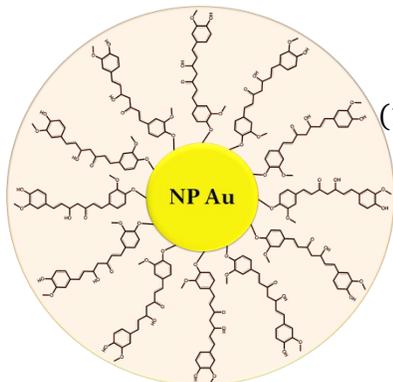
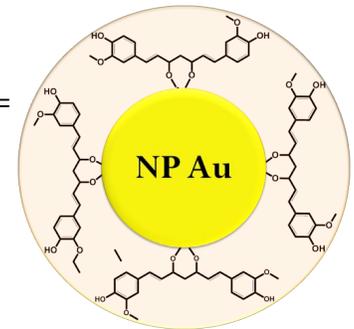
$$(1.518597333 \times 10^{14} \text{ NPAu})(408 \text{ moléculas de curcumina}) =$$

$$6.19587712 \times 10^{16} \text{ moléculas de curcumina para cubrir todas las NPAu}$$

$$(1.518597333 \times 10^{14} \text{ NPAu})(408 \text{ moléculas de curcumina}) =$$

$$6.19587712 \times 10^{16} \text{ moléculas de curcumina para cubrir}$$

todas las NPAu



$$(1.518597333 \times 10^{14} \text{ NPAu})(408 \text{ moléculas de curcumina}) =$$

$$6.19587712 \times 10^{16} \text{ moléculas de curcumina para}$$

cubrir todas las NPAu

7.2. Preparación de muestras para caracterización de nanopartículas de oro-curcumina-PVP

En cada etapa de la síntesis se guardó una alícuota para caracterizar, utilizando como punto de comparación nanopartículas de oro comerciales las cuales tienen citrato como agente reductor y estabilizador.

7.2.1. Espectroscopia UV-Visible (UV-Vis)

Para la caracterización por espectroscopia de Ultravioleta-Visible se utilizó el equipo BioDrop, en el apartado de lectura de barridos en un intervalo de 200 a 700 nm, utilizando como blanco agua ultrapura Milli Q. Fue necesario solamente 2 μL de muestra para realizar la lectura a una concentración de 1×10^{-3} M para la curcumina y PVP en agua.

7.2.2. Espectroscopia Infrarrojo por Reflectancia Total Atenuada (FTIR-ATR)

Para la caracterización por espectroscopia de infrarrojo (ATR) primero se colocó 2 mL de la muestra en un vidrio de reloj durante 24 h, con el objetivo de deshidratar la muestra. Posteriormente la muestra en forma sólida se colocó en el portamuestras del ATR. Los parámetros en lo que se realizó el análisis fueron 16 scans, con intervalo de 1 cm^{-1} de 4000 a 500 cm^{-1} .

7.2.3. Dispersión Dinámica de Luz (DLS)

Para la caracterización por NTA se tomó una alícuota de 1 mL de cada muestra de nanopartículas. Se utilizó un método específico programado para muestras de oro a temperatura de 25 °C.

7.2.4. Análisis de Rastreo de Partículas (NTA)

En la caracterización para el análisis de rastreo de partículas se tomó una alícuota de 2 mL de cada muestra de nanopartículas. El análisis se realizó a temperatura de 25°C.

7.2.5. Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM)

Se colocó una gota de muestra en un pedazo de parafilm dentro de una caja petri, con ayuda de una pinzas finas se tomó la rejilla y se colocó a la mitad de la gota (tipo sándwich); una vez que se absorbió la gota en la rejilla (aproximadamente 1 día) se llevo al laboratorio de Microscopía para el análisis de TEM.

7.2.6. Microscopía de Fuerza Atómica (AFM)

De una placa de oro (111) para análisis en AFM (Arrandee Co., Germany) de 14x10 cm se cortó un rectángulo de 6x5 mm aproximadamente, se hizo el procedimiento de limpieza a la placa mediante la técnica “annealing” en el que se somete la placa de oro a calentamiento con un soplete hasta que el color de placa cambie a un rojo vivo momentáneamente; se dejó enfriar, seguido, se adicionó una gota de la solución de nanopartículas de oro con citrato, nanopartículas de

oro con curcumina y nanopartículas de oro con curcumina y PVP a una placa de oro annealing (una placa para cada muestra) y se dejó secar por 24 hrs.

Se colocó la placa de oro sobre un disco metálico como soporte, se montó la muestra en el microscopio de fuerza atómica junto con la punta, se ajustó el láser y mediante el software se realizó "Auto Tune" posteriormente se colocaron los parámetros de tamaño de escaneo generalmente desde 1.05 hasta 0.5 μm y velocidad de escaneo idealmente de 0.5 Hz.

8. REFERENCIAS

- ¹ World Health Organization. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/> [Consultado el 23 de noviembre de 2017].
- ² Cancer Quest, Emory Winship Cancer Institute. Disponible en: <https://www.cancerquest.org/patients>, [Consultado el 31 de octubre de 2017]
- ³ NIH: National Cancer Institute , Disponilbe en: <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types> [Consultado el 31 de octubre de 2017]
- ⁴ Dirección General de Divulgación de la Ciencia. (2016) Ilustración Células normales y células cancerígenas en cáncer de mama. [Figura]. Recuperado de <http://www.fundacionunam.org.mx/unam-al-dia/la-unam-te-explica-que-son-las-nanoparticulas/>.
- ⁵ Deng J, Yao M, Gao C, Cytotoxicity of gold nanoparticles with different structures and surface-anchored chiral polymers. *Acta Biomaterialia*. 53 (2017) 610-618.
- ⁶ Zanella, Rodolfo, “Metodologías para la síntesis de nanopartículas: controlando forma y tamaño” 2012, *Mundo Nano*, Vol. 5, No. 1, enero-junio, 69-81.
- ⁷ Ziegler, Kharla., Activación de espuma de Poliuretano con nanopartículas de Ag y evaluación de sus propiedades catalíticas. [Figura] Recuperado de https://ddd.uab.cat/pub/trerecpro/2013/hdl_2072_217672/TFM_KharlaZieglerBenitez.pdf
- ⁸ Hassellöv, M. y Kaegi,R. “Environmental and Human Health Impacts of Nanotechnology” Cap.6 Analysis and Characterization of Manufactured Nanoparticles in Aquatic Environments, Blackwell Publishing Ltd, 2009, pp. 211-266.
- ⁹ Daniel MC, Astruc D. Gold nanoparticles: assembly, supramolecular chemistry, quantum-size-related properties, and applications toward biology, catalysis, and nanotechnology. *Chem Rev* 2004; 104:293–346.
- ¹⁰ Jain S, Hirst DG, O’Sullivan JM. Gold nanoparticles as novel agents for cancer therapy. *Br J Radiol*. 2012; 85(1010):101–113.
- ¹¹ Coulter JA, Jain S, Butterworth KT, et al. Cell type-dependent uptake, localization, and cytotoxicity of 1.9 nm gold nanoparticles. *Int J Nanomedicine*. 2012;7(1):2673–2685.
- ¹² Xing J, Zeng J, Yang J, et al. Gold-based nanoparticles for breast cancer diagnosis and treatment. *IEEE Int Symp ISCAS*. 2007:2882–2885.
- ¹³ Lara C, et al. Increasing roughness of the human breast cancer cell membrane through incorporation of gold nanoparticles. *International Journal of Nanomedicine*. 2016:11 5149–5161.

-
- ¹⁴ Fraile, M. Concepción., Estudio de las interacciones entre nanopartículas de metales nobles y ADN. [Figura] Recuperada de <https://idus.us.es/xmlui/bitstream/handle/11441/50465/Fraile%20Romero%2C%20Mar%C3%ADa%20Concepci%C3%B3n.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- ¹⁵ Ahmad MZ, Akhter S, Mohsin N, et al. Transformation of curcumin from food additive to multifunctional medicine: nanotechnology bridging the gap. *Curr Drug Discov Technol* 2014;11:197–213.
- ¹⁶ Mesa M, et al. Efectos farmacológicos y nutricionales de los extractos de *Curcuma longa* L. y de los cucuminoides. *Ars Pharmaceutica*, 41:3; 307-321, 2000.
- ¹⁷ Montes Angeles C D, et al. Curcumina, una alternativa terapéutica para la clínica dental (Parte I): antiinflamatoria y analgésico. *Revista ADM*. 2016; 73 (%): 245-249.
- ¹⁸ Priyadarsini, K. I. The chemistry of curcumin: From extraction to therapeutic agent. *Molecules* **19**, 20091–20112 (2014).
- ¹⁹ Tousif S, Kumar D, et al. Nanoparticle- Formulated Curcumin Prevents Posttherapeutic Disease Reactivation and Reinfection with *Mycobacterium tuberculosis* following Isoniazid Therapy. *Front Immunol*. 8:739, 2017. doi: 10.3389/fimmu.2017.00739.
- ²⁰ Friedman L, Lin L, et al. Curcumin analogues exhibit enhanced growth suppressive activity in human pancreatic cancer cells. *Anticancer Drugs*. Jul;20(6): 444-449, 2009. doi: 10.1097/CAD.0b013e32832afc04.
- ²¹ H. Hatcher, R. Planalp, J. Cho, F. M. Torti and S. V. Torti, Curcumin: from ancient medicine to current clinical trials *Cell. Mol. Life Sci.*, Jun; 65(11): 1631-52, 2008. doi: 10.1007/s00018-008-7452-4.
- ²² M. H. Teiten, S. Eifes, M. Dicato and M. Deiderich, Curcumin-the paradigm of a multi-target natural compound with applications in cancer prevention and treatment. *Toxins(Basel)*, Jan, 2(1): 128-62, 2010. doi: 10.3390/toxins2010128.
- ²³ González J, Sanz D, et al. Curcumin and curcuminoids: chemistry, structural studies and biological properties. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia*. Vol. 81, Nº 4(2015), pp. 278-310.
- ²⁴ Dirección de Desarrollo Académico, Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA). *Síntesis, caracterización y actividad biológica de nuevos derivados metálicos de curcuminoides*, Proyectos Universitarios PAPIIT (PAPIIT). En *Portal de datos abiertos UNAM* (en línea), México, Universidad Nacional Autónoma de México. Disponible en: <http://datosabiertos.unam.mx/DGAPA:PAPIIT:IN220509>

- ²⁵ Zaki M, Ahmed S, Progress in nanotechnology-based drug carrier in designing of curcumin nanomedicines for cancer therapy: current state-of-the-art., *Journal of Drug Targeting*. 2015, Early online: 1-21,
- ²⁶ Benassi R, Ferrari E, Theoretical study on Curcumin: A comparison of calculated spectroscopic properties with NMR, UV-Vis and IR experimental data. *Journal of Molecular Structure*. 892 (2008 168-176.)
- ²⁷ Manolova Y, Deneva V, The effect of the water on the curcumin tautomerism: A quantitative approach. *Spectrochimia Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 132 (2014) 815-820.
- ²⁸ Balasubramanian K, Molecular Orbital Basis for Yellow Curry Spice Curcumin's Prevention of Alzheimer's. *J. Agric. Food Chem*. 54 (2006) 3512- 3520.
- ²⁹ Shen L, Ji H, Zhang H. Y, A TD-DFT study on triplet excited-state properties of curcumin and its implications in elucidating the photosensitizing mechanisms of the pigment. *Chem. Phys. Lett*. 409 (2005) 300-303.
- ³⁰ Shen L, Ji H, Theoretical study on physicochemical properties of curcumin. *Spectrochim. Acta A* 67 (2007) 619-623.
- ³¹ Mahmood K, et al. Morphological and thermal studies of chitin-curcumin blends derived polyurethanes. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2017 <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.07.149>
- ³² Mancarella S, Et al. Polymer-Coated Magnetic Nanoparticles for Curcumin Delivery to Cancer Cells. *Macromol. Biosci*. 2015, 15, 1365-1374.
- ³³ Lin M, Teng L, Curcumin-guided nanotherapy: a lipid-based nanomedicine for targeted drug delivery in breast cancer therapy. *Drug Delivery*. 2015, Early Online: 1-6 DOI: 10.3109/10717544.2015.1066902
- ³⁴ Indira K, Chemical and Structural Features Influencing the Biological Activity of Curcumin. *Current Pharmaceutical Design*, 19, 2093-2100, 2013.
- ³⁵ Huang, P. H., Tseng, C. H., Lin, C. Y., Lee, C. W. & Yen, F. L. Preparation, characterizations and anti-pollutant activity of 7,3',4'-trihydroxyisoflavone nanoparticles in particulate matter-induced HaCaT keratinocytes. *International Journal of Nanomedicine* 13, 3279–3293 (2018).

³⁶ K Gangwar R, Conjugation of curcumin with PVP capped gold nanoparticles for improving bioavailability. *Material Science and Engineering C* 32 (2012) 2659-2663.

³⁷ Casanova, Verónica. ¿Qué es el espectro electromagnético? [Figura] Recuperada de <http://www.astrofisicayfisica.com/2012/06/que-es-el-espectro-electromagnetico.html>

³⁸ *Hosokawa, M, Nogi, Kiyoshi, "Nanoparticle Technology Handbook", ELSEVIER, Hungary, 2008. pp 281

³⁹ Furniss, B., Hannaford, A., Smith, P., VOGEL's Textbook of Practical Organic Chemistry, 5^o Edition, Longman Scientific and Technical, Great Britain, 1989, pp 384 a 392.

⁴⁰ Página web consultada el 15 de julio de 2017 [Figura] Recuperada de <https://quiminstrument2015.wordpress.com/2015/09/29/espectroscopia-uv-visible/>

⁴¹ Verde Calvo, JR., Escamilla Hurtado, M. de L., Reyes, A., Manual de prácticas de química analítica II, Universidad Autónoma Metropolitana, México, 199, pp.77-84.

⁴² Espectroscopia de absorción infrarroja (TF-IR) por Transformada de Fourier.[Figura] Recuperada de : <https://nanocienciainforma.wordpress.com/espectroscopia-tf-ir/>

⁴³ Sartor, M., Dynamic Light Scattering to determine the radius of small beads in Brownian motion in a solution. University of California, San Diego. pp. 1-21.

⁴⁴ Introduction to Nanoparticle Tracking Analysis (NTA) Measurement Principle of Zeta View. Particle Metrix.

⁴⁵ Lin, P. C., Lin, S., Wang, P. C. & Sridhar, R. Techniques for physicochemical characterization of nanomaterials. *Biotechnology Advances* 32, 711–726 (2014).

⁴⁶ Williams, DB.; Carter, CB. Transmission electron microscopy. Springer; 2009. The transmission electron microscope; p. 3-22.

⁴⁷ Patri, A.; Dobrovolskaia, M.; Stern, S.; McNeil, S.; Amiji, M. Nanotechnology for cancer therapy. CRC Press; 2006. Preclinical characterization of engineered nanoparticles intended for cancer therapeutics; p. 105-138.

⁴⁸ Hall JB, Dobrovolskaia MA, Patri AK, McNeil SE. Characterization of nanoparticles for therapeutics.

Nanomedicine (London). 2007; 2:789–803.

⁴⁹ Eaton, P., West, P., Atomic Force Microscopy, Oxford University Press, New York, 2010, pp 6-47.

⁵⁰ Kaupp, G., Atomic Force Microscopy, Scanning Nearfield Optical Microscopy and Nanoscratching. Application to Rough and Natural Surfaces. Springer, Heidelberg, Germany, 2006, pp 4-16

⁵¹ Khulbe, K.C., Feng, C. Y., Matsuura, T. Synthetic Polymeric Membranes, Characterization by Atomic Force Microscopy, Springer, Germany, 2008, pp 19-23,31-37.

⁵² Descripción del Producto, nanopartículas de oro comerciales. TED PELLA, INC. Consultado el 24 de julio del 2017. Disponible en:[https://www.tedpella.com/gold_html/goldsols.htm].

⁵³ Shriner, Ralph; Hermann, Chrintine; Morrill, Terence. The Systematic Identification of Organic Compounds. 8th edition. WILEY. United States. pp 201-203.

⁵⁴ Cortés, M.S., Montemayor, S.M., Osuna-Alarcón, J.G. y Fuentes, A.F. Estudio y preparación de CoFe_2O_4 por la técnica de electrospinning. Afinidad. 2013, 71 (563),195-200.

⁵⁵ Shaabani, E., et. al., Curcumin coated gold nanoparticles: synthesis, characterization, cytotoxicity, antioxidant activity and its comparison with citrate coated gold nanoparticles. Nanomed. J., 2017, 4(2): 115-125.